



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
CANDIDA TÜRLERİNDEKİ VİRÜLANS
FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE
ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Efgan Doğan GAYYURHAN
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Fahriye EKŞİ**

ŞUBAT 2009

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
CANDIDA TÜRLERİNDEKİ VİRÜLANS
FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE
ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Efgan Doğan GAYYURHAN
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Fahriye EKŞİ**

Bu tez Gaziantep Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TF.08.08 proje numarası ile desteklenmiştir.

I. ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresinde en iyi şekilde yetişmem için çalışan, bilgi, tecrübe ve desteğini esirgemeyen, Anabilim Dalı başkanımız sayın Prof. Dr. İclal BALCI hocama, tez çalışmamda büyük emeği ve katkısı olan tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Fahriye EKŞİ'ye, yardımlarını, bilgilerini ve deneyimlerini esirgemeyen Doç. Dr. Tekin KARSLIGİL ve Doç. Dr. Ayşen BAYRAM'a, Uzm. Dr. Yasemin ZER'e, tüm mesai arkadaşlarıma ve sabrından dolayı sevgili eşim Tuğba GAYYURHAN ve biricik oğlum Emir Yaşar'a çok teşekkür ederim.

Dr. Efgan Doğan GAYYURHAN

Gaziantep-2009

II. İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I. ÖNSÖZ	I
II. İÇİNDEKİLER	II
III. ÖZET	V
IV. ABSTRACT	VII
V. KISALTMALAR	IX
VI. TABLO LİSTESİ	XI
VII. RESİM LİSTESİ	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Tarihçe	4
2.2 Candidaların sınıflandırılması ve genel özellikleri	4
2.3 Ekoloji ve epidemiyoloji	8
2.4 Patogenez ve patoloji	10
2.5 Candida infeksiyonları (kandidoz)	16
2.5.1 Yüzeyel kandidozlar	16
2.5.1.1 Candida dermatiti	16
2.5.1.2 Ağız kandidozu	16
2.5.1.3 Candida özofajiti	17
2.5.1.4 Candida vajiniti	17
2.5.1.5 Kronik mukokutanöz kandidoz (KMK)	17
2.5.2 Derin (sistemik) kandidozlar	17
2.5.2.1 Kandidemi	18
2.5.2.2 Merkezi sinir sistemi kandidozu	19
2.5.2.3 Solunum sistemi kandidozu	19
2.5.2.4 Candida endokarditi	20
2.5.2.5 Candida osteomyeliti	20
2.5.2.6 Candida endoftalmiti	20

2.5.2.7 Gastrointestinal candida infeksiyonları	20
2.5.2.8 Kandidüri ve üriner sistem kandidozu	21
2.6 Candida immünolojisi	21
2.7 Candidaların tanısı	23
2.7.1 Mikroskopik inceleme	23
2.7.2 Kültür	24
2.7.2.1 Primer izolasyon	24
2.7.2.2 İdentifikasyon	24
2.7.2.2.1 Germ tüp testi	24
2.7.2.2.2 Mısırunlu Tween 80 besiyerinde morfolojik görünüm	25
2.7.2.2.3 Karbonhidrat asimilasyon testleri	25
2.7.2.2.4 Karbonhidrat fermentasyon testleri	25
2.7.2.2.5 Üreaz testi	25
2.7.2.2.6 Hızlı trehaloz testi	26
2.7.2.2.7 Kromojenik besiyerleri	26
2.7.3 Kültür dışı tanı yöntemleri	26
2.7.3.1 Serolojik yöntemler	26
2.7.3.2 Moleküler yöntemler	28
2.8 Candida infeksiyonlarının tedavisi	28
2.8.1 Candida infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antifungaller	29
2.8.1.1 Polyenler	29
2.8.1.2 Azoller	30
2.8.1.3 Ekinokandinler	32
2.8.2 Candida türlerinde antifungal direnç	32
2.8.2.1 Amfoterisin B direnci	32
2.8.2.2 Azol derivelerine direnç	33
2.8.2.3 Ekinokandinlere direnç	34
2.8.3 Candida türlerinde antifungal duyarlılık testleri	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1 İzolasyon ve identifikasyon	38
3.1.1 Primer izolasyon	38
3.1.2 İdentifikasyon	38

3.1.2.1 Germ tüp (çimlenme borusu) testi	38
3.1.2.2 Mısırunu Tween 80 agarda mikroskopik görünümün incelenmesi	39
3.1.2.3 Kromojenik besiyeri	40
3.1.2.4 ID 32C Maya identifikasyon sistemi	41
3.2 Virülans deneyleri	42
3.2.1 Asit proteinaz aktivitesinin incelenmesi	42
3.2.1.1 Besiyeri ve çözelti hazırlama	42
3.2.1.2 Deneyin yapılışı	42
3.2.2 Fosfolipaz aktivitesinin incelenmesi	43
3.2.2.1 Yumurta sarılı agar besiyeri hazırlanışı	43
3.2.2.2 Deneyin yapılışı	43
3.2.3 Esteraz aktivitesinin incelenmesi	44
3.2.3.1 Tween 80 agar besiyerinin hazırlanışı	44
3.2.3.2 Deneyin yapılışı	44
3.2.4 Biyofilm (slime faktör) oluşumunun incelenmesi	45
3.3 Antifungal duyarlılık testleri	45
3.3.1 Besiyerinin hazırlanması	45
3.3.2 Antifungal stok solüsyonlarının hazırlanması	46
3.3.3 Mikroplağın hazırlanması	46
3.3.4 İnokülasyon işlemi	47
3.3.5 MİK değerlerinin saptanması	47
3.4 İstatistiksel değerlendirme	48
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	78
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	96
7. KAYNAKLAR	98

III. ÖZET

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA TÜRLERİNDEKİ VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Efgan Doğan GAYYURHAN

Uzmanlık tezi

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Yrd. Doç. Dr. Fahriye EKŞİ

Şubat 2009, 115 Sayfa

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma Hastanesi'nin değişik kliniklerinden Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 candida suşu değerlendirmeye alınarak, virülans faktörleri ve antifungal duyarlılıkları araştırıldı.

Candida suşlarının tür düzeyinde tanımlanması için germ tüp testi, mısırunu-Twen 80 besiyerinde mikroskopik görünüm, Candida ID 2 agarda koloni renginin incelenmesi gibi klasik yöntemler ile birlikte API ID 32C (bioMerieux, Fransa) identifikasyon kiti kullanıldı.

Candida kökenlerinin proteinaz üretiminin incelenmesi için sığır serum albumin agar, fosfolipaz üretimi için yumurta sarılı agar, esteraz üretimi için Tween 80 agar ve slime üretimi için modifiye tüp aderans yöntemi kullanıldı. Kökenlerin amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungine duyarlılıkları, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)'ın M27-A3 dokümanındaki referans buyyon mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak araştırıldı ve her bir ilaç için MİK aralıkları, MİK50 ve MİK90 değerleri belirlendi.

İzole edilen 200 candida suşunun 106'sı (%53) *C.albicans*, 49'u (%24.5) *C.parapsilosis*, 15'i (%7.5) *C.tropicalis*, 9'u (%4.5) *C.krusei*, 8'i (%4) *C.kefyr*, 4'ü (%2) *C.glabrata*, 4'ü (%2) *C.famata*, 3'ü (%1.5) *C.lusitaniae*, 2'si (%1) *C.guilliermondii* olarak identifiye edildi.

Candida albicans suşlarının %79.2'si, albicans dışı candida suşlarının %20.2'si proteinaz olumlu, *C.albicans* suşlarının %95.3'ü, albicans dışı candida suşlarının %1.1'i fosfolipaz olumlu, *C.albicans* suşlarının %96.2'si, albicans dışı candida suşlarının %34'ü esteraz olumlu idi. *C.albicans* suşlarının proteinaz, fosfolipaz ve esteraz aktiviteleri, albicans dışı candidalara göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Bununla birlikte, *C.albicans* suşlarının %9.4'ü, albicans dışı candida suşlarının %51.1'i slime olumlu bulundu. Albicans dışı candidaların slime aktivitesi, *C.albicans* suşlarına göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$).

Antifungal ilaçların MİK aralıkları amfoterisin B için 0.03-1 µg/mL, flukonazol için 0.125-≥64 µg/mL, vorikonazol için 0.03-16 µg/mL, kaspofungin için 0.015-0.25 µg/mL idi. Candida suşlarının tümü amfoterisin B ve kaspofungine duyarlı idi.

İzolatların 33'ü (%16.5) flukonazole dirençli, 12'si doza bağlı duyarlı bulundu. Sekiz (%4) izolat vorikonazole dirençli iken, 4 (%2) izolat doza bağlı duyarlı idi.

Virölans faktörleri ile antifungal direnç arasındaki ilişki incelendiğinde, albicans dışı candida suşlarında, esteraz aktivitesi ile vorikonazol direnci arasında ve slime aktivitesi ile flukonazol direnci arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0.05$).

Anahtar kelimeler: Candida, Virölans faktörleri, Antifungal duyarlılık

IV. ABSTRACT

EVALUATION OF VIRULENCE FACTORS AND ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITIES OF CANDIDA SPECIES ISOLATED FROM VARIOUS CLINICAL SPECIMENS

Efgan Dogan GAYYURHAN, M.D.

Residency Thesis

Department of Microbiology and Clinical Microbiology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Fahriye EKSI

February 2009, 115 Pages

Two-hundred of candida strains were isolated from various clinical specimens which were sent to the microbiology laboratory of Gaziantep University, Medical Faculty, Şahinbey Research Hospital from various clinics and their virulence factors and antifungal susceptibilities were evaluated.

Candida strains were identified to species level by using germ tube test, microscopic evaluation on cornmeal-Tween 80 agar, determination of colour of colonies on Candida ID 2 agar and API ID 32C (bioMerieux, France) identification kits. For investigation of proteinase production of candida strains, bovine serum albumine agar, for phospholipase production egg yolk agar, for esterase activity Tween 80 agar and for slime activity modified tube adherence method were used. The susceptibilities of the strains to amphotericin B, fluconazole, voriconazole, and caspofungin were evaluated by using reference broth microdilution method as described on M27-A3 document of CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Additionally, MIC ranges, MIC₅₀ and MIC₉₀ values for each drug were determined.

Of the total 200 candida strains, 106 (53%) were identified as *C.albicans*, 49 (24.5%) were *C.parapsilosis*, 15 (7.5%) were *C.tropicalis*, 9 (4.5%) were *C.krusei*, 8 (4%) were *C.kefyr*, 4 (2%) were *C.glabrata*, 4 (2%) were *C.famata*, 3 (1.5%) were *C.lusitaniae*, and 2 (1%) were *C.guilliermondii*.

For proteinase, 79.2% of *C.albicans* and 20.2% of non-albicans strains, for phospholipase 95.3% of *C.albicans* and 1.1% of non-albicans strains, for esterase 96.2% of *C.albicans* and 34% of non-albicans strains were positive. Proteinase, phospholipase and esterase production of *C.albicans* strains were higher than non-albicans candida strains which was statistically significant ($p<0.05$). For slime activity while 9.4% of *C.albicans* strains were positive, 51.1% of non-albicans strains were positive, thus slime production of non-albicans strains were higher than that of *C.albicans* strains ($p<0.05$).

MIC ranges for amphotericin B were determined as 0.03-1 µg/mL, for fluconazole 0.125-≥64 µg/mL, for voriconazole 0.03-16 µg/mL, and for caspofungin 0.015-0.25 µg/mL. All candida strains were susceptible to amphotericin B and caspofungin. Thirty-three (16.5%) isolates were resistant to fluconazole, and 12 (6%) isolates were susceptible dose-dependent. Eight (4%) isolates were resistant to voriconazole, and four (2%) isolates were susceptible dose-dependent.

As conclusion, when we investigated the relationship between virulence factors and antifungal resistance, we found out that in non-albicans candida strains there were both significant relationship between esterase activity and voriconazole resistance, and slime production and fluconazole resistance ($p < 0.05$).

Key words: Candida, virulence factors, Antifungal susceptibility

V. KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri
AIDS: Acquired immunodeficiency syndrome
ALP: Alkalen fosfataz
AMB: Amfoterisin B
AMS: Açlık mide sıvısı
BAL: Bronkoalveolar lavaj
B.Cer.: Beyin Cerrahisi
Blg.: Balgam
BOS: Beyin omurilik sıvısı
CLSI: Clinical and Laboratory Standards
D.Hem.: Dahiliye hematoloji
Dah.. Dahiliye
Derma.: Dermatoloji
ELISA: Enzyme linked immunosorbant assay
EIA: Enzyme immuno assay
EMB: Eozin metilen blue
Enf.: Enfeksiyon Hastalıkları
Est.: Esteraz
FCA: Flukonazol
FL: Fosfolipaz
G.Cer.: Genel Cerrahi
G.H.: Göğüs Hastalıkları
GİS: Gastrointestinal sistem
HIV: Human immunodeficiency virus
IgG: İmmünglobülin G
Kard.: Kardiyoloji
Kat.: Kateter

KD: Kadın Doğum
KDC: Kalp damar cerrahisi
KMK: Kronik mukokutanöz kandidoz
KSP: Kaspofungin
MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon
NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards
NK: Natural killer
Nefro.: Nefroloji
Nöro.: Nöroloji
Onk.: Onkoloji
P.Acil: Pediatrik Acil
Ped.: Pediatri
Prot.: Proteinaz
PVC: Polivinil klorür
Rean.: Reanimasyon
RIA: Radio immün assay
SAP: Salgısal asit proteinaz
SDA: Sabouraud dekstrozu agar
Srv.: Serviks
SSAA: Sığır serum albümin agar
SVK: Santral venöz kateter
TLR: Toll like reseptörü
Tr. Asp.: Trakeal aspirat
VRC: Vorikonazol
YBÜ: Yoğun bakım ünitesi
YB: Yoğun bakım
YD: Yeni doğan
YEPD: Yeast extract pepton dekstrozu

V. TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Bazı önemli candida türlerinin biyokimyasal (asimilasyon) özellikleri	6
Tablo 2. Kandidoz için predispozan faktörler	9
Tablo 3. Antifungal duyarlılık testleri	37
Tablo 4. Candida türlerinin in vitro duyarlılık testinin yorumu	48
Tablo 5. İzole edilen candidaların tür dağılımı	49
Tablo 6. İzole edilen candida türlerinin klinik örneklerle göre dağılımları	50
Tablo 7. <i>C.albicans</i> ve albicans dışı candidaların proteinaz aktiviteleri	51
Tablo 8. Candida türlerinin proteinaz aktivitesi oranları	52
Tablo 9. <i>C.albicans</i> ve albicans dışı candidaların fosfolipaz aktiviteleri	53
Tablo 10. <i>C.albicans</i> ve albicans dışı candidaların esteraz aktiviteleri	55
Tablo 11. Candida türlerinin esteraz aktivitesi oranları	55
Tablo 12. <i>C.albicans</i> ve albicans dışı candidaların slime aktiviteleri	56
Tablo 13. Candida türlerinin slime aktivitesi oranları	57
Tablo 14. Virülans özelliklerinin candida türlerine göre dağılımı	58
Tablo 15. <i>C.albicans</i> kökenlerinin virülans özelliklerinin klinik örneklerle göre dağılımı	59
Tablo 16. Albicans dışı candida kökenlerinin virülans özelliklerinin klinik örneklerle göre dağılımı	60
Tablo 17. Antifungal ilaçların candida suşlarına karşı MİK aralıkları, MİK ₅₀ ve MİK ₉₀ değerleri	62
Tablo 18. Amfoterisin B'nin MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı	63
Tablo 19. Flukonazol'un MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı	64
Tablo 20. <i>C.albicans</i> ve albicans dışı kökenlerin flukonazol direnci	65
Tablo 21. Vorikonazol'un MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı	65
Tablo 22. <i>C.albicans</i> ve albicans dışı kökenlerin vorikonazol direnci	66
Tablo 23. Kaspofungin'in MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı	66

Tablo 24. <i>Candida</i> türleri için proteinaz aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki	67
Tablo 25. <i>Candida</i> türleri için fosfolipaz aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki	67
Tablo 26. <i>Candida</i> türleri için esteraz aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki	68
Tablo 27. <i>Candida</i> türleri için slime aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki	68
Tablo 28. <i>Candida albicans</i> için slime aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki	69
Tablo 29. <i>albicans</i> dışı <i>Candida</i> türlerinin slime aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki	69
Tablo 30. Tüm kökenlerin virülans özellikleri ve antifungal duyarlılıkları	70

RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Resim 1. <i>C.albicans</i>	39
Resim 2. <i>C.krusei</i>	39
Resim 3. <i>C.glabrata</i>	40
Resim 4. <i>C.parapsilosis</i>	40
Resim 5. <i>C.albicans</i> ve <i>C.tropicalis</i>	40
Resim 6. <i>C.tropicalis</i> , <i>C.albicans</i> ve <i>C.parapsilosis</i>	40
Resim 7. SSAA'da proteinaz olumlu ve olumsuz suşların görünümü	51
Resim 8. Yumurta sarılı agarda fosfolipaz olumlu ve olumsuz suşların görünümü	53
Resim 9. Tween 80 agarda esteraz olumlu ve olumsuz suşların görünümü	54
Resim 10. Modifiye tüp aderans yöntemi ile slime faktör olumlu ve olumsuz suşların gösterilmesi	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Candida türleri normalde insan deri ve mukoza florasında bulunan mikroorganizmalardır. Normal bireylerin %30-50'sinin ağızda ve gastrointestinal kanalında bulunurlar. Bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında kandidoz olarak tanımlanan yüzeysel ve/veya derin, akut ve/veya kronik infeksiyonlara neden olurlar. Candida türleri, sistemik mikoz etkenleri arasında en sık görülenleridir. Çok sayıda olan candida türlerinden ancak bazıları insanda infeksiyon etkenidir. En sık görülen kandidoz etkeni *C. albicans*'tır. İnsanda hastalık oluşturan diğer önemli türler; *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei* ve *C. glabrata*'dır (1).

Candida, normal koşullarda, özellikle gastrointestinal kanal olmak üzere, florada bulunduğundan infeksiyonlarının çoğu endojen kaynaklıdır. Genellikle infeksiyondan önce florada bulunan mantar sayıca bir artış gösterir (kolonizasyon) ve bunu infeksiyon izler (1).

Tanı ve tedaviye yönelik yapılan invaziv girişimlerin artışı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, organ nakilleri veya başka nedenlerle sık başvuru alan güçlü immun süpresif tedavilerin yaygınlaşması, malign hastalıklar nedeni ile verilen anti-kanser ilaçların neden olduğu kemik iliği baskılanması ve nötropeni gibi faktörler, ciddi fungal infeksiyonların sıklığını artırmaktadır (2).

İnsanların çoğunda yaşamları boyunca candida infeksiyonuna karşı "doğal direnç" vardır. Konak hücre hasarını candidaların virulans faktörleri ve mantara karşı savunma mekanizmaları aracılığı ile verilen konak immün yanıtı belirler. candidaların türüne ve kökenine bağlı olan bazı faktörler konağın bağışıklığını yenmek için birlikte rol oynarlar. Patojenite kriterleri denilen bu faktörler *C. albicans* ve diğer candida türlerinin virulansını belirler (3). Candida infeksiyonlarında morbidite ve mortalite oranlarının artması, proteaz, esteraz, fosfolipaz ve slime üretimi gibi virulans faktörlerine araştırmacıların dikkatini çekmiştir (4). Mantar patogenezi için birçok in-vitro test geliştirilmiş, hayvan modellerinde infeksiyon oluşturularak konak

savunması ve candidaya ait virölans faktörlerinin önemi ortaya konmuştur. Böylece yeni tedavi alternatifleri geliştirilmeye başlanmıştır (3).

Mantar infeksiyonlarında görülen artışla birlikte bu infeksiyona neden olan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmeye başlamıştır. Endojen kaynaklı olması nedeniyle hastane kökenli infeksiyonlarda ilk sırayı *C. albicans* almakla birlikte antifungal tedaviye daha zor yanıt verdiği bilinen *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* gibi albicans dışı candida türlerinin oranı da hızla artmaktadır (5).

Albicans dışı candidalara bağlı kandidemilerdeki artışın en önemli nedeni, profilaktik ve ampirik olarak antifungallerin, özellikle kolay uygulanması nedeni ile azol türevi ilaçların verilmesi ve etken dağılımını değiştirmesidir. Çünkü azol türevi ilaçların yaygın kullanılması sonucu *C. albicans* gibi daha duyarlı türlerin prevalansında azalma ve azol antifungaller için daha yüksek MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerleri gösteren *C. krusei* ve *C. glabrata* gibi türlerde artmaya neden olduğu bildirilmektedir. Yapılan birçok çalışmada kandidemi etkenlerinin ülkeden ülkeye, aynı ülkede yıllar arasında, hastaneler arasında gerek insidansı gerekse etken spektrumunun değiştiği bildirilmiştir (6).

Candida infeksiyonlarının tanısı için klinik örneklerden direkt ve boyalı preparatlar hazırlanarak incelenir. Mikroskopik incelemede tomurcuklanan hücreler ve yalancı hifler, boyalı preparatlarda ise Gram pozitif boyanan 8-10 µm boyutunda oval veya yuvarlak candidalar gözlenir. Ayrıca alınan inceleme örneklerinden SDA (Sabouraud Dekstroz Agar) besiyerine ekim yapıp, kültürde üretilerek tanı konur (7).

Candida infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan sistemik etkili antifungal ilaçların sayısı çok fazla olmamakla beraber başlıcaları, Amfoterisin B, azol grubu ilaçlar (flukonazol, itrakonazol, ketokonazol, mikonazol, vorikonazol), flusitozin ve ekinokandinler (kaspofungin, mikafungin, anidulafungin) olarak sayılabilir (8,9).

Candida infeksiyonlarında kullanılan antifungal ilaçlara karşı direnç gelişimi de önemli bir sorundur. Bu nedenle uygun ve etkin antifungal seçiminde in vitro antifungal duyarlılık testlerine gereksinim artmaktadır. Bugün için CLSI'nın (Clinical and Laboratory Standards Institute) onayladığı standart antifungal duyarlılık testi buyyon makrodilüsyon veya mikrodilüsyon yöntemidir (10,11).

Çalışmamızda, hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen candidaların, tür düzeyinde tanımlamasının yapılarak, proteinaz, esteraz, fosfolipaz ve slime üretimi gibi

virölans faktörlerinin saptanması ve amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungin'e duyarlılık durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda, türler arası virölans farklılıklarının ortaya konması ve antifungal dirençle virölans faktörleri arasında bir ilişki olup olmadığının değerlendirilmesi de ikincil bir amaç olarak planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Muhtemelen pamukçuk olduğu düşünülen oral lezyonların yazılı tasvirleri Hippocrates ve Galen'in zamanlarına kadar dayanır. Rosen ve Rosenstein 1771'de pamukçuğun özellikle yenidoğanların hastalığı olduğunu açıklamışlardır. Veron 1835'te hastalığın doğum kanalından bulaştığını ortaya koymuştur. Langenbeck 1839'da bir hastanın oral lezyonlarında mantar bulmuş, ancak bunun tifonun etkeni olduğunu sanmıştır. Berg, 1841'de pamukçuğun fungal nedenli olduğunu kanıtlamıştır. 1843'te Robin organizmayı *Oidium albicans* olarak tanımlamıştır. 1861'de Zenker, ilk iyi dokümente edilmiş derin yerleşimli candida vakasını tanımlamıştır. İlk candida nedenli endokardit vakası 1940'ta tarif edilmiştir. *C. albicans* için bir dönem yüzden fazla sinonim mevcut olmakla birlikte, Zopf tarafından 1890'da konulan *Monilia albicans* ve Berkhout'un 1923'te kullandığı *Candida albicans* isimleri en çok kullanılmış, ikincisi kalıcı olmuştur (12,13).

Candida infeksiyonlarının tarihinde en ilginç periyod, 1940'larda antibiyotiklerin yaygın olarak kullanıma girmesiyle başlamıştır. Bu dönemden sonra, candida infeksiyonlarının her çeşidinde patlama denebilecek nitelikte bir artış görülmüş, ayrıca daha önce görülmemiş klinik şekilleri ortaya çıkmaya başlamıştır (13).

2.2 Candidaların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri

Mantarlarla ilgilenen bilim dalı olan mikoloji, adını Yunanca şapkalı mantar anlamına gelen "mykes"ten almıştır. Mantarlar çoğunlukla fırsatçı patojen mikroorganizmalar olup, ökaryotik hücre özelliğine sahiptirler. Yeryüzündeki mantarlar spor yapılarına, hif yapılarına, eşey özelliklerine göre 5 taksonomik sınıfa ayrılırlar. Bunlar Oomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes ve Deuteromycetes (*Fungi Imperfecti*) sınıflarıdır. Son dördü insanda hastalık oluşturan mantar cinslerini içerir. *Candida* türleri Deuteromycetes sınıfında yer alırlar. Deuteromycetes sınıfı yapay

bir sınıf olup, eşeyli üremesi saptanamayan mantarların tümü bu sınıfta incelenir ve seksüel sporlarının olmaması nedeniyle bu grupta yer alan mantarlar tam olmayan ya da eksik mantarlar (Fungi Imperfecti) olarak da adlandırılırlar (7,12,14).

Candida cinsi içerisinde yer alan mantar türleri, normalde insan deri ve mukoza florasında bulunan mikroorganizmalardır. Doğum sırasında veya doğumdan kısa bir süre sonra yenidoğana bulaşarak çeşitli vücut bölgelerinde kolonize olurlar. Bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında kandidoz olarak tanımlanan yüzeysel ve/veya derin, akut veya kronik infeksiyonlara neden olurlar (1,7,15).

Candida türleri, klinik örneklerde ve kültürlerinde, 3-6 µm büyüklüğünde oval veya yuvarlağımsı, tomurcuklanan hücreler (blastokonidyum veya blastosporlar) olarak görülen, maya şeklinde funguslardır. Ayrıca türlerin çoğu, yalancı hif (psödohif) de oluştururlar. Yalancı hif, arka arkaya tomurcuklanan blastokonidyumların birbirinden ayrılmayıp uzayarak ve aralarında boğumlar oluşturarak yaptıkları bir hücreler zinciridir. *Candida* türleri arasında *C. albicans* ve çok daha seyrek izole edilen *C. dubliniensis* ve *C. norvegensis* gerçek hifler de oluşturabilirler (1,16).

Candida türleri, SDA gibi rutin besiyerlerinde oda ısısında ve 37°C'de 24 saatte üreyip genellikle kirli beyaz veya krem rengi, yumuşak kıvamlı ve tipik olarak mayamsı kokulu koloniler oluştururlar. Koloninin besiyeri yüzeyinde kalan bölümü blastokonidyumlardan oluşmuştur; besiyerinin yüzeyinin altında ise yalancı hifler bulunur (1). Bakteri üretiminde kullanılan genel üretim besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilirler. Bu yüzden, genç kültürlerde, kolonileri bakteri kolonileri ile karışabilmektedir. Gram pozitif boyanma özelliği gösterirler (7). En iyi üreme pH 4.5-5 arasındadır, ancak pH 3-7.5 arasında üreyebilen türleri de vardır (17).

Çok sayıda olan *Candida* türlerinden ancak bazıları insanda infeksiyon etkenidir. En sık görülen kandidoz etkeni *C. albicans*'tır. İnsanda hastalık oluşturan diğer önemli türler; *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei* ve *C. (Torulopsis) glabrata*'dır. Ancak bunlar dışında *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. famata*, *C. zeylanoides*, *C. utilis* gibi bazı türler de, sık olmamakla birlikte, infeksiyon etkeni olarak görülebilirler (1).

Candida albicans iki morfolojik test ile diğer *Candida* türlerinden ayırt edilebilir. Serumda 37°C'de iki saatlik inkübasyon sonunda hücrelerden boğum oluşturmaksızın uzayan çimlenme boruları (germ tüp) veya gerçek hif oluştururlar. Mısırunu-Tween 80

agarda ise *C. albicans* tipik olarak iri, küre şeklinde klamidosporeler (klamidokonidyum) oluşturur. Bu iki özellik tür için tanı koydurucudur (1,16-19).

Candida türleri, SDA gibi rutin besiyerlerinde oluşturdukları kolonileri ve mısırunu-Tween 80 gibi besinden fakir besiyerlerinde saptanan blastokonidyumlarının özellikleri ve blastokonidyumların yalancı hif boyunca dizilimlerine göre farklar gösterirler. Ancak türlerin kesin tanısı daha sonra yapılan şeker fermentasyon ve asimilasyon deneyleri ile konulur (1,18)(Tablo 1).

Tablo 1. Bazı önemli *Candida* türlerinin biyokimyasal (asimilasyon) özellikleri (1)

	Glukoz	Maltoz	Sukroz	Trehaloz	Galaktoz	Sellobiyoz	Ksiloz	Rafinoz	Laktoz	Dulcitol	Melibiyoz	Üreaz	NO ₃ -NO ₂
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. kefyr</i>	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Candidaların hücre duvarı konak ile başlıca etkileşimden sorumlu yapıdır. Çeşitli moleküllerin iç ve dış ortamlar arasında geçişlerinde rolü vardır ve maya hücresinin değişik yüzeylere tutunmasında (adezyon) doğrudan görev alır. Ayrıca mantarın maya veya hif formunun karakteristik şeklinin korunmasından sorumludur ve hücreyi osmotik, kimyasal ve fiziksel hasarlara karşı korur (17,20,21).

C.albicans'ın hücre duvarı, hücrenin kuru ağırlığının yaklaşık %30'unu oluşturur (21,22). Hücre duvarının ana bileşenleri (%80-90) karbonhidratlardır. Proteinler (%6-25) ve lipidler (%1-7) minör duvar bileşenleri olarak bulunurlar. Karbonhidratlar ise başlıca üç temel polisakkarit yapısında bulunur: 1) proteinlerle kovalent olarak bağlanmış mannoz veya mannan polimerleri (mannoproteinler). 2) β -1,3 ve β -1,6

bağları içeren dallanmış glukoz polimerleri olan β -glukanlar. 3) β -1,4 bağları içeren, dallanmamış N-asetil-D-glukozamin (GlcNAc) polimerlerinden oluşan kitin (20,23,24).

Mikrofibriler polimerler olan β -glukanlar ve kitin, duvarın yapısal komponentleridir. Hücreye güçlü fiziksel özellikler sağlayan sert iskeleti oluştururlar. Miktar olarak β -glukanlar, hücre duvarı ağırlığının %47-60'ı olmak üzere ana bileşenidirler. Kitin, küçük (%0.6-9) ama önemli bir komponenttir (20,23). Düşük kitin düzeyli mutantların, osmotik olarak hassas olduğu ve anormal morfoloji gösterdiği tespit edilmiştir (21). Öte yandan mannan, yapısal polimerler olan β -glukanlar ve kitinin içine gömüldükleri amorf matriksi ve hücre duvarı karbonhidratlarının %40'ını oluşturur. Bu karbonhidratlar içerisinde en önemlisi mannan olup, hücre duvarının majör antijenik komponentidir ve mannoprotein yapısında olan fimbriyaların epitelyal hücrelere bağlanmada rolleri vardır (20,23,24).

Elektron mikroskopu ile yapılan çalışmalara göre candidaların hücre duvarı elektron dansitesindeki farklılığa göre ayrılan ve değişik kalınlıkta en az beş tabaka içermektedir. Bu tabakaların sayısı ve kalınlığı, üreme formuna (maya veya hif), üreme ortamına ve suşa bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (16,22,25).

Genel olarak glukan ve kitin hücre duvarının iç tabakasında yoğun görünmektedir. Tersine, protein ve mannoproteinler tüm duvar yapısında bulunmakla birlikte, hücre duvarının dış tabakasında daha baskın görünürler (21,23). Birçok çalışma göstermiştir ki, hücre duvarının tabakalı yapısı, mannoproteinlerin hücre duvarı yapısında değişik düzeylerde bulunmasından kaynaklanmaktadır (23). Diğer bir deyişle, tabakalanma, hücre duvarı bileşenlerinin (β -glukan, kitin ve mannan) her tabakada niteliksel olarak değil, nicelik olarak farklı oranlarda bulunmasından kaynaklanmaktadır (22,23). Maya hücresi ve germ tüp (hif) hücre duvarı kompozisyon olarak benzerdir, bununla birlikte relatif miktarları morfolojiye bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (20,23). Örneğin, *C.albicans* hif hücre duvarında mayadakinin üç katı kitin bulunur (23,26).

Hücre membranı taşıdığı ozmoenzimler aracılığı ile moleküllerin iç ve dış ortama geçişinde rol alır. Kitin sentetaz gibi, duvar bileşenlerinin sentezinde rolü olan enzimler de membranda bulunurlar. Ayrıca *C. albicans*'ın morfogenezi (maya-hif dönüşümü ve hifal uçtan uzama) için gerekli olan sinyal iletiminde rol alan fosfolipaz C, adenilat siklaz, proteaz gibi enzimler de membranda yer alırlar. Candidaların hücre zarında; fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin ve fosfatidil inozitol gibi

fosfolipidler bulunur. Tüm mantarlarda olduğu gibi, candidaların da hücre membranında bulunan sterol, membran lipidlerinin %20'sini oluşturur. Sterolün %95'i ergosterol formundadır. Ergosterol, antifungal ilaçlar için en önemli hedeftir (16).

2.3 Ekoloji ve epidemiyoloji

Candida türleri, özellikle *C.albicans*, normal nüfusun yaklaşık %20'sinin kommensal florasında (orofarenks, gastrointestinal sistem, vajen,deri) bulunur (27).

C.albicans, florada en sık bulunan tür olmakla beraber deri florasında diğer türlere göre daha az yer alır. Ayrıca *C.albicans* çevrede de ender olarak bulunur. Hastanede yatan hastalardaki kolonizasyonun, sağlıklı insanlara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (1,16). *Candida* türleri, hafif seyreden, deri ve mukoz membranları tutan yüzeysel enfeksiyonlardan, hayatı tehdit edici, invaziv, birçok sistemi tutan enfeksiyonlara kadar değişen bir spektrumda klinik tablolara neden olur. Candidanın çoğalması ve konak savunmasına karşı gelebilmesi için bağışıklık sisteminde bazı değişikliklerin meydana gelmiş olması gerekir (15). *Candida albicans* tüm kandidozlarda en sık görülen etkindir. Ancak son yıllarda albicans dışı türler de sistemik kandidoz olgularında %46'lık bir oranda daha sık görülmektedir. Kandidoz etkeni olarak albicans dışı türlerin artması, geniş etki alanlı antibiyotik ve antineoplastik ilaçların kullanımı, damariçi kateterizasyon, nötropenik ve immünsuprese hastaların sayıca artması, flukonazolün yaygın kullanımı ve ayrıca hastane ortamında personelden bulaşmaya bağlanmaktadır (1). Kandidoz için predispozan faktörler tablo 2'de gösterilmiştir (28).

Tablo 2. Kandidoz için predispozan faktörler (28).

Kutanöz ve mukozal kandidoz	Fizyolojik faktörler: Gebelik, ileri yaş, bebeklik Travmatik faktörler: Maserasyon, yanık, diğer infeksiyonlar Hematolojik faktörler: Hücresel immün yetmezlik, AIDS Endokrin faktörler: Diabetes mellitus İyatrojenik faktörler: Antibakteriyel kullanımı, doğum kontrol hapı
Sistemik kandidoz	İyatrojenik faktörler: İmmüsupresyon, organ nakli, cerrahi, steroid tedavisi, sitotoksik ilaçlar, antibakteriyel antibiyotikler, kateterler, hiperalimantasyon, protez kalp kapağı Hematolojik faktörler: Kronik granülomatöz hastalık, aplastik anemi, agranülositoz, lösemi, lenfoma Diğer faktörler: Malinite, malnütrisyon, travma, intravenöz ilaç bağımlılığı, periton diyalizi
Kronik mukokutanöz kandidoz	Hematolojik faktörler: Hücresel immün yetmezlik Endokrin faktörler: Hipoparatiroidizm, demir metabolizması bozuklukları Diğer faktörler: Timoma, heredite, A hipovitaminozu

Kandidozların büyük bir çoğunluğu endojen kaynaklı olup kişi ağız veya gastrointestinal kanal florasında bulunan candida ile infekte olur. Ancak etken bazen ekzojen kaynaklı olabilir (1,29). Örneğin, vajinal kandidozlu annelerden doğan bebeklerde ağız kandidozu daha sıktır. Ayrıca infekte anne eli bebek için bir infeksiyon kaynağı olabilir. Genital kandidoz cinsel ilişki ile eşlere bulaşabilir (1). Eksojen kaynak olarak sağlık personelinin elleri veya total parenteral beslenmenin yapıldığı santral venöz kateterler de sorumlu olabilmektedir. Bir çalışmada, hemşirelerin %58'inin, yardımcı sağlık personelinin %38'inin ellerinde candida türlerini taşıdıkları saptanmıştır. Sağlık çalışanlarının ellerinde en çok kolonize olabilen türlerin *C. albicans* ve *C. parapsilosis* olduğu görülmüştür (29). Ayrıca yenidoğan servisinde candida vajinitli hemşirelerden bulaşma ile ortaya çıkan infeksiyon patlakları bildirilmiştir (1).

2.4 Patogenez ve patoloji

Candidalar insan organizması üzerinde 3 şekilde bulunabilirler:

1) Flora üyesi olarak: Çeşitli candida türleri vücudun belirli bölgelerinde yerleşerek bu bölgelerde bulunan diğer flora üyesi mikroorganizmalarla birlikte denge halinde yaşamlarını sürdürürler. Bu denge bozulmadığı sürece hastalık oluşturmazlar.

2) Kolonize olarak: Uzun süre yüksek dozda antibiyotik, kortikosteroid, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanımı, çeşitli kronik hastalıklar gibi hazırlayıcı faktörlerin varlığı sonucu vücudun belirli bölgelerinde az sayıda bulunan candidalar sayıca çoğalarak o bölgeye yerleşirler. Bu duruma kolonizasyon adı verilir.

3) İnfeksiyon etkeni olarak: Vücudun belirli bölgelerinde kolonize olan candidalar, ya bulundukları bölgede ya da çevreye yayılarak infeksiyon oluşturmalar (7).

Candidalar fırsatçı infeksiyon yapan mantarlardır. Sağlıklı kişilerde hastalık yapmayan, vücudun savunma mekanizması, bir şekilde bozulmuş veya kesintiye uğramış kişilerde hastalık oluşturan mantarlara fırsatçı infeksiyon yapan mantarlar adı verilir (7,15). Normal bakteriyel flora, derinin ve gastrointestinal sistem mukozasının bütünlüğü ve hücrel immünite, candida infeksiyonlarına karşı koruyan başlıca konak faktörleridir (15). Hücrel immünite elemanları olan T ve B lenfositler deri ve mukoza yüzeyindeki candidaların sistemik infeksiyon oluşturmalarını engellerler. Bu yüzden candidaların infeksiyon oluşturmaları için konak organizmada hazırlayıcı bir takım faktörlerin birlikte oluşması gerekir. Bu faktörler; uzun süreli antibiyotik kullanımı, hücrel immün yetmezlikler, diabetes mellitus gibi kronik hastalıklar, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanımı, immün sistemi bozan hastalıklar, nötropeni, organ transplantasyonu, gastrointestinal operasyonlar, dengesiz beslenme, yaşlılık, kötü huylu hastalıklar, uzun süreli kateterizasyon, intravenöz ilaç bağımlılığı, kemoterapi uygulaması vs. olarak sıralanabilir (7).

Candida infeksiyonları yüzeysel ve derin infeksiyonlar olmak üzere başlıca 2 grupta toplanırlar. Yüzeysel candida infeksiyonları deri ve mukozaların, derin kandidozlar ise iç organların ve çeşitli sistemlerin infeksiyonlarıdır. Yüzeysel candida infeksiyonlarında etken deri veya mukozadaki bir çatlaktan yalancı hifleri ile doku içine girer; yalancı hifler ve bunlardan tomurcuklanma ile oluşan blastokonidyumları ile dokuya yayılır. Deri ve mukoza içinde çoğalarak yüzeysel infeksiyon oluşturmalar. Derin veya sistemik kandidozlarda çoğu kez gastrointestinal olmakla beraber herhangi bir kolonizasyon

odağından hematogen yayılım sonucu mantar, fagositik etkinliği yetersiz olan hastalarda kanda çoğalıp hemen hemen her organa veya sisteme yerleşebilir (1,7).

Candida infeksiyonlarının patogeneğinde, belirtilen konak faktörlerinin yanı sıra; adezyon yeteneği, maya-hif dimorfizmi ve de asit proteinaz ve fosfolipaz aktivitesine sahip hidrolitik enzimlerin üretilmesi gibi mantara ait virülans faktörlerinin rolleri de çok önemlidir (16).

Candidaların virülans faktörleri:

Adezyon:

Candidaların mukozal epitelyum ve endotel hücrelerine yapışması kolonizasyonun da ilk aşamasıdır ve kandidozun ortaya çıkmasında önemli bir adımdır (30,31). Adezyon karmaşık bir işlem olup birden fazla adezinin ve birden fazla bağlanma mekanizmasının etkisi ile gerçekleşir (30). Candidaların adezinleri, integrin analogları (memelilerdeki CR-2 benzeri olan C₃d reseptörü ve CR-3 benzeri olan iC₃b reseptörü), fibronektin reseptörü, adeziv mannoproteinler (hücre duvarının en dışında mannoproteinlerden oluşan radyal uzantılı fibriller), N-Acetylglucosamine bağlayıcı protein, salgısal asit proteinaz, faktör 6, laminin reseptörü ve fibrinojen bağlayan protein olarak tanımlanmaktadır (17). *C.albicans* aderansı en fazla olan türdür (17,31). Karbon kaynağı olarak yüksek konsantrasyonda şeker, özellikle galaktoz içeren ortamlarda üreyen *C .albicans* kökenlerinin epitelyum hücrelerine daha iyi bağlandığı ve bu kökenlerin daha virulan olduğu gösterilmiştir (24).

Dimorfizm:

Bazı mantarlar, dimorfizm denen, biri küf evresi diğeri maya evresi olmak üzere, en az iki yapı özelliği gösterirler (32). *Candida* türleri içerisinde miselyum (küf) üreterek çoğalabildiği bilinen tek tür *C. albicans*'tır (31). *C. albicans*, deri ve mukozalarda kommensal olarak, patojen olmayan morfoloji olan maya hücreleri şeklinde bulunur. Patojen morfoloji değişimine neden olan en önemli faktörler konağa özgü bazı faktörlerdir. Bu faktörlerin başlıcaları, deri bütünlüğünün bozulması, antibiyotik ve oral kontraseptiflerin kullanımına bağlı olarak vajen florasının değişmesi ve çeşitli nedenlere bağlı olarak konağın bağışıklık sisteminin baskılanmasıdır. *C. albicans* maya formundan invaziv hif formuna geçerek hastalık oluşturur (33). Hif, mantara, dokulara penetrasyon ve fagositozdan kaçma özellikleri kazandıran bir yapıdır (31,33,34).

C.albicans'ın hifal formu, epitel hücreleri için, maya formundan daha adezivdir (28,35). *C.albicans* hifleri, uzarken, ortamdaki topoğrafik değişikliklere bağlı olarak yön değiştirebilmektedir. Tigmotropizm adı verilen bu olay, *C. albicans*'ın yapay membranlar üzerinde üremesi sırasında in vitro koşullarda gözlenmiştir. Membranın üzerinde minör bir açılma veya por oluşumu gerçekleştiğinde, hif, uzadığı yönü değiştirerek bu porlara doğru yönelmektedir. Tigmotropizmin, in vivo olarak hifin lokal yaralara invazyonunda rol oynayan bir faktör olabileceği düşünülmektedir (33).

Bazı araştırmacılar, infeksiyon geliştirebilme bakımından iki şeklin farklı olduğunu gösterememişler, her iki şeklin de bu mantarın patojenitesinde önemli olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca dimorfizmin biyofilm oluşumundaki önemini incelemek için yapılan bir çalışmada, her iki formun biyofilm oluşumunda ortaklaşa rol aldığı, maya formunun (iç tabaka) yüzeye yapışmada önemli olduğu, hifal formun (dış tabaka) da kalınlık sağladığı gözlenmiştir (31).

Fenotipik değişim:

Fenotipik değişim, geri dönüşümlü olan, *C. albicans* suşlarında spontan olarak sıklıkla gözlenen bir olaydır. İki şekilde oluşabilir: a) Tipik olarak *C. albicans* WO-1 suşunda gözlenen, yuvarlak tomurcuklanan hücrelerden oluşan beyaz kubbeli koloniden, büyük, uzun, asimetrik tomurcuklanan hücrelerden oluşan gri düz koloniye dönüşüm, beyaz-opak (w-o) dönüşümü olarak adlandırılır ve 10^{-4} sıklıkta oluşur. b) Koloni morfolojisinde 10^{-2} - 10^{-4} sıklıkta oluşan değişim sonucu, düzgün (smooth), tüylü (fuzzy), düzensiz (irregular), yıldız (star), halka (ring), noktalı (stippled) ve şapka (hat) koloni morfolojileri ortaya çıkabilmektedir. Fenotipik değişimle ilgili klinik açıdan önem taşıyan en önemli özellikler, bu değişimin antifungal ilaçlara duyarlılığı, konak hücreye adezyonu, antijenisiteyi, aspartil proteinaz aktivitesinin düzeyini, nötrofil ve oksidanlara duyarlılığı etkiliyor olmasıdır (16,31,33).

Slime faktör ve biyofilm oluşturma:

Slime faktörü ilk kez 1982'de Christensen tarafından *Staphylococcus epidermidis* için tanımlanmıştır (36). Slime, visköz, ekstrasellüler bir madde olup, mikroorganizmanın plastik yüzeylere yapışmasında ve prostetik materyallerde kolonizasyon oluşturmada görev alır ve candidalar tarafından da oluşturulduğu gösterilmiştir (30). Tıbbi gereçlerin implantasyonundan sonra ilk olay, tükrük, mukus, serum veya kan gibi gereci çevreleyen farklı vücut sıvılarındaki çeşitli

makromoleküllerin (fibrinojen, fibronektin, kollajen ve laminin vb.) yüzey üzerinde birikerek “conditioning film- hazırlayıcı film” oluşturmalarıdır. Mikroorganizmalar genellikle çıplak gerecin yüzeyine değil, bu film tabakasına tutunurlar. İlk adezyon geri dönüşümlü gevşek bir tutunma tarzındadır. Bu, ekzopolimer üretimi ile sıkı bir tutunmaya dönüşür. Ekzopolimerler, makromoleküllerin oluşturduğu film tabakasını saran slime (glikokaliks) tabakasını oluşturur. Mikroorganizmalar, bu slime tabakası içinde çoğalarak ve ekstraselüler matriks salgılamaya devam ederek kalın bir film tabakasına yol açarlar, buna biyofilm denir (37).

Olgun biyofilmin yaklaşık %15'i hücrelerden, %85'i ise matriks materyalinden oluşur (38). Biyofilm matriksinin yapısında, oranları candida türüne göre farklılık göstermekle birlikte, karbonhidrat, protein, heksozamin, fosfor ve uronik asit bulunur (39).

Nozokomiyal infeksiyonların en az yarısı medikal gereçlerle ilişkilidir (40). Candida türlerinin nozokomiyal infeksiyonlara yol açan ana etkenler arasında sıklığı artmakta olup, infeksiyonlarından çoğunlukla implante gereçler sorumludur ve gerecin yüzeyinde biyofilm saptanabilmektedir (37). Candida infeksiyonlarıyla kuvvetle ilişkili bulunan tıbbi gereçler, santral venöz kateterler (SVK), üriner kateterler, endotrakeal tüpler, periton diyaliz kateterleri, yapay kalp kapakçıkları, pacemaker, eklem protezleri, ventriküloperitoneal şantlar, vasküler bypass greftleri, oküler lensler, kırık fiksasyon aletleri olarak sayılabilir (37,41).

Farklı Candida türlerinin, hatta farklı *C. albicans* suşlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri farklıdır. Bununla birlikte, biyofilm oluşumu ile en çok ilişkilendirilen tür *C. albicans*'tır (42). Ortamdaki artmış glukoz miktarının biyofilm oluşumunu hızlandırdığı görülmüştür. Özellikle intravenöz hiperalimantasyon uygulanan hastalarda *C. parapsilosis*'in SVK'e kolonize olma kapasitesinin artmasıyla, kateter infeksiyonlarına yol açması buna örnektir (43). Hafif akımın olduğu ortamlarda (dolaşım ve üriner sistem gibi) statik ortamlara kıyasla biyofilm oluşumu daha fazladır. Ayrıca, yüzeyin kimyasal yapısı biyofilm oluşum hızını etkilemektedir. PVC'ye kıyasla lateks yüzeylerde daha fazla, poliüretan ve %100 silikonda ise azalmış olarak saptanmıştır (37).

Biyofilm, mikroorganizmanın implante gereçlere yapışıp çoğalarak, sürekli bir infeksiyon kaynağı olmasını sağlar. Ayrıca, mikroorganizmayı vücudun savunma

mekanizmaları olan opsonizasyon, fagositoz ve kemotaksise karşı koruduğu bildirilmiştir (2). En önemli özelliklerinden biri de antifungal ajanlara direnç gelişimidir (37).

Birçok çalışma candida biyofilmlerinin klinik olarak önemli antifungaller olan amfoterisin B, flukonazol, flusitozin, itrakonazol, ketokonazol, nistatin, terbinafin ve yeni azollere (vorikonazol ve ravukonazol) dirençli olduğunu göstermiştir (44-46). Bununla birlikte amfoterisin B (AMB)'nin lipid formülasyonları (lipozomal AMB ve AMB lipid kompleks) ve ekinokandinler (kaspofungin ve mikafungin) biyofilme karşı etkili bulunmuştur (37,46).

Salgısal aspartik proteinaz (Sap):

C. albicans'ın hücre dışı proteinaz enzimi ilk kez 1965 yılında Staib tarafından bulunmuştur (47). Kimyasal özelliklerinden dolayı salgısal asit proteinaz, karboksil proteinaz isimleri de kullanılır (16). Candida asit proteinazı düşük pH'ye ihtiyaç duyar, fizyolojik pH, candida proteinazının aktivitesine engel olur (47,48). Candidanın asit proteinaz sekresyonu uygun glukoz konsantrasyonuna bağlıdır. Glukozun, proteinazı indükleyen kritik konsantrasyonu türler arasında değişir. Diabetiklerin kandidoza tipik yatkınlığında, yüksek glukoz varlığında fungal proteinazın indüklenmesinin rolü olduğu düşünülür (47).

Enzim, *C. albicans* kökenlerinin çoğu tarafından ve daha az oranda *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* kökenlerince üretilir. *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* ise nadiren salgılar (16,49,50).

Proteinaz; serum albumini, hemoglobin, keratin, kollajen, laminin, kazein, fibronektin, IgA, IgG'nin Fc kısmı ve komplemanın C₃ komponenti gibi birçok proteini parçalayabilme özelliğine sahiptir (16,48,51-53). Candida asit proteinazının IgA'yı sindirme yeteneğinden dolayı gastrointestinal sistem ve mukozal yüzeylerde kolonizasyonu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (48,52,54).

Asit proteinazların, candidaların mukozalara kolonizasyonunun erken dönemlerinde rol aldığı gösterilmiştir (31,48). Asit proteinazın mayayı konağın savunma sistemine karşı koruduğuna dair bulgular vardır. Proteinaz salgılayan suşların, fagositoza ve hücre içi öldürmeye karşı daha dirençli oldukları gösterilmiştir (48,52,54).

Salgısal asit proteinaz enzim ailesi, 10 farklı gen tarafından kodlanmaktadır (SAP 1-10) (50,55). SAP gen ekspresyonunun mantarın mayadan hife geçişi (dimorfizmi) ve

fenotip değişimi ile ilişkisi olduğu bulunmuştur. SAP1, SAP2 ve SAP3 genlerinin yalnızca maya hücrelerinde, SAP4, SAP5 ve SAP6'nın ise hif hücrelerinde eksprese olduğu; SAP1'in *C. albicans*'ın opak fenotipinde, SAP2 ve SAP3'n ise hem opak hem de beyaz fenotipte eksprese olduğu belirtilmiştir (31).

Fosfolipaz:

Fosfolipaz (PL) terimi, gliserofosfolipidlerdeki bir ya da daha fazla ester bağını hidrolize etme yeteneği olan bir grup enzim için kullanılır. Tüm fosfolipazlar substrat olarak fosfolipidleri kullanmakla birlikte, her enzim spesifik bir ester bağına etki eder (56). Nitekim fosfolipazlar, fosfolipid molekülündeki hedefleri olan spesifik ester bağlarına göre A,B,C ve D şeklinde sınıflandırılırlar (34,56).

İlk kez 1960'larda Costa tarafından raporlanmıştır. Werner, yumurta sarısı ve lesitin içeren katı besiyerinde mayaları retetek lipid yıkım ürünlerini analiz etmiştir (56,57). *C. albicans* tarafından salgılanan fosfolipazlar, epitelyal hücre membranını parçalayarak ve hifal yapının sitoplazmaya girmesini sağlayarak, kandidozdaki konak doku invazyonunda önemli bir rol üstlenir (58-60).

İlk zamanlarda farklı candida türlerinin fosfolipaz üretme yeteneğini değerlendirmek için yapılan yumurta sarısı bazlı testler yalnızca *C. albicans*'ın ekstraselüler fosfolipaz ürettiğini, albicans dışı türlerin üretmediğini göstermiştir. Ancak bunun tersine, son zamanlarda albicans dışı candida türlerinin de fosfolipaz üretimini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bununla birlikte, *C. albicans*'a kıyasla, albicans dışı türlerin salgıladığı fosfolipaz miktarı belirgin derecede düşüktür. Örneğin, *C. krusei*'nin fosfolipaz aktivitesi, *C. albicans*'ınkinin yaklaşık onda biri kadardır (56).

Fosfolipaz aktivitesinin mantar hücrelerinin maya formlarında miçel formlarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (58,60).

Esteraz:

Patojenik candida türlerinin çoğu esteraz ve fosfolipaz gibi lipolitik enzimler salgılar. Bu türlerin esteraz aktivitesi farklı oranlarda tween içeren, tween opasite testi besiyeri kullanılarak gösterilmiştir (61). Mayaların lipolitik aktivite gösteren esteraz enzimini salgıladığı ilk kez 1978 yılında Rudek tarafından Tween 80 opasite testi ile gösterilmiştir (62).

Esteraz aktivitesi, patojen candida türlerinin biyotiplendirilmesi sırasında bulunmuştur. Enzimin aktivitesi, yalnızca tek karbon kaynağı olarak Tween 80 ve diğer

tweenleri içeren besiyerinde gözlenmektedir. Tween, polioksietilensorbitan bileşiklerinin bir karışımıdır (63).

Tween opasite testinde besiyerinde opasite gözlenmesi hidrolizin göstergesidir ve candida türlerinin lipolitik enzim üretimi ile ilişkilidir. Serbest kalan yağ asitleri besiyeri içerisinde bulunan kalsiyuma bağlanırlar ve oluşan bu kompleks inokülasyon bölgesinin etrafında çözünmeyen kristaller olarak görülürler (61).

Tween 80 opasite testi, standart morfolojik ve fizyolojik testlerin tamamlayıcısı olarak değişik candida türlerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Özellikle *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'in ayırt edilmesinde kullanışlı olduğu bildirilmektedir. Besiyerinin hazırlanması basit ve ekonomik olup, yorumlanması da kolaydır (61).

Candidaların esteraz aktiviteleri ile ilgili veriler oldukça sınırlıdır. Ancak şu ana kadar yapılan çalışmalarda, esteraz aktivitesinin virülansta etkili olduğunu gösteren bulgular mevcut değildir (30).

2.5 Candida infeksiyonları (kandidoz):

Kandidozlar, yüzeysel ve derin infeksiyonlar olarak iki grupta incelenebilirler.

2.5.1 Yüzeysel kandidozlar:

2.5.1.1 Candida dermatiti:

Candida türlerine bağlı gelişen deri infeksiyonları sık görülür ve değişik klinik tablolarla ortaya çıkabilir. İntertrigo, “Erosio interdigitalis blastomycetica”, paronişi, özellikle HIV ile infekte hastalarda gelişen candida onikomikozu, bebeklerde alt bezi ile temas eden bölgelerde oluşan deri lezyonları, en sık oluşan deri infeksiyonları olup, diğer deri tutulumları arasında, folikülit, balanit, perianal kandidiyazis ve generalize kutanöz erüpsiyonlar sayılabilir (15).

2.5.1.2 Ağız kandidozu:

Farklı klinik tablolar oluşabilir. Pamukçuk (Akut pseudomembranöz kandidiyazis); En çok süt emen bebeklerde ve yaşlılarda görülür. Bunun dışında CD4⁺ hücre sayısı <200 olan HIV (+) hastalarda, kanserlilerde ve steroid inhaler kullananlarda ortaya çıkabilir (16).

Akut atrofik kandidoz; Akut pseudomembranöz kandidozun bir sekeli olmakla birlikte, dilde nonspesifik atrofi mevcuttur (13). Kronik atrofik kandidoz; takma diş

stomatiti olarak bilinir. Angular cheilitis; ağız köşelerinde, çatlak ve inflamatuvar reaksiyonla karakterlidir (13,16).

Lökoplakia; yanak, dudaklar ve dilde, eritemli zeminde oluşan, yapışık, beyaz nodüller şeklinde seyreden, topikal tedaviye yanıt vermeyen, kronik seyirli ve prekanseröz bir lezyondur (13,15,16).

2.5.1.3 Candida özofajiti:

Özofagusta gelişen candida infeksiyonu, sıklıkla malignite tedavisi ve AIDS ile ilişkilidir. Oral kandidoz ile birlikte veya ondan bağımsız olarak oluşabilir (13,16).

2.5.1.4 Candida vajiniti:

Kadınların % 75'inin yaşamları boyunca en az bir kez candida vulvovajiniti epizodu geçirdikleri belirtilmektedir (13,16,64). Olguların %80'inden *C.albicans* sorumludur. Bunu %5 ile *C. glabrata* izler. Diabetes mellitus, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve gebelik en önemli risk faktörleridir (16).

2.5.1.5 Kronik mukokutanöz kandidoz (KMK):

Genellikle erken çocukluk döneminde ortaya çıkan, deri ve mukozalarda yaygın lezyonlarla karakterize hastalık tablosudur. Hücresel immün yetmezlik ve endokrinopatilerle ilişkili bulunmuştur (1,7). En sık birlikte olduğu endokrinopatiler, hipoparatiroidizm ve Addison hastalığıdır (13). T lenfosit fonksiyonundaki anormallik major immün defektir. Çoğu hastada nötrofiller normal olup, T ve B lenfosit sayısı ve immünglobülin düzeyleri normaldir (13,28).

2.5.2 Derin (sistemik) kandidozlar:

Derin/sistemik kandidoz, kandidemiye izler. Konak savunmasının normal olduğu durumlarda, kandidemi geçici olup vücut kısa sürede mantarı uzaklaştırır. Buna karşılık yetersiz fagositik etkinlik durumlarında candida kandan uzaklaştırılmaz; mantar kanda çoğalıp herhangi bir organ veya sisteme yerleşerek infeksiyon odakları oluşturur. En sık tutulan organlar; böbrekler, deri, göz, kalp, karaciğer, dalak ve beyin zarlarıdır (1).

Sistemik kandidoz en sık süregelen kortikosteroid veya başka immünoşüpresif ilaç kullanan; lösemi, lenfoma ve aplastik anemi gibi hematolojik hastalıkları olan ve kronik granüloamatöz hastalıklı kişilerde görülür (1).

2.5.2.1 Kandidemi:

Candida türleriyle gelişen nozokomiyal fungeminin hastanede yatış süresini ortalama 30 gün uzattığı ve tek başına %38 mortaliteye neden olduğu gösterilmiştir (65). Kan kültüründe candida üremesi basite alınıp, kontaminasyon olarak değerlendirilmemelidir. Bazı hastalarda disemine kandidiyazın bir bulgusudur, bazı hastalarda ise kateter kolonizasyonunu gösterir ve her durumda dikkate alınması gerekir (66).

Candida spp. nozokomiyal kan akımı infeksiyonları içerisinde dördüncü, YBÜ’lerde üçüncü sırada yer almaktadır. YBÜ’lerdeki prevalans cerrahi ve dahili kliniklere göre 10 kat daha fazladır (67). Kandidemi için <1 yaş ve >65 yaş grubunun, kanser hastalarının, diyabet hastalarının ve santral venöz kateter (SVK) taşıyan hastaların daha fazla risk altında olduğu belirlenmiştir. candidaların kan dolaşımına ulaşmaları başlıca gastrointestinal sistem (GİS) mukozasından, damar içi kateterler yoluyla, pyelonefrit gibi lokalize infeksiyon odağından olmaktadır (66).

İnsanlarda, mayalar dahil mikroorganizmaların kan dolaşımına geçmesinde en önemli giriş kapısı GİS’tir. Hastanede yatan hastada, hücrel bağışıklığı baskılayan bir infeksiyon veya travma ile birlikte geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi, mukozal yüzeylerde candidanın aşırı çoğalmasına neden olur. Daha sonra nötrofil migrasyon ve mikrobisidal aktivitesinin baskılanması ve GİS mukozasının bütünlüğünün bozulması, infeksiyonun yayılımıyla sonuçlanır (66,68,69). Özellikle SVK’li hastalarda, candidanın damar içi kateter yüzeyinde kolonizasyonu da kan dolaşımına önemli bir geçiş yoludur (66). Çalışmalar göstermiştir ki; kandidemi yönünden en riskli hastalar iki gruptur: 1) İmmün sistemi baskılanmış hastalar, 2) Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar (66).

Nozokomiyal kandidemili hastalarda yapılan bir çalışmada en güçlü risk faktörü olarak uygulanan antibiyotik sayısı saptanmıştır. Üçten fazla antibiyotik alanlarda kandidemi riski hiç antibiyotik almayan veya en fazla iki antibiyotik alanlara göre 12.5 kat yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada kandan başka vücut bölgelerinden candida

izole edilmesi, hemodiyaliz ve “Hickmann” kateteri diğer anlamlı risk faktörleri olarak saptanmıştır (68).

Kandidemi etyolojisinde en sık etken olan *C. albicans*’tır. İkinci sırada ABD’de *C. glabrata* yer alırken, Avrupa’da *C. tropicalis* veya *C. parapsilosis* etken olmaktadır. *C. glabrata* flukonazolün profilakside kullanıldığı hastalarda ve yaşlılarda artan sıklıkta görülmekte ve bu türe bağlı infeksiyonlar daha ağır ve ölümcül seyretmektedir. *C. parapsilosis* daha çok deri ve mukozadan kaynaklanan kandidemiye yol açmaktadır (66).

C. tropicalis kandidemileri daha çok nötropenisi ve mukoziti olan, özellikle flukonazol profilaksisi almamış olan hastalarda görülmektedir. *C. krusei*’ye bağlı kandidemiler daha çok hematolojik malignitesi olanlarda ve/veya kemik iliği ve kan alıcılarında, özellikle flukonazol profilaksisi uygulanan hastalarda görülür (66).

Kandidemi tanısında altın standart kan kültüründe candidanın üremesidir. Ancak kan kültüründe üreme oranı düşüktür. Kandidemi tedavisinde, izole edilen candida türü antifungal ilacın seçimi yönünden yol gösterici olmakla birlikte, zaman içinde direnç gelişimi olabileceğinden antifungal duyarlılık testlerine gereksinim giderek artmaktadır. Kandidemi ve invaziv kandidozda esas sorun, kan kültürü sonuçları çıkmadan önceki dönemde veya kültürler negatif kaldığı durumlarda kandidemi şüpheli hastalara uygulanacak preemptif ya da ampirik antifungal tedaviye karar vermek ve uygun ilacın seçimini yapmaktır. Tedavinin geç başlaması, etkenin dirençli olması, dozun ve tedavi süresinin uygun olmayışı, hastanın tedavisiz kalması kandidemilerden ölüm sıklığını artırmaktadır (66).

2.5.2.2 Merkezi sinir sistemi kandidozu:

Menenjit; dissemine kandidozun bir belirtisi olarak ya da bağımsız olarak gelişebilir. Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde veya ventriküloperitoneal şanti bulunan hastalarda, hematojen yayılım sonucu ya da bir travma ile mantarın doğrudan subdural bölgeye inokülasyonuna bağlı olarak ortaya çıkar (16).

2.5.2.3 Solunum sistemi kandidozu:

Candida pnömonisi çoğunlukla iki şekilde oluşabilir: 1) Endobronşiyal inokülasyondan kaynaklanan diffüz veya lokal bronkopnömoni veya 2) Hematojen

yayılım sonucu oluşan ve erken dönemlerinde konjestif kalp yetmezliği veya *Pneumocystis* pnömonisinden ayrımı güç olabilen diffüz infiltrat şeklinde. Diğer formlar nadirdir. Candidalar bronşit, larenjit, epiglottit ve laringeal protez infeksiyonuna da yol açabilir (13).

2.5.2.4 Candida endokarditi:

Prostetik kapağı veya doğal kapakta harabiyeti olan hastalarda hematojen kandidiyazis endokardite neden olabilir. Endokardit için diğer risk faktörleri intravenöz ilaç bağımlılığı ve santral venöz kateterizasyondur. Eroin bağımlılarında *C. parapsilosis* en yaygın etkindir (13).

2.5.2.5 Candida osteomyeliti:

Candida osteomyeliti, median sternotomi komplikasyonu olarak gelişebilir. Hematojen yayılıma bağlı osteomyelit ise en sık vertebralara yerleşir (78). Bazen aspirasyon ya da kortizon injeksiyonu sırasında ve daha seyrek olarak bir travma sonrası gelişebilir. Kanser hastalarında ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerde daha fazla görülür (16).

2.5.2.6 Candida endoftalmiti:

Candida endoftalmiti tanısı, birçok organa hematojen yayılım anlamına gelir ve hemen antifungal tedaviye başlanmalıdır (68).

2.5.2.7 Gastrointestinal Candida infeksiyonları:

Candida türleri GİS'te herhangi bir bölgede mukozayı infekte edebilir. Özofagustan sonra en çok infekte olan bölge midedir. Tipik olarak candidanın “benign” mide ülserlerini infekte ettiği görülür. Bunun dışında, midede, oral kandidiyazise benzeyen yaygın mukoza tutulumu da tarif edilmiştir. İnce ve kalın barsaklarda ise, ülser ve psödomembran oluşumu sıktır. Gastrointestinal mukoza tutulumu derin ülserlere ve takiben kanama ve perforasyonlara neden olabilir. *Candida*, periton, karaciğer, dalak, safra kesesi ve pankreasta da infeksiyona neden olabilir. Karaciğer, dalak ve pankreas infeksiyonları ise, çoğunlukla kemoterapiye bağlı nötropenisi gelişen bağışıklık sistemi

baskılanmış hastalarda görülür. Bunların dışında safra kesesi ve safra kanallarında tıkanıklığa yol açan fungus topları, karaciğer ve dalakta apseler gözlenebilir (15).

2.5.2.8 Kandidüri ve üriner sistem kandidozu:

İdrar yolu kandidozları alt ve üst üriner sistem ile böbreğin candida infeksiyonlarını içerir. En önemli bulgusu kandidüridir. Ancak kandidüri yalnız idrar yolu infeksiyonunun değil, kontaminasyon, kolonizasyon veya yaygın candida infeksiyonunun da bir belirtisi olabilir (70). Hastanede yatan hastaların idrar kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların %5-10'unu candida türleri oluşturmaktadır. Hastanede yatan ve 14 günden uzun süreli üriner kateteri olan hastalarda kandidüri sık görülür. 7 günden daha uzun süreli üriner kateteri olan yoğun bakım ünitesi hastalarında kandidüri oranı %22 olarak bulunmuştur (71). En sık rastlanan etkenler *C. albicans* ve *C. tropicalis*'tir. *C. parapsilosis* ve *C. glabrata* da etken olarak saptanmaktadır (72).

Candida türleriyle gelişen üriner sistem infeksiyonları, sistit, pyelonefrit, üreterde mantar topu ve renal apse olarak sayılabilir (68).

2.6 Candida immünolojisi:

Hücre aracılı immünite (T hücreleri) ve nonspesifik hücresel immünite (makrofajlar, NK hücreleri ve nötrofiller), genellikle mantarlara karşı asıl savunmayı sağlamaktadır. Mantarlara karşı savunmada, hücresel savunma mekanizmalarının önemi; klinik olarak, invaziv fungal infeksiyonların çoğunun defektif hücresel immüniteli bireylerde ortaya çıktığının gözlenmesiyle kanıtlanmıştır (73).

Candidanın kolonizasyondan, mukozal invazyon ve/veya sistemik yayılıma geçiş, konak ve mantara ait faktörlere bağlıdır. Antibiyotik tedavisi sonucu normal floranın değişmesi, kazanılmış veya primer immün yetmezlik ve anatomik bariyerlerin yıkılması infeksiyona zemin hazırlar (74).

Mantar hücre duvarı, mantara fiziksel koruma sağlar, onu kompleman aracılı lizis gibi konak savunmalarına karşı dirençli kılar. Doğumsal bağışık savunma, mantar hücre duvarı komponentlerini tanımak ve yanıt geliştirmek için, β -glukan reseptörü, mannoz reseptörleri ve toll-like reseptörleri (TLR) taşır (74).

Nötrofil, makrofaj ve monositler asıl önemli antifungal etkili hücrelerdir. Nötrofil ve monositler, sitokinler, kemokinler ve kompleman bileşenlerinin aktivasyonu ile infeksiyon bölgesine toplanırlar (74). Monositik öldürme, invitro olarak polimorfonükleer öldürmeden çok daha etkilidir. Ek olarak eozinofiller de candidayı fagosite eder ve öldürür. Plateletler de antikandidal aktiviteye sahiptir (13).

Doğal bağışıklık, dissemine kandidoza karşı baskın olan koruyucu mekanizmadır. Kantitatif ve kalitatif olarak nötrofil ve monositlerdeki anormallikler sistemik kandidiyazisle birliktedir. Lenfoma, lösemi, kronik granülomatöz hastalık ve nötropeni ile sonuçlanan yoğun kanser kemoterapisi alanlar, dissemine infeksiyon için artmış risk altındadırlar (74).

Hücrel aracılı immünite sırasında, candida antijenleri T hücrelerine sunulur ve beraberinde sitokin sentezi ile bu hücrelerin proliferasyonu sağlanır ve bu sitokinler fagositlerin kandidasidal fonksiyonlarını artırır (75).

Orofaringeal kandidoz (OPC), immünoompromize hastalardaki en yaygın mikotik infeksiyonlardan biridir. Hücre aracılı immünite, gastrointestinal yüzeylerde kandidozun önlenmesinde baskın rol oynar. AIDS'te orofaringeal ve özofageal kandidoz gelişimi CD4⁺ lenfositlerin sayısındaki azalmayla ilişkilidir. Kronik Mukokutanöz Kandidoz'lu hastalar tipik olarak, çocukluk çağında kandidozla tanışırlar. Çoğunlukla tekrarlayan ve inatçı olan bu hastalığı taşıyanların, candida türlerine karşı hücrel immün cevaplarında yetmezlik vardır ve infeksiyonla etkili bir şekilde mücadele edemezler (74).

Mantarlar, komplemanı klasik ve alternatif yoldan aktive eder ve fungal hücre yüzeyinde C₃ birikir. Kompleman aktivasyonu infekte dokulara fagositlerin toplanmasını kolaylaştırır ve onların antikandidal aktivitelerini artırır (74).

Fungal infeksiyonlarda antikora bağımlı immünitenin rolü tartışmalıdır. Literatür, antikor immünitesinin lehinde ve aleyhinde çok sayıda çalışma içerir ve medikal önemi olan mantarların herhangi biri için doğal antikor immünitesinin rolü üzerinde görüş birliği yoktur. Kandidozlu bireylerde, kontrollere göre, *C. albicans*'a karşı oluşmuş antikorların düzeyi genellikle daha yüksek bulunur (73).

Antikorlar maya hücrelerini aglütine ederler ve infeksiyonu sınırlandırarak konak defansına katkıda bulunurlar. *C. albicans*'a karşı antikorlar güçlü opsoninlerdir. Bununla beraber, opsonik antikor fagositoz için mutlaka gerekli değildir, çünkü maya,

kompleman sistemini aktive edebilir. Spesifik IgG *C. albicans* üremesini direkt etkilemez, ancak hifal antijene karşı oluşmuş Fab fragmanı germ tüp oluşumunu inhibe edebilir. *C. albicans*'a karşı oluşan antikorlar, serumda immünosupresif polisakkarit antijenleri bağlayabilir, böylece fungal ürünlerin nötralizasyonunda rol oynar (73).

2.7 Candidaların tanısı:

Kandidoz tanısında önemli olan direkt tanıdır. Yüzeyel kandidoz tanısı için incelenecek klinik örnekler; deri kazıntısı, tırnak kazıntısı ve mukozalardan alınan sürüntü ve/veya kazıntı örnekleridir. Derin/sistemik kandidoz kuşkusunda kan, beyin-omurilik sıvısı, balgam, idrar, eksudalar, doku biyopsileri, ameliyat materyalleri, damariçi kateter uçları gibi örnekler incelenir. Örnekler, başka mikroorganizmaların üremesini engellemek için, hemen laboratuara ulaştırılmalıdır. Laboratuara hemen gönderilemeyen örnekler birkaç saat buzdolabında bekletilebilir. Derin kandidoz tanısı, klinik tablonun özgül olmaması ve tanıya ilişkin test sonuçlarının yorumundaki zorluklardan ötürü, güçtür. Bu nedenle, derin kandidoz kuşkusunda olabildiğince çok kaynaktan örnekler alınmalı ve örneklerden özellikle direkt mikroskopik inceleme yapılmasına özen gösterilmelidir (1).

2.7.1 Mikroskopik inceleme:

Deri ve tırnak kazıntısı gibi sert örneklerden %15'lik potasyum hidroksit (KOH) ile preparat hazırlandıktan sonra direkt olarak incelenir. BOS, idrar gibi sıvı örnekler santrifüjlendikten sonra sedimentinden, diğer yumuşak örnekler direkt olarak preparat hazırlanarak Gram boyası ile boyandıktan sonra incelenir (1).

Mikroskopik incelemede, tomurcuklanan hücreler ve yalancı hifler, boyalı preparatlarda ise Gram pozitif boyanan 8-10 µm boyutunda oval veya yuvarlak candida hücreleri görülebilir. Preparatlarda yalancı hiflerin görülmesi candidanın doku içerisine girdiğinin, başka bir deyişle infeksiyonun işareti olarak kabul edilir (1,7). Candida septisemilerinde hasta kanından hazırlanan preparatlar Wright ve Giemsa yöntemleri ile boyanarak incelenebilir (76).

2.7.2 Kültür:

2.7.2.1 Primer izolasyon:

Candida türleri her türlü hasta örneğinden izole edilebilir. Herhangi bir klinik örnekteki varlığı çevresel kontaminasyon, kolonizasyon ya da aktif enfeksiyona bağlı olabilir. Bu nedenle örneğin cinsi, aynı hastadan alınan birden fazla örnekte aynı türün üremesi, üremelerde koloni sayısı, değerlendirmelerde kritik noktalar (77). Tüm örnekler antibiyotikli Sabouraud-dekstroza agar (SDA) gibi rutin bir besiyerine ekilerek, oda ısısında (22-26°C) ve 37°C’de inkübe edilirler. *Candida* türleri genellikle 24 saat içinde koloni oluştururlar, ancak 48 saatte kolonileri daha belirginleşir. Oluşan kolonilerden Gram preparasyonu yapılarak, Gram pozitif maya hücresi olup olmadığı kontrol edilir (1,7).

2.7.2.2 İdentifikasyon:

Candida türlerinin geleneksel identifikasyonu morfolojik ve biyokimyasal özellikleri temel alınarak yapılır. Bu özelliklerin başlıcaları; görünümü ve rengi, hücrelerin büyüklüğü ve şekli, hif ve/veya psödohif oluşumu, germ tüp oluşturma yeteneği, klamidospore oluşturma yeteneği, karbonhidrat asimilasyonu, nitrat asimilasyonu ve şeker fermentasyonu olarak sayılabilir (78).

2.7.2.2.1 Germ tüp testi:

Bu testte, Reynolds-Braude belirtisi olarak adlandırılan, candidaların serumlu ortamda germ tüpü (çimlenme borusu) oluşturma özelliği incelenir (76). Germ tüp testi, *C. albicans*’ın tanısında hızlı bir testtir ve hem primer hem de saf kültürlerden yapılabilir (78). Germ tüp oluşumunu incelemek için, test edilecek suş, insan ya da tavşan serumu içerisine ekilir ve 37°C’de maksimum 3 saat süreyle inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası, bu süspansiyondan bir damla alınarak lam-lamel arasında 40X objektif ile incelenir. Germ tüp, maya hücresinin yarısı kadar genişlikte, 3-4 katı uzunlukta olan, maya hücresinden çıkan ve gerçek hifin başlangıcı olan filamentöz bir uzantıdır. En önemli özelliği, maya hücresinden çıkış noktasında boğum olmamasıdır. Boğum olmaması, germ tüpün psödohiften ayrımını sağlar. Germ tüp oluşturan *Candida* türleri *C. albicans* ve *C. dubliniensis*’tir. *C. dubliniensis*, fenotipik özellikleri *C. albicans*’a benzeyen ve *C. albicans*’tan kesin ayrımı moleküler yöntemlerle mümkün

olabilen bir türdür. İzolasyon oranı çok düşüktür (18,79). Bu nedenle, germ tüp oluşturan suşlar rutin mikoloji laboratuvarlarında *C. albicans* olarak tanımlanabilir (78,79).

2.7.2.2.2 Mısırunlu Tween 80 besiyerinde morfolojik görünüm:

İncelenen suş mısırunlu Tween 80 besiyerine ekilerek hif, blastokonidyum, klamidospor ve artrokonidyum varlığı yönünden mikroskop altında incelenir. Candida türleri içerisinde sadece *C. albicans* ve *C. dubliniensis* klamidospor oluşturur. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* dışında kalan candida türlerinin her biri, mısırunlu Tween 80 besiyerinde kendine özgü tipik bir morfoloji gösterir. Örneğin, *C. glabrata*'nın blastosporları küçüktür ve psödohif oluşturmaz. Ancak bu görünümeler sadece ön tanımlama için fikir verebilir ve *albicans* ve *dubliniensis* dışı candida türlerinin birbirinden kesin ayrılabilmesi için mısırunlu Tween 80 besiyerindeki morfolojik görünüm yeterli olmaz (79).

2.7.2.2.3 Karbonhidrat asimilasyon testleri:

Karbonhidrat asimilasyon testleri, mayayı, oksijen varlığında spesifik bir karbonhidratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilmesi esasına göre tür düzeyinde tanımlamaya yardımcı olur. Klasik Wickerham-Burton yöntemini esas alan bir takım otomatize ve yarı otomatize ticari kitler kullanımdadır. Bunlardan bazıları API 20C AUX (bioMérieux, Fransa), API ID 32C (bioMérieux, Fransa) ve BBL Minitek Yeast Set (Becton Dickinson, ABD) olarak sayılabilir (80).

2.7.2.2.4 Karbonhidrat fermantasyon testleri:

Fermantatif mayalar alkol ve karbondioksit oluştururlar. Gaz oluşumu, fermantasyonun göstergesidir. Besiyerinin pH değeri değişmeyebilir. Test, birçok candida türünün, *Cryptococcus* ve *Rhodotorula* gibi nonfermentatif türlerden ayrılmasında kullanılır (80).

2.7.2.2.5 Üreaz testi:

Candida türlerinin, diğer mayalardan ayrımında kullanılır. *Trichosporon* türlerinin büyük çoğunluğu, *Cryptococcus* ve *Rhodococcus* türleri üreaz pozitif iken, klinik

örneklerde rastlanan candida türlerinin hemen hemen tamamı; *C. lipolytica* ve *C. krusei*'nin bazı suşları hariç, üreaz negatiftir (18,76,80,81). Uygun substratların varlığında, üreaz enzimi, üreyi parçalayarak amonyak oluşturur ve pH yükselmesine neden olur, bu da renk indikatörünün (fenol kırmızısı) kehribardan, pembeye renk değiştirmesi ile anlaşılır (18,80,81).

2.7.2.2.6 Hızlı trehaloz testi:

Hızlı trehaloz testi, *C. glabrata*'nın 3 saat içerisinde identifikasyonuna olanak sağlar. CLSI (The Clinical and Laboratory Standarts Institute), *C. glabrata*'nın trehalozu asimile etmesine dayanan hızlı bir test prosedürünü, M35-A dokümanı adı altında yayınlamıştır. Yanlış pozitif sonuç oluşabilir, ancak *C. glabrata*'nın morfolojik olarak germ tüp ve psödohif oluşturmaması ve küçük hücre boyutlarıyla desteklenirse, bu olasılık azaltılabilir. GLABRATA RTT (Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret, France) adlı ticari kiti ve 30 saniyede sonuç veren dipstick testleri mevcuttur (80).

2.7.2.2.7 Kromojenik besiyerleri:

Kromojenik agar besiyeri kullanılarak bir veya birkaç candida türünün olası tanısı belirlenebilmektedir. Bu besiyerleri, farklı candida türlerinin ürettiği enzimlerle reaksiyona giren türe özgü kromojenik substratlar içerir ve üreyen kolonilerin rengi türe göre değişir. CHROMagar Candida (CHROMagar France; Paris, France), CandidaID (bioMerieux), CandiSelect (Bio-Rad, France) ticari kromojenik besiyerlerinden bazılarıdır (80). Sand-Milan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*'nin tanımlanması için, CHROMagar'ın özgüllük ve duyarlılığı, %100'e yakın bulunmuştur. Aynı türlerin identifikasyonunu, Pfaller ve arkadaşları %95'ten fazla doğrulukla saptamışlardır (18). CandidaID ve CandiSelect'in performansı da CHROMagar'a benzer bulunmuştur (80).

2.7.3 Kültür dışı tanı yöntemleri:

2.7.3.1 Serolojik yöntemler:

Mantar infeksiyonlarında serolojik testlerin rutin tanıda kullanımı henüz tam olarak yaygınlaşmamıştır. Hastane infeksiyonlarına yol açması nedeniyle daha çok candida infeksiyonlarının tanısında bu testler kullanılmaktadır (7).

Serolojik testler, mantar infeksiyonlarının tanısı yanında, hastanın tedaviye cevabının değerlendirilmesinde, hastalık ilerlemesinin gösterilmesinde kullanılabilir. Serolojik testlerin bir kısmı mantar antijenlerine karşı oluşan antikorların gösterilmesine yöneliktir. Diğerleri ise mantar antijenlerinin ve metabolik ürünlerin gösterilmesi esasına dayanır. Antijen ve antikorların birlikte araştırıldığı yeni kombine testler daha özgül sonuçlar verir. Kandidozun tanısında tek başına kullanılabilecek bir test bulunmamaktadır. Tek örnekten elde edilen sonucun duyarlılığının düşük olması nedeniyle literatürde bir anlaşma oluşmamıştır. Bu nedenle birden çok ardışık örneğin test edilmesi gereklidir. Serolojik testlerden elde edilen sonuçlar, klinik bulgular ve kan kültür sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir (82).

Antikorların gösterildiği testler:

Candidaya karşı oluşan antikorlar tüm hücre aglütinasyonu, Lateks aglütinasyonu, indirekt immün floresans, RIA ve EIA ile araştırılabilir. Başlıca hedef alınan antikorlar, anti-mannan antikorlar olmuştur. Enolaz, aspartik proteinaz ve metallopeptidaz gibi candida antijenlerine karşı oluşan antikorlar da arama için kullanılabilecek diğer hedeflerdir (82).

Antijenlerin gösterildiği testler:

Bu amaçla ısıya duyarlı antijen, mannan ve enolaz kullanılmaktadır (82). İnvaziv kandidoz tanısında en fazla kullanılan antijenik yapı mannandır. Sağlıklı bireyde antikorlarca hızla uzaklaştırılmaktadır. Bu nedenle immünsüprese kişilerde daha kullanışlıdır. En çok kullanılan yöntem ELISA yöntemidir. Anti-mannan antikor testi ile beraber kullanıldığında duyarlılık ve özgüllüğü artmaktadır (77,82). Mantar hücre duvarı komponentlerinden B-glukan antijeninin serumda aranması son zamanlarda önem kazanan bir testtir. Ancak bu test panfungal bir test olup, sadece mantar varlığını gösterebilen, ancak cins özelliği veremeyen bir yöntemdir (77,82).

Fungal metabolitlerin gösterildiği testler:

Tanı için kullanılan major fungal metabolit D-arabinitol'dur. İdrarda D-arabinitol/L-arabinitol oranının tespit edilmesi tanıda yardımcıdır. Ancak gaz likid kromatografisi gibi ileri yöntemler gerektirir. İkinci bir yaklaşım, D-arabinitol/kreatinin oranının serumda bakılmasıdır (77,82,83). Salgısal aspartik proteinazların kandidozda taranması yeni bir tanısal yaklaşım olup, kolonizasyon ve infeksiyon ayrımı yapabilecekleri bildirilmiştir (82).

2.7.3.2 Moleküler yöntemler:

Klinik örneklerden candida türlerini belirleyecek rutin kullanımda olan bir sistem yoktur (77,84). Pek çok çalışma, üremeden sonra identifikasyona yönelik olmuştur. Ancak son yıllarda peptid nükleik asit floresans in situ hibridizasyon (PNA-FISH) ticari kiti kullanım onayı almıştır. Kit, türe özgül rRNA dizisini hedefleyerek kan kültürlerinde *C. albicans*'ın belirlenmesini sağlar. Yapılan çalışmalarda testin %99 duyarlı, % 100 özgül olduğu saptanmış olmakla beraber diğer türler için yardımı yoktur ve kan kültür pasajlarının gerekliliğini ortadan kaldıramaz (77).

2.8 Candida infeksiyonlarının tedavisi:

1950'lere gelinceye kadar, yüzeysel ve invaziv mikozların tedavisi için birkaç ilaç mevcut olmakla beraber, etkili antifungal tedavinin başlaması 1955'te polyen grubu antifungaller nistatin ve amfoterisin B'nin keşfi ile olmuştur. Amfoterisin B, 40 yıldan fazla bir süredir ciddi fungal infeksiyonların tedavisinde ana bileşik olmayı sürdürmekle birlikte, infüzyonla ilişkili yan etkileri ve doz kısıtlayıcı nefrotoksitesisi, aynı etkinliğe sahip, fakat daha az toksik alternatiflerin araştırılması ihtiyacını doğurmuştur (85).

1960'larda, antineoplastik bir ajan olarak geliştirilen sentetik bir pirimidin analogu olan flusitozinin, yaygın görülen mayalara karşı potent antifungal aktivitesi bulunmuştur. Ne var ki, monoterapi olarak uygulandığında flusitozine hızla direnç geliştiğinden, kullanımı, amfoterisin B ile kombinasyon tedavisi şeklinde kısıtlanmıştır (85).

Antifungal terapideki bir sonraki aşama için, ilk oral biyoyararlanımlı sistemik azol olan ketokonazolün klinik kullanıma girdiği 1981 yılına kadar beklemek gerekmiştir. Ketokonazol, yüksek derecede lipofilik olduğundan, toksisitesini artıran ve klinik kullanışlılığını sınırlandıran istenmeyen fizyokimyasal karakteristikleri mevcuttur (85).

Bu sınırlamalardan dolayı, iyileştirilmiş fizyokimyasal özellikleri ve aktivite spektrumu ile yeni bir kimyasal azol grubu olan triazoller geliştirilmiştir. Flukonazol, 1990'ların başında kullanıma girmiş, ilk triazol bileşiğidir. İntravenöz veya oral kullanılabilir ve farmakokinetiği iyi bilinir. Biyoyararlanımı çok iyidir ve BOS, vitroz sıvı gibi anatomik olarak sınırlandırılmış bölgelere penetrasyonu iyidir. Sonuçta flukonazol hızla, 1990'lar boyunca mayaların neden olduğu yüzeysel ve hayatı tehdit

edici infeksiyonların tedavisinde en yaygın reçetelenen antifungal ajanlardan biri haline gelmiştir (85).

Ancak, fırsatçı küflere karşı aktivitesinin olmaması ve bazı albicans dışı candida türleri arasında intrinsek direnç bulunması, ağır immün yetmezlikli hastalarda daha geniş spektrumlu alternatifler için ihtiyaç doğurmuştur. İtrakonazol ve daha geniş spektrumlu triazol türevlerinin (vorikonazol ve posakonazol) geliştirilmesi, bu yüksek riskli hastalarda flukonazolün etki spektrumundaki sınırlamaları ortadan kaldırmıştır. Ancak yine de, bu geniş spektrumlu triazoller halen fukonazol ile çapraz direnç riski taşımaktadırlar, aynı zamanda daha karmaşık farmakokinetik profil göstermektedirler ve ilaç etkileşimleri için daha yüksek eğilim taşırlar (85).

Yirminci yüzyılda, antifungal ilaç keşfinde son aşama, glukan sentezinin inhibisyonu ile hücre duvarı hasarına yol açan lipopeptid moleküller olan ekinokandinlerin keşfidir. Fungal hücre duvarının yaşamsal önemi ve bir hedef olarak memeli hücrelerinde bulunmayışı nedeniyle, ekinokandinler, iyi tolere edilen ve düşük toksisiteli antifungal ajanlar olarak görünmektedir (85).

Bugün için candida infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan sistemik ajanlar, amfoterisin B, azoller (ketokonazol, itrakonazol, flukonazol, vorikonazol), kaspofungin ve flusitozindir (8). Candida infeksiyonlarının tedavisi, infeksiyonun anatomik lokalizasyonuna, hastanın immün durumuna ve altta yatan hastalığı olup olmamasına, risk faktörlerine, infeksiyondan sorumlu candida türüne ve antifungal ajanlara duyarlılığına bağlı olarak değişiklik gösterebilir (8,85).

2.8.1. Candida infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antifungaller:

2.8.1.1. Polyenler:

Bu grup amfoterisin B ve nistatini içerir. Nistatin topikal olarak kullanılır. Halen, sistemik fungal infeksiyonların tedavisinde amfoterisin B ve lipid formülasyonları kullanılır. Amfoterisin B, fungal hücre membranındaki major sterol olan ergosterole bağlanarak mantarı öldürür. Bu bağlanma, hücre içindeki potasyum, magnezyum, şekerler ve metabolitlerin hücre dışına sızmasına yol açarak, membranın ozmotik bütünlüğünü bozmakta ve sonuçta hücrenin ölümüne neden olmaktadır (86).

Amfoterisin B, patojenik mantarların geniş bir bölümüne etkilidir. Bunların içinde candidaların birçok suşu, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* türleri, *Mucor* türleri,

Blastomyces dermatitidis, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* ve *Paracoccidioides brasiliensis* bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu grubun içinde *C.guilliermondii*, *C.lusitaniae*, *C.krusei* ve *Aspergillus terreus* gibi bazı türler veya suşlar, amfoterisin B'ye karşı azalmış duyarlılığa veya potansiyel dirence sahip olabilmektedir (86).

Amfoterisin B'nin parenteral formu olan amfoterisin B deoksikolat, çok fazla nefrotoksik olduğundan lipid formülasyonları geliştirilmiştir. Amfoterisin B'nin en önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Ateş, titreme, myalji, hipotansiyon, bronkospazm ve tromboflebit, tedavi sırasında gelişebilir. Lipid formülasyonların başlıca avantajı, amfoterisin B deoksikolat ile kıyaslandığında, özellikle nefrotoksisite başta olmak üzere yan etkilerinin önemli ölçüde azaltılmış olmasıdır (86).

2.8.1.2. Azoller:

Azol grubu antifungal ajanlar hem yüzeysel hem de derin mikozların tedavisinde başarıyla kullanılmakta olan ilaçlardır (87). Bunlar, fungal plazma membranının önemli bir komponenti olan ergosterol sentezini, sitokrom p450'ye bağımlı 14- α lanosterol demetilaz enzimini inhibe ederek engellerler (7,87,88). Klinik kullanımdaki azoller, azol halkasında iki ya da üç nitrojen bulunmasına göre imidazoller (örn. ketokonazol, mikonazol, klotrimazol) ve triazoller (örn. flukonazol, itrakonazol) olarak sınıflandırılır. Genel bir yaklaşım olarak, imidazoller daha çok yüzeysel mikozların tedavisinde kullanılırken, triazoller özellikle sistemik mikozların tedavisinde önemli bir etkiye sahiptirler (87).

İkinci kuşak azoller (ilk kuşak triazoller) olarak isimlendirilen flukonazol ve itrakonazolün klinik olarak etkin ve güvenli oluşları nedeniyle, çok değişik fungus türlerince oluşturulan invaziv fungal infeksiyonlarla mücadelede dramatik etkiler gözlenmiştir. Bu triazoller sıklıkla amfoterisin B'nin terapötik alternatifleri olmuşlardır. Ancak çok yaygın bir şekilde kullanılmaları, azollere direnç gelişimi problemini ortaya çıkarmış ve sonuçta kaygı uyandırmaya başlamıştır. Azol direncinde yer alan mekanizmalar ne olursa olsun, bu sorun tedavi sonuçları açısından önemli bir etkiye yol açmıştır. Örneğin, orofaringeal kandidozlu AIDS hastalarına ait *C. albicans* suşları hem flukonazole direnç kazanmış, hem de itrakonazol ve ketokonazole çapraz direnç sergilemişlerdir. Yine AIDS'li hastalarda uzun süreli itrakonazol profilaksisi,

itrakonazole duyarlılığın azalması ve flukonazole çapraz direnç gelişimiyle sonlanmaktadır (87).

Ancak flukonazolün başarısı, yeni triazol antifungal ajanların geliştirilmesi isteğini beraberinde getirmiştir. Yeni üçüncü kuşak azoller (ikinci kuşak triazoller) geniş etki spektrumu ve düşük toksisite gibi özelliklerinin yanı sıra, klinisyenlerin refrakter fungal infeksiyonlarla savaşıma yeteneklerini artıracak gibi görünmektedirler. Bu triazoller, benzer etki mekanizmasına sahip olmakla birlikte, hem flukonazole dirençli hem de duyarlı funguslara güçlü bir antifungal aktivite sergilemektedirler. Bunların arasında üzerinde en geniş şekilde çalışılan triazol bileşikleri, vorikonazol, posakonazol ve ravukonazoldür (87). Bunlardan vorikonazol, klinik kullanımda olup, posakonazolün bazı endikasyonlarda kullanımı onaylanmıştır. Ravukonazol, faz II-III aşamasındadır. Albakonazol ise henüz faz I-II çalışmaları devam eden bir triazoldür (89).

Flukonazol, birçok candida türüne ve *C. neoformans*'a etkilidir. Candida türleri arasında, *C. krusei* intrinsek olarak flukonazole dirençlidir. Öte yandan, *C. glabrata* suşlarının duyarlılığı da yaygın çeşitlilik gösterir. Bazı *C. glabrata* suşları flukonazole doza bağımlı duyarlı iken, yaklaşık %15 kadarı gerçek direnç göstermektedir. Ek olarak, herhangi bir candida türüne ait bir suşta, flukonazole direnç saptanabilir. Özellikle, AIDS'li hastalarda uzamış flukonazol profilaksisini takiben, *C. albicans* izolatlarında dahi flukonazole kazanılmış direnç gelişebilmektedir (86).

Vorikonazol, geniş spektrumlu bir aktiviteye sahiptir. Etki spektrumu, candida türleri (flukonazole dirençli bazı izolatlar dahil), *C. neoformans*, *Trichosporon* türleri, *Blastoschizomyces capitatus*, *Aspergillus* türleri, *Fusarium* türleri, *Scedosporium apiospermum*, *Scedosporium prolificans*, *B. dermatitidis*, *H. capsulatum*, *C. immitis*, *P. marneffe* ve dermatofitleri kapsar. Flukonazole dirençli candida izolatlarının önemli bir kısmı, çapraz direnç sonucu, ketokonazol ve itrakonazolün yanı sıra vorikonazole de dirençli hale gelmektedir (86).

Vorikonazol, özofageal kandidiyazis ve nonnötrofenik kandideminin tedavisinde endikedir (86). Bunun yanı sıra, hepatosplenik kandidiyazis de dahil yaygın candida infeksiyonlarında vorikonazol ile başarılı sonuçlar bildirilmiştir (90).

2.8.1.3. Ekinokandinler:

Kaspofungin, mikafungin ve anidulafungini içeren ekinokandinler, kimyasal olarak modifiye edilmiş mantar moleküleridir. Ekinokandinler, memeli hücrelerinde bulunmayan, mantar hücre duvarının esas bileşeni olan β -(1,3)-D-glukan sentezini non-kompetitif inhibe ederek mantar hücre duvarı oluşumunu engellerler. İnsan hücrelerine toksik değildirler. Azol ve polyen antifungallerle çapraz dirençleri yoktur. Azollere dirençli olanlar dahil olmak üzere, candida türlerinin çoğuna fungisidal, *Aspergillus* türlerine karşı fungistatik etki gösterirler. Şu ana kadar türe bağlı direnç saptanmamış olmakla birlikte, bazı yayınlarda *C.parapsilosis*, *C.glabrata* ve *C. albicans* türlerinde direnç bildirilmiştir. Hücre duvarında glukan içermeyen *Cryptococcus neoformans*'a ve *Zygomycetes*'lere etkileri yoktur (91).

2001'de kaspofungin, insanlarda invaziv fungal infeksiyonların tedavisi için FDA'dan (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) onay alan ilk ekinokandin olmuştur (85). İnvaziv kandidiyazis, özofageal kandidoz ve invaziv aspergillozis için kullanım lisansı mevcuttur. Esas olarak, diğer antifungallere dirençli olan suşlar dahil olmak üzere candidalara etkilidir. En sık yan etkileri, flebit, transaminaz ve ALP yüksekliği, hemoglobin düşüklüğüdür (92).

2.8.2. Candida türlerinde antifungal direnç:

Son yıllarda organ nakli, immün sistemi etkileyen hastalıklar ve kemoterapi gibi nedenlere bağlı olarak fungal infeksiyonların arttığı ve buna paralel olarak antifungal ilaç kullanımının yaygınlaştığı bildirilmiştir. Tüm bunların sonunda ise antifungal direnç, kliniklerde önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (93). Mantarların neden olduğu infeksiyonlar, morbidite ve mortalitesi yüksek hastalıklardır. Buna karşılık, antifungal ilaçların profilaktik amaçla kullanılması ile hem albicans dışı candida türlerinin sıklığında artış, hem de özellikle azol türevi antifungallere direnç gelişmektedir (94).

2.8.2.1. Amfoterisin B direnci:

Amfoterisin B'ye intrinsek direnç, bazı *C. lusitaniae* suşlarında, sekonder direnç ise *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* türlerinde bildirilmiş olmasına karşın, nadirdir. Uzun yıllar intrinsek dirençli kabul edilen *C. lusitaniae* izolatlarının çoğunun

primer olarak amfoterisin B'ye duyarlı olduğu ve duyarlı fenotipten, dirençli fenotipe geçmesine yol açan bir mekanizmanın bulunduğu bildirilmiştir (95).

Amfoterisin B'ye direnç, hedef membran lipidlerinin, özellikle sterollerin değişimi veya plasmalemmadaki ergosterol miktarının düşmesi nedeniyle amfoterisin B'nin bağlanmasında bir azalma sonucu meydana gelmektedir. Sterollerin değişimi, daha çok ergosterol biyosentezi ile ilgili mutasyonlara sekonder olarak ortaya çıkmakta, fungus ergosterol yerine benzeri bileşikler yapmaktadır. Diğer direnç mekanizmaları olarak, fosfolipidlerinin yapısının bozulması, değişimi ve katalaz aktivitesinin artması bildirilmiştir (93).

2.8.2.2. Azol derivelere direnç:

Azol grubu antifungallerin hedefi ERG11 geni tarafından kodlanan 14- α -demetilaz enzimidir (96). Azol direncinin birçok mekanizma ile ortaya çıkabildiği bildirilmiştir:

1) Hücre içinde ilaç birikiminde azalma: Teorik olarak hücre içinde ilaç birikiminde azalma, ilacın hücreye alımında bozukluk ya da ilacın pompa sistemleri ile atılımının artması sonucu ortaya çıkmaktadır (96).

2) Erg11p'nin azollere afinitesinde azalma: ERG11 geninde ilaç bağlanmasını bozan yapısal değişikliklere yol açan, Erg11p'nin afinitesini azaltan nokta mutasyonları saptanmış ve klinik *C. albicans* suşlarında flukonazol direncine yol açtığı bildirilmiştir (93).

3) Erg11p'nin hücresel içeriğinde artma: ERG11 geninin fazla ekspresyonu ile ilişkili olan bu durumda, 14- α -demetilaz enziminin sentezi aşırı miktarda artmaktadır. Bu şekilde ilaç etkin bile olsa enzimin fazlalığı ile ergosterol sentezi devam etmekte ve ilacın etkisi kaybolmaktadır (93).

4) Ergosterol biyosentezinde değişiklik: Azollere dirençli mayaların sterol yapılarının incelenmesi sonucu, ERG3 ile kodlanan ve ergosterol biyosentezinde 14- α -demetilaz'dan daha erken bir basamakta etki eden $\Delta^{5,6}$ desaturaz enziminin inaktivasyonu ile biyosentez yolunun değiştirildiği izlenmiştir. Bu enzimdeki mutasyonlar, membran sterolünün yapısında değişikliğe yol açmaktadır. Bunun sonucunda, ergosterol yerine, 14- α metil fekosterol birikimi ile azol direnci ortaya çıkmaktadır (95).

2.8.2.3. Ekinokandinlere direnç:

Ekinokandinlerin diğer candida türlerine göre *C. parapsilosis* suşlarına daha az etkin olduğu belirlenmiştir. Klinik olarak kullanıma yeni geçildiğinden, direnç laboratuvar kökenli mutantlarda incelenmiştir. Glukan sentazın FSK1 tarafından kodlanması nedeniyle *S.cerevisia*, *C.albicans* ve *A.fumigatus* türlerinde, bu genlerdeki bozukluklar ya da mutasyonların dirence yol açtığı belirtilmiştir (93).

2.8.3. Candida türlerinde antifungal duyarlılık testleri:

Mantarlar için standart antifungal duyarlılık testlerinin geliştirilmesi için ilk çalışmalar 1982 yılında NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) tarafından başlatılmıştır. Bu adımın antibiyotik duyarlılık testlerine oranla çok daha geç atılmış olmasının ve 1980’li yıllardan itibaren antifungal duyarlılık testlerine ihtiyaç duyulmaya başlanmasının başlıca nedenleri şunlardır:

1) Mantar infeksiyonları, özellikle fırsatçı mikozlar, 1980’li yıllara kadar çok nadir görülmekteyken, daha sonraki yıllarda bağışıklık sistemi baskılamış hasta popülasyonundaki göreceli artışla birlikte büyük önem kazanmıştır.

2) Tedavide kullanılabilecek antifungal ilaçlar bu yıllara kadar sadece birkaç tür iken, sonraları yeni ilaçlar geliştirilmiş ve kullanılabilecek antifungal ilaçların çeşitliliği artmıştır. Bu çeşitlilik, hangi ilacın hangi durumlarda kullanım endikasyonu olacağının belirlenmesini gerektirmiştir.

3) Bu gelişmeler, daha önceleri bilinmeyen ya da düşünülmeyen “antifungal ilaçlara direnç” kavramını da beraberinde getirmiş, tıpkı bakteri ve antibiyotikler için olduğu gibi mantarlar ve antifungal ilaçlar için de primer ve kazanılmış (sekonder) direncin söz konusu olabildiği anlaşılmıştır (97).

CLSI (NCCLS)’nın antifungal duyarlılık testleri alt komitesi tarafından, 1997’de candida türleri için M27-A rehberi hazırlanmıştır. Yine 2002’de değişikliklerle M27-A2 rehberi yayınlanmıştır. Bu metodoloji, makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemlerini içermekte ve standardize etmektedir (98). Son olarak 2008 yılında M27-A3 yönergesi kullanıma girmiştir (99).

Mayalar için antifungal duyarlılık deneyleri:

1) Dilüsyon temeline dayalı yöntemler:

a) Buyyon makrodilüsyon yöntemi: Bu amaçla genellikle pH indikatörlü RPMI 1640 besiyeri kullanılmaktadır. Antifungal ilaçlar önce kendilerine uygun çözeltiler içerisinde sulandırılır, filtrelerden süzülerek steril edilirler. Antifungal duyarlılık deneyi yapılacak olan mayanın steril SF içerisinde süspansiyonu yapılır. Deneyler tüplerde çalışılır. Deney tüplerine son konsantrasyonları hazırlanmış antimikotiklerden 0.1 mL konur, üzerine 0.9 mL maya içeren solüsyondan eklenir. Tüpler karıştırıldıktan sonra 35°C'de 46-50 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda ilaçlı besiyeri tüpleri, üreme kontrol tüpleri ile kıyaslanarak görsel olarak değerlendirilir (7).

b) Buyyon mikrodilüsyon yöntemi: Makrodilüsyon yöntemine benzer fakat yapılması daha kolay, daha az zaman alıcı, daha ucuz ve 24 saatte sonuç alınabilmesi gibi özellikleri vardır. Bu yöntemde de makrodilüsyon yönteminde olduğu gibi önce ilaçların ve maya mantarlarının uygun sulandırımları hazırlanır. Deneyler U tabanlı 96 çukurlu steril mikropalaklarda çalışılır. Kuyucuklara 100'er µL ilaç solüsyonu ve 100'er µL maya solüsyonu dağıtılır. Mikrodilüsyon plakları 35°C'de 24-48 saat inkübe edilir. Test çukurları üreme kontrol çukuru ile görsel olarak karşılaştırılır. Buna göre elde edilen bulanıklık 0'dan 4'e kadar rakamla ifade edilir:

0: Bulanıklık yok

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

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

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

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

Bu kriterler göz önüne alınarak MİK değerleri amfoterisin B için hiç bulanıklığın olmadığı 0 değeridir. Azoller için ise 2 değeridir (7).

c) Agar dilüsyon yöntemi: Bu yöntemde ilaç dilüsyonları agar besiyeri hazırlanırken içerisine 1/10 oranında ilave edilir. Üreme kontrolünün yapılabilmesi için de ilaçsız besiyeri hazırlanır. Maya solüsyonu diğer yöntemlerdeki gibi hazırlanır. Bu solüsyonlardan besiyerine 1-3 µL ekim yapılır. Yapılan ekimler 30°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirme yapılır. MİK değerleri makroskopik olarak koloninin üremesini inhibe eden en düşük ilaç konsantrasyonu olarak belirlenir (7).

2) Difüzyon temeline dayalı yöntemler:

a) Disk difüzyon yöntemi: Kolay, hızlı ve ucuz bir yöntemdir. Candida ve diğer maya cinslerine karşı flukonazol ve vorikonazol için dirençlilik belirlemede yararlıdır (98).

b) E-test yöntemi: Bu deneyde antifungal ilacın çeşitli konsantrasyonları emdirilmiş stripleri ile çalışılır. Pahalı bir yöntem olmasına karşın kolay uygulanması, ek malzemeye ihtiyaç göstermemesi ve MİK değerlerini saptayabilmesi nedeniyle önemlidir (7).

3) Flovritometri temeline dayanan yöntemler:

Flovritometri yöntemi DNA'ya bağlanan vital boyalar kullanılarak ölü ve canlı hücre ayırma temeline dayanmaktadır. Ortama eklenen floresanlı boyalar hücrelerde ilaca bağlı membran hasarı olduğu takdirde hücre içine girmektedirler. Buna bağlı olarak antifungal ilaçların etkinliği ve MİK değerleri belirlenebilmektedir (7).

4) Diğer yöntemler:

a) Ergosterol biyosentezinin önlenmesini ölçen test, azoller için kullanılır ve CLSI ile yüksek uyumludur.

b) Üreme olması ya da olmamasına göre XTT, MTT gibi tetrazolyum bromür, tetrazolyum hidroksit boyalarının kolorimetrik ayraç olarak renk değiştirmelerine dayanan testlerdir.

c) Hücre içi ATP yoğunluğunu ölçerek ilacın etkinliğini belirleyen bir testtir (98).

Antifungal duyarlılığı belirlemek amacıyla kullanılan yöntemler tablo 3'te verilmiştir (100).

Tablo 3. Antifungal duyarlılık testleri (100).

Dilüsyon temeline dayanan yöntemler	Difüzyon temeline dayanan yöntemler	Diğer yöntemler
• Makrodilüsyon* • Mikrodilüsyon* • Spektrofotometrik yöntemler • Kolorimetrik yöntemler • Agar dilüsyon • Yarı katı agar yöntemi • Agar tarama yöntemi	• Disk difüzyon • E test	• Ergosterol sentezinin kantitasyonu • Flovritometrik yöntem

* : CLSI'nin referans kabul ettiği yöntemler

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın yapılabilmesi için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 03-2008/74 sayı ve 26.03.2008 tarihli kararı ile etik kurul onayı alındı. Bu çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin değişik kliniklerinden, mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 candida suşu değerlendirmeye alındı.

Örneklerin 54'ü (%27) yoğun bakım biriminden, geri kalan 146'sı (%73) diğer kliniklerden geldi. 200 örneğin 111'i (%55.5) kan, 54'ü (%27) idrar, 6'sı (%3) boğaz, 6'sı (%3) balgam, 4'ü (%2) açlık mide sıvısı, 3'ü (%1.5) trakeal aspirat, 3'ü (%1.5) bronkoalveolar lavaj, 2'si (%1) dren, 2'si (%1) sonda, 2'si (%1) kateter, 2'si (%1) yara, 1'i (%0.5) santral venöz kateter, 1'i (%0.5) perikardiyal sıvı, 1'i (%0.5) diyalizat, 1'i (%0.5) safra, 1'i (%0.5) servikal sürüntü örneği idi.

3.1 İzolasyon ve identifikasyon:

3.1.1 Primer izolasyon:

Mikrobiyolojik inceleme amacıyla laboratuvarımıza gönderilen örnekler, rutin besiyerlerine ekildi. Etüvde 24-48 saat inkübe edilen örneklerden, Gram boyaması yapılarak, Gram (+) maya hücreleri saptanan kültürlerden SDA besiyerine pasaj yapıldı. BacTAlert (bioMerieux) otomatize kan kültürü sisteminde üreme gösteren kan kültürü şişelerinden yapılan ekimler sonucu maya üremesi gösteren örnekler aynı şekilde SDA besiyerine pasaj yapıldı. İnkübasyon sonunda krem-sarı renkli, hamurumsu-mukoid yapıdaki, kendine özgü maya kokusu veren ve saf olduğundan emin olunan kolonilerden %15 gliserinli buyyon içeren eppendorflara ekim yapıldı ve -20°C'de saklandı. Saklanan suşlar kullanılacakları zaman, tekrar SDA'ya pasajlanarak saf olduklarından emin olunduğunda çalışmaya dahil edildi.

3.1.2 İdentifikasyon:

3.1.2.1 Germ tüp (çimlenme borusu) testi: Test edilecek olan maya kolonisinden öze ile bir miktar alınarak 0.5 mL insan serumu içerisinde süspansiyon yapıldı. 37°C'de maksimum 3 saat inkübe edildikten sonra süspansiyonundan bir damla alınarak lam-lamel arasında ışık mikroskopunda 400 büyütmede

incelendi. Maya hücresinden çıkan, maya hücresinin yarısı kadar genişlikte, 3-4 katı uzunlukta olan, başlangıç noktasında boğumlanma olmayan ve uzunluğu boyunca belirgin kabarıklık göstermeyen filament şeklindeki uzantılar germ tüpü olarak değerlendirildi. Germ tüpü oluşturan maya suşları *C. albicans* olarak tanımlandı (18,19,79).

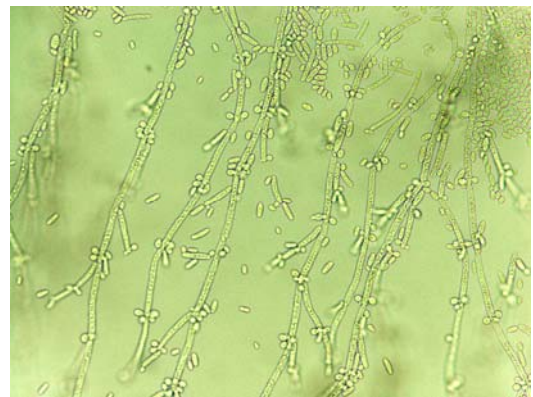
3.1.2.2 Mısır unu-Tween 80 agar besiyerinde mikroskopik görünümün incelenmesi:

Mısır unu-Twen 80 agara Dalmau tekniğine uygun olarak ekim yapıldı. Bunun için saf maya kolonilerinden iğne uçlu öze ile bir miktar alınarak birbirine paralel olarak dört çizgi şeklinde, besiyerini yırtmadan ve özeyi dibe kadar batırmadan ekim yapıldı. Ekim çizgilerinin üzerine lamel kapatılarak 26°C’de 72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda ekimler ışık mikroskopunda 10x ve 40x objektif ile incelendi (101).

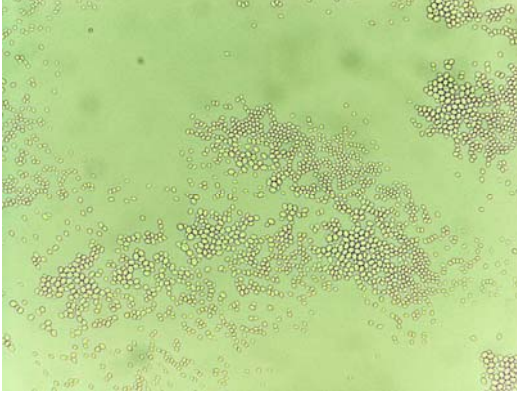
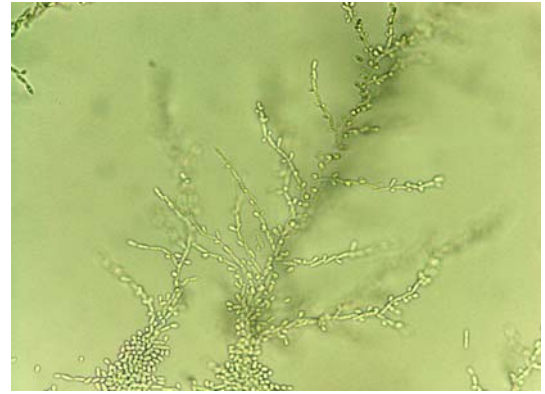
Yalancı ve gerçek hifler, yalancı hiflerin boğumları çevresinde kümeler oluşturmuş yuvarlak blastokonidyumlar ve hif uçlarında türe özgü kalın duvarlı, tek veya birkaç klamidospore görülmesi *C. albicans*, yalancı hif boyunca tek tek veya bazen küçük kümeler yapacak biçimde dizilmiş blastokonidyumlar ve arada iri hifler *C. parapsilosis*, yalancı hifler ve uzun ağaca benzer dizilim gösteren blastokonidyumlar *C. krusei*, yalancı hif boyunca tek tek veya küçük kümeler oluşturmuş yuvarlağımsı blastokonidyumlar; bazen yalancı hif uçlarında klamidospore benzer ancak ince duvarlı hücreler *C. tropicalis*, yalancı veya gerçek hif oluşturmayan, küçük, oval, tomurcuklanan blastokonidyumlar *C. glabrata* lehine değerlendirildi (1) (Resim 1-4).



Resim 1. *C. albicans* (çalışmamızdan)

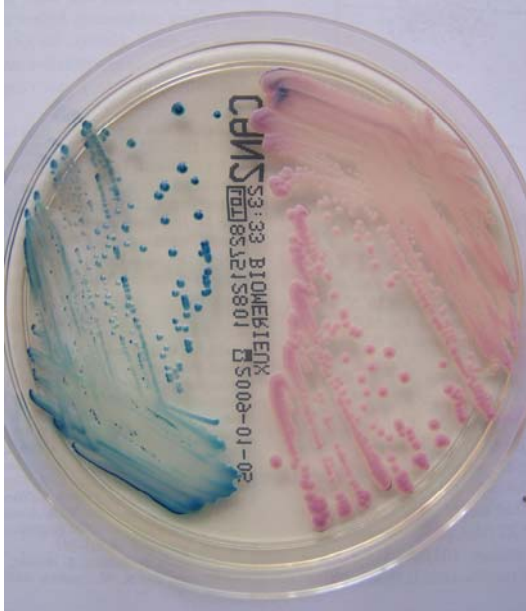
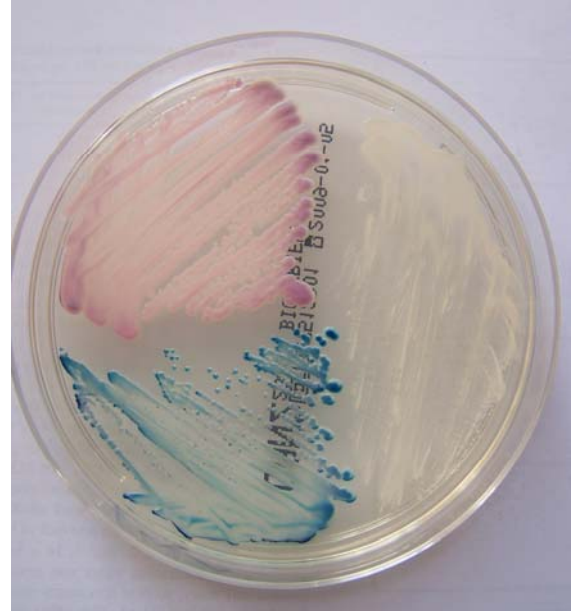


Resim 2. *C. krusei* (çalışmamızdan)

Resim 3. *C. glabrata* (çalışmamızdan)Resim 4. *C. parapsilosis* (çalışmamızdan)

3.1.2.3 Kromojenik besiyeri:

Kromojenik besiyeri olarak, Candida ID2 (CAN2,CAID2) (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France) agar besiyeri kullanıldı. Test edilecek candidalar kromojenik agar besiyeri üzerine ekildi ve 37°C'de 10 güne kadar inkübe edildi. Günlük olarak kolonilerdeki renk değişimi takip edildi. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, mavi koloniler *C. albicans*, pembe renkli koloniler *C. tropicalis*, *C. lusitanae* ve *C. kefyr* olarak değerlendirildi. Beyaz renkli koloniler diğer türler olarak değerlendirildi (102,103) (Resim 5,6).

Resim 5. *C. albicans* (solda) ve *C. tropicalis* (çalışmamızdan)Resim 6. *C. tropicalis* (sol üstte), *C. albicans* (sol altta) ve *C. parapsilosis* (sağda) (çalışmamızdan)

3.1.2.4 ID 32C Maya identifikasyon sistemi:

Suşların biyokimyasal özelliklerine göre identifikasyonu için yarı otomatize ID 32C (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France) sistemi, üretici firma önerisi doğrultusunda kullanıldı. ID 32C stripleri, her birinde bir dehidrate karbonhidrat maddesi bulunan 32 kuyucuk içermekte, mayalar, inoküle edildikleri kuyucuktaki karbonhidratı kullanıyorlarsa, kuyucukta üreme gözlenmesi esasına dayanmaktadır.

ID32C strisinde bulunan maddeler:

SOR	Sorbitol	GAL	Galaktoz
XYL	D-Xylose	ACT	Actidione
RIB	Riboz	SAC	Sükroz
GLY	Gliserol	NAG	N-asetil glukozamin
RHA	Ramnoz	LAT	D2-laktat
PLE	Palatinoz	ARA	Arabinoz
ERY	Eritritol	CEL	Sellobiyoz
MEL	Melibiyoz	RAF	Rafinoz
GRT	Glukuronat	MAL	Maltoz
MLZ	Melezitoz	TRF	Trehaloz
GNT	Glukonat	2KG	2Keto-Glukonat
LVT	Levulinat	MOG	α -metil-O-Glurozid
GLU	Glukoz	MAN	Mannitol
SBE	Sorbaz	LAC	Laktoz
GLN	Glukozamin	INA	İnozitol
ESC	Eskülin	O	Kontrol

SDA'da üreyen maya kolonilerinden bir miktar alınarak, bulanıklığı 2 McFarland olacak şekilde Suspension Medium içerisinde karıştırıldı. Bu süspansiyondan 250 μ L alınarak bir ampul C-Medium içine eklendi. Bu karışım, 32 kuyucuklu ID 32C strisinin her bir kuyucuğuna 135 μ L olacak şekilde dağıtıldı. Stribin kapağı kapatılarak 30°C'de, nemli ortamda, 24-48 saat inkübe edildi. Sonuçlar miniAPI cihazında değerlendirildi.

3.2 Virölans deneyleri:

3.2.1 Asit proteinaz aktivitesinin incelenmesi:

Asit proteinaz aktivitesinin gösterilmesi için YEPD (yeast extract pepton dextrose) buyyon ve %1'lik sığır serum albumin agar kullanıldı.

3.2.1.1 Besiyeri ve çözelti hazırlama:

a) YEPD buyyon;

Yeast extract	1 g
Pepton	2 g
Dekstroz	2 g
Distile su	100 mL

Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi.

b) Sığır serum albumin agar:

Dekstroz	2 g
KH ₂ PO ₄	0.1 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.05 g
Agar	2 g
Distile su	100 mL

Karışım otoklavda sterilize edildikten sonra, 50°C'ye soğuması beklendi. İçerisine 0.2 µm'lik membran filtreden geçirilerek steril edilmiş %1'lik sığır serum albumin (Sigma chemical Co., St. Louis, Mo) çözeltisi, %20 oranında eklendikten sonra plaklara döküldü (104).

3.2.1.2 Deneyin yapılışı:

SDA'da üreyen maya kolonilerinden YEPD buyyon içine süspansiyon yapıldı ve 30°C'de 4 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında bu süspansiyonlardan, sığır serum albumin agar yüzeyine yerleştirilmiş olan steril kağıt diskler üzerine her bir suş için 10 µL olmak üzere damlatıldı ve plaklar 30°C'de 6 gün inkübe edildi. Plaklar günlük olarak, diskin çevresinde, mantarın üremesinden kaynaklanan ve presipite olmuş albuminin oluşturduğu opasite artışı için gözlemlendi. Bunu takiben, disk kenarından itibaren opasitede açılma olması (şeffaflaşma), presipite olmuş albuminin hidrolizini

gösterdiğinden asit proteinaz aktivitesinin varlığı lehine yorumlandı. Lizis zonu olmayanlar proteinaz aktivitesi yönünden (-), diskin kenarından itibaren 1-2 mm lizis zonu olanlar 1+, diskin kenarından itibaren 3-5 mm lizis zonu olan kökenler ise 2+ olarak değerlendirildi (104,105).

Üremeye birlikte disklerin çevresinde opaklaşmada artış olması, ortamdaki proteinin presipite olduğunu, daha sonra disklerin çevresinde oluşan lizis zonları ise, proteinin parçalandığını göstermektedir (30).

3.2.2 Fosfolipaz aktivitesinin incelenmesi:

Candida suşlarının ekstraselüler fosfolipaz aktivitesinin incelenmesinde, yumurta sarılı agar besiyeri kullanıldı.

3.2.2.1 Yumurta sarılı agar besiyeri hazırlanışı:

a) Ana besiyeri:

SDA	13.0 g
NaCl	11.7 g
CaCl ₂	0.111 g
Distile su	184 mL

Karışım otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edildi (57).

b) Yumurta sarısının hazırlanışı: Bir yumurtanın sarısı ayrılarak steril şartlarda 500 X g devirde 10 dakika oda ısısında santrifüj edildi. Daha sonra supernatanttan 20 mL miktarında alınarak, sterilize edilmiş ana besiyerine eklendi ve plaklara döküldü (57).

3.2.2.2 Deneyin yapılışı:

SDA’da üretilen candida suşlarından serum fizyolojik ile 1 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlandı. Daha sonra bu süspansiyonlardan her bir suş için 10 µL alınarak besiyeri yüzeyine damlatılarak inoküle edildi. Ekim yapılan plaklar 30°C’de nemli ortamda dört gün bekletildi. Dört gün sonra koloni etrafında presipitasyon zonu oluşturanlar, fosfolipaz aktivitesi yönünden pozitif kabul edilerek aktiviteleri ölçüldü (3,60).

Fosfolipaz aktivitesinin ölçülmesinde ve hesaplanmasında, dört gün sonra koloninin etrafında oluşan belirgin halka şeklindeki presipitasyon zonu (Pz) dikkate alındı.

Fosfolipaz aktivitesi (Pz), koloni çapının, koloni ile birlikte presipitasyon zonunun toplam çapına oranı olarak hesaplandı:

$$Pz = \frac{\text{Koloni çapı}}{\text{Koloni çapı} + \text{Presipitasyon zonu çapı}}$$

Bulunan Pz değerlerine göre fosfolipaz aktiviteleri dört grupta değerlendirildi; 0.9-1 arası çok yüksek Pz grubu 1(+), 0.89-0.80 arası yüksek Pz grubu 2(+), 0.79-0.70 arası düşük Pz grubu 3(+) ve <0.69 çok düşük Pz grubu 4(+) olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmeye göre, Pz değeri küçüldükçe fosfolipaz aktivitesi artmakta, Pz=1 değeri negatif fosfolipaz aktivitesini göstermektedir. Bu durumda, 0.9-1 değerine sahip olanlar çok düşük fosfolipaz aktiviteli grubu oluştururken, <0.69 olanlar fosfolipaz aktivitesi çok yüksek grubu oluşturmaktadır (3,60).

3.2.3 Esteraz aktivitesinin incelenmesi:

Test edilen candida kökenlerinin esteraz aktivitesinin saptanması için Tween 80 agar kullanıldı.

3.2.3.1 Tween 80 agar besiyerinin hazırlanışı:

Pepton	10 g
NaCl	5 g
CaCl ₂	0.1 g
Agar	15 g
Distile su	1000 mL

Hazırlanan bu besiyeri otoklavda sterilize edildi. 50°C'ye soğutulduktan sonra içerisine 5 mL steril Tween 80 eklendi ve plaklara döküldü (61).

3.2.3.2 Deneyin yapılışı:

SDA'da üretilen suşların kolonilerinden eküvyon ile alınan örnekler, Tween 80 agar üzerine dokundurularak, yaklaşık 10 mm çapında olacak şekilde, dairesel hareketlerle ekildi. Ekim yapılan plaklar 30°C'de 10 gün süreyle inkübe edildi ve

günlük olarak takip edildi. Tween 80 agarda ekim yapılan yerdeki dairesel şekilli, maya kolonilerinden oluşmuş üreme bölgesinin etrafında, opak bir halenin varlığı esteraz pozitifliği olarak yorumlandı (61,62).

İnkübasyon süresi içinde ekim sahası etrafında Tween 80'in hidrolizi ile açığa çıkan yağ asidinin kalsiyum ile birleşerek opak kristaller halinde çökmesi, pozitif esteraz aktivitesine neden olmaktadır (30).

3.2.4 Biyofilm (slime faktör) oluşumunun incelenmesi:

Biyofilm oluşumunun incelenmesi için modifiye tüp aderans yöntemi kullanıldı (104,106). Test edilecek olan maya kolonilerinden bir öze dolusu alınarak, polistiren Falcon tüplerindeki 10 mL %8'lik glukoz içeren Sabouraud broth içerisine ekildi. Ekim yapılan tüpler 35 °C'de 48 saat inkübe edildi. Daha sonra tüplerin içeriği boşaltılarak, iki kez distile su ile yıkandı ve her tüpün içerisine %0.25'lik safranin koyularak çalkalandı. Tüpler boşaltılarak, kurutma kâğıdı üzerine ters olarak konup kuruması beklendi. Tüp çeperinde pembe-kırmızı renkli tabaka pozitif olarak değerlendirildi (107,108). Oluşan tabakanın kalınlığına göre biyofilm pozitifliği, zayıf pozitif (+), orta düzeyde pozitif (++) ve kuvvetli pozitif (+++) olarak derecelendirildi (104).

3.3 Antifungal duyarlılık testleri:

Antifungal duyarlılık testleri, buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla, CLSI tarafından yayınlanmış ve mayalar için referans metodu belirleyen M27-A3 yönergesi takip edildi (99). Antifungal duyarlılık testleri, flukonazol için 64-0.125 µg/mL, amfoterisin B ve vorikonazol için 16-0.03 µg/mL, kaspofungin için 8-0.015 µg/mL aralığındaki dilüsyonlarda çalışıldı. Her candida suşu flukonazol, amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için iki kez çalışıldı.

3.3.1 Besiyerinin hazırlanması:

Duyarlılık testi için besiyeri olarak RPMI 1640 (glutaminli, bikarbonatsız ve pH indikatörü olarak fenol kırmızısı içeren) (Sigma) kullanıldı. Toz halindeki besiyerinden 10.4 g alınarak, 900 mL distile suda çözüldü. Daha sonra içerisine 34.53 g MOPS (3-[N-morfolino] propansülfonik asit) eklendi ve çözülene kadar karıştırıldı. İyice

karişması sağlandıktan sonra, 1 mol/L NaOH kullanılarak oda ısısında besiyerinin pH derecesi 7'ye ayarlandı. Son hacmi 1 L oluncaya kadar distile su eklendikten sonra 0.22 µm'lik filtrelerle sterilize edildi ve kullanılıncaya kadar 4°C'de saklandı.

3.3.2 Antifungal stok solüsyonlarının hazırlanması:

Antifungal olarak; flukonazol (Sigma), amfoterisin B (Sigma), vorikonazol (Pfizer) ve kaspofungin (Merck)'in etken maddeleri kullanıldı. Çözücü olarak Flukonazol ve kaspofungin için distile su, suda çözünmeyen amfoterisin B ve vorikonazol için ise DMSO (dimetil sülfoksit) (Sigma) kullanıldı.

Stok solüsyonları hazırlanırken, antifungal ilaç miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{Ağırlık (mg)} = \frac{\text{Hacim (mL)} \times \text{Konsantrasyon (µg/mL)}}{\text{Potens (µg/mg)}}$$

Stok solüsyonları, flukonazol için 1280 µg/mL, amfoterisin B için 1600 µg/mL, vorikonazol için 1600 µg/mL ve kaspofungin için 1600 µg/mL oranlarında hazırlandı. Hazırlanan antifungal stok solüsyonları, membran filtreden geçirilerek 1mL'lik hacimlere bölünüp steril eppendorf tüplerine kondu ve kullanılıncaya kadar -80°C'de saklandı. Amfoterisin B, ışıktan korunacak şekilde kaplandı (109).

3.3.3 Mikroplağın hazırlanması:

U tabanlı, 96 kuyucuklu steril mikroplağın her yatay sırası boyunca, ilk kuyucuk boş bırakılarak 11. kuyucuğa kadar 100 µL RPMI besiyeri konuldu. Test sırasında maya inokülasyonu yapılmayacak olan 12. kuyucuklara, besiyeri sterilite kontrolü için 200 µL RPMI konuldu.

Çalışmaya başlamadan önce ilaç stok solüsyonları oda ısısına getirildi ve her biri RPMI besiyeri ile sulandırılarak 2x final konsantrasyonları hazırlandı. Flukonazol stok solüsyonundan, final konsantrasyonları 64-0.125 µg/mL olması için 128 µg/mL; amfoterisin B stok solüsyonundan, final konsantrasyonları 16-0.03 µg/mL olması için 32 µg/mL; vorikonazol stok solüsyonundan, final konsantrasyonları 16-0.03 µg/mL olması için 32 µg/mL ve kaspofungin stok solüsyonundan, final konsantrasyonları

8-0.015 µg/mL olması için 16 µg/mL olacak şekilde final konsantrasyonlarının iki katı dilüsyonlar hazırlandı.

Mikroplakların her sırasının boş bırakılmış olan ilk kuyucuklarına hazırlanmış olan 2x final konsantrasyonundaki antifungal solüsyonundan 200 µL kondu. Daha sonra ilk kuyucuktan başlayarak, 100 µL hacminde aktarımlarla 10. kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıldı. 11. ve 12. kuyucuklara ilaç solüsyonu konmadı. Bu şekilde plaklar, maya inokülasyonu için hazır hale gelmiş oldu.

3.3.4 İnokülasyon işlemi:

İnokülasyon işlemi için candida kökenlerinin SDA besiyerindeki 24 saatlik kültürleri kullanıldı. Üreyen kolonilerden yaklaşık 1 mm çapında 5 tanesi alınarak 5 mL steril serum fizyolojik içinde (%0.85) süspanse edildi. Daha sonra 15 saniye vortekslendi ve steril serum fizyolojik kullanılarak bulanıklığı 0.5 McFarland değerine ayarlandı (yaklaşık 1×10^6 - 5×10^6 hücre/mL). Bu süspansiyon vortekslenerek karıştırıldı ve RPMI besiyeri kullanılarak, önce 1/50 oranında, daha sonra tekrar 1/20 oranında sulandırıldı. Sonuçta maya stok süspansiyonu 1/1000 oranında sulandırılmış ve 2x test inokülasyon konsantrasyonuna getirilmiş oldu (1×10^3 - 5×10^3 hücre/mL).

Mikroplak kuyucuklarına, içinde sadece 200 µL RPMI bulunan 12. kontrol kuyucuğu hariç olmak üzere, 1/1000 oranında sulandırılmış olan maya süspansiyonundan 100'er µL otomatik pipetle dağıtıldı. Böylece ilaçların konsantrasyonları final değerlerine ulaştı. Maya inokulumu da son konsantrasyonuna ulaşmış oldu (0.5×10^3 – 2.5×10^3 hücre/mL).

Mikroplaklar alüminyum folyoya sarılarak 35°C'de inkübe edildi.

3.3.5 MİK değerlerinin saptanması:

Sonuçlar kaspofungin için 24 saat sonra; flukonazol, amfoterisin B ve vorikonazol için 48 saat sonra değerlendirildi. Mikroorganizma üreme kontrol kuyucuğunda (11. kuyucuk) üreme olduğu ve besiyeri kontrol kuyucuğunda (12.kuyucuk) üreme olmadığı tespit edildikten sonra MİK değerleri CLSI'nın önerdiği kriterlere göre saptandı. Kontrol için *C.albicans* ATCC 22019 ve *C. krusei* ATCC 6258 kökenleri kullanıldı. Değerlendirme, deney çukurları, üreme kontrol çukuru ile görsel olarak karşılaştırılarak ve oluşan bulanıklık derecesi aşağıdaki skalaya göre skorlanarak yapıldı:

0: Hiç bulanıklık yok (optik olarak berrak)

1: Hafif bulanık

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

3: Bulanıklıkta hafif azalma

4: Bulanıklıkta azalma yok (üreme kontrol kuyucuğu ile aynı)

Amfoterisin B için 0, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungin için 2 değerini veren konsantrasyonlar MİK değeri olarak alındı.

Candida türlerinin in vitro duyarlılık testinin yorumlanması için CLSI tarafından hazırlanmış kılavuzun, kullanmış olduğumuz antifungaller için geçerli olan değerleri tablo 4'te verilmiştir (110).

Tablo 4. *Candida* türlerinin in vitro duyarlılık testinin yorumu

Antifungal Ajan	Duyarlı (S)	Doza bağlı duyarlı (S-DD)	Intermediate (I)	Dirençli (R)	Duyarlı değil (NS)
Kaspofungin	≤ 2	-	-	-	> 2
Flukonazol	≤ 8	16-32	-	≥ 64	-
Vorikonazol	≤ 1	2	-	≥ 4	-

Amfoterisin B için CLSI tarafından bir direnç sınır değeri belirlenmemiş olmakla birlikte, MİK değeri > 1 olan suşlar dirençli kabul edilmektedir (99).

C. krusei, flukonazole doğal dirençli bir *candida* türüdür. *C. krusei* için elde edilen MİK değerlerinin yorumlanmasında direnç sınır değerleri kullanılmaz. Flukonazol MİK değerleri ne olursa olsun, tüm *C. krusei* izolatları flukonazole dirençli kabul edilir (110).

3.4 İstatistiksel değerlendirme:

Verilerin istatistiksel analizi epi info programı 3.5.1 versiyonunda ki-kare (χ^2) testi kullanılarak yapıldı.

4.BULGULAR

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma Hastanesi'nin değişik kliniklerinden Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 candida suşu değerlendirmeye alındı.

İzole edilen 200 candida suşunun 106'sı (%53) *C. albicans*, 49'u (%24.5) *C. parapsilosis*, 15'i (%7.5) *C. tropicalis*, 9'u (%4.5) *C. krusei*, 8'i (%4) *C. kefyr*, 4'ü (%2) *C. glabrata*, 4'ü (%2) *C. famata*, 3'ü (%1.5) *C. lusitaniae*, 2'si (%1) *C. guilliermondii* olarak identifiye edildi (Tablo 5).

İzole edilen suşların klinik örneklerle göre dağılımları Tablo 6'da verildi.

Tablo 5. İzole edilen candidaların tür dağılımı.

TÜR	SAYI	%
<i>C.albicans</i>	106	53
<i>C.parapsilosis</i>	49	24.5
<i>C.tropicalis</i>	15	7.5
<i>C.krusei</i>	9	4.5
<i>C.kefyr</i>	8	4
<i>C.glabrata</i>	4	2
<i>C.famata</i>	4	2
<i>C.lusitaniae</i>	3	1.5
<i>C.guilliermondii</i>	2	1
TOPLAM	200	100

Tablo 6. İzole edilen candida türlerinin klinik örneklerle göre dağılımları.

KLİNİK ÖRNEK	<i>C.albicans</i> (n=106)		<i>C.parapsilosis</i> (n=49)		<i>C.tropicalis</i> (n=15)		<i>C.krusei</i> (n=9)		<i>C.kefyr</i> (n=8)		<i>C.glabrata</i> (n=4)		<i>C.famata</i> (n=4)		<i>C.lusitaniae</i> (n=3)		<i>C.guilliermondii</i> (n=2)	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
Kan	53	50	41	83.7	3	20	6	66.7	2	25	3	75	1	25	2	66.7	-	-
İdrar	33	31.1	3	6.1	7	46.6	2	22.2	5	62.5	1	25	1	25	1	33.3	1	50
Boğaz	4	3.8	-	-	1	6.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	50
Balgam	4	3.8	-	-	1	6.7	-	-	1	12.5	-	-	-	-	-	-	-	-
Tr. Asp.	2	1.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	25	-	-	-	-
BAL	2	1.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	25	-	-	-	-
Sonda	-	-	-	-	2	13.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMS	3	2.8	-	-	1	6.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kateter	-	-	2	4.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yara	2	1.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dren	-	-	1	2	-	-	1	11.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SVK	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Perikard	1	0.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diyalizat	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Safra	1	0.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serviks	1	0.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM	106	100	49	100	15	100	9	100	8	100	4	100	4	100	3	100	2	100

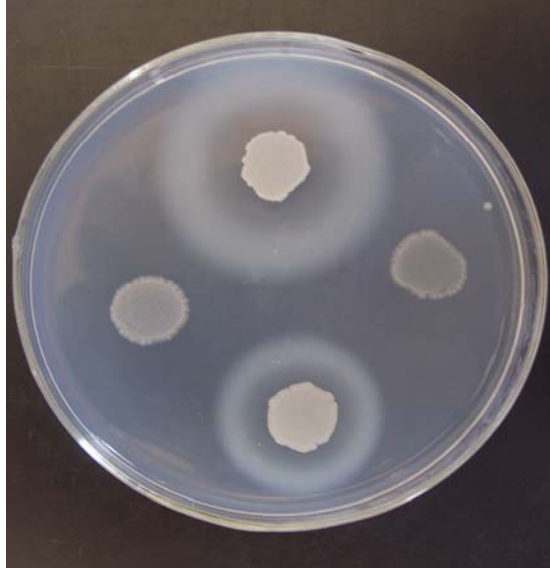
Virölans deneyleri ile ilgili bulgular:

Proteinaz aktivitesi:

Proteinaz enzim aktivitesi SSAA besiyeri kullanılarak araştırıldı. İncelenen 200 suşun 103'ü (%51.5) proteinaz olumlu olarak tespit edildi (Resim 7).

C. albicans kökenlerinin 84'ü (%79.2) proteinaz aktivitesi yönünden olumlu olarak tespit edildi. Proteinaz olumlu 84 *C. albicans* suşunun 58'i (%69) kuvvetli pozitif (2+), 26'sı (%31) zayıf pozitif (1+) olarak bulundu. Albicans dışı candida suşlarının 19'u (%20.2) proteinaz aktivitesi yönünden olumlu olarak tespit edildi. Proteinaz olumlu 19 albicans dışı candida suşunun 7'si (%36.8) kuvvetli pozitif (2+), 12'si (%63.2) zayıf pozitif (1+) olarak saptandı (Tablo 7).

candida türlerinin proteinaz aktivitesi yönünden dağılımları Tablo 8'de verildi.



Resim 7. SSAA'da proteinaz olumlu (üst ve alt) ve olumsuz (sağ ve sol) suşların görünümü (çalışmamızdan)

Tablo 7. *C. albicans* ve albicans dışı candidaların proteinaz aktiviteleri.

TÜR	SAYI	PROTEİNAZ OLUMLU		
		1+	2+	%
<i>C. albicans</i>	106	26	58	79.2
Albicans dışı candida	94	12	7	20.2

Tablo 8. Candida türlerinin proteinaz aktivitesi oranları.

TÜR	SAYI	PROTEİNAZ OLUMLU	
		SAYI	%
<i>C. albicans</i>	106	84	79.24
<i>C. parapsilosis</i>	49	12	24.48
<i>C. tropicalis</i>	15	4	26.66
<i>C. krusei</i>	9	-	-
<i>C. kefir</i>	8	1	12.5
<i>C. glabrata</i>	4	-	-
<i>C. famata</i>	4	1	25
<i>C. lusitaniae</i>	3	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	2	1	50
TOPLAM	200	103	51.5

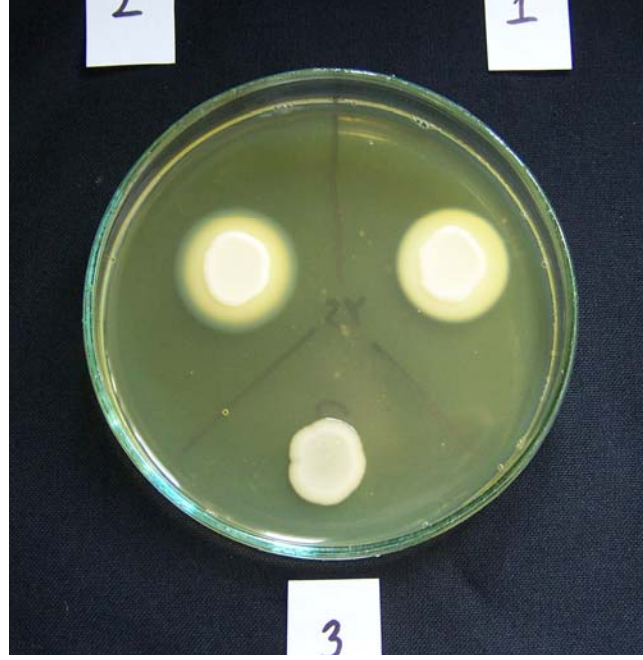
C. albicans ve albicans dışı candidaların proteinaz enzimi salgılama özellikleri karşılaştırıldığında, *C. albicans* suşlarının proteinaz aktivitesi, albicans dışı candida suşlarına oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($\chi^2=69.51$, $p=0.000$). *C. krusei*, *C. glabrata* ve *C. lusitaniae* suşlarının tümünün proteinaz aktivitesi negatif bulundu.

Fosfolipaz aktivitesi:

Fosfolipaz enzimi aktivitesinin tespiti için yumurta sarılı agar besiyeri kullanıldı. İncelenen 200 suşun 102'si (%51) fosfolipaz aktivitesi yönünden olumlu bulundu (Resim 8).

C. albicans kökenlerinin 101'inin (%95.3) fosfolipaz aktivitesi olumlu bulundu. Bunların 11'i (%10.9) 2(+), 24'ü (%23.8) 3(+), 66'sı (%65.3) 4(+) fosfolipaz aktivitesine sahipti (Tablo 9).

Albicans dışı candida kökenleri içerisinde 1'inin (%1.06) fosfolipaz aktivitesi mevcuttu. Bu köken, *C. tropicalis* olarak tanımlandı ve 4(+) fosfolipaz enzimi aktivitesine sahipti (Tablo 9).



Resim 8. Yumurta sarılı agarda fosfolipaz olumlu (üste iki suş) ve olumsuz (altta) suşların görünümü (çalışmamızdan).

Tablo 9. *C. albicans* ve albicans dışı candidaların fosfolipaz aktiviteleri.

TÜR	SAYI	FOSFOLİPAZ OLUMLU			
		2+	3+	4+	%
<i>C. albicans</i>	106	11	24	66	95.3
Albicans dışı candida	94	-	-	1	1.06

C. albicans ve albicans dışı candidaların fosfolipaz enzimi salgılama özellikleri karşılaştırıldığında, *C. albicans* suşlarının fosfolipaz aktivitesi, albicans dışı candida

suşlarına oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($\chi^2=176.98$, $p=0.000$).

Esteraz aktivitesi:

İncelenen suşların estraz aktivitesinin tespiti için Tween 80 agar besiyeri kullanıldı. Değerlendirmeye alınan 200 suşun 134'ünün (%67) esteraz aktivitesi olumlu olarak bulundu (Resim 9).

C. albicans kökenlerinin 102'sinin (%96.2), albicans dışı kökenlerin 32'sinin (%34) esteraz aktivitesi olumlu bulundu (Tablo 10).

Candida türlerinin, esteraz enzimi aktivitesi yönünden dağılımları Tablo 11'de verildi.



Resim 9. Tween 80 agarda esteraz olumlu (üstte ve solda) ve olumsuz (altta) suşların görünümü (çalışmamızdan).

Tablo 10. *C. albicans* ve albicans dışı candidaların esteraz aktiviteleri.

TÜR	SAYI	ESTERAZ OLUMLU	
		SAYI	%
<i>C. albicans</i>	106	102	96.2
Albicans dışı candida	94	32	34

Tablo 11. Candida türlerinin esteraz aktivitesi oranları.

TÜR	SAYI	ESTERAZ OLUMLU	
		SAYI	%
<i>C. albicans</i>	106	102	96.2
<i>C. parapsilosis</i>	49	11	22.4
<i>C. tropicalis</i>	15	15	100
<i>C. krusei</i>	9	-	-
<i>C. kefir</i>	8	-	-
<i>C. glabrata</i>	4	-	-
<i>C. famata</i>	4	4	100
<i>C. lusitaniae</i>	3	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	2	2	100
TOPLAM	200	134	67

C. albicans ve albicans dışı candidaların esteraz aktivitesi karşılaştırıldığında, *C. albicans* suşlarının esteraz aktivitesi, albicans dışı kökenlere oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($\chi^2=82.58$, $p=0.000$).

Albicans dışı candida kökenlerinden; 15 *C. tropicalis*, 4 *C. famata* ve 2 *C. guilliermondii* suşunun tamamı esteraz aktivitesine sahipti. Albicans dışı candida kökenlerinden, *C. krusei*, *C. kefir*, *C. glabrata* ve *C. lusitaniae* kökenlerinde esteraz aktivitesi tespit edilemedi.

Slime aktivitesi:

Çalışmaya alınan suşların slime aktivitelerinin tespitinde, modifiye tüp aderans yöntemi kullanıldı. İncelenen 200 suşun 58'inde (%29) slime aktivitesi olumlu olarak bulundu (Resim 10).

C.albicans kökenlerinin 10'unda (%9.4), albicans dışı kökenlerin 48'inde (%51.1) slime aktivitesi olumlu bulundu (Tablo 12).

Slime olumlu 10 *C.albicans* kökeninin tümü zayıf pozitiflik (1+) gösterdi. Slime aktivitesi pozitif olan 48 albicans dışı candida suşunun 17'si (%35.4) zayıf pozitif (1+), 9'u (% 18.75) orta düzeyde pozitif, 22'si (%45.8) kuvvetli pozitif slime aktivitesine sahipti (Tablo 12).

Candida türlerinin, slime aktivitesi yönünden dağılımları Tablo 13'te verildi.



Resim 10. Modifiye tüp aderans yöntemi ile slime faktör olumlu ve olumsuz (en sağda) suşların gösterilmesi (çalışmamızdan).

Tablo 12. *C.albicans* ve albicans dışı candidaların slime aktiviteleri.

TÜR	SAYI	SLİME OLUMLU			
		1+	2+	3+	%
<i>C.albicans</i>	106	10	-	-	9.4
Albicans dışı candida	94	17	9	22	51.1

Tablo 13. Candida türlerinin slime aktivitesi oranları

TÜR	SAYI	SLİME OLUMLU	
		SAYI	%
<i>C.albicans</i>	106	10	9.4
<i>C.parapsilosis</i>	49	16	32.7
<i>C.tropicalis</i>	15	13	86.7
<i>C.krusei</i>	9	9	100
<i>C.kefyr</i>	8	1	12.5
<i>C.glabrata</i>	4	-	-
<i>C.famata</i>	4	4	100
<i>C.lusitaniae</i>	3	3	100
<i>C.guilliermondii</i>	2	2	100
TOPLAM	200	58	29

Slime aktivitesi yönünden *C.albicans* ve albicans dışı kökenler karşılaştırıldığında, albicans dışı kökenlerin slime aktivitesi, *C.albicans*'a oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($\chi^2=41.93$, $p=0.00$).

Slime aktivitesi olumlu olan albicans dışı suşlar içerisinde; 9 *C.krusei*, 4 *C.famata*, 3 *C.lusitaniae* ve 2 *C.guilliermondii* suşunun tamamı (%100) olmak üzere, en yüksek slime aktivitesine sahiptiler. Albicans dışı suşlar içerisinde, 4 *C.glabrata* suşunun hiçbirinde slime aktivitesi gözlenmedi.

İncelenen suşların virülans özelliklerinin tür bazında dağılımı toplu olarak Tablo 14'te verildi.

Tablo 14. Virülans özelliklerinin candida türlerine göre dağılımı.

KÖKEN (n)	PROTEİNAZ		FOSFOLİPAZ		ESTERAZ		SLİME	
	Pozitif (n)	%	Pozitif (n)	%	Pozitif (n)	%	Pozitif (n)	%
<i>C.albicans</i> (106)	1P=26 2P=58 84/106	79.24	2P=11 3P=24 4P=66 101/106	95.28	102/106	96.22	1P=10 10/106	9.43
<i>C.parapsilosis</i> (49)	1P=6 2P=6 12/49	24.48	- - -	-	11/49	22.44	1P=14 2P=2 16/49	32.65
<i>C.tropicalis</i> (15)	1P=3 2P=1 4/15	26.66	4P=1 1/15	6.66	15/15	100	1P=1 2P=2 3P=10 13/15	86.66
<i>C.krusei</i> (9)	- - -	-	- - -	-	- - -	-	2P=4 3P=5 9/9	100
<i>C.kefyr</i> (8)	1P=1 1/8	12.5	- - -	-	- - -	-	1P=1 1/8	12.5
<i>C.glabrata</i> (4)	- - -	-	- - -	-	- - -	-	- - -	-
<i>C.famata</i> (4)	1P=1 1/4	25	- - -	-	4/4	100	3P=4 4/4	100
<i>C.lusitaniae</i> (3)	- - -	-	- - -	-	- - -	-	1P=1 2P=1 3P=1 3/3	100
<i>C.guilliermondii</i> (2)	1P=1 1/2	50	- - -	-	2/2	100	3P=2 2/2	100
TOPLAM (200)	103	51.5	102	51	134	67	58	29

Virülans faktörleri açısından incelenen *C.albicans* ve albicans dışı kökenlerin virülans özelliklerinin izole edildikleri klinik örneklerle göre dağılımları Tablo 15 ve Tablo 16’da verildi.

Tablo 15. *C.albicans* kökenlerinin virülans özelliklerinin klinik örneklerle göre dağılımı.

ÖRNEK (n)	PROTEİNAZ OLUMLU		FOSFOLİPAZ OLUMLU		ESTERAZ OLUMLU		SLİME OLUMLU	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
KAN (53)	40	75.5	50	94.3	51	96.2	6	11.3
İDRAR (33)	25	75.8	31	93.9	32	96.96	4	12.1
SOLUNUM YOLU (12)	12	100	12	100	11	91.7	-	-
DİĞER (8)	7	87.5	8	100	8	100	-	-
TOPLAM (106)	84	79.2	101	95.3	102	96.2	10	9.4

Tablo 15’te görüldüğü gibi, *C.albicans* suşlarının proteinaz enzim aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %75.5, idrardan izole edilen suşlarda %75.8, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %100, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %87.5 olarak saptandı. Bu sonuçlarla, *C.albicans* suşlarında, proteinaz enzim aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($\chi^2=4.18$, $p=0.242$).

C.albicans suşlarının fosfolipaz enzim aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %94.3, idrardan izole edilen suşlarda %93.9, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %100, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %100 olarak saptandı. Bu sonuçlarla, *C.albicans* suşlarında, fosfolipaz enzim aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($\chi^2=1.23$, $p=0.746$).

C.albicans suşlarının esteraz enzim aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %96.2, idrardan izole edilen suşlarda %96.9, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %91.7, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %100 olarak saptandı. Bu sonuçlarla, *C.albicans*

suşlarında, esteraz enzim aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($\chi^2=1.05$, $p=0.788$).

C.albicans suşlarının slime aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %11.3, idrardan izole edilen suşlarda %12.1 olarak saptandı. Solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda ve diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda slime aktivitesi tespit edilmedi. Bu sonuçlarla, *C.albicans* suşlarında, slime aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($\chi^2=2.58$, $p=0.460$).

Tablo 16. Albicans dışı candida kökenlerinin virülans özelliklerinin klinik örnekler göre dağılımı.

ÖRNEK (n)	PROTEİNAZ OLUMLU		FOSFOLİPAZ OLUMLU		ESTERAZ OLUMLU		SLİME OLUMLU	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
KAN (58)	10	17.2	-	-	12	20.7	25	43.1
İDRAR (21)	5	23.8	-	-	12	57.1	12	57.1
SOLUNUM YOLU (6)	2	33.3	1	16.7	5	83.3	4	66.7
DİĞER (9)	2	22.2	-	-	3	33.3	7	77.8
TOPLAM (94)	19	20.2	1	1.06	32	34	48	51.1

Tablo 16’da görüldüğü gibi, albicans dışı candida suşlarının proteinaz enzim aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %17.2, idrardan izole edilen suşlarda %23.8, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %33.3, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %22.2 olarak saptandı. Bu sonuçlarla, albicans dışı candida suşlarında, proteinaz enzim aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($\chi^2=1.15$, $p=0.765$).

Albicans dışı candida suşlarında fosfolipaz enzim aktivitesi sadece 1 *C.tropicalis* suşunda gözlemlendi. Sadece 1 örnekte gözlenmesi ve klinik örnek sayısının az olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlılığı göz önüne alınmadı.

Albicans dışı candida suşlarının esteraz enzim aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %20.7, idrardan izole edilen suşlarda %57.1, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %83.3, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %33.3 olarak saptandı. Bu sonuçlarla, albicans dışı candida suşlarında, solunum yolu örneklerinin esteraz aktivitesi diğer üç örnek tipine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Bunun yanı sıra, idrar örneklerinin esteraz enzim aktivitesi de, kan ve diğer örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $\chi^2=16.09$, $p=0.001$; $\chi^2=9.67$, $p=0.007$).

Albicans dışı candida suşlarının slime aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %43.1, idrardan izole edilen suşlarda %57.1, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %66.7, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %77.8 olarak saptandı. Bu sonuçlarla, albicans dışı candida suşlarında, slime aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($\chi^2=4.94$, $p=0.176$).

Antifungal duyarlılık deneyleri ile ilgili bulgular:

Çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 candida suşunun antifungal duyarlılık testleri buyyon mikrodilüsyon yöntemiyle yapıldı. candida kökenlerinin, amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungine karşı in vitro duyarlılıklarını ortaya koymak amacıyla MİK değerleri saptandı.

Antifungal ilaçların candida türleri için MİK aralığı, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri Tablo 17’de verildi.

Tablo 17. Antifungal ilaçların candida suşlarına karşı MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri.

Tür(n)	Antifungal ilaç	MİK aralığı (µg/mL)	MİK ₅₀ (µg/mL)	MİK ₉₀ (µg/mL)
<i>C.albicans</i> (106)	Flukonazol	0.125->64	0.5	64
	Amfoterisin B	0.03-1	0.125	0.25
	Vorikonazol	0.03-16	0.03	0.5
	Kaspofungin	0.015-0.25	0.03	0.06
<i>C.parapsilosis</i> (49)	Flukonazol	0.25-64	0.5	2
	Amfoterisin B	0.03-0.25	0.06	0.125
	Vorikonazol	0.03-0.06	0.03	0.03
	Kaspofungin	0.015-0.25	0.125	0.25
<i>C.tropicalis</i> (15)	Flukonazol	0.25->64	0.125	>64
	Amfoterisin B	0.06-1	0.125	0.25
	Vorikonazol	0.03-16	0.125	16
	Kaspofungin	0.015-0.06	0.03	0.06
<i>C.krusei</i> (9)	Flukonazol	16->64	64	>64
	Amfoterisin B	0.25-1	0.25	1
	Vorikonazol	0.06-1	0.125	0.5
	Kaspofungin	0.015-0.25	0.03	0.125
<i>C.kefyr</i> (8)	Flukonazol	0.25-1	0.5	1
	Amfoterisin B	0.125-0.5	0.125	0.5
	Vorikonazol	0.03-0.06	0.03	0.06
	Kaspofungin	0.015-0.06	0.03	0.06
<i>C.glabrata</i> (4)	Flukonazol	4->64	16	>64
	Amfoterisin B	0.125-0.25	0.125	0.25
	Vorikonazol	0.125-2	0.25	2
	Kaspofungin	0.015-0.06	0.015	0.06
<i>C.famata</i> (4)	Flukonazol	8-64	16	64
	Amfoterisin B	0.03-0.25	0.125	0.25
	Vorikonazol	0.03-0.5	0.06	0.5
	Kaspofungin	0.015-0.03	0.03	0.03
<i>C.lusitaniae</i> (3)	Flukonazol	0.5-2	1	2
	Amfoterisin B	0.125-0.25	0.125	0.25
	Vorikonazol	0.03	0.03	0.03
	Kaspofungin	0.06-0.125	0.06	0.125
<i>C.guilliermondii</i> (2)	Flukonazol	>64	>64	>64
	Amfoterisin B	0.06	0.06	0.06
	Vorikonazol	0.5	0.5	0.5
	Kaspofungin	0.015-0.03	0.015	0.03

Amfoterisin B'nin MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı Tablo 18'de verildi.

Tablo 18. Amfoterisin B'nin MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı.

Tür (sayı)	MİK değerleri (µg/mL)									
	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03
<i>C.albicans</i> (106)	-	-	-	-	3	1	9	48	39	6
<i>C.parapsilosis</i> (49)	-	-	-	-	-	-	2	17	28	2
<i>C.tropicalis</i> (15)	-	-	-	-	1	-	2	10	2	-
<i>C.krusei</i> (9)	-	-	-	-	2	2	5	-	-	-
<i>C.kefyr</i> (8)	-	-	-	-	-	2	2	4	-	-
<i>C.glabrata</i> (4)	-	-	-	-	-	-	1	3	-	-
<i>C.famata</i> (4)	-	-	-	-	-	-	1	2	-	1
<i>C.lusitaniae</i> (3)	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-
<i>C.guilliermondii</i> (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-

Amfoterisin B için, incelenen 200 candida suşu içerisinde dirençli (≥ 2 µg/mL) suşa rastlanmadı. Candida kökenleri için amfoterisin B'nin MİK aralığı 0.03-1 µg/mL değerleri arasında, MİK₅₀ değeri 0.125 µg/mL, MİK₉₀ değeri 0.25 µg/mL olarak saptandı.

Flukonazol'un MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı Tablo 19'da verildi.

Tablo 19. Flukonazol'ün MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı.

Tür (sayı)	MİK değerleri (µg/mL)									
	≥64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125
<i>C.albicans</i> (106)	13	2	5	5	4	6	6	18	19	28
<i>C.parapsilosis</i> (49)	1	1	-	1	1	2	11	27	5	-
<i>C.tropicalis</i> (15)	4	-	2	1	-	2	2	2	2	-
<i>C.krusei</i> (9)	5	2	2	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.kefyr</i> (8)	-	-	-	-	-	-	3	3	2	-
<i>C.glabrata</i> (4)	2	-	1	-	1	-	-	-	-	-
<i>C.famata</i> (4)	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-
<i>C.lusitaniae</i> (3)	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-
<i>C.guilliermondii</i> (2)	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Flukonazolün, incelenen 200 candida suşu için MİK değerleri 0.125-64 µg/mL arasında, MİK₅₀ değeri 0.5 µg/mL, MİK₉₀ değeri 64 µg/mL olarak saptandı. Flukonazole dirençli (≥64 µg/mL) candida suşlarının sayısı 33 (%16.5) olarak tespit edildi.

Bu suşların 9'u *C.krusei* idi. *C.krusei* suşlarının 5'inin MİK değeri ≥64 µg/mL olarak bulundu. Geri kalan 4 suşun 2'sinde MİK değeri 32 µg/mL, 2'sinde 16 µg/mL olarak bulundu. *C.krusei* suşu flukonazole intrensek olarak dirençli olduğundan in vitro olarak saptanan MİK değerlerine bakılmaksızın flukonazole dirençli kabul edildi.

C.krusei dışındaki flukonazole dirençli 24 suşun 13'ü *C.albicans*, 4'ü *C.tropicalis*, 2'si *C.glabrata*, 2'si *C.famata*, 2'si *C.guilliermondii*, 1'i *C.parapsilosis* olarak saptandı. Buna göre, flukonazole direnç oranı, *C.albicans* suşları için %12.3, albicans dışı suşlar için %21.3 olarak bulundu. Suşların 12'si (%6) doza bağlı duyarlı (16-32 µg/mL) olarak tespit edildi.

C.albicans ve albicans dışı kökenler arasında flukonazol direnci açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($\chi^2=2.94$, $p=0.086$) (Tablo 20).

Tablo 20. *C.albicans* ve albicans dışı kökenlerin flukonazol direnci.

TÜR	SAYI	FLUKONAZOLE DİRENÇ	
		SAYI	%
<i>C.albicans</i>	106	13	12.26
Albicans dışı candida	94	20	21.27

Vorikonazolün candida türleri için MİK dağılımı Tablo 21’de verildi.

Tablo 21. Vorikonazol’ün MİK değerlerinin candida türlerine göre dağılımı.

Tür (sayı)	MİK değerleri (µg/mL)									
	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03
<i>C.albicans</i> (106)	2	2	-	2	2	6	2	5	6	79
<i>C.parapsilosis</i> (49)	-	-	-	-	-	-	-	-	2	47
<i>C.tropicalis</i> (15)	2	2	-	1	2	-	-	2	2	4
<i>C.krusei</i> (9)	-	-	-	-	1	1	2	4	1	-
<i>C.kefyr</i> (8)	-	-	-	-	-	-	-	-	2	6
<i>C.glabrata</i> (4)	-	-	-	1	1	-	1	1	-	-
<i>C.famata</i> (4)	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1
<i>C.lusitaniae</i> (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>C.guilliermondii</i> (2)	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-

Değerlendirilen 200 candida suşu için vorikonazolün MİK aralığı 0.03-16 µg/mL değerleri arasında, MİK₅₀ değeri 0.03 µg/mL, MİK₉₀ değeri 0.5 µg/mL olarak tespit edildi.

Vorikonazole dirençli (≥ 4 µg/mL) candida suşu sayısı 8 (%4) olarak bulundu. 4 suş (%2) doza bağlı duyarlı (2 µg/mL) olarak tespit edildi. Vorikonazol’e dirençli 8 suşun tümü flukonazole de dirençliydi.

Vorikonazole dirençli suşların 4’ü *C.albicans*, 4’ü *C.tropicalis* idi. Buna göre, *C.albicans* kökenleri için vorikonazole direnç %3.8 olarak bulunurken, albicans dışı

Kaspofunginin MİK değerleri incelenen candida suşları için 0.015-0.25 µg/mL aralığında, MİK₅₀ değeri 0.03 µg/mL , MİK₉₀ değeri 0.125 µg/mL olarak ölçüldü. Buna göre incelenen suşların hepsi kaspofungine duyarlı idi.

Virülans faktörleri ile antifungal duyarlılık arasındaki ilişki:

candida türlerinin virülans faktörleri proteinaz, fosfolipaz, esteraz ve slime faktörü ile flukonazol ve vorikonazol direnci arasındaki ilişki sırasıyla Tablo 24-29'da gösterildi.

Tablo 24. Candida türleri için proteinaz aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki.

Virülans faktörü	Flukonazole dirençli n(%)	Vorikonazole dirençli n(%)
Proteinaz (+) (n=103)	12 (11.7)	3 (2.9)
Proteinaz (-) (n=97)	21 (21.6)	5 (5.2)

Proteinaz enzim aktivitesi ile flukonazol direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($\chi^2=3.63$, $p=0.056$). *C.albicans* ve albicans dışı candida türleri için ayrı ayrı değerlendirildiğinde de anlamlı bir ilişki bulunmadı (sırasıyla, Fisher exact testi, $p=0.534$; $p=0.167$).

Proteinaz enzim aktivitesi ile vorikonazol direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Fisher exact testi, $p=0.327$). *C.albicans* ve albicans dışı candida türleri için ayrı ayrı değerlendirildiğinde de anlamlı bir ilişki bulunmadı (sırasıyla, Fisher exact testi, $p=0.611$; $p=0.398$).

Tablo 25. Candida türleri için fosfolipaz aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki.

Virülans faktörü	Flukonazole dirençli n(%)	Vorikonazole dirençli n(%)
Fosfolipaz (+) (n=102)	12 (11.8)	4 (3.9)
Fosfolipaz (-) (n=98)	21 (21.4)	4 (4.1)

Fosfolipaz enzim aktivitesi ile flukonazol direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($\chi^2=3.39$, $p=0.065$). *C.albicans* ve albicans dışı candida türleri için ayrı ayrı değerlendirildiğinde de anlamlı bir ilişki bulunmadı (sırasıyla, Fisher exact testi, $p= 0.487$; $p= 0.787$).

Fosfolipaz enzim aktivitesi ile vorikonazol direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Fisher exact testi, $p=0.617$). *C.albicans* ve albicans dışı candida türleri için ayrı ayrı değerlendirildiğinde de anlamlı bir ilişki bulunmadı (sırasıyla, Fisher exact testi, $p=0.821$; $p=0.957$).

Tablo 26. Candida türleri için esteraz aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki.

Virülans faktörü	Flukonazole dirençli n (%)	Vorikonazole dirençli n (%)
Esteraz (+) (n=134)	21 (15.7)	7 (5.2)
Esteraz (-) (n=66)	12 (18.2)	1 (1.5)

Esteraz enzim aktivitesi ile flukonazol direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($\chi^2=0.20$, $p=0.652$). *C.albicans* ve albicans dışı candida türleri için ayrı ayrı değerlendirildiğinde de anlamlı bir ilişki bulunmadı (albicans için Fisher exact testi, $p=0.534$; albicans dışı için $\chi^2=1.36$, $p=0.243$).

Esteraz enzim aktivitesi ile vorikonazol direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Fisher exact testi, $p=0.195$). *C.albicans* ve albicans dışı candida türleri için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, *C.albicans* için anlamlı bir ilişki saptanmazken (Fisher exact testi, $p=0.144$), albicans dışı türler için aradaki ilişki anlamlı bulunmuştur (Fisher exact testi, $p=0.011$).

Tablo 27. Candida türleri için slime aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki.

Virülans faktörü	Flukonazole dirençli n (%)	Vorikonazole dirençli n (%)
Slime (+) (n=58)	19 (32.8)	4 (6.9)
Slime (-) (n=142)	14 (9.9)	4 (2.8)

Slime aktivitesi ile flukonazol direnci arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($\chi^2=3.69$, $p=0.054$). *C.albicans* ve albicans dışı candida türleri için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, *C.albicans* için slime aktivitesi ile flukonazol direnci arasında anlamlı bir ilişki saptanmazken (Fisher exact testi, $p=0.353$), albicans dışı türlerde slime aktivitesinin artışının flukonazol direnci ile ilişkili olduğu bulunmuştur ($\chi^2=11.71$, $p=0.0006$).

Slime aktivitesi ile vorikonazol direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Fisher exact testi, $p=0.172$). *C.albicans* ve albicans dışı candida türleri için ayrı ayrı değerlendirildiğinde de anlamlı bir ilişki bulunmadı (sırasıyla, Fisher exact testi, $p=0.668$, $p=0.063$)

Tablo 28. *Candida albicans* için slime aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki.

Virülans faktörü	Flukonazole dirençli n (%)	Vorikonazole dirençli n (%)
Slime (+) (n=10)	2 (20)	-
Slime (-) (n=96)	11 (11.5)	4 (4.2)

Tablo 29. Albicans dışı candida türlerinin slime aktivitesi ile antifungal direnç arasındaki ilişki.

Virülans faktörü	Flukonazole dirençli n (%)	Vorikonazole dirençli n (%)
Slime (+) (n=48)	17 (35.4)	4 (8.3)
Slime (-) (n=46)	3 (6.5)	-

Tüm izolatların virülans faktörleri ve antifungal ilaçların MİK değerleri Tablo 30'da topluca verildi.

Tablo 30. Tüm kökenlerin virülans özellikleri ve antifungal duyarlılıkları.

No	Tür	Örnek tipi	Bölüm	Virülans faktörleri				MİK değerleri			
				Prot.	FL	Est.	Slime	AmB	FCA	VRC	KSP
1	<i>C.albicans</i>	AMS	Ped.	++	++++	+	-	0.25	0.5	1	0.015
2	<i>C.albicans</i>	BAL	G.H.	++	++++	+	-	0.125	0.125	0.125	0.06
3	<i>C.albicans</i>	AMS	P.Acil	++	+++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.125
4	<i>C.albicans</i>	İdrar	B.Cer.	++	++++	+	-	0.125	32	2	0.015
5	<i>C.albicans</i>	Blg.	G.H.	+	++++	+	-	0.125	0.25	2	0.015
6	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	-	++	+	-	0.06	4	0.03	0.03
7	<i>C.albicans</i>	İdrar	Nöro.	+	+++	+	-	0.25	0.5	0.03	0.015
8	<i>C.albicans</i>	Boğaz	Ped.	++	++++	+	-	0.125	0.5	0.03	0.03
9	<i>C.albicans</i>	Boğaz	Onk.	++	++++	+	-	0.125	64	16	0.06
10	<i>C.albicans</i>	İdrar	Nör.	++	++++	+	-	0.06	0.25	0.03	0.03
11	<i>C.albicans</i>	İdrar	Acil	+	++++	+	-	0.125	0.5	0.03	0.06
12	<i>C.albicans</i>	BAL	G.H.	++	++++	+	-	0.25	64	0.03	0.03
13	<i>C.albicans</i>	Safra	G.Cer.	++	++++	+	-	0.125	1	0.5	0.06
14	<i>C.albicans</i>	AMS	Ped.	++	+++	+	-	0.06	1	0.5	0.06
15	<i>C.albicans</i>	İdrar	Enf.	++	++++	+	-	0.06	64	0.5	0.06
16	<i>C.albicans</i>	İdrar	Rean.	++	++++	+	-	0.25	8	0.5	0.06
17	<i>C.albicans</i>	İdrar	Ped.	++	++++	+	-	0.125	2	1	0.03
18	<i>C.albicans</i>	İdrar	Enf.	++	++++	+	-	0.06	0.5	0.125	0.06
19	<i>C.albicans</i>	İdrar	Ped.	-	++++	+	-	0.03	0.25	0.25	0.06
20	<i>C.albicans</i>	İdrar	Ped.	+	++++	+	-	0.125	0.125	0.03	0.03
21	<i>C.albicans</i>	İdrar	Nefro.	+	++++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.015
22	<i>C.albicans</i>	Blg.	G.H.	++	++++	+	-	0.06	1	0.03	0.015
23	<i>C.albicans</i>	İdrar	G.Cer.	++	++++	+	-	0.25	0.25	0.03	0.015
24	<i>C.albicans</i>	Srv.	KD	-	++++	+	-	0.125	2	0.5	0.015
25	<i>C.albicans</i>	Boğaz	Nöro.	++	++++	+	-	0.06	64	0.06	0.03
26	<i>C.albicans</i>	Blg.	Kard.	++	++++	+	-	1	64	0.06	0.015
27	<i>C.albicans</i>	Boğaz	Dah.	++	++++	+	-	0.125	64	0.06	0.03
28	<i>C.albicans</i>	İdrar	YD	++	++++	+	-	0.25	0.125	0.03	0.03

No	Tür	Örnek tipi	Bölüm	Virülans faktörleri				MİK değerleri			
				Prot.	FL	Est.	Slime	AmB	FCA	VRC	KSP
29	<i>C.albicans</i>	İdrar	Ped.	++	++++	+	-	1	0.125	0.03	0.03
30	<i>C.albicans</i>	İdrar	Dah.	++	++++	+	-	0.125	0.125	0.03	0.03
31	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	++	++++	+	-	0.06	0.5	0.03	0.03
32	<i>C.albicans</i>	İdrar	Nefro.	-	-	+	+	0.5	4	0.03	0.03
33	<i>C.albicans</i>	İdrar	Nefro.	-	-	-	++	1	8	0.125	0.125
34	<i>C.albicans</i>	Kan	Dah.	++	++++	+	-	0.03	0.125	0.03	0.06
35	<i>C.albicans</i>	Kan	Enf.	++	++++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.015
36	<i>C.albicans</i>	İdrar	Ped.	++	++++	+	-	0.125	0.5	0.03	0.015
37	<i>C.albicans</i>	Kan	Dah.	++	++++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.015
38	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	++	++++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.015
39	<i>C.albicans</i>	Kan	Dah.	++	++++	+	-	0.125	0.25	0.03	0.015
40	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	++	++++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.015
41	<i>C.albicans</i>	Kan	KDC	++	++++	+	-	0.125	0.125	0.03	0.015
42	<i>C.albicans</i>	İdrar	Nefro.	++	++	+	-	0.125	0.125	0.03	0.015
43	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	++	+++	+	-	0.125	0.5	0.03	0.015
44	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	++	+++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.015
45	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	++	++++	+	-	0.125	0.5	0.03	0.015
46	<i>C.albicans</i>	Kan	Enf.	+	++++	+	-	0.06	0.25	0.125	0.03
47	<i>C.albicans</i>	P.kard	Nefro.	+	+++	+	-	0.125	0.125	0.03	0.015
48	<i>C.albicans</i>	Kan	Rean.	++	++	+	-	0.125	0.5	0.03	0.015
49	<i>C.albicans</i>	Kan	Acil	-	++	+	-	0.125	8	0.03	0.015
50	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	-	++++	+	+	0.125	2	0.03	0.015
51	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	-	++++	+	+	0.06	2	0.06	0.03
52	<i>C.albicans</i>	Kan	P.Onk.	++	++++	+	-	0.125	0.125	0.03	0.03
53	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	+	++++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.03
54	<i>C.albicans</i>	Kan	Acil	-	+++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.015
55	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	-	++++	+	-	0.125	16	0.25	0.06
56	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	++	+++	+	-	0.125	4	0.125	0.06

No	Tür	Örnek tipi	Bölüm	Virülans faktörleri				MİK değerleri			
				Prot.	FL	Est.	Slime	AmB	FCA	VRC	KSP
57	<i>C.albicans</i>	Kan	D.Hem.	+	+++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.03
58	<i>C.albicans</i>	Kan	P.Onk.	+	+++	+	-	0.125	1	0.03	0.015
59	<i>C.albicans</i>	Kan	Acil	-	++	+	-	0.125	1	0.03	0.015
60	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	-	++++	+	+	0.125	>64	0.03	0.015
61	<i>C.albicans</i>	Kan	Nefro.	-	+++	+	+	0.125	1	0.03	0.015
62	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	-	+++	+	-	0.06	0.5	0.03	0.015
63	<i>C.albicans</i>	Kan	Nefro.	-	-	-	-	0.06	2	0.03	0.03
64	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	+	++	+	-	0.125	0.25	0.03	0.03
65	<i>C.albicans</i>	Kan	P.Onk.	++	+++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.015
66	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	+	+++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.03
67	<i>C.albicans</i>	Kan	P.Onk.	+	+++	+	-	0.06	0.25	0.03	0.03
68	<i>C.albicans</i>	Kan	P.Onk.	++	+++	+	-	0.125	4	0.03	0.06
69	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	++	++++	+	-	0.125	16	0.03	0.03
70	<i>C.albicans</i>	Kan	P.Onk.	+	++++	+	-	0.06	0.5	0.03	0.03
71	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	+	++++	+	-	0.03	0.5	0.03	0.015
72	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	++	++++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.125
73	<i>C.albicans</i>	Kan	B.Cer.	-	++++	+	-	0.03	0.25	0.03	0.015
74	<i>C.albicans</i>	Kan	G.H.	-	++++	+	-	0.06	>64	0.03	0.03
75	<i>C.albicans</i>	Kan	Onk.	+	++++	+	+	0.125	2	0.03	0.03
76	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	++	++	+	-	0.06	0.25	0.03	0.015
77	<i>C.albicans</i>	Kan	Enf.	+	++++	+	-	0.125	16	0.03	0.03
78	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	+	++++	+	-	0.06	16	0.03	0.03
79	<i>C.albicans</i>	Kan	B.Cer.	++	++	+	-	0.03	0.125	0.03	0.015
80	<i>C.albicans</i>	Kan	Onk.	++	++++	+	-	0.125	16	0.03	0.06
81	<i>C.albicans</i>	Kan	KDC	+	++++	+	-	0.06	32	0.03	0.03
82	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	++	++++	+	-	0.03	0.125	0.03	0.06
83	<i>C.albicans</i>	Kan	P.Onk.	+	-	-	-	0.125	0.5	0.03	0.25
84	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	+	+++	+	-	0.125	0.125	0.03	0.015

No	Tür	Örnek tipi	Bölüm	Virülans faktörleri				MİK değerleri			
				Prot.	FL	Est.	Slime	AmB	FCA	VRC	KSP
85	<i>C.albicans</i>	Kan	Nefro	+	+++	+	-	0.06	0.25	0.03	0.03
86	<i>C.albicans</i>	Yara	P.Onk.	+	++++	+	-	0.125	0.25	0.03	0.03
87	<i>C.albicans</i>	Tr.asp.	YB	++	++++	+	-	0.125	8	0.06	0.015
88	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	+	++++	+	-	0.125	0.25	0.03	0.03
89	<i>C.albicans</i>	İdrar	Acil	++	+++	+	-	0.06	0.25	0.03	0.03
90	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	++	++	+	-	0.125	8	0.5	0.015
91	<i>C.albicans</i>	Yara	KD	+	+++	+	-	0.125	0.5	0.03	0.015
92	<i>C.albicans</i>	Tr.asp.	YB	++	++++	+	-	0.25	0.25	0.03	0.03
93	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	++	+++	+	-	0.125	>64	0.06	0.03
94	<i>C.albicans</i>	Blg.	YB	++	+++	-	-	0.06	64	8	0.03
95	<i>C.albicans</i>	idrar	YB	-	+++	+	-	0.125	64	8	0.015
96	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	++	++++	+	-	0.125	0.125	0.03	0.03
97	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	-	++	+	+	0.25	0.5	0.03	0.015
98	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	++	++++	+	-	0.06	>64	16	0.015
99	<i>C.albicans</i>	İdrar	Ped.	-	++++	+	-	0.125	0.5	0.03	0.03
100	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	++	++++	+	-	0.06	0.5	0.03	0.015
101	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	-	++++	+	-	0.06	0.25	0.03	0.015
102	<i>C.albicans</i>	İdrar	YB	-	++++	+	-	0.06	0.125	0.03	0.03
103	<i>C.albicans</i>	İdrar	Onk.	+	++++	+	+	0.125	0.25	0.03	0.03
104	<i>C.albicans</i>	Kan	Ped.	++	++	+	-	0.06	0.25	0.03	0.03
105	<i>C.albicans</i>	Kan	YB	++	-	+	++	0.25	>64	0.03	0.03
106	<i>C.albicans</i>	Kan	Dah.	++	+++	+	-	0.125	0.25	0.03	0.015
107	<i>C.parapsilosis</i>	Dren	G.Cer.	++	-	-	++	0.06	2	0.06	0.015
108	<i>C.parapsilosis</i>	İdrar	B.Cer.	-	-	↓+	-	0.06	1	0.03	0.03
109	<i>C.parapsilosis</i>	İdrar	P.Acil	-	-	↓+	-	0.06	64	0.03	0.125
110	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Enf.	+	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.06
111	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Dah.	+	-	-	-	0.06	0.25	0.03	0.125
112	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	++	-	+	-	0.125	0.25	0.03	0.125

No	Tür	Örnek tipi	Bölüm	Virülans faktörleri				MİK değerleri			
				Prot.	FL	Est.	Slime	AmB	FCA	VRC	KSP
113	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Enf.	+	-	-	-	0.125	0.5	0.03	0.125
114	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Dah.	++	-	↓+	-	0.06	0.5	0.03	0.125
115	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	+	0.06	0.5	0.03	0.125
116	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Dah.	+	-	-	+	0.125	0.5	0.03	0.25
117	<i>C.parapsilosis</i>	İdrar	Dah.	++	-	+	-	0.06	0.5	0.03	0.25
118	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	-	0.125	0.5	0.03	0.25
119	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Onk.	-	-	-	-	0.25	0.5	0.03	0.125
120	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Onk.	-	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.125
121	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	+	0.125	0.5	0.03	0.06
122	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Onk.	-	-	-	+	0.125	4	0.03	0.125
123	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Onk.	-	-	-	+	0.06	32	0.03	0.06
124	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	+	-	0.125	0.5	0.03	0.125
125	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Acil	-	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.125
126	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Nefro.	-	-	-	-	0.125	0.5	0.03	0.125
127	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Nöro	-	-	+	-	0.06	0.25	0.03	0.25
128	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Derma	-	-	-	-	0.125	1	0.03	0.25
129	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.125
130	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Acil	-	-	-	-	0.06	0.5	0.06	0.06
131	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Onk.	-	-	-	++	0.06	0.5	0.03	0.125
132	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Onk.	-	-	-	+	0.125	0.5	0.03	0.125
133	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	-	0.06	2	0.03	0.06
134	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	B.Cer.	-	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.06
135	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	+	0.125	1	0.03	0.125
136	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	-	0.06	1	0.03	0.06
137	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	+	0.25	1	0.03	0.125
138	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	-	0.06	1	0.03	0.125
139	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	+	-	+	-	0.06	0.5	0.03	0.125
140	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	+	-	0.03	0.5	0.03	0.125

No	Tür	Örnek tipi	Bölüm	Virülans faktörleri				MİK değerleri			
				Prot.	FL	Est.	Slime	AmB	FCA	VRC	KSP
141	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	D.hem.	-	-	-	-	0.125	1	0.03	0.125
142	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Onk.	-	-	-	+	0.125	0.5	0.03	0.06
143	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	-	0.06	8	0.03	0.125
144	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Ped.	++	-	+	-	0.125	0.25	0.03	0.125
145	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	Dah.	++	-	+	-	0.06	0.25	0.03	0.125
146	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.25
147	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	G.Cer.	-	-	-	-	0.03	0.5	0.03	0.125
148	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	+	0.125	0.5	0.03	0.125
149	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	+	0.06	1	0.03	0.125
150	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	YB	-	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.125
151	<i>C.parapsilosis</i>	Kan	P.Onk.	-	-	-	+	0.06	1	0.03	0.125
152	<i>C.parapsilosis</i>	Kat.	D.Hem.	-	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.06
153	<i>C.parapsilosis</i>	SVK	G.Cer.	+	-	-	-	0.06	0.5	0.03	0.06
154	<i>C.parapsilosis</i>	Kat.	YB	-	-	-	+	0.125	1	0.03	0.03
155	<i>C.parapsilosis</i>	Diyalz	Nefro.	-	-	-	+	0.125	1	0.03	0.06
156	<i>C.tropicalis</i>	Boğaz	Ped.	++	++++	+	-	0.125	0.25	0.03	0.03
157	<i>C.tropicalis</i>	İdrar	Enf.	-	-	+	+++	0.25	8	0.06	0.06
158	<i>C.tropicalis</i>	İdrar	Dah.	+	-	+	+++	0.125	0.5	0.03	0.03
159	<i>C.tropicalis</i>	Kan	Nefro.	-	-	+	+++	0.25	64	16	0.06
160	<i>C.tropicalis</i>	Sonda	Nöro.	-	-	+	+++	0.125	1	0.125	0.03
161	<i>C.tropicalis</i>	Kan	Dah.	-	-	+	+++	0.125	1	0.06	0.015
162	<i>C.tropicalis</i>	İdrar	G.Cer.	-	-	+	+++	0.06	16	2	0.015
163	<i>C.tropicalis</i>	Sonda	Nöro.	-	-	+	+++	0.06	2	0.125	0.015
164	<i>C.tropicalis</i>	İdrar	Enf.	-	-	+	+++	0.125	0.5	0.03	0.015
165	<i>C.tropicalis</i>	AMS	P.Acil	-	-	+	+++	1	64	8	0.015
166	<i>C.tropicalis</i>	Blg.	G.H.	-	-	+	++	0.125	>64	16	0.015
167	<i>C.tropicalis</i>	İdrar	Enf.	-	-	+	+	0.125	16	1	0.015
168	<i>C.tropicalis</i>	İdrar	YB	-	-	+	++	0.125	>64	8	0.06

No	Tür	Örnek tipi	Bölüm	Virülans faktörleri				MİK değerleri			
				Prot.	FL	Est.	Slime	AmB	FCA	VRC	KSP
169	<i>C.tropicalis</i>	İdrar	YB	+	-	+	+++	0.125	2	1	0.03
170	<i>C.tropicalis</i>	Kan	YB	+	-	+	-	0.125	0.25	0.03	0.06
171	<i>C.krusei</i>	İdrar	KD	-	-	-	++	0.25	16	0.25	0.03
172	<i>C.krusei</i>	Kan	YB	-	-	-	++	0.25	16	0.5	0.25
173	<i>C.krusei</i>	Dren	G.Cer.	-	-	-	+++	1	32	1	0.125
174	<i>C.krusei</i>	İdrar	G.Cer.	-	-	-	+++	0.5	64	0.125	0.03
175	<i>C.krusei</i>	Kan	Ped.	-	-	-	+++	0.25	64	0.125	0.015
176	<i>C.krusei</i>	Kan	Ped.	-	-	-	++	0.5	64	0.125	0.015
177	<i>C.krusei</i>	Kan	P.Acil	-	-	-	+++	1	>64	0.06	0.015
178	<i>C.krusei</i>	Kan	P.Acil	-	-	-	+++	0.25	16	0.25	0.06
179	<i>C.krusei</i>	Kan	Ped.	-	-	-	++	0.25	64	0.125	0.06
180	<i>C.kefyr</i>	İdrar	G.H.	-	-	-	-	0.5	0.5	0.06	0.015
181	<i>C.kefyr</i>	İdrar	Üroloji	-	-	-	-	0.125	1	0.03	0.015
182	<i>C.kefyr</i>	İdrar	Ped.	+	-	-	-	0.25	0.25	0.06	0.015
183	<i>C.kefyr</i>	Blg.	Psik.	-	-	-	-	0.25	0.5	0.03	0.03
184	<i>C.kefyr</i>	İdrar	Nefro.	-	-	-	-	0.125	1	0.03	0.06
185	<i>C.kefyr</i>	İdrar	Nefro.	-	-	-	-	0.125	1	0.03	0.03
186	<i>C.kefyr</i>	Kan	Ped.	-	-	-	-	0.5	0.5	0.03	0.06
187	<i>C.kefyr</i>	Kan	D.Hem.	-	-	-	+	0.125	0.25	0.03	0.03
188	<i>C.glabrata</i>	İdrar	G.Cer.	-	-	-	-	0.25	4	0.125	0.015
189	<i>C.glabrata</i>	Kan	Rean.	-	-	-	-	0.125	64	1	0.03
190	<i>C.glabrata</i>	Kan	Nefro.	-	-	-	-	0.125	16	0.25	0.015
191	<i>C.glabrata</i>	Kan	Rean.	-	-	-	-	0.125	>64	2	0.06
192	<i>C.famata</i>	BAL	G.H.	+	-	+	+++	0.125	64	0.5	0.015
193	<i>C.famata</i>	İdrar	D.Hem.	-	-	+	+++	0.125	64	0.03	0.03
194	<i>C.famata</i>	Tr.Asp.	KDC	-	-	+	+++	0.03	8	0.06	0.03
195	<i>C.famata</i>	Kan	P.Acil	-	-	+	+++	0.25	16	0.25	0.03
196	<i>C.lusitaniae</i>	İdrar	Ped.	-	-	-	+	0.25	1	0.03	0.125

No	Tür	Örnek tipi	Bölüm	Virülans faktörleri				MİK değerleri			
				Prot.	FL	Est.	Slime	AmB	FCA	VRC	KSP
197	<i>C.lusitaniae</i>	Kan	Onk.	-	-	-	++	0.125	0.5	0.03	0.06
198	<i>C.lusitaniae</i>	Kan	YB	-	-	-	+++	0.125	2	0.03	0.06
199	<i>C.guilliermondii</i>	Boğaz	D.hem.	-	-	+	+++	0.06	>64	0.5	0.015
200	<i>C.guilliermondii</i>	İdrar	YB	+	-	+	+++	0.06	>64	0.5	0.03

5.TARTIŞMA

Candida türleri özellikle memelilerde gastrointestinal sistem başta olmak üzere mukokutanöz membranlarda bulunurlar. Sağlıklı bireylerde gastrointestinal sistemdeki kolonizasyonuna ağızdan kolona doğru gittikçe artan oranda rastlanır. Candida kolonizasyonunun yoğun olduğu diğer bölge vaginadır ve sağlıklı kadınların %30'unda rastlanabilir. *Candida albicans* en sık izole edilen türdür. Sağlıklı deride candida türlerine fazla rastlanmaz, ancak yüzeysel mikozların pek çoğundan sıklıkla *C. albicans* izole edilir. Toprak, hava, bitkiler gibi çevresel örneklerde ise albicans dışı türler bulunmaktadır. Son 20 yılda fırsatçı mantar patojenleriyle oluşan hastane kaynaklı infeksiyonların sıklığının giderek artması günümüzün önemli sorunlarından biridir. İmmün sistemi ya da anatomik engelleri yetersiz kılan durumlar; kanser tedavileri, solid organ alıcılarına uygulanan tedaviler, kortikosteroit ve sitotoksik kemoterapi uygulamaları, invazif girişimler (kateter, diyaliz, aspirasyon, skopi uygulamaları), bazı viral infeksiyonlar, yanıklar, travmalar, HIV ile infekte hastalar, bağ doku hastalıkları fırsatçı mikozların görülme sıklığını artırmıştır. Ayrıca yoğun bakım ünitelerinin gelişerek destek tedavisindeki hastaların artması fungal infeksiyonlara duyarlı hasta sayısı ve çeşidini değiştirmiştir. Duyarlı bu hasta grupları için en önemli risk faktörlerinin geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süre kullanımı, kalıcı kateterler ve mukoza yüzeylerindeki kolonizasyonlar olduğu bulunmuştur. Son yıllarda hastane infeksiyonları arasında candida suşları kan kültürlerinden izole edilen patojenler arasında dördüncü sıradadır. Fungeminin neden olduğu hastane infeksiyonlarında yüksek ölüm oranına (%40) neden olmaktadır (5).

Mantar infeksiyonlarında görülen artışla birlikte bu infeksiyona neden olan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmeye başlamıştır. Endojen kaynaklı olması nedeniyle hastane kökenli infeksiyonlarda ilk sırayı *C. albicans* almakla birlikte antifungal tedaviye daha zor yanıt verdiği bilinen *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* gibi albicans dışı candida türlerin oranı da hızla artmaktadır. Bunun başlıca nedeni, profilaktik ve ampirik olarak antifungallerin, özellikle kolay

uygulanmaları nedeniyle azol türevlerinin kullanılmasının etken dağılımını değiştirmesidir (5).

Malani ve arkadaşları (111) tarafından yapılan ve 1988-1999 yılları arasındaki 12 yıllık dönemde kandidemi etkenlerini araştıran çalışmada, *C.albicans* en sık gözlenen tür olmakla birlikte sıklığı %63'ten %43'e gerilemiştir. Bununla birlikte, *C.glabrata*'nın görülme sıklığı %10'dan %20'ye; *C.parapsilosis*'inki ise %5'ten %18'e çıkmıştır. *C.krusei* ise, çalışma kapsamındaki periyodun ilk beş yılında hiç gözlenmezken, daha sonraki yıllarda ortalama %3 civarında bir sıklıkta gözlenmiştir.

Çalışmamızda, değerlendirmeye alınan 200 candida suşunun 106'sı (%53) *C. albicans*, 49'u (%24.5) *C. parapsilosis*, 15'i (%7.5) *C. tropicalis*, 9'u (%4.5) *C. krusei*, 8'i (%4) *C. kefir*, 4'ü (%2) *C. glabrata*, 4'ü (%2) *C. famata*, 3'ü (%1.5) *C. lusitaniae*, 2'si (%1) *C. guilliermondii* olarak tanımlanmıştır.

Bu oranlar genel olarak diğer çalışma sonuçlarıyla uyumludur. Hemen her zaman *C.albicans* ilk sırayı almakta, albicans dışı türlerin sıklığı ise çeşitli araştırmalara göre değişmektedir. Cömert ve ark. (112) yoğun bakımda yatan hastalara ait çeşitli klinik örneklerden izole edilen 320 candida suşunu tanımlamışlar ve en sık *C.albicans* (%65.6) olmak üzere, *C. parapsilosis* (%11.3), *C. glabrata* (%8.8) ve *C. tropicalis* (%7.8) türleri onu izlemiştir. Cuenca-Estrella ve ark. (113) kan örneklerinden izole edilmiş 351 candida suşunu tanımlamışlar ve *C. albicans* için %51, *C. parapsilosis* için %23, *C. tropicalis* için %10, *C. glabrata* için %9, *C. krusei* için %4 oranlarını bildirmişlerdir. Messer ve ark. (114) 2003 yılında, SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı kapsamında, Kuzey Amerika, Avrupa ve Latin Amerika'dan, çoğu kan kültüründen izole edilmiş olan 1397 candida suşunu incelemişler ve %48.7'sini *C. albicans*, %17.3'ünü *C. parapsilosis*, %17.2'sini *C. glabrata*, %10.9'unu *C. tropicalis*, %1.9'unu *C. krusei* ve %4'ünü diğer candida türleri olarak tanımlamışlardır. Otağ ve ark.'nın (5) çeşitli klinik örneklerden elde ettikleri 872 maya suşunu inceledikleri çalışmalarında, en sık izole edilen türlerin başında *Candida albicans* (%45.6), *C. tropicalis* (%18.6), *C. parapsilosis* (%14.9), *C. glabrata* (%10.6), *C. kefir* (%3.8), *C.krusei* (%2.4) türleri yer almıştır. Şahin ve ark.'nın (115) değişik klinik örneklerden izole edilen 88 maya suşunu tür düzeyinde tanımladıkları çalışmada, kökenlerin 39'u (%44.3) *C. albicans*, 17'si *C. tropicalis* (%19.3), 12'si *C. parapsilosis* (%13.7), 10'u *C. glabrata* (%11.4), 6'sı *C. kefir* (%6.8) ve 4'ü *C. krusei* (%4.5) olarak bildirilmiştir.

Candida parapsilosis'in son yıllarda önemli hastane kökenli patojenler arasında yer aldığı, kandidemilerin %7-10'unu oluşturduğu, bazı merkezlerde %30-50'lere varan oranlarda izole edildiği bildirilmiştir. Kandidemi etkeni olarak soyutlanan *C. parapsilosis* yüksek glikoz konsantrasyonunda daha iyi proliferasyon olarak akrilik yüzeylere daha iyi penetre olması gibi özellikleri nedeniyle ekzojen hastane kökenli infeksiyon potansiyeline sahiptir. Hiperalimentation tedavilerinde glikozdan zengin çözeltilerde rahatlıkla çoğalabildiği, diğer yandan deride sıklıkla kolonize olabildiği, bu nedenle invazif girişimlerle kan akımına karıştığı saptanmıştır. Sağlık çalışanlarının ellerinde mayaların tanımlanması ile ilgili yapılan çalışmalarda en sık *C. parapsilosis* izole edilmiştir. Ayrıca kateter yüzeyinde oluşturduğu biyofilm nedeniyle santral venöz kateteri bulunan hastalarda daha sık soyutlanmaktadır (5).

Çalışmamızda, *C. parapsilosis* *C. albicans*'tan sonra en fazla izole edilen tür olup, ikinci sırayı almıştır. Kırk dokuz *C. parapsilosis* suşunun 41'i (%83.7) kan, 3'ü idrar, 2'si kateter, 1'i SVK, 1'i diyalizat örneklerinden izole edilmiş olup yukarıdaki görüşü doğrular niteliktedir. Kan örneklerinden izole edilen türlere göre değerlendirildiği zaman, *C. albicans*'ların %50'sinin, *C. tropicalis*'in %20'sinin, *C. krusei*'nin %66.7'sinin, *C. kefyr*'in %25'inin, *C. glabrata*'nın %75'inin, *C. famata*'nın %25'inin ve *C. lusitaniae*'nin %66.7'sinin kandan izole edildiği saptanmıştır.

Vücutta patojen bir mantarın bulunması infeksiyonun başlaması için ön koşul olmasına rağmen infeksiyonun gelişmesinde yeterli değildir. Mantarla konak arasındaki karşılıklı etkileşim sonucuna bağlı olarak ya subklinik düzeydeki infeksiyonlar (latent veya gizli infeksiyonlar) ve/veya klinik bulguların (görülebilir belirtiler) ortaya çıkması şeklinde hastalık meydana gelir veya meydana gelmesi önlenir. Etkenin hastalık yapıcı birçok özelliği ile konağın duyarlılığı tarafından belirlenen bu olay özellikle insanlarda sıradan bir kommensal olarak bulunan fakat konağın savunması zedelendiğinde dokulara yayılarak ona zarar verebilen candidaların yaptıkları infeksiyonların altındaki gerçeği oluşturur (31).

Mantarın türüne ve kökene bağlı olan bir kısım faktörler konağın bağışıklığını yenmek için birlikte rol oynarlar. Patojenlik belirtgenleri denilen bu faktörler *C. albicans* ve diğer candida türlerinin virülansını belirlerler. Candida infeksiyonlarının patogeneğinde mukoza yüzeylerine yapışma ve burada çoğalma, *C. albicans* olgularında çimlenme borusu ve hif oluşumu işe karışır. Bunu enzim (fosfolipazlar ve proteinazlar)

üretimi, doku tahribi, nüfuz etme ve altta yatan dokuda bir yangı cevabı uyandırma izler. Bu bazen, konağın bağışıklık durumuna ve mantarın içinde bulunduğu ortamı değiştirerek gelişmesi yeteneğine bağlı olarak sistemik yayılımla, böylece konak dokularının tahribi, mantarın bulunduğu vücut alanının aşması ve enfeksiyona sebep olması ile sonuçlanabilir. Diğer yandan deneyler, *C. albicans* kökenleri arasında da konağı hastalandırabilme derecesinde farklılıkların olabileceğini, yani virülans farklılıklarının varlığını ortaya koymuştur (31).

Asit proteinazların, candidaların mukozalara kolonizasyonunun erken dönemlerinde rol aldığı gösterilmiştir (31,48). Öte yandan Sap enziminin invazyon sırasında candida türlerinin etrafında lokalize olduğu ve epitele adherensi kolaylaştırdığı veya sitopatik etki ile invazyona yardımcı olduğu düşünülmektedir (31,48,53). Asit proteinazın mayayı konağın savunma sistemine karşı koruduğuna dair bulgular vardır. Proteinaz salgılayan suşların, fagositoza ve hücre içi öldürmeye karşı daha dirençli oldukları gösterilmiştir. Candida asit proteinazının IgA'yı sindirme yeteneğinden dolayı gastrointestinal sistem ve mukozal yüzeylerde kolonizasyonu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (48,52,54).

Çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 candida suşunun 103'ünde (%51.5) proteinaz aktivitesi olumlu bulunmuştur. *C. albicans* suşlarında proteinaz pozitifliği 106 suşun 84'ünde (%79.2) ve albicans dışı candida suşlarında 94 suşun 19'unda (%20.2) gözlenmiştir. *C. albicans* suşlarının proteinaz aktivitesi, albicans dışı candida suşlarına oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($\chi^2=69.51$, $p=0.000$).

Kantarcıoğlu ve Yücel (59), çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 95 candida suşunun proteinaz aktivitesini inceledikleri çalışmalarında, 60 *C. albicans* suşunun 57'sinde (%95), 35 albicans dışı kökenin 18'inde (%51.4) proteaz aktivitesi saptamışlar ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu vurgulamışlar; Al-Hedaithy (116), vajinit etkeni 500 maya ile yaptığı çalışmada, 298 *C. albicans* suşunda (%100), albicans dışı toplam 200 candida kökeninin 22'sinde proteinaz aktivitesi (%11) tespit etmiştir. Yamamoto ve ark. (117) 222 candida suşunu inceledikleri çalışmada; 134 *C. albicans* suşunun tamamının (%100), 88 albicans dışı candida suşunun 24'ünün (%27.2)

proteinaz salgıladığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmalarda görüldüğü gibi *C.albicans*'ların proteinaz aktivitesi oldukça yüksek olarak tespit edilmiştir.

Yine, çalışmamızla uyumlu olarak, Ay (118), 127 *C. albicans* suşunun 115'inde (%91.3) ve 55 albicans dışı candida suşunun 6'sında (%10.9), Soydan (62), 58 *C. albicans* suşunun %82.7'sinde ve 42 albicans dışı candida suşunun 13'ünde (%30.9), Gökçe (104), 68 *C.albicans* suşunun 61'inde (%89.7) ve 31 albicans dışı candida suşunun 8'inde (%25.8) proteinaz aktivitesi saptamış ve her üç çalışmada da aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu vurgulanmıştır.

Çalışmamızda proteinaz olumlu 84 *C. albicans* suşunun 26'sı (%31) 1(+), 58'i ise (%69) 2(+) bulunmuştur. Albicans dışı 19 proteinaz olumlu suşun 12'si (%63.2) 1(+), 7'si (%36.8) 2(+) bulunmuştur.

Bu sonuçlarla uyumlu olarak Fotedar ve Al-Hedaithy (119), Soydan (62) ve Al-Hedaithy (116), *C. albicans* suşlarında kuvvetli pozitiflik (2+) oranını, zayıf pozitiflikten (1+) daha yüksek bulmuşlardır. Yandımalamadım'ın (30) araştırmasında, çalışmamızda olduğu gibi, albicans dışı suşlarda zayıf pozitiflik (1+) oranı (%69), kuvvetli (2+) pozitiflikten (%35) daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda incelenen *C. krusei*, *C. glabrata* ve *C. lusitaniae* suşlarının tümünün proteinaz aktivitesi negatif bulunmuştur. Benzer şekilde, Kantarcıoğlu ve Yücel (59) ve Dostal ve arkadaşları (49) da çalışmalarında bu üç suşta proteinaz aktivitesini olumsuz olarak bildirirken, Soydan (62), Al-Hedaithy (116) ve Kumar ve arkadaşları (120) *C. krusei* ve *C. glabrata* suşlarında, Yamamoto ve arkadaşları (117) *C. glabrata* suşlarında proteolitik aktivite tespit etmemişlerdir.

Çalışmamızda, *C. albicans* suşlarının proteinaz enzim aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %75.5, idrardan izole edilen suşlarda %75.8, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %100, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %87.5 olarak saptanmıştır. *C. albicans* suşlarında, proteinaz enzim aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($\chi^2=4.18$, $p=0.242$).

Çalışmamızda, albicans dışı candida suşlarının proteinaz enzim aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %17.2, idrardan izole edilen suşlarda %23.8, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %33.3, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %22.2 olarak saptanmıştır.

Aynı şekilde, albicans dışı candida suşlarında da proteinaz enzim aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($\chi^2=1.15$, $p=0.765$).

Çalışmamız, bu yönüyle Borst ve Fluit (121), Arslan ve Fındık (3), Öksüz ve ark. (122), Yücel ve Kantarcıoğlu (123)'nun, candida suşunun izole edildiği klinik örneklerle proteinaz aktivitesi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını belirten çalışmalarıyla paralellik göstermektedir.

Çalışmamız kapsamında değerlendirilen ikinci faktör kökenlerin fosfolipaz üretimleridir. *C. albicans* tarafından salgılanan fosfolipazlar, epitelyal hücre membranını parçalayarak ve hifal yapının sitoplazmaya girmesini sağlayarak, kandidozdaki konak doku invazyonunda önemli bir rol üstlenir (58-60).

İlk zamanlarda farklı candida türlerinin fosfolipaz üretme yeteneğini değerlendirmek için yapılan yumurta sarısı bazlı testler yalnızca *C. albicans*'ın ekstraselüler fosfolipaz ürettiğini, albicans dışı türlerin üretmediğini göstermiştir. Ancak bunun tersine, son zamanlarda albicans dışı candida türlerinin de fosfolipaz üretimini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bununla birlikte, *C. albicans*'a kıyasla, albicans dışı türlerin salgıladığı fosfolipaz miktarı belirgin derecede düşüktür (56).

Çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 candida suşunun 102'sinde (%51) fosfolipaz aktivitesi olumlu bulunmuştur. *C. albicans* suşlarında fosfolipaz pozitifliği 106 suşun 101'inde (%95.3) ve albicans dışı candida suşlarında 94 suşun 1'inde (%1.1) gözlenmiştir. Bu suş *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır. *C. albicans* suşlarının fosfolipaz aktivitesi, albicans dışı candida suşlarına oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($\chi^2=176.98$, $p=0.000$).

Özkütük ve ark. (124) çeşitli klinik örneklerden izole edilen 98 candida suşunun fosfolipaz aktivitesini inceledikleri çalışmalarında; 64 *C.albicans* suşunun 51'inde (%79.7) ve 34 albicans dışı candida suşunun 2'sinde (%5.9), Kantarcıoğlu ve Yücel (59), çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 95 candida suşunun fosfolipaz aktivitesini inceledikleri çalışmalarında, 60 *C.albicans* suşunun 56'sında (%93.3), 35 albicans dışı kökenin 3'ünde (%8.6) , Öksüz ve ark. (122) çeşitli klinik örneklerden izole edilen 122 candida suşunu incelemiş, 81 *C.albicans* suşunun 43'ünün (%53) ve 41 albicans dışı candida suşunun 7'sinin (%17) fosfolipaz aktivitesi gösterdiğini saptamışlardır. Her üç

çalışmada da, *C. albicans* ve albicans dışı candidalar arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirmişlerdir.

Benzer şekilde, Keçeli ve ark. (10) 56 *C. albicans* suşunun 45'inde (%80.3) ve 17 albicans dışı candida suşunun 5'inde (%31.3), Kumar ve ark. (120) immün yetmezlikli hastalardan izole edilen 34 *C. albicans* suşunun tamamında (%100) ve 27 albicans dışı candida kökeninin 8'inde (%29.6) olmak üzere fosfolipaz aktivitesini *C. albicans* suşlarında, albicans dışı candida kökenlerine göre anlamlı derecede yüksek olarak saptamışlardır.

Çalışmamızda *C. albicans* suşlarının fosfolipaz enzim aktivitesi kandan izole edilen suşlarda %94.3, idrardan izole edilen suşlarda %93.9, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda %100, diğer örnekler olan açlık mide sıvısı, yara, perikard, safra ve serviks örneklerinden izole edilen suşlarda %100 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlarla, *C. albicans* suşlarında, fosfolipaz enzim aktivitesi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($\chi^2=1.23$, $p=0.746$).

Çalışmamız, bu yönüyle, Yücesoy ve Yuluğ (60), Yücel ve Kantarcıoğlu, Öksüz ve ark. (122) ve Arslan ve Fındık (3)'ün candida suşunun izole edildiği klinik örneklerle fosfolipaz aktivitesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını belirten çalışmalarıyla uyumludur.

Albicans dışı candida suşlarında fosfolipaz enzim aktivitesi sadece 1 *C. tropicalis* suşunda gözlemlendi. Sadece 1 örnekte gözlenmesi ve klinik örnek sayısının az olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlılığı göz önüne alınmadı.

Çalışmamızda fosfolipaz olumlu 101 *C. albicans* suşunun 66'sı (%65.3) 4+, 24'ü (23.8) 3+ ve 11'i (%10.9) 2+ olarak saptanmıştır. Albicans dışı fosfolipaz aktivitesi gösteren tek suş olan 1 *C. tropicalis* kökeninin enzim aktivitesi 4+ olarak tespit edilmiştir.

Fotadar ve Al-Hedaithy (119) çeşitli klinik örneklerden izole edilen 52 *C. albicans* suşunun tamamında (%100) fosfolipaz aktivitesi saptamış, bunların 36'sında (%69) yüksek fosfolipaz aktivitesi, geri kalan 16'sında (%31) düşük fosfolipaz aktivitesi saptamışlardır. Kumar ve ark. (120) immün yetmezlikli hastalardan izole edilen 34 *C. albicans* suşunun 31'inde (%91.2) 4+, 2'sinde (%5.9) 3+ ve 1'inde (%2.94) 2+ fosfolipaz aktivitesi tespit etmişlerdir. Gökçe (104)'nin kan kültürlerinden izole edilen 99 candida suşu ile yaptığı çalışmada, 68 *C. albicans* suşunun 41'i (%60.3) fosfolipaz

üretimi açısından olumlu bulunmuştur. Bu 41 kökenin 28'i (%68.29) kuvvetli pozitif, 13'ü (%31.71) zayıf pozitif olarak saptanmıştır. Her üç çalışmada da çalışmamızda olduğu gibi *C. albicans* suşlarının çoğunluğu kuvvetli fosfolipaz aktivitesine sahip bulunmuştur.

Mayaların lipolitik aktivite gösteren esteraz enzimini salgıladığı ilk kez 1978 yılında Rudek tarafından Tween 80 opasite testi ile gösterilmiştir (62). Esteraz aktivitesi, patojen candida türlerinin biyotiplendirilmesi sırasında bulunmuştur. Enzimin aktivitesi, yalnızca tek karbon kaynağı olarak Tween 80 ve diğer tweenleri içeren besiyerinde gözlenmektedir (63).

Tween 80 opasite testi, standart morfolojik ve fizyolojik testlerin tamamlayıcısı olarak değişik candida türlerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Özellikle *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'in ayırt edilmesinde kullanışlı olduğu bildirilmektedir (61).

Esteraz enzim aktivitesinin kandidoz patogenezindeki rolü ile ilgili bilgiler sınırlı olduğundan, bu konu hakkında kesin bir kaniya varılamamıştır. Yapılan araştırmalar ekstraselüler esterazın fungal üreme için koşul olmadığı ve esteraz aktivitesinin bir virülans faktörü olarak görülmediğini düşündürmekle birlikte, birçok çalışmada esteraz aktivitesinin patogenezdaki rolü araştırılmıştır (30).

Çalışmamızda; 106 *C. albicans* suşunun 102'sinde (%96.2) ve 94 albicans dışı kökenin 32'sinde (%34) esteraz aktivitesi saptanmıştır. *C. albicans* suşlarının esteraz aktivitesi, albicans dışı kökenlere oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($\chi^2=82.58$, $p=0.000$).

Genel olarak incelenen çalışmalarda, benzer şekilde *C. albicans* türlerinin esteraz aktivitesinin, albicans dışı türlere göre anlamlı derecede yüksek bulunduğu gözlenmiştir. Aktaş ve ark. (125) 125 candida suşunun esteraz aktivitesini araştırdıkları çalışmada, 59 *C. albicans* suşunun 58'inde (%98.3), 66 albicans dışı candida suşunun 41'inde (%61.2) esteraz enzimi aktivitesi saptamışlardır. *C. tropicalis* (n=38) ve *C. guilliermondii* (n=3) suşlarının tümü esteraz aktivitesi gösterirken, diğer candida türlerinde esteraz aktivitesi gözlenmemiştir. Yücesoy ve Marol (126), toplam 124 *Candida* suşunun (66 *C. albicans*, 25 *C. tropicalis*, 14 *C. parapsilosis*, 10 *C. glabrata*, 3 *C. krusei*, 2 *C. kefyr*, 2 *C. guilliermondii*, 1 *C. lusitaniae*, 1 *C. rugosa*) esteraz aktivitesini inceledikleri çalışmada; *C. albicans* suşlarının 63'ünde (%95), *C. tropicalis* suşlarının 23'ünde (%93), *C. parapsilosis* suşlarının 8'inde (%57) ve *C. glabrata*

suşlarının 1'inde (%10) esteraz aktivitesi saptamışlardır. Diğer suşlarda enzim aktivitesi saptanmamıştır.

Keçeli ve Budak (127), çeşitli klinik örneklerden izole edilen 118 candida suşunu inceledikleri çalışmalarında; 86 *C. albicans*'ın 83'ünde (%96.5) ve 32 albicans dışı kökenin 15'inde (%46.9) esteraz aktivitesi saptamışlardır. *C. tropicalis* (n=12) ve *C. guilliermondii* (n=3) suşlarının tümü esteraz aktivitesi gösterirken, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. kefir*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* türlerinde esteraz aktivitesi gözlenmemiştir.

Soydan'ın (62) çalışmasında, 100 candida suşunun esteraz aktivitesi incelenmiş; 58 *C. albicans* suşunun 54'ünde (%93.1), 42 albicans dışı candida suşunun 17'sinde (%40.5) esteraz aktivitesi saptanmıştır. Çalışmada, *C. tropicalis* (n=11) suşlarının tümü (%100), *C. glabrata* (n=14) suşlarının %7.1'i, *C. famata* (n=5) suşlarının %60'ı, *C. guilliermondii* (n=2) suşlarının 1'i ve *C. curvata* suşu (n=1) esteraz aktivitesi göstermiştir.

Kumar ve ark. (128) 149 candida izolatu ile yürüttükleri çalışmada; 65 *C. albicans* suşunun 60'ında (%92.3), 84 albicans dışı candida suşunun 42'sinde (%50) esteraz aktivitesini olumlu bulmuşlardır. Albicans dışı candida türleri içinde; 39 *C. tropicalis* 'in 36'sı (%92.3), 18 *C. dubliniensis*'in 3'ü (%16.6), 4 *C. parapsilosis*'in 1'i (%25), 1'er *C. inconspicua* ve *C. lipolytica* suşları esteraz aktivitesi olumlu olarak saptanmıştır. *C. krusei* (n=12), *C. glabrata* (n=7), *C. guilliermondii* (n=1) ve *C. kefir* (n=1) suşlarının hiçbirinde esteraz aktivitesine rastlanmamıştır.

Slifkin (61), 111 candida suşunun esteraz aktivitesini incelemiş, 15 *C. albicans*, 10 *C. tropicalis*, 5 *C. guilliermondii* ve 3 *C. rugosa* suşunun tamamında (%100) esteraz aktivitesi saptamıştır. *C. dubliniensis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. kefir*, *C. parapsilosis* ve *C. lusitaniae* suşlarında esteraz aktivitesi gözlememiştir.

Genel olarak araştırmalarda, çalışmamızla uyumlu olarak, albicans dışı kökenler içerisinde, en yüksek esteraz aktivitesini *C. tropicalis* ve *C. guilliermondii* suşlarının gösterdiği gözlenmiştir (61,62, 125,127).

Esteraz ile yapılan çalışmalarda, esteraz aktivitesinin incelenmesinin candida türlerinin tanımlanmasında yararlı olabileceği gündeme gelmiştir. Esteraz aktivitesinin ortaya çıkış zamanı da tür ayırımında yardımcı olmaktadır (62) .

Çalışmamızda, esteraz aktivitesi olumlu 102 *C. albicans* suşunun 93'ü (%91.2) 2-3 günde, 9'u (%8.8) 4-7 günde esteraz aktivitesi göstermiştir. *C. tropicalis*, *C. famata* ve *C. guilliermondii* suşlarının tamamı 2-3 günde sonuç vermiştir. *C. parapsilosis* suşlarının tümü 4-7 günde sonuç vermiştir.

Bu sonuçlarla uyumlu olarak, Aktaş ve ark. (125), Yücesoy ve Karaman (129), Kumar ve ark. (128), *C. albicans* suşlarının 2-10 günler arasında esteraz pozitifliği verdiğini bulmuşlardır. Yine çalışmamızla uyumlu olarak, Aktaş ve ark. (125), Kumar ve ark. (128), Slifkin (61), Soydan (62) *C. tropicalis* suşlarının tümünün 2-3 gün içerisinde esteraz aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir. *C. guilliermondii* suşlarında ise, Aktaş ve ark. (125), Slifkin (61) ve Soydan (62), çalışmamızla uyumlu olmayarak esteraz aktivitesini 4-7. günlerde saptamışlardır.

Sonuç olarak, esteraz aktivitesi candida türlerinin virülansında önemli olarak görülmemekle birlikte, tür ayrımında yardımcı olabilecek bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamız kapsamında kökenlerin slime faktör (biyofilm) üretimi de araştırılmış ve bu amaçla modifiye tüp aderans yöntemi kullanılmıştır. Slime faktör; amorf kapsül yapısında, glikokaliks materyali olup %40 karbonhidrat ve %27 proteinden oluşmaktadır. Slime faktör plastik ve metal yüzeylere yapışmayı sağlayan, bakterilere antifagositer özellik kazandıran, ayrıca antimikrobik maddelerin bakteri hücrelerine girişini engelleyen ekstrasellüler bir polisakkarittir (107).

Slime faktör, mikroorganizmayı konağın savunma mekanizmalarından korur. Bu nedenle yapışma veya slime yapımı önemli bir virulans faktörü olarak kabul edilmektedir. candidalar için de slime üretiminin bir patojenite faktörü olabileceği; slime faktör varlığında candidaların konak hücrelerine, protez ve kateterlere tutunup daha kolay kolonizasyon ve enfeksiyonlara yol açtığı bildirilmektedir (107).

Çalışmamızda, 106 *C. albicans* suşunun 10'u (%9.4) ve 94 albicans dışı kökenin 48'i (%51.1) slime olumlu olarak saptanmış olup, albicans dışı kökenlerde slime aktivitesi daha yüksek saptanmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=41.93$, $p=0.000$).

Çalışmamızla benzer olarak, Yücesoy ve ark. (130) 48 *C. albicans* suşunun 2'sinde (%4.2), 46 albicans dışı suşun 10'unda (%21.7), Gökçe (104) 68 *C. albicans* suşunun 8'inde (%11.8) ve 31 albicans dışı suşun 13'ünde (%41.9), Shin ve ark. (131) 146 *C.*

albicans suşunun 11'inde (%7.5) ve 214 *albicans* dışı candida kökeninin 130'unda (%60.7), Demirbilek ve ark. (132), 79 *C. albicans* suşunun 18'inde (%22.8) ve 37 *albicans* dışı suşun 15'inde (%40.5) biyofilm aktivitesi saptamışlar ve *C. albicans* ile *albicans* dışı candida suşları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu vurgulamışlardır.

Yine Ekşi ve ark. (133) üniversitemizde yaptıkları ve 88 *Candida* suşunun incelendiği çalışmada, 62 *C. albicans* suşunun 22'sinde (%35.5) ve 26 *albicans* dışı suşun 17'sinde (%65.4) slime aktivitesi gözlemlemişler, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu vurgulamışlardır.

Bunun yanında, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, yine benzer şekilde *albicans* dışı kökenlerin *C. albicans*'tan daha yüksek slime aktivitesine sahip olduğunu saptayan çalışmalar mevcuttur. Cengiz ve ark. (134), 80 *Candida* kökeninde slime üretimini araştırmış; 42 *C. albicans*'ın 9'unda (%21.4) ve 38 *albicans* dışı suşun 9'unda (%23.7) slime pozitifliği bulmuşlardır. Malçok ve ark. (135) çeşitli klinik örneklerden izole edilen 105 candida suşunun 65'inde (%61.9) slime üretimi saptamıştır. *C. albicans* için bu oran %48.1 iken, *albicans* dışı kökenler için %67.9 bulunmuştur.

Cevahir ve ark. (107) çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 126 candida suşunda glukozlu Sabouraud buyyon yöntemiyle yaptıkları çalışmada; toplam 42 suşta (%33.3) slime olumluluğu bulmuşlardır. *C. albicans* için oran 83 suşun 26'sı (%31.3) ve *albicans* dışı kökenler için 43 suşun 16'sı (%37.2) şeklindedir. Yakupoğulları ve Toraman (2), çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 candida suşunu incelemiş; 72 *C. albicans* suşunun 6'sında (%8.3) ve 28 *albicans* dışı kökenin 6'sında (%21.4) slime pozitifliği saptamışlardır.

Albicans dışı örneklerde slime aktivitesinin yüksekliği, bu türlerin infeksiyon oluşturma sıklığındaki artışı açıklayan nedenlerden biri olabilir.

Çalışmamızda, idrar örneklerinde slime üretimi daha yüksek bir oranda gözlenmekle birlikte, slime üretimi ile klinik örnek tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Benzer şekilde, Karaca ve ark. (136) ve Orhon ve ark. (137) da slime üreten suşların klinik örnekler göre dağılımını istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır. Bununla birlikte, Shin ve ark. (131) ve Demirbilek ve ark. (132), kan kültürlerinden izole edilen suşların diğerlerine göre anlamlı olarak daha yüksek oranda biyofilm oluşturdıklarını saptamışlardır.

Artık önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilen invaziv fungal infeksiyonların insidansındaki artış ve antifungal sağaltımdaki farklı seçenekler yanında, fungal etkenlerin spektrumundaki değişim ve fungal patojenler arasında antifungal ilaçlara direncin yaygınlaşması, antifungal duyarlılık testlerine gereksinimi arttırmıştır (100). Antifungal ilaçların profilaktik amaçla kullanılması ile hem albicans dışı candida türlerinin sıklığı artmakta, hem de özellikle azol türevi antifungallere direnç gelişmektedir (94).

Çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen candida kökenlerinin amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungin'e karşı duyarlılıklarını belirlemek amacıyla, mikrodilüsyon yöntemiyle adı geçen antifungallerin MİK değerleri belirlenmiştir.

Mantar infeksiyonlarının tedavisinde, 1953 yılında amfoterisin B'nin bulunmasıyla yeni bir dönem başlamıştır. Amfoterisin B klinik kullanımda en toksik antimikrobiyal ajanlardan biri olmasına rağmen halen standart tedavi olma özelliğini korumaktadır. Albicans dışı candida türlerinde, örneğin *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata* ve *C. krusei* türlerinde direnç bildirilmektedir. Amfoterisin B tedavisine klinik yanıtızlık in-vitro dirençten çok konağın bağışıklık sistemi ile ilgili faktörlerin düzelmemesi ile ortaya çıkmaktadır. Amfoterisin B'ye direnç bölgeden bölgeye değişebileceği gibi, aynı bölgede farklı zamanlarda direnç profili değişebilmektedir (94).

Bugün için genelde kabul edilen görüş, candida izolatlarının amfoterisin B direncinin nadir olduğudur. Bununla birlikte, ülkemizde amfoterisin B için çok geniş bir yelpazede direnç bildirilmiştir. Hiç direnç gözlenmeyen çalışmalar bulunduğu gibi, %57.8'e kadar direnç bildiren çalışmalar da vardır (94).

Çalışmamızda, amfoterisin B için, incelenen 200 candida suşu içerisinde dirençli (≥ 2 µg/mL) suşa rastlanmamıştır. Candida kökenleri için amfoterisin B'nin MİK aralığı 0.03-1 µg/mL değerleri arasında, MİK₅₀ değeri 0.125 µg/mL, MİK₉₀ değeri 0.25 µg/mL olarak saptanmıştır.

Yurtdışında yapılan çalışmalarda, İtalya'dan Barchiesi ve ark. (138) 56 candida suşunda MİK değerlerini 0.03-0.5 µg/mL aralığında, Latin Amerika'dan Godoy ve ark. (139) 103 candida suşunda MİK değerlerini 0.125-1 µg/mL aralığında, İspanya'dan Cuenca-Estrella ve ark. (113) 351 *C. albicans* suşunun MİK değerlerini 0.03-0.5 µg/mL

aralığında tespit etmişler ve çalışmamızla paralel olarak amfoterisin B'ye direnç saptamamışlardır.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Ay (118), boğaz ve kan kültürlerinden izole edilmiş 211 candida suşunda MİK değerlerini 0.06-1 µg/mL aralığında saptamış ve amfoterisin B'ye direnç gözlememiştir. Yine, ülkemizde yapılan çalışmalarda, Toprak ve ark. (140) kan kültürlerinden soyutlanan 60 candida suşunda amfoterisin B'nin MİK değerlerini 0.03-0.5 µg/mL aralığında bulurken, Yenişehirli ve ark. (141) kan kültürlerinden elde edilen 68 *C. albicans* suşunda MİK değerlerini ≤0.03-0.25 µg/mL aralığında, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla ≤0.03 ve 0.125 olarak tespit etmiştir.

Bilgin (109), 58 candida suşunda MİK değerlerini 0.125-1 µg/mL aralığında, Akkurt (142) 50 candida suşunda MİK değerlerini 0.25-1 µg/mL aralığında, Karakoç (101) 88 candida suşunda MİK değerlerini 0.03-1 µg/mL aralığında saptamışlar ve amfoterisin B'ye direnç gözlememişlerdir.

Bununla birlikte incelediğimiz literatürde candida türlerinde amfoterisin B'ye direnç bildiren çalışmalar da mevcut olup genellikle düşük oranda gözlenmektedir. Diekema ve ark. (143), 254 candida suşunun MİK değerlerini 0.25-2 µg/mL aralığında saptarken, yalnızca 7 suшта MİK değerini 2 µg/mL olarak gözlemiş ve %3 oranında direnç bildirmişlerdir.

Cuenca-Estrella ve ark. (144), İspanya'dan elde edilen 514 candida suşunda amfoterisin B'nin MİK aralığını 0.03-2 µg/mL ve direnç oranını %2.7, Arjantin'den elde edilen 230 candida suşunda MİK aralığını 0.06-8 µg/mL ve direnç oranını %0.86 olarak belirlemişlerdir.

Zer ve Balcı (145), yoğun bakımdan elde ettikleri 205 candida suşunda amfoterisin B'ye %19.5 oranında direnç bildirmişlerdir. Kiraz ve ark. (146) 300 *C. albicans* suşunda MİK aralığını 0.03-4 µg/mL, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla 0.5 ve 1 µg/mL olarak tespit etmişler, 19 (%6.3) suшта amfoterisin B direnci bildirmişlerdir.

Günümüzde sistemik ve lokal olarak en sık kullanılan antifungaller azol grubu ajanlardır. Sistemik olarak kullanılan azollerden mayalarda en sık kullanılanı flukonazoldür (94). Candida türleri arasında, *C. krusei* intrinsek olarak flukonazole dirençlidir. Öte yandan, *C. glabrata* suşlarının duyarlılığı da yaygın çeşitlilik gösterir. Bazı *C. glabrata* suşları flukonazole doza bağımlı duyarlı iken, yaklaşık %15 kadarı

gerçek direnç göstermektedir. *C. tropicalis*, *C. norvegensis*, *C. dubliniensis* ve *C. inconspicua* suşlarının flukonazol için MIC değerleri bazen artmış olarak bulunabilir. Ek olarak, herhangi bir candida türüne ait bir suşta, flukonazole direnç saptanabilir. Özellikle, AIDS'li hastalarda uzamış flukonazol profilaksisini takiben, *C. albicans* izolatlarında dahi flukonazole kazanılmış direnç gelişebilmektedir (86).

Çalışmamızda, flukonazolün incelenen 200 candida suşu için MİK değerleri 0.125-64 µg/mL arasında, MİK₅₀ değeri 0.5 µg/mL, MİK₉₀ değeri 64 µg/mL olarak saptanmıştır. Flukonazole dirençli (≥ 64 µg/mL) candida suşlarının sayısı 33 (%16.5) olarak tespit edilmiştir.

Bu suşların 9'u *C.krusei* olup, *C.krusei* suşlarının 5'inin MİK değeri ≥ 64 µg/mL, geri kalan 4 suşun 2'sinde MİK değeri 32 µg/mL, 2'sinde 16 µg/mL olarak bulunmuştur. *C.krusei* suşu flukonazole intrensek olarak dirençli olduğundan in vitro olarak saptanan MİK değerlerine bakılmaksızın flukonazole dirençli kabul edilmiştir.

C. krusei dışındaki flukonazole dirençli 24 suşun 13'ü *C. albicans*, 4'ü *C. tropicalis*, 2'si *C. glabrata*, 2'si *C. famata*, 2'si *C. guilliermondii*, 1'i *C. parapsilosis* olarak saptanmıştır. Buna göre, flukonazole direnç oranı, *C. albicans* suşları için %12.3, albicans dışı suşlar için %21.3 olarak saptanmıştır. Doza bağlı duyarlı (16-32 µg/mL) izolatların sayısı 12 (%6) olarak bulunmuş, 4 *C. krusei* suşu bu sayının dışında tutulmuştur. *C. albicans* ve albicans dışı kökenler arasında flukonazol direnci açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($\chi^2=2.94$, $p=0.086$). Bu sonuçlarla uyumlu olarak, Skrodeniene ve ark. (147) 93 *C. albicans* suşundan 14'ünü (%15.1) flukonazole dirençli tespit ederken, Sojakova ve ark. (148) 227 candida izolatında flukonazol direncini %13 olarak bildirmişlerdir. Sabatelli ve ark. (149) 6595 candida izolatında flukonazole %6.4 direnç saptarken, Espinel-Ingroff (150) ve ark. Candida *albicans* suşlarında %55, albicans dışı suşlarda %12.9 olmak üzere, toplam 90 candida suşunda flukonazol direncini %22.2 olarak saptamışlardır.

Ülkemizde yapılmış çalışmalarda da direnç oranları oldukça geniş bir aralıkta bildirilmektedir. Bazı çalışmalarda hiç direnç görülmezken(94,141,146,151), Kantarcıoğlu ve Yücel (152) albicans dışı candidalarda %38.8, Kaya ve ark. (153) ise maligniteli nötropenik hastalardan izole edilen 32 *C. albicans* suşunda %68.7, 106 albicans dışı suşta %63.2 oranında direnç saptamışlardır.

Genel olarak, çalışmamızda elde ettiğimiz flukonazol direnci sonuçları, incelemiş olduğumuz çalışmalarla paralellik göstermektedir. Zer ve Balcı (145) yoğun bakım hastalarından izole edilen 205 candida suşunun %27.3'ünü flukonazole dirençli bulmuşlardır. Ay (118), boğazdan elde edilen izolatlarda %9.3, kandan izole edilenlerde %27.5 oranında direnç saptamıştır.

Kuştimur ve ark. (154) 39 candida suşunda %22.5 oranında direnç saptarken, bu oran *C.albicans* için %31.6, albicans dışı kökenler için %15 olarak saptanmıştır. Özcan (155), 46 candida suşunda %21.7, Demirbilek ve ark. (132) 116 candida suşunda %28 oranında flukonazole direnç bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, albicans dışı candida suşlarının flukonazol direnci daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde, Keçeli ve ark. (10) 73 candida suşunda flukonazol direncini %12.3 oranında bulurken, *C.albicans* için bu oranı %10.7, albicans dışı suşlar için %17.6 olarak bildirmiş, Kantarcıoğlu ve Yücel (152) *C.albicans* için %21.6 ve albicans dışı suşlar için %38.8 oranında direnç saptamışlardır.

Vorikonazol, flukonazolden türetilmiş sentetik bir triazoldür. Yapısal değişiklikler sonucunda hedef enzim lanosterol demetilazı inhibe edici aktivitesi artmış ve spektrumu genişlemiştir (90). Flukonazole dirençli candida suşlarına da etkilidir. Ancak, flukonazole dirençli candida izolatlarının önemli bir kısmı, çapraz direnç sonucu, ketokonazol ve itraconazolün yanı sıra vorikonazole de dirençli hale gelmektedir (86).

Çalışmamızda, değerlendirilen 200 candida suşu için vorikonazolün MİK aralığı 0.03-16 µg/mL değerleri arasında, MİK₅₀ değeri 0.03 µg/mL, MİK₉₀ değeri 0.5 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Vorikonazole dirençli (≥ 4 µg/mL) candida suşu sayısı 8 (%4) olarak bulunurken, 4 suş (%2) doza bağlı duyarlı (2 µg/mL) olarak saptanmıştır. Vorikonazole dirençli suşların 4'ü *C.albicans*, 4'ü *C.tropicalis* olarak saptanmıştır. Buna göre, *C.albicans* kökenleri için vorikonazole direnç %3.8 olarak bulunurken, albicans dışı kökenlerde vorikonazole direnç %4.3 olarak bulunmuştur. Vorikonazol'e dirençli bulunan 8 suşun tümü flukonazole de dirençli bulunmuştur. Vorikonazol direnci açısından, *C.albicans* ve albicans dışı kökenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($\chi^2=0.03$, $p=0.862$).

Espinel-Ingroff ve ark. (150) 90 candida suşunun vorikonazol direncini araştırdıkları çalışmada, 20 *C.albicans* suşunda direnç tespit etmezken, 70 albicans dışı izolatın

3'ünde (%4.3) direnç tespit etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada *C.albicans* suşlarının flukonazol direnci 11/20 (%55) olmasına karşın vorikonazol direnci gözlenmemiştir.

Swinne ve ark. (156) 121 albicans dışı candida suşunda vorikonazolün MİK aralığını $\leq 0.008-16$ $\mu\text{g/mL}$ olarak saptayıp, 4'ünde (%3.3) direnç bildirirken, Alexander ve ark. (157) 212 candida suşu için vorikonazolün MİK değerlerini $<0.03-64$ olarak saptamış ve 7'sinde (%3.3) vorikonazol direnci tespit etmişlerdir. Aynı şekilde Sabatelli ve ark. (149) da 6595 candida izolatının vorikonazol direncini %3.3 olarak saptamıştır. Her üç çalışmanın sonuçları, çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Yurt dışından daha yüksek direnç oranı bildiren çalışmalar da mevcuttur. Basma ve ark. (158) 116 *C.albicans* suşu için vorikonazolün MİK değerlerini $0.002-32$ $\mu\text{g/mL}$ aralığında saptamış ve 9'unda (%7.7) direnç bildirmişlerdir. Johnson ve ark. (159) 1171 candida suşunda vorikonazolün MİK aralığını $0.003-16$ $\mu\text{g/mL}$ olarak saptamış ve suşların 109'unda (%9.3) vorikonazol direnci bildirmişlerdir.

Ülkemizde yapılan çalışmalara göz atıldığında, literatürde gözlemlediğimiz direnç oranları oldukça çeşitlilik göstermektedir. Özcan ve ark. (160)'nın 43 albicans dışı candida suşunun 2'sinde (%4.7) vorikonazole direnç saptadıkları çalışma, bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur. Bununla birlikte, Bilgin (109), 58 candida suşunun 1'inde (%1.7), Özcan (155), 46 candida suşunun 8'inde (%17.3) vorikonazole direnç saptarken, Karakoç (101), 88 candida suşunda vorikonazol direnci saptamamıştır.

Kaspofungin'in en önemli özellikleri, azol ve amfoterisin B dirençli candida suşlarına da etkili olması (90) ve candida biyofilmlerinde yeterli antifungal etkiyi gösterebilmesidir (37,46).

Çalışmamızda kaspofunginin MİK değerleri incelenen candida suşları için $0.015-0.25$ $\mu\text{g/mL}$ aralığında, MİK₅₀ değeri 0.03, MİK₉₀ değeri 0.125 olarak ölçülmüştür. Buna göre incelenen suşların hepsi kaspofungine duyarlı (MİK ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$) bulunmuştur.

Pfaller ve ark. (161) flukonazole dirençli 351 candida suşu ile yaptıkları çalışmada, suşların %99'unun kaspofungine duyarlı olduğunu (MİK ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$), 8 izolatın MİK değerinin ≥ 8 $\mu\text{g/mL}$ olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte, bu 8 suşun laboratuvar kaynaklı glukan sentez mutasyonlu türler olduğu bildirilmiştir. Pfaller ve ark. (162) bir başka çalışmalarında, 8197 candida izolatında kaspofungine dirençli suşa rastlamamışlardır. Alexander ve ark. (157) da yine aynı şekilde 212 candida suşu için

kaspofunginin MİK aralığını $<0.03-2 \mu\text{g/mL}$ olarak saptamış, hiçbirinde kaspofungine direnç saptamamışlardır.

Ülkemizde yapılmış bir çalışmada, Karakoç (101), 88 candida suşunun MİK değerlerini $0.03-1 \mu\text{g/mL}$ aralığında saptamış ve kaspofungine direnç saptamamıştır. Benzer şekilde, Akın ve ark. (163) üniversitemiz hastanesinde kan kültüründen izole edilen 56 candida kökeninin tümünde kaspofunginin MİK değerlerini $0.06 \mu\text{g/mL}$ saptamış ve direnç gözlememişlerdir.

Tabla-Ducasse ve ark. (164) HIV enfeksiyonu geçiren hastalardan izole edilmiş ve tümü flukonazole dirençli olan 28 candida izolatında kaspofunginin MİK değerlerini $<0.06-1 \mu\text{g/mL}$ aralığında tespit etmiş ve direnç tespit etmemişlerdir.

Yine ülkemizde yapılmış bir çalışmada, Özçelik ve ark. (165) değişik klinik örneklerden izole edilmiş 114 candida suşunun tümünün MİK değerlerini $<0.03 \mu\text{g/mL}$ olarak saptamış ve dirençli suşa rastlamamışlardır.

Çalışmamızda incelediğimiz bir diğer konu, candidaların virülans özellikleriyle antifungallere direnç durumları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığı idi. Bunun sonucunda, albicans dışı türlerin esteraz aktivitesi ile vorikonazol direnci arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p=0.011$). Ayrıca, yine albicans dışı türlerin slime aktivitesi ile flukonazol direnci arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($\chi^2=11.71$, $p=0.0006$). Diğer virülans faktörleri ve diğer ilaçlar arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Virülans faktörleri ile antifungal direnç arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar çok fazla değildir ve incelediğimiz yayınlarda virülans faktörlerinden en çok slime aktivitesi, antifungal ilaçlardan da flukonazol ve amfoterisin ile çalışma yapılmıştır.

Çalışmamıza benzer şekilde, Yücesoy ve Karaman (166), 156 candida suşunu inceledikleri çalışmada, biyofilm üretimi ile amfoterisin B direnci arasında anlamlı bir ilişki saptamazken ($p=0.12$), biyofilm üretimi ile flukonazol direnci arasındaki ilişkiyi anlamlı olarak tespit etmişlerdir.

Demirbilek ve ark. (132), 116 candida suşunun biyofilm oluşumu ve duyarlılık durumunu inceledikleri çalışmada, biyofilm üretimi ile amfoterisin B'nin MİK değerlerinin artışı arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır ($p=0.05$).

Orhon ve ark. (137) 82 *C.albicans* suşunu incelemişler ve slime aktivitesi ile flukonazol direnci arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır. Özkan ve ark. (167) 54

candida suşunu incelemeye almışlar ve slime aktivitesi ve proteinaz üretimi ile amfoterisin B veya flukonazol direnci arasında anlamlı bir ilişki gözlememişlerdir. Keçeli ve ark. (10) 73 candida suşunun fosfolipaz aktivitesini ve flukonazol duyarlılığını karşılaştırmışlar ve arada anlamlı bir ilişki saptamamışlardır.

Özkütük ve ark. (168) değişik klinik örneklerden izole edilen 57 *C.albicans* suşunun proteinaz, fosfolipaz ve slime üretimini ve bunların flukonazol direnci ilişkisi olup olmadığını incelemişler; proteinaz aktivitesi ile flukonazol direnci arasında anlamlı bir ilişki saptarken, fosfolipaz ve slime aktiviteleri için böyle bir sonuç elde edememişlerdir. Ay (118)'ın yaptığı çalışmada, 182 candida suşunda, fosfolipaz salgılayan kökenlerin flukonazol direnci anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Candida türlerinin virülans özellikleri ile direnç durumları göz önüne alındığında, slime aktivitesi ve biyofilm oluşumunun antifungal dirence yol açması, çalışmamızda da albicans dışı candida suşlarında flukonazol için gözlenmiştir. Özellikle slime oluşumu açısından daha aktif görünen albicans dışı candida suşlarında bu durumun gözlenmesi bu bilgiyi desteklemektedir. Biyofilm oluşumunun vorikonazol gibi yeni kuşak triazollere de dirence yol açabileceği söylene de (44-46) çalışmamızda böyle bir sonuç gözlenmemiştir. Amfoterisin B ve kaspofungin ise beklendiği gibi (37,46) biyofilm oluşturan suşlara da aynı şekilde etkin bulunmuştur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen farklı klinik örneklerden soyutlanan 200 candida suşu değerlendirmeye alınmıştır.

Değerlendirmeye alınan suşların, virülans faktörü olarak proteinaz, fosfolipaz, esteraz ve slime faktörü üretimleri ve amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungin için duyarlılıkları araştırılmıştır.

İzole edilen 200 candida suşunun 106'sı (%53) *C. albicans*, 49'u (%24.5) *C. parapsilosis*, 15'i (%7.5) *C. tropicalis*, 9'u (%4.5) *C. krusei*, 8'i (%4) *C. kefyr*, 4'ü (%2) *C. glabrata*, 4'ü (%2) *C. famata*, 3'ü (%1.5) *C. lusitaniae*, 2'si (%1) *C. guilliermondii* olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda, *C. albicans* suşlarında proteinaz pozitifliği 106 suşun 84'ünde (%79.2) ve albicans dışı candida suşlarında 94 suşun 19'unda (%20.2), gözlenmiştir. *C. albicans* suşlarında fosfolipaz pozitifliği 106 suşun 101'inde (%95.3) ve albicans dışı candida suşlarında 94 suşun 1'inde (%1.1) gözlenmiştir. 106 *C. albicans* suşunun 102'sinde (%96.2) ve 94 albicans dışı kökenin 32'sinde (%34) esteraz aktivitesi saptanmıştır. *C. albicans* suşlarının proteinaz, fosfolipaz ve esteraz aktivitesi, albicans dışı candida suşlarına oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Çalışmamızda, 106 *C. albicans* suşunun 10'u (%9.4) ve 94 albicans dışı kökenin 48'i (%51.1) slime olumlu olarak saptanmış olup, albicans dışı kökenlerde slime aktivitesi daha yüksek saptanmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=41.93$, $p<0.000$).

Candida kökenleri için amfoterisin B'nin MİK aralığı 0.03-1 µg/mL değerleri arasında, MİK₅₀ değeri 0.125 µg/mL, MİK₉₀ değeri 0.25 µg/mL; flukonazolün MİK aralığı 0.125-64 µg/mL değerleri arasında, MİK₅₀ değeri 0.5 µg/mL, MİK₉₀ değeri 64 µg/mL; vorikonazolün MİK aralığı 0.03-16 µg/mL değerleri arasında, MİK₅₀ değeri

0.03 µg/mL, MİK₉₀ değeri 0.5 µg/mL; kaspofunginin MİK değerleri 0.015-0.25 µg/mL aralığında, MİK₅₀ değeri 0.03 µg/mL, MİK₉₀ değeri 0.125 µg/mL bulunmuştur.

Candida suşlarının tümü amfoterisin B ve kaspofungine duyarlı idi. İzolatların 33'ü (%16.5) flukonazole dirençli, 12'si doza bağlı duyarlı bulundu. Sekiz (%4) izolat vorikonazole dirençli iken, 4 (%2) izolat doza bağlı duyarlı idi.

Kökenlerin virülans aktivitesi ile izole edildikleri klinik örnek arasındaki ilişki incelendiğinde, albicans dışı izolatlar için, esteraz aktivitesi ile vorikonazol direnci arasında ve slime aktivitesi ile flukonazol direnci arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Sonuç olarak günümüzde, çeşitli nedenlerle yaşam süresinin uzaması ve immün yetmezlikli hasta sayısının giderek artması, başta candida türleri olmak üzere fırsatçı mantar infeksiyonlarına hedef olan popülasyonun artmasına yol açmaktadır. Bunun yanı sıra özellikle azol türevlerinin profilaktik amaçla yaygın olarak kullanılması, görece duyarlı olan *C. albicans* türlerinin baskılanması ve *C. krusei* ve *C. glabrata* gibi albicans dışı türlerin infeksiyon etkeni olarak daha sık gözlenir olması sorununu beraberinde getirmektedir (6).

Bu nedenle, özellikle riskli hastalarda meydana gelen candida infeksiyonlarının tedavisi planlanırken, vakit kaybetmeden tür tanımlamasının ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılmasının giderek daha fazla gerekli hale geldiği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Tümbay E. Kandida Türleri. Ed: Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi. Güneş Kitabevi, Ankara 1999:1081-1085.
2. Yakupoğulları Y., Aşçı Toraman Z. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida* kökenlerinde slime faktörü üretiminin araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2004;34:178-181.
3. Arslan U, Fındık D. Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. Enfeksiyon Dergisi. 2003;17(4):471-481.
4. Birinci A, Çekiç Cihan Ç, Bilgin K, Acuner Ç, Durupınar B. *Candida* türlerinde slime üretiminin araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2005;35:163-166.
5. Otağ F, Aslan G, Şen S, Özturhan H, Emekdaş G. 2003-2005 süresinde klinik örneklerden izole edilen maya türlerinin değerlendirilmesi. Enfeksiyon Dergisi. 2005;19(4):435-443.
6. Arslan U, Uysal EB, Işık F, Tuncer İ, Fındık D. 2002-2005 yılları arasında kan örneklerinden soyutlanan *Candida* türleri. Enfeksiyon Dergisi. 2006;20(3):177-181.
7. Poyraz Ö. Fırsatçı enfeksiyon oluşturan mantarlar. Genel ve Özel Tıbbi Mikoloji. Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, No. 101. Sivas, 2006:129-152.
8. Vazquez JA, Sobel JD. Candidiasis. In: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD (eds). Clinical Mycology. New York, Oxford University Press, 2003:143-187.
9. Maschmeyer G, Ruhnke M. Update on antifungal treatment of invazive *Candida* and *Aspergillus* infections. Mycoses. 2004;47:263-276.
10. Keçeli S, Budak F, Sönmez Tamer G, Willke A. *Candida* türlerinin bazı antifungallere duyarlılıklarının ve fosfolipaz aktivitelerinin araştırılması. Enfeksiyon Dergisi. 2003;17(3):321-324.

11. Arıkan S, Arslan Ş, Haşcelik G, Günalp A. Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mayaların antifungal ajanlara in-vitro duyarlılıkları. Mikrobiyoloji Bülteni. 2001;35:433-441.
12. Bilgehan H. *Candida*'ların tarihçesi, ekolojisi ve dağılımı. Ed: Tümbay E. *Candida* ve infeksiyonları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No 6. İzmir, Bilgehan Basımevi, 1986:1-8.
13. Edwards JE. *Candida* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases (5th ed). Philadelphia, Churchill Livingstone, 2000:2656-2671.
14. İnci R. Mantarların Yapıları, Üreme Özellikleri ve Sınıflanması. Ustaçelebi Ş. (ed.): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi. Güneş Kitabevi, Ankara 1999:1015-1021.
15. Fox CR, Sande MA. *Candida* Türleri (Çev. S. Arıkan). In: Wilson WR, Sande MA (eds). Current Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi. DüNDAR İH (Çev. Ed). Nobel Tıp Kitabevleri, 2004: 734-744.
16. Willke Topçu A, Çerikçioğlu N. *Candida* türleri. Ed: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 2. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:1797-1809.
17. Yücel A. Tıp bakımından önemli *Candida* türlerinin mikolojisi. Ed: Tümbay E. *Candida* ve infeksiyonları. Türk Mikrobiyol Cem Yay. No 6. Bornova, Bilgehan Basımevi, 1986:9-22.
18. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (eds). The yeasts. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology (12th ed.). Missouri, Mosby Elsevier, 2007:696-702.
19. Winn Jr. WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL (eds). The laboratory identification of yeasts. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (6th ed). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2006:1216-1232.

20. Martinez JP, Gil ML, López-Ribot JL, Chaffin WL. Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. Clin Microbiol Rev. 1998; 11(1):121-141.
21. Marcilla A, Valentin E, Sentandreu R. The cell wall structure: developments in diagnosis and treatment of candidiasis. Int Microbiol. 1998; 1:107-116.
22. Nelson RD, Shibata N, Podzorski RP, Herron MJ. *Candida* mannan: chemistry, supression of cell-mediated immunity, and possible mechanisms of action. Clin Microbiol Rev. 1991;4:1-19.
23. Chaffin WL, López-Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martinez JP. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. Microbiol Mol Biol Rev. 1998;62 (1):130-180.
24. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. *Candida albicans*'ta mannan: çeşitli özellikleri ve önemi. Cerrahpaşa J Med. 2004;35:42-45.
25. Calderone RA, Braun PC. Adherence and receptor relationships of *Candida albicans*. Microbiological Reviews. 1991;55:1-20.
26. Masuoka J. Surface glycans of *Candida albicans* and other pathogenic fungi: physiological roles, clinical uses, and experimental challenges. Clin Microbiol Rev. 2004;17:281-310.
27. Warnock DW. Superficial, subcutaneous and systemic mycoses. In: Greenwood D, Slack R, Peutherer J, Barer M(eds). Medical Microbiology (7th ed). Philadelphia, Churchill-Livingstone, 2007:596-620.
28. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM (eds). Candidiasis. Zinsser Microbiology (20th ed). Connecticut, Appleton & Lange, 1992:1136-1144.
29. Büke Ç. Yoğun bakım birimlerinde mantar infeksiyonları epidemiyolojisi ve risk faktörleri. 3. Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları Simpozyum Kitabı, Klimik Dergisi. 2007;20:28-29.

30. Yandımalamadım S: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen infeksiyon etkeni *Candida* türlerinin virulans faktörlerinin (slime üretimi, hemolitik aktivite, proteinaz, fosfolipaz, esteraz, lipaz enzimleri) araştırılması. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul, 2004.
31. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. *Candida*'ların patojenlik belirtgenleri. Cerrahpaşa J Med. 2000;31:172-186.
32. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Mantarlarda dimorfizm. İnfeksiyon Dergisi. 2000;14(4):569-578.
33. Arıkan S. Mantarlarda pleomorfizm. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:77-86.
34. Kuştimur S. Fungal enfeksiyonlarda virülans faktörleri. X.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Program Kitabı; 15-19 Ekim,2001; Adana, Türkiye. 2001:197-199.
35. Ünlü GV. Mannoprotein adhesin of *Candida albicans* germ tubes. Turkish Journal of Medical Sciences. 1998;28:469-474.
36. Cengiz SA, Us E, Cengiz AT. Slime faktörünün Klinikteki yeri ve önemi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2006;13(3):193-197.
37. Özcan SK. Tıbbi gereçlerle ilişkili *Candida* biyofilm ve enfeksiyonları. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2007;27:589-600.
38. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. 2002;15:167-193.
39. Al-Fattani MA, Douglas LJ. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. J Med Microbiol. 2006;55:999-1008.
40. Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices. Clin Microbiol Rev. 2004;17:255-267.

41. Taşova Y. Biyofilm ve yabancı cisim infeksiyonları. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı; 16-20 Kasım, 2005; Antalya, Türkiye. İstanbul: Şan; 2005:11-14.
42. Ramage G, Saville SP, Thomas DP, López-Ribot JL. *Candida* biofilms: an update. Eukaryot Cell. 2005;4(4):633-638.
43. Tumbarello M, Posteraro B, Trecarichi EM, Fiori B, Rossi M, Porta R, et al. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with Candidemia. J Clin Microbiol. 2007;45(6):1843-1850.
44. Al-Fattani MA, Douglas LJ. Penetration of *Candida* biofilms by antifungal agents. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(9):3291-3297.
45. Hawser SP, Douglas LJ. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39(9):2128-2131.
46. Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46(6):1773-1780.
47. Ruchel R. Proteinases secreted by *Candida* species. In: Tümbay E, Seeliger HPR, Anđ Ö (eds). *Candida* and Candidamycosis. Proceedings of the V. FEMS-Symposium on *Candida* and Candidamycosis. April 24-28, 1989, Antalya, Turkey. New York: Plenum Press; 1991:39-42.
48. Yücesoy M, Karaman M, Yuluğ N. Sağlıklı bireylerden ve oral kandidiazisli olgulardan izole edilen *Candida albicans* türlerinde proteinaz aktivitesinin incelenmesi. Mikrobiyoloji Bülteni. 2001;35:443-450.
49. Dostál J, Hamal P, Pavlíčková, Souček M, Ruml T, Pichová I, et al. Simple method for screening *Candida* species isolates for the presence of secreted proteinases: a tool for the prediction of successful inhibitory treatment. J Clin Microbiol. 2003;41(2):712-716.

50. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2003;67(3):400-428.
51. Yang YL. Virulence factors of *Candida* species. *J Microbiol Immunol Infect.* 2003;36:223-228.
52. Ray TL, Payne CD, Comparative production and rapid purification of *Candida* acid proteinase from protein-supplemented cultures. *Infect Immun.* 1990;58 (2):508-514.
53. Kaminishi H, Miyaguchi H, Tamaki T, Suenaga N, Hisamatsu M, Mihashi I, et al. Degradation of humoral host defense by *Candida albicans* proteinase. *Infect Immun.* 1995;63(3):984-988.
54. Uzun M, Kiraz N, Anđ Ö. *Candida albicans* suşlarının proteinaz enzim aktivitelerinin araştırılması. *Klimik Dergisi.* 1996;9(2):94-95.
55. Tavanti A, Pardini G, Campa D, Davini P, Lupetti A, Senesi S. Differential expression of secretory aspartyl proteinase genes (SAP1-10) in oral *Candida albicans* isolates with distinct karyotypes. *J Clin Microbiol.* 2004;42(10):4726-4734.
56. Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13 (1):122-143.
57. Ibrahim AS, Mirbod F, Filler SG, Banno Y, Cole GT, Kitajima Y, et al. Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. *Infect Immun.* 1995;63(5):1993-1998.
58. Rezusta A, Alejandre MC, Gill J, Rubio MC, Salvo MS. Phospholipase activity in *Candida albicans*, *Candida* spp and other yeasts. In: Tümbay E, Seeliger HPR, Anđ Ö (eds). *Candida* and Candidamycosis. Proceedings of the V. FEMS-Symposium on *Candida* and Candidamycosis. April 24-28, 1989, Antalya, Turkey. New York: Plenum Press; 1991:149-153.
59. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. Phospholipases and protease activities in clinical *Candida* isolates with reference to the sources of strains. *Mycoses.* 2002;45:160-165.
60. Yücesoy M, Yuluğ N. *Candida* türlerinde fosfolipaz aktivitesinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi.* 1999;13(4):569-574.

61. Slifkin M. Tween 80 opacity test responses of various *Candida* species. J Clin Microbiol. 2000;38(12):4626-4628.
62. Soydan S. Değişik klinik örneklerden soyutlanan *Kandida* türlerinde virulans faktörlerinden proteinaz, fosfolipaz ve esteraz aktivitelerinin araştırılması. Uzmanlık tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Elazığ, 2005.
63. Tsuboi R, Komatsuzaki H, Ogawa H. Induction of an extracellular esterase from *Candida albicans* and some of its properties. Infect Immun. 1996;64(8):2936-2940.
64. Özcan SK, Budak F, Yücesoy G, Susever S, Willke A. Prevalence, susceptibility profile and proteinase production of yeasts causing vulvovaginitis in Turkish women. APMIS. 2006;114:139-145
65. Uzun Ö. Kandidemi. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 19-21 Haziran, 2001; Ankara, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39, 2001:159-162.
66. Willke A. Kandidemi: Nasıl değerlendirilmeli ne yapılmalı. Enfeksiyon Dergisi. 2007; 21 (Ek):117-122.
67. Kalkan A. Yoğun bakım ünitelerinde mantar etkenleri profilindeki değişim. 3. Ulusal Yoğun Bakım Enfeksiyonları Simpozyumu, Yoğun Bakım Dergisi. 2007;7(1):103-107.
68. Uzun Ö. Yoğun bakım ünitesinde fungal enfeksiyonlara yaklaşım. Yoğun Bakım Dergisi. 2003;3(2):135-144.
69. Ener B. Kandidoz. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:218-220.
70. Arısoy A. İdrar yolu kandidozları: tanı sorunları. Enfeksiyon Dergisi. 2007;21(Ek):123-125.

71. Akalın H. Kandidemilerde risk faktörleri ve risk değerlendirmesi. *Ankem Dergisi*. 2008;22(Ek 2):270-274.
72. Aktaş F. Kandidüri. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 19-21 Haziran, 2001; Ankara, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39, 2001:155-158.
73. Casadevall A. Antibody immunity and invazive fungal infections. *Infect Immun*. 1995;63(11):4211-4218.
74. Shoham S, Levitz SM. The immun response to fungal infections. *Br J Haematol*. 2005;129:569-582.
75. Newman SL, Holly A. *Candida albicans* is phagocytosed, killed and procesed for antigen presentation by human dendritic cells. *Infect Immun*. 2001;69(11):6813-6822.
76. Kasımoğlu Ö. Kandida infeksiyonlarının laboratuvar tanısı. Tümbay E. (ed.) *Candida ve infeksiyonları*. Türk Mikrobiyol Cem Yay. No 6. İzmir, Bilgehan basımevi, 1986:61-64.
77. Ener B. *Candida* infeksiyonlarında epidemiyoloji ve laboratuvar tanı. *Ankem Dergisi*. 2008;22(Ek 2):264-269.
78. Hilmioğlu S. *Candida* infeksiyonlarının laboratuvar tanısı: Klasik tanıda izlenecek yol ne olmalı? *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu*, Tutanaklar; 21-22 Haziran, 2002; Eskişehir, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39:125-131.
79. Arıkan S. Mantar enfeksiyonlarında tanı yöntemleri. Ed: Günalp A, Yılmaz YA, Pınar A. *Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvar eğitim kitabı*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 2003:139-164.
80. Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance, In: Murray PR, Baron EJ, Landry ML, Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed). Washington DC, ASM Press, 2007:1762-1788.

81. Arslan U. Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virülans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. Uzmanlık tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Konya, 2003.
82. Kalkancı A. Mikozyların serolojik tanısında yenilikler. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005:21-32.
83. Ostrosky-Zeichner L. Invasive Yeast Infections. In: Maertens JA, Marr KA (eds). Diagnosis of Fungal Infections. New York, Informa Healthcare, 2007:221-238.
84. Saraçlı MA. Mikozyların moleküler tanısı: Neredeyiz? 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005:33-45.
85. Lewis RE, Fothergill AW. Antifungal Agents. In: Diagnosis and Treatment of Human Mycoses. Totowa, New Jersey, Humana Press, 2008:105-133.
86. Arıkan S, Rex JH. Antifungal Agents. In: Murray PR, Baron EJ, Landry ML, Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology (9th ed). Washington DC, ASM Press, 2007:1949-1960.
87. Yıldırım ŞT. Yeni geliştirilen azoller. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 19-21 Haziran, 2001; Ankara, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39, 2001:141-148.
88. Kalkancı A. Yeni antifungaller ve direnç mekanizmaları. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:272-284.
89. Arıkan S. Yeni antifungaller. 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı; 13-15 Nisan 2006, İstanbul, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 54, 2006:105-112.
90. Kebudi R. Yeni antifungaller. Ankem Dergisi. 2007;21(Ek 2):210-215.

91. Metin DY. Ekinokandinler ve yeni azoller. *İnfeksiyon Dergisi*. 2007;21(Ek):185-187.
92. Aslan T. Yeni antifungaller. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı; 14-18 Mart, 2007; Antalya, Türkiye. İstanbul: Şan; 2007:41-42.
93. Yücesoy M. Antifungallere direnç. 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı; 13-15 Nisan, 2006, İstanbul, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 54, 2006:113-120.
94. Koç N. Ülkemizde antifungal direnç. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:285-300.
95. Yücesoy M. *Candida* türlerinde antifungal direnç mekanizmaları. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005:46-58.
96. Kalkancı A. Yeni antifungaller ve direnç mekanizmaları. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:272-284.
97. Arıkan S. *Candida* infeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar*; 21-22 Haziran, 2002; Eskişehir, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 43, 2002:161-167.
98. Çerikçioğlu N. Antifungal duyarlılık testleri. 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı; 13-15 Nisan, 2006, İstanbul, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 54, 2006:93-104.
99. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved Standard-third edition. CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, 2008.

100. Yücesoy M. Antifungallere duyarlılık ve direnç, duyarlılık testlerinin gerekliliği ve yorumu. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:301-312.
101. Karakoç E. Çeşitli *Candida* türlerinin dört değişik antifungale duyarlılıklarının mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Erzurum, 2007.
102. Eraso E, Moragues MD, Villar-Vidal M, Sahand IH, Gonzalez-Gomez N, Ponton J et al. Evaluation of the new chromogenic medium Candida ID 2 for isolation and identification of *Candida albicans* and other medically important *Candida* species. J Clin Microbiol. 2006;44 (9):3340-3345.
103. Peng CF, Lee KM, Lee SH. Characterization of two chromogenic media of Candida ID2 and CHROMagar Candida for preliminary identification of yeasts. J Biomed Lab Sci. 2007;19(2):63-68.
104. Gökçe RG. Kandidemi olgularından izole edilen *Candida* türlerinin virülans faktörlerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, 2006.
105. Dagdeviren M, Cerikcioğlu N, Karavus M. Acid proteinase, phospholipase and adherence properties of *Candida parapsilosis* strains isolated from clinical specimens of hospitalised patients. Mycoses. 2005;48:321-326.
106. Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. Infect Immun. 1982; 37(1):318-326.
107. Cevahir N, Demir M, Mete E, Kaleli İ. *Candida* suşlarında farklı yöntemlerle slime üretiminin araştırılması. Enfeksiyon Dergisi. 2003;17(1):67-70.
108. Kuzucu Ç, Çizmeci Z, Durmaz B. *Candida* türlerinde biyofilm ve fosfolipaz aktivitesinin saptanması. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2003;60(3):73-76.

109. Bilgin K. Çeşitli *Candida* türlerinin amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazole duyarlılıklarının resazurin mikroplak yöntemiyle incelenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Samsun, 2005.
110. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; third informational supplement. CLSI document M27-S3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, 2008.
111. Malani PN, Bradley SF, Little RS, Kauffman CA. Trends in species causing fungaemia in a tertiary care medical centre over 12 years. *Mycoses*. 2001;44:446-449.
112. Comert F, Kulah C, Aktas E, Eroglu O, Ozlu N. Identification of *Candida* species isolated from patients in intensive care unit and *in vitro* susceptibility to fluconazole for a 3-year period. *Mycoses*. 2006;50:52-57.
113. Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B, Morgan J, Planes AM, Almela M, et al. *In vitro* susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55:194-199.
114. Messer SA, Jones RN, Fritsche TR. International surveillance of *Candida* spp. And *Aspergillus* spp.: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2003). *J Clin Microbiol*. 2006;44(5):1782-1787.
115. Şahin E, Ersöz G, Otağ F, Kandemir Ö, Tiftik N, Kaya A ve ark. Hematolojik maligniteli nötroopenik ateşli hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*. 2006;20(2):121-124.
116. Al-Hedaithy SSA. Spectrum and proteinase production of yeasts causing vaginitis in Saudi Arabian women. *Med Sci Monit*. 2002; 8(7):498-501.
117. Yamamoto T, Nohara K, Uchida K, Yamaguchi H. Purification and characterization of secretory proteinase of *Candida albicans*. *Microbiol Immunol*. 1992;36(6):637-641.

118. Ay G. *Candida* infeksiyonlarına duyarlı hastalardan soyutlanan *Candida* 'ların ve virülans faktörlerinin belirlenmesi, antifungal duyarlılıklarının araştırılması. Doktora tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Edirne, 2004.
119. Fotadar R, Al-Hedaithy SSA. Comparison of phospholipase and proteinase activity in *Candida albicans* and *C.dubliniensis*. *Mycoses*. 2005;48:62-67.
120. Kumar CPG, Kumar SSJ, Menon T. Phospholipase and proteinase activities of clinical isolates of *Candida* from immunocompromised patients. *Mycopathologia*. 2006;161:213-218.
121. Borst A, Fluit AC. High levels of hydrolytic enzymes secreted by *Candida albicans* isolates involved in respiratory infections. *J Med Microbiol*. 2003;52:971-974.
122. Oksuz S, Sahin I, Yildirim M, Gulcan A, Yavuz T, Kaya D, et al. Phospholipase and proteinase activities in different *Candida* species isolated from anatomically distinct sites of healthy adults. *Jpn J Infect Dis*. 2007;60:280-283.
123. Yücel A, Kantarcıoğlu S. *Candida albicans* kökenlerinde bazı virülans faktörlerinin (fosfolipaz, proteaz, çimlenme borusu ve aderens) ve aralarındaki korelasyonun belirlenmesi. *İnfeksiyon Dergisi*. 2001;15(4):517-525.
124. Özkütük A, Ergon MC, Yuluğ N. Maya benzeri mantarlarda ekstraselüler fosfolipaz aktivitesinin yumurta sarılı agar ile saptanması. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 19-21 Haziran, 2001; Ankara, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 39, 2001:P-16.
125. Aktas E, Yigit N, Ayyildiz A. Esterase activity in various *Candida* species. *J Int Med Res*. 2002;30:322-324.
126. Yücesoy M, Marol S. Determination of esterase activity of *Candida* varieties. *Mikrobiyol Bul*. 2003;37(1):59-63.
127. Keçeli S, Budak F. Esteraz aktivitesinin saptanmasında Tween 80 opasite testinin değerlendirilmesi. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 27-30 Mayıs, 2003; Bodrum, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 46, 2003:P-25.

128. Kumar CPG, Menon T, Sundararajan T, Nalini S, Thirunarayan MA, Rajasekaran et al. Esterase activity of *Candida* species isolated from immunocompromised hosts. Rev Iberoam Micol. 2006;23:101-103.
129. Yücesoy M, Karaman M. Oral kandidozlu ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *Candida albicans* suşlarında fosfolipaz ve esteraz aktivitesinin değerlendirilmesi. Enfeksiyon Dergisi. 2003;17(4):483-486.
130. Yücesoy M, Avcı E, Yuluğ N. *Candida* türlerinde “slime” üretiminin saptanmasında alternatif bir yöntem. Mikrobiyoloji Bülteni. 1999;33:187-193.
131. Shin JH, Kee SJ, Shin MG, Kim SH, Shin DH, Lee SK, et al. Biofilm production by *Candida* species recovered from nonneutropenic patients. Comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. J Clin Microbiol. 2002;40(4):1244-1248.
132. Demirbilek M, Timurkaynak F, Can F, Azap Ö, Arslan H. Hastane kaynaklı *Candida* türlerinde biyofilm oluşumu ve antifungal duyarlılık paternleri. Mikrobiyoloji Bülteni. 2007;41:261-269.
133. Ekşi F, Sözen E, Bayram A, Karslıgil T, Balcı İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarında slime üretimi ve hemolitik aktivitenin araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2008;38(1):27-32.
134. Cengiz SA, Us E, Cengiz L, Cengiz AT. Vajinal akıntı kültürlerinden üretilen *Candida* türlerinde slime üretiminin tüp adezyon yöntemi ile gösterilmesi. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005:P-14.
135. Malçok HK, Uyanık MH, Aktaş AE, Ayyıldız A. *Candida* türlerinde slime üretiminin invitro ortamda araştırılması. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı; 3-6 Mayıs, 2005; Konya, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 49, 2005:P-15.
136. Karaca N, Koç AN, Karagöz S. Kan ve vajen örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin slime aktiviteleri. Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi. 2001;31(3-4):224-226.

137. Orhon H, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Tünger Ö, Arısoy AS. Enfeksiyon etkeni olan *Candida albicans* suşlarında slime üretimi natifungal ajanlara duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi. 1998;28(1-4):103-106.
138. Barchiesi F, Caggiano G, Maracci M, Arzeni D, Scalise G, Montagna MT. Antifungal susceptibility patterns of yeasts isolates causing bloodstream isolates. J Antimicrob Chemother. 2003;51:431-433.
139. Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, de Almeida LP, et al. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* species bloodstream isolates from Latin American hospitals. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2003;98(3):401-405.
140. Toprak NÜ, Erdoğan S, Çelik C, Johansson C. Kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* suşlarının amfoterisin B ve flukonazole in vitro duyarlılıkları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2003;33:252-256.
141. Yenişehirli G, Bulut Y, Günday E. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* suşlarında antifungallere duyarlılık. ANKEM Dergisi. 2007;21(3):146-149.
142. Akkurt L. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin amfoterisin B, flukonazol ve posakonazole duyarlılıkları. Uzmanlık tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Samsun, 2004.
143. Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB, Coffman SL, Doern GV, Herwaldt LA et al. Epidemiology of Candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. J Clin Microbiol. 2002;40(4):1298-1302.
144. Cuenca-Estrella M, Rodero L, Garcia-Effron G, Rodriguez-Tudela JL. Antifungal susceptibilities of *Candida* spp. Isolated from blood in Spain and Argentina, 1996-1999. J Antimicrob Chemother. 2002;49:981-987.
145. Zer Y, Balcı İ. Yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole edilen *Candida* suşlarının identifikasyonu ve antifungal duyarlılıkları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2002;32:230-234.

146. Kiraz N, Erturan Z, Uzun M, Durmaz G, Us T, Akgün Y ve ark. Üç yüz *Candida albicans* suşunun amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve mikonazole duyarlılıklarının araştırılması. *Klinik Dergisi*. 1998;11(3):116-118.
147. Skrodeniene E, Dambrauskiene A, Vitkauskiene A. Susceptibility of yeasts to antifungal agents in Kaunas University of medicine hospital. *Medicina (Kaunas)*. 2006;42(4):294-299.
148. Sojakova M, Liptajova D, Borovsky M, Subik J. Fluconazole and itraconazole susceptibility of vaginal yeasts isolated from Slovakia. *Mycopathologia*. 2004;157(2):163-169.
149. Sabatelli F, Patel R, Mann PA, Mendrick CA, Norris CC, Hare R, et al. In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(6):2009-2015.
150. Espinel-Ingroff A, Canton E, Gibbs D, Wang A. Correlation of Neo-Sensitabs tablets diffusion assay results on three different agar media with CLSI broth microdilution M27-A2 and disk diffusion M44-A results for testing susceptibilities of *Candida* spp. And *Cryptococcus neoformans* to amphotericin B, caspofungin, fluconazole, itraconazole and voriconazole. *J Clin Microbiol*. 2007;45(3):858-864.
151. Molbay D, Ener B, Gülen D, Korten V, Özek E, Bozok-Johansson C. Çeşitli *Candida* kökenlerinin amfoterisin B ve flukonazole karşı *in vitro* duyarlılıklarının makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak incelenmesi. *İnfeksiyon Dergisi*. 1997;11(2):149-152.
152. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. Mikrobiyoloji ve klinik mikrobiyoloji anabilim dalı derin mikoz laboratuvarında 01 Nisan 1999-27 Mart 2001 arasında ayrılan maya ve küflerin tür dağılımları ve duyarlılık paterni. *Cerrahpaşa J Med*. 2002;33:7-19.
153. Kaya D, Kaptanoğlu S, Üstüner Z, Ertör O. Nötropenik hasta örneklerinden izole edilen mayaların tiplendirilmesi ve flukonazole karşı direncin araştırılması. *Klinik Dergisi*. 2001;14(1):14-16.
154. Kuştimur S, Kalkancı A, Mansuroğlu H. *Candida* türlerinin flukonazole duyarlılıklarının saptanmasında iki farklı mikrodilüsyon yönteminin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*. 2001;15(3):349-351.

155. Özcan M. İmmünsüprese hastalardan soyutlanan kandida suşlarının tiplendirilmesi ve antifungal ilaçlara karşı duyarlılıklarının E-test yöntemi ile araştırılması. Uzmanlık tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Elazığ, 2005.
156. Swinne D, Watelle M, Van der Flaes M, Nolard N. *In vitro* activities of voriconazole (UK-109,496), fluconazole, itraconazole and amphotericin B against 132 non-*albicans* bloodstream yeasts isolates (CANARI study). *Mycoses*. 2004;47:177-183.
157. Alexander BD, Byrne TC, Smith KL, Hanson KE, Anstrom KJ, Perfect JR et al. Comparative evaluation of Etest and Sensititre Yeast One Panels against the Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *J Clin Microbiol*. 2007;45(3):698-706.
158. Basma R, Barada G, Ojaimi N, Khalaf RA. Susceptibility of *Candida albicans* to common and novel antifungal drugs, and relationship between the mating type locus and resistance, in Lebanese hospital isolates. *Mycoses*. 2008;52:141-148.
159. Johnson E, Espinel-Ingroff A, Szekely A, Hockey H, Troke P. Activity of voriconazole, itraconazole, fluconazole and amfotericin B *in vitro* against 1763 yeasts from 472 patients in the voriconazole phase III clinical studies. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;32:511-514.
160. Keçeli Özcan S, Ağırbaşı H, Çalışkan Ş, Willke A. Hematolojik maligniteli hastalardan izole edilen non-*albicans Candida* ve *Candida* dışı maya türlerinin vorikonazol ve flukonazole *in-vitro* duyarlılıkları. *ANKEM Dergisi*. 2007;21(4):223-227.
161. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ et al. Caspofungin activity against clinical isolates of fluconazole-resistant *Candida*. *J Clin Microbiol*. 2003;41(12):5729-5731.
162. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. *In vitro* susceptibilities of *Candida* spp. To caspofungin: four years of global surveillance. *J Clin Microbiol*. 2006;44(3):760-763.

163. Özgür Akın FE, Mehli M, Bayram A, Ekşi F. In vitro antifungal susceptibilities of *Candida* strains recovered from invasive Candidiasis. XII. International Congress of Mycology, 5-9 August 2008, İstanbul, MP-30.
164. Tabla-Ducasse VO, Masia-Canuto M, Martin-Gonzalez C, Gutierrez-Rodero F. Actividad in vitro de caspofungina frente a aislados clínicos de *Candida* resistentes a fluconazol en pacientes con infección por el HIV. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22(6):328-331.
165. Özçelik B, Kaynak F, Cesur S, Sipahi B, Sultan N. In vitro activities of voriconazole as a triazole derivative and caspofungin as an echinocandin were compared with those of some antifungal agents against *Candida* species isolated from clinical specimens. *Jpn J Infect Dis*. 2007;60:302-304.
166. Yücesoy M, Karaman M. Biofilm production and antifungal susceptibility patterns of *Candida* species. *Mikrobiyol Bul*. 2004;38(1-2):91-98.
167. Ozkan S, Kaynak F, Kalkanci A, Abbasoglu U, Kustimur S. Slime production and proteinase activity of *Candida* species isolated from blood samples and the comparison of these activities with minimum inhibitory concentration values of antifungal agents. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2005;100(3):319-324.
168. Özkütük A, Ergon C, Özdemir S, Yuluğ N. *Candida albicans* suşlarında bazı virülans faktörleri ve flukonazol direnci arasındaki ilişki. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar*; 21-22 Haziran, 2002; Eskişehir, Türkiye. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No. 43, 2002:P-1.