

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İMMÜNSÜPRESE HASTALARDAN SOYUTLANAN KANDİDA SUŞLARININ
TİPLENDİRİLMESİ VE ANTİFUNGAL İLAÇLARA KARŞI
DUYARLILIKLARININ E-TEST YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. MEHMET ÖZCAN

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. ZÜLAL AŞÇI TORAMAN

ELAZIĞ-2005

DEKANLIK ONAYI

Prof.Dr.....

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

Prof.Dr.Mustafa YILMAZ

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Uzmanlık Sınav Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tezimi hazırlamamda katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN'a; uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım klinik öğretim üyeleri Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Mustafa YILMAZ olmak üzere, Prof. Dr. Adnan SEYREK'e, Yrd. Doç. Dr. Ahmet KİZİRGİL'e ve Yrd.Doç.Dr.Yasemin BULUT'a; uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım ve bir çok konuda olduğu gibi tez çalışmalarım esnasında da benden yardımlarını esirgemeyen başta Uz.Dr.Yusuf YAKUPOĞULLARI olmak üzere, bütün asistan arkadaşlarıma ve tüm Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1.Kandidaların Mikrobiyolojik Özellikleri	6
3.2.Kandidaların Tanımlanması	8
3.2.1. Germ Tüp Testi	8
3.2.2. Hif, Blastospor ve Klamidospor Yapımı	9
3.2.3. Biyokimyasal Testler	10
3.2.3.1. Karbonhidrat Asimilasyon Testi	10
3.2.3.2. Nitrat Asimilasyon Testi	10
3.2.3.3. Karbonhidrat Fermantasyon Testi	10
3.2.3.4. Üreaz testi	11
3.2.4. Hızlı Tanımlama Yöntemleri	11
3.2.5. Diğer Tanı Yöntemleri	12
3.2.5.1. Kromojenik Besiyerinde Üreme	12
3.2.5.2. Serolojik Testler	12
3.2.5.3. Moleküler Yöntemler	13
3.3 Antifungal İlaçlar	13
3.3.1. Amfoterisin B	15
3.3.2. Flusitozin	18
3.3.3. Flukonazol	19
3.3.4. Ketokonazol, Itrakonazol, Vorikonazol	20
3.4. Antifungal Duyarlılık Testleri	22
3.4.1. Standart Yöntem	22
3.4.1.1. NCCLS M27 A	23
3.4.2. Diğer Antifungal Duyarlılık Yöntemleri	24
3.4.2.1. Alamar Mavisi Yöntemi	24
3.4.2.2. Spektrofotometrik Yöntem	24
3.4.2.3. Disk -Diffüzyon Yöntemi	24

3.4.2.4. E test Yöntemi	24
4. GEREÇ VE YÖNTEM	26
4.1. Örneklerin Seçimi	26
4.2. Kullanılan Malzemeler	26
4.2.1. Boyalar ve Kimyasal Malzemeler	26
4.2.2. Besiyerleri	28
4.2.3. E Test Antifungal Stripleri (AB Biyodisc)	30
4.2.4. Diğer Araç ve Gereçler	30
4.3. Yöntem	31
4.3.1. Direkt Mikroskopik İnceleme (%10 KOH)	31
4.3.2. Kültür ve Gram Boyama	32
4.4. E Test Yöntemi ile Antifungal Duyarlılık Testi	32
5. BULGULAR	34
5.1. Kandida Türlerinin Dağılımı	34
5.2. Anti fungal Duyarlılık	34
6. TARTIŞMA	40
7. KAYNAKLAR	49
8. ÖZGEÇMİŞ	58

TABLÖLER LİSTESİ

	SAYFA NO
Tablo 1. Sık Rastlanan Kandida Türlerinin Karbonhidrat Fermantasyon ve Asimilasyon Özellikleri.	11
Tablo 2. Antifungal ilaçların MİK Değerleri İçin NCCLS Tarafından Önerilen Duyarlılık ve Direnç Sınırları.	33
Tablo 3. Kandida Türlerinin Soyutlandıkları Klinik Örneklerle Göre Dağılımları.	34
Tablo 4. Kandida Türlerine Göre Saptanan Antifungal İlaçların MİK Aralıkları.	35
Tablo 5. Antifungal İlaçların MİK ₅₀ ve MİK ₉₀ Değerleri ve Suşlara Göre Direnç Durumları.	39

ŞEKİLLER LİSTESİ

	SAYFA NO
Şekil 1. Amfoterisin B' nin Kimyasal Formülü.	18
Şekil 2. Flusitozin' in Kimyasal Formülü.	19
Şekil 3. Flukonazol'ün Kimyasal Formülü.	20
Şekil 4. Ketokonazol'ün Kimyasal Formülü.	21
Şekil 5. Itrakonazol'ün Kimyasal Formülü.	21
Şekil 6. Vorikonazol'ün Kimyasal Formülü.	21
Şekil 7. E Test Yöntemi İle Yapılan Antifungal Duyarlılık Testinin Görünümü.	35
Şekil 8. Kandida Suşlarında Amfoterisin B' ye Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.	36
Şekil 9. Kandida Suşlarında Flusitozin' e Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.	36
Şekil 10. Kandida Suşlarında Flukonazol' e Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.	37
Şekil 11. Kandida Suşlarında Ketokonazol' e Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.	37
Şekil 12. Kandida Suşlarında Itrakonazol' e Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.	38
Şekil 13. Kandida Suşlarında Vorikonazol' e Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.	38

1. ÖZET

Kandidaların immün sistemi baskılanmış veya genel durumu kötü olan hastalarda invaziv ve yaygın-sistemik enfeksiyonlara yol açarak ciddi bir mortalite nedeni olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, hastanemizde yatarak tedavi gören immün sistemi baskılanmış veya genel durumu bozuk hastalardan soyutlanan kandidaların tür ayrımlarının yapılması ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 39 febril nötroopenik ve yedi genel durumu bozuk yoğun bakım hastasından alınan idrar (6), balgam (6), kan (11), yara (4), endotrakeal aspirat (7), boğaz (3), kateter (7) ve dışkı (2) örneklerinden yapılan mikolojik kültürlerinde toplam 46 kandida suşu soyutlanmıştır. Soyutlanan kandidaların tür ayrımları API ID 32 C (Bio Mérieux/Fransa) kitleri ile yapılmıştır. Çalışılan suşların 24' ü (%52.1) *Candida albicans*, beşi (%10.8) *Candida krusei*, yedisi (%15.2) *Candida tropicalis*, dördü (%8.6) *Candida glabrata*, üçü (%6.5) *Candida parapsilosis* ve üçü (%6.5) *Candida guilliermondii* olarak tanımlanmıştır. E test (AB Biodisk, İsveç) ile yapılan antifungal duyarlılık deneyinde, kandidaların %2.1' i amfoterisin B' ye, %21.7'si ketokonazol ve flukonazola, %17.3' ü vorikonazola, %23.9' u itrakonazola ve %6.5' i ise flusitozine dirençli bulunmuştur. En etkin antifungal olarak saptanan amfoterisin B' nin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0.019 ve 0.75 µg/ml; en düşük etkinlikli antifungal olarak saptanan itrakonazolün MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ise sırasıyla 0.032 ve 16 µg/ml olarak bulunmuştur.

Tıptaki ilerlemelere paralel olarak fırsatçı patojen olan kandidaların hedefindeki hasta popülasyonu gittikçe artmakta ve zamanla invaziv kandida enfeksiyonlarının sıklığında da yükseliş olduğu görülmektedir. Bu nedenlerle, özellikle riskli hastalarda gelişen ciddi enfeksiyonların tedavisinin başarılı bir

şekilde yapılabilmesi için kandidaların tür ayrımlarının rutin olarak uygulanması ve güvenilir bir yöntemle antifungal duyarlılıklarının saptanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kandida türleri, amfoterisin B, vorikonazol, ketokonazol, itraakonazol, flukonazol, flusitozin, antifungal duyarlılık.

2. ABSTRACT

Investigation of the Antifungal Susceptibility of Candida Strains Isolated from Immune Suppressed Patients, with E test Method

It is well-known that Candida cause a considerable mortality via leading invasive and disseminated-systemic infections in the patients whose immune-suppressed or in poor clinic condition. In this study, it was aimed to investigate typing of Candida species that were isolated from various clinic samples from inpatients whose immune-suppressed or in poor clinic condition and also to determine the antifungal susceptibility of these isolates. During the study, a total 46 Candida were isolated from urine (6), sputum (6), blood (11), wound (4), endotracheal aspirate (7), nasopharynx (3), catheter (7) and stool (2) samples of 39 febrile neutropenic patients and 7 patients with poor clinic condition in intensive care units. Typing of the Candida isolates were carried out with API ID 32 C (bio Mérieux) kits. Of the strains included in to the study, 24 (52.1%) were identified as *Candida albicans*, five (10.8%) were *Candida krusei*, seven (15.2 %) were *Candida tropicalis*, four (8.6 %) were *Candida glabrata*, three (6.5 %) were *Candida parapsilosis* and three (6.5%) were *Candida guilliermondii*. In the susceptibility assay with E test, 2.1% of the isolates were found resistant to amphotericin B, 21.7 % to ketoconazole and fluconazole, 17.3 % to voriconazole, 23.9% to itraconazole and 6.5 % to flucytosine. The MIC₅₀ and MIC₉₀ values of the most active antifungal, amphotericin B, were determined as 0.019 and 0.75 µg/ml, respectively; and the MIC₅₀ and MIC₉₀ values of the least active antifungal, itraconazole, were determined as 0.032 and 16 µg/ml, orderly.

Due to development of the medicine, the target patient population of Candida which is an opportunistic pathogen, is progressively augmented, and by the time, it is observed that the prevalence of the invasive candida infections are being increased. Therefore, to successfully treat the serious infections caused by Candida in the patients at high risk, typing of the Candida should be routinely performed and antifungal susceptibility of these strains should be investigated with a reliable method, regularly.

Key-Words: Candida strains, amphotericin B, voriconazole, ketoconazole, itraconazole, fluconazole, flucytosine, antifungal susceptibility.

3. GİRİŞ

Son yıllarda mantar enfeksiyonlarındaki artış, geniş spektrumlu antibiyotiklerin ve immünosupresif ilaçların yaygın kullanımı, artan invaziv girişimler ve majör cerrahi girişimlerin yaygınlaşması ile doğru orantılıdır (1).

Kandida türleri, genel durumu kötü veya immün sistemi baskılanmış hastalarda çoğunlukla fırsatçı enfeksiyonlara neden olurlar. Bu tip hastalardaki fungal enfeksiyonların %86' sından sorumlu olan kandida türleri, kan kültürlerinden en sık izole edilen mikroorganizmalar arasında dördüncü sıradadır (2). Kandida türleri nozokomiyal sepsislerin de %8-12' sinden sorumludur (3).

Kandidaların neden olduğu kandidemi; tanısı ve tedavisi zor, mortalitesi yüksek ciddi bir klinik tablodur. Hastanede kalış süresinin uzamasına neden olur ve bakteriyel patojenlerle gelişen sepsislere göre daha yüksek mortaliteyle seyreder (4).

İmmün sistemi baskılanmış hastalardaki mantar enfeksiyonlarında, mantar türünün ve antifungal duyarlılığının belirlenmesi ampirik antifungal ilaç seçiminde ve tedavinin yönlendirilmesinde önemlidir. Antifungal duyarlılık testlerinin standardizasyonu için National Committee for Clinical Laboratory Standards'ın (NCCLS) antifungal duyarlılık alt komitesi 1982 yılından itibaren çalışmalar yapmaktadır. İlk kez *Candida spp.* ve *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*) için M27-P isimli belge ile makrodilüsyon yöntemi önerilmiştir (5). Daha sonra M27-T ve M27-A belgeleri ile makrodilüsyona alternatif mikrodilüsyon yöntemleri önerilmiştir. Bu yöntemlerle direnç gelişimi izlenerek, gerekli önlemler alınabilmesi amaçlanmıştır (6, 7).

Doğada 150'den fazla kandida türü bulunmasına rağmen ancak bunların bir kısmının insanlarda hastalık oluşturduğu belirlenmiştir. Bu türler; *Candida albicans* (*C. albicans*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*), *Candida krusei* (*C. krusei*), *Candida glabrata* (*C. glabrata*), *Candida guilliermondii* (*C. guilliermondii*), *Candida stellotoidea* (*C. stellotoidea*), *Candida kefyr* (*C. kefyr*), *Candida lusitania* (*C. lusitania*) ve *Candida dubliniensis* (*C. dubliniensis*) olarak sıralanabilir (8). En sık izole edilen tür *C. albicans* olmakla beraber non-albicans türlerin neden olduğu enfeksiyonların sayısı da giderek artmaktadır (3, 4, 8).

Bu çalışmada, kandida enfeksiyonları için yüksek riskli hastalar olarak kabul edilen genel durumu kötü veya immün sistemi baskılanmış hastalardan alınarak laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden soyutlanan kandidaların tür ayrımının yapılması ve bu suşların E test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile amfoterisin B, flusitozin, flukonazol, ketokonazol, vorikonazol ve itrakonazol gibi antifungal ilaçlara karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

3.1. Kandidaların Mikrobiyolojik Özellikleri

Kandidalarla ilgili ilk bilgiler *Hippocrates*' e kadar uzanmaktadır. İlk olarak *Galen* ve *Peppy* (1665) pamukçuğu göstermiş, *Langenbeck* (1839) afttan bir mantar bulmuş ancak bunu tifonun etkeni olarak bildirmiştir. Pamukçuğun mantar yapısında bir etkene bağlı olduğu *Berg* (1841) ve *Bennet* (1844) tarafından ortaya konulmuş, bu mikroorganizmaya *Rubin* (1843) *Oidium albicans* adını vermiş, daha sonra *Zapatin* (1890) *Monilia albicans* ve en son *Berkhout* (1923) *Candida albicans* adını kullanmıştır (8, 9, 10).

Mantarlar ökaryotik canlılardır. Tek hücreli veya çok hücreli olabilirler. Morfolojik yapılarına göre maya veya küf görünümündedirler (11).

Kandidalar, *Deuteromycetes* (fungi imperfecti) sınıfının *Cryptococcales* takımında yer alır. *Deuteromyces* sınıfı içerisinde seksüel fazları gözlenmemiş mantarlar bulunmaktadır (10).

Kandidalar, ince duvarlı, oval, kapsülsüz, hareketsiz, Gram-pozitif, 1-3 x 4-6 µm boyutlarında, lateral tomurcuklanma ile aseksüel olarak üreyen, fakültatif anaerop mayalardır. Maya formu dışında kültür ve dokularda yalancı hif veya gerçek hif oluşturabilirler. Yalancı hifler, tomurcuklanma sırasında meydana gelen uzantının ana hücreden ayrılmaması sonucu gelişir. Gerçek hifler ise apikal uzantı tarzında, bölmeli ve düzgün kenarlıdır (11).

Kandida türleri, Sabouroud Dekstroz Agarda (SDA) ve kanlı agarda oda ısısında (22-26°C) ve 37°C' de kolayca üreyebilirler. Kültür için alınan örnekler hem 26°C hem de 37°C' de ayrı ayrı inkübe edildiğinde 37°C' de ürememe, saprofitliği ortaya koyan bir özelliktir. Patojen kandidaların çoğu hem 26°C hem de 37°C' de ürerler. Üretildikleri ortamda neme ihtiyaç duyarlar (%30-40). En iyi üreme pH 4.5-5 arasındadır, ancak pH 3-7.5 arasında da üreyebilirler. Oda ısısında ve SDA besiyerinde 24-48 saatte krem renkli, opak, düzgün yüzeyli, 1-2 mm' lik tipik maya kokusu olan S tipi koloniler oluştururlar. Kandida kolonileri, S formundan R formuna kendiliğinden dönüşebilir. R tipi kolonilerin oluşumu daha çok miçellerin miktarının artması ile ilgilidir. *C. albicans* bazen ilk izolasyonlarda SDA' da buruşuk koloniler oluşturabilirler. Bunlar alt kültürlerinde S tipi kolonilere de dönüşebilirler. *C. albicans* kanlı agarda kısa, kenarları yıldızsı uzantıları olan koloniler oluştururlar (8, 11, 12).

Mantar kültürlerinde bakterilerin ve hızlı üreyen küflerin üremesini baskılayarak seçicilik sağlamak üzere ilk izolasyon besiyerlerinin bileşimine sikloheksimid, gentamisin, kloramfenikol gibi antibiyotikler eklenebilir.

Sikloheksimid, bazı mantar türlerinin üremesini baskıladığı için sikloheksimid içermeyen besiyerlerine de ekim yapılması gerekmektedir (13).

Kandidalar çok katlı hücre duvarına sahiptir. Kandidaların hücre duvarı mannoproteinler (%20-23), glukon (%48-60), kitin (%0.6-2.7), protein (%3-6) ve lipitten (%48-60) oluşur. En dışta, konak hücreye adezyonu sağlayan protein tabakası vardır. Bu tabaka N-asetilglukozaminidaz ve asit fosfataz gibi enzimler içerir. Mannoproteinlerdeki farklılıklar, kandida türlerinin ayrılmasında kullanılır. Ancak, aralarında çapraz reaksiyon da görülebilmektedir. Kandidaların hücre duvarında bulunan lipitler ise sterol esterleri (zimosterol), serbest sterol (ergosterol), trigliseritler ve fosfolipitlerden oluşmaktadır (14).

3.2 Kandidaların Tanımlanması

Geleneksel olarak kandidaların tanımlanması makroskopik ve mikroskopik olarak morfolojik karakterlerinin incelenmesi ve biyokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi ile yapılır. Morfolojik olarak koloni rengi ve görünümü, hif veya yalancı hif üretimi, germ tüp veya klamidospore oluşturma yetenekleri, blastosporların yapısı veya yerleşim şekilleri gibi özellikleri değerlendirilir. Biyokimyasal olarak ise karbonhidrat fermantasyon ve asimilasyonu, üre hidrolizi ve nitrat asimilasyonu değerlendirilir (11, 12, 13, 14).

3.2.1. Germ Tüp Testi

Kandidaların tanımlanmasında ilk adımdır. Hızlı sonuç veren, uygulaması kolay, *C. albicans*' in diğer kandidalardan ayırmayı sağlayan basit, çok değerli bir testtir. Ancak *C. albicans* suşlarının hepsinde olumlu olmadığı gibi yalancı olumluluk da olabilmektedir. *C. albicans* suşlarının %95-97' si germ tüp oluşturur.

Diğer taraftan, *C. stellatoidea* da germ tüp üretir. *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*' de yalancı germ tüp oluşumu görülebilir (11, 15, 16).

Germ tüp, blastospordan kaynak alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca hiç kabarıklık yapmayan bir ipliksi yapı olarak gözlenir. Yalancı germ tüpte ise daha büyük bir blastospor vardır ve hif ile bağlantı bölgesinin daha belirgin olduğu gözlenir (17). Germ tüp testi için insan serumu, yumurta albumin, sığır serum albumin, koagüle tavşan plazması, koyun serumu, doku kültürü, Triptikaz Soya Broth ve çeşitli peptonlu besiyerleri kullanılabilir. Geleneksel yöntemlerde en sık insan serumu tercih edilir (15, 16, 17, 18, 19).

3.2.2. Hif, Blastospor ve Klamidospor Yapımı

Hif, yalancı hif, blastospor ve klamidospor üretme özellikleri mikroskopik olarak değerlendirilir. Mısır unlu agar gibi besin açısından fakir ortamlarda mayaların oluşturduğu blastospor, yalancı hif, gerçek hif ve klamidospor varlığı kandidaların tanımlanmasında kullanılmaktadır. Bunun için Pirinç ekstresi-Tween 80 agar, Mısır unlu-Tween 80 agar veya Wollin Bevis agar besiyerlerinden birisinde incelenen maya kolonisinden bir parça alıp, iğne öze ile birbirine paralel çizgiler şeklinde ekim yapılır. Ekim alanı steril bir lamelle kapatılarak besiyeri 26°C' de 24-72 saat inkübe edilir (15, 16, 17, 18, 19).

Besiyeri üzerine kapatılan lamelin, ortamın oksijenini azaltması ve Tween-80' in yüzey geriliminin düşmesi klamidospor ve yalancı hif üretimini artırır. *C. albicans*' ın oluşturduğu klamidosporlar yalancı hiflerin ucunda, ortasında yada yanında yerleşmiş; yuvarlak düzgün duvarlı, sitoplazması yoğunlaşmış, çevre koşullarına dirençli bir yapıdadır. Uzun yıllar sadece *C. albicans*'ın tanımlanmasında kullanılmış olan mısır unlu agarda diğer maya

türleri de mikroskobik morfolojik özelliklerine göre tanımlanabilmektedir (11, 14, 15, 16, 17).

3.2.3. Biyokimyasal Testler

3.2.3.1. Karbonhidrat Asimilasyon Testi

Bu test mayaların oksijen varlığında karbon kaynağı olarak spesifik bir karbonhidratı kullanma yeteneklerinin ortaya çıkarılmasında kullanılmaktadır. Karbonhidrat asimilasyon testi Wickerham yöntemi, oksanografik yöntem ve ticari tiplendirme kitleri gibi değişik yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir (15, 17).

3.2.3.2. Nitrat Asimilasyon Testi

Nitrat asimilasyon testi karbonhidrat asimilasyon testine benzer bir testtir. Mayaların nitrojen kaynağı olarak nitratı kullanma yeteneklerini ortaya çıkarmaktadır (17).

3.2.3.3. Karbonhidrat Fermantasyon Testi

Fermantasyon, karbonhidratların CO₂ ve etanol üretimiyle sonuçlanan anaerobik kullanımıdır. Bu testte fermantasyon tüplerindeki pH değişikliği mayanın fermantasyonunu göstermez. Karbonhidrat fermantasyonu Modifiye Wickerham Yöntemi ile yapılabilmektedir. Durham tüpünde gaz kabarcığının gözlenmesi ile ortaya konulmaktadır. Kandida türleri ile Cryptococcus ve Rhodotorula gibi non-fermantatifleri ayırmada kullanılmaktadır (15, 17).

Tablo 1. Sık Rastlanan Kandida Türlerinin Karbonhidrat Fermantasyon ve Asimilasyon Özellikleri.

KANDİDA TÜRLERİ	Fermantasyon				Asimilasyon					
	G	M	S	L	G	Gl	L	M	R	S
<i>C. albicans</i>	+	+	±	-	+	+	-	+	-	+
<i>C. stelloidea</i>	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>C. kefyr</i>	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>C. parapsilosis</i>	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+

(G:Glukoz, M: Maltoz, S: Sukroz, L: Laktoz, Gl: Galaktoz, R: Raffinoz)

3.2.3.4. Üreaz testi

Mayaların Christensen's üre agarda üre hidrolizi, üreaz aktivitesini gösterir.

C. krusei ve *C. lipolytica* üreyi hidroliz edebilir (17).

3.2.4. Hızlı Tanımlama Yöntemleri

Günümüz mikoloji laboratuvarlarında 4-72 saat gibi kısa sürelerde sonuç veren ve daha kolay uygulanabilen maya tanımlama kitleri kullanılmaktadır. Bunlar maya tanımlama yönteminde standardizasyon sağlamaktadır. Hem sık saptanan ve hem de az rastlanan türleri tanımlamaya da yeterlidir. API 20 C, API 32 C (Bio Merieux), API Yeast identification System (Analytab product), Uni Yeast Tek (Row Laboratories), Abott Yeast identification System (Abott Diagnostic) gibi pek çok ticari kit kullanılmaktadır (20).

3.2.5. Diğer Tanı Yöntemleri

3.2.5.1. Kromojenik Besiyerinde Üreme

Kandida türlerinin çoğunun SDA' da ki kolonileri krem kıvamında ve oval şekildedir (*C. albicans*, *C. stellotoidea*, *C. tropicalis* gibi). Koloni rengi geleneksel olarak kullanılan besiyerlerinde ayırdedilemez. Farklı kandida türlerinin farklı renklerde ürediği besiyerleri vardır. Pagano-Levin Agar (Difco), farklı renkte koloniler oluşturarak tek bir klinik örnekten birden fazla kandida türünün tanımlanmasına olanak sağlar. Koloni rengine göre hızlı tanı sağlayan çeşitli kromojenik besiyerleri de ayrıca mevcuttur (21, 22, 23).

3.2.5.2. Serolojik Testler

Serolojik testler, tanısal önemleri yanında hastalığın seyrinin izlenmesinde de yararlıdır. Ancak, teknik uzmanlara gereksinim olması, ayıraçların zor hazırlanması ve maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle geleneksel kullanımları kısıtlıdır. Son yıllarda sistemik mantar hastalıklarında belirli bir artışın olması, yeni mantar antijenlerinin elde edilmesine ve yeni teknolojik gelişmelere yönelik çalışmaları yoğunlaştırmış ve serolojik testler kullanıma girmeye başlamıştır. Ancak çapraz reaksiyonların çok fazla olması; geçirilmiş enfeksiyon, kolonizasyon ve aktif enfeksiyonu ayırt etmede yetersiz kalmaları bu testlerin değerini azaltmaktadır (11, 24).

Mantar antijenlerini göstermeye yönelik testlerin kullanımı giderek artmaktadır. Özgül antijenleri göstererek tanıyı sağlamak yüksek derecede özgül ama duyarlılık açısından klasik yöntemleri tamamlayıcı özelliktedir. Cryptococcus ve Histoplasma enfeksiyonlarının tanısında antijenleri saptama yöntemleri başarılı olurken Aspergillus ve kandida gibi fırsatçı mantarlarda bu yöntemin duyarlılığı

düşük bulunmaktadır. Bu problemi çözebilmek için çok saf antijenleri kullanmak, monoklonal veya adsorbe poliklonal antikorları ve çok duyarlı yöntemleri uygulamak gerekmektedir (11, 20, 21, 22, 23, 24).

3.2.5.3. Moleküler Yöntemler

Mantar epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalarda moleküler yöntemler başarıyla uygulanmaktadır. Moleküler yöntemler *Aspergillus* türleri, *kandida* türleri ve *Histoplasma capsulatum*' un erken tanısında kullanılmaktadır (20).

Yeni çalışmalar, mantar türlerine özgü DNA dizilerinin klinik örneklerden saptama yöntemlerinin mantarların tanımda uygun ve etkin olduğunu, ancak yeterli olmadığını göstermektedir. Mikolojide, moleküler yöntemlerin alışılmış mikroskopik inceleme ve kültürün yerini tamamen alması henüz erken görünmektedir (25).

3.3. Antifungal İlaçlar

Antifungal ilaçlar deri, mukoza ve organların lokal veya sistemik enfeksiyonlarına karşı etkili; topikal, oral veya parenteral yoldan uygulanabilen ajanlardır. Antifungal ilaç tedavisi toksik etkilerinden dolayı 1950' li yıllara kadar potasyum iyodür ve metilen mavisi ile sınırlı kalmıştır. Daha sonra amfoterisin B keşfedilmiş ve 1950'li yıllarda kullanıma girmesinden bu yana sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisindeki önemini korumuştur (26). Sistemik etkili antifungal ilaçlar az sayıdadır. Amfoterisin B' den sonra mikonazol, ketokonazol, itraconazol, flukonazol gibi azol türevlerinin bulunması tedavide önemli gelişmeler sağlamıştır (27).

Amfoterisin B' ye alternatif seçenek olan 5-flusitozin, 1964 yılında kullanıma girmiştir. 1960' ların sonlarında sentetik yolla elde edilen azollerin ilk grubunu oluşturan imidazol grubu antifungal ilaçlar; klotrimazol, mikonazol, ekonazol, izokonazol, ketokonazol ve fentikonazolden oluşur. 1980 yılından sonra ikinci azol türevi olan triazollerden terkonazol, itrakonazol ve flukonazol klinik kullanıma girmiştir. İkinci kuşak azoller olarak isimlendirilen itrakonazol ve flukonazolün klinik olarak etkin ve güvenilir oluşu nedeniyle, çok değişik fungus türleri ile oluşan invaziv enfeksiyonların tedavisinde amfoterisin B' ye alternatif olmuşlardır. Özellikle flukonazolün başarısı yeni üçüncü kuşak azollerin (ikinci kuşak triazoller) geliştirilmesi konusunda cesaret verici olmuştur. Vorikonazol, pseokonazol ve ravukonazol ikinci kuşak triazoller olup son yıllarda ülkemizde de kullanıma girmekle birlikte klinik etkinlikleri hakkında az sayıda çalışma vardır (26, 27, 28, 29).

Günümüzde kullanılan antifungal ilaçlara 10 yıl öncesine kadar çok seyrek direnç görülmekte iken, 1990'larda özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda rastlanan direnç önemli bir problem haline gelmeye başlamıştır. Örneğin AIDS' li hastalardaki orofaringeal kandida enfeksiyonlarında sıklıkla antifungal ilaçlara direnç olduğu bildirilmektedir (30).

Lipozomal nistatin, ekinokandinler ve sordarinler fungal enfeksiyonların tedavisindeki direnç problemini çözebilmek amacıyla geliştirilen yeni ilaçlardır. Nistatin, topikal olarak kullanılan, oral kullanıldığında sistemik etki gösteremeyen, parenteral kullanımı ise toksik etkiler nedeniyle mümkün olmayan bir antifungal ilaçtır. Amfoterisin B için olduğu gibi nistatin için de toksisitesi ana ilaca göre belirgin derecede azaltılmış ve sistemik kullanımı mümkün olan bir formülasyon geliştirmek için çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda nistatinin

"dimristoyl phosphotidyl choline" ve "dimyristoyl glycerol" içeren bir lipozomal bileşiği geliştirilmiştir (31).

Ekinokandinler yeni geliştirilmiş olan bir diğer antifungal ilaç grubudur. Mantar hücre duvarında bulunan glukanın sentezini inhibe ederler. Ekinokandinlerin memeli hücrelerinde bulunmayan bir hedef üzerinden antifungal etki gösteriyor olması, selektif toksisite yönünden çok önemli bir avantajdır. Poliyenler ve azoller mantar hücre zarına etki gösterirken, ekinokandinler, hücre duvar komponentlerinden biri olan glukanın sentezini inhibe ederler. Ekinokandinlerin etki spektrumları göreceli olarak dardır. Kaspofungin klinik kullanıma sunulmuş ilk ekinokandindir (31).

Yakın bir geçmişe kadar mantarların protein sentezini inhibe ederek etki gösteren bir antifungalın geliştirilememiş olmasının nedeni, mantar hücresi gibi memeli hücrelerinin de ökaryot olmasıdır. Ancak mantar hücrelerinde mevcut olup memeli hücrelerinde olmayan ve protein sentezinde rol alan "elongation factor 3-EF 3" ün varlığı keşfedildikten sonra EF 3'ü inhibe eden ve sordarinler adı verilen bileşikler geliştirilmiştir. Sordarinlerle ilgili çalışmalar henüz klinik öncesi düzeydedir (31).

3.3.1.Amfoterisin B

Toprakta bulunan *Streptomyces nodosus* cinsi mikroorganizmadan elde edilen amfoterisin B halen en geniş spektrumlu poliyen grubu bir antifungaldir. Amfoterik özellikte olup asit ve bazik ortamda çözülebilen tuzlar yapar ve pH 2-11 arasında suda erimez. Bu nedenle sodyum deoksikolat ile karalı kolloidal bir süspansiyon oluşturularak suda çözünebilirliği arttırılmıştır (26).

Poliyen grubu antifungaller, mantar hücre zarı sterolleri ile kompleks yaparlar. Mantarların sitoplazmik zarının temel sterolu olan ergosterole afinitesi memeli hücre zarının sterolu olan kolesterole göre daha fazladır. Mantar hücre zarında ergosterol ile etkileşen amfoterisin B zarda delikler oluşturarak ve permeabiliteyi arttırarak hücre ölümüne neden olmaktadır. Yüksek ilaç konsantrasyonlarında mantar hücre zarlarında 40-150 nm çaplı delikler oluştururlar, intrasellüler potasyum ve diğer moleküller kaybolur ve mantar hücresi canlılığını yitirir. Ayrıca lipid peroksidasyonu, hücre zarı enzimlerinin inhibisyonu, endositoz ve immünstimülasyonun bloke edilmesi, öne sürülen diğer etki mekanizmalarıdır. Etki hızlı başlar ve üreme oranı ile ilişkili değildir (32).

Amfoterisin B geniş etki alanlı olup sık rastlanan patojenlerin çoğuna etkilidir. MİK değerleri; mayalar için 0.1-1 ug/ml, belirli küfler için 1-5 ug/mL' dir. *Candida* türleri, *C. neoformans*, *Aspergillus* türleri, *Blastomyces dermatidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* gibi difazik mantarlara etkilidir (27). Amfoterisin B' nin aspergilloma, mantar miçetomu, kromomikoz ve belirli koksidiyoidomikoz şekillerine etkisi yoktur veya çok sınırlıdır. İn vitro ve in vivo olarak *Pseudoallerschiera boydii* ve *Trichosporon* türlerine etkisizdir (27).

Amfoterisin B, *Leishmania*, *Entamoeba*, *Naegleria*, *Trypanosoma* ve *Trichomonas* gibi bazı protozoonlara da etki gösterir (27).

Amfoterisin B, deri ve mukozalardan emilmez. Gastrointestinal kanaldan emilimi minimaldir. Bu nedenle intravenöz yolla uygulanır. Verilen dozun %90'ından fazlası serum protein ve lipoproteinlerine bağlanır, bu nedenle amfoterisin B diyalize olmaz, ilacın en yüksek doku yoğunluklarına eriştiği organlar karaciğer ve dalaktır (32).

Klasik amfoterisin B' nin etki spektrumunu değiştirmeden yan etkilerini azaltan lipozomal formülasyonlar geliştirilmiştir. Lipid formülasyonların nefrotoksik etkilerinin belirgin olarak azalmasında etkili olan mekanizmalar; lipozom ile taşınan amfoterisin B' nin seçici olarak fungal hücrelere transfer edilmesi ve lipozomal amfoterisin B'nin HDL' ye klasik amfoterisin B' den daha fazla bağlanması olarak özetlenebilir (27, 32).

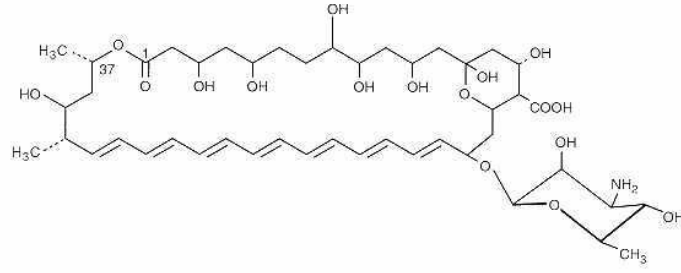
Amfoterisin B' nin lipozomal yapılar ile çevrenmesi, pro-inflamatuar sitokinlerin salınımını zayıflatmaktadır. Güvenle kullanılan ilaçlar olmakla birlikte çok pahalı olmaları kullanımlarını kısıtlayan en önemli faktördür (32).

Amfoterisin B Lipid Kompleks (ABLC): *Lopez-Berstein* tarafından geliştirilen bu molekülde 7:3 molar oranda dimiristoyl-fosfatidilkolin ve dimiristoyl-fosfatidil gliserolün oluşturduğu şerit şeklinde kompleks yapılarıdır. Bu komplekste lipozomal olan ve olmayan çift tabakalı lipit yapılar bulunur. Klasik amfoterisin B ile in vitro ve in vivo aynı etkiye sahip olup nefrotoksik etkisi belirgin olarak düşüktür (33).

Amfoterisin B Kolloidal Dispersiyon (ABCD): Amfoterisin B ile sodyum kolesteril sülfatın 1:1 oranında birleşmesi ile oluşturulmuş bir lipid formülasyondur. İnfüzyon ile ilişkili yan etkiler %86' ya kadar çıkmaktadır. Bundan kaçınmak için infüzyon hızı yavaş olmalı ve premedikasyon uygulanmalıdır. Nefrotoksik etki, klasik amfoterisin B' ye göre oldukça düşüktür (32).

Lipid Emülsiyonda Amfoterisin B: Amfoterisin B' nin %20' lik intralipid içindeki formülasyonudur. Doku dağılımı oldukça yüksektir (32).

Amfoterisin B' nin kimyasal formülü şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Amfoterisin B' nin Kimyasal Formülü.

3.3.2. Flusitozin

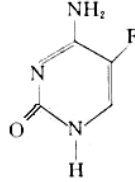
5-florositozin (5-FS) veya flusitozin, sentetik florlu bir pirimidindir. Mantar hücrelerine sitozin-permeaz aracılığıyla girip hücredeki sitozin deaminaz tarafından 5-florourasile dönüştürülür. Bu madde RNA'daki urasilin yerini alarak protein sentezini bozar. Flusitozin ayrıca timidilat-sentetazı engelleyerek DNA sentezini de önler (27).

1972' lerde kullanıma sunulmuştur. Suda çözünabilir ve gastrointestinal sistemden iyi absorbe olur (35). Flusitozinin etki spektrumu dardır. Özellikle kandida türleri ve *C. neoformans*' a etkilidir. İlaça duyarlı mayalara ilişkin MİK değerleri 0.1-1 µg/ml ' dir. *C. albicans* suşlarının yaklaşık %95' i duyarlı, özellikle *C. tropicalis* ve *C. krusei* başta olmak üzere diğer kandida türlerinin %25-30' u dirençlidir. *C. galabrata* ve *C. neoformans* suşlarının çoğu duyarlı bulunmuştur (27).

Tedavi sırasında ikincil direnç ortaya çıkabilir. Bu nedenle *C. neoformans* menenjitisi veya gastrointestinal mikoz gibi -kural olarak- konakta etken mikroorganizmanın çok yoğun bulunduğu enfeksiyonlarda flusitozin tek ilaç olarak kullanılmamalıdır. Ayrıca, flusitozin uygulamasından önce in vitro duyarlılık testleri de yapılmalıdır (27).

Amfoterisin B' ye göre etki spektrumu daha dar, toksisitesi daha düşüktür (35). Nadir olarak döküntü, ishal, ve karaciğer enzimlerinde yükselme görülebilir (26).

Flusitozinin kimyasal formülü Şekil 2' de gösterilmiştir.



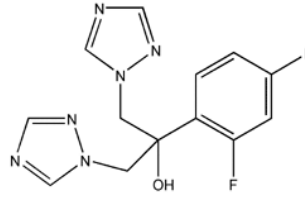
Şekil 2. Flusitozinin Kimyasal Formülü.

3.3.3. Flukonazol

Flukonazol, 1982 yılında bulunan, diflorafenil bistriazol türevidir. Flukonazol düşük konsantrasyonlarda 14-alfa-demetilaz enzimini ve ergosterol sentezini inhibe edip lanosterol ve ergosterol oranını yükseltir. Yüksek konsantrasyonlarda lanosterol ve ergosterol oranına bağlı olarak mantar hücre zarında hızlı bir şekilde hasar oluşturarak fungusit etki gösterir. Azoller, oksidatif ve peroksidatif enzim sistemlerini inhibe ederek intrasellüler toksik reaktif peroksitlerin artışına neden olur (26, 35). Etki spektrumu geniştir. *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. kefir* gibi kandida türleri ilaca duyarlıdır. *C. krusei* ve *C. galabrata* suşları ise dirençlidir (26). *C. krusei* suşları in vitro duyarlı bulunsalar bile intrinsik dirençli olduklarından dirençli olarak rapor edilmelidir (36). Ağızdan alınan flukonazolün tamamına yakını gastrointestinal kanaldan hızla absorbe edilir. Serum proteinlerine düşük (%12) oranda bağlanır. Dokulara ve vücut sıvılarına dağılımı iyidir ve %80' i değişmeden idrarla atılır (37).

Flukonazol iyi tolere edilir. Yan etkileri genellikle hafif ve geçici olup az sayıda hastada görülür. Bulantı ve kusma en sık görülen yan etkileridir. Ketokonazolden farklı olarak adrenal ve testiküler steroid metabolizmasını etkilemez (27).

Flukonazolün kimyasal formülü Şekil 3' de gösterilmiştir.



Şekil 3. Flukonazolün Kimyasal Formülü

3.3.4. Ketokonazol, Itrakonazol ve Vorikonazol

Ketokonazol, itrakonazol ve vorikonazol sentetik dioksolon imidazol bileşiğidir. Mantar hücre zarındaki ergosterol sentezim sitokrom P450'ye bağımlı 14-alfa-dimetilaz enzimini inhibe ederek, hücre zarına bağlı hücre işlevlerini bozar (27). Primer olarak fungostatiktirler (35). Oral alındığında emilimi normal mide pH' sında iyi olup, asit fazlalığında emilimleri artmaktadır. Plazma proteinlerine %99 oranında bağlanır (35). Oral antikoagülanlar, kortikosteroidler, izoniazid, siklosporin, insülin, fenitoin, antasitler gibi birçok ilaçla etkileşime girerler (26). Bu grup ilaçların en sık görülen yan etkileri iştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı, döküntüsüz kaşıntı ve ishaldir. Karaciğer toksisitesi görülebilir (35).

Ketokonazol, itrakonazol ve vorikonazolün kimyasal formülü sırasıyla Şekil 4, 5 ve 6'da gösterilmiştir.

3.4. Antifungal Duyarlılık Testleri

Son yıllarda mantar enfeksiyonlarının insidansının artması ile birlikte antifungal ilaçların hem profilakside hem de tedavide kullanım sıklıkları artmıştır. Ayrıca birçok yeni antifungal ilaç klinik kullanıma girmektedir. İn vitro duyarlılık testleri genel olarak ilaçların herhangi bir mikroorganizmaya karşı etkinliğini ölçmek amacıyla yapılan testlerdir. Bu amaçla antibakteriyel duyarlılık testleri rutin olarak yapılmakta iken antifungal duyarlılık testlerinin standardizasyonu ve mikoloji laboratuvarlarında kullanılmaya başlanması oldukça yenidir. Antifungal duyarlılık testi için standart yöntem yanında bir çok değişik yöntemler de kullanılmaktadır (38, 39).

3.4.1. Standart Yöntem

Antifungal duyarlılık testlerinin geliştirilmesi ve standardizasyonu için 1982 yılında National Committee Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından bir alt komite kurularak çalışmalara başlanmış ve antifungal duyarlılık testlerinin standardizasyon çalışmalarını ortak bir görüş olarak M27-P, M27-T, M27-A belgeleri ile yayınlamıştır (5, 6, 7). NCCLS tarafından 1992'de M27-P isimli belge ile kandida türleri ve *C. neoformans* için makrodilüsyon yöntemini temel alan referans bir yöntem önerilmiştir (5). 1995 yılında NCCLS M27-T geçici standardı (tentative standard) hazırlanmış ve alternatif mikrodilüsyon yöntemi bildirilmiştir (6). Şu anda NCCLS tarafından mayalar için 1997 yılında yayınlanmış bir standart yöntem (M27-A) (36), küf mantarları için de 1998 yılında önerilmiş bir yöntem (M38-P) mevcuttur. Bu yöntemle ilişkin parametreler aşağıda gösterilmiştir (38):

3.4.1.1. NATIONAL COMMITTEE FOR LABORATORY STANDARDS

M27-A. (NCCLS M27-A.)

Yöntem: Mikrodilüsyon

Besiyeri: RPMI 1640 (L-glutaminli, sodyum bikarbonatsız, MOPS ile tamponlanmış, pH=7)

İnokulum: 0.5-2.5 x 10³ cfu/ml

Sıcaklık: 35°C

Süre: 48 saat (kandida), 72 saat (*C. neoformans*)

MİK Değeri: Amfoterisin B için skor "O" (üremenin tam inhibisyonu), azoller ve flusitozin skor "2" (üremenin %50 azalması)

Öneri: Azoller için mikroplağın okunmadan önce çalkalanması.

Antifungal duyarlılık testlerinin yapılmasında, standart bir yöntem önerilmesine rağmen henüz antifungal duyarlılık sonuçları ile ilgili sorunlar bitmemiştir. Kandida suşları için flukonazol, itrakonazol ve flusitozin için MİK direnç sınır değerleri belirlenmiştir. Ancak amfoterisin B için bu değerler henüz kesinlik kazanmamıştır. Bunun nedeni, standart yöntemin amfoterisin B' ye duyarlı ve dirençli suşları ayırt etmekte yetersiz kalmasıdır (38).

Genellikle kandidiyazisli olgulardan izole edilen suşlarda flukonazole yanıt açısından in vitro ve in vivo sonuçlar arasında bir korelasyon olduğu saptanmaktadır. Ancak klinik yanıtı belirleyen tek parametre suşun o antifungal için saptanan in vitro duyarlılık durumu değildir. Konak faktörü de oldukça önem taşımaktadır (38).

3.4.2. Diğer Antifungal Duyarlılık Yöntemleri

3.4.2.1. Alamar Mavisi Yöntemi

Bir oksido-redüksiyon indikatörü olan alamar mavisi normalde mavi olup, mantar üremesi olduğunda pembe renge dönüşür. Mavi olan son kuyucuk MİK değerini verir (20).

3.4.2.2. Spektrofotometrik Yöntem

Bu yöntemde bulanıklığın kontrole göre amfoterisin B için %90, flukonazol için %50-70 oranında azaldığı çukurlar MİK olarak kabul edilir (20).

Yapılan çalışmalarda bu iki testin standart yöntemle uyumu %80-100 arasında bulunmuştur (20).

3.4.2.3. Disk-diffüzyon Yöntemi

Antifungal ajanlarla doyurulmuş disklerin kullanıldığı bu yöntem için kazeinili veya asparaginli yeast nitrojen glukoz agar ve 48 saatlik inkübasyon önerilmektedir. Azollerin kısmi inhibisyonu, zon içi üremeleri ve değerlendirmelerdeki zorluklar nedeniyle azoller dışındaki antifungaller için kullanılmaktadır (35). Standart yöntem ile uyumu %80 civarında bulunmuştur (40).

3.4.2.4. E Test Yöntemi

E test (AB Biodisk, Solona, İsveç), plastik striplere emdirilmiş antimikrobiyal ajanın MİK değerinin saptanabildiği bir difüzyon testidir. Pahalı olması en önemli dezavantajıdır. Ancak, uygulama kolaylığı ve uygulama esnasında gereksinin duyulan ek malzemelerin azlığı nedeniyle Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerindeki bir çok rutin laboratuvarlarına yüksek duyarlılıklı bir antifungal test olarak girmeye başlamıştır. Standart yöntem ile uyumunun %100' e yakın olduğu

bildirilmiştir (41). Genelde tüm antifungaller için uygulanabilir bir testtir. İnkübasyon koşullarının optimizasyonu, testin etkinliğini arttıran en önemli faktörlerden biridir. Testin değerlendirilmesi aşamasında doğabilecek yanlış yorumlar bakımından mikrodilüsyon yöntemine göre daha güvenilirdir.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Örneklerin Seçimi

Bu çalışmada, 1 Ocak - 31 Ağustos 2005 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi' nin değişik kliniklerinde yatarak tedavi gören ve çeşitli hastalıklar nedeniyle genel durumu bozuk veya nötrofil sayısı kritik düzeyin altına inmiş olan hastalardan Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerinden soyutlanan 46 kandida suşu; tür tanımlaması ve antifungal duyarlılıklarının saptanması yönünden incelenmeye alınmıştır. Hastaların, yaşı, cinsiyeti, majör hastalığı, yattığı klinik, mantar enfeksiyonu için risk faktörleri gibi bazı epidemiyolojik bilgileri kaydedilmiştir.

4.2. Kullanılan Malzemeler

4.2.1. Boyalar ve Kimyasal Çözeltiler

a. Potasyum Hidroksit Eriği (%10' luk KOH):

Potasyum hidroksit	10 gr
Gliserol	10 ml
Saf su	80 ml

Potasyum hidroksit üzerine saf su ilave edilerek yavaş yavaş eritildi.

b. Kristal Viyole Eriği:

Kristal viyole	1 gr
Asit fenik kristal	2 gr
%96' lık etil alkol	10 ml
Saf su	100 ml

Kristal viyole bir havan içerisinde ezilerek üzerine yavaş yavaş etil alkol ve asit fenik kristalleri ilave edildi. Karıştırılarak eritilirken saf suyun 2/3' ü eklendi. Eriyik dereceli bir mezüre konuldu. Artan su ile havan çalkalanarak mezüre aaktarıldı ve hacim 100 ml' ye tamamlandı. Hazırlanan eriyik 24 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra süzgeç kağıdından süzülerek renkli damlalıklı şişelere konuldu.

c. İyot Eriği:

İyot kristalleri	1 gr
Potasyum iyodür	2 gr
Saf su	300 ml

İyot ve potasyum iyodür kristalleri bir havan içerisinde ezilerek karıştırıldı, üzerine saf su eklenerek eritildi. Süzgeç kağıdından süzülerek renkli damlalıklı şişelere konuldu.

d. Sulu Fuksin Eriği:

Fenollü karbol fuksin	20 ml
Saf su	180 ml

Fenollü karbol fuksin ve saf su karıştırıldı, renkli damlalıklı şişelere aktarıldı.

4.2.2. Besiyerleri:

a. Koyun Kanlı Agar Besiyeri (Blood Agar, Oxoid):

Lab Lemco Powder	10 gr
Peptone Neutralise	10 gr
Sodium Chloride	5 gr
Agar	15 gr
Saf su	1000 ml
Defibrine koyun kanı	%7

Besiyeri prosedüre uygun olarak hazılandıktan sonra , pH=7.3' e ayarlanarak, 121°C' de 15 dakika steril edildi. Besiyeri 45-50°C' ye soğutulduktan sonra yoğunluğu %7 olacak şekilde defibrine koyun kanı eklendi ve 8 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C' de saklandı.

b. Sabouraud Dextrose Agar Besiyeri (SDA, Oxoid):

Mycological Pepton	10 gr
Glucose	40 gr
Agar	15 gr
Saf su	1000 ml

Besiyeri prosedüre uygun olarak hazılandıktan sonra , pH=5.6' ya ayarlanarak, 121°C' de 15 dakika steril edildi. Besiyeri 45-50°C' ye soğutulduktan sonra, 8 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C' de saklandı.

c. Sabouraud Dextrose Broth Besiyeri (Oxoid):

Pancreatic Digest of Casein	5 gr
Peptic Digest Of Fresh Meat	5 gr
Glucose	20 gr
Saf su	1000 ml

Besiyeri prosedüre uygun olarak hazırlandıktan sonra, pH=5.6' ya ayarlanarak karıştırıldı ve 16 cm' lik cam tüplere 5' er ml konularak ağızları tıkaçla kapatıldı. 121°C' de 15 dakika steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar +4°C' de saklandı.

d. Tween 80' li Corn Meal Agar Besiyeri (Oxoid):

Corn Meal Extract	2 gr
Agar	15 gr
Tween 80	10 ml
Saf su	1000 ml

Besiyeri prosedüre uygun olarak hazırlandıktan sonra , pH=5.6' ya ayarlanarak, 121°C' de 15 dakika steril edildi. Besiyeri 45-50°C' ye soğutulduktan sonra, 8 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C' de saklandı.

e. RPMI 1640 Agar Besiyeri (Angus Chemicals, ABD)

RPMI 1640	10.4 gr
D-Glukoz	20 gr
L-glutamin	0.3 gr
NaHCO ₃	0.5 g

MOPS tuz tamponu	34.53 gr
1 M NaOH	90 ml
Agar	15 gr
Saf su	1000 ml

Steril cam balon içinde; RPMI stok tozu (Angus Chemicals/ABD) ve MOPS (AppliChem/Almanya) 450 ml steril saf su içinde manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak çözdürüldü. Çözelti 50 ml' lik enjektör yardımıyla 0.2 µm çaplı filtrelerden pozitif basınç yolu ile geçirilerek steril hale getirildi. Diğer taraftan glukoz ve agar 450 ml steril saf su içinde çözdürüldü. 121⁰C' de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra 45-50⁰C' ye soğutuldu ve RPMI+MOPS' lu süspansiyon ile karıştırıldı. PH=7.0' a ayarlandı. Toplam hacim 1000 ml' ye tamamlandı ve 90 mm' lik steril petri kutularına yaklaşık 25 ml'lik hacim 4 mm kalınlığında besiyeri oluşturacak şekilde dökülerek soğutuldu.

4.2.3. E test Antifungal Stripleri (AB Biodisk)

Soyutlanan kandida türlerinin amfoterisin B (0.002-32 µgr/ml), ketokonazol (0.002-32 µgr/ml), vorikonazol (0.002-32 µgr/ml), itrakonazol (0.002-32 µgr/ml), flukonazol (0.002-32 µgr/ml) ve flusitozin (0.016-256 µgr/ml) duyarlılıklarını MİK düzeyinde saptamak için, değişen konsantrasyonlarda antifungal madde içeren E test (AB Biodisk, İsveç) stripleri kullanıldı.

4.2.4. Diğer Araç ve Gereçler:

- a.** API ID 32 C (BioMérieux/Fransa) kandida tanımlama kiti
- b.** Mini API cihazı (BioMérieux/Fransa)

- c. Steril silgiçler
- d. Steril cam tüpler
- e. Steril petri kutusu
- f. Hassas terazi
- g. Manyetik karıştııcı
- h. Etüv
- i. Otoklav
- j. pH indikatörü
- k. Otomatik pipetler
- l. 0.45 µm membran filtre
- m. 0.20 µm membran filtre
- n. Mikroskop

4.3. Yöntem

Hastanemizde yatarak tedavi gören immün sistemi baskılanmış veya genel durumu bozuk hastalardan soyutlanan kandidaların tür ayrımlarının ve antifungal duyarlılıklarının araştırılmasının amaçlandığı bu çalışmada 39 febril nötroopenik ve yedi genel durumu bozuk yoğun bakım hastasından izole edilen 46 kandida suşu kullanıldı. 46 kandida suşu; idrar, balgam, kan, yara, endotrakeal aspirat, boğaz, kateter ve dışkı örneklerinden soyutlandı.

4.3.1. Direkt Mikroskopik İnceleme (%10' luk KOH):

Temiz bir lam üzerine incelenecek örnekten bir miktar konulduktan sonra üzerine bir damla %10' luk KOH çözeltisinden damlatıldı ve üzerine lamel kapatılarak oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletildi. Işık mikroskopunda önce

10' luk daha sonra 40' lık objektif ile incelendi. Mikroskopik incelemede mantara ait spor, gerçek veya yalancı hifler arandı.

4.3.2. Kültür ve Gram Boyama

Mikrobiyolojik inceleme için laboratuvarımıza gönderilen klinik örnekler örneğin cinsine göre kan kültür şişesi (Organon veya Becton Dickenson kan kültür şişeleri), kanlı agar, EMB ve/veya SDA besiyerlerine ekimleri yapıldı. Saf maya kolonisi üretilen kültürlerden öncelikle Gram boyama yapıldı. Gram boyamada Gram (+) maya hücresi görülen örneklerin SDA besiyerlerine pasajları yapılarak 30°C' de 24-48 saat inkübe edildi.

Sabouraud Dekstroz Agar besiyerinde üreyen mayaların; koloni yapıları, Gram boyamada tipik maya hücrelerinin görünümü, germ tüp oluşumu, Tween 80 Corn Meal Agarda gerçek veya yalancı hiflerin varlığı, klamidospore yapıları incelendi. Mayaların biyokimyasal olarak değerlendirmelerinde API ID 32 C (BioMerieux, France) stripleri kullanıldı.

4.4. E Test Yöntemi İle Antifungal Duyarlılık Testi

Mayaların SDA besiyerindeki taze kültürlerinden (24 saatlik) steril silgiçler yardımıyla alınan kolonileri, %0.85'lik süspansiyon medium içinde karıştırıldı. Bu süspansiyon, 90 mm'lik petri kutularında hazırlanmış olan RPMI 1640 besiyerine pamuk uçlu non-adsorban steril silgiçler yardımıyla yayıldı. Besiyerinin ortasına gelecek şekilde ikişer E-test antifungal stripler yerleştirildi. Plakların etrafı, nemin korunması için parafinle kapatıldı. Hazırlanan plaklar, 35⁰C' de 24-48 saatlik inkübasyona alındı. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon elipsleri değerlendirilirken, üretici firma ve NCCLS önerileri doğrultusunda amfoterisin B

ve flusitozin için üremenin tam inhibe olduğu (%100 inhibisyon) değer; azoller için ise üremenin %80 inhibe olduğu değer, o ilaç için MİK değeri kabul edildi. (36).

Elde edilen MİK değerlerine göre suşların test edilen antifungale karşı duyarlılık veya direnç durumu, NCCLS M27A önerileri doğrultusunda yorumlandı . Suşlar MİK değerlerine göre duyarlı, az duyarlı veya dirençli olarak sınıflandırıldı (36).

Kandida suşlarına karşı test edilen antifungallerin duyarlılık MİK aralıkları Tablo 2’de gösterildi .

Tablo 2. Antifungal İlaçların MİK Değerleri İçin NCCLS Tarafından Önerilen Duyarlılık ve Direnç Sınırları (36).

ANTİFUNGAL İLAÇ	Duyarlılık (µg/ml)	Direnç (µg/ml)
Amfoterisin B (0.002-32 µgr/ml)	≤ 1	≥ 2
Ketakonazol (0.002-32 µgr/ml)	≤ 0.5	≥ 8
Vorikonazol (0.002-32 µgr/ml)	≤ 0.5	≥ 8
Itrakonazol (0.002-32 µgr/ml)	≤ 0.5	≥ 8
Flukonazol (0.002-32 µgr/ml)	≤ 8	≥ 64
Flusitozin (0.16-256 µgr/ml)	≤ 4	≥ 32

5. BULGULAR

5.1. Kandida Türlerinin Dağılımı

Çalışmaya alınan toplam 46 kandida suşunun 39'u febril nütropenik hastadan soyutlandı. Geri kalan yedi suş ise cerrahi yoğun bakımda yatan koma halindeki hastalardan izole edildi.

Çalışılan kandidaların, 24' ü (%52.1) *C. albicans*, beşi (%10.8) *C. krusei*, yedisi (%15.2) *C. tropicalis*, dördü (%8.6) *C. glabrata*, üçü (%6.5) *C. parapsilosis* ve üçü (%6.5) *C. guilliermondii* olarak tanımlandı. Kandida türlerinin soyutlandıkları klinik örneklerle göre dağılımları Tablo 3'de gösterildi.

Tablo 3. Kandida Türlerinin Soyutlandıkları Klinik Örneklerle Göre Dağılımları.

Klinik Örnek	<i>C. albicans</i>	<i>C. Krusei</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. guilliermondii</i>
İdrar (n:6)	2	-	1	-	3	-
Balgam (n:6)	2	1	1	2	-	-
Kan (n: 11)	7	1	2	1	-	-
Yara (n: 4)	-	1	1	-	-	2
ETA* (n:7)	6	1	-		-	-
Boğaz (n:3)	1	-	1	1	-	-
Kateter (n:7)	5	1	1	-	-	-
Dışkı (n:2)	1	-	-	-	-	1
Toplam(n:46)	24	5	7	4	3	3

(*Endotrakeal aspirat)

5.2. Antifungal Duyarlılık

Çalışmaya alınan kandida suşları için E test yöntemi ile yapılan antifungal

duyarlılık deneyinde, kandida türlerine karşı test edilen ilaçların elde edilen MİK aralıkları Tablo 4’de gösterildi.

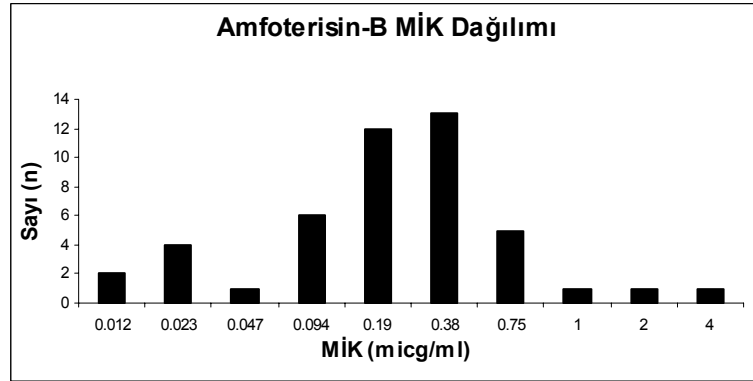
Tablo 4. Kandida Türlerine Göre Saptanan Antifungal İlaçların MİK Aralıkları.

KANDİDA TÜRÜ	MİK Aralıkları (µg/ml)					
	Amfoterisin B	Ketokonazol	Vorikonazol	Itrakonazol	Flukonazol	Flusitozin
<i>C.albicans</i>	0.008-0.75	0.004-16	0.006-16	0.006-16	0.094-196	0.064-4
<i>C. krusei</i>	0.023-1	0.125-≥32	0.125-32	0.38-≥32	0.5-256	0.50-32
<i>C. tropicalis</i>	0.016-0.75	0.023-16	0.38-12	0.023-16	1-16	0.125-≥32
<i>C. glabrata</i>	0.016-4	0.125-16	0.016-8	0.125-≥32	0.5-≥256	0.38-≥32
<i>C.parapsilosis</i>	0.023-0.50	0.006-0.50	0.032-2	0.006-1	0.125-12	0.75-1
<i>C.guillermonti</i>	0.019-1	0.006-2	0.19-4	0.006-1	0.006-8	0.016-0.50

E test yöntemi ile yapılan antifungal duyarlılık testinin görünümü Şekil 7’de gösterildi.

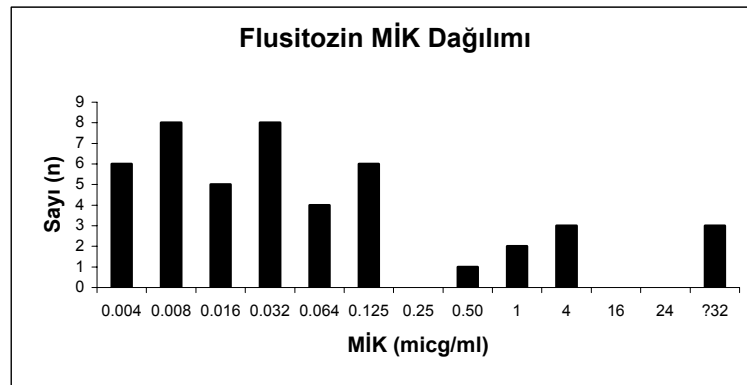
Şekil 7. E test Yöntemi İle Yapılan Antifungal Duyarlılık Testinin Görünümü.

Toplam 46 kandida suşundan sadece bir (%2.1) *C. glabrata* suşunda amfoterisin B'ye karşı direnç saptanmıştır (4 µg/ml). Amfoterisin B'nin çalışılan kandida suşlarına karşı MİK dağılımı Şekil 8'de gösterilmiştir.



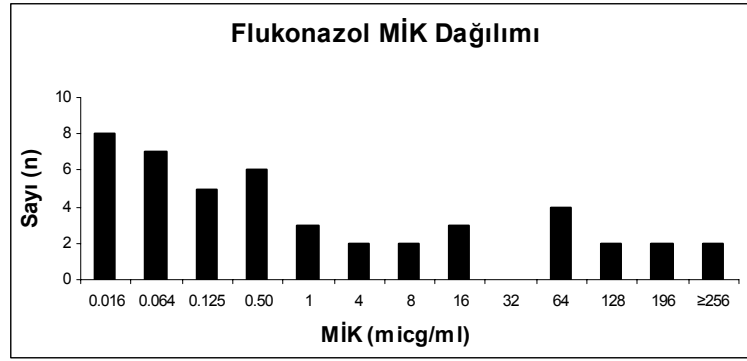
Şekil 8. Kandida Suşlarında Amfoterisin B' ye Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.

Çalışmada bir *C. krusei*, bir *C. tropicalis* ve bir *C. glabrata* suşunda olmak üzere toplam üç (%6.5) kandida türünde de flusitozine karşı direnç bulunmuştur. Flusitozinin test edilen suşlara karşı MİK dağılımları Şekil 9'da gösterilmiştir. Flusitozine karşı az duyarlı suş saptanmamıştır.



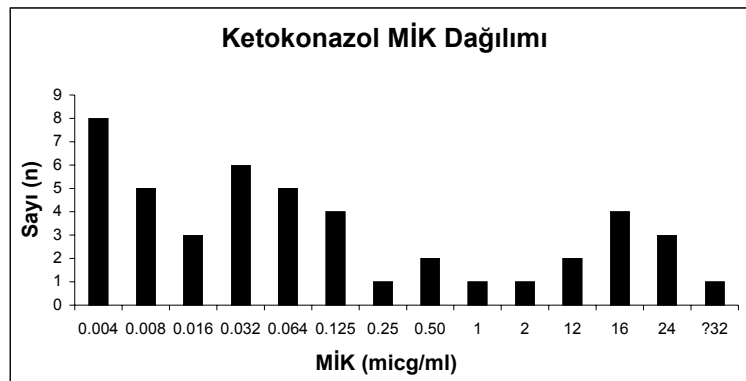
Şekil 9. Kandida Suşlarında Flusitozine Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.

Çalışmada iki *C. albicans*, dört *C. krusei* ve dört *C. glabrata* olmak üzere toplam 10 (%21.7) kandida türünde flukonazol direnci izlenmiştir. İki *C. parapsilosis* ve bir *C. tropicalis* suşunda ise az duyarlılık saptanmıştır (16-32 µg/ml). (Şekil 10)



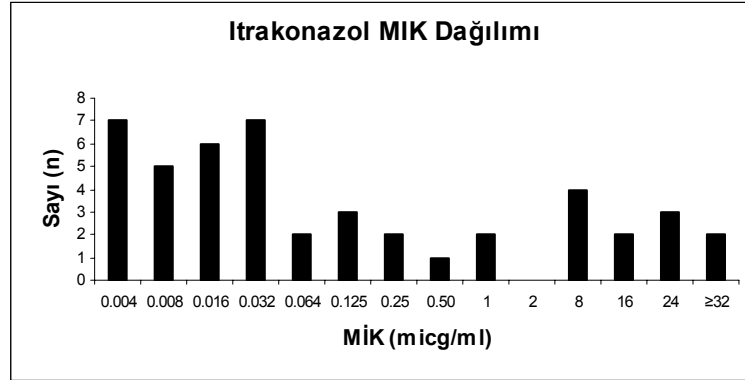
Şekil 10. Kandida Suşlarında Flukonazole Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.

Çalışmaya alınan suşlardan iki *C. albicans*, üç *C. krusei*, üç *C. glabrata*, bir *C. tropicalis* ve bir *C. guilliermondii* olmak üzere toplam 10 (%21.7) kandida türünde ketokonazol direnci izlenmiştir. Bir *C. guilliermondii* suşunda ise az duyarlılık saptandı (2 µg/ml). (Şekil 11)



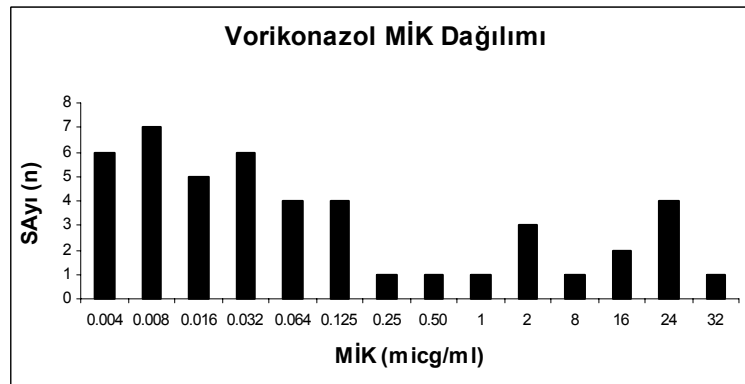
Şekil 11. Kandida Suşlarında Ketokonazole Karşı Ölçülen MİK Değerlerinin Dağılımı.

Çalışmada üç *C. albicans*, dört *C. krusei*, dört *C. glabrata* ve bir *C. tropicalis* olmak üzere toplam 11 (%23.9) kandida türünde itrakonazol direnci izlenmiştir. Bir *C. parapsilosis* ve bir *C. guilliermondii* suşunda ise az duyarlılık saptanmıştır (1 µg/ml). (Şekil 12)



Şekil 12. Kandida Suşlarında Itrakonazole Karşı Ölçülen MİK Değerleri.

Çalışmada iki *C. albicans*, üç *C. krusei* ve üç *C. glabrata* olmak üzere toplam sekiz (%17.3) kandida türünde vorikonazol direnci izlenmiştir. Bir *C. guilliermondii* ve bir *C. parapsilosis* suşunda ise az duyarlılık saptandı (2 ve 4 µg/ml). (Şekil 13)



Şekil 13. Kandida Suşlarında Vorikonazole Karşı Ölçülen MİK Değerleri.

Çalışmaya alınan kandida türlerine karşı test edilen antifungal ilaçların $MİK_{50}$, $MİK_{90}$ değerleri ve türlere göre antifungal direnç oranları hesaplanarak Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Antifungal İlaçların $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ Değerleri ve Suşlara Göre Direnç Oranları.

KANDİDA TÜRLERİ (n)	Antifungal Direnç Sıklığı (%)					
	AB	KT	VR	IT	FL	FC
<i>C. albicans</i> (24)	0	8.3	8.3	12.5	8.3	0
<i>C. krusei</i> (5)	0	60	60	80	80	20
<i>C. tropicalis</i> (7)	14.2	14.2	0	14.2	0	14.2
<i>C. glabrata</i> (4)	0	75	75	100	100	25
<i>C. parapsilosis</i> (3)	0	0	33.3*	33.3*	66.6*	0
<i>C. guilliermondii</i> (3)	0	33.3*	33.3*	33.3*	33.3*	0
$MİK_{50}$	0.019	0.064	0.032	0.032	0.5	0.032
$MİK_{90}$	0.75	16	16	16	128	4

(AB: Amfoterisin B, KT: Ketokonazol, VR: Vorikonazol, IT: Itrakonazol, FL: Flukonazol, FC: Flusitozin, * Az duyarlı suşlar)

6. TARTIŞMA

Son yıllarda mantar türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar hızla artmaktadır. Farklı merkezlerde yapılan çalışmalar sonucunda nozokomiyal mantar enfeksiyon sıklığı 1981 yılında 1000 taburcu olan hasta başına %0.9 iken, 1993 yılında 1000 taburcu olan olgu başına %6.6 olarak saptanmıştır (42). Yine bu çalışmada kandida enfeksiyonlarının hastanede kalış süresinin 30 gün uzamasına neden olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada kandida enfeksiyonlarına bağlı mortalite %38 olarak saptanmıştır (43).

Antifungal ilaç tedavisi, amfoterisin B klinik kullanıma girinceye kadar metilen mavisi ve potasyum iyodür ile sınırlı kalmıştır (26). Amfoterisin B' den sonra flusitozin; ardından da azoller kullanılmaya başlanmıştır (27). Günümüzde kullanılan antifungal ilaçlara 10 yıl öncesine kadar çok seyrek direnç görülmekte iken, 1990' lı yıllarda direnç özellikle immünsuprese hastalarda önemli bir sorun haline gelmeye başlamıştır (30).

Mantarların ciddi morbidite ve mortalite oluşturan hastalıklara son 20 yılda neden olmaya başlaması, antifungal ilaç seçeneklerinin az olması ve yakın zamana kadar antifungal ilaçlara direncin fazla görülmemesi nedeniyle, mantar duyarlılık testleri yeterince gelişmemiştir (39). Antifungal duyarlılık testlerinin geliştirilmesi ve standardizasyonu için NCCLS tarafından bir alt komite kurularak çalışmalara başlanmış ve son olarak 1997 yılında M27-A yayınlanmıştır (38).

Standart bir yöntem önerilmiş olmasına rağmen henüz antifungal duyarlılık sonuçları ile ilgili sorunlar çözülmemiştir. Kandida suşları için flukonazol, itrakonazol ve flusitozin için MİK direnç sınır değerleri hala kesinlik kazanmamıştır. Aynı durum amfoterisin B için de geçerlidir (36). Bunun nedeni standart yöntemin amfoterisin B' ye duyarlı ve dirençli suşları ayırt etmekte yetersiz

kalmasıdır. Azol türevlerinde ise MİK değerleri belirlenirken, %80 azalma olması duyarlılık kriteri olarak kabul edilmektedir (36).

Çalışmamızda, subjektif hata ihtimaline karşı, öneriler doğrultusunda plaklar 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda değerlendirilmiştir.

Flukonazol için MİK değeri ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$ olan suşlar duyarlı, 16-32 $\mu\text{g/ml}$ olanlar doza bağlı duyarlı, $32 \geq \mu\text{g/ml}$ olanlar dirençli kabul edilmektedir (36). Ancak bu değerler *C. krusei* için geçerli değildir. Çünkü MİK değerinden bağımsız olarak *C. krusei* flukonazole intrinsik dirençli kabul edilmelidir (36, 44).

Flusitozin için NCCLS' te duyarlılık, orta duyarlılık ve dirençlilik sınırları halen kesinlik kazanmamıştır. Ancak, MİK değeri ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$ olan suşlar duyarlı, 8-16 $\mu\text{g/ml}$ olan suşlar orta duyarlı, ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ olan suşlar ise dirençli kabul edilmektedir (36).

ABD'de yapılan bir çalışmada 89 *C. tropicalis* suşu için flusitozin MİK değerleri 0.25-1 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur (45). Belçika'dan bildirilen verilere göre *C. albicans* için flusitozin MİK aralığı 0.12-64 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmış olup toplam 36 suştan birisi orta duyarlı ve birisi dirençli bulunmuştur (46).

Kandidalar, gastrointestinal ve üro-genital sistem, deri, üst solunum yolları gibi bir çok vücut florasında konakçı olarak yaşayan mayalar olup, taksonomik olarak 200'den fazla türü bulunmaktadır (47). Kandidaların ancak %10'u insan için patojendir (47). Sağlıklı kişilerde, çoğunlukla kendi kendini sınırlayan, tanısı kolay, yüzeysel ve mukozal enfeksiyonlara yol açarlar. Bu tip enfeksiyonlar, basit hijyenik tedbirler ve lokal ilaç tedavileri ile genellikle iyileştirilebilmektedir (47-49).

Kandidaya bağlı hayatı tehdit eden invaziv ve sistemik enfeksiyonlar nadir olarak izlenebilmekle birlikte bunların çok büyük bir kısmı immün sistemi baskılanmış veya genel durumu aşırı bozulmuş kişilerde gelişmektedir (50). Bu tür

hastalardaki kandida sepsislerinin mortalitesi, sık izlenen septik şok ve çoklu organ yetmezliklerinden dolayı oldukça yüksektir (51).

İnvaziv kandidiyazis, iki farklı klinik durum için ortak kullanılan bir terimdir. Bunlardan biri kandidemi, diğeri ise sistemik veya yaygın kandidiyazistir. Kandidemi, pozitif infektif bulgular eşliğinde kandan bir kandida türünün izole edilmesidir. Nötropenik hastalar, greft alıcıları veya steroid alan hastalarda bazen klinik bulgular saptanmayabilmektedir. Sistemik veya yaygın kandidiyazis ise, bir kandida türünün olmaması gereken bir dokuda (steril bölgelerde) varlığının kültürle veya histopatolojik olarak saptanmasıdır. Ancak yine de, invaziv kandidiyazis, çoğunlukla hematojen kandida enfeksiyonları için genel kullanılmaktadır (51).

Bin dokuz yüz doksan iki yılında Avrupa’da yapılan, 17 ülkeden 1417 yoğun bakım ünitesinin katıldığı bir çalışmada yaklaşık 10 bin hasta taranmış ve invaziv kandidiyazis sıklığı %17 olarak saptanmıştır (52). Aynı çalışmada kandidemi, *Candida spp.* kökenli enfeksiyonların %10-20’ sinden sorumlu bulunmuş ancak, gerçek değerin bundan çok daha yüksek olduğu düşünülmüştür (52).

Birleşik devletlerde 1990-99 yılları arasında, yaklaşık 790 yoğun bakım ünitesinde yapılan bir araştırmada ise kandidalar; koagülaz negatif stafilokoklar, *Staphylococcus aureus* ve enterokoklardan sonra dördüncü en sık kan izolatu olarak bulunmuş ve kan dolaşımı enfeksiyonlarının %5-10’undan sorumlu tutulmuştur (50, 53, 54). Ancak bununla birlikte, kandidemi sıklığının çalışılan hasta popülasyonunun özellikleri ve çalışma yapılan hastanenin yoğunlaştığı konularla yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir (54).

Yapılan bir çok çalışmada, kandidaya bağlı ciddi sistemik enfeksiyonların, çalışılan hasta popülasyonu ve merkezler arasında farklılıklar gösterdiği

saptanmıştır (51). Bununla birlikte, aynı merkezlerde yıllara göre kandida enfeksiyonlarında artış olduğu da izlenmiştir. Birleşik devletlerde, 115 nozokomiyal enfeksiyon s rveyans programına (NNIS) dahil hastanede, 1980 ve 1990 yılları arasında kandidemi sıklığı 1000 hasta başına 2 epizodtan 3.8 epizoda; benzer olarak, Almanya'daki 5 hastanenin kayıtlarının tarandığı bir çalışmada ise 10 bin hasta başına 1987'de 0.37 olan kandidemi sıklığının 1995'te 0.72 epizoda yükseldiğı saptanmıştır (55, 56). Diğ er taraftan, kanser veya transplantasyon merkezlerinde, diğ er hastanelere göre yaklaşık 2 kat fazla invaziv kandidiyazis görüldüğü bildirilmekle birlikte, yoğ un bakım üniteleri bulunan 3. basamak sağık hizmeti sunan hastanelerdeki yaygın kandida enfeksiyonları önemini gittikçe arttırmaktadır (51).

Bu bilgiler ışığında, kandidaya bağılı invaziv enfeksiyonların artık nadir rastlanan klinik durumlar olmadığı ve sadece n tropenik ve immün süprese hastalarla sınırlı olmadığı anlaşılmaktadır. Genel durumu kötü, yaşam destek ünitelerine bağımlı yoğ un bakım hastaları, ciddi sistemik kandida enfeksiyonları için önemli bir hedef toplum olmuştur. Bundan dolayı, çalışmamıza sadece immün süprese hasta izolatları değıl, genel durumu kötü yoğ un bakım hastalarından soyutlanan suşlar da dahil edilmiştir.

Kemikiliğı nakli olan veya kemoterapi esnasında n tropeni gelişen hastalarda, azol türevlerinin profilaktik olarak kullanımı 1980'li yıllardan sonra artış göstermiştir (51). 7000 hastanın çalışıldığı bir meta-analiz raporunda, azol profilaksisinin uygulanması sonrası parenteral antifungal kullanımının yaklaşık %50 oranında azaldığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, yüzeyel ve derin kandida enfeksiyonlarının sıklığında ve kandidemiye sekonder mortalitenin de düştüğü saptanmıştır (57). Ancak diğ er taraftan, azollere karşı intrinsik direnç taşıyan non-

albicans suşların prevelansında ciddi bir artış izlenmiştir (51, 57).

İnsanlardaki kandida enfeksiyonlarının çoğu *C.albicans* tarafından oluşturulmaktadır. Bunun nedeninin, *C. albicans*'ın, floralardaki en yaygın tür olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (1, 2, 4, 51). Çalışmamızda da klinik örneklerden en sık izole edilen tür *C. albicans* (%52) olarak saptanmıştır. Bunu, ikinci sıklıkla *C. tropicalis* (%15) izlemiş ve en az tanımlanan tür ise *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii* (%7) olmuştur.

Gültekin ve arkadaşları (58), 2000 yılında yaptıkları ve farklı tanımlama metodlarını kullandıkları bir çalışmada toplam 94 kandida türünün %56' sını *C. albicans*, %20' sini *C. glabrata*, %10' unu *C. tropicalis*, %5' ini *C. kefyr* ve %1' ini ise *C. dupliniensis* olarak tanımlamışlardır.

Adiloğlu ve arkadaşları (59) tarafından aynı yıl farklı bir merkezde yürütülen bir araştırmada invaziv kandidiyazis olgularından soyutlanan toplam 38 kandida türünün %80' i *C. albicans*, %15' i *C. glabrata* ve %1' i ise *C. parapsilosis* olarak saptanmıştır.

Özçelik ve arkadaşları (60), 2004 yılında bildirilen bir çalışmada ise ID 32 C kitlerini kullanarak toplam 104 klinik izolattan en sık tanımlanan türü *C. albicans* (%77) ve en az sıklıkta soyutlanan türü ise *C. sake* (%0.9) olarak bildirmiştir.

Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir araştırmada ise çalışmaya alınan 100 kandida suşundan 45' i *C. albicans*, 16'sı *C. lusitanea*, 15'i *C. tropicalis*, 8' i *C. kefyr*, 7' si *C. parapsilosis*, 4' ü *C. guilliermondii*, 3' ü *C. glabrata* ve 2' si *C. famata* olarak bulunmuştur (61).

Yoğun bakım hastalarında yapılan bir çalışmada çoğunlukla yüzeysel doku enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 86 kandidanın 47' si *C. albicans*, 9' u *C. glabrata* ve 1' i *C. kefyr* olarak saptanmıştır (62).

Çalışmamızda, kandidaların soyutlandıkları klinik örneklerle bakıldığında, 46 suşun 11' i kandan, 7' si endotrakeal aspirat ve kateterden, 6' sı balgam ve idrardan, 4' ü yaradan, 3' ü boğazdan ve 2' si dışkıdan elde edilmiştir. *C. albicans* hemen hemen tüm klinik örneklerden en çok soyutlanan kandida türü olmuştur. Merkezimizde 2004 yılında yapılan bir çalışmada 65 kandida suşunun 39' u vaginal akıntıdan, 13' ü kandan, 9' u idrardan ve 2' si de balgam ve dışkıdan soyutlanmıştır (63).

Kandidaların tür dağılımları, çalışılan merkez, çalışılan hasta popülasyonu ve coğrafi bölgelerin özelliklerine göre değişmektedir (51).

Patojenik mantarlara karşı kullanılabilecek ilaç gruplarının sayısı azdır (51, 64, 65). Ciddi mantar hastalıklarında, mantar hücre zarındaki ergosterol ile etkileşerek fungisid etki gösteren amfoterisin B; ve ergosterol sentezini inhibe eden flukonazol, itrakonazol ve ketokonazol gibi ilaçlar sıklıkla tercih edilmektedir. Azol grubundan vorikonazol ve ekinokandinlerden kaspofungin henüz yeni kullanıma girmiş ve ciddi enfeksiyonların tedavisine sunulmuş antifungallerdir. Flusitozin ise mayanın DNA ve RNA sentezini inhibe ederek etki göstermektedir. İlacın dışarıya pompalanması, ilacın bağlandığı hedef molekülün yapısal değişimi veya o molekülün üretiminin azaltılması ve farklı biyokimyasal yolların kullanılarak ilacın inhibisyonunun etkisiz hale getirilmesi, kandidalardaki antifungal ilaç direncinin bilinen yollarıdır (64, 65).

Kandidalarda, CDR 1, CDR 2, CgCDR 1 ve PHD 1 gibi genlerin up regülasyonu sonucu eflüks sistemlerinin aşırı kullanımı ortaya çıkmaktadır. Sonuçta, özellikle başta azoller olmak üzere bir çok antifungalın hücre içinde birikimi engellenmekte; ve dolayısı ile direnç veya azalmış duyarlılığın ortaya çıkması görülmektedir. Ayrıca, Erg 11 P, kandidalardaki azol türevlerinin

bağlandığı bir proteindir. Bu proteinin sentezi esnasında aminoasit değişimi sonucu hedef molekülün yapısı değişmekte, azollerin bağlanması azalmakta veya kaybolmakta ve sonuçta orta-yüksek düzey azol direnci izlenebilmektedir. *C. glabrata* ve *C. krusei*’ de izlenen intrinsik azol direncinin temelinde bu mekanizmanın daha fazla rol oynadığı bildirmiştir (64, 65).

Çalışmamızda test edilen antifungaller içinde en etkin ilaç amfoterisin B olarak saptanmıştır. Çalışılan toplam 46 suş içerisinde sadece bir *C. glabrata* türünde (%2) orta düzeyde (4 µg/ml) amfoterisin B direnci izlenmiştir. Amfoterisin B için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerinin ikisi de duyarlı sınırlarda olup sırasıyla 0.019 µg/ml ve 0.75 µg/ml olarak saptanmıştır. Çalışmamızda etkinlikleri ölçülen antifungaller içinde ikinci en etkin ilaç flusitozin (%93.5) olarak bulunmuştur. Tüm suşlar içinde bir *C. krusei*, bir *C. tropicalis* ve bir *C. glabrata* suşu flusitozine karşı sırasıyla 32 µg/ml, ≥32 µg/ml ve ≥32 µg/ml MİK değerlerinde dirençli olarak saptanmıştır. Flusitozinin için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerinin ikisi de duyarlı sınırlarda olup sırasıyla 0.032 µg/ml ve 4 µg/ml olarak ölçülmüştür. Çalışmamızda, azol grubundan en etkin antifungal vorikonazol (%82.7); en düşük duyarlılıklı antifungal ise itrakonazol (%76.1) olarak saptanmıştır. Ketokonazol ve flukonazol, azoller içinde orta etkinlikli antifungaller olarak gözlenmiş ve duyarlılıkları %78.3 olarak bulunmuştur.

Özçelik ve arkadaşlarınca (60) 2004 yılında yapılan bir çalışmada 104 kandida suşunun %100’ ü amfoterisin B ve vorikonazole ve %93’ ü flusitozin ve flukonazole duyarlı bulunmuştur.

Kaya ve arkadaşları (66) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise suşların yaklaşık %70’ inin hastane kökenli olduğu 97 kandidanın antifungal duyarlılıkları ticari bir kit ile (Candifast/İtalya) ölçülmüş ve bu suşların amfoterisin B duyarlılığı

%100, flusitozin duyarlılığı %98.9, ketokonazol duyarlılığı %90 ve flukonazol duyarlılığı %89 olarak bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada, yarı otomatik bir duyarlılık testi olan API ATB Fungus (Bio Mérieux/Fransa) kitleri ile 38 kandida türünün duyarlılıkları ölçülmüş; flusitozin ve amfoterisin B etkinliği %98, ketokonazol etkinliği ise %55 olarak bulunmuştur (59).

Yılmaz ve arkadaşları (61), 100 kandida suşunda amfoterisin B, flukonazol ve itraconazol etkinliğini E test yöntemiyle ölçülmüş ve *C. albicans* suşlarda duyarlılıkları sırasıyla %98, %58 ve %56; non-albican suşlarda etkinlikleri sırasıyla %96, %44 ve %64 olarak saptanmıştır. Amfoterisin B, flukonazol ve itraconazol için ölçülen MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0.125-0.75; 0.50->256 ve 0.125->32 µg/ml olarak saptanmıştır (61).

Yoğun bakım kökenli izolatlarda amfoterisin B ve flukonazol etkinlikleri mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmış ve MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri her bir antibiyotik için sırasıyla 0.25-1; 0.125->64 µg/ml olarak bildirilmiştir (62).

Altmış kandida türünün çalışıldığı bir çalışmada ise amfoterisin B, flukonazol, itraconazol ve ketokonazol etkinlikleri E test yöntemi ile araştırılmış ve bu ilaçların duyarlılıkları sırasıyla %97, %66, %53 ve %32 olarak bulunmuştur (67).

Çalışmamızda, çoğunlukla invaziv kandidiyazis gelişen immun durumu bozuk hastalardan soyutlanan kandidaların antifungal duyarlılık durumları E test yöntemi ile araştırılmış; amfoterisin B ve flusitozin en etkin ilaçlar olarak saptanmıştır. Çalışmaya alınan azol grubu antifungallerin özellikle non-albicans türlere karşı etkinlikleri oldukça düşük saptanmıştır. Dolayısı ile, kandida enfeksiyonlarında ampirik tedaviye başlarken en azından patojenin tür ayrımının yapılması, tedavinin başarısını arttırabilecek bir faktör olacaktır.

AIDS hastalığının hızla yayılması, organ veya doku naklinin gelişmesi, invaziv girişimlerin ve majör cerrahilerin daha sık yapılması, yaşam sürelerinin uzaması ile yaşlı ve düşkün hasta sayısının artması, malign hastalıklar nedeniyle kemik iliğine toksik kemoterapötiklerin daha sık kullanılması ve yoğun bakım ünitelerinin yaygınlaşması ile yaşam destek ünitelerine bağlı hasta sayısının yükselmesi sonucu kandidanın hedefinde bulunan hasta popülasyonu gittikçe daha da artmaktadır. Bu durum, en az bakteriyel patojenler kadar mortalite ve morbidite nedeni olan kandidaların önemini arttırmıştır. Sonuçta, özellikle riskli kişilerde meydana gelen invaziv ve yaygın kandida enfeksiyonlarının tedavisi için tür tanımlamasının ve antifungal duyarlılık deneylerinin rutin olarak yapılmaya başlanması ve direnç gelişimini en aza indirecek antifungal kullanım protokollerinin oluşturulması faydalı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Bruun B, Westh H, Stenderup J. Fungemia: an increasing problem in a Danish university hospital from 1989 to 1994. *J Clin Microbiol Infect* 1995; 1: 124-9.
2. Beck CM, Jarvis WR. The national nosocomial infections surveillance system: secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the US, 1988-1990. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247-53.
3. Kao AS, Brandt ME, Pmitt WR, Conn LA, Perkins BA. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. *J Clin Infect Dis* 1999; 29: 1164-70.
4. Yücesoy M, Yuluğ N. Kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* türlerinin antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2000; 14: 71-8.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution susceptibility testing of yeasts: Proposed standard. NCCLS Document M27-P, Villanova, Pennsylvania, 1992.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution susceptibility testing of yeasts: Proposed standard. NCCLS Document M27-T, Villanova, Pennsylvania, 1995.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution susceptibility testing of yeasts: Proposed standard. NCCLS Document M27-A, Villanova, Pennsylvania, 1996.
8. Edwards JE. *Candida* Species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R.(eds) *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone 2000: 2656-74.

9. Rippon JW. Medical Mycology. Eds 2.ed. New York, WB Saunders 1982:484-532.
10. Bilgehan H. Candida'nın Tarihçesi, Ekolojisi ve Dağılımı. Candida ve Enfeksiyonları. Tümbay E. İzmir, Bilgehan Basımevi 1986:1-9.
11. Koneman EW, Auren SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Wilm WC. Mycology. In: Diagnostic Microbiology, 5th ed. Philadelphia, Lippincott 1997:983-1069.
12. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Omston LN. Medical Mycology. In: Medical Microbiology, 18th ed. Connecticut, Appleton and Lange 1989:294-314.
13. Rodriguez-Todela JL, Martinez-Suarez JV. Improved medium for voriconazole susceptibility testing of *Candida albicans*. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 45-8.
14. Kiraz N. Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* suşlarının fenotiplendirilmesi ve farklı fenotiplerin bazı antifungal maddelere duyarlılıklarının araştırılması. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yan Dal Uzmanlık tezi 1996.
15. Buckley HR. Identification of yeasts. In: Evans EG, Richardson MD (eds). Medical Mycology: A Practical Approach. Oxford, Oxford University Press, 1989: 97-109.
16. Larone DH. Yeasts and yeast like organisms. In: Medically important Fungi, 3rd ed. Washington, ASM Press 1995: 61-90.

17. Warren NG, Shadomy HJ. Candida, cryptococcus and other yeasts of medical importance. in Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). Manual of Clinical Microbiology, 6th edition. Washington DC, ASM Press 1995; 723-37.
18. Berardinelli S, Opheim D. New germ tube induction medium for identification of *Candida albicans*. J Clin Microbiol 1985; 22: 861-2.
19. Price MF, Larocco MT, Gentry LO. Fluconazole susceptibilities of Candida species recovered from blood cultures over a 5 year period. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 1422-4.
20. Birinci A. Candida türlerinin tiplendirilmesinde ve antifungal duyarlılığının belirlenmesinde çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması. Samsun. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim dalı. Uzmanlık Tezi 1999.
21. Baumgartner C, Freydiere AM, Gille Y. Direct identification of yeast species from clinical material by using Albicans ID and CHROMagar Candida plates. J Clin Microbiol 1996; 34: 454-6.
22. Freydiere AM, Buchaille L, Gille Y. Comparison of three commercial media for direct identification and discrimination of Candida species in clinical specimens. Euro J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16: 464-7.
23. Yamane N, Saitoh Y. Isolation and detection of multiple yeasts from a single clinical sample by use of Pagano-Levin agar medium. J Clin Microbiol 1985; 21: 276-77.
24. Kuştimur S. Kandidiyazis patogenezinde rol oynayan faktörler. Mikrobiyol Bül 1994;28:175-81.

25. Erensoy E. Mantarların saptanmasında moleküler biyolojik yöntemlerin kullanılması. XXVII. Türk mikrobiyoloji Kongresi 1996 Antalya, Kongre kitabı, s. 121-2.
26. Stevens DA, Bennett JE. Antifungal agents. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R.(eds) Principles and Practice of infectious Diseases, 5th ed. Philadeiphia, Churchill Livingstone 2000: 448-59.
27. Tümbay E, İnci R. Antifungal ilaçlar, Enfeksiyon Hastalıkları. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (eds). Ankara, Nobel Tıp Kitabevi 1996: 195-202.
28. Yıldırım ŞT. Yeni geliştirilen azoller. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi 2001 Ankara, Kongre kitabı, s: 141-8.
29. Ener B. Yeni antifungaller üzerine çalışmalar. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 1996 Antalya, Kongre kitabı, s: 123-5.
30. White TC, Marr KA, Bowden RA. Clinical, cellular and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 382-402.
31. Ankan S. Lipozomal nistatin, ekinokandinler ve sordarinler. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi 2001 Ankara, Kongre kitabı, s: 149-54.
32. Taşova Y. Amfoterisin B'nin lipit formülasyonları. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi 2001 Ankara, Kongre kitabı, s: 163-79.
33. Viong-Beringer A, Jacobs RA, Gringellimo BJ. Lipid formulations of amphotericin B: clinical efficacy and toxicities. Clin Infect Dis 1998; 27: 603-18.

34. Viingard JR, White MH, Anaissie E. A randomized, double-blind comparative trial evaluating the safety of liposomal amphotericin B vs amphotericin B lipid complex in the empirical treatment of febrile neutropenia. Clin Infect Dis 2000; 31: 1155-63.
35. Göller S. Klinik örneklerden izole edilen kandidaların tiplendirilmesi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları. İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, 1999.
36. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution susceptibility testing of yeasts: Approved standard. NCCLS Document M27-A, Villanova, Pennsylvania, 1997.
37. Wildfeuer A. Fluconazole: Pharmacokinetics, therapy, susceptibility. Mycoses 1997; 40: 259-65.
38. Arıkan S. Antifungal duyarlılık testlerini ne zaman ve nasıl yapalım. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 2002 Antalya, Kongre kitabı s: 243-6.
39. Ener B. Antitüberküloz ve antifungal duyarlılık testlerinde yenilikler. Antibiyotik duyarlılık testlerinin standardizasyonu toplantısı 1997 İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayınları s: 126-33.
40. May JL, King A, Warren CA. Voriconazole disk diffusion testing for the routine laboratory. J Antimicrob Chemother 1997; 40: 511-6.
41. Kebudi R, Devecioğlu Ö, Gürler N. Tanımlar ve tanı yöntemleri. Flora 2004; 9: 73-105.
42. Chen YC, Chang SC, Sun CC, Yang LS, Hsieh WC, Luh KY. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections at a teaching hospital in Taiwan, 1981-1993. Infect Control Hosp Epidemiol 1997; 18: 369-75.

43. Said D, Anaissie, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivadan S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 1122-8.
44. Smidven P. Detection of Fluconazole resistant *Candida* strains by a disk diffusion screening test. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3856-9.
45. Zhang J, Hollis RJ, Pfaller MA. Variations in DNA subtype and antifungal susceptibility among clinical isolates of *Candida tropicalis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997; 27: 63-7.
46. Swime D, Wouytack CR, Desmet P. Comparative evaluation of Fungitest, Neosensitests and M27 T-NCCLS broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. *Mycoses* 1999; 42: 231-7.
47. Wey SB, Motomi M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess length of stay. *Arch Intern Med* 1988; 148: 2642–2645.
48. Vazquez JA, Sobel JD. Mucosal candidiasis. *Infect Dis Clin North Am* 2002; 16: 793–820.
49. Leleu G, Aegerter P, Guidet B, et al. Systemic candidiasis in intensive care units: a multicenter matched-cohort study. *J Critical Care* 2002; 17: 168–175.
50. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1526–1530.
51. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 685–702.

52. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) study. *JAMA* 1995; 274: 639–644.
53. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 239–244.
54. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) system report. Data summary from January 1992–June 2001. *Am J Infect Control* 2002; 29: 404–421.
55. Beck-Sague CM, Jarvis W. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 1993; 167: 1240-1251.
56. Voss A, Kluytmans JA, Koeleman JG, et al. Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 909–912.
57. Bow EJ, Laverdiere M, Lussier N, Rotstein C, Cheang MS, Ioannou S. Antifungal prophylaxis for severely neutropenic chemotherapy recipients: a meta analysis of randomized-controlled clinical trials. *Cancer* 2002; 94: 3230–3246.
58. Gültekin B, Aydın N. Candida türlerinin değişik yöntemlerle tanımlanması. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Sayfa:316.

59. Adiloğlu AK, Şirin MC, Arıdoğan BC, Can R, Demirci M. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen maya türlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Sayfa:313.
60. Özçelik B, Cesur S, Sipahi B, Sultan N, Abbasoğlu U. Candida türlerinde bazı antifungallerin in vito etkinliği. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Sayfa:327.
61. Yılmaz B, Batırel A, Genç S, Özer S. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen candida suşlarının tiplendirilmesi ve amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazol duyarlılıklarının Etest ile belirlenmesi. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Sayfa:313.
62. Yücesoy M, Maral S, Belirgen BC, Acarer V. Yoğun bakım hastalarından soyutlanan maya türleri ve antifungal duyarlılıkları. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Sayfa:313.
63. Doğukan M, Arslan E, Yakupoğulları Y, ve ark. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen candida suşlarının alt tür ayrımları ve antifungal duyarlılıklarının saptanması. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Sayfa:327.
64. Canuto MM, Rodero FG. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. Lancet Infect Dis 2002; 2: 550-563.
65. Sanglard D, Odds FC. Resistance of Candida species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. Lancet Infect Dis 2002; 2: 73-85.

66. Kaya S, Avunduk H, Özyağcı G, Bakızı ZM. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen candida cinsi mayaların dağılımı ve antifungallere duyarlılıklarının belirlenmesi. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Sayfa:328.
67. Sürücüoğlu S, Değerli K, Kurutepe S, ve ark. İnvaziv enfeksiyon etkeni olan candida izolatlarında antifungal direncin incelenmesi. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Sayfa:314.

9. ÖZGEÇMİŞ

Oniki haziran 1974 tarihinde Elazığ'ın Keban ilçesinde doğdum. İlk öğrenimimi Keban ve Elazığ'da tamamladım. Orta ve lise öğrenimimi Elazığ Anadolu Lisesinde bitirerek 1992 yılında mezun oldum.

Aynı yıl girdiğim üniversite sınavında Dokuz Eylül Üniversitesi İnşaat Mühendisliği Fakültesini kazandım. Bir yıl burada okuduktan sonra 1993 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim.

Onüç eylül 1999 tarihinde Keban ilçesinde pratisyen hekim olarak meslek hayatıma başladım. Yaklaşık 3 yıl bu görevde çalıştıktan sonra Nisan 2002 tarihinde yapılan tıpta uzmanlık sınavını kazanarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana bilim dalına araştırma görevlisi olarak atandım.

Halen bu göreve devam etmekteyim.

Bekarım.