



**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN
CANDIDA TÜRLERİNİN ANTİFUNGAL
DUYARLILIKLARININ MİKRODİLÜSYON
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

Raif KARAASLAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. A. Esin AKTAŞ

Yüksek Lisans Tezi – 2017

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA
TÜRLERİNİN ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ
MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

Raif KARAASLAN

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. A. Esin AKTAŞ**

**ERZURUM
2017**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN CANDIDA
TÜRLERİNİN ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ
MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

Raif KARAASLAN

Tez Savunma Tarihi : 27.04.2017

Tez Danışmanı : Prof. Dr. A. Esin AKTAŞ (Yıldırım Beyazıt Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ziyacibali AÇIKGÖZ (Yıldırım Beyazıt Üniv.)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Mehtap TAN
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
Erzurum – 2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mantar Sınıflamasında Kandidaların Yeri ve Genel Özellikleri	3
2.2. Kandida Türleri ile Gelişen Enfeksiyonlar	4
2.3. Kandida Enfeksiyonlarının Patogenezi.....	5
2.4. Kandidaların Laboratuvar Tanısı	7
2.4.1. Primer İzolasyon	7
2.4.2. İdentifikasyon	8
2.4.2.1. Germ Tüp Testi	9
2.4.2.2. Hif, Blastospor ve Klamidospor Yapımı	10
2.4.2.3. Karbonhidrat Asimilasyon Testi	11
2.4.2.4. Nitrat Asimilasyon Testi.....	11
2.4.2.5. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri	11
2.4.2.6. Üreaz Testi.....	12
2.4.2.7. Hızlı Trehaloz Testi	12
2.4.2.8. Kromojenik Besiyerleri.....	13
2.4.3. Kültür Dışı Tanı Yöntemleri.....	13
2.4.4. Moleküler Tanı Yöntemleri	14

2.5. Antifungal Ajanlar	15
2.5.1. Polyenler	16
2.5.1.1. Amfoterisin-B	17
2.5.2. Azoller	17
2.5.2.1. Flukonazol	18
2.5.2.2. Itrakonazol	19
2.5.2.3. Vorikonazol	19
2.5.2.4. Posakonazol	20
2.5.3. Ekinokandinler	20
2.5.4. Primidin Sentezi İnhibitörleri	21
2.5.4.1. Flusitozin	21
2.6. Antifungal Duyarlılık Testleri	21
2.6.1. Mikrodilüsyon Yöntemi	25
3. MATERYAL VE METOT	26
3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon	26
3.1.1. Primer İzolasyon	26
3.1.2. İdentifikasyon	26
3.1.2.1. Çimlenme (Germ Tüp Oluşturma) Deneyi	26
3.1.2.2. Klamidospor, Blastospor, Artrospor, Pseudohif ve Hif Oluşturma Özelliğinin İncelenmesi	26
3.1.2.3. CHROM Agar (Kromojenik Besiyeri)'a Ekim	27
3.1.2.4. API 20C AUX İdentifikasyon Sistemi ile İnceleme	27
3.2. Antifungal Duyarlılık Testi	28
3.2.1. Mikrodilüsyon Yöntemi	28
3.2.2. İnokülasyon Prosedürü	29

3.2.3. İnkübasyon.....	30
3.2.4. Test Sonuçlarının Okunması.....	30
3.2.5. Sonuçların Yorumlanması	31
3.2.6. Okuma Notları	31
3.2.7. Kalite Kontrol	32
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR	53
EKLER	70
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	70
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	71

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesinde araştırmalarımı yönlendiren, teşvik ve yardımlarını esirgemeyen mikoloji laboratuvarını her türlü çalışmamda kullanabilmeme fırsat tanıyan, uzakları yakınlaştıran tez danışmanım Sayın Prof Dr. A. Esin AKTAŞ'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince eğitim ve öğretimime katkılarından dolayı değerli hocalarım; Sayın Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ, Sayın Prof. Dr. Osman AKTAŞ, Sayın Prof. Dr. Halil YAZGI, Sayın Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK, Sayın Prof. Dr. Hakan USLU ve Sayın Doç. Dr. Hamidullah UYANIK'a, Çalışmalarım süresince verdikleri desteklerden dolayı başta Öğretim Görevlisi Ayşe BAŞTOPÇU ile PhD Figen KAYSERİLİ ORHAN olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim, ayrıca çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Uludağ Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Beyza ENER'e teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek lisans eğitimime destek vererek her zaman yanımda olan değerli aileme ve sevgili eşim Meltem MÜCAZ KARAASLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Raif KARAASLAN

ÖZET

Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida Türlerinin Antifungal Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon Yöntemi İle Araştırılması

Amaç: Bu çalışmanın amacı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında kan kültürlerinden izole edilen, kandida türlerinin antifungal duyarlılıklarının mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kan kültürlerinden izole edilen 50 kandida suşu çalışma kapsamına alındı. Türlerin antifungal duyarlılıkları kolorimetrik bir yöntem olan Sensititre YeastOne (Trek Diagnostic Systems, ABD) sistemi kullanılarak mikrodilüsyon yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular: Kandida suşlarının tamamında minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) aralıkları, amfoterisin B için; 0,12-2 µg/ml, flukonazol için; 0,12-256 µg/ml, vorikonazol için; 0,008-8 µg/ml, kaspofungin için; 0,015-0,5 µg/ml, anidulafungin için; 0,015-2 µg/ml, mikafungin için; 0,008-2 µg/ml, flusitozin için; 0,006-8 µg/ml, posakonazol için; 0,008-8 µg/ml, itrakonazol için; 0,015-16 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Elde edilen düşük MİK değerleri göz önüne alındığında; anidulafungin, mikafungin, kaspofungin, flusitozin, posakonazol, vorikonazol, itrakonazol ve amfoterisin B'nin kandida suşlarına karşı etkin olabileceği ve flukonazole dirençli suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde alternatif ilaç olarak kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antifungal, kandida, mantar, maya, mikrodilüsyon yöntemi, Sensititre YeastOne

ABSTRACT

Investigation of Antifungal Susceptibilities of Candida Species Isolated From Blood Cultures by Microdilution Method

Aim: The purpose of this study is to investigate the antifungal susceptibility of Candida species isolated from blood cultures by microdilution method at Atatürk University Medical Microbiology laboratory.

Material and Method: 50 candida species isolated from blood cultures in Atatürk University Medical Microbiology laboratories were included in the study. Antifungal susceptibilities of the species were investigated by microdilution method using a colorimetric method, Sensititre YeastOne (Trek Diagnostic Systems, USA) system.

Results: In all candida species, minimum inhibitor concentration (MIC) ranges have been found as follows: for amfoterisin B; 0,12-2 µg/ml, for fluconazol; 0,12-256 µg/ml, for voriconazol; 0,008-8 µg/ml, for caspofungin; 0,015-0,5 µg/ml, for anidulafungin; 0,015-2 µg/ml, for micafungin; 0,0082 µg/ml, for flurositozin; 0,006-8 µg/ml, for posaconazol; 0,008-8 µg/ml, for itrakonazol; 0,015-16 µg/ml.

Conclusion: Considering the low MIC values obtained; it has been concluded that anidulafungin, micafungin, caspofungin, flucytosine, posaconazole, voriconazole, itraconazole and amphotericin B may be effective against candida species and may be used as an alternative medicine in the treatment of infections caused by fluconazole resistant species.

Key Words: Antifungal, candida, fungal, microdilution method, Sensititre YeastOne, yeast

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Amp-B	: Amfotericin-B
ATCC	: American Type Culture Collection
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
EUCAST	: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	: Food and Drug Administration
McF	: Makfarland
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
NCCLS	: National Commite for Clinical Laboratory Standards
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SDA	: Sabouraud Dekstroz Agar
SYO	: Sensititre YeastOne

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil No

Sayfa No

Şekil 2.1. Maya ve benzeri mantarların ilk identifikasyonunda pratik yaklaşım. 9

Şekil 3.1. Maya izolatı ekilen panelin görüntüsü 29

Şekil 3.2. 24 saatlik inkübasyondan sonra göz ile okunabilen MİK değerleri 30



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 2.1. Kandida türleri ile gelişen enfeksiyonlar	5
Tablo 2.2. Antifungal ajanlar ve etki mekanizmaları.....	16
Tablo 2.3. Antifungal duyarlılık testlerinin rutin kullanımı ile ilgili tavsiyeler.....	22
Tablo 2.4. Kandida türlerinin antifungal ilaçlara duyarlılık sınırları	23
Tablo 2.5. CLSI M27-A2 mikrodilüsyon yönteminin temel prensipleri	25
Tablo 3.1. Antifungaller ajanlar ve dilüsyonları	28
Tablo 3.2. Oluşabilecek Test sonuçlarının gösterimi ve yorumlanması	31
Tablo 3.3. Önerilen veya kalite kontrol suşları için 24 ve 48 saat MIC (Ug/Ml) aralığı	32
Tablo 3.4. Kandida Türleri için MİK değerlendirme kriterleri (µg/ml) CLSI M27	33
Tablo 4.1. Çalışmaya alınan kandidaların tür dağılımı	34
Tablo 4.2. Kandida türlerinin mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan duyarlılıklarının MİK aralığı MİK 50 ve MİK 90 değerleri	37
Tablo 4.3. <i>C. albicans</i> 'ın dokuz antifungal için MİK değerleri	42
Tablo 4.4. <i>C. Tropicalis</i> 'in dokuz antifungal için MİK değerleri	43
Tablo 4.5. <i>C. Glabrata</i> 'nın dokuz antifungal için MİK değerleri	44
Tablo 4.6. <i>C. Parapsilosis</i> 'in dokuz antifungal İçin MİK değerleri.....	45
Tablo 4.7. <i>C. kefyr</i> 'nin dokuz antifungal için MİK değerleri	45

1. GİRİŞ

Dünyada geniş yayılım gösteren mantarlar sağlıklı kişilerin deri, sindirim sistemi ve genitoüriner sistem doğal florasında bulunmaktadır.^{1,2} Doğal flora üyelerinin çeşitli hazırlayıcı faktörler varlığında etken hale geçmesine fırsatçı enfeksiyon, bu enfeksiyonda etken olan mikroorganizmaya ise fırsatçı patojen denilmektedir.¹

Karsinom, diabetes mellitus, yaşlılık, ekonomik şartların kötülüğü, aşırı şişmanlık, gebelik, kemoterapi, yoğun sitotoksik tedaviler, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, radyasyon, hücresel immun yetmezlik, nötropeni, ağır yanıklar, narkotik bağımlılık, protezlerin ve parenteral beslenmenin geniş çapta uygulanması, invazif girişimler, kemik iliği ve solid organ nakilleri olan kişilerde uygulanan teknikler ve terapiler^{1,3} fırsatçı patojenin etken hale geçmesinde rol oynayan hazırlayıcı faktörler arasında yer almaktadır.¹

İmmünesupresiflerde en sık görülen fungal patojenlerin mayalar olduğu ve mayalar arasında da en yüksek oranda kandidalara rastlandığı bildirilmektedir.⁴ Son 20 yılda hastane orijinli mantar enfeksiyonlarında 2-12 kat artış görülmüştür.⁵ Bu enfeksiyonların %80'inin etkeni kandida türleridir ve bütün hastane enfeksiyonlarının %5'inden de sorumlu tutulmaktadırlar.⁶ Antifungal tedavi seçenekleri çoğalmasına rağmen, hastane kaynaklı kandidemili hastalarda mortalite oranları halen %33'ün üzerinde yer almaktadır.⁷

Genel olarak kandida enfeksiyonlarına karşı "doğal direnç" vardır. Konak hücre hasarını kandidaların virulans faktörleri ve savunma mekanizmaları aracılığı ile verilen konak immun yanıtı belirler.⁸ Bağışıklığı yenebilmek için türe ve kökene bağlı bazı faktörler birlikte görev alırlar. Patojenite kriterleri adı verilen bu faktörler kandidaların virulansını belirler.^{9,10} Yapılan araştırmalarda kandida enfeksiyonlarında proteaz, esteraz, fosfolipaz ve slime üretimi gibi virulans faktörleri araştırma yapanların

dikkatini çekmiştir.¹¹ Bunlardan en önemlilerinin, konak hücre ile doğal olmayan yüzeylere adezyon için gerekli olan slime faktör ve epitel hücrelerinin içine girerek derin dokulara doğru yol almada rol oynayan proteinaz ve fosfolipaz enzimleri olduğu düşünülmektedir.¹² Enfeksiyonların patogenezi açıklamak için birçok invitro test geliştirilmiş ve hayvan modellerinde oluşturulan enfeksiyonlar ile konak savunması ve virülans faktörlerinin önemi ortaya konulmuştur. Böylece tedavi için yeni seçenekler araştırılmaya başlanılmıştır.¹³

Günümüze kadar kabul edilmiş, yaklaşık 200'den fazla kandida türü vardır.^{14,15} Önceleri bu cins içinde sadece *Candida albicans* (C. albicans)'ın patojen olduğu düşünülmüştür. 1960'lardan sonra 15 türün patojen olduğu kabul edilmiştir.¹⁶ Tüm kandidozlarda en fazla elde edilen tür C. albicans'tır.¹⁷

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından 1992 yılında mayalar için teklif edilen standart makrodilüsyon yöntemi ile bu alanda ciddi mesafe katedilmiştir. Fakat uygulanan makrodilüsyon yönteminin gerçekleştirilmesinin zaman ve pratiklik açısından uygun olmaması sebebiyle alternatif yöntem arayışları son bulmamıştır. Bu taramaların sonucunda, daha kolay ve kısa zamanda sonuç alınabilen mikrodilüsyon yöntemi geliştirilmiştir.¹⁸

Çalışmamızda kan kültürlerinden izole edilmiş kandidaların; Sensititre YeastOne TREK Diagnostik Sistem, ABD (SYO) adı verilen kolorimetrik kit kullanılarak anidulafungin, mikafungin, kaspofungin, flusitozin, posakonazol, vorikonazol, itraconazol, flukonazol ve amfoterisin-B ye karşı duyarlılıklarının mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mantar Sınıflamasında Kandidaların Yeri ve Genel Özellikleri

Çok eski zamanlardan itibaren mantarların deri, saç ve tırnaklarda hastalıklar meydana getirmeleri hekimlerin dikkatini çekmiş olsa bile mantarlar hakkındaki önemli bilgiler, bilimsel alandaki gelişmelere bağlı olarak 19. Yüzyılda elde edilmeye başlanmıştır.¹⁹

Yunanca ‘mykes’ kelimesinden türetilen mikoloji ile ilgili ilk bilgiler Hippocrates ve Galen’in yaşadıkları zamanlarda, muhtemelen pamukçuk olduğu düşünülen oral lezyonların tarif edilmiş olduğu yazılara kadar dayanır. Rosen von Rosenstein 1771’de pamukçuğun özellikle yenidoğanlarda görülen bir hastalık olduğunu açıklamıştır, Veron 1835 yılında yenidoğanların bu enfeksiyonu doğum kanalından geçtikleri sırada aldıklarını ortaya koymuştur.^{20,21}

Mantarlar ökaryotik, klorofilsiz, absorpsiyonla beslenen tek ya da çok hücreye sahip, kitin ve selüloz barındıran sert bir duvar yapısına sahip mikroorganizmalardır. Morfolojik olarak maya veya küf görünümündedirler.²²

Mantarlar homojen olmayan mikroorganizmalardır. Üreme hızına etki eden faktörler; oksijen, sıcaklık, pH, besiyeri bileşimi gibi değişkenlerdir. Çoğalmaları için organik bir azot ve karbon kaynağına ihtiyaç duyarlar. Birçok mantar türü glukozu rahatlıkla parçalayabilir. Bu yüzden mantarların çoğaltılmasında tercih edilen ortamların hepsinde glukoz vardır. Mantarlar aerob mikroorganizmalar olduğu için, numunelerin aktarılma işlemi ve kültürleri, aerob koşullara uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Birçok mantarın ideal çoğalma pH’ı, 6.8-7 ve ideal çoğalma sıcaklığı, 25-35°C’dir. Mikoloji laboratuvarında mantarlar için zenginleştirilmiş, seçici ve ayırıcı özellikte olan çeşitli besiyerleri kullanılır.^{23,24}

Mayalar; blastospor, klamidospor, çimlenme borusu, artrospor ve kapsül adı

verilen yapılar oluştururlar. Bunlar tür tayininde önem arzeder. Mayalar kültürlerinde krema kıvamında, yuvarlak, sınırları düzenli koloniler oluştururlar. Kapsülü olanlarda mukoid koloniler görülür. Mayalar makroskopik ve mikroskopik morfolojik karakterleri ve biyokimyasal özelliklerine göre tür düzeyinde identifiye edilirler. Genel olarak seksüel özelliklerine göre ikiye ayrılmaktadırlar. Gerçek/tam mayalar seksüel ürer ve askospor veya basidiospor geliştirirler. Kusurlu ya da maya benzeri mantarlar ise yalnızca aseksüel olarak ürerler.^{22,25}

Kandidalar, *Deuteromycota* sınıfında, *Cryptococcales* takımında, *Cryptococcaceae* ailesinde ve *Candida* cinsinde sınıflandırılan, blastosporlarla çoğalan, yalancı miçel yapan, gerçek miçel yapımları istisna olan bir grup amorf olmayan mayalardır.²⁶

2.2. Kandida Türleri ile Gelişen Enfeksiyonlar

Kandidoz ile karşılaşılma sıklığında genel olarak bir artış vardır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yapılan epidemiyolojik bir çalışmada,²⁷ 1980'li yıllara göre 1990'lı yıllarda kandidemi insidansında yaklaşık beş katlık bir artış saptanmıştır. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak da; sepsislerin % 8'inden kandida türleri soyutlanmıştır.²⁸

Kandida türleri fırsatçı patojenlerdir. Çevresel, bireysel şartların organizma aleyhine ilerlediği zamanlarda hafif yüzeysel enfeksiyonlardan, ağır enfeksiyonlara kadar uzayan çeşitli senaryolara sebep olabilir. Bazı şartların değişimi (fazla terleyiş, vajende pH değişikliği gibi), hormonal değişiklikler, kortikosteroid benzeri bağışıklık sistemini baskı altına alan ilaç kullanılması, kanser ve AIDS benzeri immun yetmezlik oluşturan hastalıklar kandida enfeksiyonlarının görülme oranını artırır.²⁹⁻³¹

Kandida türleri deri ve deri eklerinde, mukozalarda hastalıklar oluşturmakta ve özellikle bağışıklık sistemi zayıflamış bireylerde ciddi sistemik enfeksiyonlara neden

olmaktadır. Tablo 2.1’de kandida türleri ile gelişen enfeksiyonlar özetlenmiştir.³² *C. albicans* en sık görülen kandidoz etkenidir.^{33,34} Hem endojen hem de ekzojen yolla enfeksiyona yol açabilir. Ancak uzun zamandan beridir diğer kandida türlerinde de göreceli bir artış olmuştur.³⁷ Bu durum antifungal ajanların profilaktik ve ampirik kullanımının yaygınlaşması ile ilişkilendirilmektedir.

Tablo 2.1. Kandida türleri ile gelişen enfeksiyonlar.³⁷

• Kutanöz kandida enfeksiyonları ➤ Erosia interdigitalis blastomycetica ➤ Intertrigo ➤ Paronişi ve onikomikoz
• Kronik mukokutanöz kandidoz
• Mukozaların kandida enfeksiyonları ➤ Pamukçuk (oro-faringeal kandidoz) ➤ Kandida özafajiti ➤ Mide-barsak kandidozu ➤ Kandida vajiniti
• Kandidemiler
• Derin organ kandidozları ➤ Lokal derin organ enfeksiyonları (Genellikle kateter ve şantlarla ilişkili) ➤ Yaygın enfeksiyonlar

2.3. Kandida Enfeksiyonlarının Patogenezi

Genellikle kandidoz gelişiminden önce florada yer alan mantarlar, sayıca fazlalaşır ve bu yerleşmenin ardından enfeksiyon oluşur. Yüzeyel kandidozlarda, kandida mukoza veya derinin sürekliliğinin dağıldığı taraftan yalancı hifler yardımı ile doku içine yerleşir, tomurcuklanma yolu ile meydana gelen blastokonidyumları yardımıyla dokuya yayılır. Derin ya da sistemik kandidozlarda genellikle birinci olarak gastrointestinal sistemde kolonizasyon oluşur ve buradaki mukozayı aşarak kana ulaşan

mantarlar, fagositik aktifliđi yeterli seviyede olmayan bireylerde neredeyse bütün organ ve sistemlere yerleşebilir.³⁵

Doğal bakteriyal floramız, deri ve gastrointestinal sistem mukozasının devamlılığı ve hücresel bağışıklık, kandida enfeksiyonlarına karşı koruma sağlayan başlıca konak faktörleridir.³⁶

Dermis veya kan dolaşımına ulaşan kandidalara karşı polimorfonükleer lökositler savunmaya geçerler. Monositler ile eozinofiller de fagositozda görev alırlar. Ayrıca doku makrofajları ile birlikte retiküloendotelyal hücreler de kandidaları öldürebilirler.³⁷ Myeloperoksidaz, hidrojen peroksit ve süperoksit anyon sistemi fagositlerin kandidaları yok etmelerindeki başlıca mekanizmalardır, kimotripsine benzeyen katyonik proteinler üretilip zar geçirgenliğini artırarak da etkide bulunurlar. Isıya duyarlı veya dirençli opsoninler de kandidaların fagositozunu kolaylaştırırlar.^{37,39}

Doğal bağırsak florasının, patojen bakterilerle kolonizasyonu engellediği bilinen bir gerçektir. Konakta anaerobik bakteriler en ciddi koruma kısmını meydana getirir. İnsanlarda mayalar dahil mikroorganizmaların kan dolaşımına geçişinde tercih edilen en önemli yol gastrointestinal sistemdir. Kandida'nın intrensek motilitesi olmamasına rağmen, sağlıklı kişilerde ağız yolu ile alındıktan bir müddet sonra bağırsak lümeninden transloke olabileceği bilinmektedir.³⁹

Hücresel immünite elemanları olan T lenfositler deri ve mukoza yüzeyindeki kandidaların sistemik enfeksiyon meydana getirmesine engel olurlar. Bu yüzden kandidaların enfeksiyon oluşturmaları için konak organizmada hastalık oluşturunca bazı sebeplerin birlikte oluşması gereklidir. Bu faktörler; uzun süreli antibiyotik kullanımı, hücresel immün yetmezlikler, diabetes mellitus benzeri kronik hastalıklar, bağışıklık sistemini baskılayan ilaçların kullanılması, nötropeni, organ nakilleri, gastrointestinal operasyonlar, hamilelik, dengesiz ve yetersiz beslenme, yaşlılık, malignite, uzun süreli

kateterizasyon, ağır yanıklar, damar içi ilaç kullanımı ve kemoterapi uygulamasına benzer problemler sayılabilir.^{39,41-43}

Kandidoz üç biçimde gerçekleşebilir;

1. Yerleşik florada bulunan mikroorganizmalar, besinleri büyük bir hızda tüketip, çevresel şartları kandidalar için müsait olmayan bir hale getirir veya zararlı maddeler meydana getirerek kandidaların çoğalmasının önüne set çeker. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması sonucunda florada yer alan bakteriler azalırken mantarlar sayıca artarak kolonize olur ve devamında enfeksiyon ortaya çıkabilir.⁴⁴
2. Konak savunma sisteminde yüzeysel savunma yani sağlam deri bütünlüğü ilk savunma sistemlerindendir. Deri yaralanmasına neden olan olaylar sağlıklı olan kişilerde dahi kutanöz kandidoza neden olabilir.^{44,45}
3. Bağışıklık sisteminin baskılandığı, nötropeni gibi fagositer fonksiyonların bozulduğu derin veya sistemik kandidozlarda genellikle ilk olarak gastrointestinal sistemde kolonizasyon ortaya çıkar ve buradaki mukozayı aşarak kana ulaşan kandida, fagositik etkinliği yeterli seviyede olmayan hastalarda neredeyse bütün organ ve sistemlere yerleşebilir.⁴⁵

2.4. Kandidaların Laboratuvar Tanısı

Kandidalar normal florada da yer aldıklarından dolayı, laboratuvarlarda karşılaşılabilecek en büyük problemlerden birisi, klinik örneklerde üreyen kandidaların klinik bir değerinin olup olmadığını belirlemek ve rapor edilip edilmemesine karar vermektir. Bu sebeple, laboratuvar verilerinin doğru değerlendirilebilmesi için iyi bir klinik, laboratuvar işbirliğinin kurulması gerekir.^{46,47}

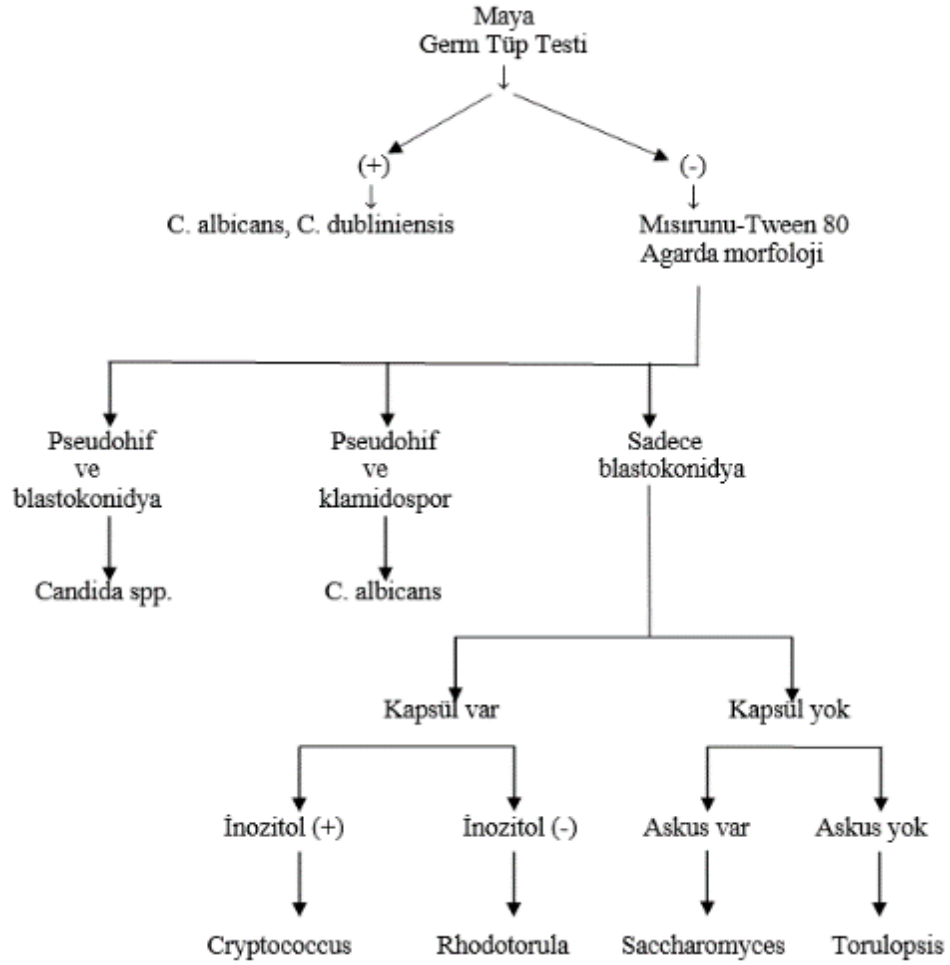
2.4.1. Primer İzolasyon

Primer izolasyon için laboratuvarlarda en fazla tercih edilen besiyeri Sabouraud

Dekstroz Agar (SDA)'dır. Primer izolasyon besiyerlerinin içeriğine, bakterilerin ve hızla çoğalan küflerin üremesini baskı altına alarak seçicilik sağlamak üzere antimikrobikler eklenebilir (sikloheksimid, kloromfenikol, gentamisin gibi). Kültür için alınan örnekler uygun besiyerine ekildikten sonra 26°C ve 37°C'de ayrı ayrı inkübe edilirler. Kandida türleri genel olarak 24 saat içinde koloni oluşturlar, fakat 48 saatte kolonileri daha net bir görünüm alır. Meydana gelen kolonilerden Gram boyası yapılarak, Gram pozitif maya hücresi olup olmadıkları kontrol edilir.^{40,45}

2.4.2. İdentifikasyon

Genellikle kandidaların tanımlanması makroskobik ve mikroskobik yöntemler ile morfolojik özelliklerinin belirlenmesi ve biyokimyasal karakterlerinin değerlendirilmesi ile yapılır. Koloni rengi/görüntüsü, hif/yalancı hif üretimi, çimlenme borusu veya klamidospor meydana getirme özellikleri, blastosporların yapısı veya yerleşim şekilleri gibi özellikleri değerlendirilir. Şekil 2.1'de takip edilecek yol kısaca gösterilmiştir. Biyokimyasal olarak ise karbonhidrat fermentasyon ve asimilasyonu, üre hidrolizi ve nitrat asimilasyonu özellikleri değerlendirilir.⁴⁸



Şekil 2.1. Maya ve benzeri mantarların ilk identifikasyonunda pratik yaklaşım.⁴⁹

2.4.2.1. Germ Tüp Testi

Kandidaların tanımlanmasında kullanılabilecek ilk testtir. Reynolds-Braude belirtisi olarak da isimlendirilir. Kandidaların serumlu ortamda germ tüpü (çimlenme borusu) oluşturabilme özelliği incelenir. Kısa sürede sonuç veren, uygulanışı pratik, *C. albicans*'ı diğer kandidalardan ayırmaya imkan veren basit ama çok önemli bir testtir. Fakat *C. albicans* örneklerinin tamamında pozitif olmaması ile birlikte yalancı pozitiflik de görülebilmektedir. *C. albicans* örneklerinin %95-97'si germ tüp oluşturur.⁵⁰

Germ tüp testi için insan serumu, sığır serumu, yumurta albumin, koyun serumu, koagüle tavşan plazması gibi farklı tiplerde peptonlu ortamlar kullanılabilir. Genel olarak en sık insan serumu kullanılır. Çimlenme borusu olarak da adlandırılan germ tüpü

oluşumunu görebilmek için, test edilecek suş, insan ya da tavşan serumu içerisine ekilir ve 37°C’de en fazla 3 saat beklemeye bırakılır. İnkübasyon sonunda, bu karışımdan bir damla alınarak 40X objektif ile görüntülenir.^{45,48,51}

Germ tüp oluşturan kandida türleri *C. albicans* ve *C. dubliniensis*’tir. *C. dubliniensis*, fenotipik özellikleri *C. albicans*’a benzeyen ve *C. albicans*’tan kesin olarak ayrılması moleküler yöntemlerle mümkün olabilen bir türdür. İzolasyon oranı oldukça düşüktür.⁵³ Bu benzerlikten dolayı, germ tüp oluşturan suşlar rutin mikoloji laboratuvarlarında *C. albicans* olarak tanımlanabilir.^{48,52} Germ tüp oluşturan iki türe ek olarak, *C. stellatoidea* da sayılabilir. *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr* gibi türlerde de yalancı çimlenme borusu oluşumu görülebilir.^{45,49,53}

Çimlenme borusu, blastospordan kaynak alan, orjin kısmında hiç daralma olmayan ve sonuna kadar hiç şişkinlik göstermeyen ipliksi bir yapı olarak görülür. En kayda değer özelliği, maya hücresinden çıkış noktasında boğum olmamasıdır. Boğum olmaması, germ tüpün psödohiften ayrılmasına yardımcı olur. Yalancı germ tüpte de daha iri bir blastospor bulunur ve hif ile bağlanma kısmının daha dikkat çekici olduğu gözlenir.^{45,53}

2.4.2.2. Hif, Blastospor ve Klamidospor Yapımı

Hif, yalancı hif, blastospor ve klamidospor oluşturabilme özellikleri mikroskopik olarak değerlendirilir. Mısır unlu agar gibi besin bakımından zengin olmayan besiyerlerinde mayaların oluşturduğu blastospor, yalancı hif, gerçek hif ve klamidospor varlığı kandidaların tanımlanmasında kullanılmaktadır. Bunun için Pirinç ekstresi-Tween 80 agar, Mısır unlu-Tween 80 agar besiyerlerinden birisinde incelenen maya kolonisinden bir miktar alıp, iğne öze yardımı ile birbirine paralel çizikler halinde ekilir. Ekim alanı üzerine temiz bir lamel yerleştirilerek besiyeri 26°C’de 24-72 saat bekletilir.^{45,53,54}

Besiyeri üzerine kapatılan lamelin; ortamın oksijen miktarını düşürmesi ve Tween-80'in yüzey gerilimini azaltması, klamidospore ve yalancı hif üretimini artırır. *C.albicans*'ın oluşturduğu klamidosporelar yalancı hiflerin ucunda, ortasında ya da yanında yerleşmiş; yuvarlak düzgün kenarlı, sitoplazması yoğunlaşmış, çevre koşullarına dayanıklı bir yapıdadır. Yıllarca sadece *C.albicans*'ın tespitinde tercih edilen mısır unlu agarda başka maya türleri de mikroskopik morfolojik karakterlerine göre belirlenebilmektedir.^{45,53}

2.4.2.3. Karbonhidrat Asimilasyon Testi

Oksijenli ortamda mayanın spesifik bir karbonhidratı tek karbon kaynağı olarak kullanması özelliğine göre tür düzeyinde belirlemeye yardım eder. Karbonhidrat asimilasyon testi Wickerham-Burton yöntemi, oksanografik yöntem ve ticari tiplendirme kitleri gibi farklı yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. Kandidaların tür düzeyinde tanımlanmasında kullanılan ticari kitler daha kısa zamanda sonuçlanması ve kolay uygulanabilmesinden dolayı fazlaca tercih edilmektedir.^{59,53}

Hem sık, hem de az rastlanan türleri 4 - 72 saat gibi kısa sürede tanımlayan eden bu sistemlerin her biri biyokimyasal testleri farklı bir prosedürle kullanır. Bunlardan bazıları API 20C AUX (bioMérieux, Fransa), API ID 32C (bioMérieux, Fransa) ve BBL Minitek Yeast Set (Becton Dickinson, ABD), API Yeast identification System (Analytab product), Uni Yeast Tek (Row Laboratories), Abott Yeast identification System (Abott Diagnostic), RapID Yeast Plus system (Innovative Diagnostics Systems), API Candida (bioMerieux) gibi ticari kitlerdir.⁵³⁻⁵⁵

2.4.2.4. Nitrat Asimilasyon Testi

Nitrat asimilasyon testi karbonhidrat asimilasyon testine benzer bir testtir. Mayaların nitrojen kaynağı olarak nitratı kullanma yeteneklerini ortaya çıkarmaktadır.⁵³

2.4.2.5. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri

Fermantasyon, karbonhidratların etanol ve CO₂ üretimiyle sonuçlanan anaerobik kullanımıdır. Karbonhidrat fermantasyonu Modifiye Wickerham Yöntemi ile yapılabilmektedir. Gaz oluşumu ve pH'da değişiklik olmaması fermentasyon varlığını gösterir. Test, birçok kandida türünün Kriptokok ve Rodatorula gibi non-fermantatif türlerden ayırt edilmesinde de kullanılmaktadır.⁵³

2.4.2.6. Üreaz Testi

Mayaların üreyi hidroliz etmeleri üreaz aktifliğini gösterir. Kandida türlerinin, diğer maya türlerinden ayrılmasında kullanılır. Trichosporon türlerinin büyük çoğunluğu, Kriptokok ve Rhodokok türleri üreaz pozitif iken, klinik örneklerden elde edilen kandida türlerinin neredeyse tamamı; *C. lipolytica* ve *C. krusei*'nin bazı suşları hariç, üreaz negatiftir. Uygun substratların varlığında, üreaz enzimi, üreyi parçalayarak amonyak meydana getirir. Oluşan amonyak pH'ın artmasına sebep olur, bu da renk indikatörünün (fenol kırmızısı) kehribar renkten, pembeye doğru renk değiştirmesi ile anlaşılır.⁵³

2.4.2.7. Hızlı Trehaloz Testi

Hızlı trehaloz testi, flukonazole azalmış duyarlılığı nedeniyle hızlı tanımlanmasının önem kazandığı *C.glabrata*'nın 3 saat içerisinde identifikasyonuna imkân veren bir testtir. CLSI, *C. glabrata*'nın trehalozu asimile etmesine dayanan hızlı bir test prosedürünü, M35-A dokümanı adı altında yayınlamıştır. SDA dışında kullanılan besiyerlerinden alınan örneklerde yanlış pozitif sonuçlar elde edilebilir, ancak *C. glabrata*'nın morfolojik olarak çimlenme borusu ve psöдохиф oluşturmaması ve küçük hücre boyutlarıyla desteklenmesi durumunda, bu ihtimal azaltılabilir. GLABRATA RTT (Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret, France) trehaloz ve maltoz hidrolizini birlikte yapan bir testtir. *C.glabrata* trehalozu saatler içerisinde hidroliz ederken, çoğu kandida türü tarafından hidrolize edilen maltozu hidroliz etmez. Glabrata

Quick (Hardy Lab, USA), Trehalose Test=RAT Test (Scientific Device Lab, USA) 30 saniye gibi kısa bir sürede sonuç almaya imkân sağlayan diğer ticari kitlerdir.⁵³

2.4.2.8. Kromojenik Besiyerleri

Kromojenik agar besiyeri kullanılarak bir veya birkaç kandida türünün olası tanısı yapılabilmektedir. Kromojenik besiyerleri, çeşitli kandida türlerinin ürettiği enzimlerle reaksiyona giren türe özgü kromojenik substratlar içerir ve çoğalan kolonilerin rengi türe özgü olarak değişir. CHROMagar Candida (CHROMagar France; Paris, France), Candida ID (bioMérieux) CandiSelect (Bio-Rad, France) ticari kromojenik olan besiyerlerinden bazılarıdır.⁵³

2.4.3. Kültür Dışı Tanı Yöntemleri

Mikolojik problemlerin tanımlanmasında mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeler ile birlikte serolojik testler de kullanılır.⁵⁶ Antijen ölçümü kandidoz olgularında, antikor ölçümüne göre daha faydalıdır.⁵⁷

İnvaziv kandida enfeksiyonlarının belirlenmesinde kültür yöntemlerinin fazla duyarlı olmaması araştırmacıları serolojik testler konusunda çalışmaya teşvik etmiştir. Serolojik teknikler; özellikle hassas görüntüleme teknikleri ile beraber tarama araçları olarak kullanıldıklarında, invaziv kandida enfeksiyonlarının kısa zamanda tanısına yardımcı olmaktadır.⁵⁸

İnvaziv kandida enfeksiyonlarının serolojik tanısında antikor tarama sonuçlarında pek de istenilen sonuçlar elde edilememiştir. Yalnızca kolonizasyon gerçekleşmesi halinde antikorların belirlenmesi testlerin özgüllüğünü azaltmaktadır. Bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde invaziv kandida enfeksiyonlarında bile antikor oluşmaması veya sağaltıma bağlı antikor seviyelerinin azalması testlerin hassaslığını düşürmektedir. İnvaziv kandida enfeksiyonu klinik bulgularının varlığında, art arda verilen serumlarda antikor seviyesinin artışa devam etmesi durumunda enfeksiyonun

lehine olarak değerlendirilebilir. Ayrıca antijen testleri ile topluca değerlendirildiklerinde tanıya destek olabilirler.^{52,59-61}

Serumda veya vücut sıvılarında mantar antijenlerinin veya metabolitlerinin araştırılmasına yönelik testler invaziv fungal enfeksiyonların serolojik tanısı için daha kıymetli yöntemlerdir. Bu hedefe yönelik olarak ısıya duyarlı antijen, mannan, D-arabinitol ve enolaz araştırılmaktadır.⁵⁹⁻⁶¹ En çok tercih edilen test mannan antijen testidir.⁶⁰⁻⁶³ D-arabinitol aslında bazı kandida türlerinin metabolik ürünüdür. Sistemik kandidozlu hastaların idrarlarında seviyesi artar. Test birden fazla sayıda tekrarlanırsa, duyarlılık ve özgüllük oranı artar.⁶⁴ *C. krusei* ve *C. glabrata* D-arabinitol metabolitini üretmediklerinden dolayı bu iki etkenin enfeksiyonlarında görülemez.^{59,62}

Enolaz diğer antijen testlerine göre biraz daha ümit vericidir. Ardışık olarak alınan kan numunelerinin aranmasının duyarlılığı artıracağı kabul edilmektedir. Ayrıca enolaz kandida türleri için oldukça özgün olup yüzeysel kandidozlarda görülmemesi kayda değer bir avantajdır.⁶¹

1,3-β-D-glukan kandida ve aspergillus türleri başta olmak üzere birçok maya ve küf mantarının hücre duvarında görülen bir moleküldür. Prokaryotlar, virüsler ve insanlarda bulunmaz.⁶⁵

2.4.4. Moleküler Tanı Yöntemleri

Fungal DNA tespiti, antikor saptayan tekniklere göre immün sistem fonksiyonundan ayrıdır ve antikor cevabı meydana gelmeden erken teşhisi sağlayabilir. Moleküler testlerin bir diğer faydası, birden çok etkenin sebep olduğu enfeksiyonlarda organizmaları tür bazında belirleyebilme yetenekleridir.⁶⁶

Polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) kan numunelerinde 1 CFU/ml'ye kadar mantarları tespit etmede duyarlı olduğu bildirilmektedir.⁶⁶ Mikolojide moleküler yöntemlerin mantarın klinik numunelerde varlığını tespit ve/veya tanımlama

alışmalarında, epidemiyolojik sebeplerle numuneler arasında genotipik ayrılıkların belirlenebilmesinde, antifungal direnç gibi virölans faktörlerinin varlığının genotipik olarak saptanmasında, genom baz dizisi ve mutasyon analizlerinde, klinik örnekte bulunan fungusun canlılığının ortaya çıkarılmasında ve filogenetik (taksonomik) incelemelerde kullanıldığı görölmektedir. Fungal yükün az olduğu, költür ve serolojik tanının halen yetmediği dönemde, PCR temelli tanı tekniklerinin çok daha yararlı olacağı düşünölmektedir.⁶⁷

Kandida türlerinin tanısında tercih edilen PCR testi için hedef bölgeler; ön çoğaltma ve ileri tanımlama için kullanılanlar olarak iki gruba ayrılabilir. Ön çoğaltmada tüm mantarlar için ortak, çok tekrarlı ve ileri derecede korunmuş 18S, 5.8S ve 28S rDNA alt üniteleri ya da mitokondri DNA'sı (mDNA) kullanılır.⁶⁸

2.5. Antifungal Ajanlar

İlk defa 1903 de bir sporotrikoz olgusunda iyodidlerin ve 1939'da dermatofitler için griseofulvinin kullanımından sonra, 1950'li yıllara kadar antifungal tedavide çok büyük bir ilerleme kaydedilmemiştir. 1950 yılında nistatin, 1956'da Amp-B, 1964'de flusitozin ve 1960'lı yılların sonlarında da azoller antifungal tedavide tercih edilmeye başlanmıştır.⁶⁹

1970'li yılların sonlarına doğru intravenöz mikonazol ve oral ketokonazol tedavide kullanılmaya başlanmıştır. 1980'lerde triazoller ile sistemik antifungal tedavi alternatifleri artmıştır. Son zamanlarda yeni triazoller, Amp-B'nin lipozomal türevleri, ekinokandinler, nikkomisinler, pradimisin ve analogları gibi yeni antifungaller de geliştirilmiştir. Antifungallerin ve immunodölatör ajanların birlikte kullanılması da fungal enfeksiyon tedavisinde gündeme gelmiştir. Ayrıca, antifungallerin yaygın olarak kullanılmasından dolayı da dirençli fungal patojenler görölmeye başlanmıştır.⁶⁹

Mantarların da insanlardaki gibi ökaryotik hücre yapısına sahip olması ve fungal

hücrelere selektif toksik etkili ajan bulunmasındaki güçlükten dolayı fungal enfeksiyonların tedavisi bakteriyel enfeksiyonların tedavisinden daha zordur. Enfeksiyonun patogenezini daha iyi öğrenebilmek için potansiyel hedefleri belirlemek gerekir. İnsan hücrelerini hasara uğratmadan maya hücrelerini seçici olarak inhibe edebilen antifungal ajanlar geliştirilmiştir.⁶⁹ Antifungal ajanlar ve etki mekanizmaları Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2. Antifungal ajanlar ve etki mekanizmaları⁶⁹

Antifungal ajanlar	Etki mekanizması
Polyenler (Nistatin, Amfoterisin B, AB Lipit Kompleks (ABLC), AB colloidal Dispersion (ABCD), Lipozomal AB)	Mantar hücre duvarı ergosterolüne bağlanarak hücre duvarı geçirgenliğini artırır ve özellikle hücre içi K ⁺ kaybı hücrenin canlılığını yitirmesine neden olur.
Azoller	Lanosterol 14 α demetilaz inhibisyonu
Allilamin ve tiyokarbamatlar	Oksidoskualen siklaz inhibisyonu
Morfolin, amorolfin	Sterol 14 redüktaz ve 7- 8 izomeraz İnhibisyonu
Pirimidin	5 florourasile dönüşerek RNA’nın, timine dönüşerek DNA’nın yapısını bozar.
Ekinokandinler	1- 3 beta D-glukan sentetaz inhibitörü
Polyoxinler	Hücre duvarında kitin sentez inhibitörü
Pradimisinler	Mannan sentez inhibitörleri

2.5.1. Polyenler

Polyen grubu antifungallerde yaşamı tehdit eden ve sistemik mikozların tedavisinde tercih edilenler arasında Amp-B (ve lipid formları+) ile topikal olarak kullanılan nistatin ve natamisin (pimarisin) yer almaktadır.^{70,71}

Polyen grubu antifungaller en önemli hücre membran sterolu olan ergosterole tutunarak hücre membran yapısını, dolayısıyla hücrenin ozmotik bütünlüğünü hasara

uğrattılar.^{1,70}

Sistemik mikozların iyileştirilmesinde önemli ölçüde kabul gören Amp-B nefrotoksik etkilidir. Bu sebeple nefrotoksik etkisi az ve böbreklerden atılım hızı yavaş olan lipit çeşitleri (Amp-B lipit kompleksi, kolloidal dispersiyon ve lipozomal Amp-B) geliştirilmiştir.^{1,72} Amp-B'nin etki alanı geniştir. Birçok kandida türü, *C. neoformans*, *Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* gibi birçok patojen mantar üzerinde etkilidir. Ancak *C. guilliermondii*, *Aspergillus terreus*, *Scedosporium apiospermum*, *S.prolificans* ve *C. lusitaniae*'nin Amp-B'ye direnç geliştirdiği ifade edilmiştir.^{44,70,73} Etki mekanizması ve etki spektrumu Amp-B ile ortak özellikler gösteren nistatin topical tercih edilen bir antifungal maddedir. Sistemik kullanım amaçlı olarak lipozomal formu geliştirilmiştir.¹ *Streptomyces natalensis*'ten üretilen natamisin (pimaricin) yüzeysel fungal enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen topikal bir antifungal maddedir ve yemek endüstrisinde de yoğun olarak kullanılmaktadır.^{71,74}

2.5.1.1. Amfoterisin-B

Bilinen en güçlü antifungal ajandır, fakat toksik etkileri kullanımda önemli kısıtlamalar getirir. Hücredeki yoğunluğuna göre fungostatik veya fungusit etki gösterebilirler. Bakteri hücre membranında ergosterol yer almadığından antibakteriyel etkinlikleri bulunmaz. Oral ve intramusküler yoldan absorpsiyonu yeterli düzeyde olmadığından intravenöz olarak uygulanır.⁷⁵ Dirençli suşlar genellikle Amp-B tedavisinden sonra ortaya çıkar. Direnç mekanizması genellikle hücre membranındaki Amp-B bağlayan yüzey ergosterolünün kaybıyla alakalıdır.^{76,77}

2.5.2. Azoller

Azol grubu antifungal ajanlar kimyasal bileşimlerindeki farklılıklara göre imidazoller ve triazoller olmak üzere ikiye ayrılırlar. Bütün azol grubu bileşikler

lanosterolü ergosterole dönüştüren sitokrom P-450'ye bağımlı 14- α -demetilaz enzimini inhibe ederek etki gösterirler. Bu etki kullanılan azole ya da etken organizmaya göre fungistatik ya da fungisidal şekilde gerçekleşebilir.^{70,73,78,79}

Azol halkasında iki adet nitrojen bulunduran antifungaller imidazol olarak isimlendirilir. Imidazoller içinde sadece ketokonazol sistemik etkinliğe sahiptir. Etki spektrumu triazol grubu antifungallere göre daha az olsa da *Candida spp*, *C. neoformans*, *Malassesia* türlerine etkilidir. bifonazol, klotrimazol, oksikonazol, sulkonazol, terkonazol ve tiokonazol topikal kullanımda yer alan imidazollerdir.^{70,79,80}

Azol halkasında üç tane nitrojen barındıran antifungaller triazol olarak isimlendirilirler. Flukonazol, itraconazol, vorikonazol, ravukonazol ve posakonazol triazol grubuna dahil sistemik antifungallerdir.⁸⁰

2.5.2.1. Flukonazol

Flukonazol, 1981 yılında imidazol çekirdeğinin değiştirilmesiyle elde edilen ve su ile çözünebilen bir bileşiktir. Oral yolla alımdan sonra emilim çok iyi düzeylerde olur. Oral ve intravenöz formları vardır. Günlük tek dozla yüksek plazma seviyesine erişilir. BOS da dahil olmak üzere tüm dokulara iyi dağılan düşük toksisiteli, birinci kuşak triazol türevi antifungal ajandır.⁷⁰ Flukonazol, birçok kandida türü üzerinde etkilidir. Bununla birlikte *C. krusei* flukonazole doğal olarak direnç gösterir. *C. glabrata* suşlarının flukonazole duyarlılığı ise önemli ölçüde farklılıklar gösterir. Bazı *C. glabrata* suşları flukonazole doza bağlı duyarlıdır (S-DD). Bazı *C. tropicalis*, *C. norvegensis*, *C. dubliniensis* ve *C. inconspicua* suşlarına karşı da yüksek flukonazol MİK değerleri tespit edilmektedir.⁸¹ Bu türlerin dışında da, her kandida türü içinde flukonazole dirençli suşların var olması mümkündür. AIDS olgularında görülebildiği gibi, uzun süreli flukonazol profilaksisi sonrasında *C. albicans* suşlarında bile flukonazole direnç gelişebilir.⁸² Bulantı-kusma, ekzfoliyatif döküntü, Stevens Johnson

Sendromu ve hepatit görülme riski vardır. Uzun süre devam eden tedavilerde karaciğer fonksiyon testleri takipleri düzenli olarak yapılmalıdır.⁸³

2.5.2.2. Itrakonazol

Itrakonazol, lipofilik triazol grubundan olup kapsül ya da solüsyon içinde ağız yolu ve intravenöz yollarla kullanılır. Kandida türleri, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* türleri, dermatofitler, *Sporothrix schenckii* ve endemik dimorfik patojen mantarları içinde barındıran kapsamlı bir antifungal güce sahiptir. Itrakonazol'un absorpsiyonu midenin asit ortamında artar. Lipofilik olmasından ötürü pürülan eksudalara ve yağ dokusunda yüksek düzeydeki konsantrasyonlara ulaşırken, beyin omurilik sıvısına geçişi zayıftır.⁸³

Itrakonazol kullanımına bağlı olarak görülen yan etkiler flukonazolle benzerlik gösterir ancak itrakonazole bağlı ortaya çıkan gastrointestinal yan etkiler, flukonazol kullanımında görülenlere göre daha fazladır. Yüksek dozlarda alındığında hipokalemi, ödem ve hipertansiyon yapabilir. Hepatotoksik etkisi nadir olarak görülür.⁷⁰

2.5.2.3. Vorikonazol

Vorikonazol, flukonazol çekirdeğinde yapılan değişiklikler sonucunda bulunan flukonazol'e göre daha güçlü, daha geniş spektrumlu oral ve parenteral kullanıma uygun yeni bir ikinci kuşak triazol grubu antifungaldir. Vorikonazolun oral ve intravenöz formları bulunmaktadır. Ayrıca vorikonazol emilimi, itrakonazol ve flukonazolün aksine mide içi pH değişikliklerinden etkilenmemektedir. Merkezi sinir sistemi de dahil bir çok dokuya yayılım gösterir. Vücuda alınan vorikonazolün büyük miktarının (%80'i), atılımı karaciğer yoluyla sağlanır.^{70,84}

Azoller arası çapraz direncin görülebilmesi nedeniyle, flukonazol dirençli kandida izolatlarının önemli bir bölümü, ketokonazol ve itrakonazol'e olduğu gibi, vorikonazole de direnç gösterirler.^{70,85}

Vorikonazol kullanımı sırasında hastalarda en sık görülen yan etkiler; geçici görme bozuklukları ve karaciğer enzimlerinde yükselmedir. Deri reaksiyonları, halüsinasyonlar ve konfüzyon gibi etkileride olabilir. Genelde iyi tolere edilebilen bir antifungal ajan olmakla beraber vorikonazol dozunun tam olarak belirlenebilmesi için plazma vorikonazol konsantrasyon değerinin ölçülmesi önerilmektedir.⁷⁰

2.5.2.4. Posakonazol

Posakonazol, invazif kandidoz ve aspergillozlu, bağışıklık sistemi baskı altına alınmış yüksek risk altında bulunan hastalarda profilaktik olarak kullanılmak üzere FDA tarafından onay almıştır. Flukonazole dirençli kandida türlerine karşı etkilidir.⁸⁶

2.5.3. Ekinokandinler

İlk ekinokandin olan silofunginin geliştirilmesinden bu yana uzun yıllar geçmesine rağmen, klinik kullanımda yer alan anidulafungin, kaspofungin, mikafunginin geliştirilmesi son dönemlere denk gelmektedir.⁷⁰

Ekinokandinler seçicilik özelliği gösteren antifungal maddelerdir. Memeli hücrelerinde yer almayan, bununla beraber mantar hücre duvarının önemli bir bileşeni olan 1,3- β -glukan sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Bu bağlamda ekinokandinlerin etki spektrumu hücre duvar bileşiminde 1,3- β -glukanın baskın durumda olduğu kandida ve aspergillus türleri ile sınırlıdır. Ekinokandinler kandida türlerinin çoğuna fungisidal, Aspergillus türlerine karşı fungistatik etki gösterirler.^{70,73,79,80}

Ekinokandinlerin klinik tedavide tercih edilmesinin önemli bir nedeni ise azol ve polyenlere karşı dirençli olan türlere (özellikle *Candida* spp'ye) karşı etkinliğinin çok iyi olmasındandır.^{70,79}

2.5.4. Primidin Sentezi İnhibitörleri

2.5.4.1. Flusitozin

Mantar hücre membranındaki permeazlar tarafından hücre içerisine alınıp florourasile dönüştürülerek RNA yapısına katılır ve RNA yapısını hasara uğratarak bozar. Diğer bir metaboliti olan florodeoksiüridin monofosfat, DNA sentezini bloke eder. Amp- B' ye göre etki spektrumu daha dar, toksisitesi daha düşüktür.⁸⁷ Direnç ciddi bir sorundur. Duyarlı mikroorganizmalar permeabilite değişikliği, enzim modifikasyonu, pürin ve pirimidin gibi yarışmacı metabolitlerin varlığı ile tedavi sırasında direnç oluşturabilirler. *C. neoformans* ve bazı kandida türlerinde % 10 kalıtsal direnç söz konusu iken, tedavi esnasında % 5 kazanılmış direnç gelişmektedir. Bu sebeple mantar enfeksiyonlarının tedavisinde flusitozin tek başına kullanılamaz. En önemli terapötik kullanımı, kriptokokal menenjitin tedavisinde Amp-B ile birlikte oluşturduğu kombinasyondur.⁸⁸

2.6. Antifungal Duyarlılık Testleri

Yıllar içerisinde mantar enfeksiyonlarının artması, yeni antifungal ilaçların ortaya çıkması ve antifungal ilaçlara karşı direnç gelişiminin başlaması nedeniyle güvenilir antifungal duyarlılık testlerine olan ihtiyaç giderek artmıştır.^{89,90}

Referans Antifungal Duyarlılık Yöntemleri: Antifungal duyarlılık testlerinin standardizasyon çalışmalarına 1980'li yıllarda başlanılmıştır. ABD'de CLSI, Avrupa'da The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önderliğinde çok merkezli ortak çalışmalar yapılmış ve hem sıvı ortamda hem de katı ortamda çalışabilen yöntemler üzerinde ortak bir fikre varılmıştır.^{91,92}

Duyarlılık testlerinin önde gelen amacı tedaviye yön vermektir. Kandida türleri için geliştirilmiş referans testler bu amaca hizmet etmeye başlamıştır ve günümüzde hekimler antifungal duyarlılık testlerini rutin olarak kullanmaktadır.⁹³ Tablo 2.3'de

antifungal duyarlılık testlerinin rutin kullanımı ile ilgili dikkat edilecek hususlar yer almaktadır.

Tablo 2.3. Antifungal duyarlılık testlerinin rutin kullanımı ile ilgili tavsiyeler⁹⁴

• Kan veya steril bölgelerden izole edilen <i>C. glabrata</i> başta olmak üzere <i>C. albicans</i> dışı türlere uygulanmalı
• Klasik tedaviye yanıt vermeyen orofaringeal kandidoz olgularından izole edilen suşlar uygulanmalı
• Başlangıçtaki antifungal tedaviye yanıt vermeyen invazif hastalıklardan izole edilen tüm suşlara uygulanmalı
• Çapraz direnç belirlenmek istendiği zaman uygulanmalı
➤ Flukonazol dirençli <i>C. glabrata</i> 'da vorikonazol direncinin belirlenmesi
• Sık görülmeyen ve duyarlılık özelliği bilinmeyen izolatlarla uygulanmalı

Antifungal duyarlılık testlerinin diğer bir kullanım alanı da epidemiyolojik çalışmalardır. Özellikle steril vücut bölgelerinden elde edilen suşların duyarlılık paternlerinin öğrenilmesi ampirik tedavilere yol gösterici olmakta ve bölgeler arası farklılıkları ortaya koymaktadır.^{95,96}

Antifungal duyarlılıkta, en çok tercih edilen yöntem sıvı dilüsyon yöntemleridir. CLSI tarafından makro ve mikrodilüsyon tekniği, EUCAST tarafından sadece mikrodilüsyon yöntemi referans yöntem olarak sunulmuştur.^{91,92} Makrodilüsyon yönteminde çok daha fazla malzeme ve zaman harcanması nedeniyle günümüzde tercih edilen yöntem mikrodilüsyon yöntemi olmuştur. Her iki referans mikrodilüsyon yöntemi temelde birbirine çok benzemektedir. Her iki yöntem de RPMI 1640'ı besiyeri olarak kullanmakta ve 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid (MOPS) ile tamponlama yapmaktadır.

EUCAST tarafından önerilen mikrodilüsyon yönteminde ek olarak besiyerinin glikoz yoğunluğu %2'ye çıkarılmıştır. İnokülüm hazırlanması iki yöntemde de spektrofotometrik olup, miktar CLSI yönteminde 0.5-2.5X10³ iken EUCAST

yönteminde on kat daha fazladır, yaklaşık olarak 104 civarındadır. Yükseltilmiş glikoz konsantrasyonu ve inokülüm miktarı EUCAST yönteminde sonuçların daha erken, 24 saat sonra okunmasını sağlamıştır. Her iki referans yöntemde de okuma gözle yapılmakta ve Amp-B için üremenin olmadığı son kuyucuk, azol ve ekinokandinler için ise üremenin %50 azaldığı son kuyucuk minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirilmektedir. İki referans yöntem birbirleriyle kıyaslandığında uyumlu yani benzer sonuçların alındığı görülmüştür.^{97,98}

Disk difüzyon yöntemi katı besiyerleri tercih edilerek uygulanan bir duyarlılık tekniğidir ve CLSI tarafından kandida türleri için geliştirilmiş referans bir yöntem bulunmaktadır.⁹⁹ Müller-Hinton agarda 35°C’da 24 saatlik inkübasyon sonunda zon çapları belirlenerek değerlendirmeler elde edilmektedir. Tablo 2.4’de mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemi için geçerli duyarlılık sınırları görülmektedir.

Tablo 2.4. Kandida türlerinin antifungal ilaçlara duyarlılık sınırları⁹¹

İlaçlar	Duyarlılık kategorisi	CLSI	EUCAST
Amfoterisin B	Duyarlı	-	≤1
	Dirençli	-	>1
Flukonazol	Duyarlı	≤8	≤2
	Doza-bağlı duyarlı	16-32	-
	Dirençli	≥64	>4
Itrakonazol	Duyarlı	≤0.12	-
	Doza-bağlı duyarlı	0,25-0.5	-
	Dirençli	≥1	-
Vorikonazol	Duyarlı	≤1	≤0.125
	Doza-bağlı duyarlı	2	-
	Dirençli	≥4	>0.125
Kaspofungin	Duyarlı	≤2	-
	Duyarlı değil	≥4	-
Anidulafungin	Duyarlı	≤2	≤0.06
	Duyarlı değil	≥4	>0.06

-. Henüz belirlenmemiş

Amp-B için CLSI duyarlılık sınırlarını belirlememiştir. EUCAST ise >1mikrogram/mililitre değerini dirençli olarak kabul etmiştir.^{91,37} Azoller için ise doza bağlı duyarlı ifadesi bulunmaktadır. Bu kategorideki suşlara ilaç dozu yükseltildiği zaman etkili olmak mümkündür.⁹¹ Ekinokandinlerde ise dirençli kavramı yerine duyarlı değil ifadesi kullanılmaktadır. Ekinokandinlerin emniyetli ilaç kullanım sınırları tam olarak bilinmediğinden dolayı direnç kavramının kullanılması doğru bulunmamıştır.⁹¹

Antifungal duyarlılığı belirlemede kullanılan diğer yöntemler: CLSI ve EUCAST tarafından önerilen makro ve mikro dilüsyon ve disk difüzyon referans yöntemleri yaygın kullanım alanı bulsalar bile yeni arayışlar her zaman devam etmiştir. En önemli problem yeni bir sistemin standardizasyonunu sağlamaktır. E-test (AB Biodisk Solna, Sweden) Sensititre YeastOne Colorimetric System (TREK Diagnostic Systems, ABD) ve VITEK 2 Yeast Susceptibility Test (BioMerieux, Inc, Durham, NC) kullanılması tavsiye edilen üç ticari sistemdir.⁹⁹

E-test yöntemi kantitatif bir difüzyon yöntemidir. Çeşitli dozlarda antifungal ajan emdirilmiş plastik bir şeritten katı bir besiyerine ilacın difüzyonuna olanak sağlanarak, 24-48 saatlik inkübasyon sonunda elips şeklinde oluşan inhibisyon zonu ile MİK değerinin saptanması mümkün olur. Kolay ve zaman almayan bir test olup, referans yöntemlerle yüksek oranda benzerlik gösteren sonuçlar bildirilmektedir.¹⁰⁰⁻¹⁰¹ E-testin en önemli avantajı kandida türleri ve *C. neoformans*'da azalmış Amp-B duyarlılığını diğer yöntemlerden daha güvenilir olarak belirleyebilmesidir.^{102,103}

Sensititre YeastOne Colorimetric System, ABD, 96 kuyucuğu olan bir plak olup kuyucuklarda kuru şekilde farklı dilüsyonlarda antifungal maddeler ve kolorimetrik indikatör yer almaktadır. Kandida türleri ve *C. neoformans*'ın antifungal duyarlılığını test etmekte oldukça faydalı bir sistemdir. İnokulum süspansiyonunun kuyucuklara eklenmesinden 24 saat sonra sonuçlar okunabilir. Renk değişikliğinin olmadığı ilk

kuyucuk MİK olarak değerlendirilir. Kırmızı renk üremenin olduğunu, mor-mavi renk ise üremenin inhibe edildiğini gösterir.^{104,105} Değişik çok merkezli çalışmalarda, bu sistemin referans mikrodilüsyon yöntemiyle paralel olduğu ve yeni triazollerle %95, üç ekinokandinle %100 uyumlu olduğundan bahsedilmektedir.^{106,107}

VITEK 2 Yeast Susceptibility Test, duyarlılığı spektrofotometrik olarak ölçen ilk tam otomatik ticari duyarlılık sistemidir. EUCAST mikrodilüsyon yöntemi ile entegre bir yöntemdir ve optimum standardizasyonu sağlamıştır.¹⁰⁸ Birden fazla merkezli çalışmalar VITEK 2 sisteminin referans mikrodilüsyon yöntemi ile Amp-B, flukonazol, vorikonazol ve flusitozin için uyumlu olduğunu göstermiştir.^{109,110} Ayrıca bu sistem 12-15 saat sonra sonuç verebilmektedir.

Bahsi geçen bu üç ticari sistem dışında çok sayıda farklı sistemler de vardır. Ancak hiçbirinin tam standardizasyonu yapılmamış ve güvenilirlik kazanmamıştır. Bu nedenle rutin mikrobiyoloji de kullanılmaları önerilmemektedir.¹¹¹

2.6.1. Mikrodilüsyon Yöntemi

Tablo 2.5. CLSI M27-A2 mikrodilüsyon yönteminin temel prensipleri.¹¹²

Özellik	Standart
Yöntem	Mikrodilüsyon
İnokulum konsantrasyonu cfu/ml	0.5×10^3 - 2.5×10^3
Besiyeri	RPMI 1640
Tampon	3-(N-Morfolino)-propan-sülfonik asit
(MOPS) pH	7
İnkubasyon ısısı	35°C
İnkubasyon süresi	48 saat (kandida)
MİK değeri	Amfoterisin B:Hiç üreme görülmeyen (berrak) en düşük konsantrasyon (skor 0) Azoller ve 5-flusitozin: Üreme kontrol çukuruna göre bulanıklığı belirgin (~ %50) azaltan en düşük konsantrasyon (skor 2)

3. MATERYAL VE METOT

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji rutin laboratuvarında kan kültürlerinden izole edilen 50 kandida suşu çalışma kapsamına alındı.

3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon

3.1.1. Primer İzolasyon

Çalışmaya, Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında BACTEC 9120 sistemi (Becton-Dickinson, ABD) ile kan kültürlerinden elde edilen ve saklanan kandida suşları alındı. Suşlar iki defa SDA'ya pasajlanarak saflaştırıldı ve tanımlanma testleri (germ tüp testi, mısır unu-Tween 80 agarda mikroskopik görünüm, CHROMagar besiyerinde koloni rengi) uygulandı.

3.1.2. İdentifikasyon

3.1.2.1. Çimlenme (Germ Tüp Oluşturma) Deneyi

Çalışılacak koloniden öze yardımı ile bir miktar alınıp 1 ml insan serumu içeren tüpün içerisinde karışım haline getirildi; 37°C'de 2,5-3 saat süren inkübasyon sonrasında elde edilen süspansiyondan bir miktar alınıp lam-lamel arası preparat oluşturularak mikroskop ile inceleme yapıldı.¹¹⁶ Gözlemde, ana hücreden orjinlenen ve başlangıç kısmında boğumlanma yapmadan ve boylu boyunca bariz şişkinlik olmayan, iplikçik tarzında uzantılar görülen yapılar germ tüp (çimlenme borusu) olarak nitelendirildi ve çalışılan suş *C. albicans* olarak değerlendirildi.^{113, 35, 69, 114, 115, 117-120}

3.1.2.2. Klamidospor, Blastospor, Artrospor, Pseudohif ve Hif Oluşturma Özelliğinin İncelenmesi

Mısırunu-Tween 80 agara Dalmau tekniği esas alınarak ekim gerçekleştirildi. Ekim için saf mayalardan iğne uçlu öze yardımı ile belirli bir miktar alınarak birbirine paralel dört çizgi halinde, besiyerini delmeden ve özeyi tabana kadar batırmadan çizgi

ekim yapıldı. Ekim çizgilerinin üstüne, çizgilerin plak dışına bakan bölümünün yarısını kapatacak şekilde lamel yerleştirilerek 26°C’de 72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda ekilen mayalar ışık mikroskopunda kapalı diyaframda 10x, 20x ve 40x büyütmede incelendi.^{35,69, 118-120}

Pseudohiflerin uç kısımlarında ve yan uzantılarında görülen iri, kalın duvarlı, yuvarlak klamidosporlar ile hif birleşme kısımlarındaki blastospor kümeleri *C. albicans*; pseudohif ve hif boyunca tek tek veya minik kümeler yapacak şekilde dizilim gösteren blastosporlar *C. tropicalis*; pseudohif boyunca nehir yüzeyinde bulunan kütükler görünümünde uzun blastosporlar *C. kefyr*; ağaca benzer şekilde dizilmiş uzun blastosporlar ve pseudohif *C. krusei*; dev hif ve gözyaşı damlası şeklinde blastosporlar *C. parapsilosis*; hif ve pseudohif yapısı bulunmadan ucunda tomurcuklanmalar görülen küçük oval blastosporlar *C. glabrata* olarak değerlendirildi.^{35, 69, 117, 120}

3.1.2.3. CHROM Agar (Kromojenik Besiyeri)’a Ekim

Bu ekim işleminin gayesi kandidaların bu besiyerlerinde çoğalırken meydana getirdikleri farklı koloni renkleri yardımıyla ayırt edilmesidir. Deney için ekilen örnekler 37 °C’de 48-72 saat inkübasyona bırakıldı. CHROM agarda yeşil renk veren koloniler *C. albicans*, açık pembe renkli basık koloniler *C. krusei*, pembe-menekşe rengine olan koloniler *C. glabrata* veya *C. kefyr*, mavi koloniler ise *C. tropicalis* lehine değerlendirildi.^{121,122}

3.1.2.4. API 20C AUX İdentifikasyon Sistemi ile İnceleme

Yukarıda açıklanan yöntemlerle tanımlanamayan suşların adlandırılması veya tanımlanan suşların doğrulanması için bu inceleme yapıldı. Bu sistem 20 adet mikro kuyucuk içerir. Bu kuyucukların 19’u karbonhidrat asimilasyon testlerini barındırır. Test edilen karbonhidratlar: glukoz, gliserol, 2-keto-D-glukonat, L-arabinoz, D-ksiloz, adonitol, ksilitol, galaktoz, inozitol, sorbitol, α-metil-D-glukosid, N-asetil-D-

glukozamin, selobiyoz, laktoz, maltoz, süktroz, trehaloz, melibiyoz ve rafinozdur. Mayalar ekildikleri mikro kuyucukta bulunan karbonhidratı tek karbon kaynağı olarak kullanıyorsa, o kuyucukta üreme olur ve karbonhidrat asimilasyon yetenekleri 24, 48 ve 72 saatte değerlendirilerek sonuç verilir.^{119, 120}

3.2. Antifungal Duyarlılık Testi

Çalışmaya alınan kandida türlerinin antifungal duyarlılığı SYO duyarlılık sistemi ile araştırıldı. Kullanılan bu yöntem kalitatif ve kantitatif MİK sonuçlarını belirlemeye yardımcı olan bir mikrodilüsyon metodudur.

Tablo 3.1. Antifungaller ajanlar ve dilüsyonları¹²³

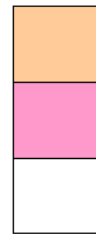
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0.015	AND 0.03	AND 0.06	AND 0.12	AND 0.25	AND 0.5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0.12
B	MF 0.008	MF 0.015	MF 0.03	MF 0.06	MF 0.12	MF 0.25	MF 0.5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0.25
C	CAS 0.008	CAS 0.015	CAS 0.03	CAS 0.06	CAS 0.12	CAS 0.25	CAS 0.5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0.5
D	FC 0.06	FC 0.12	FC 0.25	FC 0.5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0.008	PZ 0.015	PZ 0.03	PZ 0.06	PZ 0.12	PZ 0.25	PZ 0.5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0.008	VOR 0.015	VOR 0.03	VOR 0.06	VOR 0.12	VOR 0.25	VOR 0.5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0.015	IZ 0.03	IZ 0.06	IZ 0.12	IZ 0.25	IZ 0.5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0.12	FZ 0.25	FZ 0.5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256



DUYARLI (S)

DUYARLI DEĞİL (NS)

DİRENÇLİ (R)



DOZA BAĞIMLI DUYARLI (S-DD)

ORTA DUYARLI (I)

YORUMU HENÜZ YOK

3.2.1. Mikrodilüsyon Yöntemi

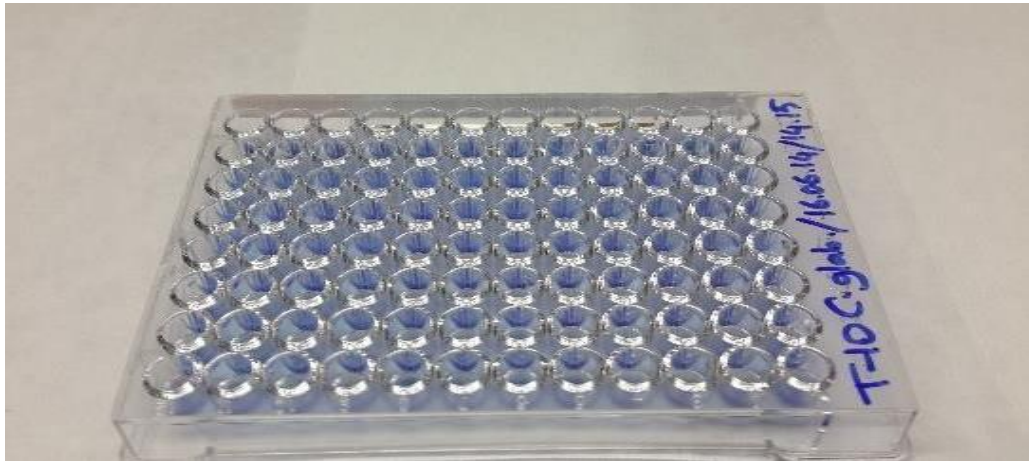
Plak üzerindeki her kuyucuk için uygun dilüsyonlarda antifungal ajan ve kolorimetrik indikatör eklenmiştir. Sonuçlar üremenin inhibe olduğu en düşük

antifungal konsantrasyonun saptanması ile elde edilir. (Renk değişiminin olmaması gerekir).

3.2.2. İnokülasyon Prosedürü

Son organizma yoğunluğu yaklaşık $1,5-8 \times 10^3$ kob/ml olarak ayarlandı.

1. Maya izolatlarının saf 24 saatlik kültürlerinden $>1\text{mm}$ iyi izole edilmiş kolonilerden bir miktar alındı ve steril su (T3339) içinde süspansiyon hazırlandı. Süspansiyon 15 saniye vorteksle iyice karıştırıldı, homojen hale gelmesi sağlandı. Kümelenmenin olduğu durumlarda yoğunluğu ayarlamadan önce onların çökmesine müsaade edildi ve 0.5 McFarland standardına göre ayarlandı.
2. $1,5-8 \times 10^3$ kob/ml inokülüm elde etmek için 11 ml'lik YeastOne inokülüm broth (Y3462) içine süspansiyondan 20 μl transfer edildi. 1. ve 2. basamaklar 15 dakika içinde tamamlandı.
3. Broth steril küvete boşaltıldı ve uygun pipet kullanılarak 100 er μl kuyucuklara transfer edildi: 15 dakika içinde işlem tamamlandı.
4. Süspansiyondan 10 μl alarak SDA üzerinde koloni kontrol sayımı yapıldı. Doğru inokülüm 15-80 koloni üretecektir.
5. Tüm kuyucuklar yapışkan bant ile kaplandı.



Şekil 3.1. Maya izolatu ekilen panelin görüntüsü



Şekil 3.2. 24 saatlik inkübasyondan sonra göz ile okunabilen MİK değerleri

3.2.3. İnkübasyon

CO₂ gerektirmeyen etüvde, 35°C de, minimum 24–25 saat, en fazla 3 plak üst üste gelecek şekilde inkübe edildi.

3.2.4. Test Sonuçlarının Okunması

Plaklar kuyucukların alt kısmını gösteren okuma aynası kullanılarak normal laboratuvar ışığı altında göz ile okundu. Maya üremesi görülen kuyucuktaki renk maviden kırmızıya dönecektir. Bazı mayalar indikatörü tamamen kırmızıya dönüştürmedi, posakonazol, vorikonazol, flukonazol, itrakonazol ve ketokanazol ilave edilmiş kuyucuklar içinde zayıf eflatun renk oluşumu görüldü.

1. 24 saat inkübasyondan sonra plak üzerinde bulunan pozitif kontrol kuyucuğu gözlemlendi. Pozitif kontrol kuyucuğu tamamen kırmızı olduğunda antifungal için son değerler okunmaya başlandı. Eğer kuyucuk halen mavi veya sadece zayıf olarak eflatun ise 24 saat daha inkübe edildi ve tekrar gözlemlendi. Sensititre YeastOne plaklarında bulanıklık gösteren kuyucuklar değerlendirmeye alınmayıp, sadece renk değişimi olanlar okundu.
2. Renk değişiminin olmadığı ilk kuyucuk MİK değeri olarak belirlendi.

Üremenin olduğu son kuyucuğa karar verebilmek için pozitif kontrol kuyucuğundaki renk değişimi ile kıyaslama yapıldı.

3. Kuyucuklarda maya üremesi gerçekleşmemişse renk değişimi de görülmedi. Bu durumda organizma antifungalın en düşük konsantrasyonuna da duyarlı olarak kaydedildi.
4. MİK değeri pozitif kontrol kuyucuğundaki renk baz alınarak belirlendi. Renk değişiminin olmadığı ilk kuyucuk antifungal ajanın en düşük konsantrasyonu olarak kayıt edildi. (İlk mavi kuyucuk)
5. Tüm kuyucuklarda renk değişimi gözlemlendiğinde organizma antifungalın en yüksek konsantrasyonuna da dirençlidir. MİK değeri en yüksek konsantrasyondan daha büyük (>) olarak kaydedildi.

3.2.5. Sonuçların Yorumlanması

Tablo 3.2. Oluşabilecek test sonuçlarının gösterimi ve yorumlanması¹²³

Kuyucuk konsantrasyonu µg/ml	R = Kırmızı: Üremenin pozitif oluşunun göstergesi						B = Mavi: Üremenin negatif oluşunun göstergesi
	1	2	4	8	16	32	
A	R	R	R	B	B	B	Tipik üreme örneği; MIC son noktası 8 mikrogram/mililitre.
B	R	R	R	R	R	R	Tüm kuyucuklarda üreme; MIC son noktası >32 mikrogram/mililitre.
C	B	B	B	B	B	B	Herhangi bir kuyucukta üreme yok; MIC son noktası ≤1 mikrogram/mililitre.
D	R	R	R	B	R	R	“Atlanmış kuyucuk”. MIC son noktası >32 µg/ml. Atlama üremenin herhangi bir kuyucuğunda gözlenir ise önemsenmez. Eğer kolonda birden fazla atlama var ise test sonuçları geçersizdir.
E	R	R	B	B	R	R	Çift atlanmış kuyucuk. Test sonuçları tekrar edilmelidir.

3.2.6. Okuma Notları

Amfoterisin B: 24 saat sonunda Amp-B için en son üreme kuyucuğu kolaylıkla tanımlandı ve gözlenen düşük ilaç konsantrasyonu MİK değeri olarak okundu. Amp-B

nin son üreme kuyucuğu genellikle net şekilde okundu.

Flusitozin ve Azol Antifungallar: Flukonazol, itrakonazol, ketakonazol, vorikonazol, posakonazol gibi azoller ve flusitozin ile *C. albicans*, *C. glabrata* ve *C. tropicalis* 24 saatlik üreme sonunda, pembe veya eflatun olduğu çok belli olmayan noktalar verdi ve değişkenliğin önemli kaynağı olabilirler. Zayıf renk değişimi devam ettiğinde iz üremeler görüldü ve bu üremeler MİK değerlerini belirlemede etkili oldu. MİK değeri; pozitif kontrol kuyucuğu ile karşılaştırıldığında daha kuvvetli renk değişimi olan ilk kuyucuk olarak belirlendi.

3.2.7. Kalite Kontrol

Sterilite kontrolü için SDA'ya ekilen kandida kültürlerinden yalnızca birinde kontaminasyon görüldü ve bu suş çalışmaya dahil edilmeyip başka bir suşla çalışmaya devam edildi. Koloni sayımı işlemleri içinde SDA'ya ekim yapıldı ve 15-80 arasında koloni sayıldı ve bu değer istenilen aralıktaydı.

<i>Candida krusei</i> *	ATCC 6258
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019

*ATCC'nin şimdiki listesinde bu organizma *Issatchenkia orientalis* olarak yer almaktadır.

Tablo 3.3. Önerilen veya kalite kontrol suşları için 24 ve 48 saat MIC (Ug/MI) aralığı¹²⁵

Antifungal ajanlar	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	
	24saat	48 saat	24 saat	48 saat
Posakonazol	0.06-0.5	0.12-1	0.06- 0.25	0.06 - 0.25
Amfoterisin B	0.5 – 2	1-4	0.25 – 2	0.5 - 4
Flukonazol	8 – 64	16 - 128	<u>0.5 -4</u>	<u>2 – 8</u>
Itrakonazol	0.12 - 1	0.25 - 1	0.12 – 0.5	0.12 - 0.5
Ketokonazol	0.12 – 1	0.25 - 1	0.03 – 0.25	0.06 - 0.5
Flusitozin	4 - 16	8 – 32	<u>0.12 - 0.5</u>	0.12 - 0.5
Vorikonazol	0.06 – 0.5	<u>0.25 - 1</u>	0.016 – 0.12	0.03 - 0.25
Kaspofungin	0.12 - 1	0.25- 1	0.25-1	0.5-4

CLSI (NCCLS) kalite kontrol aralığından farklı olan aralıkların altı çizilmiştir.

Tablo 3.4. Kandida türleri için MİK değerlendirme kriterleri CLSI M27¹²³

Antifungal Ajan	Duyarlı	Doza bağlı duyarlı	Orta	Dirençli
Flukonazol	≤ 8	16 - 32		≥ 64
Itrakonazol	≤ 0.125	0.25 – 0.5		≥ 1
Flusitozin	≤ 4		8 - 16	≥ 32
Vorikonazol	≤ 1	2		≥ 4

*Tüm birimler mikrogram/mililitre'dir

4. BULGULAR

Çalışmada kan kültürlerinden izole edilen 50 kandida suşu ve 2 standart suş kullanıldı. Germ tüp testi, mısır unlu agarda mikroskopik görünimleri, CHROM agardaki koloni rengi ve API 20C AUX sistemi yardımı ile tür düzeyinde tanımlanan 50 kandida suşundan 16'sının (% 32) *C. albicans*, 14'ünün (% 28) *C. tropicalis*, 10'unun (% 20) *C. glabrata*, 8'inin (% 16) *C. parapsilosis*, 2'sinin (% 4) *C. kefir* olduğu tespit edildi. İki adet standart kandida suşu (*C. krusei* ATCC 6258, *C. parapsilosis* ATCC 22019) çalışmamıza dahil edildi.

Tablo 4.1. Çalışmaya alınan kandidaların tür dağılımı

Kandida türü	Sayı	%
<i>C. albicans</i>	16	32
<i>C. tropicalis</i>	14	28
<i>C. parapsilosis</i>	8	16
<i>C. glabrata</i>	10	20
<i>C. kefir</i>	2	4
Toplam	50	100

Kan kültürlerinden izole edilen 50 kandida suşunun antifungal duyarlılık testleri kolorimetrik Sensititre YeastOne kiti kullanılarak mikrodilüsyon yöntemiyle yapıldı. Kandida suşlarının mikrodilüsyon yöntemi ile MİK aralık, MİK50 ve MİK90 değerleri sırasıyla, **Amp-B için**; *C. albicans*'ta 0.25-1 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 1 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.12-1 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 1 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.5 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 0.5 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.12-2 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 1 mikrogram/mililitre, **Flukonazol için**; *C. albicans*'ta 0.12-256 mikrogram/mililitre, 0.25 ve 0.5 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.25-4 mikrogram/mililitre, 2 ve 4 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.25-0.5 mikrogram/mililitre, ve 0.5

mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 1-32 mikrogram/mililitre, 2 ve 4 mikrogram/mililitre, **Vorikonazol** için; *C. albicans*'ta 0.008 - 8 mikrogram/mililitre, 0.008 ve 0.008 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.008-0.25 mikrogram/mililitre, 0.12 ve 0.25 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.008-0.015 mikrogram/mililitre, 0.008 ve 0.015 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.015-0.5 mikrogram/mililitre 0.03 ve 0.06 mikrogram/mililitre, **Kaspofungin** için; *C. albicans*'ta 0.015-0.5 mikrogram/mililitre, 0.03 ve 0.06 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.015 - 0.5 mikrogram/mililitre, 0.03 ve 0.25 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.25-0.5 mikrogram/mililitre, 0.5 mikrogram/mililitre ve 0.5 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.15-0.5 mikrogram/mililitre, ve 0.12 mikrogram/mililitre, **Anidulafungin** için; *C. albicans*'ta 0.015-0.5 mikrogram/mililitre 0.015 ve 0.12 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.015-2 mikrogram/mililitre, 0.03 ve 1 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 1-2 mikrogram/mililitre, 1 ve 2 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.015-0.12 mikrogram/mililitre 0.06 ve 0.06 mikrogram/mililitre, **Mikafungin** için; *C. albicans*'ta 0.008-1 mikrogram/mililitre 0.008 ve 0.03 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.015-1 mikrogram/mililitre, 0.03 ve 1 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.5-2 mikrogram/mililitre, 1 ve 2 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.015-0.5 mikrogram/mililitre 0.12 ve 0.5 mikrogram/mililitre, **Flusitozin** için; *C. albicans*'ta 0.06 mikrogram/mililitre 0.06 ve 0.06 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.06-1 mikrogram/mililitre, 0.06 ve 0.25 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.06-0.25 mikrogram/mililitre, 0.12 ve 0.25 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.06-2 mikrogram/mililitre 0.5 ve 1 mikrogram/mililitre, **Posakonazol** için; *C. albicans*'ta 0.008-8 mikrogram/mililitre 0.015 ve 0.03 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.015-0.5 mikrogram/mililitre, 0.025 ve 0.5 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.015-0.06 mikrogram/mililitre, 0.03 ve 0.03 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.12-2

mikrogram/mililitre, 0.12 ve 0.5 mikrogram/mililitre, **Itrakonazol için**; *C. albicans*'ta 0.015-16 mikrogram/mililitre 0.015 ve 0.06 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.015-0.5 mikrogram/mililitre, 0.25 ve 0.5 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.03-0.06 mikrogram/mililitre, 0.06 ve 0.06 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.06-1 mikrogram/mililitre 0.12 ve 0.25 mikrogram/mililitre olarak saptandı. Saptanan değerler Tablo 4.2'de gösterilmiştir.



Tablo 4.2. Kandida türlerinin mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan duyarlılıklarının MİK aralığı MİK 50 ve MİK 90 değerleri

Antifungal	<i>C. albicans</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. parapsilosis</i>	
	MİK aralığı	MİK 50/90	MİK aralığı	MİK 50/90	MİK aralığı	MİK 50/90	MİK aralığı	MİK 50/90
Anidulafungin	0.015	0.015/0.12	0.015-2	0.03/1	0.015-0.12	0.06/0.06	1-2	1/2
Mikafungin	0.008-1	0.008/0.03	0.015-1	0.03/1	0.015-0.5	0.12/0.5	0.5-2	1/2
Kaspofungin	0.015-0.5	0.03/0.06	0.015-0.5	0.03/0.25	0.015-0.5	0.06/0.12	0.25-0.5	0.5/0.5
Flusitozin	0.06	0.06/0.06	0.06-1	0.06/0.25	0.06-2	0.5/1	0.06-0.25	0.12/0.25
Posakonazol	0.008-8	0.015/0.03	0.015-0.5	0.025/0.5	0.12-2	0.12/0.5	0.015-0.06	0.03/0.03
Vorikonazol	0.008-8	0.008/0.008	0.008-0.25	0.12/0.25	0.015-0.5	0.03/0.06	0.008-0.015	0.008/0.015
Irakonazol	0.015-16	0.015/0.06	0.015-0.5	0.25/0.5	0.06-1	0.12/0.25	0.03-0.06	0.06/0.06
Flukonazol	0.12-256	0.25/0.5	0.25-4	2/4	1-32	2/4	0,25-0.5	0.5/0.5
Amfoterisin-B	0.25-1	0.5/1	0.12-1	0.5/1	0.12-2	0.5/1	0.5	0.5/0.5

*Tüm birimler mikrogram/mililitre'dir

Çalışmamızda kullandığımız standart suşlardan *C. krusei* ATCC 6258’de MİK değerleri flukonazol için 32 mikrogram/mililitre, vorikonazol için 0.25 mikrogram/mililitre, Amp-B için 1 mikrogram/mililitre, kaspofungin için 0.25 mikrogram/mililitre, anidulafungin için 0.03 mikrogram/mililitre, mikafungin için 0.12 mikrogram/mililitre, flusitozin için 8 mikrogram/mililitre, posakonazol için 0.25 mikrogram/mililitre, itrakonazol için 0.25 mikrogram/mililitre olarak saptandı. *C. parapsilosis* ATCC 22019’da 24 saatlik inkübasyondan sonraki MİK değerleri flukonazol için 1 mikrogram/mililitre, vorikonazol için 0.03 mikrogram/mililitre, Amp-B için 0.5 mikrogram/mililitre, kaspofungin için 0.25 mikrogram/mililitre, anidulafungin için 0.5 mikrogram/mililitre, mikafungin için 0.5 mikrogram/mililitre, flusitozin için 0.06 mikrogram/mililitre, posakonazol için 0.06 mikrogram/mililitre, itrakonazol için 0.06 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Amp-B’ye karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 1’inde 0.25 mikrogram/mililitre, 11’inde 0.5 mikrogram/mililitre, 4’ünde 1 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis* suşlarının 1’inde 0.12 mikrogram/mililitre, 1’inde 0.25 mikrogram/mililitre, 9’unda 0.5 mikrogram/mililitre, 3’ünde 1 mikrogram/mililitre, diğer kandida türlerinin ise 2’sinde 0.12 mikrogram/mililitre, 3’ünde 0.25 mikrogram/mililitre, 12’inde 0.5 mikrogram/mililitre, 1’inde 1 mikrogram/mililitre, 2’ sinde 2 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Flukonazol’e in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 1’inde 0,12 mikrogram/mililitre, 10’unda 0,25 mikrogram/mililitre, 4’ünde 0,5 mikrogram/mililitre, 1’inde 256 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis* suşlarının 1’inde 0,25 mikrogram/mililitre, 2’sinde 0,5 mikrogram/mililitre, 2’sinde 1 mikrogram/mililitre, 7’sinde 2

mikrogram/mililitre, 2' sinde 4 mikrogram/mililitre, diğer kandida türlerinin ise 3'ünde 0,25 mikrogram/mililitre, 6'sında 0,5 mikrogram/mililitre, 2'sinde 1 mikrogram/mililitre, 7'sinde 2 mikrogram/mililitre, 1'inde 4 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Vorikonazol'e karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 15'inde 0,008 mikrogram/mililitre, 1'inde 8 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis* suşlarının 1'inde 0,008 mikrogram/mililitre, 3'ünde 0,03 mikrogram/mililitre, 2' sinde 0,12 mikrogram/mililitre, 5'inde 0,25 mikrogram/mililitre, diğer kandida türlerinin ise 6'sında 0,008 mikrogram/mililitre, 5'inde 0,015 mikrogram/mililitre, 7'sinde 0,03 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,06 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,5 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Kaspofungin'e karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 1'inde 0,015 mikrogram/mililitre, 11'inde 0,03 mikrogram/mililitre, 3'ünde 0,06 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,5 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis* suşlarının 3'ünde 0,015 mikrogram/mililitre, 5'inde 0,03 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,06 mikrogram/mililitre, 3'ünde 0,12 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,25 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,5 mikrogram/mililitre diğer kandida türlerinin ise 1'inde 0,015 mikrogram/mililitre, 5'inde 0,06 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,12 mikrogram/mililitre, 2'sinde 0,25 mikrogram/mililitre, 8'inde 0,5 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Anidulafungin'e karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 10'unda 0,015 µg/ml, 2'sinde 0,03 mikrogram/mililitre, 3'ünde 0,012 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,5 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis* suşlarının 3'ünde 0,015 mikrogram/mililitre, 6'sında

0,03 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,06 mikrogram/mililitre, 2'sinde 0,12 mikrogram/mililitre, 1'inde 1 mikrogram/mililitre, 1'inde 2 mikrogram/mililitre diğer kandida türlerinin ise 1'inde 0,015 mikrogram/mililitre, 3'ünde 0,03 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,06 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,12 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,25 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,5 mikrogram/mililitre, 4'ünde 1 mikrogram/mililitre, 4'ünde 2 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Mikafungin'e karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 9'unda 0,008 mikrogram/mililitre, 3'ünde 0,015 mikrogram/mililitre, 3'inde 0,03 mikrogram/mililitre, 1'inde 1 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis* suşlarının 4'ünde 0,015 mikrogram/mililitre, 7'sinde 0,03 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,25 mikrogram/mililitre, 2'inde 1 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,25 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,5 mikrogram/mililitre diğer kandida türlerinin ise 1'inde 0,015 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,03 mikrogram/mililitre, 5'inde 0,12 mikrogram/mililitre, 2'sinde 0,25 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,5 mikrogram/mililitre, 4'ünde 1 mikrogram/mililitre, 3'ünde 2 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Flusitozin'e karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 16'sında 0,06 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis* suşlarının 11'inde 0,06 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,12 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,25 mikrogram/mililitre, 1'inde 1 mikrogram/mililitre diğer kandida türlerinin ise 6'sında 0,06 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,12 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,25 mikrogram/mililitre, 2'sinde 0,5 mikrogram/mililitre, 2'sinde 1 mikrogram/mililitre, 2'sinde 2 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Posakonazol'e karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 4'ünde 0,008

mikrogram/mililitre, 7'sinde 0,015 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,03 mikrogram/mililitre, 1'inde 8 mikrogram/mililitre *C. tropicalis* suşlarının 1'inde 0,015 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,06 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,12 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,25 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,5 mikrogram/mililitre diğer kandida türlerinin ise 2'sinde 0,015 mikrogram/mililitre, 6'sında 0,03 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,06 mikrogram/mililitre, 5'inde 0,12 mikrogram/mililitre, 3'ünde 0,25 mikrogram/mililitre, 2'sinde 0,5 mikrogram/mililitre, 1'inde 2 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Itakonazol'e karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen 24 saatlik MİK değerleri, *C. albicans* suşlarının; 8'inde 0,015 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,03 mikrogram/mililitre, 3'ünde 0,06 mikrogram/mililitre, 1'inde 16 mikrogram/mililitre *C. tropicalis* suşlarının 1'inde 0,015 mikrogram/mililitre, 2'sinde 0,06 mikrogram/mililitre, 2'sinde 0,12 mikrogram/mililitre, 5'inde 0,25 mikrogram/mililitre, 4'ünde 0,5 mikrogram/mililitre diğer kandida türlerinin ise 1'inde 0,03 mikrogram/mililitre, 10'unda 0,06 mikrogram/mililitre, 7'sinde 0,12 mikrogram/mililitre, 1'inde 0,25 mikrogram/mililitre, 1'inde 1 mikrogram/mililitre olarak saptandı.

Tablo 4.3. *C. albicans*'ın dokuz antifungal için MİK değerleri

Suş No	Anidulafungin	Mikafungin	Kaspofungin	Flusitozin	Posakonazol	Vorikonazol	Itrakonazol	Flukonazol	Amfoterisin-B
1	0.015	≤0.008	0.06	0.06	0.008	0.008	0.015	0.25	1
2	0.015	≤0.008	0.03	≤0.06	0.008	0.008	0.015	0.25	0.5
3	0.015	≤0.008	0.03	0.06	0.03	0.008	0.06	0.25	1
4	0.015	≤0.008	0.03	≤0.06	0.015	≤0.008	0.03	0.5	0.5
5	0.015	≤0.008	0.015	≤0.06	≤0.008	≤0.008	≤0.015	≤0.12	0.5
6	0.03	0.015	0.03	≤0.06	0.015	0.008	0.03	0.5	0.5
7	0.015	0.015	0.03	≤0.06	0.008	0.008	≤0.015	0.25	0.5
8	0.12	0.03	0.03	≤0.06	>8	>8	>16	>256	1
9	0.015	≤0.008	0.03	≤0.06	0.015	≤0.008	≤0.015	0.25	0.5
10	0.03	≤0.008	0.03	≤0.06	0.03	≤0.008	0.03	0.25	0.5
11	0.015	0.015	0.03	≤0.06	0.015	0.008	0.015	0.25	0.5
12	0.5	1	0.5	0.06	0.03	≤0.008	0.03	0.25	0.25
13	≤0.015	≤0.008	0.03	≤0.06	0.015	0.008	≤0.015	0.5	0.5
14	≤0.015	≤0.008	0.03	≤0.06	0.015	0.008	0.015	0.25	0.5
15	0.12	0.03	0.06	≤0.06	0.015	≤0.08	0.06	0.25	0.5
16	0.12	0.03	0.06	≤0.06	0.03	0.008	0.06	0.5	1

*Tüm birimler mikrogram/mililitre'dir

Tablo 4.4. *C. Tropicalis*'in dokuz antifungal için MİK değerleri

Suş No	Anidulafungin	Mikafungin	Kaspofungin	Flusitozin	Posakonazol	Vorikonazol	Itrakonazol	Flukonazol	Amfoterisin-B
1	0.03	0.03	0.03	0.06	0.12	0.06	0.25	1	0.5
2	0.03	0.015	0.12	0.06	0.5	0.25	0.5	2	1
3	0.015	0.015	0.015	≤0.06	0.06	0.03	0.06	0.5	≤0.12
4	2	1	0.25	0.12	0.015	≤0.008	0.015	0.25	0.5
5	0.03	0.03	0.03	≤0.06	0.12	0.12	0.25	1	0.5
6	0.03	0.03	0.06	≤0.06	0.5	0.25	0.5	2	1
7	1	1	0.5	0.25	0.12	0.03	0.12	2	0.5
8	0.03	0.03	0.12	≤0.06	0.5	0.25	0.5	4	0.5
9	0.03	0.015	0.015	0.06	0.5	0.25	0.5	4	1
10	0.12	0.03	0.03	0.06	0.25	0.12	0.25	2	0.5
11	0.06	0.25	0.12	1	0.25	0.03	0.06	2	0.25
12	0.12	0.03	0.03	0.06	0.25	0.12	0.25	2	0.5
13	0.015	0.015	0.03	≤0.06	0.25	0.25	0.25	2	0.5
14	≤0.015	0.03	0.015	≤0.06	0.12	0.06	0.12	0.5	0.5

*Tüm birimler mikrogram/mililitre'dir

Tablo 4.5. *C. Glabrata*'nın dokuz antifungal için MİK değerleri

Suş No	Anidulafungin	Mikafungin	Kaspofungin	Flusitozin	Posakonazol	Vorikonazol	Itrakonazol	Flukonazol	Amfoterisin-B
1	0.06	0.12	0.06	0.5	0.12	0.03	0.12	2	0.5
2	0.06	0.12	0.12	1	0.5	0.03	0.12	2	0.5
3	0.03	0.12	0.06	0.25	0.12	0.03	0.12	1	0.5
4	0.06	0.5	0.12	2	0.5	0.03	0.25	2	0.5
5	0.06	0.12	0.06	0.25	0.12	0.015	0.06	2	0.12
6	0.03	0.015	0.06	≤0.06	2	0.5	1	32	1
7	0.015	0.03	0.015	≤0.06	0.12	0.06	0.06	2	0.12
8	0.03	0.12	0.06	1	0.12	0.015	0.12	1	0.25
9	0.12	0.5	0.5	2	0.25	0.03	0.12	4	2
10	0.06	0.25	0.12	0.5	0.25	0.03	0.12	2	0.25

*Tüm birimler mikrogram/mililitre'dir

Tablo 4.6. *C. Parapsilosis*'in dokuz antifungal için MİK değerleri

Suş No	Anidulafungin	Mikafungin	Kaspofungin	Flusitozin	Posakonazol	Vorikonazol	Itrakonazol	Flukonazol	Amfoterisin-B
1	2	2	0.5	0.12	0.06	0.015	0.25	0.5	0.25
2	2	2	0.5	0.06	0.03	0.015	0.06	0.5	0.5
3	2	2	0.5	0.12	0.03	≤0.008	0.06	0.5	0.5
4	2	1	0.25	0.06	0.015	≤0.008	0.03	0.25	0.5
5	1	0.5	0.25	0.06	0.06	0.015	0.06	0.5	0.5
6	1	1	0.5	0.25	0.03	≤0.008	0.06	0.5	0.5
7	1	1	0.5	0.12	0.03	≤0.008	0.06	0.25	0.5
8	1	1	0.5	0.25	0.015	0.008	0.06	0.5	0.5

Tablo 4.7. *C. kefyr*'nin dokuz antifungal için MİK değerleri

Suş No	Anidulafungin	Mikafungin	Kaspofungin	Flusitozin	Posakonazol	Vorikonazol	Itrakonazol	Flukonazol	Amfoterisin-B
1	0.25	0.25	0.12	0.006	0.25	0.03	0.12	2	0.25
2	0.5	0.5	0.5	0.12	0.003	≤0.008	0.06	0.25	2

*Tüm birimler mikrogram/mililitre'dir

5. TARTIŞMA

Mantar enfeksiyonlarında görülen artışla beraber, bu enfeksiyonlara sebep olan türlerin sayısında da değişiklikler olmaya başlamıştır. Hastane kaynaklı fungal enfeksiyonlarda birinci sırada *C.albicans* olmasıyla beraber antifungal tedaviye daha güç cevap alındığı biliniyor olan *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* gibi, albicans dışındaki türlerinde karşımıza çıkma riski hızla artış göstermektedir. Bu sebeple türlerin identifikasyonu ve direnç profillerinin saptanması çok büyük önem arz etmektedir.¹²⁴

Kandidalar derimizde ve mukoza floramızda doğal olarak yer alan mikroorganizmalardandır. Normal sağlıklı kişilerin % 30-50 civarının ağız ve gastrointestinal sistemlerinde yer alırlar, bazı hazırlayıcı etmenlerin olduğu durumlarda kandidoz adı verilen enfeksiyonları yaparlar.¹²⁵

Kandidalar kan dolaşımı ile ilgili enfeksiyonların % 8'ini meydana getirmektedir. Non albicans etkenli enfeksiyonların artışı antimikrobiyal dirençlilik açısından önem taşımaktadır. Çünkü bu suşların önemli bir bölümü flukonazole dirençlidir. *C. albicans* koagülaz üretimi yaparak trombogenezin etkisinden korunur. Bu durum *C. albicans*'ın fibronektine ve fibrin tabakasına sağlam bir şekilde yapışmasını sağlar.¹²⁶

Çalışmamızda antifungal duyarlılık testleri için SYO ticari kiti kullanıldı. Pfaller ve ark.¹²⁷ ekinokandinler ile yaptıkları duyarlılık çalışmasında Sensititre kiti ve CLSI'nın referans yöntemiyle aldıkları sonuçları karşılaştırmış ve yöntemler arasındaki uyumu %100 olarak saptamıştır.

Ticari olarak kolayca elde edilebilmesi, aynı zaman içerisinde çok sayıda antifungalın test edilebilmesi ve uygulama rahatlığı gibi faydaları sebebiyle, çalışmamızda seçilen SYO ile duyarlılık testlerinin araştırılmasında, yenilenen,

flukonazol ve kaspofungin için kandida türlerine göre değişiklik gösteren direnç sınır değerleri kullanılmıştır.^{98, 128}

Gültekin ve ark.¹²⁹ kan kültürlerinden izole ettikleri 46 kandida suşu ile SYO ticari kiti kullanarak yaptıkları çalışmada tüm suşların amfoterisin B, vorikonazol, posakonazol ve kaspofungine duyarlı olduğunu saptamışlardır. *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.glabrata* ve *C.tropicalis* suşları flukonazole duyarlı bulunurken, beş *C.glabrata* izolatının üçünde itrakonazol direnci tespit edilmiş, diğer suşlarda ise itrakonazole duyarlılık olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda; *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ile *C. tropicalis*'in kaspofungin ve Amp-B'ye duyarlı olduğu, bir *C. albicans* suşunun vorikonazol direnci gösterdiği görüldü. Flukonazol direnci bir *C. glabrata* ile bir *C. albicans* suşunda saptandı. Itrakonazol direnci ise bir *C. albicans* ve bir *C. glabrata* suşunda saptanırken, bir *C. tropicalis* suşu ise itrakonazole doza bağımlı duyarlı (DBD) olarak bulundu.

Pfaller ve ark.¹³⁰ yaptıkları çalışmada referans olarak kullandıkları CLSI değerlerini, SYO ticari kiti kullanarak buldukları değerlerle karşılaştırmış ve sonuçların mükemmel bir uyuma sahip olduğunu görmüşlerdir. Çalışmalarında genel uyum % 95,4 olarak tespit edilmiştir.

Farina ve ark.¹³¹ çalışmalarında yedi farklı laboratuvarı SYO ve VITEK2 duyarlılık sistemlerinin karşılaştırmasını yapmışlardır. Dört farklı antifungalle (Amp-B, flukonazol, flusitozin ve vorikonazol) yaptıkları duyarlılık çalışmalarında SYO'a göre VITEK2 duyarlılık test sisteminin daha uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. İki metod arasındaki uyum % 81,4'den %88,6'ya kadar gözlemlenmiştir. Çalışma VITEK2 sisteminin maya duyarlılığını test etmede alternatif ve uygun bir yöntem olduğunu desteklemektedir. Ayrıca laboratuvarlar arası uyumu geliştirmek amacıyla MİK değerleri kriterlerinin optimizasyonuna ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Avolio ve ark.¹³² çalışmalarında; mayalar için mümkün olduğu kadar hızlı ve doğru MİK değeri belirlemeyi amaçlamışlardır. 40 kandidemi olgusunda SYO kolorimetrik kiti ile belirledikleri değerleri, CLSI değerleri ile karşılaştırmışlardır. Kıyaslama sonucunda SYO ile test edilen 40 kandida suşunun hiçbirinde büyük hata ya da hataya rastlanılmamıştır, sadece dört küçük hata bulunmuştur. Küçük hataların renk değişiminin olmadığı son kuyucuğu belirlemede yaşanan zorluklardan ileri geldiği düşünülmektedir. Bu çalışmanın sonucunda SYO kolorimetrik kitinin piyasadaki diğer duyarlılık belirleme kitlerine göre kısa zamanda ve doğru sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da duyarlılık ve direnç durumunu değiştirmeyecek ölçüde, son kuyucuktaki renk değişimini net olarak belirleyememeye bağlı olarak, küçük hatalar bulunmuştur.

Bertout ve ark.¹³³ yaptıkları çalışmada CLSI referans broth mikrodilüsyon test yöntemi (protokol M27 - A3) ve SYO ticari kitinden elde edilen sonuçları karşılaştırmışlardır. İki kalite kontrol suşu ve 102 kandida izolatu test edilerek; flukonazol, itrakonazol, ketokonazol, posakonazol, vorikonazol, flusitozin, Amp-B ve kaspofungin antifungalleri ile çalışmışlardır. MİK değerlerini belirleme işlemleri 24 saatlik inkübasyondan sonra yapılmıştır. CLSI ve SYO arasındaki uyumun % 70,6 ile % 92,2 arasında değiştiği tespit edilmiştir. SYO ticari kiti ile elde edilen MİK değerlerinde çok büyük hata olmaması sebebiyle ve küçük hataların önlenmesi adına SYO kitinin yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda kan kültürlerinden izole edilen kandida türlerinin Amp-B, flukonazol, anidulafungin, vorikonazol, kaspofungin, mikafungin, flusitozin, posakonazol ve itrakonazol'e karşı in vitro antifungal duyarlılıkları kolorimetrik SYO ticari kiti kullanılarak araştırılmış, MİK aralığı, MİK 50, MİK 90 değerleri belirlenmiştir (Tablo 4.2).

Çalışmamızda flukonazol için bir kandida suşunda doza bağımlı duyarlılık (MİK değeri 32 mikrogram/mililitre), bir kandida suşunda ise dirençlilik (MİK değeri ≥ 256 mikrogram/mililitre) tespit edilmiştir. Doza bağımlı duyarlı suş *C. glabrata* olarak saptanmıştır. Dirençli olan suş ise *C. albicans* olarak belirlenmiştir. Kandida suşlarının tamamında MİK aralıkları, Amp-B için; 0.12-2 mikrogram/mililitre, flukonazol için; 0.12-256 mikrogram/mililitre, vorikonazol için; 0.008-8 mikrogram/mililitre, kaspofungin için; 0.015-0.5 mikrogram/mililitre, anidulafungin için; 0.015-2 mikrogram/mililitre, mikafungin için; 0.008-2 mikrogram/mililitre, flusitozin için; 0.006-8 mikrogram/mililitre, posakonazol için; 0.008-8 mikrogram/mililitre, itrakonazol için; 0.015- 16 mikrogram/mililitre olarak belirlenmiştir.

Godoy ve ark.¹³⁴ Latin Amerika hastanelerinde kan kültürlerinden elde ettikleri kandida suşlarının antifungal duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak, MİK aralığı, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla, **Amp-B için** *C. albicans*'ta 0.125-1 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 0.5 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.25-1 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 1 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.25-1 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 1 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 0.5-1 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 0.5 mikrogram/mililitre, **flukonazol için** *C. albicans*'ta 0.125-0.5 mikrogram/mililitre, 0.25 ve 0.5 mikrogram/mililitre, *C. tropicalis*'te 0.125-0.5 mikrogram/mililitre, 0.25 ve 0.5 mikrogram/mililitre, *C. parapsilosis*'te 0.125-2 mikrogram/mililitre, 0.5 ve 2 mikrogram/mililitre, *C. glabrata*'da 2-8 mikrogram/mililitre, 2 ve 4 mikrogram/mililitre olarak bildirmişlerdir.

Karakoç ve ark.'¹⁸ kan kültürlerinden elde ettikleri 88 adet kandida suşunun iki farklı triazole karşı duyarlılığını araştırdıkları çalışmalarında buldukları sonuçlara bakıldığında; flukonazol için 8 suşda doza bağımlı duyarlılık (MİK değeri 16-32 mikrogram/mililitre), 5 suşda ise dirençlilik (MİK değeri ≥ 64 mikrogram/mililitre)

tespit edildiği görülmektedir. Doza bağımlı duyarlı suşlardan 3 adet *C. albicans*, 3 adet *C. tropicalis*, 2 adet *C. glabrata*; dirençli suşlar arasında da 1 adet *C. albicans*, 4 adet de *C. krusei* saptanmıştır. Suşlarının hepsinde MİK aralıkları, flukonazol için; 0.125-64 mikrogram/mililitre, vorikonazol için ise 0.125-1 mikrogram/mililitre olarak belirlenmiştir. Çalışma yapılan tüm kandidalarda vorikonazol için MİK değeri ≤ 1 mikrogram/mililitre olarak belirlenmiştir. Flukonazol'e karşı doza bağımlı duyarlı ve dirençli olan suşlarda da vorikonazol için düşük MİK değerleri tespit edilmiştir. Çalışmamızda bulduğumuz sonuçlarla kıyaslayacak olursak duyarlı, doza bağımlı duyarlı ve dirençli bulunan suşlarda benzer sonuçlar elde ettiğimizi söyleyebiliriz.

Davey ve ark.¹³⁵ 180 maya izolatu ile yaptıkları çalışmada, Flukonazol için MİK aralığını 0,12->64 mikrogram/mililitre arasında saptamışlardır. Shawar ve ark.¹³⁶ ise 14 *C. albicans* izolatu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını >64 mikrogram/mililitre olarak saptamıştır. Espinel- Ingroff¹³⁷ 30 maya izolatu ile yaptığı çalışmada MİK aralığını 0,25->64 mikrogram/mililitre arasında bulmuşlardır. Howser ve ark.¹³⁸ 98 suşluk çalışmasında MİK aralığını 0,12->256 mikrogram/mililitre olarak saptamışlardır.

Flukonazol ile ilgili direnç %5-56 arasında değişen oranlarda görülmektedir. Türkiye'de Arıkan ve ark.¹³⁹ 53 kandida suşu ile yaptıkları çalışmada MİK aralığını <0,2- >64 mikrogram/mililitre olarak saptamışlardır; Gün ve ark.¹⁴⁰ 50 izolatlık çalışmasında MİK aralığını 0,12->64 mikrogram/mililitre olarak bulmuşlardır. Kiraz ve ark.¹⁴¹ 300 suşluk çalışmalarında MİK aralığını 0,06-8 mikrogram/mililitre olarak saptamışlardır.

Aydın ve ark.¹⁴² *C. glabrata* suşları dışındaki suşlarda flukonazol direnci saptamamış, Gürcüoğlu ve ark.¹⁴³ ile Saraçlı ve ark.¹⁴⁴ flukonazole dirençli *C. parapsilosis*', Tan ve ark.¹⁴⁵ ile Spiliopoulou¹⁴⁶ ve ark. ise flukonazole dirençli *C. tropicalis* sonuçlarını rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda flukonazol için bir kandida suşu doza bağımlı duyarlı (MİK değeri 32 mikrogram/mililitre), bir kandida suşu ise dirençli (MİK değeri $\geq$ 256 mikrogram/mililitre) olarak tespit edilmiştir. Doza bağımlı duyarlı suş *C. glabrata* olarak saptanmıştır. Dirençli olan suş ise *C. albicans* olarak saptanmıştır. Sonuçlarımıza bakacak olursak yaptığımız çalışma hem ülkemizdeki değerlerle hem de yurtdışında yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Türlerde görülen direnç durumu da diğer çalışmalarda görülen direnç durumları ile uyumlu bulunmuştur.

Test ettiğimiz tüm antifungallerde değişik oranlarda direnç tespit edilmesi, kandida enfeksiyonlarının tedavi edilmesinde tür tanımlama yapmanın ve duyarlılık çalışmalarının sürekli olarak uygulanması, kendi hastanemizin antifungal kullanım protokollerinin belirlenmesine katkı sağlaması hem de ülke genelinde yapılacak daha geniş kapsamlı tedavi protokollerinin hazırlanmasına yararlı olacağı düşünülmektedir.

SYO antifungal duyarlılık kitinin kolayca elde edilebilmesi, aynı zaman içerisinde dokuz adet antifungalın test edilebilmesi ve uygulama rahatlığı gibi faydaları sebebiyle kullanılabilir bir mikrodilüsyon tekniği olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kan kültürlerinden izole ettiğimiz 50 kandida suşunun 16'sı (% 32) *C. albicans*, 14'ü (% 28) *C. tropicalis*, 10'u (% 20) *C. glabrata*, 8'i (% 16) *C. parapsilosis*, 2'si (% 4) *C. kefyr* olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız standart suşlar SYO duyarlılık kitinde bildirilen prosedüre uygun olarak çalışılmıştır. Elde edilen MİK değerleri referans değerler arasında yer almıştır.

Çalışmamızda flukonazol için bir kandida suşu doza bağımlı duyarlı (MİK değeri 32 µg/ml), bir kandida suşu ise dirençli (MİK değeri $\geq$ 256 µg/ml) olarak tespit edilmiştir. Doza bağımlı duyarlı suş *C. glabrata* olarak belirlenmiştir. Dirençli olan suşun ise *C. albicans* olduğu görülmüştür.

Kandida suşlarının tamamında MİK aralıkları, Amp-B için; 0.12-2 µg/ml, flukonazol için; 0.12-256 µg/ml, vorikonazol için; 0.008-8 µg/ml, kaspofungin için; 0.015-0.5 µg/ml, anidulafungin için; 0.015-2 µg/ml, mikafungin için; 0.008-2 µg/ml, flusitozin için; 0.006-8 µg/ml, posakonazol için; 0.008-8 µg/ml, itrakonazol için; 0.015-16 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Çalışılan *C. albicans* türlerinden sekiz numaralı suşda multiazol direnci belirlenmiştir. Sekiz numaralı suşda posakonazol >8 µg/ml, vorikonazol >8 µg/ml, itrakonazol >16 µg/ml, flukonazol ise >256 µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Elde edilen düşük MİK değerleri göz önüne alındığında; Anidulafungin, mikafungin, kaspofungin, flusitozin, posakonazol, vorikonazol, itrakonazol ve Amp-B'nin kandida suşlarına karşı etkin olarak kullanılabileceği ve flukonazole direnç gösteren suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde alternatif ilaç olarak kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. Çeviri: Başustaoğlu AC. *Tıbbi Mikrobiyoloji*, 6. Baskı. Ankara, Atlas Yayıncılık, 2010:301-315.
2. Sobel JD, Vazquez JA. Candidiasis. In: Dismukes W, Pappas P (eds). *Clinical Mycology*, 5th ed. New York, Oxford University Press, 2003:143-187.
3. Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ. Candida. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (eds). *Clinical Mycology*, 2nd ed. Amsterdam, Elsevier Press, 2009:197-229.
4. Hazen. KC. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev*, 1995, 8:462-478.
5. Bennett JE. Candida species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2000:257.
6. Beck-Sagué C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis*, 1993, 167, 5:1247-1251.
7. Uzun O, Anaissie EJ. Predictors of outcome in cancer patients with candidemia. *Ann Oncol*, 2000, 11:1517-1521.
8. İnci R, Hilmioğlu S. Nozokomiyal fungal infeksiyonlara yaklaşım. *KLİMİK Dergisi*, 2000, 13:28-31.
9. Gürbüz M. Klinik Örneklerden İzole Edilen Candida Albicans Kökenlerinin Moleküler Analizi. Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji. Uzmanlık Tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2008.
10. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Candidaların patojenlik belirtgenleri. *Cerrahpaşa J*

Med, 2000, 31:172-186.

11. Birinci A, Çekiç CÇ, Bilgin K, Acuner Ç, Durupınar B. Candida türlerinde slime üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 2005, 35:163-166.
12. Cengiz SA, Us E, Cengiz AT. Slime faktörünün klinikteki yeri ve önemi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2006, 13, 3:193-197.
13. Arslan U, Fındık D. Klinik örneklerden izole edilen Candida albicans türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 2003, 17, 4:471-481.
14. Hazen KC, Howell SA. Candida, cryptococcus and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Washington DC, ASM Press, 2003:693-711.
15. Beck CM, Jarvis WR, The national nosocomial infections surveillance system, secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the us, 1988-1990. *J Infect Dis*, 1993, 167:1247-1253.
16. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Kandidaların patojenlik belirtgenleri. *Cerrahpaşa J Med*, 2000, 31, 3:172-186.
17. Usta S. Kandidozlu Sıçan Böbrek Dokularında IL-17 Gen İfadelenmesinin Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Pzr) İle Gösterilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, 2009.
18. Karakoç E, Yazgı H, Aktaş AE, Uyanık MH, Çeşitli candida türlerinin iki farklı triazole duyarlılıklarının mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması. *EAJM*, 2007, 39: 173-176.
19. Yücel A. Candidaların dünü. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları

- Sempozyumu Kitabı. Eskişehir 2002:3-28.
20. Kwon Chung KJ, Bennett JE. *Medical Mycology*, 2nd ed. Philadelphia, Lea and Fabinger, 1992:280-336.
 21. Segal E, Elad D. *Candida* species and *blastoschizomyces capitatus*. In: Collier L, Balows A, Sus man M (eds). *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 9th ed. London, Oxford University Press, 1998:423-460.
 22. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th ed. Philadelphia, New York, Lippincott, 1997:983-1069.
 23. McGinnis MR, Rinaldi MG. Selected medically important fungi and some common synonyms and absolute names. *Clin Infect Dis*, 1995, 21:777-778.
 24. Dixon DM, Fromtling RA. Morphology, taxonomy and classification of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. Washington DC, ASM Press, 1995:699-708.
 25. McGinnis MR, Rinaldi MG. Selected medically important fungi and some common synonyms and absolute names. *Clin Infect Dis*, 1995, 21:777-778.
 26. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*, 5th ed. Philadelphia, Pennsylvania, Mosby, 2005:540-548.
 27. Beck-Sague CM, Jarvis WR. Secular trends in epidemiology of nosocomial infections in the United States. *J. Infect Dis*, 1993, 167:247-1251.
 28. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections with emphasis on *Candida* species. *Clin Infect Dis*, 1995, 20:1526-1530.
 29. Edwards JE. *Candida* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone Press, 2000:2656-2674.

30. Larone DH. *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*. 4th ed. Washington DC, ASM Press, 2002:109-143.
31. Yücel A, Kantarcıoğlu S. Hastane kaynaklı mikozların epidemiyolojisi. *Cerrahpaşa J Med*, 2001, 3:259-269.
32. Edwards JE. *Candida* species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4th ed. London, Churchill Livingstone, 2010:3225-3240.
33. Toscano CM, Jarvis WR. Epidemiology and clinical aspects of unusual fungal nosocomial infections. *Clinical Updates in Fungal Infections*, 1999, 2:1-7.
34. Perea S, Patterson TF. Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clin Infect Dis*, 2002, 35:1073-1080.
35. Yakupoğulları Y, Toraman ZA. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan candida kökenlerinde slime faktörü üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 2004, 34:178-181.
36. Wilson WR, Sande MA. Current Diagnosis & Treatment in Infectious Diseases. Çeviri: Dündar İH. *Current Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi*, 2. Baskı. Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2004:734-744.
37. Edwards JE. *Candida* Species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*, 2nd ed. New York, Churchill Livigstone Press, 1995:2289-2306.
38. Kuştimur S. *Candida* patogeneğinde rol oynayan faktörler. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 1994, 28:175-181.
39. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, Wulf K, Venditti M, Girmenia C. The process of microbiol translocation. *Ann Surg*, 1990, 212:496-512.

40. Poyraz Ö. *Genel ve Özel Tıbbi Mikoloji*. 10. Baskı. Sivas, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, 2006:129-152.
41. 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, 33:177-186.
42. Vincent JL, Anaissie E. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic candida infection in surgical patients under intensive care. *Intensive Care Med*, 1998, 24:206-216.
43. Akçam AE. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzlenen Kandidemi Olgularının Epidemiyolojik, Klinik ve Antifungal Duyarlılık Yönünden İncelenmesi. Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, 2009.
44. İnci R. Candida infeksiyonlarının patogeneğinde konağın rolü. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Sempozyumu Kitabı. Eskişehir 2002:71-85.
45. Tümbay E. Candida Türleri. İçinde: Ustaçelebi Ş (editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 2. Baskı, Ankara, Güneş Kitabevi, 1999:1081-1086.
46. Ener B. Mantar infeksiyonlarında klinikten laboratuvara tanı sorunları. *Ankem Derg*, 1998, 12, 3:248-252.
47. Kaufman RH. Establishing a correct diagnosis of vulvovaginal infection. *Am J Obstet Gynecol*, 1988, 158:986-988.
48. Hilmioğlu S. Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısı: Klasik tanıda izlenecek yol ne olmalı? Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Sempozyumu Kitabı. Eskişehir 2002:125-131.

49. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Woods GL and Procop GW. Mycology, In “*Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*”, 6th ed. USA, Lippincott Williams and Wilkins Publishers, 2006:1151-1244.
50. Kasımoğlu Ö. Kandida infeksiyonlarının laboratuvar tanısı. Tümbay E (editör). *Candida ve İnfeksiyonları*. İzmir, Bilgehan Basımevi, 1986:61-64.
51. Arıkan S. Mantar enfeksiyonlarında tanı yöntemleri. İçinde: Günalp A, Yılmaz YA, Pınar A. (editörler). *Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Eğitim Kitabı*, 3. Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2003:139-164.
52. Willinger B. Laboratory diagnosis and therapy of invasive fungal infections. *Curr Drug Targets*, 2006, 7:513-522.
53. Hazen KC, Howell SA. Candida, cryptococcus, and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 9th edition. Washington, ASM Pres, 2007:1762-1788.
54. Buckley HR. Identification of yeasts. In: Evans EG, Richardson MD (eds). *Medical Mycology: A Practical Approach*, 2nd ed. Oxford, Oxford University Press, 1989:97-109.
55. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Philadelphia, New York, Lippincott, 1997:983-1069.
56. Warren NG, Shadomy HJ. Candida cryptococcus and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Washington DC, ASM Pres 1995:723-737.

57. Çerikçioğlu N. Mantar Enfeksiyonlarında Seroloji ve Deri Testleri. İçinde: Ustaçelebi Ş (editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 3. Baskı, Ankara, Öncü Basımevi, 1999:1145-1158.
58. Maertens J, Deeren D, Dierickx D. Preemptive antifungal therapy. *Curr Opin Infect Dis*, 2007, 19:551-556.
59. Yeo SF, Wong B. Current status of nonculture methods for the diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev*, 2002, 15:464-485.
60. Wheat LJ. Antijen detection, serology and molecular diagnosis of invasive mycoses in the immune compromised host. *Transplant Infect Dis*, 2006, 8:128-139.
61. McLintock LA, Jones BL. Advances in the molecular and serological diagnosis of invasive fungal infection in hemato-oncology patients. *Br J Haematol*, 2004, 126:289-297.
62. Willinger B. Laboratory diagnosis and therapy of invasive fungal infections. *Curr Drug targets*, 2006, 7:513-522.
63. Kondori N, Edebo I, Mattsby-Baltzer I. Candida albicans cell wall antigens for serological diagnosis of candidemia. *Med Mycol*, 2003, 41:21-30.
64. Lehtonen L, Anttila VJ. Diagnosis of disseminated candidiasis by measurement of urine D-arabinitol/L-arabinitol ratio. *J Clin Microbiol*, 1996, 34:2175-2179.
65. Odabası Z, Mattiuzzi G, Estey E. B-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation cut off development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis*, 2004, 39:199-205.
66. Lindsley MD, Warnock DW, Morrison CJ. Serological and molecular diagnosis of fungal infections. In: Dentrack B, Hamilton RG, Folds JD (eds). *Manual of*

- Molecular and Clinical Laboratory Immunology*, 7th ed. Washington, DC, ASM Press, 2006:770-771.
67. Yarar M. Klinik Materyallerden İzole Edilen Candida Albicans Suşlarında Sap Genlerinin Araştırılması. Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2014.
 68. Kalkancı A. Etken Mantarların Klinik Örnekte Moleküler Yöntemlerle Gösterilmesi ve Tanımlanması. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongre Kitabı. Ankara 2006:132-143.
 69. Ener B. Yeni antifungaller üzerine çalışmalar. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongre Kitabı. Antalya 1996:154-157.
 70. Arikan S, Rex JH. Antifungal Agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover JC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Washington, DC, ASM Press, 2007:1949-1960.
 71. Welscher YM, Jones LM, Leeuwen MR, Dijksterhuis J, Kruijff B, Eitzen G, Breukink E. Natamycin Inhibits Vacuole Fusion at the Priming Phase via a Specific Interaction with Ergosterol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, 54:2618-2625.
 72. Gozalbo D, Roldán P, Villanón E, Gil ML. Candida and Candidiasis: The cell wall as a potential molecular target for antifungal therapy. *Current Drug Targets Infectious Disorders*, 2004, 4:117-135.
 73. Carrillo-Muñoz A.J, Giusiano G. Antifungal agents: Mode of action in yeast cells. *Rev Esp Quimioterap*, 2006, 19, 2:130-139.
 74. Prajna NV. Comparison of natamycin and voriconazole for the treatment of fungal keratitis. *Arch Ophthalmol*, 2010, 128, 6:672-678.
 75. Voss A. Therapeutic approach to the patient with Candidemia. *Clin Microbiol*

- Infect*, 1999, 5:51-57.
76. Pauw B. Is there a need for new antifungal agents. *Clin Microbiol Infect*, 2000, 6:23-28.
 77. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Antifungallerin sistemik mantar enfeksiyonlarında kullanımı ve duyarlılık deneyleri: Genel yönlendirme. *Cerrahpasa J Med*, 2002, 33:261-280.
 78. George R. Overview of antifungal agents. *Clin Chest Med*, 2009, 30:203-215.
 79. Fera MT. New triazoles and echinocandins: mode of action, invitro activiti and mechanisim of resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2009, 7, 8:981-987.
 80. Sharon CA, Sorrell TC, Antifungal agents. *MJA*, 2007, 187, 7:404-409.
 81. Pfaller MA, Diekema DJ. Twelve years of fluconazole in Clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of candida. *Clin Microbiol Infec*, 2004, 10:11-23.
 82. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of candida species to fluconazole. antimicrob. *Agents Chemother*, 1995, 39:1-8.
 83. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 1. Baskı. Ankara, Feryal Matbaası, 1998:293-302.
 84. İnci R. Antifungal ilaçlar, İçinde: Ustaçelebi Ş (editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 2. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999:1115-1158.
 85. Kebudi R. Yeni antifungaller. *Ankem Dergisi*, 2007, 21, 2:210-215.
 86. Kasper DL, Fauci AS. *Harrison's Infectious Diseases*, 2nd ed. USA, The McGraw-Hill, 2010:454-461.
 87. Arıkan S. Candida enfeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Sempozyum Kitabı*. Eskişehir 2002: 161-167.

88. Mathema H, Cross E, Dun E, Park S, Bedel J, Slade B, Williams M, Riley L, Chaturvedi V, Perlin DS. Prevalence of vaginal colonization by drug-resistant candida species in college-age women with previous exposure to over-the-counter azole antifungals. *CID*, 2001, 33:22-26.
89. Johnson EM. Issues in antifungal susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 61, 1:13-18.
90. Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clin Infect Dis*, 2002, 35:982-985.
91. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard, M27-A3. 3th ed, 2008:1-40.
92. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Definitive Document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clin Microbiol Infect*, 2008, 14:398-405.
93. Baddley JW, Patel M, Jones M. Utility of real-time antifungal susceptibility testing for fluconazole in the treatment of candidemia. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2004, 50:119-122.
94. Collins CD, Eschenauer GA, Salo SL, Newton DW. To test or not to test: a cost minimization analysis of susceptibility testing for patients with documented *Candida glabrata* fungemias. *J Clin Microbiol*, 2007, 45:1884-1889.
95. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL. 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, 48:1366-1377.
96. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ. In vitro susceptibility of invasive isolates of candida spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin: six years of global surveillance. *J Clin Microbiol*, 2008, 46:3184-3185.
 97. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Boyken L. Comparison of the broth microdilution (BMD) method of the european committee on antimicrobial susceptibility testing with the 24-hour CLSI BMD method for testing susceptibility of candida species to fluconazole, posaconazole, and voriconazole by use of epidemiological cut-off values. *J Clin Microbiol*, 2011, 49:845-850.
 98. Pfaller MA, Castanheira M, Diekema DJ, Messer SA, Moet GJ, Jones RN. Comparison of european committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) and etest methods with the CLSI broth microdilution method for echinocandin susceptibility testing of Candida species. *J Clin Microbiol*, 2010, 48:1592-1599.
 99. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline, M44-A2. 2nd ed, 2004:1-22.
 100. Vandenbossche I, Vaneechoutte M, Vandevenne M, Baere TD, Verschraegen G. Susceptibility testing of fluconazole by the NCCLS broth macrodilution method, E-test and disk diffusion for application in the routine laboratory. *J Clin Microbiol*, 2002, 40:918-921.
 101. Pfaller MA, Messer SA, Bolmström A, Odds FC, Rex JH. Multisite reproducibility of the E-test MIC method for antifungal susceptibility testing of yeast isolates. *J Clin Microbiol*, 1996, 34:1691-1693.
 102. Wanger A, Mills K, Nelson PW, Rex JH. Comparison of Etest and national committee for clinical laboratory standards broth macrodilution method for azole

- antifungal susceptibility testing: enhanced ability to detect amphotericin B-resistant candida isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39:2520-2522.
103. Peyron F, Favel A, Nguyen AM, Gilly M, Regli P, Bolmström A. Improved detection of amphotericin B resistant isolates of *Candida lusitanae* by E-test. *J Clin Microbiol*, 2001, 39:339-342.
104. Pfaller MA, Jones RN. Microbiology resource committee, college of American pathologists. performance accuracy of antibacterial and antifungal susceptibility test methods: report from the college of American pathologists microbiology surveys program (2001-2003). *Arch Pathol Lab Med*, 2006, 130:767-775.
105. Morace G, Amato G, Bistoni F. Multicenter comparative evaluation of six commercial systems and the national committee for clinical laboratory standards M27-a broth microdilution method for fluconazole susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol*, 2002, 40:2953-2959.
106. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Jones RN. Clinical evaluation of the sensititre yeastOne colorimetric antifungal plate for antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posaconazole, and ravuconazole. *J Clin Microbiol*, 2004, 42:4577-4579.
107. Pfaller MA, Chaturvedi V, Diekema DJ. Clinical evaluation of the sensititre yeastOne colorimetric antifungal panel for antifungal susceptibility testing of the echinocandins anidulafungin, caspofungin, and micafungin. *J Clin Microbiol*, 2008, 46:2155-2158.
108. Cuenca-Estrella M, Moore CB, Barchiesi F. Multicenter evaluation of the reproducibility of the proposed antifungal susceptibility testing method for fermentative yeasts of the antifungal susceptibility testing subcommittee of the european committee on antimicrobial susceptibility testing (AFST- EUCAST).

- Clin Microbiol Infect*, 2003, 9:467-472.
109. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 yeast susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing fluconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol*, 2007, 45:796-802.
 110. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing amphotericin B, flucytosine, and voriconazole against candida spp. *J Clin Microbiol*, 2007, 45:3522-3527.
 111. Pfaller MA. New developments in the antifungal susceptibility testing of *Candida*. *Curr Fungal Infect Reports*, 2008, 2:125-127.
 112. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standards, M27-A2. 2nd ed, 2002: 3-29.
 113. Tilton RC, McGinnis MR. Yeasts. In: Howard BJ, Klass J, Rubin SJ, Weissfeld AS, Tilton RC (eds). *Clinical and Pathogenic Microbiology*, 3th ed. USA, CV Mosby, 1987:595-605.
 114. Warren NG, Shadomy HJ. Yeasts of medical importance. In: Balows A (ed). *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. Washington, CV Mosby, 1991:617-629.
 115. İnci R. Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflandırılması.İçinde: Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 2. Baskı, Ankara, Öncü Basımevi. Güneş Kitabevi, 1999:1015-1021.
 116. Yücel A, Kantarcıoğlu S. Some important changes in taxonomy of *Candida albicans*. *Cerrahpaşa J Med*, 2000, 30:236-246.
 117. Remington JS, Swartz MN. *Current Clinical Topics in Infectious Diseases*, 18th

- ed. Massachusetts, Iowa State University Press, 1998:105-129.
118. Sandven P. Laboratory identification and sensivity testing of yeast isolates. *Acta Odontol Scand*, 1990, 48:27-36.
119. Roberts GD. Laboratory methods in basic micology. In: Baron EJ, Finegold EJ (eds). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 12th ed. USA, Mosby, 2007:747-773.
120. Kuzucu Malçok H. Farklı Kandida Türlerinin İn Vitro Ortamda Hemolitik Aktivitelerinin Araştırılması. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2005.
121. Yücesoy M, Marol S. Performance of CHROM agar candida and BIGGY agar for identification of yeast species. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2003, 2:8.
122. Aktaş E, Yiğit N, Tuncel E. Candida türlerinin tanımlanmasında candida chrom agar besiyerinin kullanılması. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı. Ankara 2001: 252.
123. Trek Diagnostic System. Sensititre search tool. www.trekds.com/techinfo. 24 Mart 2017.
124. Ener B. İn vitro antifungal duyarlılık testleri: standardizasyon ve klinik önemi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 1996, 30:419-425.
125. Bozkurt Kaya F. Nozokomiyal İnfeksiyon Etkeni Olan ve Steril Vücut Sıvılarından İzole Edilen Kandida Türlerinin Tiplendirilmesi ve Antifungal Duyarlılıklarının E Test Yöntemi İle Belirlenmesi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2008.
126. Çolak H. Hastane kaynaklı kan dolaşımı infeksiyonları. *Klinik Derg*, 2000, 13:11-15.

127. Pfaller MA, Chaturvedi V, Diekema DJ. Clinical evaluation of the sensititre yeastOne colorimetric antifungal panel for antifungal susceptibility testing of the echinocandins anidulafungin, caspofungin, and micafungin. *J Clin Microbiol*, 2008, 46, 7:2155-2159.
128. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, Arendrup MC, Brown SD, Lockhart SR, Motyl M, Perlin DS. CLSI subcommittee for antifungal testing 2011. Clinical breakpoints for the echinocandins and candida revisited: integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. *Drug Resist Updat*, 2011, 14:164-176.
129. Gültekin B, Eyigör M, Tiryaki Y, Kırdar S, Aydın N. Kan kültürlerinden izole edilen candida suşlarında antifungal duyarlılığın ve bazı virülans faktörlerinin araştırılması ve RAPD-PCR ile Genotiplendirilmesi. *Mikrobiol Bul*, 2011, 45, 2:306-317.
130. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Jones RN, Clinical evaluation of the sensititre yeastOne colorimetric antifungal plate for antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posaconazole, and ravuconazole. *J Clin Microbiol*, 2004, 42, 10:4577-4580.
131. Farina C, Manso E, Andreoni S, Conte M, Fazii P, Lombardi G, Sanna S, Russello G. Interlaboratory evaluation of VITEK2 system and sensititre yeastOne for antifungal susceptibility testing of yeasts isolated from blood cultures against four antifungal agents. *New Mikrobiologica*, 2011, 34:195-201.
132. Avolio M, Grosso S, Bruschetta G, Rosa R D, Camporese A. Direct antifungal susceptibility testing of positive candida blood cultures by Sensititre YeastOne. *New Mikrobiologica*, 2009, 32:179-184.
133. Bertout S, Dunyach C, Drakulovski P, Reynes J, Mallie M. Comparison of the

- sensititre yeastOne dilution method with the clinical laboratory standards institute (CLSI) M27-A3 microbroth dilution reference method for determining MIC of eight antifungal agents on 102 yeast strains. *Pathologie Biologie*, 2011, 59:48-51.
134. Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, Almeida LP, Matta DA, Colombo AL. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *candida* spp. bloodstream isolates from Latin American hospitals. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2003, 98, 3:401-405.
135. Davey K.G, Holmes ED, Johnson EM. Comparative Evaluation of FUNGÝTEST and broth microdilution methods for antifungal drugs susceptibility testing of *candida* species and *cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol*, 1998, 36, 4:926-930.
136. Shawar R, Paetznick V, Witte Z. Colloborative investigation of broth microdilution and semisolid agar dilution for in vitro susceptibility testing of *candida albicans*. *J Clin Microbiol*, 1992, 30, 8:1976-198.
137. Espinel-Ingroff A., Kerkering M., Golson P.R. Comparison study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *J Clin Microbiol*, 1991, 7:1089-1094.
138. Howser SF, Norris H, Jessup C.J. Colorimetric method with the standardized national committee for clinical laboratory standarts method with testing clinical yeast isolates for susceptibility to antifungal agents. *J Clin Microbiol*, 1998, 5:1450-1452.
139. Arıkan S, Gür D, Akova M. Klinik önem taşıyan *candida* türlerinin antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 1995, 9, 2:60.
140. Gün H., Özyurt M., Haznedaroğlu T. Klinik örneklerden patojen etken olarak izole edilen *candida* suşlarının sistemik etkili antifungal ajanlara duyarlılıkları.

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 1993, 4:181-192.

141. Kiraz N., Erturan Z., Uzun M. Üçyüz candida albicans suşunun amphotericin B, flusitozin, flukonazol ve mikonazole karşı duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 1997, 27:121-124.
142. Aydın F, Bayramoğlu G, Güler NC, Kaklıkkaya N, Tosun I. Bloodstream yeast infections in a university hospital in Northeast Turkey: a 4-year survey. *Med Mycol*, 2011, 49, 3:316-319.
143. Gurcuoğlu E, Ener B, Akalin H. Epidemiology of nosocomial candidaemia in a university hospital: a 12-year study. *Epidemiol Infect* 2010, 138, 9:1328-1335.
144. Saracli MA, Gumral R, Gul HC, Gönüm A, Yildiran ST. Species distribution and in vitro susceptibility of candida bloodstream isolates to six new and current antifungal agents in a Turkish tertiary care military hospital, recovered through 2001 and 2006. *Mil Med*, 2009, 174, 8:860-865.
145. Tan TY, Tan AL, Tee NW, Ng LS. A retrospective analysis of antifungal susceptibilities of candida bloodstream isolates from Singapore hospitals. *Ann Acad Med Singapore*, 2008, 37, 10:835-840.
146. Spiliopoulou A, Vamvakopoulou S, Bartzavali C, Dimitracopoulos G, Anastassiou ED, Christofidou M. Eleven-year retrospective survey of candidemia in a university hospital in southwestern Greece. *Clin Microbiol Infect*, 2010, 16:1378-1381.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Raif KARAASLAN Doğum tarihi: 09.06.1987 Doğum yeri: Elazığ Medeni hali: Evli Uyruğu: Türk Adres: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Tel: 0543 506 64 60 Faks: E-mail: raifkaraaslan@gmail.com, raifkaraaslan@hotmail.com
Eğitim
Lise: Fatih Lisesi Lisans: Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Yüksek lisans: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: Orta Düzey
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

“2016.22.4/c ”ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARLARI OTURUM TARİHİ:
28.06.2016

4/c-Enstitümüz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğrencisi yüksek lisans Raif KARAASLAN’ın tez konusunun belirlenmesine ilişkin Anabilim Dalı Başkanlığının 23.06.2016 tarih ve 149745 sayılı yazısı görüşüldü.

Raif KARAASLAN’ın tez konusuna ilişkin tez başvuru formu ve etik kurul raporu dikkate alınarak Anabilim Dalı Başkanlığınca teklif edildiği şekli ile **“Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida Türlerinin Antifungal Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon Yöntemi İle Araştırılması”** olarak belirlenmesine, kararın öğrenciye ve Anabilim Dalı Başkanlığına bildirilmesine mevcudun oy birliğiyle karar verildi.

Müdür Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM	
Müdür Yrd. Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM	Müdür Yrd. Doç. Dr. Reva BALCI AKPINAR
Üye Prof. Dr. Mehtap TAN (Katılmadı)	Üye Prof. Dr. Hayati Murat AKGÜL
Üye Doç. Dr. Meltem ÇETİN	Hilmi DİYARBAKIR Enstitü Sekreteri (Raportör)

Doç. Dr. Meltem ÇETİN

Enstitü Sekreteri (Raportör)