

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL NÖTROPENİK RAT MODELİNDE SİSTEMİK
KANDİDA ENFEKSİYONU ÜZERİNE ANKAFERD BLOOD
STOPPER (ABS) ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. İnci YILMAZ NAKİR
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Funda YETKİN**

MALATYA-2014

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL NÖTROPENİK RAT MODELİNDE SİSTEMİK
KANDİDA ENFEKSİYONU ÜZERİNE ANKAFERD BLOOD
STOPPER(ABS) ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. İnci YILMAZ NAKİR
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Funda YETKİN**

**Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından 2013/101 proje numarası ile desteklenmiştir.Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinasyon Birimine desteğinden dolayı teşekkür ederiz.**

MALATYA–2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve tecrübeleri ile eğitimime katkıda bulunan saygıdeğer hocalarım Prof.Dr. Yaşar BAYINDIR, Prof.Dr. Yasemin ERSOY, Doç Dr. Üner KAYABAŞ, Doç.Dr. Funda YETKİN'e ve asistanlık dönemi boyunca her an yanımda olan sayın Dr. Gülistan Gül IŞIKBER'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tezimin hazırlanmasındaki değerli katkılardan dolayı başta tez danışmanım sayın Doç.Dr. Funda YETKİN olmak üzere Yrd. Doç.Dr. Nurhan ŞAHİN'e, Uzm. Dr. Tuğbanur AKKUŞ'a, Uzm. Dr.Müfide ÇAVDAR'a ve İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nın değerli sağlık personeli çalışanlarına teşekkür ederim.

Başına gelen bütün olumsuzluklara rağmen ısrarla enfeksiyon hastalıkları uzmanı olmaya çalışan kendime, bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan ve türlü fedakârlıklarla maddi-manevi hiçbir desteklerini esirgemeyen canım annem, canım babam ve kardeşim olmak üzere tüm geniş aileme; desteğiyle moral ve motivasyonumu arttıran değerli eşime, zincirin en minik halkası olan yavrucuğuma ve tüm dostlarıma sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar ve ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Febril Nötropeni.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Risk Faktörleri.....	3
2.1.3. Risk Sınıflaması.....	4
2.1.4. Enfeksiyon Kategorileri.....	7
2.1.5. Enfeksiyon Etkenleri.....	7
2.1.6. Fungal Enfeksiyonlar.....	12
2.2.Kandidalar.....	13
2.2.1 Tarihçe.....	13
2.2.2 Mikrobiyolojik Özellikleri.....	14
2.2.3 Virulans Faktörleri ve Patogenez.....	15
2.2.4 Antijenik Yapı.....	18
2.2.5 Epidemiyoloji.....	18
2.2.6 Klinik Önemi ve Etken Olduğu Enfeksiyonlar.....	20
2.2.7.Febril Nötropenik Hastalarda İnvaziv Kandida Enfeksiyonları.....	22
2.2.8.Tedavide Kullanılan Antifungal İlaçlar.....	25
2.3. Ankaferd Blood Stopper	28
2.3.1. Ankaferd İsminin Geleneksel Kökeni.....	28
2.3.2. Tanım ve İçeriği.....	29
2.3.3. Etki Mekanizması.....	31
2.3.4. Antimikrobiyal Etkisi.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
4. BULGULAR.....	37

5. TARTIŞMA.....	43
6. SONUÇ.....	49
7. ÖZET.....	50
8. ABSTARCT.....	52
9. KAYNAKLAR.....	54

TABLÖLAR VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Tablo 1. Febril Nötropenik Hastalarda MASCC Skorlama Sistemi.....	6
Tablo 2. Febril Nötropenide Sık Görülen Bakteriler.....	8
Tablo 3. Ampul ve Tampon Formunda Ankaferd Blood Stopper İçerikleri...	30
Tablo 4. Ankaferd Blood Stopper ‘ın Antimikrobiyal Etkinlik Gösterdiği Mikroorganizmalar.....	33
Tablo 5. Karaciğer Dokusunda Konjesyon.....	37
Tablo 6. Karaciğer Parankiminde Lenfoid İnfiltrat.....	38
Tablo 7. Karaciğer Hepatosit Onarımı (Reparatif değişiklikler).....	38
Tablo 8. Akciğer Dokusunda İntraalveolar Hemoraji.....	39
Tablo 9. Akciğer Dokusunda İntraalveolar Ödem.....	39
Tablo 10. Akciğer Dokusunda Nötrofil Lökosit İnfiltrasyonu.....	40
Tablo 11. Akciğer Dokusunda Konjesyon.....	40
Tablo 12. Akciğer Dokusunda Amfizematöz Genişleme.....	40
Tablo 13. Böbrek Dokusunda Tübüler Dilatasyon.....	41
Tablo 14. Böbrek Dokusunda Proteinöz Tıkaç.....	41
Tablo 15. Böbrek Dokusunda Konjesyon.....	15
 Şekil 1. Ankaferd Blood Stopper’ın etki mekanizması.....	 32

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABS	: Ankaferd Blood Stopper
AIDS	: “Acquired Immune Deficiency Syndrome” (Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu)
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
AFP	: Alfa Feto Protein
AmB	: Amfoterisin B
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CMV	: Cytomegalovirüs
DIC	: Dissemine İntravasküler Koagülasyon
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EORTC	: European Organization for Research and Treatment of Cancer
5-FC	: 5-Flusitozin
FDA	: “Food Drug Administration” (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
FNH	: Febril Nötropenik Hasta
FUO	: Nedeni Açıklanamayan Ateş
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laklamaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
HIV	: “Human Immunodeficiency Virus” (İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü)
HCL	: Hidroklorür
HSV	: Herpes Simplex Virüs
IFN-γ	: İnterferon γ
IL	: İnterlökin
KİT	: Kemik İliği Transplantasyonu
KNS	: Koagülaz-Negatif Stafilokoklar
KT	: Kemoterapi
KOAH	: Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
LPS	: Lipopolisakkarit

LTB	: Lökotrien
MASSC	: Multinational Association for Supportive Care in Cancer
mg/dl	: Miligram/Desilitre
MDA	:Malondialdehit
MİC	:Minimal İnhibitör Konsantrasyon
mL	: Mililitre
mm³	: Milimetreküp
MNS	: Mutlak Nötrofil Sayısı
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRSA	: Metisilline Dirençli <i>Staphylococcus Aureus</i>
NO	: Nitrik Oksit
°C	: Santigrat Derece
RNA	: Ribonükleik Asit
RSV	: Respiratuar Sinsityal Virüs
SAP	: Sekretuvar Aspartik Proteinaz
SARS	: “Severe Acute Respiratory Syndrome” (Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu)
SDA	: Sabouraud Dekstroza Agar
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SVK	: Santral Venöz Kateter
TC	: Türkiye Cumhuriyeti
Th	: T Helper
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör- α
UDA	: Urtica Dioica Aglutinin
USG	: Ultrasonografi
VRE	: Vankomisin Dirençli Enterokok
VZV	: Varicella Zoster Virüs
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda hematolojik maligniteli hastaların tedavisinde daha yüksek dozlarda ve çok ilaçlı kemoterapi protokollerinin kullanımı, destek tedavisindeki gelişmeler ve başarılı kök hücre nakli uygulamaları yaşam süresini uzatmakta; hatta tam kür sağlanabilmektedir. Ancak immüsupresif olarak geçirilen sürenin uzaması ve kemoterapiye bağlı gelişen nötropeni özellikle fırsatçı patojenlerin etken olduğu çok sayıda infeksiyöz komplikasyona neden olarak karşımıza çıkmaktadır ve kanser hastalarında en önemli mortalite ve morbidite nedenidir (1, 2, 3).

Nötropenik hastalarda inflamasyon azaldığından çoğu kez enfeksiyonun tek belirtisi ateş olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalarda ortaya çıkan enfeksiyonlar son derece hızlı ve mortal seyredebileceğinden geniş spektrumlu amprik antibiyoterapiye hemen başlanmalıdır (4).

Candida albicans başta olmak üzere diğer kandidalar immün sistemi baskılanmış bu hasta grubunda fırsatçı enfeksiyonlar yaparak önemli bir morbidite ve mortalite etkeni olmaktadır (5). Yüzeyel enfeksiyonlardan karaciğer, dalak, santral sinir sistemi, akciğer, göz gibi birçok organ ve sistemi tutan yaygın enfeksiyonlara yol açmaktadır.

Günümüzde mevcut antifungal ilaçlar kazanılmış direnç, yan etkiler, ya da etki gücü açısından ihtiyacı tam olarak karşılayamamaktadır. Bu sorunları çözmeye yönelik antifungal etkili yeni bileşikler bulmak ihtiyacı ortaya çıkmaktadır (6).

Ankaferd Blood Stopper geleneksel Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılan Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı'ndan ruhsatlı bir bitki ekstraktı olup; dış operasyonları, vücut dışı yaralanmalar, travmatik kesikler, kendiliğinden ya da cerrahi işlemler sonrası oluşan kanamaların durdurulmasında kullanılan ilk Türk

ürünüdür (7, 8, 9). Hemostatik açıdan yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların yanında içerdiği bileşikler sayesinde çok sayıda patojen için antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkinliği bulunduğu tespit edilmiştir (10).

Potansiyel antifungal özelliğinin ileri çalışmalar ile araştırılması yararlı olabileceğinden bu çalışmamızda Ankaferd'in nötroopenik ratlarda *C.albicans* ile oluşturulan sistemik kandida enfeksiyonu modelinde karaciğer, akciğer ve böbrek dokusu üzerindeki patolojik düzeydeki etkilerini araştırdık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Febril Nötropeni

2.1.1 Tanım

Ateş:

Oral yolla ölçülen ateşin tek ölçüm $\geq 38,3^{\circ}\text{C}$ olması veya en az bir saatten fazla ateşin 38°C üzerinde seyretmesi olarak tanımlanmıştır (11).

Nötropeni:

Nötropeni; mutlak nötrofil sayısının (MNS) $500/\text{mm}^3$ 'ün altında olması veya nötrofil sayısının 48 saat içinde $500/\text{mm}^3$ 'ün altına düşmesinin beklendiği durumlar olarak tanımlanmıştır (11).

Mutlak nötrofil sayısının (MNS) $100/\text{mm}^3$ 'ün altında olması ise derin nötropeni olarak tanımlanmaktadır (11).

Nötrofil sayısı normal olan ancak nötrofillerde bozulmuş fagositoz veya patojenin öldürülmesiyle ilgili kalitatif defektlere yol açan hematolojik maligniteli hastalarda fonksiyonel nötropeni terimi kullanılmaktadır. Bu hasta grubunda da enfeksiyon riski artmış olarak değerlendirilmelidir (11).

2.1.2.Risk Faktörleri

Enfeksiyon, kanseri olan ve kemoterapi (KT) alan hastalarda önde gelen morbidite ve mortalite nedeni olup hastadan hastaya farklı klinik seyirler göstermektedir. Enfeksiyon oluşumunda en önemli risk faktörü nötropeni olup derin

nötropeni (nötrofil düzeyi $<100/\text{mm}^3$), nötrofil düzeyinin hızlı düşüşü, nötropeni süresinin 10 günden uzun olması enfeksiyon gelişme olasılığını belirgin arttıran faktörler olarak saptanmıştır (12, 13, 14, 15).

Kemoterapi uygulamalarının önemli komplikasyonlarından biri olan mukozit, enfeksiyon gelişiminde rol oynayan en önemli risk faktörlerindendir. Ağız başta olmak üzere tüm gastrointestinal sistemde oluşabilen mukozit sonrası *Pseudomonas aeruginosa* başta olmak üzere enterik florada bulunan birçok mikroorganizma translokasyon yolu ile kana karışarak kan dolaşımı enfeksiyonlarına ve sepsise neden olurlar. Bulantı, kusma ve epigastrik yakınmaların yoğun olarak görüldüğü bu hasta grubunda sık kullanılan antiasit, H2 reseptör blokerleri ve proton pompa inhibitörleri midenin doğal asit bariyerini ortadan kaldırarak bağırsaklarda hastane ortamından alınan dirençli mikroorganizmaların kolonizasyonuna zemin hazırlar (16, 17).

Tanısal amaçlı yapılan girişimler, KT uygulamaları ve beslenme desteği amacıyla santral venöz kateter (SVK) uygulaması da kan dolaşımı enfeksiyonu gelişim riskini artıran önemli faktörler arasındadır (18). Ayrıca birçok antineoplastik ajan fagositik fonksiyonları bozarak ve doğrudan sitotoksik etki ile hücrel ve humoral immüniteyi deprese ederek enfeksiyonlara yatkınlığı artırmaktadır (17, 19).

2.1.3 Risk Grubu Sınıflaması

Febril nötropenik hastalar heterojen bir popülasyona sahip olup bunların bir kısmı febril nötropeniye bağlı ciddi komplikasyonlar ve ölüm riski taşımaktadır. Bu nedenle risk tahmini yapılan modeller geliştirilmiş olup son yıllarda özellikle prognozun önceden tahmin edilmesi ve buna bağlı olarak hastanede yatış gereksinimi, seçilecek antibiyotikler ve veriliş yolu açısından farklı yaklaşımlara olanak verecek çalışmalara yönelinmiştir. Bu amaçla geliştirilen kılavuzlar febril nötropenik hastaları düşük ve yüksek riskli hasta gruplarına ayırmaktadır (20, 21).

Yüksek riskli grup:

Febril nötropenik hastalarda risk değerlendirmesine dayalı klinik çalışmaların verilerine bağlı olarak aşağıdaki kriterlerden herhangi birine sahip olan hastaların ateş

ve nötropeni sırasında ciddi komplikasyonların gelişimi açısından yüksek riskli oldukları kabul edilmektedir (11).

- ♦ Beklenen nötropeni süresinin ≥ 7 gün olması ve nötrofil sayısının $<100/\text{mm}^3$ olması
- ♦ Bunlarla sınırlı olmamakla birlikte aşağıda belirtilen komorbid problemlerin varlığı
 - Hemodinamik instabilite
 - Yutmaya engel olan oral ya da gastrointestinal mukozit veya şiddetli diyare
 - Karın ağrısı, bulantı kusma gibi gastrointestinal semptomlar
 - Yeni başlayan nörolojik veya mental durum değişikliği
 - İntravasküler kateter enfeksiyonu, özellikle de kateter tünel enfeksiyonu
 - Yeni pulmoner infiltrasyon, hipoksemi, ya da altta yatan kronik akciğer hastalığı
- ♦ Karaciğer yetmezliği (aminotransferaz $\square 5 \times \text{normal}$) veya böbrek yetmezliği (kreatin klirensinin $< 30 \text{ ml/ dk}$)
- ♦ Akut myeloid lösemi indüksiyon kemoterapisi

Düşük riskli grup:

Düşük risk özellikleri genellikle solid tümörlü hastalarda bulunmakla birlikte bunlarla sınırlı kalmamaktadır. Düşük risk ölçütlerinin tam olarak karşılanmadığı hastalar yüksek riskli hastalara ilişkin kılavuza göre tedavi edilmelidir (11).

- ♦ Beklenen nötropeniden çıkış süresinin < 7 gün olması
- ♦ Karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının normal olması
- ♦ Eşlik eden başka hastalığının olmaması

Kesin ve sayısal ölçütler içermeyen bu risk sınıflaması çalışmalarına ek olarak düşük veya yüksek komplikasyon ve ölüm riskine sahip olan febril nötropenik hastalarının alt gruplarını tanımlayabilen skorlama sistemleri geliştirilmiştir (21, 22). Bunlar içerisinde günümüzde en yaygın kullanılanı Belçika’da Dr. Klastersky ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği ve çok merkezli bir çalışmanın sonuçlarına göre oluşturulan uluslararası kanser destek bakım derneği “Multinational Association for Supportive Care in Cancer” (MASCC) tarafından geliştirilerek, hastaları düşük-yüksek riskli olarak ayırt etmeye yarayan skorlama yöntemi ve risk değerlendirme sınıflamasıdır (21, 23, 24, 25). Bu sistemde en yüksek skor 26’dır. Tablo 1’de gösterilen bu skorlama sistemine göre risk skoru ≥ 21 olan hastalar düşük riskli olarak değerlendirilmiştir (21, 26). MASCC skoru, nötrofil sayısı $500/\text{mm}^3$ ’ün altında olmak koşulu ile nötropeni derinliği ve süresinden bağımsızdır (26). Bu tür sınıflamalardan beklenen en önemli yarar hastaların hastaneye yatırılmadan ayaktan tedavi edilebilmesi veya hastaneden erken taburcu edilebilmesidir (27).

Tablo 1 : Febril Nötropenik Hastalarda MASCC Skorlama Sistemi *

ÖZELLİK	PUAN
Febril nötropeniye bağlı semptomların yaygınlığı**	
- Asemptomatik veya hafif semptomlar	5
- Orta derecede semptom	3
- Ağır derecede semptom veya ölümcül	0
Hipotansiyon olmaması (sistolik kan basıncı $<90\text{mmHg}$)	5
KOAH olmaması	4
Solid tümörlü olması veya hematolojik kanseri olup, önceden fungal infeksiyon geçirmemiş olması	4
İntravenöz sıvı gerektiren dehidratasyon olmaması	3
Ateş başlangıcında hastane dışında olma	3
Yaş < 60 ***	2

*Maksimum puan 26’dır. 21 puan komorbidite ve komplikasyonlar açısından düşük riski belirler.

**Sadece birini seçiniz

***16 yaş ve altı için geçerli değildir.

2.1.4 Febril Nötropenili Hastada Ateş Etiyolojisi

Febril nötropenik hastalarda inflamasyon belirtileri ve semptomları çoğunlukla silik seyretmekte veya hiç bulunmamakta olup ateş genellikle enfeksiyonun tek belirtisidir (11). Bu hastalarda en önemli mortalite nedeni enfeksiyonlar olduğundan ateşi olan hastaların nötropenik olduğu dönem boyunca tanı ve tedavisi için hızlı ve en uygun yaklaşım uygulanmalıdır. Genellikle hastaların ancak üçte birinde enfeksiyon etkeni saptanabilmekte olup en yaygın kaynak gastrointestinal sistem, akciğer ve deridir.

Nötropenik hastaların yönetiminde başlangıç ve izlem sırasındaki febril atakları genellikle üç başlık altında değerlendirilir (26, 28).

1-Nedeni açıklanamayan ateş (FUO): Mikrobiyolojik, klinik ve laboratuvar olarak gösterilebilmiş enfeksiyon bulgusu olmayan, izole ateş olarak tanımlanır.

2-Mikrobiyolojik olarak tanımlanmış enfeksiyon: Kan kültürü pozitif, ancak klinik odak tanımlanamayan veya kan kültürü pozitif/negatif olan, ancak klinik odakta mikrobiyolojik olarak etkenin belirlendiği enfeksiyonlardır

3-Klinik olarak tanımlanmış enfeksiyon: Klinik olarak belirlenmiş, ancak mikrobiyolojik olarak herhangi bir patojenin gösterilemediği enfeksiyonlardır (pnömoni, sinüzit, perianal enfeksiyon v.s.).

2.1.5 Enfeksiyon Etkenleri

Enfeksiyonlar nötropeninin önemli bir komplikasyonu olup yüksek morbidite ve mortalite ile seyretmektedir (29). Nötropenik konakta hastalık etkeni olabilen sayısız patojen bulunmakla birlikte bunlar için en önemli kaynağı (>%80) hastaların kendi endojen floralarıdır (30, 31, 32, 33) .

Nötropenik hastalardaki ölümcül enfeksiyonların yarısından fazlasında sorumlu olan etken bakterilerdir (34, 35). Tüm dünyada yıllar içerisinde febril nötropenik hastalardaki enfeksiyon etkeni bakterilerin spektrumunda önemli değişiklikler olmuştur (27, 29, 36, 37). Bin dokuz yüz yetmişli yıllarda çoğu merkezde etkenlerin büyük çoğunluğunu *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* ve *Klebsiella* spp. gibi gram negatif bakteriler oluşturmakta iken 1980'li yılların ortalarından itibaren gram pozitif bakterilere bağlı enfeksiyon sıklığında artış saptanmıştır (26, 35, 38, 39).

Bin dokuz yüz doksanlı yıllarda, EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) ve değişik merkezlerce yapılan çalışma sonuçlarına göre febril nötropenik hastaların baskın etkeni olan gram negatif bakteri enfeksiyonlarında azalma saptanmış ve gram pozitiflerin sıklığı %50-70 oranlarına ulaşmıştır (29, 40). Günümüzde yapılan son çalışmalar gram negatif bakteri enfeksiyonlarında yeniden artan bir eğilimi göstermektedir (41, 42, 43).

Tablo 2: Febril Nötropenide Sık Görülen Bakteriler

Gram-pozitif	Gram-negatif	Anaerobik
<i>Koagulaz-negatif staphylococcus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus viridans</i> <i>Enterococcus spp.</i> <i>Corynebacterium (JK)</i> <i>Streptococci</i> <i>Bacillus</i> <i>Listeria</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacter spp.</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Haemophilus influenza</i> <i>Citrobacter spp.</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>Neisseria spp.</i> <i>Legionella spp.</i> <i>Moraxella spp.</i>	<i>Bacteroides spp.</i> <i>Clostridium spp.</i> <i>Fusobacterium spp.</i> <i>Propionibacterium spp.</i> <i>Peptococcus spp.</i>

Sitozin arabinozid gibi güçlü kemoterapötik ilaçların kullanılması sonucu gelişen şiddetli oral mukozit, derin ve uzun süreli nötropeni, uzun süre kalıcı damar içi kateter uygulamasındaki artış, florokinolon ve kotrimoksazol profilaksisi, antiasit ve H2 reseptör blokerlerinin kullanılması gibi faktörlerin febril nötropenili hastaların gram pozitif bakteri enfeksiyonlarındaki artışta etkili olduğu tespit edilmiştir (27, 38, 40, 44)

Yaygın olarak görülen gram-pozitif mikroorganizmalar Koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS), *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, viridans streptokoklar, diğer streptokoklar (*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*), iken *Corynebacterium jeikeium*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium acnes* ve *Rhodococcus species* ise daha az sıklıkla görülmektedir (45, 46).

Yapılan meta-analizler kinolon profilaksisinin nötropenik ve kanserli hastalarda gram negatif bakterilere bağlı bakteriyemileri azalttığını, ancak gram pozitif bakterilere

bağlı bakteriyemileri önleyemediğini ortaya koymuştur (38). Artan kateter uygulamaları KNS ilişkili bakteriyemilerde artışa neden olmuştur (25, 36). Son zamanlarda viridans streptokokların sıklığı ve antimikrobiyallere direnç oranlarındaki artış dikkati çekmektedir (38, 47). Sitozin arabinozid ile tedavi edilen ve ciddi mukoziti olan hastalarda alfa-hemolitik streptokoklara bağlı bakteriyemi ve bazen bu tabloya eşlik eden akut solunum sıkıntısı sendromu gözlenebilir (26).

Febril nütropenik hastalarda gram-negatif mikroorganizma enfeksiyonları için; 45 yaş üstü olmak, yakın zamanda beta-laktam antibiyotik kullanımı, bağırsak dekontaminasyonu yapılmaması, üriner semptomların varlığı risk faktörleri olarak bildirilmektedir. *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *Klebsiella* spp. oran olarak azalmalarına rağmen halen en sık rastlanan etkenler olarak saptanmaktadır (26). Gram-negatif organizmalar febril nütropenili hastalarda respiratuvar, safra, üriner ve deri enfeksiyonları gibi kan dolaşımı dışındaki enfeksiyonların çoğunda da etken olmaya devam etmektedir (27).

Bu bakterilerde giderek artan direnç oranları özellikle dikkati çekmektedir. Genişlemiş spektrumlu beta laklamaz (GSBL) yapan *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının yanında karbapenemlerin yoğun kullanımına bağlı karbapenemaz üreten *Klebsiella* spp., karbapenem dirençli *P. aeruginosa* izolatlarının sıklığında da önemli oranda artış gözlenmektedir (48). Ayrıca GSBL üreten bakterilerde çoklu ilaç direnci de görülebilmekte olup *P. aeruginosa* değişen direnç mekanizmalarıyla beta-laktam, aminoglikozit ve kinolonlara karşı direnç geliştirebilmekte; hatta panrezistan kökenlerle karşılaşmaktadır (46, 48). Ülkemizde çok merkezli gram-negatif süveyans çalışması olan HİTİT-2'nin sonuçlarına göre de sırasıyla *E. coli* ve *K. pneumoniae* en sık saptanan patojenler olup, *E. coli* suşlarındaki yüksek GSBL pozitiflik oranı ve artan kinolon direnci dikkati çeken önemli bulgular olarak saptanmıştır (49). *Acinetobacter baumannii* ve *Serratia marcescens* hematoloji onkoloji ünitelerinde enfeksiyonlara neden olan çoklu antibiyotik direnci gösteren diğer önemli bakteriler arasında yer almaktadır (46,48).

Son yıllarda gram-pozitif bakterilerde de antimikrobiyal dirençte dikkate değer bir artış bildirilmiştir (50, 51, 52, 53). Metisiline dirençli stafilokoklar, penisiline dirençli streptokoklar, glikopeptidlere dirençli enterokoklar, bazı stafilokoklarda glikopeptitler için minimal inhibitör konsantrasyon (MİC) değerinin yükselmesi,

intrensek dirence sahip *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Burkholderia cepacia*, bu direnç paternindeki değişimin örneklerindendir (51, 52, 53).

Vankomisine dirençli enterokokların (VRE), hem kolonizasyonunda hem de enfeksiyon etkeni olarak sıklığında önemli artışlar olmuştur. Vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonu için daha önce uzun süreli seftazidim, vankomisin, metronidazol gibi antibiyotiklerin kullanımı, uzun süre hastanede yatış, konağın bağışıklık sisteminde sorunların varlığı, KT, kemik iliği transplantasyonu (KİT), nötropeni risk faktörleri olarak tespit edilmiş olup bu durumlar hematoloji-onkoloji birimlerinin VRE için önemli bir kaynak olabileceğine işaret etmektedir (46, 54) .

Gram negatif bakterilerin virulansının gram pozitif bakterilerden daha yüksek olması mortalitenin de bu grup olgularda yüksek olmasına neden olur (55).

Epidemiyolojideki değişimin yanı sıra son yıllarda etken mikroorganizma çeşitliliğinde de artış olmuştur. Daha önceleri patojen olmadığı düşünülen *Corynebacterium spp.*, *Clostridium tertium* gibi patojenlerin bu hasta grubunda ciddi enfeksiyonlara neden olduğu gösterilmiştir (56).

Corynebacterium jeikeium; nötropenik hastalarda özellikle kombine antibiyotik tedavisi kullananlarda aksilla, deri ve rektumda kolonize olan bakterilerden biridir. Sepsis, endokardit, deri lezyonları, nodüller akciğer infiltratları ve kateter ilişkili bakteriyemilere neden olabilmektedir. Çoklu ilaç direnci göstermektedir. *Corynebacterium urealyticum*'un nötropenik hastalarda skrotumda nekrotik yumuşak doku enfeksiyonuna neden olduğu bildirilmiştir (57).

Leuconostoc spp., *Rhodococcus equi*, *Stomatococcus mucilaginosus*, *Lactobacillus rhamnosus.*, *Bacillus spp* yeni dönemde önem kazanan patojenler arasında yer almaktadır (38, 56) .

Son yıllarda *S. maltophilia* görülme sıklığı artmış bir bakteri olup; yoğun bakımda yatış, nötropeni, trakeostomi, SVK varlığı, profilaktik kinolon kullanımı, aminoglikozit, sefalosporin ve karbapenem ile tedavi belirlenmiş risk faktörlerini oluşturmaktadır (58, 59). Nozokomiyal pnömoni, kan dolaşımı enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve diğer enfeksiyonlara neden olabilmekte; karbapenemler dahil günümüzde kullanılmakta olan birçok antibiyotiğe direnç gösterebildiğinden, tedavisi oldukça güç sağlanmaktadır (60). Ciddi enfeksiyonlarda tikarsilin klavulanik asit ve kotrimoksazol veya minosiklin kombinasyonu önerilmektedir (61) .

Anaerobik bakteri enfeksiyonlarına nütropenik konakçıda daha nadir rastlanmaktadır. Ağız ve sindirim sisteminin normal florasında yer almaları nedeniyle polimikrobiyal enfeksiyonlarda (nekrotizan gingivit, perianal selülit, tiflitis gibi) karşımıza çıkabilmektedir (55, 62). Etkenlerin en önemlileri *Bacteroides fragilis* ve diğer bakteroideslerdir. Büyük çoğunluğunun beta-laktamaz sentezlediği göz önünde bulundurulmalıdır. Özellikle KT alan ve antibiyotik kullanan hastalarda *Clostridium difficile*'ye bağlı diyare ve pseudomembranöz enterokolit gelişebilir (46). *Clostridium septicum* toksine sahip olup aneorop sepsis ve metastatik miyonekroza yol açmakta ayrıca nütropenik hastalarda tiflitis'e en sık neden olan aneorop bakteri olarak bilinmektedir (38, 63).

T hücre baskılayıcı kemoterapötik ajanların son yıllardaki kullanımına bağlı olarak mikobakteriyel enfeksiyonlarda da artış gözlenmektedir. Bu nedenle febril nütropenik hastalarda mikobakteri enfeksiyonları da dikkate alınmalı ve *Mycobacterium tuberculosis*'de artan direnç, özellikle çoklu ilaç direnci hatırd tutulmalıdır.(64) Atipik mikobakterilerden *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium avium-intracellulare* ile de enfeksiyonlar gelişebilmektedir. Ayrıca ülkemiz gibi brusellozun endemik olduğu yerlerde, ampirik tedaviye cevap alınamayan durumlarda bruselloz ayırıcı tanıda düşünölmelidir (65).

Virüsler, bakteri ve mantarlar kadar ön planda olmasa da uzamış nütropeni durumunda düşünölmesi gereken etkenlerdir. Febril nütropenik hastalarda en sık görölen viral etkenler HSV (Herpes Simplex Virüs), VZV (Varicella Zoster Virüs) ve CMV (Cytomegalovirüs)'dir. Herpes Simplex Virüs ve VZV genellikle KT veya kortikosteroid tedavisi sonrasında latent enfeksiyonun aktivasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Herpes simplex virüse bağılı orofarengeal ve gastrointestinal lezyonlar makroskopik olarak kandida enfeksiyonuna çok benzer ve ancak histopatoloji ve kültür ile ayırt edilebilir (55). Cytomegalovirüs ile gelişen enfeksiyonlar kök hücre nakli yapılmış hastalarda daha sık görölürken, hematolojik maligniteli hastalarda hücresel immünite daha az değışmiş olduğundan daha nadir görölmektedir (64, 66). Solunum sistemini etkileyen virüsler diffüz pulmoner enfeksiyonlara neden olabilmekte olup influenza, parainfluenza ve Respiratuar Sinsityal Virüs (RSV) öne çıkan virüslerdir. Ayrıca adenovirüsler de hem izole pulmoner enfeksiyonlara hem de dissemine enfeksiyonlara yol açmaktadır (67).

Bağırsak florasının bozulması ve mukozitler nedeniyle paraziter enfeksiyonların gelişmesi kolaylaşacağından febril nötropenili hastalarda parazitler daima göz önünde tutulmalıdır. *Toxoplasma gondii*'nin reaktivasyonuna bağlı beyin apseleri, *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* ve *Strongyloides stercoralis*'e bağlı ishaller görülebilir (55).

2.1.6.Fungal Enfeksiyonlar

Mantarlar artan insidansları, değişen direnç paternleri, türlerin çeşitliliği ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olduğu ciddi enfeksiyonlara yol açmaları nedeniyle febril nötropenik hastalarda önem arz etmekte olan mikroorganizmalardır. Febril nötropenik hastalarda morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerindendir ve son 20 yılda giderek artan oranlarda görülmektedir. İlk ateş etkeni olarak daha nadiren tanımlanırken çoğunlukla uzamış nötropeni süresi ve ampirik antibiyoterapinin ilk haftasından sonra etken olarak karşımıza çıkmaktadırlar (17, 68, 69).

Aspergillus ve *Candida* febril nötropenik hastalarda en sık rastlanılan fungal etkenler olup bu hastalarda yüzeysel ve derin fırsatçı mantar enfeksiyonlarına sıklıkla yol açmaktadırlar. Yüksek riskli hastalarda invaziv mantar enfeksiyonlarının gelişme riski %15-25'tir. Ayrıca hematolojik maligniteli olguların yapılan otopsilerinde bu hasta grubunda yaklaşık %50 oranında invaziv mantar enfeksiyonu olduğu saptanmıştır (70).

Aspergillus fumigatus ve *Aspergillus flavus* nötropenik hastalarda en sık izole edilen aspergillus türleridir. Sıklıkla solunum yoluyla alınan bu mantarlar sinüzit, pnömoni ve santral sinir sistemi enfeksiyonlarına yol açabilir. İnvazif pulmoner aspergilloz, en korkulan ve mortalitesi en yüksek olan şeklidir (71, 72).

Zygomycetes sınıfında bulunan mantarlar (*Rhizopus* spp. *Mucor* spp.) *C. neoformans* ve son yıllarda mantar olarak tanımlanan *Pneumocystis jiroveci* daha seyrek olarak fırsatçı mikozlara yol açar. Steroid, fludarabin, sitozin arabinozid, metotreksat, bleomisin ve L-asparaginaz gibi hücrel immunitiyi baskılayan ilaçların kullanımı *P. jiroveci* için önemli bir etkidir (17).

Mukormikoz; sinüs, beyin veya akciğerleri tutabilen vasküler invazyon ve doku nekrozu ile karakterize akut ya da subakut seyirli fungal enfeksiyondur. Mukormikoz olgularının yaklaşık %60; rinoserebral olguların ise %90'ından *Rhizopus arrhizus*

(*Rhizopus oryzae*) sorumlu olup azalan oranda *Rhizomucor*, *Cunninghamella*, *Apophysomyces*, *Saksenaea*, *Absidia*, *Mucor*, *Syncephalastrum*, *Cokeromyces* ve *Mortierella* etken olarak saptanmaktadır (73, 74).

Daha nadir görülen diğer mantarlar *Trichosporon beigeli*, *Blastoschizomyces capitatis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula*, *Malassezia furfur*, *Pseudoallescheria*, *Fusarium* ve *Alternaria*'dır. *Fusarium* sp. vezikülleşebilen ağırlı nekrotik deri nodülleri ve yaygın enfeksiyon tablosuyla seyreden ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir (75).

2.2.Kandidalar

2.2.1 Tarihçe

Kandidalarla ilgili ilk bilgiler *Hippocrates*' e kadar uzanmakta olup ilk olarak *Galen* ve *Peppy* (1665) pamukçuğu göstermiş, *Langenbeck* (1839) afttan bir mantar bulmuş ancak bunu tıfonun etkeni olarak bildirmiştir. Berkhout tarafından 1923 yılında *Monilia* adından ayrı bir cins olarak tanımlandıysa da *candida* ismi 1954' teki 8. Botanik Kongresi'nde kabul görmüştür (76, 77, 78, 79).

Kandidalar *Mycetae* âleminin *Amastigomycota* bölümüne, *Deuteromycota* (Imperfect mantarlar) sınıfı *Blastomycetes* alt sınıfının *Cryptococcales* takımında *Cryptococcaceae* ailesinde sınıflandırılmaktadırlar. Blastosporlarla çoğalan, yalancı miçel yapan, gerçek miçel yapımları istisna olan ve eşeyli şekilleri *Hemiascomycetes* sınıfında bulunan bir grup anamorf mayadır (80, 81, 82).

Candida cinsi yaklaşık 200 tür içermekte olup bu türlerin 20' sinin insan ve hayvanlarda enfeksiyonlara yol açtığı gösterilmiştir (83, 84). *Candida albicans* en sık soyutlanan tür olmakla birlikte *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii* sıklıkla; *C. famata*, *C. utilis*, *C. inconspicua*, *C. lipolytica*, *C. rugosa*, *C. viswanathi*, *C. haemulonii*, *C. norvegensis*, *C. catenulata*, *C. intermedia*, *C. lambica* ve *C. zeylanoides* ise nadiren saptanan *candida* türleridir (85). Bunların içinde *C. albicans* en önemli mantar patojeni olarak yer alır ve yaygın mukozal ve sistemik mantar enfeksiyonlarına neden olur (86). Klinik örneklerden en sık izole edilen maya türü *C. albicans* olmakla birlikte son zamanlarda

albicans dışı *candida* kaynaklı enfeksiyonların prevalansında artış olduğu görülmektedir (87, 88).

2.2.2 Mikrobiyolojik Özellikleri

Kandidalar, doğada tek hücreli şekilde bulunan, oval veya yuvarlak, ince duvarlı, kapsülsüz, hareketsiz, 4-6 µm çapında, multilateral tomurcuklanma (blastospor) ile aseksüel olarak üreyen fakültatif anaerop mayalardır (89).

Maya formu dışında kültür ve dokularda pseudohif veya gerçek hif oluşturabilirler. Pseudohifler, tomurcuklanma sırasında meydana gelen uzantının ana hücreden ayrılmaması sonucu gelişir. Gerçek hifler ise apikal uzantı tarzında, septalı ve düzgün kenarlıdır. Hif ve pseudohif maya formuna dönebilir ve her üç şekil kültür ve dokularda görülebilir (90). Kandida türleri arasında *C.albicans* ile daha nadir izole edilen *C. dubliniensis* ve *C. norvegensis* gerçek hif oluşturma özelliğine sahiptir (91).

Gram boyama ile tüm kandida türleri gram pozitif boyanırlar (92). Maya elemanlarının klinik örnekler içinde aranmasında “Potassium Hydroxide- Calcofluor White Fluorescent” boyası kullanılır. Bu boya mayaların hücre duvarındaki kitin ve selüloza nonspesifik bağlanarak yeşilden maviye değişen renklerde floresan verir (82, 92, 93).

Sabouraud dekstroza agar (SDA) gibi rutin besi yerlerinde oda sıcaklığında veya 37°C’de 24 saat içinde 2 -3 mm çapında genellikle kirli beyaz veya krem renginde, nemli, düzgün veya buruşuk kenarlı, düzgün yüzeyli veya göbekli; mat ya da parlak, maya kokulu yumuşak koloniler oluşturur (94, 95). Besi yerlerindeki blastokonidyumların özellikleri ve blastokonidyumların yalancı hif boyunca dizilimlerine göre farklılıklar gösteren kandida türlerinin kesin ayrımı ise daha sonra yapılan şeker fermentasyonu ve biyokimyasal deneylere bağlı olarak tanımlanır (96).

Mikroaerofilik hatta anaerobik koşullarda gelişebildiği gibi aerob koşullarda da gelişebilir. Bütün türler glikozu fermente eder. Tüm patojen türler 37°C’de iyi üremekle birlikte, bu ısı özellikle *C. albicans* ve *C. tropicalis* için optimaldir. İlk izolasyonun %10 CO₂’li ortamda yapılması önerilir. Çoğalma hızları ortama göre değişmekte olup *C. albicans* ve *C. tropicalis* için bir saatten daha kısa bir süredir (97, 98, 99, 100).

Kandida hücreleri; hücre duvarı, sitoplazmik membran, sitoplazma, , endoplazmik retikulum, golgi cisimciği, mitokondri, 80S ribozom ve membran ile çevrili nukleustan oluşur (88).

Hücre duvarı kandida türlerinin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Hücre duvarı yapısında bulunan çeşitli moleküllerin hücre içi ve dışı arasındaki transportta, maya formundan hif formuna geçişte, adezyonda ve immunomodulator etkide rol oynadığı tespit edilmiştir (101, 102, 103, 104). Ayrıca hücre duvarındaki bazı maddeler antifungal ajanlar için hedef teşkil etmektedir (104).

2.2.3. Patogenite ve Virulans Faktörleri

Kandidalar ile konak arasındaki etkileşimler oldukça karmaşık olup sahip oldukları bazı özellikler ile konağın savunma sistemini yenerek hastalık oluşumuna neden olurlar. Kandidalara ait virulans faktörleri; adezyon, biyofilm yapımı, enzimler (proteinazlar, fosfolipazlar ve lipazlar), toksinler, morfolojik değişim, fenotipik değişim, hücre yüzey hidrofobisitesi ve çeşitli sideroforları kullanma yeteneği olarak ele alınabilir (81, 105).

2.2.3.1. Adherens (Yapışma):

Adezyon, hücrelerin yüzey özellikleri ile ilişkili olup mukokutanöz kandidozun bu yapışma ile başladığı ve bu yapışmanın kandidaların kolonizasyonunda ilk aşamayı oluşturduğu saptanmıştır. *C. albicans*'ın önemli özelliklerinin başında da mukoza yüzeylerine yapışmayı sağlayan bu adezyon yeteneği gelmektedir (106).

Kandidaların hücre yüzeyi antijenlerin kaynağı olması nedeniyle immünolojik konak yanıtının düzenlenmesi ve adezyonda kritik rol oynar. Kandidaların adezinleri genel olarak integrin analogları, fibronektin reseptörü, adeziv mannoproteinler (hücre duvarının en dışında mannoproteinlerden oluşan radyal uzantılı fibriller), N-asetilglukozamin ve sialik asit gibi bağlayıcı yapılardır. Bu yapılara ek olarak konakta bulunan serum proteinleri (serum albumin, fibrinojen, komplemanın C3 kısmı) ve hücre dışı matriks proteinleri de (laminin, fibronektin, kollajen, entaktin ve vitronektin) kandidalar tarafından tanınmaktadır (107).

2.2.3.2 “Slime” Faktör ve Biyofilm Oluşturma

“Slime”, hücre dışı, visköz bir madde olup, mikroorganizmanın plastik yüzeylere yapışmasına ve prostetik materyallerde kolonizasyon oluşturmalarını sağlar (108, 109).

Tıbbi gereçlerin implantasyonu sonrası tükürük, mukus, serum veya kan gibi farklı vücut sıvılarındaki çeşitli makro moleküller (fibrinojen, fibronektin, kollajen ve laminin vb.) tıbbi gereç yüzeyinde birikerek “conditioning film - hazırlayıcı film” oluşturmaktadır. Mikroorganizmalar, bu slime tabakası içinde çoğalarak ve hücre dışı matriks salgılamaya devam ederek kalın bir film tabakasına yol açarlar, buna “biyofilm” denir (108,109).

Santral venöz kateter (SVK)’lar, üriner kateterler, endotrakeal tüpler, periton diyaliz kateterleri, yapay kalp kapakçıkları, “pacemaker”, eklem protezleri, ventriküloperitoneal şantlar, vasküler bypass greftleri, oküler lensler, kırık fiksasyon aletleri kandida enfeksiyonlarıyla kuvvetle ilişkili bulunan tıbbi gereçlerdir (110).

Candida türlerinin, biyofilm oluşturma kapasiteleri farklı olmakla birlikte, biyofilm oluşumu en çok *C. albicans* türünde görülmektedir. *C. albicans* ile birlikte, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ve *C. kefyr*’in de “slime ” ürettiği saptanmıştır (111). Kandida türleri slime faktörü aracılığı ile vücudun savunma mekanizmalarından ve antifungal tedavinin etkisinden de kurtulabilmektedirler (112). Birçok çalışma kandida biyofilmlerinin amfoterisin B (AmB), flukonazol, flusitozin, itrakonazol, ketokonazol, nistatin, terbinafin ve yeni azollere (vorikonazol ve ravukonazol) dirençli olduğunu göstermiştir. Amfoterisin B’nin lipid formülasyonları (lipozomal AmB ve AmB lipid kompleks) ve ekinokandinlerin (kaspofungin ve mikafungin) ise biyofilme karşı etkili olduğu gösterilmiştir (109, 113).

2.2.3.3 Enzimler

Proteinaz ve fosfolipaz başta olmak üzere, kondroitin fosfataz, kitinaz, hyalüronidaz, esteraz, glukoamilaz, lipaz ve çeşitli glukolitik enzimler kandida türlerinin dokuya invazyonunda önemli rolü olan virülans faktörleridir (114, 115, 116).

Kandida türleri tarafından en sık üretilen hidrolitik enzim olan sekretuvar aspartik proteinaz (Sap)'ı on üyeden oluşan SAP adı verilen bir gen ailesi tarafından kontrol edilip konak proteinlerini parçalayarak mikroorganizmanın adezyon ile invazyonunda ve konak savunmasından kaçışında rol aldığı bildirilmektedir (117, 118).

Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) tedavisinde kullanılan Human Immunodeficiency Virus (HIV) -proteaz inhibitörlerinin, Sap enzimlerini inhibe ederek *C. albicans* adezyonunu azalttığı ve bu tedaviyi alan AIDS hastalarında orofaringeal kandidozun daha az görülmesi, Sap enzimlerinin önemini göstermektedir (119).

Fosfolipazlar konak hücre zarındaki fosfolipitleri hidrolize ederek hücreye zarar vermekte ve fosfolipaz aktivitesi en fazla *C. albicans*'ta görülmektedir (115, 120).

2. 2.3.4 Çimlenme Borusu (Germ Tüp)

Çimlenmekte olan miçelli hücrelerin daha virülanslı oldukları ve çimlenme borusu oluşturan hücrelerin dokuya blastosporlardan 50 kez daha fazla yapıştıkları gösterilmiştir (106). *C. albicans*'ın hücre yüzey antijenlerinde değişiklik oluşması ve bu morfolojik değişim yeteneği kandidaların virülansında önemli rol oynar (107).

2.2.3.5 Toksinler

C. albicans'lar maya fazında endotoksin benzeri maddeler ve hemolizin üretmektedir. Sistemik kandidemi olgularında yapılan çalışmalarda verilerin gram negatif bakteri sepsisi ile benzer olması bu toksinlerin kandida enfeksiyonlarında önemli rol oynadığını göstermektedir (121). Yüksek ve düşük molekül ağırlıklı toksinler olmak üzere iki grupta incelenen bu toksinlerden glikoprotein toksinler ve kandid toksinler yüksek molekül ağırlıklı toksinler grubunda yer almaktadır. Glikoprotein toksinler, toksik bileşik olarak glikoz, mannoz gibi karbonhidratlar ve protein içeren ve adezyonda rol oynayan maddelerdir (114). Düşük molekül ağırlıklı toksinlerle ilgili altı farklı toksin saptanmış ve bunlardan sadece E substansı denilenin özellikleri belirlenmiştir (121).

2.2.3.6 Fenotipik değişim:

Bazı *C. albicans* suşları özgül sentetik besiyerinde fenotipik değişimle farklı görünümde koloniler meydana getirirler. İnvaziv enfeksiyon yapan suşların, daha sık fenotipik değişiklik yaptığı ve invazyon için optimal fenotipi seçtiği saptanmıştır (122).

2.2.4 Antijenik Yapı

Hücre duvarının yapısına katılan glukan kitin ve mannoprotein kuvvetli antijenik yapılar olup *C. albicans* hücre duvarındaki potent immunojen olan mannanın yapısal farklarına göre A ve B olmak üzere iki serotip içerir (82, 123, 124).

Hasenclever ve Mitchell tarafından 1961’de A ve B serotiplerinin mannan bileşenleri arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir. A serotipi antijenik olarak *C. tropicalis* ile B serotipi *C. stelloidea* ve *C. albicans* türleriyle ilişkili bulunmuştur (124, 125, 126). Her iki serotip immun sistemi sağlam olan bireylerde eşit olarak bulunurken immun sistemi baskılanmış hastalarda serotip B daha yoğun olarak saptanmıştır (124, 127).

C. albicans’ta mannan dışında salgısal proteazlar, enolaz ve ısı şok proteinleri gibi önemli antijenler de saptanmıştır (96, 123).

2.2.5 Epidemiyoloji

Kandida türleri insan deri ve mukozasının normal flora üyesi olup gastrointestinal sistem, orofarenks, vajen ve deri olmak üzere çeşitli bölgelerden izole edilebilir. Doğumdan hemen sonra ağız, boğaz, barsaklar ve genito-üriner sistemde endojen floranın değişimine bağlı olarak cilt ve mukozalarda kolonize olur (128). Bu kolonizasyon kandidalara bağlı enfeksiyon gelişme riskini de beraberinde getirmektedir (129). Yapılan çalışmalarda kandida kolonizasyonunun hastanede yatan hastalarda sağlıklı insanlara oranla daha fazla olduğu saptanmıştır (95).

C. albicans florada en sık bulunan tür olup ağızdan izolasyonların %60-80, genital sistem izolasyonlarının ise % 80-90’ını oluşturur. Ağız hijyeninin bozulması, diyabet, takma diş veya sigara kullanımı, kanser ve HIV pozitif olgularda oral candida

kolonizasyonu artış gösterir. Human Immunodeficiency Virus (HIV) pozitif hastalarda non-albicans kandidalar da (%21) yüksek oranda görülmektedir (130). *C. albicans* çevrede ender olarak bulunurken *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* gibi diğer patojen türler toprak veya bitkilerden izole edilebilir (131, 132).

Kandida enfeksiyonları genellikle uygun koşullar oluşması durumunda meydana gelen endojen kaynaklı enfeksiyonlar olsa da nadiren ekzojen kaynaklı olabilmektedir. Kontamine olmuş yıkama solüsyonları, kalp kapakları ve korneaların kullanımı ekzojen enfeksiyonlara zemin hazırlamaktadır (133) .

Sistemik kandidozlarda *C. albicans* halen en sık etken olmakla birlikte, 1990'lı yıllardan itibaren non-albicans kandidalar ile oluşan enfeksiyonların sıklığında artış saptanmıştır (134, 135, 136). Kandidalar, kan kültüründen izole edilen mikroorganizmalar arasında dördüncü sırada, mayalar arasında birinci sıradadır (137). Ülkemizde kandidemi etkenlerinin tiplendirmesine yönelik çalışmalarda da *C. albicans* (%49-55) en sık etken iken non-albicans türleri ile enfeksiyon sıklığında artma bildirilmiştir (138, 139). Azol grubu ilaçların kullanıma girmesi bu artıştan sorumlu tutulmuştur. Öncesinde azol grubu ilaçla tedavi gören veya azol profilaksisi alan kişilerde *C. albicans* enfeksiyonlarında azalma saptanırken *C. krusei* ve *C. glabrata* enfeksiyonlarında artış görülmüştür (136, 140, 141). *C. krusei* flukanozole doğal dirençli olup özellikle flukonazol profilaksisi uygulanan merkezlerde sorun oluşturmaktadır. *C. krusei* ve *C. lusitaniae*'nin KİT yapılan hastalarda *C. albicans* ve *C. tropicalis*'in ise lösemili hastalarda daha sık enfeksiyon oluşturduğu gösterilmiştir. *C. lusitaniae* AmB'ye direnç geliştirebilme özelliğine sahiptir (141, 142).

C. tropicalis genellikle hematopoetik malignansiler, diyabet ve embolik deri lezyonları ile birliktelik göstermektedir. Yüksek mortalite ile seyreden dissemine enfeksiyona neden olur ve hematolojik maligniteli hastalarda, *C. albicans*'a göre daha şiddetli seyreder (96).

C. parapsilosis ise genellikle total parenteral nutrisyon veya intravasküler kateterlerle ilişkili olup; endemik ve epidemik nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmakta, fungal endokarditin önemli bir etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (143, 144).

Kandidalar çoğunlukla fırsatçı enfeksiyonlara neden olan mantarlar olup enfeksiyon oluşumunda konağa ve patojene ait faktörler arasındaki dengenin bozulması önemli rol oynar. Deri ve gastrointestinal sistem mukozasının bütünlüğü, hücresel

immünite ve normal bakteriyel flora konağı kandida enfeksiyonlarına karşı koruyucu başlıca faktörlerdir (145, 146). Hücresel immünite elemanları olan T lenfositler çeşitli sitokinler salgılayarak deri ve mukoza yüzeyindeki kandidaların sistemik enfeksiyon oluşturmalarını engellerler. T Helper 1(Th1); İnterferon- γ (IFN- γ) ve Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α) salgılayarak hücresel bağışıklık yanıtı aktive ederken, Th2; İnterlökin-4 (IL-4) ve IL-10 salgılayarak antifungal yanıtı inhibe eder (147). Bu nedenle lenfoma, lösemi, kronik granüloamatöz hastalık ve nötropeni ile sonuçlanan yoğun kanser kemoterapisi alan hastalar, yaygın kandida enfeksiyonu açısından artmış riske sahiptirler (148).

Ayrıca uzun süreli antibiyotik kullanımı, hücresel immün yetmezlikler, diyabetes mellitus gibi kronik hastalıklar, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanımı, immün sistemi bozan hastalıklar, organ transplantasyonu, gastrointestinal operasyonlar, gebelik, dengesiz beslenme, yaşlılık, malignite, uzun süreli kateterizasyon, ciddi yanıklar, intravenöz ilaç bağımlılığı gibi faktörler de kandida enfeksiyonu açısından hazırlayıcı faktörlerdir (145).

2.2.6 Klinik Önemi ve Etken Olduğu Enfeksiyonlar

Son yıllarda artan invaziv girişimler, gelişen cerrahi teknikler, hematolojik malignite veya başka nedenlerle kemoterapi alan; solid organ veya kök hücre nakli uygulamasına bağlı olarak bağışıklığı baskılanan hastaların ve AIDS hastalarının sayısındaki artış ile yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde genel durumu bozuk hastaların daha fazla izlenmesine bağlı olarak kandidalara bağlı invaziv fungal enfeksiyonların sıklığında belirgin artış izlenmektedir (141, 149). Özellikle büyük cerrahi girişimlerin yapıldığı, organ transplantasyonu ve kanser tedavilerinin yoğun olarak uygulandığı üçüncü basamak hastanelerle, büyük yoğun bakım ünitelerine sahip hastanelerde bu enfeksiyonlar önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaktadır (149, 150, 151).

Kandidalar çevresel ve bireysel koşulların konak aleyhine geliştiği durumlarda mukozal kolonizasyondan çoklu organ tutulumuna kadar çok geniş bir yelpazede yer alan klinik tablolara yol açabilen fırsatçı patojenlerdir (152). Özellikle bağışıklık sisteminin baskılandığı nötropeni gibi durumlarda gastrointestinal sistemdeki kolonizasyon sonrası mukozayı geçerek kana ulaşır ve fagositik etkinliği yetersiz olan

bu hastalarda hematojen yolla hemen hemen her organ ve sisteme yerleşebilir. Böbrekler, deri, göz, kalp, karaciğer, dalak ve beyin zarları en sık tutulan organlardır (96).

Kandida türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar genel olarak kandidiyaz olarak tanımlanmakta olup yüzeysel ve derin/sistemik kandidiyaz olarak iki grupta sınıflandırılabilir. Yüzeysel kandidiyaz deri ve mukozaların; derin kandidiyaz ise iç organ ve sistemlerin enfeksiyonlarıdır. Yüzeysel kandidiyazlarda deri veya mukozadaki bir çatlaktan yalancı hifleri ile doku içine giren kandidalar yalancı hifler ve bunlardan tomurcuklanma ile oluşan blastokonidiyumları ile dokuya yayılır. Derin veya sistemik kandidiyazlarda ise çoğunlukla gastrointestinal kanalda bir kolonizasyon sonrası mukozayı geçerek veya başka yolla kana ulaşarak fagositik etkinliği yetersiz olan hastalarda kanda çoğalıp hemen hemen her organ veya sisteme yerleşebilir (96, 107).

A) Yüzeysel Candida Enfeksiyonları

a) Oral Kandidiyaz

- Akut Pseudomembranöz Oral Kandidiyaz (Pamukçuk)
- Kronik Atrofik Kandidiyaz
- Kronik Hiperplastik Kandidiyaz

b) Candida Özofajiti

c) Candida Vulvovajiniti ve Balanit

B) Primer Kutenöz Kandidiyazlar

a) İntertrigo

b) Ayak parmak aralarının kandida enfeksiyonunda

c) Konjenital kutenöz kandidiyaz

d) Diyaper raş:

- Onikomikoz ve Paronikya
- Kronik Mukokutenöz Kandidiyaz (KMK)

C) İnvaziv Candida Enfeksiyonları

a) Kandidemi

b) Akut Dissemine Kandidiyaz

- c) Kronik Dissemine Kandidiyaz
- d) Gastrointestinal Kandidiyaz
- e) Pulmoner Kandidiyaz
- f) Trombofilebit

D) Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları

- a) Menenjit
- b) Beyin Apsesi ve Metastatik Ensefalit

E) Kardiyovasküler Enfeksiyonlar

- a) Endokardit
- b) Miyokardit
- c) Perikardit

F) Üriner Sistem Enfeksiyonları

- a) Renal Kandidiyaz
- b) Alt Üriner Enfeksiyon

G) Kemik ve Eklem Enfeksiyonu

- a) Osteomyelit
- b) Artrit

H) Oküler Enfeksiyon

- a) Endoftalmit

I) Allerjik Kandidiyazlar

- a) İd Reaksiyonları (144, 153)

2.2.7 Febril Nötropenik Hastalarda İnvaziv Kandida Enfeksiyonları

Nötropenik hastalarda monosit makrofaj sisteminin psödohif ve blastosporları öldürme yeteneğinin kaybolmasına bağlı olarak invaziv kandida enfeksiyonları gelişmektedir. Ayrıca bu hastalarda opsonizasyon mekanizmasıyla birlikte kompleman sistemi ve immunglobulinlerin de etkin olarak çalışmayışı bu enfeksiyonları daha karmaşık ve tedaviye dirençli hale getirmektedir. Bu hasta grubunda geniş spektrumlu antibakteriyel tedavilerin kullanımı da kandida koloniasasyonu arttırmaktadır (154, 155, 156).

Febril nötropenik hastalarda invaziv kandida enfeksiyonları genellikle gastrointestinal sistem veya deriden kaynaklanmaktadır. Kronik intravasküler

kateterlerin kullanımı, agresif kemoterapi ve radyoterapi uygulamaları sonucu normal mukoza bütünlüğünün bozulması ve nötropeni nedeniyle de bağışıklık sisteminin bozulması kolonizan kandidaların kan yoluyla kolaylıkla yayılmasına ve derin dokulara geçebilmesine neden olur (157).

Klinik olarak oral mukozit, özefagial ve gastrointestinal kandidiyaz, akut ya da kronik hematojen enfeksiyon gibi farklı klinik tablolar gelişebilir (158).

Kandidemi klinik olarak enfeksiyon belirti ve bulguları olan bir hastada organ tutulumu olmadan en az bir kan kültüründe candida türü mikroorganizmanın izole edilmesidir (159). Bu hastalarda nötropeniye bağlı olarak kandidemi süresinin uzaması doku invazyonu ile akut yaygın enfeksiyonun gelişimine yol açmaktadır (160).

En yaygın görülen ve fulminan seyirli klinik form olan akut hematojen kandidiyaz; gram negatif enterik basillerle gelişen septik şoktan farksız bir tabloda aniden kendini gösterebileceği gibi günler içinde de gelişebilir ve genellikle tek bulgusu ateştir (158).

Nötropenik hastada kan kültürleri negatif olmasından dolayı tanı genelde zordur. Bu nedenle nötropenik hastalarda klinik bulguların yorumlanması çok önemlidir. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanılmasına rağmen ateşin düşmemesi veya tekrar yükselmesi; hipotansiyon, miyalji ve makülopapüler deri lezyonlarının ortaya çıkması akut hematojen kandidiyazi düşündürmelidir. Laboratuvar testlerinin faydası tanıda sınırlı olup yapılan otopsi çalışmalarında kandidiyaz olduğu kanıtlanmış hastaların yalnızca 1/3'ünde kan kültürlerinde pozitiflik saptandığını gösterilmiştir (161, 162, 163, 164). Tek başına kandidemi, derin organ enfeksiyonuna işaret eden klinik, patolojik veya mikrobiyolojik bir kanıt olmasa bile nötropenik konakçıda yaygın enfeksiyon kanıtı olarak ele alınmalıdır (161).

Endoftalmit akut hematojen kandidiyazın en önemli majör komplikasyonlarından biri olup orbital ağrı, görme bulanıklığı, skotoma, fotofobi ve görme kaybı ile seyreder. "Roth" lekelerine benzer ve vitröz sıvı içine yayılan lezyonlar tanıda oldukça anlamlıdır. Menenjit, beyin apsesi, renal apse, myokardit, endokardit, kutanöz apseler ise akut hematojen kandidiyazda en sık rastlanan komplikasyonlar arasında yer almaktadır (163, 164, 165).

Hepatosplenik kandidiyaz olarak adlandırılan kronik yaygın kandidiyaz tipik olarak hematolojik olmak üzere malign hastalığı olan immünitesi baskılanmış hastalarda

derin ve uzamış nötropeni sonrası, özellikle de nötrofil sayısının düzelmeye başladığı süreçte gözlenmektedir (166, 167). Çoğunlukla karaciğer ve dalağı tutan bir hastalık olarak bilinmekle birlikte akciğerler, böbrekler ve diğer organlarda da lezyonlar saptanabilmektedir (167, 168). Akut lösemik hastalarda %3-%29 arasında değişen insidansa sahiptir (167, 169).

Bu hastalarda kandida yayılımı kemoterapi esnasında veya kemoterapi verilmesini takiben olmakta ancak nötropenik hastada enfeksiyona immun ve inflamatuvar yanıtın yetersizliğinden dolayı, nötropeni düzelmeye başlayıncaya kadar klinik tablo ortaya çıkmamaktadır (170). Onbeş günden daha uzun süren nötropeni, yaşın genç olması ve profilaktik kinolon kullanımı bağımsız risk faktörleri olarak saptanmıştır (167, 171).

Belirli sitokinlerin ve immünomodulatorlerin kronik yaygın kandidiyaz gelişiminde rolü olduğu tespit edilmiştir. Özellikle IL-10 seviyesindeki artışın hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca Th1-Th2 arasındaki dengenin bozulması da patogeneizde rol alan faktörlerin arasında yer almaktadır (169, 172).

Geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine cevap vermeyen ateş, en sık görülen semptom olup sağ üst kadranda ağrı, antiemetiklere cevap vermeyen bulantı, kusma, hepatomegali ve splenomegali tabloya eşlik edebilir. Laboratuvar bulgularından en önemlisi alkalen fosfataz (ALP) seviyesinde görülen belirgin yükselmedir. Transaminaz seviyelerinde de hafif olmakla birlikte artış görülebilir. Alkalen fosfataz seviyesindeki bu yükselme klinik ve radyolojik iyileşmeye nazaran daha geç normale dönmektedir (169, 170).

Hastalarda makroskopik olarak karaciğerde dalakta ve nadiren de böbreklerde beyaz, sarı renkli 1-3 cm boyutlarında kandidalara karşı granülamatöz doku reaksiyonu sonucu oluşan çok sayıda nodüller görülür. Bu nodüler lezyonlar ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gibi görüntüleme yöntemleri ile tesbit edilebilmekte olup; MRG %100 duyarlılık ve % 96 özgüllük yönüyle en üstün olan görüntüleme yöntemidir (167, 169, 172).

Belirli sitokinlerin ve immünomodulatorlerin kronik yaygın kandidiyaz gelişiminde rolü olduğu tespit edilmiştir. Özellikle IL-10 seviyesindeki artışın hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca Th1-Th2 arasındaki dengenin bozulması da patogeneizde rol alan faktörlerin arasında yer almaktadır (169, 172). Tanı

biyopsi örneklerinin patolojik incelemesi ile konulmakta olup alınan biyopsi materyalinde fungal elementlerin gösterilmesi veya kültürde üretilmesi altın standart olarak kabul edilmektedir (169, 173).Yapılan çalışmalarda doku kültüründe üreme oranı %50 olarak saptanmıştır (166). *C. albicans* en sık üretilen tür olmakla birlikte *c. tropicalis*, *c. glabrata* *c. krusei* saptanan diğer türlerdir (174).

2.2.8. Kandida Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungal İlaçlar

Mantar hücrelerinin memeli hücreleri gibi ökaryot yapıda olması ve protein, DNA veya RNA biyosentezini inhibe eden antifungal ilaçların insanlar için toksik özellikte olması; antifungal alanındaki gelişmeleri yavaşlatmış olup günümüzde kısıtlı sayıda antifungal ilaç kullanılabilmektedir (175, 176).

İlk kez 1903 yılında bir sporotrikoz vakasında iodicler kullanılmış ve 1939'da dermatofitler için griseofulvin kullanılmaya başlanmıştır. Bin dokuzyüz elli'de nistatin, 1956'da amfoterisin B, 1964'de flusitozin ve 1960'ların sonlarında da azoller antifungal tedavide kullanılmaya girmiştir (175).

Bin dokuz yüz yetmiş'li yılların sonlarında intravenöz mikonazol ve oral ketokonazol ve 1980'lerde triazoller ile sistemik antifungal tedavi seçenekleri artmıştır (175, 176).

Yirminci yüzyılda, antifungal ilaç keşfinde son aşama ekinokandinlerin keşfidir. Semisentetik lipopeptid yapıda moleküller olan ekinokandinler 1.3- β - glukon sentaz enzimlerini nonkompetitif olarak inhibe eder ve glukon yapımını engellerler (133).

Mantar enfeksiyonu tedavisinde sıklıkla kullanılan antifungal ilaçlar; polyenler, azoller, primidinler ve ekinokandinlerdir.

Polyenler antifungal etkinliğini mantar hücre membranında bulunan ergosterole bağlanarak gösterirler. *A. fumigatus*, *B. dermatitidis*, *Candida* türleri, *Coccidioides immitis*, *C. neoformans*, *Histoplasma capsulatum* ve *Paracoccidioides brasiliensis* geniş bir etki spektrumuna sahiptir (177). Akciğer, dalak, kemik iliği ve böbrekler de dahil olmak üzere birçok doku ve organda dağılım gösterir. Santral sinir sistemi,vitreus ve amniyon sıvısına ise minimal oranda geçerler (178).

Amfoterisin'in parenteral formülasyonu amfoterisin B deoksikolat olup nefrotoksik bir bileşik olması en önemli yan etkisidir. Fungal ergosterolün yanı sıra normal insan hücre membranlarında bulunan kolesterol ile de etkileşime girdiğinden

akut ve kronik toksisite sıklığıdır. Nefrotoksisiteyi aşmak amacıyla lipid bazlı 3 farklı formülasyonu geliştirilmiştir; lipozomal AmB, AmB lipid kompleks ve AmB koloidal dispersiyon (178). Geliştirilen lipid formülasyonların konvansiyonel formülasyona göre daha az toksik olup, yüksek düzeylerde enfeksiyon bölgesine ulaşması sebebiyle *in vivo* aktivitesi daha iyidir (179, 180).

C. lusitanae, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *Aspergillus terreus* AmB'ye intrinsek dirençli iken, tüm *Candida* türlerinde düşük oranda da olsa sekonder direnç bildirilmiştir (180, 181).Yapılan çalışmalarda AmB direncinin %0 ile 3.8 arasında olduğu bildirilmiştir. Membran sterollerindeki değişikliklere özellikle ergosterol düzeyindeki düşüşe bağlı olarak AmB'nin bağlanmasındaki azalma sonucu direnç meydana gelmektedir (181, 182) . Diğer direnç mekanizmaları olarak, fosfolipidlerinin yapısının bozulması, değişimi ve katalaz aktivitesinin artması bildirilmiştir (180).

Azol bileşikleri antifungal etkinliğini ergosterol sentezinde rol alan lanosterol 14 α -demetilaz enzimini inhibe ederek gösterir. Klinik kullanımda imidazol ve triazol olmak üzere iki grup azol bulunmaktadır. İmidazollerin kullanımı yüzeysel mantar enfeksiyonlar ile sınırlı iken, triazoller hem yüzeysel hem de invaziv mantar enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (175).

Ketokonazol, oral olarak kullanılan ilk imidazol olup sistemik mikoz, dermatofitoz ve kutanöz kandidozda kullanılan lipofilik bir antifungaldir. Karaciğerde metabolize edilir. Karaciğer toksisitesi,hipertansiyon, mide bulantısı, kusma ve döküntü yüksek dozlarda cushing sendromu ,jinekomasti,oligospermi gibi ciddi yan etkileri bu ilacın kullanımı kısıtlamıştır (180, 181).

İtrakonazol flukonazole göre daha geniş etki spektrumuna sahip lipofilik bir triazol azoldür. *Candida* türleri, *C. neoformans*, *Trichosporon* türleri, *Aspergillus* türleri, *Histoplasma capsulatum*, *B. dermatitidis*, *C. immitis*, *Paracoccidioides braziliensis* ve *Sporothrix schenckii* ve dermatofitlere etkilidir. *Zygomycetes* ve *Fusarium* türlerine ise klinik etkinliği yoktur. Büyük oranda karaciğerde metabolize olur. Biyoyararlanım sorunu nedeniyle kullanımı sınırlıdır (180, 181, 182, 183).

Flukonazol *C. krusei* ve bazı *C. glabrata* suşları dışında birçok kandida türüne karşı etkindir. Biyoyararlanımı yüksek olup diğer azollerden farklı olarak proteinlere düşük oranda bağlanması nedeni ile santral sinir sistemi dahil tüm doku ve sıvılara

dağılır. Renal yolla atıldığından böbrek yetmezliğinde doz ayarlamaları gerekmektedir. Uzun süreli kullanımında geri dönüşümlü alopesi gelişebilmektedir (184).

Candida türleri arasında, *C. krusei* flukanazole doğal dirençlidir. *C. glabrata* ise düşük düzeyde doğal direnç sergilerken ilaçla karşılaşma sonucu kolaylıkla ve yüksek seviyede direnç geliştirmektedir. Flukanazolün hedefi olan lanosterol 14 α -demetilazda değişiklik, ilacın hücre içi birikiminde azalma ve ergosterol biyosentezinde değişiklik azol direncinden sorumlu mekanizmalardır (182, 185, 186).

Vorikonazol ergosterol biyosentezini doza bağımlı bir şekilde inhibe eden sentetik triazoldür..Geniş bir antifungal spektruma sahip olup kandidalara karşı fungistatik, *Aspergillus* türlerine karşı fungisidal etkinlik gösterir. Santral sinir sistemi de dahil olmak üzere birçok dokuya dağılır oral ve intravenöz formları mevcut olup en önemli yan etkisi geçici görme bozukluğu ve karaciğer enzimlerindeki yükselmedir. Azoller arası çapraz direnç nedeniyle flukonazole dirençli *Candida* izolatlarının önemli bir kısmı vorikonazole de dirençlidir. Evrensel antifungal süveyans programı “ARTEMIS DISK” verilerine göre *Candida* türlerinin vorikonazol direnç oranı %3 olarak bildirilmiştir. (180, 187, 188)

Posakonazol, *Candida* türleri başta olmak üzere pek çok mantar türüne etkili olup yalnızca oral formu mevcuttur (180). İnvaziv *Aspergillus* ve *Candida* infeksiyonları profilaksisinde kullanılmak üzere 2006’da FDA onayı almıştır (189).

5-Flusitozin florlanmış bir primidin analogu olup pirimidin metabolizmasını bozarak antifungal etki gösterir. *Candida* türleri, *C. neoformans*, *Rhodotorula* türlerine etkilidir. Flusitozine primer direnç ya da azalmış duyarlılık *Candida* kökenleri ve *C. neoformans* dahil birçok mantar türünde gözlenmektedir. Sitozin deaminaz, urasil fosforiboziltransferaz veya pürin-sitozin permeazdaki mutasyonlara bağlı olarak direnç ortaya çıkmaktadır. Hem primer direnç olasılığı, hem de sekonder direnç eğilimi yüzünden tedavide tek başına kullanılmamalı, mutlaka kombine tedavide kullanılmalıdır (180, 181, 190).

Ekinokandinler lipopeptit yapıda geniş bir etki spektrumuna sahip yeni sınıf antifungallerdir. FKS1 ve FKS 2 genlerince kodlanan β -1,3-glukan sentazı inhibe ederek mantar hücre duvarı sentezini durdururlar. *Candida* türlerine karşı fungisidal, *Aspergillus* türlerine karşı ise fungistatik etki gösterir. *C. neoformans* ve *B. dermatitidis* farklı glukan polimer kompozisyonuna sahip oldukları için ekinokandinlere dirençlidir.

Ayrıca memeli hücreleri β -1,3-glukan içermediğinden insanlarda toksik etkileri minimaldir (180, 190). *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* ve *Trichosporon* türlerine karşı etkisinin, diğer mayalara etkisine oranla daha sınırlı olduğu gözlenmiştir Direnç genellikle hedef enzim olan glukan sentazı kodlayan FKS1, FKS2, FKS3 genlerinde ve hedef ile etkileşimde bulunan proteinlerdeki mutasyonlar sonucunda ortaya çıkmaktadır (180, 181).

Kaspofungin ilk ruhsatlı ekinokandin olup; özefageal ve invaziv kandidiyazın primer tedavisi, diğer antifungallere yanıtızsız invaziv aspergilloz ve febril nötropenin empirik tedavisinde FDA tarafından kullanım onayı almıştır. Böbrek yoluyla atılımı olmadığından renal yetmezlikte doz ayarı gerekmez. Yan etkileri ise nadirdir (191, 192).

Anidulafungin kandidemi, intraabdominal apse, peritonit ve özofagiyal kandidoz için 2006'da FDA onayı almıştır. Böbrek ve karaciğer yetmezliği olan hastalarda doz ayarı gerekmez. Döküntü, ürtiker, kaşıntı, hipotansiyon gibi infüzyona bağlı yan etkileri mevcuttur (192).

Antifungal ilaçlara karşı oluşan direncin artan sıklığına oranla klinik tedavide yeni antifungal ajanların geliştirilmesi daha geride kalmış olup günümüzde kullanılmakta olan çok az sayıda antifungal ilaç bulunmaktadır (193). Antifungal tedavi alanında yeni seçeneklerin sunulabilmesi için mantarlara karşı etkili, farklı etki mekanizmalarına sahip, hem oral hem de parenteral yolla kullanılabilinen güvenli ve mümkün olabildiğince ekonomik ilaçlara gereksinim duyulmaktadır (194). Bu nedenle çeşitli bitkilerden elde edilen preparatların yeni antifungaller olarak kullanıldığı geleneksel tedavi alternatifleri gündeme gelmiştir (195,196, 197).

.2.3. Ankaferd Blood Stopper (ABS)

2.3.1. Ankaferd isminin geleneksel kökeni

Anka: Mitolojik bir dağ olan Kafdağı'nda yaşadığına inanılan, rengârenk tüylü her hayvandan bir iz taşıyan, yüzü insana benzeyen mitolojik bir kuştur.

Doğu mitolojileri ve efsanelerinde Zümrüdü Anka Kuşu, batı kültürlerinde ise Phoenix adlarıyla anılır (198). Anka kuşu birçok dinsel, büyüsel etkileri olduğuna inanılan, kaynağını Eski Mısır inançlarından almakla birlikte Çin'den İran mitolojisine

ve Müslümanlıktan Hristiyanlığa kadar geniş bir inanç alanına yayılmıştır (199). Hristiyanlıkta yeniden dirilmenin sembollerinden biri olarak görülmüştür. Hem ruhun ölmezliğinin hem de yeni yılın simgesi olarak tanımlanmıştır (198).

Ferd: Osmanlıca’da tek, bir, yekta, eşi benzeri olmayan anlamındadır (198).

2.3.2. Tanım ve içeriği

Ankaferd Blood Stopper Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılmış benzersiz bir bitki ekstraktıdır (7, 200). *Thymus vulgaris* (kekik), *Glycyrrhiza glabra* (meyan kökü), *Vitis vinifera* (asma), *Alpinia officinarum* (havlıcan) ve *Urtica dioica* (ısırgan otu) bitkilerinin 6:8:7:7:5 'lik bir ağırlık oranında karışımından oluşan stabil ve steril bir üründür (Tablo 1) (7, 8). Diş operasyonları, vücut dışı yaralanmalar, travmatik kesikler, kendiliğinden ya da cerrahi işlemler sonrası oluşan kanamaların durdurulmasında kullanılan T.C. Sağlık Bakanlığı’ndan ruhsatlı ilk Türk ürünüdür (8, 9)

Bu bitkilerin tümünün tek başına etkileri olduğu gibi, birlikte kullanıldıklarında da kan hücreleri, damar endoteli, yeni damar oluşumu ve hücre proliferasyonu üzerine etkileri vardır (201).

Kanamanın durdurulması maksadıyla kullanılmakta olan ABS’nin antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkinliğine dair araştırmalar da yapılmış olup bunlarla ilgili olumlu sonuçlar elde edilmiştir (10).

Thymus vulgaris; boyu 50 cm’ye kadar ulaşan daima yeşil kalan, yarı çalimsı, odunumsu, çok dallanan, bodur ağaç görünümünde olan çok dallı bir bitkidir (202). Tıbbi olarak kullanımı, taze çiçek açmış bitki, kurutulmuş yapraklar ve dilimlenmiş kuru yapraklardan elde edilen yağıdır (203). *Thymus vulgaris* yaygın olarak Irak halk hekimliğinde kullanılmış bir bitki olup balgam söktürücü, öksürük kesici, anti bronşiyolitik, antispazmotik, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antihelmintik, gaz giderici ve idrar söktürücü özelliklere sahiptir (204, 205). Ayrıca yapraklarının bilinen antioksidanlar olan bütile hidroksitoluen ve alfa-tokoferolle kıyaslanabilir düzeyde antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (206). Bu özelliklerinden dolayı bilim adamları için önemli bir araştırma bitkisi olan *Thymus vulgaris* ile ilgili birçok araştırma yapılmış ve yapılmaya da devam edilmektedir (202).

Tablo 3. Ampul ve Tampon Formunda Ankaferd Blood Stopper İçerikleri (8)

	Etkin madde miktarı (mg)			
Etkin madde adı	Ampul	Tampon		
	2 mL	2.5x7 cm	5x7.5 cm	20x20 cm
		3mL	10 mL	100 Ml
Urtica dioica ¹	0.12	0.18	0.6	6
Vitis vinifera ²	0.16	0.24	0.8	8
Glycyrrhiza glabra ²	0.18	0.27	0.9	9
Alpinia officinarum ²	0.14	0.21	0.7	7
Thymus vulgaris ³	0.10	0.15	0.5	5

¹: kurutulmuş kök ekstresi

²: kurutulmuş yaprak ekstresi

³: kurutulmuş ot ekstresi

Glycyrrhiza glabra; vatanı Türkiye, Akdeniz ülkeleri, Ukrayna, Rusya, Türkistan olan meyan bitkisidir. Baklagiller familyasından çok yıllık bir bitki olup sulak ve nemli yerlerde yabani olarak yetişen kökü 15 cm uzunluğunda olup 3-5 yan köklere bölünmüştür (207). Tıbbi olarak kullanılan kısmı soyulmamış kurutulmuş kök ve saçakları, soyulmuş kurutulmuş kökler ve köklü rizomlarıdır (208). Antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-ülser ve ekspektoran etkili olup antitrombotik, antifungal ve antibakteriyel etkileri de söz konusudur (209). Bu bitkinin içeriğindeki bazı bileşiklerin MSSA ve MRSA türleri üzerinde antibakteriyel etkileri tespit edilmiştir (210). İn vitro hücre dizilerinde anjiogenezi inhibe ettiği, sitokinlerle indüklenen neovaskülarizasyonu azalttığı bilinmektedir (211).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda HIV-1 ve Hepatit C virüsüne karşı başarıyla kullanılabildiğine ve meyan kökünden elde edilen glisirizinin SARS'a karşı kullanılan ribavirin maddesinden çok daha etkili olduğuna yer verilmiştir (212, 213).

Vitis vinifera; küre şeklinde meyvesi olan, yapraklarının üst yüzleri pürüzsüz, alt yüzeyleri ise tüylü olan bir bitki olup yaprakları, meyve ve çekirdekleri tıbbi olarak kullanılmaktadır (214). Antiaterosklerotik, antitümöral ve antioksidan etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. (215, 216).

Alpinia officinarum; çok yıllık bir bitki olup koyu, kırmızı-kahve rengine, yaklaşık 1-2 cm eninde ve 3-6 cm boyunda silindirik rizomlara sahiptir. Rizomları tıbbi olarak kullanılmaktadır (217). Antispazmotik, antiinflamatuvar ve antibakteriyel özellikleri vardır (218, 219). Lipopolisakkarit (LPS) ile aktive edilmiş fare peritonundan izole edilen makrofajda nitrik oksit (NO) üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (220).

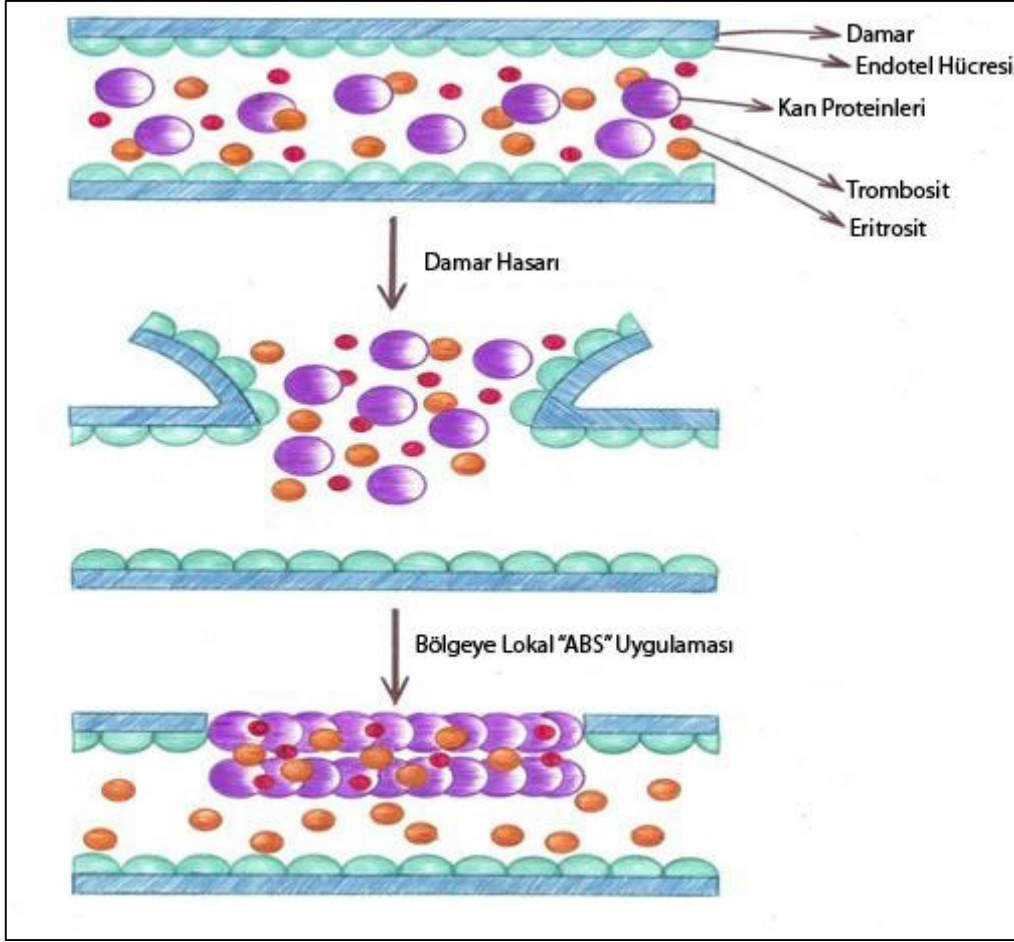
Urtica dioica; 60-150 cm uzunluğunda, ters, oblong-kordat ve kabaca testere dişi şeklinde yaprakları olan, güçlü bir köke sahip, tümü yakıcı olan tüylerle kaplı bir bitki olup histamin, serotonin, asetilkolin, formik asit, lökotrienler (LTB₄, LTC₄, LTD₄) taze bitkinin batıcı tüylerinde bulunur. Bitkinin tıbbi olarak kullanılan kısmı, taze, kurutulmuş çiçek açmış bitki ve kökleridir (203). Sulu ekstresinin HIV'nin sitopatik etkisini in vitro deneylerde inhibe ettiği ayrıca içerdiği lektinler sayesinde HIV-2, CMV, RSV ve influenza A virüsünü in vitro koşullarda inhibe ettiği gösterilmiştir (221, 222). Lektin ısırgan aglütinini (UDA) kitini bağlama yeteneğine ek olarak antifungal aktivite göstermiştir (222, 223).

Yapılan çeşitli çalışmalarda, antiromatizmal, antiinflamatuvar ve antiartrit etkisi saptanmış ve inflamasyonun eşlik ettiği akut eklem ağrısında diklofenak ile sinerjistik etki gösterdiği de bildirilmiştir (224, 225).

2.3.3. Etki mekanizması

Ankaferd Blood Stopper'ın etkisini plazma ve serum içinde çok hızlı saniyeden daha kısa bir sürede protein ağı oluşturmaya üzerinden gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan genel hemostatik ve biyokimyasal testler plazma ve serumdaki bu protein ağı oluşumunun ABS'nin kan içindeki proteinler ve asıl olarak da fibrinojenle kurduğu karşılıklı etkileşim sonucunda oluştuğunu göstermiştir. Ayrıca eritrositlerin, plateletlerin kümeleşerek özellikle eritrosit kitlesi oluşturarak ağ oluşumuna katılmasını sağladığı gösterilmiştir (201, 226).

Ankaferd Blood Stopper pıhtılaşma faktörleri dışında tüm fizyolojik süreci etkilediğinden hem normal hemostaz parametrelerine sahip bireylerde hem de primer hemostazı bozuk hastalarda ve/veya yaygın damar içi koagülasyonu olan hastalarda (faktör eksiklikleri, DIC vb.) etkili olmaktadır (201).



Şekil 1. Ankaferd Blood Stopper (ABS)'nin etki mekanizması (201)

2.3.4. Antimikrobiyal etkisi

Ankaferd Blood Stopper'in hemostaz üzerine etkisi ile birlikte yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda çok sayıda patojen için antimikrobiyal aktivitesi test edilmiş olup birçok izolata karşı aktif antibakteriyel etkisi olduğu gösterilmiştir. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Akkoç ve arkadaşları tarafından agar difüzyon yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada ABS'nin insan ve gıda patojenleri *S. aureus*, *E. faecalis*, *P.aureginosa*, *E.coli*, *Salmonella enterica typhimurium*, *K. pneumonia*, *L. monocytogenes* gibi gram pozitif ve gram negatif bakterilerden oluşan 26 indikatör suşa karşı antagonistik aktivitesi değerlendirilmiştir. Tüm suşlara karşı etkili olduğu tesbit edilen bu çalışmanın sonucunda ABS'nin hemostatik etkisine ek olarak antimikrobiyal özelliğinin de yararlı olabileceğine dikkat çekilmiştir (227).

Tablo 4: Ankaferd blood stopper (ABS)'nin

Antimikrobiyal Etkinlik Gösterdiği Mikroorganizmalar (227)

<i>L. lactis subsp. lactis</i> SIK-83 (nisin producer)	<i>Clostridium tyobutyricum</i>
<i>L. lactis subsp. lactis</i> ATCC7962 (nisin producer)	<i>Clostridium sporogenes</i>
<i>L. lactis subsp. lactis</i> LMG2908 (nisin producer)	<i>Bacillus subtilis</i> 12
<i>Micrococcus luteus</i> NCIMB8166	<i>Bacillus licheniformis</i> 40
<i>Bifidobacter bifidum</i> CHL17	<i>Bacillus cereus</i> LMG2732
<i>Bifidobacter longum</i> CHL21	<i>Pseudomonas fluorescens</i> P1
<i>Lactobacillus sake</i> NCDO2714	<i>Pseudomonas aureginosa</i> ATCC15442
<i>Lactobacillus plantarum</i> LMG2003	<i>Escherichia coli</i> CFA1
<i>Leuconostoc carnosum</i> DSM5576	<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
<i>Enterococcus faecalis</i> LMG2602	<i>Pediococcus pentosaceus</i> LMG2001
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	<i>Listeria innocua</i> 2813
<i>Staphylococcus carnosus</i> MC1B	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC15313

Ankaferd Blood Stopper'in antifungal etkinliğinin tanımlanması açısından da çeşitli çalışmalar yapılmıştır (227, 228). Akkoç ve arkadaşlarının “Ankaferd tıbbi bitki ekstresinin *in vitro* antifungal etkinliğinin tanımlanması” adlı çalışmasında, agar kuyu difüzyon testine tabi tutulan ABS'nin, *Zygosaccharomyces bailii*, *C. albicans*, *Mucor rouxii*, *Mucor brunnea*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'a yüksek düzeyde antifungal etkinlik gösterdiği bulunmuştur. Bu bulgular da ABS'nin kanama durdurucu özelliğinin yanı sıra antienfektif bir ajan potansiyeli taşıdığına işaret etmektedir (227). Ankaferd Blood Stopper'in bu etkinliğinin, sıcaklık ve enzim muamelelerine karşı stabilitesini koruduğu da tespit edilmiş olup bu yönüyle de antienfektif bir ajan olma potansiyeli taşıdığı belirtilmiştir. Febril nötropenik hastalarda mantar enfeksiyonu zemininde sitopenik kanamalar önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olduğundan Ankaferd'in bu alanda kullanımının kontrollü çalışmalarla gösterilmesi gerektiği vurgulanmıştır (227).

Ankaferd' in potansiyel antifungal özelliğinin ileri çalışmalar ile araştırılması yararlı olabileceğinden çalışmamızda Ankaferd'in nötropenik ratlarda *C. albicans* ile oluşturulan sistemik kandida enfeksiyonu üzerindeki etkinliğini araştırdık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı (protokol no: 2013/101) ile 7-20 Kasım 2013 tarihleri arasında yapıldı. Deneysel nötropenik rat modelinde sistemik kandida enfeksiyonu üzerine ABS etkinliğinin araştırılması planlandı.

Bu modelde ABS'nin antifungal etkinliğinin ABS verilen ile serum fizyolojik verilen kontrol grubu arasında; akciğer, karaciğer ve böbrek dokusunun histopatolojik düzeyde karşılaştırılması yapılarak araştırılması planlandı. İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında yapılan çalışmada her iki cinsten ve ağırlıkları ortalama 180-200 gram arasında değişen 24 adet Wistar-Albino cinsi rat kullanıldı. Çalışma öncesi ratlar standart laboratuvar koşullarında, rat yemi ve taze musluk suyu kullanılarak yetiştirildi. Sıcaklık $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ ve nem oranı %45 olarak ayarlandı. Ratlar ABS verilen ve verilmeyen (kontrol grubu) olarak iki gruba ayrıldı. Ratlar dördü gruplar halinde 6 ayrı kafese konuldu. ABS 1, ABS 2 ve ABS 3 (ABS alanlar), Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3 (ABS almayan Serum fizyolojik alanlar) olarak isimlendirildi. Ratları nötropenik hale getirmek için çalışmamızın birinci günü 90 mg/kg/vücut ağırlığı dozunda ve çalışmamızın beşinci gününde 60 mg/kg vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal siklofosfamid enjeksiyonu yapıldı. Çalışmanın 6.günü *C.albicans* inokulasyonu öncesi tüm ratların kuyruk veninden kan örneği alınarak İnönü Üniversitesi Hematoloji Laboratuvarı'nda tam kan sayımı yapıldı. Tüm ratlarda nötropeninin sağlandığı tespit edildi (230).

Çalışmanın 6. günü SDA'da pasajı yapılmış *C. albicans* (ATCC 10231) suşu İnönü Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim dalı'nda 0,5 McFarland'a göre serum

fizyolojik ile sulandırılarak hazırlandı. Oluşturulan solüsyondan 1'er cc çekilerek 24 adet enjektör hazırlandı ve deney hayvanları laboratuvarına götürüldü. Laboratuvar teknikeri yardımı ile tutulan 24 adet rata hazırlanan *C. albicans* solüsyonu intraperitoneal olarak enjekte edildi. *C.albicans* inokülasyonun ardından ABS verilecek 12 rat tekniker yardımıyla tutularak orogastrik sonda takıldı. Sırayla 1'er cc ABS enjektör yardımıyla verildi. Sonra kontrol grubundaki 12 rata sırayla orogastrik sonda takılarak 1'er cc SF enjektör yardımıyla verildi (230).

Ratlar kafeslerine konularak bir haftalık sürenin geçmesi beklendi. Bir haftalık süreçte davranış, aktivite, postür kontrolü, hareket kabiliyetinde meydana gelen değişimler, günlük gıda ve su tüketimlerinin izlenmesi gibi parametrelerle ratların sağlık değişikliklerini takip etme yöntemleri kullanıldı. Ratlar günde iki defa bu değişiklikler açısından gözlemlendi.

Çalışmanın 9.günü nötropenin devamlının amacıyla tüm ratlara 60 mg/kg vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal siklofosfamid enjeksiyonu yapıldı (230).

Sekonder bakteriyel enfeksiyonu önlemek amacıyla çalışmanın 5.günüden itibaren 7 gün boyunca tüm ratlara intramusküler amoksisilin 40 mg/kg ve çalışmanın 6.günü *C. albicans* inokülasyonu sonrası 40 mg/kg intramusküler gentamisin enjeksiyonu yapıldı. İlaveten çalışma süresi boyunca tüm ratların içme sularına siprofloksasin ve polimiksin E konuldu (230).

Çalışmanın 13. gününde her rata subkutan ketamin HCL (40 mg/kg) ve Xylasin HCL (15 mg/kg) ile her rata bir defa genel anestezi uygulandı. Anestezi sağlanan rat operasyon masasına prone pozisyonunda sabitlendikten sonra intraabdominal bölgeden başlayarak cerrahi makas yardımıyla laparotomi yapılarak karın ve göğüs kafesi açıldı. Böbrekler, akciğerler ve karaciğer çıkarılarak ratlar sakrifiye edildi. Çıkarılan organlar %10'luk standart formaldehit doldurulmuş ve numaralandırılmış kutulara konularak histopatolojik değerlendirme için Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Patolojiye ulaşan doku örnekleri parafin bloklar hazırlanıp 5 mikron kalınlıkta kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin boyası ile boyandı. Işık mikroskobu altında 40'lık büyütmede incelendi. İncelemeler iki patoloji uzmanı tarafından yapıldı. Histopatolojik bulgular 0: normal, 1: hafif-orta ve 2: ağır olarak yorumlandı.

Akciğer dokusunun histopatolojik kesitlerinde; intraalveolar hemoraji, intraalveolar ödem, konjesyon, nötrofil lökosit infiltrasyonu, amfizematöz genişlemeler;

karaciğer dokusunun histopatolojik kesitlerinde; konjesyon, parankimde lenfoid infiltrasyon ve hepatosit onarımı; böbrek dokusunun histopatolojik kesitlerinde ise; tübüler dilatasyon, proteinöz tıkaç, konjesyon varlığı ve şiddeti değerlendirildi. Çift kör çalışmanın gereği olarak spesmenlerin incelemesini yapan patologlar hangi spesmenin hangi gruba ait olduğunu bilmeden değerlendirmeyi tamamladılar.

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde SPSS.15.0 istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenlerimiz ortalama $\pm$ standart sapma (SD) ile sunuldu. Nitel değişkenlerin gruplararası karşılaştırılması ki-kare analizi ile yapıldı. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Ratlar SF ve ABS verilen olmak üzere iki gruba ayrıldı (Grup 1; SF alan ratlar Grup 2; ABS alan ratlar). Bulgular üç şekilde derecelendirildi (0: Normal 1: Hafif-Orta 2:Ağır).

Serum fizyolojik verilen 12 ratın 12'sinin karaciğer dokusunda hafif-orta konjesyon saptanırken ABS verilen 12 ratın 11'inde hafif-orta konjesyon görüldü. Ankaferd Blood Stopper verilen 1 ratta ise konjesyon saptanmadı. Her iki grupta da ağır konjesyon görülmedi. Karaciğer dokusunda konjesyon açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=1,0$).

Tablo 5. Karaciğer Dokusunda Konjesyon

	Karaciğer konjesyonu		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	0	12	12
Grup 2	1	11	12
Toplam	1	23	24

*0: Normal 1: Hafif-Orta 2: Ağır

Serum fizyolojik verilen 12 ratın tümünde hafif- orta düzeyde karaciğer parankiminde lenfoid infiltrasyonu saptanırken ABS verilen 12 ratın 6'sında hafif-orta düzeyde, diğer 6'sında ise ağır düzeyde lenfoid infiltrasyonu saptandı. Gruplar arasında karaciğer parankiminde lenfoid infiltrat açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.014$).

Tablo 6. Karaciğer Parankiminde Lenfoid İnfiltrat

	Karaciğer parankiminde lenfoid infiltrat		Toplam
	1*	2*	
Grup 1	12	0	12
Grup 2	6	6	12
Toplam	18	6	24

Serum fizyolojik verilen 12 ratın birinde karaciğerde hepatosit onarımı saptanırken diğer 11 ratta hepatosit onarımı saptanmadı. Ankaferd Blood Stopper verilen 12 ratın ise 11'inde karaciğerde hepatosit onarımı görülürken yalnızca 1 ratta hepatosit onarımı saptanmadı. Gruplar arasında karaciğer dokusunda hepatosit onarımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,0001$).

Tablo 7. Karaciğer Hepatosit Onarımı (Reparatif değişiklikler)

	Karaciğer hepatosit onarımı		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	11	1	12
Grup 2	1	11	12
Toplam	12	12	24

Akciğer dokusunda SF verilen 12 ratın 3'ünde intraalveolar hemoraji saptanırken diğer 9 ratta intraalveolar hemoroji saptanmadı. Ankaferd Blood Stopper verilen 12 ratın ise 11'inde intraalveolar hemoraji saptanmazken birinde intraalveolar hemoraji saptandı. Gruplar arasında akciğer dokusunda intraalveolar hemoraji açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,590$).

Tablo 8. Akciğer Dokusunda İntraalveolar Hemoraji

	Akciğerde intraalveolar hemoraji		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	9	3	12
Grup 2	11	1	12
Toplam	20	4	24

*0: Normal 1: Hafif-Orta 2: Ağır

Akciğer dokusunda SF verilen 12 ratın 10'unda intraalveolar ödem saptanmazken 2'sinde intraalveolar ödem saptandı. Ankaferd Blood Stopper verilen 12 ratın ise 8'inde intraalveolar ödem saptanmazken 4'ünde intraalveolar ödem saptandı. Gruplar arasında akciğer dokusunda intraalveolar ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p= 0,640$).

Tablo 9. Akciğer Dokusunda İntraalveolar Ödem

	Akciğerde intraalveolar ödem		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	10	2	12
Grup 2	8	4	12
Toplam	18	6	24

*0: Normal 1: Hafif-Orta 2: Ağır

Akciğer dokusunda SF verilen 12 ratın 9'unda nötrofil lökosit infiltrasyonu saptanmazken 3'ünde hafif düzeyde infiltrasyon saptandı. Ankaferd Blood Stopper verilen 12 ratın 6'sında nötrofil lökosit infiltrasyonu saptanmazken 6'sında hafif düzeyde infiltrasyon saptandı. Gruplar arasında akciğerde nötrofil lökosit infiltrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p= 0,400$).

Tablo 10. Akciğer Dokusunda Nötrofil Lökosit İnfiltrasyonu

	Akciğerde nötrofil lökosit infiltrasyonu		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	9	3	12
Grup 2	6	6	12
Toplam	12	12	24

*0: Normal 1: Hafif-Orta 2: Ağır

Serum fizyolojik verilen 12 ratın 10'unun akciğer dokusunda konjesyon saptanırken 2'sinde konjesyon saptanmadı. Ankaferd Blood Stopper verilen 12 ratın ise tümünde akciğer dokusunda konjesyon görüldü. Gruplar arasında akciğer dokusunda konjesyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.478$).

Tablo 11. Akciğer Dokusunda Konjesyon

	Akciğer konjesyonu		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	2	10	12
Grup 2	0	12	12
Toplam	2	22	24

Akciğer dokusunda SF verilen 12 ratın 10'unda amfizematöz genişleme saptanırken 2 ratta ise amfizematöz genişleme saptanmadı. Ankaferd Blood Stopper verilen 12 ratın ise tümünde amfizematöz genişleme saptandı. Gruplar arasında akciğer dokusunda amfizematöz genişleme açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0.478$).

Tablo 12. Akciğer Dokusunda Amfizematöz Genişleme

	Akciğerde amfizematöz genişleme		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	2	10	12
Grup 2	0	12	12
Toplam	2	22	24

*0: Normal 1: Hafif-Orta 2: Ağır

Böbrek dokusunda SF verilen 12 ratın 6'sında tübüler dilatasyon saptanırken diğer 6 ratta tübüler dilatasyon görülmedi. Ankaferd Blood Stopper verilen 12 ratın ise 7'sinde tübüler dilatasyon gözlenmezken 5'inde tübüler dilatasyon saptandı. Gruplar arasında böbrek dokusunda tübüler dilatasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p= 1.0$).

Tablo 13. Böbrek Dokusunda Tübüler Dilatasyon

	Böbrekte tübüler dilatasyon		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	6	6	12
Grup 2	7	5	12
Toplam	13	11	24

*0: Normal 1: Hafif-Orta 2: Ağır

Böbrek dokusunda SF verilen 12 ratın 11'inde proteinöz tıkaç saptanırken, ABS verilen 12 ratın 10'unda proteinöz tıkaç saptandı. Gruplar arasında böbrek dokusunda proteinöz tıkaç açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p= 1,0$).

Tablo 14. Böbrek dokusunda proteinöz tıkaç

	Böbrekte proteinöz tıkaç		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	1	11	12
Grup 2	2	10	12
Toplam	3	21	24

*0: Normal 1: Hafif-Orta 2: Ağır

Böbrek dokusunda SF verilen 12 ratın 6'sında konjesyon saptanmazken 6'sında konjesyon saptandı. Ankaferd Blood Stopper verilen 12 ratın ise 4'ünde konjesyon saptanmazken 8'inde konjesyon saptandı. Gruplar arasında böbrek dokusunda konjesyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p= 0,680$).

Tablo 15. Böbrek dokusunda konjesyon

	Böbrekte konjesyon		Toplam
	0*	1*	
Grup 1	6	6	12
Grup 2	4	8	12
Toplam	10	14	24

*0: Normal 1: Hafif-Orta 2: Ağır

5. TARTIŞMA

Kanser hastalarında kemoterapiye bağlı gelişen nötropeni hayatı tehdit edici olabilmekte ve geniş spektrumlu ampirik antibiyotiklerin kullanımını gerektirebilmektedir (231). Yoğun kemoterapi programları ve başarılı kök hücre nakli uygulamaları, koloni stimülan faktör kullanımı, trombosit transfüzyonları, santral kateter uygulamaları, geniş spektrumlu ve etkin antimikrobiyallerin kullanımı ve gelişen tanısal teknikler hematolojik maligniteli hastalarda yaşam süresini uzatmakta; hatta tam kür sağlayabilmektedir. Ancak immünsupresif olarak geçirilen sürenin uzaması ve kemoterapiye bağlı gelişen nötropeni özellikle fırsatçı patojenlerin etken olduğu çok sayıda enfeksiyöz komplikasyona neden olmakta ve kanser hastalarında önemli mortalite ve morbidite nedeni olmaktadır (2, 3, 231). İnvaziv kandida enfeksiyonları bu fırsatçı enfeksiyonların başında yer almaktadır.

İnvaziv kandida enfeksiyonlarının oluşmasında zemin hazırlayıcı faktörlerin tespiti amacıyla Jaffar ve arkadaşlarının 1996-2004 yılları arası yaptığı retrospektif bir çalışmada, 98 kandidemi hastasında çoklu antibiyotik kullanımı (%96), total parenteral beslenme (%83), santral venöz kateter (%52), immünsüpresif tedavi (%26), akut böbrek yetmezliği (%24), komplike abdominal cerrahi girişim(%22), nötropeni (%9) ve flukonazol profilaksisi (%8) en önemli risk faktörleri olarak belirtilmiştir (232).

İnvaziv kandida enfeksiyonlarının en önemli etkeni *C. albicans* olup son yıllarda *albicans* dışı kandida türlerindeki artış dikkati çekmektedir. *Albicans* dışı kandidalara bağlı enfeksiyonların artışı aynı zamanda antifungal direnci ve artmış komplikasyon ve mortaliteyi de beraberinde getirirken; bu artışın en önemli nedeni önceden kullanılan antifungallerdir. Öncesinde flukonazol kullanımı; *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ve *C.*

krusei gelişimine zemin hazırlarken, öncesinde AmB kullanımı ise *C. glabrata* ve *C. lusitaniae* enfeksiyonuna zemin hazırlamaktadır (233).

Pfaller M. ve arkadaşlarının 2004-2008 yılları arasını kapsayan ve 3648 kandidemili hastaya ait epidemiyolojik verileri değerlendirdikleri PATH Allianze çalışmasında *C. albicans* (42,1%) oranla en sık etken olarak saptanırken *C. glabrata* (26.7%), *C. parapsilosis* (15.9%), *C. tropicalis* (8.7%), *C. krusei* (3.4%) oranında etken olarak tesbit edilmiştir. Bu çalışmada da öncesinde antifungal ilaç kullanımı *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ve *C. krusei* oranlarındaki artışta en önemli risk faktörü olarak gösterilmiştir. Ayrıca Fransa’da son yıllarda artan kaspofungin kullanımının *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ve *C. krusei* suşlarında kaspofungine ait MİC değerlerinde artışa neden olduğu aynı çalışmada bildirilmiştir (141).

Günümüzde fungal enfeksiyonların tedavisi halen büyük bir sorun oluşturmaktadır. Mevcut ajanlarla ilgili yetersiz etkinlik, direnç gelişimi ve toksisite sorunu invaziv kandida enfeksiyonlarının tedavisinde yeni antifungal ajanlara gereksinim duyulmasının en önemli nedenlerini oluşturmaktadır (234).

İnvaziv kandida enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antifungal ilaçlar polienler (amfoterisin B; konvansiyonel ve lipid formülleri), floro-primidinler (flusitozin), azoller (ketokonazol, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, posakonazol) ve ekinokandinlerdir (kaspofungin, mikafungin, anidulafungin) (235, 236).

Fungal enfeksiyonun tedavisinde kullanılacak antifungal seçiminde, doz ve kullanım süresiyle ilgili veriler yetersiz olup tedavinin başarılı olabilmesi için geniş spektrumlu, konakçıdan daha fazla fungal özgülüğü olan, vücut doku ve sıvılarına iyi dağılım gösteren ilaçlara gereksinim duyulmakta ve bu konudaki çalışmalar yapılmaktadır.

Ankaferd Blood Stopper hemostatik ajan olarak kullanılan bir bitkisel ekstrakttır. *Thymus vulgaris* (kekik), *Glycyrrhiza glabra* (meyan kökü), *Vitis vinifera* (asma), *Alpinia officinarum* (havlıcan) ve *Urtica dioica* (ısırgan otu) bitkilerinin standardize karışımından oluşturulmuştur (7, 8, 200).

Ankaferd Blood Stopper’in hemostaz açısından yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmaları yanında çok sayıda patojen için antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Birçok izolata karşı aktif antibakteriyel etkisi olduğu gösterilmiştir. Ankaferd Blood

Stopper'in antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkinliğine dair yapılan bu çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir (10).

Berktaş ve arkadaşlarının “Ankaferd Blood Stopper; aynı zamanda ideal bir antibiyotik öncülü mü?” adlı çalışmasında, *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* (ATCC 31488), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *P. vulgaris* (ATCC 13315), *S. aureus* (ATCC 29213) ve *E. faecalis* (ATCC 29212) suşlarından oluşturulan süspansiyonlara ABS ilave edilmiş. Oluşturulan karışımdan yapılan 1, 2, 4 ve 24. saat sonraki logaritmik ekimlerin hiçbirisinde üreme saptanmamış ve bu 6 standart suşun hepsine karşı ABS'nin tam bir bakteriyolitik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda da ABS'nin çok güçlü bir antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu belirtilmiştir (237).

Ankaferd Blood Stopper'in *in vitro* antibakteriyel etkinliği vankomisin ve imipenemle karşılaştırılmıştır. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi'nde hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen MRSA, *Enterococcus spp.*, *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* suşlarının %92,8'inde agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle >10 mm inhibisyon zon çapında belirgin antibakteriyel etkinlik gösterilmiştir. Kontrol antibiyotikle kıyaslanarak yapılan bu çalışma, ABS'nin hastane enfeksiyonu etkenlerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu gösterilmiştir (238).

Ankaferd Blood Stopper'in çeşitli çok ilaca dirençli mikroorganizmalara karşı *in vitro* antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla Fışgın ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 102 hastadan elde edilen *A. baumannii*, MRSA, VRE, GSBL pozitif *E. coli* ve *Klebsiella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşlarının da bulunduğu izolatlar üzerinde ABS'nin etkinliğini agar kuyu difüzyon metoduyla çalışmışlardır. Sonuçta gram negatif ve gram pozitif tüm mikroorganizmalardaki ABS'ye karşı oluşan zon çapları 10-18 mm arasında saptanmış olup, bu durum ABS'nin antimikrobiyal olarak etkin olduğunu göstermiştir (239).

Deveci ve arkadaşlarının *M. tuberculosis* izolatlarına karşı ABS'nin *in vitro* antitüberküloz etkinliğini araştırdıkları bir çalışmada ABS MİC değerleri agar dilüsyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Ankaferd Blood Stopper'in topikal olarak kullanılan solüsyonunun yaklaşık 16 kat dilüe edilmiş konsantrasyonu, tüberküloz basillerine karşı *in vitro* olarak etkili bulunmuş ve ABS'nin kütanöz tüberkülozda,

özellikle çok ilaca dirençli *M. tuberculosis*'in neden olduğu osteomyelit ve lenfadenit gibi tüberküloz odaklarının cerrahi debridmanında antitüberküloz ilaçlarla birlikte destekleyici amaçla başarıyla kullanılabileceğini sonucuna varılmıştır (10).

Ankaferd Blood Stopper'in antifungal etkinliğinin tanımlanması açısından çeşitli çalışmalar yapılmıştır (228, 229). Akkoç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, agar kuyu difüzyon testine tabi tutulan ABS'nin, *Zygosaccharomyces bailii*, *C. albicans*, *Mucor rouxii*, *Mucor brunnea*, *A. flavus* ve *A. parasiticus*'a yüksek düzeyde antifungal etkinlik gösterdiği bulunmuştur. Bu bulgular antifungal potansiyeli taşıdığına işaret etmektedir (228).

Çiftçi ve arkadaşları ABS'nin *in vitro* antifungal etkinliğini inceledikleri çalışmada ise ABS'yi değişik konsantrasyonlarında besiyerine eklemişlerdir. Ankaferd Blood Stopper konsantrasyonu arttıkça kandida izolatlarının büyümesinin daha yüksek oranda engellendiği gözlenmiştir. Aynı çalışmada ABS değişik oranlarda dilüe edilmiş ve besiyerine eklenmiştir. Dilüe ABS formlarının ise kandida izolatlarının büyümesini inhibe etmediği görülmüştür (240).

Literatürler incelendiğinde ABS'nin *in vivo* ortamdaki etkinliğini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Literatür araştırmasında ABS'nin karaciğer dokusu üzerine olan etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalar değerlendirilmiştir. Ankaferd Blood Stopper'in mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte bir takım proteinler üzerinden karaciğer dokusu üzerinde antiinflamatuvar ve antioksidan etkinliği olduğu belirtilmiştir (241). İçeriğindeki bileşenlerinden *Glycyrrhiza glabra* antiinflamatuvar ve antioksidan; *Thymus vulgaris* antioksidan etkinliğe sahip olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

Jian-yuan Li ve arkadaşlarının karaciğer hastalıklarının tedavisinde Glycyrrhizic asid-literatür incelemesinde Glycyrrhizic asidin antiviral, antialerjik, antiinflamatuvar etkinliğine sahip olduğu ve bu etkinliğini TNF- α salınımının ve myeloperoksidaz aktivitesinin inhibisyonu ve nükleer faktör κ B translokasyonu üzerinden gösterdiği ifade edilmektedir (242).

Grespan R. ve arkadaşları asetaminofenin indüklediği hasarda *Thymus vulgaris* esansiyal yağının tedavi öncesi hepatoprotektif etkisini deneysel hayvan modelinde incelemişlerdir. *Thymus vulgaris* esansiyal yağının kullanıldığı grupta sinüzoidal konjesyonun daha hafif olduğu, inflamatuvar hücrelerin daha az yoğunlukta

bulunduklarını ve hepatositlerin daha çok korunduğunu tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda *Thymus vulgaris* esansiyal yağının antiinflamatuvar etkinliğiyle kısmen hepatoprotektif etkinliğe sahip olduğu sonucuna varmışlardır (243). Hamzawy M. ve arkadaşlarının yaptığı bir başka hayvan modeli çalışmasında ise aflatoksine maruz ratlarda *Thymus vulgaris* ekstraktının hepatorenalprotektif etkinliğini incelemişlerdir (244). Biyokimyasal parametreler açısından (ALT AST, ALP, AFP) *Thymus vulgaris* verilen grupta kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azalma saptanmıştır. Ayrıca kontrol grubunda SOD ve GPx 'te önemli ölçüde azalma MDA'da ise önemli ölçüde artma saptanmış olup *Thymus vulgaris* verilen grupta ise tam tersi bulgular gözlenmiştir. İnflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-1 kontrol grubunda artarken *Thymus vulgaris* verilen grupta azalmıştır. Bu bulgular doğrultusunda *Thymus vulgaris*'in antioksidan antiinflamatuvar ve serbest radikalleri temizleyebilme aktivitesinden dolayı karaciğer ve böbrek dokusu üzerinde koruyucu etkinliği olduğu sonucuna varmışlardır (244).

Bizim çalışmamızda ABS verilen grupta SF verilen grup arasında antifungal etkinlik açısından histopatolojik düzeyde herhangi bir fark saptanmamıştır. Ayrıca literatürde bahsedilen ABS bileşenlerinin ayrı ayrı gösterdikleri bu hepatoprotektif ve antioksidan etkinliği bizim çalışmamızda gösterilememiş olup tam tersi olarak ABS verilen grupta karaciğerde hepatit tablosu ve buna bağlı hepatosit onarımına ait değişiklikler gözlenmiştir.

Ankaferd Blood Stopper'in *in vitro* çalışmalarda antimikrobiyal etkinliği rapor edilmesine rağmen bu çalışmada gruplar arasında belirgin fark olmamasının, ABS'nin yeterli dozda verilememiş veya yeterli kan/serum konsantrasyonun sağlanamamış olmasına bağlı olabileceği düşünüldü. Ayrıca ratlarda kemoterapiye bağlı gastrointestinal mukoza harabiyeti oluşmuş olabileceğinden oral yolla verilen ABS'nin yeterli biyoemiliminin olamadığını da düşündürmüştür. Ankaferd Blood Stopper'in çalışmamızda nötropeniyi sağlamak amacıyla kullanılan siklofosfomid ve sekonder bakteriyel enfeksiyonları önlemek amacıyla verilen amoksisilin ve polimiksin E ile ilaç etkileşimine girerek olası antifungal etkinliğini gösterememiş olabileceği de düşünülmüştür.

Ankaferd Blood Stopper'in *in vivo* antimikrobiyal etkinliğini incelemek amacıyla ABS'nin farmakokinetik ve farmokodinamik yönden de değerlendirilebileceği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

- 1) Karaciğer dokusunda konjesyon açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı
- 2) Karaciğer parankiminde lenfoid infiltrat açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.
- 3) Karaciğer hepatosit onarımı açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.
- 4) Akciğer dokusunda intraalveolar hemoraji açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı
- 5) Akciğer dokusunda intraalveolar ödem açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı
- 6) Akciğer dokusunda nötrofil lökosit infiltrasyonu açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı
- 7) Akciğer dokusunda konjesyon açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- 8) Akciğer dokusunda amfizematöz genişleme açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- 9) Böbrek dokusunda tübüler dilatasyon açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- 10) Böbrek dokusunda proteinöz tıkaç açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- 11) Böbrek dokusunda konjesyon açısından ABS verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

7. ÖZET

Hematolojik malignite hastalarında gelişen febril nötropenik ataklar hastanede yatış gerektirebilen ve ölümle sonuçlanabilen ciddi bir komplikasyondur. Fırsatçı mikroorganizmalar arasında yer alan *Candida albicans* nötropenik hastalarda yüzeysel enfeksiyonlardan çoklu organ tutulumuna kadar ilerleyebilen klinik tablolara yol açmakta ve önemli bir morbidite ve mortalite etkeni olmaktadır. Antifungal ilaçlara karşı artan direnç sıklığı ve mevcut yan etkiler antifungal tedavi alanında yeni seçeneklere ihtiyaç duyurmaktadır. Bu amaçla çeşitli bitkilerden elde edilen preparatların yeni antifungaller olarak kullanılmasıyla ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

Ankaferd Blood Stopper (ABS) *Thymus vulgaris* (kekik), *Glycyrrhiza glabra* (meyan kökü), *Vitis vinifera* (asma), *Alpinia officinarum* (havlıcan) ve *Urtica dioica* (ısırgan otu) bitkilerinin standardize karışımından oluşturulmuş bir üründür. Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılmakta olan ABS'nin *in vitro* olarak aktif antibakteriyel ve antifungal etkinliğinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

Çalışmamızda ABS'nin *in vivo* ortamda kandida enfeksiyonu üzerine olan histopatolojik etkinliği incelenmiştir. Bu amaçla 24 adet rat siklofosamid enjeksiyonu ile nötropenik hale getirildi. Ardından intraperitoneal olarak *candida albicans* inoküle edilerek sistemik kandida enfeksiyonu oluşturuldu. 12'şer iki gruba ayrılan ratlardan bir gruba oral ABS solüsyonu verilirken diğer gruba oral serum fizyolojik verildi. Yedi günün sonunda kurban edilen ratların karaciğer, akciğerler ve böbrekleri çıkarılarak patolojik olarak incelendi. Çalışma sonucunda ABS alan ve almayan grupların sistemik kandida enfeksiyonu sonrası organ histopatolojik bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Ankaferd Blood Stopper'in *in vitro* alıřmalarda antimikrobiyal etkinlięi rapor edilmesine raęmen bu çalıřmada gruplar arasında belirgin fark olmaması ABS'nin yeterli dozda verilememiř olması ve yeterli kan/serum konsantrasyonun saęlanamamıř olmasına baęlı olabileceęi dūřınıldū. Ayrıca ratlarda kemoterapiye baęlı gastrointestinal mukoza harabiyeti oluřmuř olabileceęinden oral yolla verilen ABS'nin yeterli biyoemiliminin olmamıř olabileceęini de dūřündürmūřtır.

Ankaferd Blood Stopper'in *in vivo* antimikrobiyal etkinliğini incelemek amacıyla ABS'nin farmakokinetik ve farmokodinamik yōnden de değerlendirilebileceği daha kapsamlı alışmalara ihtiyaç vardır.

8.ABSTARCT

Febrile neutropenic episodes in patients with hematologic malignancy is a serious complication that can require hospitalization and can lead to death. An opportunistic microorganisms *Candida albicans* may leads to manifestations of superficial infection to multiple organ involvement in neutropenic patients and cause morbidity and mortality. Resistance against antifungal drugs and adverse effects of antifungals lead to need for new options in antifungal therapy. For this reason there is a lot of new studies about the usage of plant extracts as antifungal preparations.

Ankaferd Blood Stopper (ABS) is a product formed from a standardized mixture of *Thymus vulgaris* (thyme), *Glycyrrhiza glabra* (licorice), *Vitis vinifera* (grapevine), *Alpinia officinarum* (galanga) and *Urtica dioica* (stinging nettle). Ankaferd Blood Stopper is used as a hemostatic agent in Turkish medicine and antibacterial and antifungal activity have been demonstrated in several *in vitro* studies.

Our study investigated histopathological effects of ABS on *in vivo* candida infection. 24 rats became neutropenic by cyclophosphamide injection. After that *c. albicans* inoculated intraperitoneally and systemic candida infection created. Rats divided into two group. Oral ABS solution was given to first group and oral saline was given to other group. At the end of seven days the rats were sacrificed, the liver, lungs and kidneys were removed and examined pathologically. At the end of the study we found that there was no statistically significant difference between two groups histopathologic findings of organs after systemic candida infection ($p > 0.05$).

Antimicrobial activity of ABS *in vitro* studies have been reported. But in our study there was no statistically significant difference between the groups. This may result from inadequate dosage and blood / serum concentrations of ABS. In addition, we suggest that the gastrointestinal mucosa injury of rats due to chemotherapy may cause insufficient absorption of oral ABS.

In order to examine the *in vivo* antimicrobial efficacy of ABS we need more extensive studies to evaluate the pharmacokinetics and pharmacodynamics of ABS.

9.KAYNAKLAR

1. Klastersky J. Empirical treatment of sepsis in neutropenic patients. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16: 131-3
2. De Pauw BE, Verweij P. Infection in patients with hematologic malignancies In Mandell GL ,Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*. Philadelphia:Churchill Livingstone 2005:3432-3441.
3. Viscoli C. The evolution of the empirical management of fever and neutropenia in cancer patients. *J Antimicrob Chemother* 1998 ;41 Suppl D:65-80
4. Kandemir Ö, Şahin E, Tiftik N, Kaya A. Febril nötropenik kanser hastalarında gözlenen infeksiyonlar ve tedavi başarısını etkileyen faktörlerin değerlendirilmesi. *ANKEM Derg* 2006: 20.2 ; 98-102.
5. Şahin E, Ersöz G, Otağ F, Kandemir Ö, Tiftik N, Kaya A et al. Hematolojik maligniteli nötropenik ateşli hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2006: 20.2 :121-124
6. Andriole VT. Current and future antifungal therapy: New targets for antifungal therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16: 317–321
7. Tasdelen Fisgin N, Tanriverdi Cayci Y, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B et al. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper *Fitoterapia* 2009; 80.1: 48-50.
8. Haznedaroglu IC, Goker H. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper (Response). *J Int Med Res*. 2008; 36: 1448-1449

9. Uçar Albayrak C, Çalışkan Ü (2008). Haemostatic effects of Ankaferd BloodStopper. J Int Med Res 36:1447-1448.
10. Deveci A, Çoban AY, Çaycı YT, Acicbe Ö, Fışgın NT, Akgüneş A. et al. Bir Bitki Ekstresi Olan Ankaferd Blood Stopper'in *Mycobacterium tuberculosis* İzolatlarına Karşı İn Vitro Etkinliği Mikrobiyol Bul 2013; 47 (1): 71-78.
11. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA. et al. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2011;52(4):e56–e93.
12. Bodey GP, Buckley M, Sahte YS, Freireich EJ.. Quantitive relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. Ann Intern Med 1996;64:328-340
13. Pizzo, PA. Management of fever in patients with cancer and treatment-induced neutropenia. N Engl J Med 1993; 328: 1323.
14. Klastersky J. Therapy of infections in cancer patients. In: Klastersky J, Schimpff SC, Senn HJ, eds. Handbook of supportive care in cancer. New York: Marcel Dekker, 1995;1:1–44
15. Armstrong, D. Empiric therapy for the immunocompromised host. Rev Infect Dis 1991; 13 Suppl 9:S763-9
16. Viscoli C, Bruzzi P, Castanola E, L. Boni, T. Calandra, H. Gaya et al. Factors associated with bacteremia in febrile, granulocytopenic patients. The International Antimicrobial therapy Cooperative Group (IATCG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Eur J Cancer 1994;4: 430-7.

17. De Pauw BE, Blijlevens NMA, Donnelly JP. Infections in the Immunocompromised Host: General Principles. In Mandell GL, Bennet JE, Dolin R editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010; 3781-92.

18. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2009;49:1-45

19. Bow EJ. Infection risk and cancer chemotherapy: the impact of the chemotherapeutic regimen in patients with lymphoma and solid tissue malignancies. J antimicrob Chemother 1998; 41 Supply D:1-5

20. Talcott JA, Siegel RD, Finberg R, Goldman L. Risk assessment in cancer patients with fever and neutropenia: A prospective, two-center validation of a prediction rule. J Clin Oncol 1992; 10: 316-322,

21. Klastersky J, Paesmans M, Rubenstein EB, Boyer M, Elting L, Feld R et al. The Multinational Association for Supportive Care in Cancer risk index: A multinational scoring system for identifying low-risk febrile neutropenic cancer patients. J Clin Oncol 2000; 18: 3038-3051

22. Klastersky J. Management of fever in neutropenic patients with different risks of complications. Clin Infect Dis 2004; 39(Suppl 1):S32–7.

23. Klastersky J, Paesmans M, Georgala A, Muanza F, Plehiers B, Dubreucq L, et al Outpatient oral antibiotics for febrile neutropenic cancer patients using a score predictive for complications. Journal of Clinical Oncology 2006; 24(25):4129-34.

24. Innes H, Lim SL, Hall A, Chan SY, Bhalla N, Marshall E. Management of febrile neutropenia in solid tumours and lymphomas using the Multinational Association for Supportive Care in Cancer (MASCC) risk index: feasibility and safety in routine clinical practice. *Support Care Cancer* 2008; 16: 485-91
25. Klastersky J, Ameye L, Maertens J , Georgala A, Muanza F, Aoun M et al. Bacteraemia in febrile neutropenic cancer patients. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30(Suppl 1): S51–9
26. Febril Nötropeni Çalışma Grubu. Febril Nötropenik Hastalarda Tanı ve Tedavi Kılavuzu. *Flora* 2004; 9(1): 5-28
27. Viscoli C, Varnier O, Machetti M. Infections in patients with febrile neutropenia: epidemiology, microbiology, and risk stratification. *Clin Infect Dis* 2005;40 Suppl 4:S240-S245
28. Cordonnier C, Engelhard D, Ljungman P, Dekker A, Donnelly JP , Einsele H et al.. Definitions of infectious diseases and complications after stem cell transplant. On behalf of the Infectious Diseases Working Party of the EBMT , 2001
29. Swati M, Gita N, Sujata B, Farah J, Preeti M. Microbial etiology of febrile neutropenia. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion* 2010; 26(2); 49-55.
30. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T et al. 2002 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis*. 2002;34: 730–751.
31. Murono K, Hirano Y, Koyano S, Ito K, Fujieda K. Molecular comparison of bacterial isolates from blood with stains colonizing pharynx and intestine in immunocompromised patients with sepsis. *J Med Microbiol*. 2003;52:527–530.

- 32.** : Sipsas NV, Bodey GP, Kontoyiannis DP. Perspectives for the management of febrile neutropenic patients with cancer in the 21st century. *Cancer* 2005;103.(6):1103-1113.
- 33.** Wade JC. Epidemiology and prevention of infection in the compromised host. In: Rubin RH, Young LS (eds). *Clinical Approach to Infection in the Compromised Host*. 3rd ed. New York: Plenum Medical Book Company, 1994. pg.5-31.
- 34.** Sarı R, Bayraktar M, Aydoğdu İ, Şavlı H, Sevinç A, Bayraktar N. Turgut Özal Tıp Merkezi Erişkin Hematoloji Kliniğindeki febril nötropenik ataklarda saptanan infeksiyonların değerlendirilmesi. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 2000;7:30-33
- 35.** Pizzo PA. Management of fever in patients with cancer and treatment-induced neutropenia. *New England Journal of Medicine* 1993;328(18):1323-1332
- 36.** Wisplinghoff H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Current trends in the epidemiology of nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms in hospitals in the United States. *Clin Infect Dis* 2003; 36(9):1103–10.
- 37.** Yadegarynia D, Tarrand J, Raad I, Rolston K. Current spectrum of bacterial infections in patients with cancer. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1144–5
- 38.** Zinner SH. Changing epidemiology of infections in patients with neutropenia and cancer: emphasis on gram-positive and resistant bacteria. *Clinical infectious diseases* 1999; 29(3): 490-494

39. De Pauw BE, Meunier F. Infections in patients with acute leukemia and lymphoma. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Disease. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000:3090
40. Viscoli C. EORTC International Antimicrobial Therapy Group. Management of infection in cancer patients: studies of the EORTC International Antimicrobial Therapy Group (IATG). Eur J Cancer 2002; 38(Suppl 4):S82–7.
41. Kandemir Ö, Şahin E, Tiftik N, Kaya A. Febril nötropenik kanser hastalarında gözlenen infeksiyonlar ve tedavi başarısını etkileyen faktörlerin değerlendirilmesi. ANKEM Derg.2006; 20: 98-102..
42. Akova M. Etiology of bacterial infections in cancer patients in Europe: An ever changing scenario, Clin Microbiol Infect 2002;8(Suppl 1):50
43. Bolaman Z. Febril nötropeni . XXXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi Bildiri kitabı.2011 Sayfa 40-46
44. Giamarellou H, Antoniadou A. Infectious complications of febrile leukopenia. Infect Dis Clin North Am 2001;15(2):457–482
45. Cordonnier C, Buzyn A, Leverger G, Herbrecht R, Hunault M, Leclercq R, et al. Epidemiology and risk factors for gram-positive coccal infections in neutropenia: Towards a more targeted antibiotic strategy. Clin Infect Dis 2003;36:149-15
46. Öztürk R. Febril Nötropenide Yeni Etkenler ve Antimikrobiklere Karşı Direnç.3.Febril Nötropeni Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu 2004:15-25
47. Kanamaru A, Tatsumi Y. Microbiological data for patients with febrile neutropenia. Clinical infectious diseases 2004;39 : S7-S10

48. Ramphal R. Changes in the etiology of bacteremia in febrile neutropenic patients and the susceptibilities of the currently isolated pathogens. *Clin Infect Dis*. 2004;39 (1):S25-31.
49. Gur D, Haşcelik G, Aydın N, Telli M, Gültekin M, Ogülnc D et al. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 surveillance study of 2007. *J Chemother*. 2009; 21(4): 383-9
50. Bown EJ. Fluoroquinolones, antimicrobial resistance and neutropenic cancer patients. *Curr Opin Infect Dis* 2011;24:545-53
51. Rosa, RG, Goldani LZ, Dos Santos PR. Risk factors for multidrug-resistant bacteremia in hospitalized cancer patients with febrile neutropenia: A cohort study. *American journal of infection control* 2014;42: 74-76.
52. Cattaneo C, Antoniazzi F, Casari S, Ravizzola G, Gelmi M, Pagani C, et al. *P aeruginosa* bloodstream infections among hematological patients: an old or new question? *Ann Hematol* 2012;91:1299-304.
53. Morris PG, Hassan T, McNamara M, Hassan A, Wiig R, Grogan L, et al. Emergence of MRSA in positive blood cultures from patients with febrile neutropenia: a cause for concern. *Support Care Cancer* 2008;16:1085-8.
54. Weinstock DM, Conlon M, Iovino C, Aubrey T, Gudiol C, Riedel E et al. Colonization, bloodstream infection, and mortality caused by vancomycin-resistant enterococcus early after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13:615–21.
55. Donnelly JP, De Pauw BE. Infections in the immunocompromised host: general principles. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone 2005: 3421-32

56. Azap A. Farklı İmmünkompramize Hastalarda Etken mikroorganizmalar. Febril Nötropeni, Editörler Akova M, Akan H. Bilimsel Tıp Kitabevi, Ankara .2010;75-95
57. Blijlevens NM, Donally JP, de Pauw BE. Emprical therapy of febrile neutropenic patients with mucositis: challenge of risk based therapy. Clin Microbiol Infect. 2001;7(Supp 4):47-52.
58. Amar S, Rolston KV. Stenotrophomonas maltophilia: changing spectrum of a serious bacterial pathogen in patients with cancer. Clinical Infectious Diseases 2007;45 :1602-1609
59. Ashour HM, El-Sharif A. Microbial spectrum and antibiotic susceptibility profile of gram-positive aerobic bacteria isolated from cancer patients. *Journal of Clinical Oncology* 2007; 25: 5763-5769
60. Valdezate S, Vindel A, Loza E, Baquero F, Canton R. Antimicrobial susceptibilities of unique Stenotrophomonas maltophilia clinical strains. Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45(5): 1581-4.
61. Senol E. Stenotrophomonas maltophilia bacteremia: attributable mortality and length of stay. J Hosp Infect 2004;57(1):1-7.
62. Mathur P, Chaudhry R, Kumar L, Kapil A, Dhawan B. A study of bacteremia in febrile neutropenic patients at a tertiary-care hospital with special reference to anaerobes. *Med Oncol* 2002; 19: 267.
63. Giamarelou H, Antniadou A. Infectious complications of febrile leukopenia. Infect Dis. Clin North AM 2001;15:457-82

64. De Pauw BE, Verweij PE. Infections in patients with hematologic malignancies. Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Philadelphia, 2005: 3432-3441.
65. Sari R, Buyukberber N, Sevinc A, Bayindir Y, Buyukberber S. Brucellosis in the etiology of febrile neutropenia: case report. J Chemother. 2002;14: 88-91
66. Şenol E. Kök Hücre Nakli ve Kanser Hastalarında Antiviral Tedavi Yaklaşımları. 4. Febril Nötropeni Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu, 22-24 Şubat 2007, Ankara.
67. Martino R, Rámila E, Rabella N, Muñoz JM, Peyret M, Portos JM, et al. Respiratory virus infections in adults with hematologic malignancies: a prospective study. Clinical infectious diseases 2003; 36.1: 1-8.
68. Şengel, BE. İnvazif fungal infeksiyonlarda epidemiyoloji." ANKEM Derg 2013;27(Ek 2):138-140
69. Kontoyiannis DP, Mantadakis E, Samonis G. Systemic mycoses in the immunocompromised host: an update in antifungal therapy. Journal of hospital infection 2003; 53.4:243-258.
70. Segal BH, Eric JB, Francisco Menichetti. Fungal infections in nontransplant patients with hematologic malignancies. Infectious disease clinics of North America 2002; 16.4: 935-964
71. Marr, Kieren A., Thomas Patterson, and David Denning. "Aspergillosis: pathogenesis, clinical manifestations, and therapy." Infectious disease clinics of North America 16.4 (2002): 875-894.

72. Wiederhold NP, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 2003; 23.12 :1592-1610.
73. Ener B. Mukormikoz etkenleri. Wilke TA, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:1828-32
74. Bilgin, A. Diğer invaziv Fungal infeksiyonlar *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 2007; 11: 8-12
75. Portugal RD, Garnica M, Nucci M. Index to predict invasive mold infection in high-risk neutropenic patients based on the area over the neutrophil curve. *J Clin Oncol* 2009; 27:3849–54
76. John E, Edwards JR. *Candida* species. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th edition. Pennsylvania, Churchill Livingstone 2000; 2656-2674.
77. Prescott LM., Harley JP, Klein DA., editors. *Microbiology*. Fourth edition. Singapore, McGraw-Hill Companies; 1999: 818-820.
78. Rippon JW. *Medical Mycology*. Eds 2.ed. New York, WB Saunders 1982:484-532
79. De Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. Ascomycetous yeasts Genus in *Candida*. In *Atlas of Clinical Fungi*. 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Delft, Holland, 2000, 180-226
80. Yücel A, Kantarcıoğlu SA. *Candida albicans*ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 1999; 30 (3): 236-246

- 81.** Topçu WA, Çerikcioğlu N. *Candida* Türleri, İçinde: İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2 Etkenlere Göre İnfeksiyonlar, Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.2002 S: 1797-1798
- 82.** Segal E, Elad D. *Candida* species and *Blastoschizomyces capitatus*. in: Ajello L, Hay JR (eds). Topley and Willson's Microbiology and Microbial Infections. Medical Mycology. New York: Oxford University Press, Inc,1998;Vol.4: 423.
- 83.** Meyer S.A, Payne RW, Yarrow D. *Candida* Berkhouit in theYeasts, A Taxonomic Study. eds. C.P. Kurtzman, J.W. Fell. 4th ed. Elsevier, Amsterdam, 1998, 454-573
- 84.** Kurtzman CP, and Fell CW (ed). The Yeasts A Taxonomic Study, 4th ed. Elsevier, New York, 1998; p 13.
- 85.** Hazen KC, Howell SA. *Candida* , *Cryptococcus* ve tıbbi önemi olan diğer mantarlar. Çev. Ed. Başustaoğlu A. Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Atlas Kitabevi, 2009; 1762-1788
- 86.** Murray RP, Baron JE, Jorgensen HJ, Landry LM, Pfaller AM. (Eds) Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Asm Press, Washington 2007; P: 731,
- 87.** Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. 2007; 20:133–63
- 88.** Brandt ME, Warnock DW. Taxonomy and Classification of Fungi. In: Murray PR, Jorgensen JH, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML eds. Manual of Clinical Microbiology. Tenth edition. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 2011 p. 1745-55

- 89.** Hazen KC, Howell SA, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry M L et al. Candida, Cryptococcus, and other yeasts of medical importance. In: Manual of clinical microbiology 2006 Volume 2, (Ed. 9), 1762-1788
- 90.** İnci R. Mantarların yapıları, Üreme Özellikleri ve Sınıflandırılması, In: Ustaçelebi Ş (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999:1015-1021
- 91.** Rinaldi GM .Biology and pathogenicity of Candida species .In: Bodey PG (ed) .Candidiasis, pathogenesis, diagnosis and treatment. New York :Raven Press;2000:1
- 92.** Hazen KC, Howell SA. Candida, Cryptococcus and other yeasts of medical importance. In: Manual of clinical microbiology. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M, Tenover FC, Tenover FC, eds 8th edition. ASM Press: Washington DC 2003:1693-711
- 93.** Dixon DM, Rhodes JC, Fromtling RA. Taxonomy, Classification, and Morphology of the Fungi. In: Manual of clinical microbiology. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M, Tenover FC, Tenover FC, eds 8th edition. ASM Press: Washington DC 2003:pp 1161-1166
- 94.** Mitchell TG. Medical Mycology. In: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, eds. Medical Microbiology. Twenty four edition. USA: McGraw-Hill Companies, 2007 p.621- 657.
- 95.** Willke A, Söyletir G, Doğanay M, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre Enfeksiyonlar, Nobel Tıp Yayınevi, İstanbul, 2. Cilt 2012; 2416-2417
- 96.** Tümbay E: Candida türleri, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.;1081-1086

97. Koç AN. Tıbbi bakımdan önemi olan *Candida* türlerinin mikolojik özellikleri. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu 2002; Simpozyum Kitabı* s. 37-45, Eskisehir.
98. Odds FC. *Candida and Candidosis*, 2nd ed. Bailliere Tindall, London, 1998.
99. Cengiz AT, Mısırlıgil A, Aydın M. Tıp ve Dishekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. *Günes Kitabevi* 2004: 1110-1117
100. Sheperd MG. Biology of *Candida* species, in: Samaranayake LP, MacFarlane TW.(eds). *Oral Candidiasis*. Cambridge: Buttenvorth and Co. Ltd.1990: 11.
101. Fromtling RA, Rhodes JC, Dixon DM: Taxonomy, classification, and morphology of the fungi, “ Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M,Yolken RH. *Manual of Clinical Microbiology*, ASM Press Washington, 8th.edit.2003; 1653-8
102. Poulain D, Jouault T. *Candida albicans* cell wall glycans, host receptors and responses: elements for decisive crosstalk. *Current opinion in microbiology* 2004, 7;342-349
103. Gozalbo D, Roig P, Villamón E, Gil ML et al. *Candida* and Candidiasis: The cell wall as a potential molecular target for antifungal therapy. *Current Drug Targets- Infectious Disorders*. 2004;4:117-135.
104. Ruiz-Herrera J, Elorza MV, Valentín E, Sentandreu R. Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS Yeast Res*. 2006; 6:14–29.
105. Yang YL. Virulence factors of *Candida* species. *J Microbiol Immunol Infect*. 2003;36: 223- 228.

- 106.** Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Candidaların patojenlik belirgenleri. Cerrahpaşa J Med 2000; 31 (3):172- 186
- 107.** İnci R: Candida infeksiyonlarının patogeneğinde konağın rolü, Candida mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı Eskişehir, 2002; 71- 85,
- 108.** Cengiz SA, Us E, Cengiz AT. Slime faktörünün Klinikteki yeri ve önemi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2006;13(3):193-197.
- 109.** Özcan SK. Tıbbi gereçlerle ilişkili Candida biyofilm ve enfeksiyonları. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2007;27:589-600.
- 110.** 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
- 111.** Ramage G, Saville SP, Thomas DP, López-Ribot JL. Candida biofilms: an update. Eukaryot Cell. 2005;4(4):633-638
- 112.** Pittet D, Li N, Woolson RF, Wenzel RP. Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial blood-stream infections: A 6-year validated, population-based model. Clin Infect Dis 1997;24:1068-78.
- 113.** 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.
- 114.** Ener B. Candida infeksiyonlarının patogenezi: etkenin rolü. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Eskişehir, Kongre Kitabı 2002: 65-70.

115. Arıkan S, Sancak B, Hasçelik G, Günalp A. *Candida albicans* izolatlarında fosfolipaz aktivitesinin saptanması. *Flora* 1998; 3: 240-243
116. Mavor AL, Thewes S, Hube B. Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. *Curr Drug Targets* 2005;6:863–874
117. Mishra NN, Prasad T, Sharma N, Payasi A, Prasad R, Gupta DK et al. Pathogenicity and drug resistance in *Candida albicans* and other yeast species. A review. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2007;54:201–35.
118. Tay ST, Abidin IA, Hassan H, Ng KP. Proteinase, phospholipase, biofilm forming abilities and antifungal susceptibilities of Malaysian *Candida* isolates from blood cultures. *Med Mycol*. 2011;49:556–60
119. Zepelin MB, Meyer I, Thomssen R, Würzner R, Sanglard D, Telenti A: HIV Protease inhibitors reduce cell adherence of *Candida albicans* strains by inhibition of yeast secreted aspartic proteases, *J Invest Dermatol* 1999; 113: 747-75
120. Ghannoum MA: Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis, *Clin Microbiol Rev*; 2000;13: 122- 143
121. Morrison CJ, Hurst SF, Reis E. Competitive binding inhibition enzyme-linked immunosorbent assay that uses the secreted aspartyl proteinase of *Candida albicans* as antigenic marker for diagnosis of disseminated candidiasis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*, 2003;10:835-848.
122. Rossoni RD, Barbosa JO, de Oliveira FE, de Oliveira LD, Jorge AO, Junqueira JC. Biofilms of *Candida albicans* serotypes A and B differ in their sensitivity to photodynamic therapy. *Lasers in medical science* 2014; 29(5):1679-84

123. Kremery V, Barnes AJ. Non-albicans *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*, 2002;50:243-60.
124. Polonelli L, Castagnola M, Rossetti DV, Morace G. Use of killer toxin for computer aided differentiation of *Candida albicans* strains. *Mycopathologia* 1985;91:175-9
125. Brawner DL, Anderson GL, Yuen KY. Serotype prevalence of *Candida albicans* from blood culture isolates. *J Clin Microbiol* 1992; 30:149-153.
126. Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(4): 499-511
127. Magill SS, Swoboda SM, Johnson EA, Merz WG, Pelz RK, Lipsett PA et al. The association between anatomic site of *Candida* colonization, invasive candidiasis and mortality in critically ill surgical patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 55(4): 293-301
128. Puzniak L, Teutsch S, Powderly W, Polish L. Has the epidemiology of nosocomial candidemia changed? *Infect Control Hospital Epidemiol* 2004; 25:628-33
129. Denyer SP, Hodges AN, Gorman PS. (Eds), Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology. In: *Fungi*. Kavanagh K, Sullivan D. 7th ed, Blackwell Science. Oxford. 2006; P: 47-50
130. Richardson DM, Warnack WD. (Eds), *Fungal Infection Diagnosis and Management*. In: *Antifungal Drugs*. Blackwell Science. Oxford. 3th ed. 2006; P: 29-39.

- 131.** Eschenauer G, Depestel DD, Carver PL. Comparison of echinocandin antifungals. *Ther Clin Risk Manag.* 2007 Mar;3(1):71-97.
- 132.** Krcmery V, Barnes AJ. Non-albicans *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*, 2002; 50(4): 243-60.
- 133.** Sav H, Demir G, Atalay MA, Koç AN. Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2013; 175.
- 134.** Hachem R, Hanna H, Kontoyiannis D, Jiang Y, Raad I . The changing epidemiology of invasive candidiasis. *Cancer* 2008; 112.11 : 2493-2499.
- 135.** Esen Ş. Yoğun bakımda fungal enfeksiyonlar. *Fungal İnfeksiyonlar ve Tedavisi* Arman D, Odabaşı Z (editorler). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2009; 125-135
- 136.** Koçak BY, Kuloglu F, Celik AD, Akata F. Bir üçüncü basamak hastanesinde erişkin kandidemi olgularının epidemiyolojik özellikleri ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2011;45:489-503.
- 137.** Güntekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy N, Aydın. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi. *Ankem Derg* 2010;24:202-8.
- 138.** Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B et al. Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 1999; 28 (5): 1071-9.

- 139.** Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, Azie N, Meier-Kriesche HU, Quan SP et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004–2008. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2012 ;74.4: 323-331.
- 140.** White MH. The contribution of fluconazole to the changing epidemiology of invasive candida infections. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (6): 1129-30.
- 141.** Shokohi T , Nouraei SM, Afsarian MH, Najafi N, Mehdipour S. Fungal Prosthetic Valve Endocarditis by *Candida parapsilosis*: A Case Report. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2014;.7.3 :9428
- 142.** Richardson MD, Warnock DV. Superficial Candidosis. in: *Fungal infection, Diagnosis and Management*. (2nd ed.) Blackwell Science, 1997;78.
- 143.** Poyraz Ö. Fırsatçı enfeksiyon oluşturan mantarlar. Genel ve Özel Tıbbi Mikoloji. Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, No. 101. Sivas, 2006:129-152
- 144.** 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
- 145.** Romani L. Immunology of invasive candidiasis. In: Calderone RA, editor. *Candida and Candidiasis*. 1th ed. Washington DC: American Society for Microbiology press, 2002: 223-241.
- 146.** Shoham S, Levitz SM. The immun response to fungal infections. *Br J Haematol*. 2005;129:569-582.

- 147.** Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr, Calandra TF, et al. Clinical practice guidelines for the management candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases*, 2009, 48.5: 503-535.
- 148.** Dupont BF, Lortholary O, Ostrosky-Zeichner L, Stucker F, Yeldandi V .Treatment of candidemia and invasive candidiasis in the intensive care unit: post hoc analysis of a randomized, controlled trial comparing micafungin and liposomal amphotericin B. *Crit Care* 2009; 13.5: R159.
- 149.** Pullukçu H, Yapar N. Kandida Enfeksiyonlarında Kılavuzlar ve Gerçek Hayat. Mantar simpozyumu 11.Kandida bilimsel programı 2011:104.
- 150.** JE. Candida Species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R.(eds) *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Philadelphia Churchill Livingstone 2000: 2656-74.
- 151.** Richardson MD, Warnock DW. Deep Candidosis. In: *Fungal infection, Diagnosis and Management* (2nd ed.) Blackwell Science, 1997;131.
- 152.** Öztürk R, Çelik AD. Febril Nötropenik Hastalarda İnvaziv Kandida Enfeksiyonları . Febril Nötropeni, Editörler Akova M, Akan H. Bilimsel Tıp Kitabevi, Ankara 2010; 415-431
- 153.** Roilides E, Uhlig K, Venzon D, Pizzo PA, Walsh TJ. Neutrophil oxidative burst in response to blastoconidia and pseudohyphae of *Candida albicans*: augmentation by granulocyte colony-stimulating factor and interferon- γ . *Journal of infectious diseases* 1992; 166.3: 668-673.

- 154.** Hope WW, Drusano GL, Moore CB, Sharp A, Louie A, Walsh TJ. et al. Effect of neutropenia and treatment delay on the response to antifungal agents in experimental disseminated candidiasis. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2007; 51.1 :285-295
- 155.** Sims CR., Ostrosky-Zeichner L, Rex JH .Invasive candidiasis in immunocompromised hospitalized patients. *Archives of medical research* 2005; 36.6: 660-671.
- 156.** Uzun Ö. Kemik İliği Transplantasyonu ile İlişkili İnfeksiyonlar . *Hastane infeksiyonları dergisi* 1999; 3
- 157.** Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM ,Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA. Risk factors for candida l bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 177-86.
- 158.** Tollemar J. Fungal infections. In: Atkinson K (ed). *Clinical bone marrow and blood stem cell transplantation* 2nd edition. Cambridge: Cambridge University Press; 2000. 746-57.
- 159.** Alıcı Ö, Akbaş E, Alıcı S. Kanser hastalarında fırsatçı enfeksiyonlar. *Türk Onkoloji Dergisi* 2008; 23, 3: 153-162
- 160.** Ruping MJ, Vehreschild JJ, Cornely OA. Patients at high risk of invasive fungal infections: when and how to treat. *Drugs*. 2008;68(14):1941-62.
- 161.** Klastersky J, Aoun M. Opportunistic infections in patients with cancer. *Ann Oncol* 2004;15 (14):329-35.

- 162.** Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr , Calandra TF, Edwards JE Jr et al. Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009; 48(5):503-35.
- 163.** Ruping MJ, Vehreschild JJ, Cornely OA. Patients at high risk of invasive fungal infections: when and how to treat. *Drugs*. 2008;68(14):1941-62
- 164.** Kontoyiannis DP, Luna MA, Samuels BI, Bodey GP. Hepatosplenic candidiasis. A manifestation of chronic disseminated candidiasis. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14: 721-39.
- 165.** Rammaert B, Desjardins A, Lortholary O .New insights into hepatosplenic candidosis, a manifestation of chronic disseminated candidosis. *Mycoses* 2012; 55.3: e74-e84.
- 166.** Karthaus M, Hebart H, Einsele H , Schaefer H, Scheel-Walter H, Buchheidt D et al. Long-term survival in patients with acute leukemia and chronic disseminated candidiasis despite minimal antileukemic therapy. *Haematologica* 2006; 91: 1422–3.
- 167.** Masood A, Sallah S. Chronic disseminated candidiasis in patients with acute leukemia: emphasis on diagnostic definition and treatment. *Leuk Res* 2005; 29: 493–501.
- 168.** Sallah S, Smelka RC, Whbie R, Sallah W, Nguyen NP, Vos P. Hepatosplenic candidiasis in patients with acute leukemia. *Br J Haematol* 1999; 106: 697-701
- 169.** Sallah S, Wan JY, Nguyen NP, Vos P, Sigounas G. Analysis of factors related to the occurrence of chronic disseminated candidiasis in patients with acute leukemia in a non-bone marrow transplant setting: a follow-up study. *Cancer* 2001; 92: 1349–53

170. Roilides E, Sein T, Schaefele R, Chanock SJ, Walsh TJ. Increased serum concentrations of interleukin-10 in patients with hepatosplenic candidiasis. *J Infect Dis* 1998;178:589–92
171. T.L. Johnson, J.L. Barnett, H.D. Appelman, T. Nostrant Candida hepatitis, histopathologic diagnosis *Am J Surg Pathol*, 1988;12:716–720
172. Chen CY, Chen YC, Tang JL, Yao M, Huang SY, Tsai W et al. Hepatosplenic fungal infection in patients with acute leukemia in Taiwan: incidence, treatment, and prognosis. *Annals of hematology* 2003;82.2: 93-97.
173. Sürücüoğlu S. Sistemik azoller ve amfoterisin B'nin yeni formülasyonları 1.Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, Kongre Kitabı, Tumbay E, İnci R, Hilmioğlu S, Aydemir Ş (eds), Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1999: 183-186.
174. Kiraz N.Antifungal tedavide yenilikler, Türkiye Klinikleri *J Pharmacol-Special Topics* 2003;1(2):186-93
175. Meis JFM, Verweij PE. Current management of fungal infections. *Drugs* 2001;61:13-25.
176. Steinbach WJ, Stevens DA. Review of newer antifungal and immunomodulatory strategies for invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2003;37(Suppl 3):157-87
177. Wong-Beringer A, Jacobs RA, Guglielmo BJ. Lipid formulations of amphotericin B: Clinical efficacy and toxicities. *Clin Infect Dis* 1998;27:603-18
178. Murray PR, Rosenthal KS, Phaller MA. Antifungal Agents. In: Murray PR, Rosenthal KS, Phaller MA, eds. *Medical Microbiology*. Sixth Edition. Philadelphia, Mosby Elsevier; 2009 p.701–713

- 179.** Arikan S, Rex JH. Antifungal Agents. In: Murray PR, Jorgensen JH, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML eds. Manual of Clinical Microbiology. Ninth edition. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 2007 p.1949–1960.
- 180.** White TC. Mechanisms of Resistance to Antifungal Agents. In: Murray PR, Jorgensen JH, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML eds. Manual of Clinical Microbiology. Ninth edition. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 2007 p.1961–1971.
- 181.** Slain D, Rogers PD, Cleary JD, Chapman SW. Intravenous itraconazole. Ann Pharmacother 2001;35:720-9.
- 182.** Girmenia C. Azoles. Mycoses 2011; 54(Suppl 2):25-26.
- 183.** Moran G, Coleman D, Sullivan D. An introduction to the medically important Candida species In: Calderone CA and Clancy CJ, eds. Candida and Candidiasis. Second edition. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 2012 p.11-25.
- 184.** Morschhäuser J. The genetic basis of fluconazole resistance development in Candida albicans. Biochim Biophys Acta. 2002;1587:240–8.
- 185.** Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, Rodloff A, Fu W, Ling TA; Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of Candida Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. J Clin Microbiol. 2010;48:1366-77.
- 186.** Sabo JA, Abdel-Rahman SM. Voriconazole: A new triazole antifungal. Ann Pharmacother 2000;34:1032-43.

- 187.** Kathiravan MK, Salake AB, Chothe AS, Dudhe PB, Watode RP, Mukta MS, Gadhwe S. The biology and chemistry of antifungal agents: a review. *Bioorg Med Chem.* 2012;20:5678-98.
- 188.** Edlind TD, Sarıbaş Z, Arıkan S. Antifungal Direncin Moleküler Yöntemlerle Saptanması. In: Persing DH, Tenover FC, Versolovic J, Tang Y-W, Unger ER, Relman DA, Tekeli A, Ustaçelebi Ş. editörler. *Moleküler Mikrobiyoloji Tanı Prensipleri ve Uygulamalar.* Ankara, Palme Yayıncılık; 2006 p. 569–576
- 189.** Eschenauer G, Depestel DD, Carver PL. Comparison of echinocandin antifungals. *Ther Clin Risk Manag.* 2007 Mar;3(1):71-97. *Ther Clin Risk Manag.* 2007 Mar;3(1):71-97.
- 190.** Cleary JD. Echinocandins: pharmacokinetic and therapeutic issues. *Curr Med Res Opin.* 2009 Jul;25(7):1741-50.
- 191.** Liu S, Hou Y, Chen X, Gao Y, Li H, Sun S et al. Combination of fluconazole with non-antifungal agents: A promising approach to cope with resistant *Candida albicans* infections and insight into new antifungal agent discovery. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2014; ;43(5):395-402
- 192.** Küçükoğlu K. Antifungal tedavide son gelişmeler , *Ankara Ecz. Fak. Derg.* 2008;37 (1) :63 - 90,
- 193.** Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med* 2006; 27: 1-93.
- 194.** Meng F, Zuo G, Hao X, Wang G, Xiao H, Zhang J, et al. Antifungal activity of the benzo[c]phenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus* Linn against resistant clinical yeast isolates. *J Ethnopharmacol* 2009; 125: 494-6.

195. Webster D, Taschereau P, Belland RJ, Sand C, Rennie RP. Antifungal activity of medicinal plant extracts; preliminary screening studies, J Ethnopharmacol 2008; 115: 140-6.
196. ABS isminin geleneksel kökeni nedir? : <http://www.ankaferd.com/ankaferd.php>
- 197.199. Batislam, H. Dilek. Divan Şiirinin Mitolojik Kuşları: Hüma, Anka ve Simurg. Türk Kültürü 2002:7.
200. Haznedaroglu IC. Time to take a healthier view of history. Nature. 1998; 396:108.
201. Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, Kirazli S, Akman U, Ozturk Y et al. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract, Ankaferd Blood Stopper. Blood. J Int Med Res. 2008; 36: 163-70
202. Fakılı O, Özgüven M. Türkiye’de adı kekik (Thymus Vulgaris L.) konusunda yapılan çalışmaların envanteri." Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi Yıl:2012 Cilt:27-3
203. Thomson Healthcare Inc. Urtica dioica. PDR for Herbal Medicines. 4th edition. Joerg Gruenwald, PhD, Thomas Brendler, BA, Christof Jaenicke, MD, 2007; 792–797
204. Al-Bayati, FA. Synergistic antibacterial activity between Thymus vulgaris and Pimpinella anisum essential oils and methanol extracts. Journal of Ethnopharmacology 2008; 116.3 403-406.
205. Thomson Healthcare Inc. *Thymus vulgaris*. PDR for Herbal Medicines. 4th edition. Joerg Gruenwald, PhD, Thomas Brendler, BA, Christof Jaenicke, MD, 2007:846-847

206. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus Vulgaris* L) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005; 91: 131–134.
207. Çınar İ. Sıcaklık ve Sürenin Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) Ekstraksiyonuna Etkisi ve Ekstraksiyon Kinetiğinin Modellenmesi. *Electronic Journal of Food Technologies* 2012;7: 21-30.
208. Thomson Healthcare Inc. *Glycyrrhiza glabra*. PDR for Herbal Medicines. 4th edition. Joerg Gruenwald, PhD, Thomas Brendler, BA, Christof Jaenicke, MD, 2007; 522–530
209. Vaya J, Belinky PA , Aviram M. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. *Free Rad Biol Med.* 1997; 23: 302–313.
210. Hatano T, Shintani Y, Aga Y, Shiota S, Tsuchiya T, Yoshida T. Phenolic constituents of licorice. VII. Structures of glicophenone and glicoisoflavone, and effects of licorice phenolics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Chem Pharm Bull* (Tokyo) 2000; 48(9): 1286-1292
211. Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza Glabra*. *Int Immunopharmacol.* 2006; 6: 494–498.
212. Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus, *Lancet*, 2003; 361(9374): 2045-2046.
213. Fu B, Liu J, Li H., Li L., Lee FS, Wang, X. The application of macroporous resins in the separation of licorice flavonoids and glycyrrhizic acid, *Journal of Chromatography A*. 2005; 1089: 18–24.

- 214.. Thomson Healthcare Inc. *Vitis vinifera*. PDR for Herbal Medicines. 4th edition. Joerg Gruenwald, PhD, Thomas Brendler, BA, Christof Jaenicke, MD, 2007; 405–410.
215. Barka EA, Belarbi A, Hachet C, Nowak J, Audran JC. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth- promoting rhizobacteria. *FEMS Microbiol Lett*. 2000; 186: 91-95.
216. Nutall SL, Kendall MJ, Bombardelli E, Morazzoni P. An evaluation of the antioxidant activity of a standardized Grape Seed extract, Leucoselect. *J Clin Pharm Ther*. 1998; 23: 385–389
217. Thomson Healthcare Inc. *Lesser galangal*. PDR for Herbal Medicines. 4th edition. Joerg Gruenwald, PhD, Thomas Brendler, BA, Christof Jaenicke, MD, 2007: 520–521.
218. Eumkeb G,Sakdarat S, Siriwong S. Reversing β -lactam antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with galangin from *Alpinia officinarum* Hance and synergism with ceftazidime. *Phytomedicine* 2010: 18.1; 40-45.
219. Lee JS, Kim KA ,Jeong SH, Lee SG, Park HJ, Kim NJ et al. Anti-inflammatory, anti-nociceptive, and anti-psychiatric effects by the rhizomes of *Alpinia officinarum* on complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats. *Journal of ethnopharmacology* 2009: 126.2 ;258-264.
220. Matsuda H, Ando S,Kato T, Morikawa T, Yoshikawa M. Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids forthe activity. *Bioorg Med Chem*. 2006; 14: 138–142.

221. Uncini Manganelli RE, Zaccaro L, Tomei PE. Antiviral activity in vitro of *Urtica dioica* L. *Parietaria diffusa* M. et K. and *Sambucus nigra* L. *Journal of ethnopharmacology* 2005; 98.3 : 323-327.
222. Balzarini J, Neyts J, Schols D, Mitsuaki H, Damme VE, Peumans W et al. The mannose-specific plant lectins from *Cymbidium* hybrid and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine) specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication in vitro. *Antiviral research* 1992;18.2: 191-207
223. Bombardelli E, Morazzoni P: *Urtica dioica* L *Fitoterapia* 1997;68(5):387-402,
224. Chrubasik S, Enderlein W, Bauer R. Evidence for the antirheumatic effectiveness of herba *Urtica dioica* et in acute arthritis: A pilot study. *Phytomedicine*. 1997; 4: 105–108
225. Riehemann K, Behnke B, Klaus SO. Plant extracts from stinging nettle *Urtica dioica*, an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF- κ B. *FEBS letters* 1999;442.1 :89-94.
226. Öner AF, Kaya A, Temel H, Melek M, Kamuran K, Epçapan S et al. Yaygın damar içi pıhtılaşması saptanan bir hastada yüzeysel Ankaferd Blood Stopper kullanımı. *Turkish Pediatrics Archive/Turk Pediatri Arsivi* 2010;45.1;64
227. Akkoç N, Akçelik M, Haznedaroğlu İ, Göker H, Aksu S, Kirazlı Ş, Fırat H. In Vitro Anti-Bacterial Activities of Ankaferd Blood Stopper, *Int Jnl Lab. Hem.* 2008, 30 (Suppl. 1) 58-147
228. Akkoç N, Akçelik M, Haznedaroğlu İ, Göker H, Turgut M, Aksu S, Kirazlı Ş, Fırat HC, Ankaferd Tıbbi Bitki Ekstresinin in Vitro Anti-Fungal Etkinliğinin Tanımlanması, 34. Ulusal Hematoloji Kongresi Ekim 2008

229. Çiftçi S, Keskin F, Ozcan KS, Erdem MA, Cankaya B, Bingöl R, Kasapoğlu Ç, In Vitro Antifungal Activity of Ankaferd Blood Stopper Against *Candida albicans* Current Therapeutic Research 2011 Vol. 72, Issue 3, Pages 120-126
230. Van Etten EW, Stearne-Cullen LE, ten Kate M, Bakker-Woudenberg IA. Efficacy of liposomal amphotericin B with prolonged circulation in blood in treatment of severe pulmonary aspergillosis in leukopenic rats. Antimicrobial agents and chemotherapy 2000;44.3: 540-545
231. Klastersky J, Zinner SH, Calandra T, Gaya H, Glauser MP, Meunier F, Rossi M et al. Empiric antimicrobial therapy for febrile granulocytopenic cancer patients: Lessons from four EORTC trials. Eur J Cancer Clin Oncol. 1988; 24 suppl 1:S35–S45,
232. Al-Tawfig JA. Distribution and epidemiology of *Candida* species causing fungemia at a Saudi Arabian hospital, 1996-2004. Int J Infect Dis 2007; 11: 239-244
233. Nguyen MH, Peacock JE, Morris AJ. The changing face of candidemia: Emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. Am J Med 1996; 100: 617-623
- 234 Hh: Dalgıç, N. İnce, E, Sistemik etkili antifungal ilaçlar, Klinik Pediatri, 2005;4 (3):90-98
235. Bb: Stevens DA, Bennett JE. Antifungal agents. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000: 448-459
236. Dd : Yıldırım ST. Yeni geliştirilen azoller. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi Ankara, Kongre Kitabı, 2001: 141-148

237. Berktaş M, Yaman G, Ayhan H, Aksakal A, Gdcoğlu H, trk , Parlak M, Ankaferd Blood Stopper; Aynı Zamanda İdeal Bir Antibiyotik ncl m? , XXXIV. Ulusal Hematoloji Kongresi. İzmİr. 2008; P0145
238. Sarıbaş Z, şener B, Haznedaroğlu İC, Haşelik G, Kirazlı ř, Göker H, Antimicrobial Activity of Ankaferd Blood Stopper Against Nosocomial Bacterial Pathogens, Central European journal of medicine 2010;5.2:198-202
239. Fışgın NT, çaycı YT, çoban AY, zatlı D, Tanyel E, Durupınar B, Tlek N, Antimicrobial Activity of Plant Extract Ankaferd Blood Stopper, Fitoterapia 2009;80: 48-50
- 240 .Ciftci S. Keskin F, Keceli Ozcan, S. Erdem MA, Cankaya B, Bingol, R. et al. In Vitro Antifungal Activity of Ankaferd Blood Stopper Against Candida albicans Current Therapeutic Research,2011; 72(3), 120-126.
- 241 Ozel-Demiralp D, Igci N, Ayhan B, Egin Y, Haznedaroglu IC, Akar N. Prohemostatic and antithrombin activities of Ankaferd hemostat are linked to fibrinogen gamma chain and prothrombin by functional proteomic analyses. Clin Appl Thromb Hemost. 2012;18:604–610
- 242 Li JY, Cao HY, Liu P, Cheng GH, Sun MY. Glycyrrhizic acid in the treatment of liver diseases: literature review. Biomed Res Int 2014;
243. Grespan R, Aguiar RP, Giubilei FN, Fuso RR, Damio MJ, Silva EL et al. Hepatoprotective Effect of Pretreatment with Thymus vulgaris Essential Oil in Experimental Model of Acetaminophen-Induced Injury. Evidence-based complementary and alternative medicine.2014; 954136
- 244 .Hamzawy MA, El-Denshary ES, Hassan NS, Mannaa FA, Abdel-Wahhab MA. Antioxidant and hepatorenoprotective effect of thyme vulgaris extract in rats during aflatoxicosis. Global Journal Pharmacology, 2012;6 :106–14