



T.C.

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE TAKİP EDİLEN KANDİDEMİ
RİSKİ YÜKSEK HASTALARDA CANDIDA PCR VE KAN
KÜLTÜRÜNÜN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. TUĞÇE ŞİMŞEK BOZOK

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. FERİT KUŞCU

ADANA-2019



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE TAKİP EDİLEN
KANDİDEMİ RİSKİ YÜKSEK HASTALARDA CANDİDA
PCR VE KAN KÜLTÜRÜNÜN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. TUĞÇE ŞİMŞEK BOZOK

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. FERİT KUŞCU

Bu çalışma TTU-2017-7540 nolu proje olarak Çukurova Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

ADANA-2019

TEŞEKKÜR

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ihtisasına başladığım günden beri bana her zaman yardımcı olan, yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini paylaşan sayın hocalarım Dr. Öğr. Üyesi A.Seza İnal'a, Prof. Dr. Behice Kurtaran'a, Doç. Dr. Süheyla Kömür'e, Doç. Dr. Aslıhan Ulu'ya ve ilk tez asistanı olmaktan mutluluk duyduğum, tez danışman hocam olan kendisinden çok şey öğrendiğim Doç. Dr. Ferit Kuşcu'ya, bizi daha iyi bir doktor ve akademisyen yapmak için yol gösteren, yanımızda olan sayın Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı başkanı Prof. Dr. Yeşim Taşova'ya teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Bu teze başlarken tez danışman hocam olan ne yazık ki aramızdan ayrılan, bize aktardığı hayat tecrübeleri ve bilgi birikiminden her zaman yararlanacağım rahmetli Prof. Dr. Hasan Salih Zeki Aksu'ya minnetlerimi sunarım.

Tüm asistan arkadaşlarıma ekip olabildiğimiz, birbirimizi daha iyiye götürmek amacıyla çabaladığımız için teşekkür ederim.

Asistanlık sürecimde beraber çalıştığımız, emek verdiğimiz tüm hemşire ve personel arkadaşlara yardımları ve iyi niyetleri için teşekkür ederim. Tez çalışmam sırasında bana yardımcı olan Genel Cerrahi Yoğun Bakım ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi hemşireleri ve personeline teşekkür ederim.

Beni bu günlere getiren, bizim için her zaman fedakarlık yapan anneme, babama, daima yanımda olan ablama, bu hayatta şansım olan, zor zamanlarımda yanımda olan, destek veren canım eşime, eşimin ailesine ve benim 'can Tanem' olan kızıma sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
KISALTMALAR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mantarların Genel Özellikleri	3
2.2. Kandida Türleri	4
2.2.1. Mikrobiyoloji	4
2.2.1.1. Morfoloji	4
2.2.1.2. Antijenik Yapı	6
2.2.1.3. Virülans Faktörleri	7
2.2.2. Epidemiyoloji	8
2.2.3. Patogenez ve Patoloji	10
2.3. İnvaziv Kandida Enfeksiyonları	12
2.3.1. Kandidemi	12
2.3.2. Akut Dissemine Kandidiyazis	13
2.3.3. Kronik Dissemine Kandidiyazis	14
2.4. İnvaziv Kandidiyazis Risk Faktörleri	14
2.5. Kandida Enfeksiyonlarının Tanısı	15
2.5.1. Mikroskopik İnceleme	15
2.5.2. Kültür	16
2.5.3. Seroloji	16
2.5.4. PCR	19
2.5.5. Diğer Yöntemler	19
2.6. Kandida Skoru	20
2.7. Kandida Kolonizasyon İndeksi	21
2.8. Mantarların Differansiyasyonu	21
2.9. Antifungal Duyarlılık Testleri	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Çalışma Düzeni	25
3.2. Mikrobiyolojik Teknikler	26
3.2.1. Kan Kültürü	26
3.2.2. Candida PCR	27
3.2.2.1. Candida Real-Time PCR	28
3.2.2.2. Candida Multiplex PCR	31
3.3. İstatistiksel Analiz	34
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
7. KAYNAKLAR	66
8. ÖZGEÇMİŞ	76

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo no</u>	<u>Sayfa no</u>
Tablo 1. Mantarların Sınıflandırılması	4
Tablo 2. Candida Türlerinin Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri	6
Tablo 3. İnvaziv Kandidiyazis Risk Faktörleri	15
Tablo 4. Serolojik Testlerin Duyarlılık ve Özgüllük Oranları	18
Tablo 5. Candida Skorlaması	21
Tablo 6. Candida Real-Time PCR’da Gen Bölgesini Çoğaltmak İçin Kullanılan Primer Dizileri	28
Tablo 7. Candida Multiplex PCR’da Gen Bölgesini Çoğaltmak İçin Kullanılan Primer Dizileri	31
Tablo 8. Lineer DNA Moleküllerinin Ayrımı İçin Tavsiye Edilen Agaroz Jel Konsantrasyonu	32
Tablo 9. Çalışmaya Alınan Hastaların Cinsiyete Göre Sayısı ve Yaş Ortalaması	35
Tablo 10. Çalışmaya Alınan Hastaların Tanıları	35
Tablo 11. Komorbiditeler	36
Tablo 12. Risk Faktörleri	37
Tablo 13. Risk Faktörleri ve PCR Arasındaki İlişki	37
Tablo 14. Eşlik Eden Enfeksiyonlarda Candida PCR Pozitifliği Oranı	40
Tablo 15. Hastaların Candida Kolonizasyonu Oranları	40
Tablo 16. Candida Kolonizasyon Pozitif Bölge ve Hasta Sayısı	40
Tablo 17. Candida Skoru, Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı ve KKİ’nin Duyarlılık, Özgüllük, Pozitif ve Negatif Prediktif Değerleri	43
Tablo 18. Kullanılan Antibiyotiklerin Dağılımı	44
Tablo 19. Antifungal Tedavi Başlanan Hastalarda Ölüm Oranları	46
Tablo 20. Kan Kültürü ve Candida PCR’da Tespit Edilen Candida Tür Dağılımı	47
Tablo 21. Kan Kültürü ve Candida PCR’da Tespit Edilen Candida Türlerinin Mortalite Oranları	52

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil no</u>	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1. Amplifikasyon Eğri Örneği	29
Şekil 2. Çalışmamızda Elde Edilen Amplifikasyon Eğrileri	29
Şekil 3. Primer ve Dimer Kontrolü İçin Yapılan Çalışmanın Melting Curve Plotları	30
Şekil 4. <i>C. albicans</i> İçin Yürütme Sonrası 218-219, 198-199 Ve 110 Bant Aralığında 3 Adet Bant Veren Örnek Görüntüsü Değerlendirmesi	32
Şekil 5. DNA Ladder Kullanarak 'Moleküler Ağırlık' Hesaplama	33
Şekil 6. Jel Elektroforez Görüntüsünün Analiz Programında İncelenmesi	33
Şekil 7. Enfekte Olan Hastaların Dağılımı	36
Şekil 8. Eşlik Eden Enfeksiyonlar ile Sepsis Oranları	39
Şekil 9. Ortalama Kandida Skorları	42
Şekil 10. Kandida Skoru-PCR Pozitiflik Oranı	42
Şekil 11. Hastaların Laboratuvar Değerleri	44
Şekil 12. Antifungal Tedavi Dağılımı	45
Şekil 13. Hastalarda Cinsiyete Göre Kan Kültürü ve Candida PCR Pozitiflik Oranları	46
Şekil 14. Candida PCR'da Tespit Edilen Kandida Tür Dağılımı	47
Şekil 15. Kan Kültüründe Tespit Edilen Kandida Tür Dağılımı	48
Şekil 16. Kan Kültüründe Üremesi Olan Hastalarda Mikroorganizma Dağılımı	49
Şekil 17. Kan Kültürü ve Candida PCR Pozitifliği ve Negatifliği Olanlarda Ortalama Kandida Skorları	49
Şekil 18. Kandida Kolonizasyon İndeksi ile PCR Pozitiflik Oranları	50

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
AIDS	: Acquired İmmune Deficiency Syndrome
APACHE	: Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
BDG	: Beta-D-Glukan
CAGTA	: <i>Candida Albicans</i> Germ tüpe Özgül Antikor
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	: Clinical Laboratory Standarts Institute
Ct	: Döngü Eşik Değeri
DM	: Diabetes Mellitus
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik asit
ESBL	: Extended Spectrum Betalactamases
EUCAST	: European Confederation of Antifungal Susceptibility Testing
FDA	: Food and Drug Administration
GKS	: Glasgow Koma Skoru
HIV	: Human Immunodeficiency Virüs
HT	: Hipertansiyon
İFE	: İnvaziv Fungal Enfeksiyon
İK	: İnvaziv Kandidiyazis
KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
KKİ	: Kandida Kolonizasyon İndeksi
KOH	: Potasyum Hidroksit
KS	: Kandida Skoru
MALDI-TOF-MS	: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time-of-Flight Mass Spectrometry
MIK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MRT-PCR	: Multiplex Quantitative Real-Time PCR
NNIS	: National Nosocomial Infections Surveillance
NPD	: Negatif Prediktif Değer
OKPK	: Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı
OR	: Odds Ratio
PAS	: Periyodik Asit-Schiff
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PNA-FISH	: Protein Nucleic Acid Fluorescence In Situ Hybridization
PPD	: Pozitif Prediktif Değer
SDA	: Sabouraud Dekstrozu Agar
SPSS	: Statistical Package for the Social Science
SVK	: Santral Venöz Kateter
T2MR	: T2 Magnetic Resonance Assay
TPN	: Total Parenteral Nutrisyon
VİP	: Ventilator İlişkili Pnömoni
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

Yoğun Bakım Ünitesinde Takip Edilen Kandidemi Riski Yüksek Hastalarda Candida PCR ve Kan Kültürünün Karşılaştırılması

Amaç: Yoğun bakım ünitesinde invaziv fungal enfeksiyonların % 70-90'ından kandida türleri sorumludur. Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Yoğun Bakım ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ünitesi'nde takip edilen kandidemi riski yüksek hastalarda kan kültürü ile tam kandan çalışılan Candida PCR testinin sonuçları karşılaştırıldı. Kandidemi şüpheli hastalarda hızlı bir tanı yöntemi olan Candida PCR testinin pratikte kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda belirlediğimiz kriterlere göre kandidemi riski yüksek olan 90 hasta prospektif olarak değerlendirildi. Hastalardan idrar, perine, aksilla, trakeal aspirat kültürü ve 2 set kan kültürü alındı. Ayrıca bir EDTA'lı tüpe kan alındı. -40°C'de daha sonra Candida PCR çalışılması amacıyla saklandı. Candida multiplex PCR'da ITS1, ITS2, ITS2D, CA3, CA4 primerleri kullanılarak, Candida real-time PCR'da ise türe spesifik primerler kullanılarak tür ayrımı yapıldı.

Bulgular: Hastaların 41'i (% 45,5) kadın, 49'u (% 55,5) erkek, toplam yaş ortalaması 58,1(±18,4)'di. Kan kültüründe kandida üremesi olan hasta sayısı 3 (% 3,3)'tü. Çalışmaya alınan hastaların 17'sinde (% 18,9) Candida multiplex PCR ve Candida real-time PCR pozitifliği. Kan kültürü ve PCR testlerinde bulunan kandida türleri birbiriyle uyumluydu. PCR ile istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla pozitiflik elde edildi ($p=0,006$). Candida PCR pozitifliği olan hastalar ile PCR negatif hastalar arasındaki kandida skoru farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu($p=0,015$). Hastaların 57'si (% 63,3) öldü.

Sonuç: Kandidemide tedavide gecikme, artan mortalite ile doğrudan ilişkilidir. Çalışmamızda PCR ile kandidemi olgularının tespit edilme olasılığının daha fazla olduğunu bulduk. Bu veri ışığında özellikle kandidemi riski yüksek olan hastalarda moleküler yöntemlerin de tanıda kullanılmasının uygun olacağı görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Candida, Kandidemi, PCR

ABSTRACT

Comparison of Candida PCR and Blood Culture in High Risk Patients with Candidemia in Intensive Care Unit

Aim: *Candida* spp from 70 to 90 % of invasive fungal infections in intensive care units. In this study, the results of Candida PCR which is a blood culture and whole blood samples were compared in patients with suspected candidemia in Cukurova University Medical Faculty General Surgery Intensive Care Unit and Anesthesiology and Reanimation Unit. The aim of this study was to investigate the feasibility of Candida PCR as a rapid diagnostic method in patients with suspected candidiasis.

Material and Method: Ninety patients with a high risk of candidiasis were evaluated prospectively in our study. Urine, perineum, axilla, tracheal aspirate culture and 2 sets of blood cultures were obtained from the patients. Blood was also drawn into an EDTA tube. Candida PCR was stored at -40 ° C for later study. In Candida multiplex PCR, ITS1, ITS2, ITS2D, CA3, CA4 primers were used. In Candida real-time PCR, species-specific primers were used to distinguish species. In Candida real-time PCR, species-specific primers were used to distinguish species.

Results: 41 (45.5%) of the patients were female and 49 (55.5%) were male. The mean age of the patients was 58.1 ($\pm$ 18.4). The blood culture was positive for 3 patients. Candida multiplex PCR and Candida real-time PCR were positive in 17 (18.9%) patients. *Candida* species found in the blood culture and PCR test were compatible with each other. PCR was significantly more positive ($p = 0,006$). The difference in candida score between patients with PCR positive and PCR negative was statistically significant ($p=0,015$). Fifty-five (63.3%) of the patients died.

Conclusion: Delay in treatment with candidemia is directly related to increased mortality. In our study, we found that the probability of detecting candidemia with PCR was higher. Therefore, it can be seen that molecular methods should be used in the diagnosis especially in patients with high risk of candidiasis.

Key words: *Candida*, Candidemia, PCR

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kandida cinsi mantarlar cilt, gastrointestinal sistem ve genitoüriner sistem florasının bir üyesidir ve hatta solunum sisteminde de bulunabilir. Gastrointestinal kanalda geçici veya sürekli bulunma oranı % 40-50 arasında saptanmıştır. Hastanede yatmakta olan hastalarda mukozaların *Candida albicans* ile kolonizasyonu % 80'lere ulaşabilir, bununla birlikte sağlıklı erişkinlerde kolonizasyon oranı düşüktür.¹ Yoğun bakım üniteleri (YBÜ), nozokomiyal enfeksiyonların en sık görüldüğü ve mortalitesinin en fazla olduğu bölümlerdir. YBÜ'lerde nozokomiyal enfeksiyon gelişen hastalarda kaba mortalite oranı % 10-80 arasında değişmektedir.² Son 25 yıl içinde mantarların neden olduğu enfeksiyonların oranları dramatik biçimde artış göstermiştir. Nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan mantarların % 80'inden fazlası kandida türleridir. Fungal enfeksiyonlar daha çok nötropenik hastaların problemi gibi algılsa da günümüzde nozokomiyal fungal enfeksiyonların en az yarısı cerrahi geçirmiş kritik hastalarda gelişmektedir.¹

Daha önceki yıllarda hastane enfeksiyonlarına neden olan etkenler genellikle gram negatif ve gram pozitif bakteriler iken son on yılda bunları artan oranlarda genel mantar enfeksiyonlarının izlediği gözlenmektedir.³ YBÜ'lerde ortaya çıkan fungal enfeksiyonlardan hastaların endojen florası ve yapılan invaziv işlemler sorumlu tutulmaktadır. Kandida türleri uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi, tekrarlayan abdominal cerrahi işlemler ve altta yatan ciddi hastalık varlığında mukozaya yapışarak çoğalır. Sonrasında mantar artışı ile kolonizasyon ve bunu izleyen dönemde de enfeksiyon gelişir.^{2,4} YBÜ'de invaziv fungal enfeksiyonların (İFE) % 70-90'ından *Candida spp.* sorumluyken, % 10-20'sinden *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* ve *Rhizopus spp.* sorumlu olarak tutulmaktadır.⁵ Kandida türleri Amerika'da hastane kökenli kan dolaşımı enfeksiyonlarının % 8-10'una sebep olurken, koagülaz-negatif stafilokok, *Staphylococcus aureus* ve enterokoklardan sonra dördüncü sırada yer almıştır.⁶ Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise yoğun bakım ünitesinde kandida enfeksiyonu sıklığı % 5-12 oranında bildirilmiştir.⁷

YBÜ'de uzun süreli yatışa bağlı olarak invaziv işlemlerin artışı, tekrarlayan cerrahi girişimler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, transplantasyon hastaları ve

immunsupresyon tedavisi, hematoloji ve solid organ kanser hastaları, nötropeni, steroid kullanımı gibi faktörler fungal enfeksiyonlar için en önemli risk faktörleridir.^{8,9}

Kandidemide erken tanı ve tedavi önemlidir. Uygun olmayan tanı ve tedavi mortalite ve morbiditeyi ciddi oranda arttırır. Ancak kandida, kan kültürlerinde % 50 oranında ve geç ürer. Kan kültürlerinin geç sonuç vermesi, serolojik testlerin tek başına kullanıldıklarında duyarlılıklarının düşük olması nedeniyle moleküler yöntemlerin bu alanda araştırılması ön plana çıkmıştır. Bu moleküler yöntemlerden biri de “Polymerase Chain Reaction” (PCR) testidir. Klinik örnek olarak tam kan, serum, plazma gibi kan ürünlerinin yanısıra, bronko alveoler lavaj ya da doku örnekleri de kullanılabilir. Testte kullanılan klinik örneğin türüne göre testin duyarlılığı değişmektedir. İnvaziv kandidiyaziste tam kan örneği, serumdan daha üstün bulunmuştur.¹⁰

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon ünitesinde takip edilen kandidemi riski yüksek olan hastalarda kan kültürü ile tam kandan çalışılan Candida PCR testinin sonuçları karşılaştırıldı ve Candida PCR testinde kandida tür ayrımı yapıldı. Moleküler bir yöntem olan Candida PCR testinin pratikte uygulanılabilirliği sorgulandı. Kandidemi şüpheli hastaların hızlı bir şekilde tanısının konulması ve tedavinin etkin ve hızlı bir şekilde başlanarak mortalite ve morbiditenin azaltılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mantarların Genel Özellikleri

Mantarlar doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Bugüne kadar tanımlanmış 100.000'in üzerinde tür olmasına rağmen sadece yaklaşık 150 tür insanlarda enfeksiyon oluşturabilmektedir. Bunların içinde ise, yaklaşık bir düzine kadarı tüm dünyada en sık izole edilen etkenlerdir. Ancak günümüzde hem fırsatçı mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığında hem de enfeksiyona yol açan mantar cins ve tür sayısında önemli bir artış meydana gelmiştir. Bu artış; kemik iliği ve organ nakli yapılan hastalar, HIV (human immunodeficiency virüs) ile enfekte hastalar, gastrointestinal operasyonlar gibi cerrahi girişim yapılan hastalar, neoplastik hastalığı bulunanlar, ileri yaş grubunda olanlar, bağışıklık sistemini baskılayıcı tedavi alan hastalar ve prematüre yenidoğanlar olmak üzere risk altında bulunan hasta sayısındaki artış ile doğrudan ilişkilidir.¹⁰

Mantarlar eşeyli ve/veya eşeysiz üreme özelliğine sahip ökaryot hücrelerdir. Hücre duvarına sahip olmaları, onları diğer ökaryotik hücrelerden ayırır. Mantarlar, morfolojik yapılarına göre küf ve maya olmak üzere iki grupta incelenirler. Bazı mantarlar ise doğal ortamlarda küf, insan vücut sıcaklığında (37°C) maya şeklindedirler. Bu mantarlara dimorfik mantarlar denir.^{10,11}

Mayalar tek hücreli mantarlardır. Tomurcuklanma (blast formasyonu) veya ikiye bölünme ile çoğalırlar. Çapları 2-20 µm, boyları 2-50 µm arasında değişir. Bir maya hücresinin bir veya birkaç noktasından tomurcuklanma olur, olgunlaşan yapı ana hücreden koparak yavru hücre oluşur. Yavru hücreye blastokonidyum adı verilir. Bazı mayalarda oluşan blastokonidyumlar ana hücreden ayrılmadan ardı ardına uzar. Bu yapı küflerin oluşturduğu hif yapısına benzediği için yalancı hif (psödohif) adını alır.^{10,11}

En dış tabaka olarak yer alan kapsül, bazı mantarlarda bulunur ve polisakkarit yapısındadır. Antifagositik özellik göstermesi nedeniyle önemli bir virulans faktörüdür. Çini mürekkebi veya nigrosin ile ıslak preparat hazırlanarak kapsül varlığı incelenebilir. Bu yöntem negatif boyama adı verilir. Mantarların hücre duvarı genellikle çok katlıdır ve fibriler özellik gösterir. Bu yapı hücre duvarının sağlamlığını artırır, hücreye şeklini verir, ozmotik şoktan korur ve antijeniktir. Hücre duvarının % 90'ı kitin, glukon, mannan, kitosan gibi polisakkarit polimerlerinden, % 10'u proteinler, glikoproteinler ve lipidlerden oluşur. Birçok mantar duvarında peptidomannanlar bulunur. Mannan, galaktomannan ve

daha az sıklıkta ramnomannanlar, mantarlara karşı oluşan bağışık yanıtın sorumludur. Hücre membranı, memeli membranına benzer şekilde fosfolipid, protein ve sterolden oluşan iki tabakalı bir yapıdır. Memeli hücre zarından farklı olarak kolesterol yerine ergosterol veya zimesterol bulunur.¹⁰

Mayaları üretmek için en sık kullanılan besiyeri Sabouraud Dekstroz Agardır (SDA). Mayalar, makroskopik olarak bakteri kolonilerine benzeyen, krema kıvamında beyaz ya da krem renginde koloniler oluştururlar. Mayalar, mikroskopik olarak incelendiklerinde gram pozitif boyanma özelliği gösteren oval ya da yuvarlak hücreler olarak görülürler. Eskiyeen kültürlerden yapılan boyamalarda gram negatif olarak da görülebilirler.¹⁰ Mantarların filogenetik sınıflandırması ve üreme özellikleri tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Mantarların Sınıflandırılması¹⁰

	Çoğalma		Örnek
	Eşeysiz	Eşeyli	
Zigomicetes	Sporangiyospor oluşumu	Zigospor	1. Rhizopus, Mucor, Absidia türleri
Arkiaskomicetes	İkiye bölünme (“Binary Fission”)	Eşeyli hücrelerin çiftleşmesi sonucunda, içinde sporlar bulunan kistler (askus) oluşur	2. <i>Pneumocystis jiroveci</i>
Hemiaskomicetes	Konidyum oluşumu	Gözlenmez	<i>Candida</i> , <i>Saccharomyces</i> türleri
Askomicetes	Konidyum oluşumu	Askospor	Dermatofitler, <i>Histoplasma</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Scedosporium</i> türleri
Basidiyomicetes	Konidyum oluşumu	Basidiyospor	3. <i>Cryptococcus</i> , <i>Malassezia</i> , 4. <i>Trichosporon</i> türleri

2.2. Kandida Türleri

2.2.1. Mikrobiyoloji

2.2.1.1. Morfoloji

Kandidalar 2,0-7,0 x 3,0-8,5 µm boyutunda, yuvarlak veya oval, tomurcaklanarak çoğalan maya formunda (blastospor) funguslardır. Birkaç istisna dışında, kandida cinsi içindeki mayaların makroskopik ve mikroskopik özellikleri farklılık göstermez. Hepsisi, 25°C ya da 37°C’de 2-3 günde, pH 5,5 olan SDA’da 2-3 mm çapında, beyaz veya krem renginde, düzgün yüzeyli veya göbekli ve uzayan inkübasyonla birlikte kıvrımlı hale

gelen, mat ya da parlak koloniler oluştururlar. Türler arası morfolojik farklılıklar ancak, mısır unlu agar gibi özel besiyerinde saptanabilir. kandida cinsinde yer alan mayalar, çoğunlukla anamorf (eşeysiz) organizmalardır. Ancak bazıları askosporların oluştuğu teleomorf (eşeyli) evreye de sahiptir. (rneğin; *Candida guilliermondii*, *Candida krusei* gibi) kandidalar tomurcuklanarak çoğalırlar. Türlerin çoğu “yalancı hif” oluşturur. *Candida albicans* ve *Candida dubliniensis* türleri ve *Candia tropicalis*’in bazı kökenleri “imlenme borusu (germ tp)” ve takiben “gerçek hif” oluşturma özelliğine de sahiptir.¹²

C. albicans; iki morfolojik test ile diğer kandida türlerinden ayrılır. Serum içinde 37°C’de iki saat inkübe edildiğinde *C. albicans* türleri gerçek hif oluşturmakta olup, ana hcrenden boğum oluşturmadan borucuk uzar ve “germ-tüp” adı verilen yapıyı oluşturur. Maya-hif dönüşümü göstermesi ve bazı hidrolitik enzimleri nedeniyle virlansı en yüksek olan kandida türüdür. Bu türün, serotip A ve B olmak üzere iki formu vardır; çoğalma hızı optimal koşullarda bir saatten daha kısa bir sürede olabilmektedir. Flukonazol direnci oldukça nadirdir.¹³⁻¹⁵

C. tropicalis; gerçek hif oluşturabilir, nadiren klamidospor yapar, sukrozu asimile eder ve bu özelliği ile kendisine çok benzeyen ancak skrozu asimile etmeyen *C. paratropicalis*’ten ayrılır. *C. tropicalis*, *C. albicans*’dan sonra en sık karşılaşılan fırsatçı kandida patojenlerindendir. Diğer türlere göre flukonazol duyarlılığı daha yüksek saptanmıştır.¹³⁻¹⁵

C. glabrata; en önemli karakteristik özelliği mısır unlu agarda hifa veya psdohifa görülmemesidir. Ağız boşluğundan ve takma diş stomatitli olgulardan en fazla izole edilen kandida türüdür ve flukonazole direnci daha fazladır.¹³⁻¹⁵

C. parapsilosis; eğri ve göreceli olarak kısa psdohife ve nadiren dev hücreleri çağrıştıran geniş hifal elementlere sahip bir türüdür. Özellikle yüksek konsantrasyonda glukoz içeren çözeltilerde ve protezlerde kontaminant olarak bulunabilir. Biyofilm oluşturma özelliği sayesinde parenteral beslenen hastalardan izole edilebilir.¹³⁻¹⁵

C. lusitaniae; morfolojik olarak *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis*’e benzer, sellobiyozu ferment etme ve ramnozu asimile etme özelliği ile bunlardan ayrılır. Amfoterisin B’ye doğal dirençlidir.¹²⁻¹⁴

C. dubliniensis; *C. albicans* ile filogenetik olarak yakın akrabadır. *C. albicans*’dan 45°C’de reyememesi ya da çok zayıf üremesi ve beta-glukosidaz aktivitesinden yoksun olmasıyla ayrılır. Bu iki türün ayırımında en güvenilir yöntem PCR’dır. Bu türün, in vivo

ve in vitro koşullarda flukonazole karşı hızla direnç geliştirebilmesi nedeniyle tanımlanması önemlidir.¹²

C. krusei; yalancı hiflerle birlikte uzun “ağaca benzer” dizilim gösteren blastokonidyumlar oluşturur. İmmünsüpresif hastalarda önemli bir etkindir. Flukonazole intrinsik dirençlidir.¹³⁻¹⁵

C. kefir (pseudotropicalis); yalancı hifler ve uzun blastokonidyumlar içerir. Blastokonidyumlar çoğu kez yalancı hiften ayrılıp “ırmakta yüzen kütük dizileri” gibi dizilim gösterir. Nadiren de olsa üriner sistem, akciğer enfeksiyonları ve gastrointestinal enfeksiyonlara yol açabilmektedir.¹³⁻¹⁵

C. guilliermondii; mısır unlu agarda, kökene bağlı olarak yalancı hif oluşumu çok fazla ya da çok seyrek olabilir. Blastosporlar kısa zincirler ya da kümeler halinde gözlenebilir.¹² Kandida türlerinin üreme ve biyokimyasal özellikleri tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Kandida Türlerinin Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri¹⁶

	G	MA	SU	TR	GA	SE	KS	R	L	D	ME	U	NO ₃	NO ₂
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. kefir</i>	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

G; glukoz, MA; maltoz, SU; sukroz, TR; trehaloz, GA; galaktoz, SE; sellobiyoz, KS; ksiloz, R; rafinoz, L; laktoz, D; dulsitol, ME; melibiyoz, U; üreaz, NO₃; nitrat, NO₂; nitrit

2.2.1.2. Antijenik Yapı

Kandida türlerinin hücre duvarı sert bir yapıdadır ve hücreye şekil verir. Ozmotik basınca bağlı hücre patlamasına karşı koyar. Hücre duvarı, maya hücresinin değişik yüzeylere tutunmasında (adezyon) doğrudan görev alır. Duvar yapısının % 80-90’ını karbonhidrat, % 5-15’ini protein ve % 2-5’ini lipidler oluştur. Karbonhidratların ise % 20-30’u mannoprotein, % 50-60’ı glukan ve % 0,6-9’u kitin yapısındadır. *C. albicans*’ın

maya ve hifal formlarında gluklan ve mannan içeriği benzerdir fakat hifal hücrelerde kitin miktarı maya hücresine göre üç kat fazladır.^{12,17}

Candida albicans, hücre duvarında bulunan ve potent immünojen olan mannanın yapısal farklılıklarına göre A ve B olmak üzere iki serotipe ayrılır. *C. tropicalis* mannani, serotip A'ya yakındır. *C. albicans*'ta mannan dışında başka antijenler de saptanmıştır; bunlar arasında önemli olanları, salgısal proteazlar, enolaz ve ısı şok proteinleridir.^{12,18}

2.2.1.3. Virülans Faktörleri

Bazı *C. albicans* kökenlerinin fenotipik değişiklik göstermesinin ve özgül sentetik besiyerlerinde değişik görünümde koloniler oluşturmalarının virulans ile ilgili olduğu saptanmıştır. Fenotipik değişikliklerin invaziv enfeksiyon yapan kökenlerde, kommensal kökenlere göre daha sık olduğu gözlenmiştir. *C. albicans*'ın epitel yüzeylerine yapışmasını sağlayan en az üç yüzey adhezyon molekülü taşıdığı ve 7-aspartil proteinaz ve hif oluşumu ile keratinize epiteli penetre ettiği bilinmektedir. Bugüne kadar saptanan virülans faktörleri; yapışma kapasitesi (biyofilm oluşturma), hidrofobisite, germ tüp, proteaz, fosfolipaz, morfolojik dönüşüm, insan benzeri integrinlere sahip olma, trombosit kaynaklı mikrobisidal peptidlere direnç, ilaç direnci ve dimorfizmdir.¹⁸⁻²⁰

Kandida hücre duvarının predominant polisakkaridi β -glukandır. β -glukan insanlarda enfeksiyon yapan tüm mantarlarda bulunur. Monosit ve T-lenfositlerde sitokin yapımı üzerine baskılayıcı etki göstererek, kandida enfeksiyonlarına karşı olan konak savunmasını bozduğu ileri sürölmüştür.²¹

C. albicans'ın akciğer, karaciğer ve dalakta blastosporlar ve germ tüp oluşturmaları patojenitesini belirler. Böbreklerde ise hızla uzun filamentler halini alarak patojenitesini güçlendirir. *C. albicans*'ın blastospor halden filamentöz morfolojiye dönüşme kabiliyeti, virulans faktörü için önemli bir etkidir.²²

Kateter, eklem ve kalp protezleri gibi kalıcı ya da kalıcı olmayan yabancı cisimleri kolonize eden mikroorganizmalar ve hücre dışı polimerlerinden oluşan yapıya biyofilm denir. Yabancı cisimlerin implantasyonundan sonra tükürük, mukus, serum veya kan gibi cismi çevreleyen farklı vücut sıvılarındaki çeşitli makromoleküller (fibrinojen, fibronektin, kollojen ve laminin vb.) yüzey üzerinde birikerek hazırlayıcı film tabakası oluştururlar. Mikroorganizmalar genellikle çıplak cismin yüzeyine değil, bu film tabakasına tutunurlar. İlk adezyon geri dönüşümlü gevşek bir tutunma tarzındadır. Bu ekzopolimer üretimi ile sıkı bir tutunmaya dönüşebilir. Ekzopolimerler,

makromoleküllerin oluşturduğu film tabakasını sararak glikokaliks (slime) denen tabakayı oluşturur. Stafilokok ve bazı kandida türleri slime benzeri yapılar oluşturmaktadır.²³

Mikroorganizmalar bu slime tabakası içinde çoğalarak kalın bir film tabakasına yol açarlar. Kandida türlerinin yabancı cisimlere slime faktörü aracılığı ile tutunması sonucunda hem sürekli bir enfeksiyon odağı gibi rol oynaması hem de vücudun savunma mekanizmalarından ve antifungal tedavinin etkisinden kurtulabilmesi nozokomiyal mantar enfeksiyonları açısından önemli bir durumdur.²⁴

Yabancı cisimler ile ilişkili enfeksiyonların çoğunda gram pozitif bakteriler (sıklıkla stafilokoklar) etken olduğu halde gram negatif bakteriler ve mantarlar ile oluşan enfeksiyonlar daha ciddi seyirlidir. Fungal enfeksiyonlarda çoğunlukla patojenik kandida türleri özellikle *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* ile olmaktadır. Kandida biyofilminin antifungal direnç gelişimine katkıları olduğu öngörülür. Bu etkenler ekstrasellüler matriks miktarı, yavaş üreme hızı ve besin kısıtlaması, membran lokalize efluks pompalarının fazla ekspresyonu (MDR1, CDR1 ve CDR2 genleri) ve biyofilmdeki sterol miktarı olarak belirlenmiştir. Kandida biyofilminin saptandığı ve enfeksiyonlara yol açabildiği başlıca yabancı cisimler: santral venöz kateterler, üriner kateterler, eklem protezleri, arteriyovenöz fistül veya greftler, periton diyalizi kateterleri, yapay kalp kapakçıkları, pacemaker, ventriküloperitoneal şantlardır.²⁴

2.2.2. Epidemiyoloji

Kandida türleri normal floranın bir parçasıdır. İnsanların % 40-50'sinin gastrointestinal kanalında geçici ya da kalıcı olarak bulunurlar. Yenidoğan döneminde ve doğumdan kısa bir süre sonra ağız, boğaz, barsaklar ve genitoüriner bölgeye kolonize olurlar. Ayrıca ekspektore edilen balgamda, kadın genital yolunda ve foley kateteri yerleştirilmiş hastaların idrarında bulunur; aynı zamanda sağlık çalışanlarının cildinde, göreceli olarak yüksek oranda taşınır.^{12,13} Normal durumlarda mukokutanöz yüzeyin kolonizasyonu nadirdir ve kolonizasyon kandidiyazis gelişimi için gereklidir. Endojen floranın ekolojisinde değişiklikler sonucu kandida türleri cilt ve mukoza yüzeylerinde çoğalırlar. Kandida suşlarının genotiplendirmesi esas alınarak yapılan çalışmalarda pek çok kandidiyazis olgusundan endojen kolonizasyonun sorumlu olduğu gösterilmiştir.^{25,26}

Genellikle kandida enfeksiyonları endojen orijinli olsa da insandan insana geçiş mümkündür. Nadiren laboratuvar kontaminantı da olabilirler. Bu nedenle pozitif kültür

sonucunun laboratuvar veya cilt kontaminasyonuna bağılı olmadığından emin olunmalıdır.²⁵ Kandida türleri aynı zamanda, bütünlüğü bozulduğunda, barsak duvarını geçebilirler. Risk faktörlerine maruz kalınması, sekonder hematojen yayılımı kolaylaştırmaktadır.^{27,28}

Bir surveyans programı olan “Antimicrobial Surveillance Program (SENTRY)” veri tabanına katılan 72 merkezden alınan verilerin sonuçlarına göre hastane kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonu etkeni olarak kandida türleri % 7-8 oranında saptanmış olup, en sık karşılaşılan tür sıklıkla *C. albicans* olduğu bildirilmiştir.²⁹ Kandidemi etkeni olan çok sayıda tür olmakla birlikte hastalandırıcı olarak en sık beş tür görülmektedir. kandida türlerinin sıklığı çeşitli coğrafi bölgelere göre de farklılık gösterebilmektedir. *C. albicans* tüm bölgelerde en fazla izole edilen türdür.³⁰ *C. albicans* önceleri kan izolatlarının hemen tamamını oluştururken, son yıllarda diğer türlerin sıklığında artış göze çarpmaktadır. ABD’de 1990 yılındaki surveyans programında, kan dolaşımı enfeksiyonları etkeni kandida türleri arasında *C. albicans* en sık görülürken, *C. glabrata*’nın üçüncü ve dördüncü sıralardan ikinci sıraya yükselen tür olduğu saptanmıştır.³¹ Kandidemilerde *C. albicans* hala en sık etken olmakla birlikte, son 20 yılda albicans dışı kandida türleri ile enfeksiyon sıklığı artmıştır. Türkiye’de nozokomiyal kandidemi etkenleri ve kan kültür izolatları ile ilgili yapılan araştırmalarda en sık tür *C. albicans* (% 40-60) iken; bunu *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* ve *C. guilliermondii* türleri izlemiştir.^{12,32} Ülkemizden yapılan ve 2010-2016 yılları arasında 351 kandidemili hastanın incelendiği bir çalışmada; etkenlerin % 48,1’i *C. albicans*, % 25,1’i *C. parapsilosis*, % 11,7’si *C. glabrata* olarak bildirilmiştir.³³ Kanser hastalarında son dört yılda kandidemi etkenlerinin araştırıldığı bir çalışmada ise en sık saptanan türler *C. albicans* (% 48,3), *C. glabrata* (% 13,3), *C. parapsilosis* (% 10), *C. krusei* (% 8,3) ve *C. tropicalis* (% 8,3)’tir.³⁴

Candida albicans virulansı en yüksek olan türdür. *Candida albicans*’ın A ve B serotipleri vardır. Klinik izolatlar arasında serotip A, serotip B’den daha fazladır. Ancak AIDS dahil, immün sistemi baskılanmış hastalar arasında serotip B’nin insidansı son yıllarda artmıştır. Serotip A 5-florositozine (flusitozin) karşı duyarlı iken, serotip B dirençlidir.¹²

Albicans dışı kandida türlerinin belirli pH derecelerini tercih etmeleri sebebiyle üriner sistem yerine, orofarinks ve vajina gibi diğer bölgelerde daha sık enfeksiyon etkeni

oldukları bildirilmiştir. *C. glabrata*, nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarına sebep olan önemli bir patojendir. Özellikle diyabetik hastalardaki üriner sistem enfeksiyonlarında *C. glabrata* için artmış risk söz konusudur. *C. glabrata* ile olan enfeksiyonların kateter kullanımının artmasına ve profilaktik olarak azol kullanımına sekonder gelişebileceği düşünülmektedir. Ayrıca kinolon kullanımının *C. glabrata*'nın neden olduğu kandidüriyle ilişkili olduğu bulunmuştur. Flukonazole karşı direnç eğilimi artarak sürmektedir. Ayrıca kaspofungine karşı duyarlılığı azalmış ya da dirençli izolatlar bildirilmektedir.^{12,35}

Candida tropicalis genellikle hematopoetik malignansilerde, diyabette ve embolik deri lezyonları birlikte görülmektedir. İdrarda *C. tropicalis* izolasyonu *C. albicans* izolasyonuna nazaran, daha çok dissemine kandidiyazisin göstergesidir. Bu ajan yüksek mortalite ile seyreden dissemine enfeksiyona neden olur ve hematolojik maligniteli hastalarda, *C. albicans*'a göre daha şiddetli seyreder. Endojen enfeksiyonların yanı sıra yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde görevli personelin elindeki kontaminasyon ile ilişkilendirilen fungemi olguları da bildirilmiştir.^{12,13,36}

Candida parapsilosis endoftalmit, endokardit, septik artritis, peritonit ve kandidemiye de içeren enfeksiyon tablosuna yol açan önemli bir patojendir. Genellikle invaziv girişimler ve prostetik aletler ile ilişkilidir. Bu mayanın, yüksek konsantrasyonda glukoz içeren çözeltilerde ve protezlerde kontaminant olarak varlığı dikkat çekmektedir. Kateter uçlarında biyofilm oluşturma özelliği sayesinde parenteral beslenen hastalardan izolasyon sıklığı yüksektir. *Candida lusitanae* ise amfoterisin B'ye intrinsik dirençlidir ve genellikle düşük virülansa sahiptir.^{12,13,36}

Candida krusei sağlıklı taşıyıcıların mukozal yüzeylerinden seyrek olarak izole edilir. Fırsatçı patojen olarak önemi artan bir mayadır. Nötropenik hastalarda ağır tablo ile seyreden fırsatçı enfeksiyonlara yol açarken, süt bebeklerinde diareten sorumlu olabilmektedir. Flukonazole karşı doğal direnci mevcuttur.¹²

2.2.3. Patogenez ve Patoloji

Kandida türlerinin invazyonunda en etkili bariyer sağlam deridir. Cilt bütünlüğünün bozulmasına yol açan herhangi bir durum cildin bu mantarlara karşı savunmasız kalmasına yol açar. Mayalar bir kez lamina propriaya ulaştıktan sonra lenfatiklerde ve kan damarlarında serbest olarak ya da makrofaj içinde saptanabilmektedirler.³⁷ Kandidanın intrinsik motilitesi olmamasına karşın sağlam kişide oral yolla alındıktan bir

süre sonra bağırsak lümeninden transloke olabileceği bilinmektedir.³⁸ Kandida türleri, peptik ülser üzerine kolonize olma eğilimindedirler. Bir diğer lokal koruyucu mekanizma, kandida türleri ile yarışmaya giren normal barsak bakteri florasıdır. Farelerde uçucu yağ asitlerinin ve sekonder safra tuzlarının mukus jelde kalın bir bakteri tabakası oluşturarak, bağlanma yerleri için maya hücreleri ile yarıştığı ve *C. albicans*'ın mukozaya tutunması ve yayılmasını azalttığı gösterilmiştir.³⁹ Antimikrobiyal ajanlar, gastrointestinal kanaldaki bakteriyel mikroflorayı elimine ederek mantarların seçilip çoğalmasına ve sonuçta, hastanede yatan hastada invaziv hastalığın oluşumuna yol açarlar. Perine, eller, vücudun katlantı bölgeleri ile vulvovajinal bölgeler gibi nemli bölgeler, cilt ve mukoza tutulumunun sık olduğu bölgelerdir.

Kandidemisi olan hastalarda yapılan bir otopsi çalışmasında, akut lösemili hastaların hemen hepsinde, gastrointestinal sistemde tutulum ve submukozal invazyon saptanmıştır. Nötropenik kanser hastalarında yapılan retrospektif bir çalışmada, birden fazla vücut bölgesinde kolonize olan hastaların % 32'sinde dissemine kandidiyazis gelişirken bu oran kolonize olmayan hastalarda % 0,5 olarak bulunmuştur.⁴⁰ Aynı merkezde daha sonra kandida ile hematogen enfeksiyon gelişmesi arasındaki ilişki prospektif olarak araştırılmıştır. İnvaziv kandidiyazis, birden fazla vücut bölgesinde kolonize olan hastaların % 22'sinde görülürken, kolonize olmayan hiçbir hastada saptanmamıştır.¹⁹

Konağın hücre aracılı immünitesi, invazyona karşı oldukça etkili ikinci bir savunma mekanizmasıdır. Organizma bariyerleri aşp kan dolaşımına geçtiğinde, savunmada psödohiflere hasar verme, blastosporları fagosite etme ve öldürme kapasitesine sahip polimorfonükleer lökositler rol oynarlar.^{41,42} İlaçların ya da hastalığın sebep olduğu ciddi granülositopenisi olan hastalarda invaziv kandidiyazis gelişmesi, savunmada granülositlerin önemli rol oynadığını desteklemektedir. Nötrofil ve monositlerin miyeloperoksidazının ya da hidrojen peroksit ve süperoksit anyon yapım kapasitesinin olmaması, *C. albicans*'ın etkili bir şekilde öldürülmesini engeller.^{43,44} Monosit, eozinofil ve trombositlerin de kandidayı öldürme kapasiteleri vardır. Makrofaj ve diğer retiküloendotelial hücrelerin ve doğal öldürücü hücrelerin kandidalara karşı aktiviteleri olduğu da belirlenmiştir.^{25,42,45} Lenfositlerin savunmadaki rolünün önemi klinik gözlemlere dayanmaktadır. Kronik mukokütanöz kandidiyazis ve AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) gibi hücresel immünite bozukluklarında kandidaya bağlı

mukozit ve mukozal invazyon sık görülmektedir.^{46,47} Nadir bir çocukluk çağı hastalığı olan kronik mukokütanöz kandidiyaziste kandida antijenine özgü defekt tanımlanmıştır. Deneysel kanıtlar mannanın, lenfositleri indükleyen en önemli antijen olduğunu ortaya koymuştur.⁴⁸

Kandida türleri ile enfeksiyonlara karşı savunmada humoral immünitinin rolü iyi tanımlanamamıştır. Ig A defekti ve hipogamaglobulinemide ciddi mantar enfeksiyonu gözlenmemiştir. Serum opsoninleri nötrofillerin fagositozunu artırır.⁴⁹ İmmünglobulin G ve opsonizasyonu arttıran diğer serum bileşenleri dissemine kandidiyaziste yüksek titrede bulunmuştur. Komplemanlar, in vitro ortamda blastosporların optimal opsonizasyonu için gereklidir.⁵⁰ Kompleman 3 (C3) ve makrofaj üzerindeki C3 reseptörü, mantarların fagositozunda rol oynar.⁵¹ *C. albicans*'ın çeşitli konak dokularına yapışma ve prostetik araçlara implante olma (biyofilm oluşturma) yeteneği kolonizasyon ve kandidiyazis patogenezinde temel rolü oynar.²⁵

İnvaziv kandidiyaziste mukozal yüzeyler dışındaki iki ya da daha fazla organ tutulur. Kalp, karaciğer, dalak, böbrek ve akciğerde çoklu parankimal apseler görülebilir. Yaygın kandidiyaziste polimorfonükleer lökositlerden oluşan mikroapseler ve mononükleer hücre infiltrasyonu tipiktir. Kronikleşen olgularda histiyositler, dev hücreler ve epiteloid hücrelerin yer aldığı granülomatöz reaksiyonlar da gözlenebilir. Ağır bağışıklık yetersizliği olan olgularda enflamatuvar reaksiyon çok azdır veya yoktur; apseler yalnızca kandidaları ve nekrotik dokuyu içerir.¹²

2.3. İnvaziv Kandida Enfeksiyonları

Kandidalar, mukozal kolonizasyondan çoklu organ tutulumuna kadar geniş bir yelpazede yer alan enfeksiyonlara yol açabilir. Kandida enfeksiyonları yüzeyel (oral kandidiyazis, kandida özefajiti, kandida vulvovajinit ve balaniti, primer kutanöz kandidiyazisler (onikomikoz, paronişi ve kronik mukokutanöz kandidiyazis) ve invaziv kandida enfeksiyonları (kandidemi, akut ve kronik dissemine kandidiyazis, gastrointestinal kandidiyazis, pulmoner kandidiyazis, santral sinir sistemi enfeksiyonları, endokardit, miyokardit, tromboflebit, üriner sistem enfeksiyonları, osteomyelit, artrit, endoftalmit) olarak iki grupta incelenebilir.^{12,52}

2.3.1. Kandidemi

Kandidemi, klinik olarak enfeksiyonun belirti ve bulguları olan bir hastada en az bir kan kültüründe bir kandida türünün izole edilmesidir. Genel durumu düşkün, üremik

veya kortikosteroid tedavisi alan hastalarda klinik belirti ve bulgu olmadan da kandan bir kandida türünün izole edilmesi anlamlı kabul edilmelidir.²⁵ En sık rastlanan belirtisi yüksek ateştir (38°C). Kandidaya bağlı mortalitenin % 40 olduğunun belirlenmesi, kandideminin önemini göstermektedir.¹²

Ateş ya da hipotermi, üşüme ve titreme, hiperventilasyon, taşikardi, deri lezyonları ve şuur değişikliği en sık rastlanan klinik belirti ve bulgulardır. Sıklıkla sepsis veya organ disfonksiyonu birlikte seyreder. YBÜ’de takip edilen hastalarda hiperventilasyon ve respiratuar alkaloz fungemi veya sepsisin ilk belirtisi olabilir. Santral sinir sistemi tutulumu olmadan mental değişiklikler de kandidemili hastalarda önemli bir bulgudur.⁵³ Kandidemiye ait cilt bulguları eritemli, makronodüler, 0,5 -1 cm çapındaki lezyonlardır. Ektima gangrenozum, purpura fulminans benzeri lezyonlar da tespit edilebilir.⁵⁴ Kandidemi olgularında eş zamanlı yaygın kandidiyazis ve organ tutulumları görülebilir. En sık beyin, böbrek, miyokard ve göz tutulur.³⁶ Kandidemi gelişen hastalarda endoftalmit, osteomiyelit, artrit, osteoartrit, menenjit, pnömoni, piyelonefrit, endokardit, septik tromboflebit, hepatosplenik kandidiyazisten her zaman şüphelenilmeli ve ona yönelik tetkikler yapılmalıdır.⁵³ Yenidoğan grubu dışındaki hastalarda kandidemiye zemin hazırlayan en önemli faktörler; santral venöz kateter (SVK), antibiyotik kullanımı, önceden alınan antifungal tedavi, uzun süreli yoğun bakım ünitesinde yatış, abdominal/pelvik operasyonlar, malignensi, TPN (total parenteral nütrisyon) uygulaması, immunosupresif tedavi, nötropeni, karaciğer transplantasyonu, DM (Diabetes mellitus), nötropenisi olmayan hastalar dahil olmak üzere çoklu vücut bölgesinde kandida kolonizasyonu olarak sıralanabilir.¹²

2.3.2. Akut Dissemine Kandidiyazis

Tanı için, en az bir iç organda klinik, patolojik veya kültürle kanıtlanan kandida infeksiyonu olmalı, bununla birlikte bir başka iç organda da histopatolojik olarak veya kültürle kandida gösterilmelidir.⁵⁵ Erişkinde tipik olgu, yoğun bakım ünitesinde yatan nötropenik olmayan hasta ya da kemoterapiye bağlı nötropeni gelişmiş hematolojik maligniteli hastadır. En sık rastlanan semptom, antibakteriyel ilaçlara yanıt vermeyen ateştir. Son yıllarda yapılan prospektif araştırmalarda, retina tutulumunun hastalığın seyri sırasında da gelişebileceği gösterilmiştir. Bu nedenle oftalmik muayene tanı sırasında yapılmalı ve tanıdan iki hafta sonra tekrarlanmalıdır.⁵⁶ En sık rastlanan komplikasyonlar;

menenjit, beyin apsesi, renal apse, miyokardit, endokardit, endoftalmi, kutanöz apselerdir.⁵²

2.3.3. Kronik Dissemine Kandidiyazis

Hepatosplenik kandidiyazis olarak da bilinen kronik dissemine kandidiyazis, uzun süren nötropeniden çıkan kanser hastalarında görülen bir klinik tablodur. Ancak olayın karaciğer ve dalakla sınırlı olmaması nedeniyle hepatosplenik kandidiyazis terimi doğru değildir. Enfeksiyon uzun süre nötropenik kalan hastada, yani akut lösemi, miyelodisplastik sendrom ve aplastik anemili hastalarda daha sık gelişir. Geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine karşın, nötropeni düzeldikten sonra da ateş ile bulantı-kusma, karın ağrısı gibi abdominal belirti ve bulguların eşlik edebildiği hastada, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme veya ultrasonografi ile karaciğer ve/veya dalakta küçük, periferik yerleşimli, hedef tahtasına benzeyen (öküz gözü) lezyonların görülmesi tanı için yeterlidir. Klinik belirti ve bulgular kandidoz için özgün değildir. Kronik enfeksiyon sıklıkla akut yaygın kandidiyazisin bir sonucudur. Öte yandan, immün durumun bozulmasıyla birlikte kronik sendrom akut enfeksiyona dönüşebilir.^{57,58} En sık rastlanan etken *C. albicans* ve *C. tropicalis*'dir.⁵²

2.4. İnvaziv Kandidiyazis Risk Faktörleri

Kandidemi, dünyadaki septisemi olgularında 4. sırada yer almakta olup; bu olguların % 25-50'sini YBÜ hastaları oluşturmaktadır. Kandidemiye bağlı mortalite % 30 olarak bildirilmekte ancak, YBÜ hastalarında bu oran % 50-70 oranlarını bulabilmektedir.¹² Hastaya ait risk faktörleri arasında; yaş (prematüre veya 65 yaş üstü), YBÜ'de kalış süresinin uzaması (olguların çoğu 7-21. günler arasında ortaya çıkmakta; 8-10. günlerde pik yapmaktadır), geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, APACHE II skoru >20 olması, altta yatan hastalıklar (malignite, diyabet, böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, AIDS gibi), hemodiyaliz, santral venöz kateterler, total parenteral nütrisyon, gastrointestinal perforasyon ya da operasyon geçirme, akut pankreatit (bu olguların % 25'inde invaziv kandidiyazis bir komplikasyon olarak ortaya çıkmaktadır), sitotoksik ve immüsupresif ilaç kullanımı (solid organ ve kemik iliği transplantasyonu), mekanik ventilasyon, çoklu kan transfüzyonları, multipl kandida kolonizasyonu, yanık ve diyabet yer almaktadır.^{12,59,60} Yenidoğanlarda bu faktörlere ek olarak; düşük gestasyonel yaş, düşük Apgar skoru, H2 blokörleri, şok, gastrointestinal hastalık ve konjenital

malformasyonlar da risk faktörleri olarak belirtilmiştir.²⁵ İnvaziv kandidiyazis risk faktörleri tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. İnvaziv Kandidiyazis Risk Faktörleri²⁵

Erişkinde risk faktörleri	Yenidoğanlarda ek risk faktörleri
Yoğun bakımda kalma süresi	Düşük gestasyonel yaş
Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı	Düşük Apgar skoru
Hemodiyaliz	H ₂ reseptör blokörleri
Santral venöz kateterler	Şok
Ciddi hastalık	Gastrointestinal hastalık
Total parenteral beslenme	Konjenital malformasyonlar
Gastrointestinal perforasyon ya da cerrahi	
Pankreatit	
Mekanik ventilasyon	
Birden çok kan transfüzyonu	
<i>Candida</i> türleri ile kolonizasyon	

2.5. Kandida Enfeksiyonlarının Tanısı

2.5.1. Mikroskopik İnceleme

Direkt örnekte mantar elemanlarının görülmesi klinisyene zaman kazandıran, hızlı bir tanı aracıdır. Kandida türleri 3-6 µm büyüklüğünde oval ve yuvarlağımsı, tomurcuklanan hücreler olarak görülürler. Gram boyası ile Gram-pozitif olarak boyanırlar. Steril bölgelerden alınan yaymalarda maya hücrelerinin görülmesi, kandidiyazis tanısı için önemli olmakla birlikte duyarlılığı düşüktür. Mikroskopik değerlendirme öncesi % 10’luk potasyum hidroksit (KOH) kullanılması, epitel hücrelerinin lizise uğramasını sağlayarak, daha iyi tespit edilmesini sağlar. Faz-kontrast veya normal ışık mikroskopunda değerlendirilir. Işık yoğunluğunun azaltılmasıyla maya ve hifler daha iyi şekilde saptanabilir. Mantar hücre duvarını daha iyi görebilmek için mavi-siyah mürekkep KOH preparasyonuna katılabilir. Kalkoflor beyazı ile boyama, fungusların tespiti için duyarlı bir metottur ancak floresan mikroskop gerektirir. Kullanılan filtreye göre maya hücreleri, psödohifler ve hif yapıları tebeşir beyazı veya parlak elma yeşili renginde floresans verir. Kalkoflor beyazına alternatif boyama, gram

boyama (fungal elementler gram-pozitif boyanırlar) ve germ tüp testidir. Germ tüp testi serumda, 37°C'da 90 dakika inkübe edildiğinde *C. albicans*'ı, hifal element oluşumunu gösterme yoluyla *albicans* olmayanlardan ayırmaya yarayan testir.⁶⁰ *C. albicans* izolatlarının % 90'ından fazlası bu süre içinde germ tüp (gerçek hif) oluşturur. Doku incelenmesinde hematoksilen eozin, periyodik asit-schiff (PAS) ve Gomori'nin metenamin gümüş boyası tanıda yararlıdır. Derin dokuların biyopsi örneklerinde mayanın görülmesi kandidiyazisin kesin tanısını sağlar.⁶¹

2.5.2. Kültür

Mantar enfeksiyonunun tanısının konmasında ve etkenin belirlenmesinde kültür önemli bir yöntemdir. Fungal etkenlerin standart besiyeri Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)'dır. SDA sığır eti özeti, glukoz ve agar içerir ve pH'sı 5,6'dır. Kan örnekleri 30°C'de 21 gün inkübe edilmelidir. BOS örnekleri santrifüj edildikten sonra çöktikten ekim yapılmalıdır. İdrar örnekleri alınır alınmaz ekilmelidir. Besiyerine sikloheksimit eklenmesi hızlı üreyen küf mantarlarının gelişimini engeller.²⁵ *Kandida* türleri hem normal floranın üyesi hem de patojen olarak bulunabilmelerinden dolayı tüm kültür sonuçları hastanın klinik, histopatolojik ve radyolojik bulgularıyla birlikte değerlendirilmelidir.^{62,63} İnvaziv kandidiyazisten şüphelenilen hastalardan balgam, orofarinks, dışkı, idrar, dren yerleri ve kan kültürlerinin alınması gereklidir. Örnekler genellikle bir seçici, bir de seçici olmayan (beyin-kalp infüzyon agar, Sabouraud dekstroz agar gibi) besiyerine ekilir. *Kandida* türlerinin ilk izolasyonu ve identifikasyonunda kromotojenik besiyerleri (CHROMagar *Candida*, BD CHROMagar *Candida*, *Candida* DI) oldukça kullanışlıdır ve *albicans* ile *albicans* dışı *kandida* türlerini birbirinden ayırabilir. Bifazik medya kullanımı da kandan izolasyonu kolaylaştırabilmektedir. Son yıllarda geliştirilen lizis santrifügasyon yöntemi ile kandideminin radyometrik yöntemle göre daha çabuk ve daha yüksek bir duyarlılıkta saptanabildiği bildirilmiştir. Radyometrik yöntemlerin kültür sistemlerinde uygulanması ile mantarların erken tanısının sağlanabileceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir. BACTEC ve BacT/Alert yöntemleri, kan kültürlerinde mantarların tespitini hızlandırmıştır.^{61,64,65}

2.5.3. Seroloji

Kandidemi tanısında kültür yöntemlerinin duyarlılığının az olması nedeniyle tanı için serolojik testler geliştirilmeye başlanmıştır. Serolojik yöntemler, özellikle duyarlı görüntüleme teknikleri ile birlikte tarama araçları olarak kullanıldıklarında, invaziv

fungus hastalıkların erken ve hızlı tanısına yardımcı olmaktadır.⁶⁶ Ancak antijen tespitine yönelik testlerin orta derece duyarlılığı, yüksek derece özgüllüğü vardır. Bu testlerin temel problemi enfeksiyon varlığına rağmen antijen titrelerinin tüm hastalarda artmamasıdır. Lateks aglütinasyon testinin de yalancı negatiflik oranı oldukça yüksektir.²⁵ Serumda veya vücut sıvılarında mantar antijenlerinin veya metabolitlerinin aranmasına yönelik testler invaziv mantar enfeksiyonlarının serolojik tanısı için daha değerlidirler. Bu amaçla mannan, D-arabinitol, enolaz ve Beta-D-glukan araştırılmaktadır.⁶⁷⁻⁶⁹

Mannan antijeni özgün bir antijen olmasına karşın serum yarı ömrünün kısa olması ve antikora hızlı bağlanması nedeniyle tanı açısından uygun bir antijen değildir. Sağlıklı bireylerde kandida türlerine karşı gelişen antikorlar mannani hızla uzaklaştırmaktadır. Bu nedenle immünitesi normal olan kişilerde tanı değeri sınırlıdır. Ancak immünsuprese kişilerde yeterli antikor yanıtı olmadığından mannan antijeninin aranması tanıda katkı sağlayabilir.^{70,71} Kandidiyazis kliniği bulgularının varlığında, ardışık alınan serumlarda antikor titresinin artmaya devam etmesi enfeksiyon lehine değerlendirilebilir. Ayrıca antijen testleri ile kombine değerlendirildiklerinde tanıya yardımcı olabilirler.^{67,68} 2016'da yoğun bakım ünitelerindeki ciddi abdominal hastalığı olan hastaları içeren bir çalışmada mannan antijeni ve anti-mannan antikorları birlikte değerlendirilmiş ve duyarlılığı % 55, özgüllüğü % 60 olarak bulunmuştur.⁷² 14 çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analizde ise, invaziv kandidiyazis için mannan ve anti-mannan IgG antikorunun duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla % 58 ve % 93, % 59 ve % 86 olarak bulunmuştur.⁷³ En iyi sonuçlar, mannan antijeni ve anti mannan antikorun kombine kullanımı ile elde edilmiştir.⁷⁴ Mannan ve anti-mannan kombine kullanımında ise duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 83 ve % 86'dır. En iyi sonuçların *C. albicans*, *C. glabrata* ve *C. tropicalis* enfeksiyonlarında alındığı görülmüştür.⁷⁵ Kandida türlerinin sitoplazmik antijeni enolaz, invaziv kandida enfeksiyonlarında serumda tespit edilebilmekle birlikte duyarlılığının düşük olması nedeniyle tanıda istenilen düzeyde yararlı olmamıştır.

Beta-D glukan antijeni kandida türleri dışındaki birçok mantarın duvarında bulunmaktadır. İnvaziv kandida enfeksiyonlarının erken tanısında kullanılabileceği belirtilmektedir. Beta-D glukan testi klinik bulgular çıkmadan yaklaşık dört gün önce pozitifleşmekte, böylece erken tanıda avantaj sağlamaktadır. Ancak diğer maya ve küf mantarlarının hücre duvarında bulunması dezavantaj olarak değerlendirilmektedir.

Glukan ile kontamine kan alma tüpleri ve cerrahi gazlı bezler, sellüloz membranlarla diyaliz, özellikle *S. pneumoniae* ve diğer gram pozitif mikroorganizmalarla bakteriyemi, gut ve amoksisilin-klavulonat kullanımı sırasında yalancı pozitiflikler görülebilmektedir.⁷⁴ Yapılan meta analizlerde Beta-D glukan duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla % 75-80 ve % 80 olarak bulunmuştur.⁷⁶⁻⁷⁸ Bu antijenlere karşı gelişen antikorları tespit eden testlerin yalancı pozitif ve negatif değerleri yüksek olduğundan tanısal değerleri düşüktür.^{70, 71} Ancak seri BG ölçümlerinde antifungal tedavi altında düşüşün görülmesi tedavi başarısı ile ilişkili bulunmuştur.⁷⁴

Candida albicans germ tüpe özgül antikor (CAGTA) tespiti için ticari olarak kullanılabilir immün-floresan bir yöntem bulunmaktadır. Sınırlı klinik çalışmalarda % 77-89 duyarlılık, % 91-100 özgüllük bulunmuştur.⁷⁴ Çeşitli çalışmalarda, invaziv kandidiyazis için CAGTA'nın duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla % 53-73 ve % 54-80 arasında olarak bulunmuştur. CAGTA'nın duyarlılığı, *C. tropicalis*'in neden olduğu enfeksiyonlarda diğer kandida türlerine göre daha düşük olabilir.^{72,75,79} CAGTA titrelerindeki azalmanın, invaziv kandidiyazisi olan ve antifungal tedavi alan hastalarda tedaviye yanıtın izlenmesinde de yardımcı olacağı bildirilmiştir. Testler sıklıkla anti-*Candida* IgG'nin tespitine yönelik olsa da IgM, IgA ve IgE tespitine yönelik testler de kullanılmıştır. Bunlardan özellikle IgA'nın invaziv kandidiyazis tanısında yararlı bir belirteç olduğu bildirilmiştir.⁸⁰

Kandida türlerine özgü metabolit olan D-arabinotol de, invaziv kandida enfeksiyonlarının tanısında kullanılmıştır. Ancak *C. krusei* ve *C. glabrata* türleri arabinitol üretememektedir. Ayrıca böbrek yetmezliğinde düzeyi artacağından serum D-arabinitol/kreatinin oranının değerlendirilmesi önerilmektedir. Serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllük oranları tablo 4'de gösterilmektedir.

Tablo 4. Serolojik Testlerin Duyarlılık ve Özgüllük Oranları⁸¹

Serolojik testler	Duyarlılık (%)	Özgüllük(%)
Mannan Ab*	53-100	89-100
Enolaz Ag**	72-85	96-100
D-arabinitol	88	91
1,3-b-D glukan	60-100	64-99

*Ab: Antikor

**Ag: Antijen

2.5.4. PCR

Kandidemi tanısında kan kültürlerinin geç sonuç vermesi ve duyarlılığın düşük olması nedeniyle daha hızlı sonuç veren, duyarlılık ve özgüllüğü daha yüksek olan testlere ihtiyaç duyulmuştur. Bu tanı testlerinden birisi de polimeraz zincir reaksiyon testidir.

Enfeksiyonun moleküler tanısı için, dolaşımdaki kandida genomu PCR ile saptanabilir. Özellikle kandida DNA'sının kantitasyonu yapılarak, kolonizasyon ile derin enfeksiyon ayrımı yapılabilir.⁵² Yapılan çalışmada plazma veya serumdan çalışılan PCR testinin beta-D glukon testine göre duyarlılığın daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Kan kültürü ile beraber kullanılan PCR testinin duyarlılığının ise % 98'lere kadar çıktığı belirtilmiştir.⁸² Yapılan 54 çalışma ve 4894 hasta içeren bir meta-analizde kanıtlanmış/yüksek olası veya şüpheli invaziv kandidiyazis olguları için PCR'ın duyarlılık ve özgüllüğü sırası ile % 95 ve % 92 bulunmuştur.⁸³ Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, intraabdominal kandidiyazis için ise PCR analizlerinin duyarlılığı % 86-91 arasında değişmiştir, fakat özgüllüğü % 33 ile % 97 arasında değişmektedir.^{72, 75, 82} Testte kullanılan örneğin türüne göre testin duyarlılığı değişmektedir. İnvaziv kandidiyaziste tam kan örneği, serumdan daha üstün bulunmuştur. Kanda kandida DNA'sının araştırıldığı PCR temelli çalışmalarda pozitif prediktif değer ortalama % 50 olarak tespit edilmiştir. Ancak bu moleküler yöntemlerin standardizasyonunda sorunlar bulunduğu için sonuçlar oldukça değişkenlik göstermektedir.¹⁰ Candida PCR testi, gereksiz antifungal kullanımına engel olmakta, etkenin gösterilmesi ise tedaviyi ampirik olmaktan etkene yönelik tedaviye doğru çevirmektedir. Epidemiyolojik kayıtlar güçlenmekte, hastaların tedavisinde bu epidemiyolojik ön bilgiler çok yararlı olmaktadır. Üçüncü basamak sağlık kuruluşlarında Candida PCR testinin uygulanması bu bilimsel nedenlerle önerilmektedir.⁸⁴ PCR ile hem moleküler tanı amacıyla hem de tür tanımlama amacıyla yapılmış çalışmalar artmaktadır. Tür tanımlama amacıyla hem koloniden hem de klinik örnekten DNA tanımlanabilmektedir.

2.5.5. Diğer Yöntemler

Kandidemi tanısında kan kültürlerinin geç sonuç vermesi, serolojik testlerin tek başına kullanıldıklarında duyarlılıklarının düşük olması, PCR'ın standardizasyonunun olmaması nedeniyle tanıda kullanılabilecek ek yöntemlerin geliştirilmesi ihtiyacı doğmuştur. Bu yöntemlerden bazıları; matrix-assisted laser desorption/ionisation-time-

of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS), PNA-FISH Yeast Traffic Light (Protein nucleic acid fluorescence in situ hybridization) ve T2 Candida Assay yöntemleri olarak sıralanabilir.⁸⁵

MALDI-TOF-MS: 30 dakika-2 saat arasında sonuç verebilmektedir. *C. albicans* için duyarlılık ve özgüllüğü % 94 olarak belirlenmiştir.⁸⁶ Ayrıca bu yöntemde mantar türleri ve antifungal duyarlılıkları da belirlenebilmektedir.⁸⁷

PNA-FISH (Protein Nucleic Acid Fluorescence In Situ Hybridization): Yaklaşık 90 dakikada kandida türlerini ayırt edebilmektedir. İnsan örneklerinde mikrobiyal patojenlerin genomları üzerindeki hedef bölgeleri tanımlamak için floresan problemleri kullanan bir tekniktir ve bu da floresan mikroskopu ile tespit edilebilir. Yapılan çalışmada duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla % 99 ve % 98 olarak belirlenmiştir.⁸⁸

T2 Magnetic Resonance Assay (T2MR): Moleküler bir yöntemdir. 4 saatte sonuç vermesi, tam kandan çalışılabilmesi, tür ayrımı yapılabilmesi (*Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*) nedeniyle yeni ancak önemli bir tanı yöntemidir. Yapılan çalışmada duyarlılığı % 96,4 olarak belirlenmiştir.⁸⁹

2.6. Kandida Skoru

Kandida türleri sağlıklı kişilerin normal florasında % 25-50 oranında bulunmakta iken hastanede yatan kişilerde ise bu oran % 50-70'e kadar yükselmektedir. Kolonizasyon orofarenks, mide, idrar veya trakeal aspiratlarda kandida türlerinin varlığı olarak tanımlanmaktadır.^{90,91} Kandida pozitif kültürlerin ardışık olarak 2 hafta devam etmesi durumunda ısrarcı kolonizasyondan bahsedilir.⁹² En sık kolonize olan bölgeler cilt, orofarinks, üriner sistem ve gastrointestinal sistemdir. Kandida türlerinin ekzojen yolla kolonizasyonu, sağlık çalışanlarının taşıyıcı olabileceği çalışmalarda gösterilmiştir.³⁴ Kolonizasyon kendiliğinden kandidemi kaynağı olmamasına rağmen kandidemi için önemli bir risk faktörüdür ve kolonizasyonun % 3-25 oranında kandidemiye neden olduğu gösterilmiştir. Risk taşıyan hastalarda invaziv kandidiyazis oranı % 16 iken, taşımayanlarda % 5 olarak bildirilmiştir.¹²

Kandida skoru, invaziv kandida enfeksiyonu riski yüksek olan hastaları belirlemek amacı ile geliştirilmiştir. León ve arkadaşları prospektif 1699 hastayı içeren bir kohort ile cerrahi girişim öyküsü (1 puan), çoklu kolonizasyon (1 puan), total parenteral nütrisyon (1 puan) ve ciddi sepsisin (2 puan) invaziv kandidiyazis riskini öngörebildiğini

belirtmişlerdir. Sınır değer olarak 2,5 ve üstü değerler kullanıldığında % 81 duyarlılığı % 74 özgüllüğü olduğu gösterilmiştir.⁹² Bu skorlamanın invaziv kandida enfeksiyonunu dışlamak için kullanışlılığı, 1107 hastayı içeren çok merkezli bir kohort çalışma ile değerlendirilmiş, eşik değer 3 kabul edildiğinde negatif prediktif değeri % 97,7 bulunmuştur.⁴ Kandida skorlaması tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Kandida Skorlaması⁹²

Risk faktörleri	Skorlama puanı
Total parenteral beslenme	1
Cerrahi girişim	1
Multifokal kandida kolonizasyonu	1
Ağır sepsis	2

2.7. Kandida Kolonizasyon İndeksi (KKİ)

Yapılan prospektif bir kohort çalışmasında KKİ ilk kez 1994 yılında Pittet ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. KKİ, kandida üreyen bölge sayısının kültür alınan bölge sayısına bölünmesi ile belirlenir. Ortaya çıkan değer $\geq 0,2$ ise fungal kolonizasyon, $\geq 0,5$ ise yoğun kolonizasyon olarak kabul edilir. Pozitif prediktif değeri % 66 iken negatif prediktif değeri % 100 olarak belirlenmiştir. Düzeltilmiş KKİ ise kolonizasyonun yoğunluğunu da içerir ve yoğun kolonizasyon olan bölgelerin kandida üremesi olan alanlara bölünmesi ile belirlenir. Düzeltilmiş kandida kolonizasyon indeksi değeri $\geq 0,4$ ise yoğun kolonizasyon olarak değerlendirilir. Düzeltilmiş KKİ’nin negatif ve pozitif prediktif değeri % 100’dür.⁹³

2.8. Mantarların Differansiyasyonu

Kandidaların tür düzeyinde tanımlanması önemlidir. İnsanlarda enfeksiyona sebep olan pek çok mantar antifungal ajanların pek çoğuna karşı başlangıçta doğal dirençli olabileceği gibi kullanım sonrasında da direnç geliştirebilmektedir. Mayaların identifikasyonu morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin kombinasyonuna dayanır. İdentifikasyonda kullanılan yararlı morfolojik özellikler; kolonilerin rengi, hücrelerin büyüklüğü ve şekli, hücrelerin etrafında bir kapsülün varlığı, hif veya yalancı hif oluşturması ve klamidospore üretilmesidir. Yararlı biyokimyasal testler ise şekerlerin

asimilasyonu ve fermentasyonu ile nitrat asimilasyonudur. Kökenlerin tanımında en hızlı ve güvenilir yöntem germ tüp deneyi ve klamidosporelerin görülmesidir.⁹⁴

Germ tüp testi maya izolatların tanımlanmasında ilk adımdır. Bir maya hücresinden çıkan parmaklı uzantılar olan germ tüpler, gerçek bir hif başlangıcıdır. Bu yapı, germ tüp ve maya hücresinin birleşim yerinde bir daralma bulunmaması ve germ tüpte paralel hücre duvarları varlığı ile yalancı hiften ayırdedilebilmektedir. Gerçek germ tüpler, en fazla 4 saat boyunca ve 37°C'de serumda büyüdüktan sonra *C. albicans* ve *C. dubliniensis* tarafından oluşturulmaktadır. Yalancı germ tüpte ise daha büyük bir blastospor vardır ve hif ile bağlantı bölgesi daha belirgindir. Albicans dışı kandida türlerinde ise maya hücresi ile büyüyen hifal hücre arasında bir darlık (boğum) bulunmaktadır.⁹⁵

Maya hücreleri besince fakir olan ortamlarda yedek besin depolayan klamidosporeler oluştururlar. Gerçek veya yalancı hifin bir yerinde sitoplazma yoğunlaşır, burası hifin çapından daha geniş olacak şekilde şişer ve duvarı kalınlaşır. Hiflerin içinde (ara klamidospor), kenarında (yan klamidospor) veya uçlarında (uç klamidospor) gelişebilen, büyük, yuvarlak ve kalın duvarlı bu oluşumlar, açlığa ve diğer şartlara karşı canlılığını koruyabilecek bir uyum sağlarlar. Mısırunlu, pirinçli-Tween 80 agar gibi besiyerlerine ekilerek 25°C'de 72 saat inkübe edilen *C. albicans* izolatlarının % 90'dan fazlası karakteristik klamidospor oluşturur ve bu özellik germ tüp oluşumu kadar tipiktir.⁹⁶

Karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon testleri: Asimilasyon, mayaların oksijen varlığında karbon kaynağı olarak spesifik bir karbonhidratı kullanmasını, fermentasyon ise karbonhidratların CO₂ ve etanol üretimiyle sonuçlanan anaerobik kullanımını gösterir. Karbonhidratların fermentasyonu sonucu oluşan asit, besiyerine eklenen fenol kırmızısı gibi pH indikatörleri yardımıyla ortaya çıkan renk değişimleri ile saptanır. Besiyerinin sarı renk olması reaksiyonun pozitifliğini, kırmızı renkte kalması karbonhidratların fermente olmadığını yani reaksiyonun negatifliğini gösterir.⁹⁵

Üreaz Testi: Üreaz enzimi bulunan mikorganizmalar, üreyi amonyak ve karbondioksit parçalarlar. Amonyak alkali ortama sebep olur. Besiyerinde üreme olduğunda, üreaz enziminin varlığı amonyakın sebep olduğu alkali ortamda fenol kırmızısının koyu pembe renge dönüşmesiyle saptanmaktadır. Klinik önemi olan türlerin büyük çoğunluğu üreaz negatiftir.⁹⁵

Mantar enfeksiyonlarının insidansının artması bu patojenlerin tanımlanması için hızlı ve doğru manuel ve otomatize ticari sistemlerin geliştirilmesini gerektirmiştir. Bu otomatize sistemlerden ID 32C sistemi (bioMerieux Marcy l'Etoile, France) genellikle Avrupa ülkelerinde kullanılırken, API 32C mantar identifikasyon sistemi (bioMerieux Vitec, Inc., Hazelwood, Mo.) ABD'de en sık kullanılan mantar tanımlama sistemlerinden biridir.^{97,98}

2.9. Antifungal Duyarlılık Testleri

Kandida türlerinde mortaliteyi etkileyebilecek direnç belirlenmesi, mantarlar için de bakterilerde olduğu gibi anlamlı sonuç verebilecek duyarlılık testlerine ihtiyaç duyulmasına neden olmaktadır. Antifungal ile mantar etkileşiminin in vitro olarak incelenebilmesi mikolojide önemli bir adım olmuştur. Bu amaçla CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) tarafından geliştirilen mikrodilüsyon yöntemi (M27-A2 ve M38-A) ile bu yöntemin EUCAST (European Confederation of Antifungal Susceptibility Testing) tarafından modifiye edilen şekli referans yöntem olarak kullanılmaktadır.^{99,100} Antifungal duyarlılık testi olarak kullanılan yöntemler; sıvı makrodilüsyon, sıvı mikrodilüsyon, kolorimetrik sıvı mikrodilüsyon, spektrofotometrik mikrodilüsyon, agar makrodilüsyon, agar difüzyon (Disk difüzyon ve E test) şeklinde sıralanabilir.¹⁰¹

Referans yöntem esas olarak makrodilüsyon yöntemi olarak tanımlanmış, daha sonra mikrodilüsyon yönteminin avantajları nedeniyle bu yöntem tercih edilmiştir. Bu yöntemle klinikte kullanılan tüm antifungaller test edilebilmektedir. CLSI yöntemiyle bazı kandida izolatlarının direnç takip değerleri halen sorunludur. Örneğin; bir suş 24 saatteki MİK (minimum inhibitör konsantrasyonu) düzeyi ile duyarlı ($\leq 1\mu\text{g/ml}$) bulunurken, 48. saatteki MİK düzeyi ile dirençli ($\geq 64\mu\text{g/ml}$) rapor edilmektedir.^{102,103}

Kolorimetrik yöntemler: MİK değerlerinin saptanmasında bulanıklığın görsel olarak değerlendirildiği standart duyarlılık testlerinin yeni bir alternatifi, kolorimetrik indikatörlerin veya floresan boyaların kullanılmasıdır. Kolorimetrik yöntemlerle elde edilen MİK değerlerinin, referans mikrodilüsyon ve makrodilüsyon yöntemleriyle elde edilen MİK değerleriyle uyumu oldukça iyidir. Ancak kolorimetrik yöntemlerle elde edilen itraconazol MİK değerleri, CLSI yöntemleriyle elde edilen MİK değerlerinden daha yüksek bulunmuştur.¹⁰⁴

E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden): Agar bazlı, plastik şeritler üzerine farklı konsantrasyonlarda emdirilmiş antifungal ajanların besiyerine difüze olduğu duyarlılık testidir. Bu yöntemde amfoterisin B, kaspofungin, flusitozin, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol ve posakonazol için ticari şeritler mevcuttur. Bununla beraber sadece flukonazol, itrakonazol ve flusitozin için FDA onayı alınmıştır. Bazı suşlarda sınır değerleri belirlemek zor olmakla birlikte birçok kandida türü için standart yöntemlerle uyumlu olduğu kabul edilmektedir.¹⁰¹

Disk difüzyon yöntemi: Tüm dünyada antibakteriyel duyarlılık testleri için en sık kullanılan yöntemdir. 28/08/2009 tarihinde CLSI tarafından yayınlanan M44-A2 dökümanında kandida türlerinin flukonazol, posakonazol, kaspofungin ve vorikonazol duyarlılığını belirlemek için kullanılan disk difüzyon yöntemi standardize edilmiştir.¹⁰⁵

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Düzeni

Çalışmamızda Kasım 2016-Haziran 2018 tarihleri arasında Genel Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ünitesi'nde takip edilen kandidemi riski yüksek olan 90 hasta prospektif olarak değerlendirildi.

Hastalar aşağıdaki risk faktörlerinin varlığı açısından sorgulandı;

- Yoğun bakımda uzamış yatışı olması,
- Antifungal tedavi almaması,
- İmmünesupresif ilaç kullanımı,
- İki ve daha fazla bölgede kandida kolonizasyonu olması,
- Transplantasyon öyküsü olması,
- Malignite öyküsü olması,
- Bir haftadan uzun süreli antibiyoterapi alması,
- Sepsis kliniğinde olması,
- Total parenteral nütrisyon ile beslenmesi,
- Mekanik ventilasyon ile takip edilmesi,
- Akut böbrek yetmezliği olması,
- Santral venöz kateteri olması,
- Cerrahi operasyon geçirme öyküsü olması

Risk faktörlerine sahip hastalar çalışmaya dahil edildi. Hasta ve yakınlarından aydınlatılmış onam formu alındı.

Kandida kolonizasyonunu değerlendirebilmek için alınabilecek her hastadan idrar kültürü, perine kültürü, aksilla kültürü, trakeal aspirat kültürü alındı. Eş zamanlı olarak 2 set kan kültürü ve 1 adet EDTA'lı tüpe en az 3 ml kan alındı. EDTA'lı tüp, -40°C'de daha sonra Candida multiplex PCR ve Candida real-time PCR çalışılması amacıyla saklandı.

Hastaların komorbid hastalıkları (HT, DM, kalp hastalığı, böbrek hastalığı, akciğer hastalığı, karaciğer hastalığı, transplantasyon öyküsü, geçirilmiş cerrahi öyküsü, kanser öyküsü) sorgulandı ve bilgileri kaydedildi.

İmmüsupresif ilaç kullanımı, bir haftadan uzun süreli antibiyotik kullanımı, TPN ile beslenme, santral venöz kateter, üriner kateterizasyon, dekübit veya açık yara varlığı, eşlik eden enfeksiyonları, hastanede yatış öyküsü, kullandığı antibiyotikler, mekanik ventilasyon ile takip varlığı açısından değerlendirildi ve bilgileri kaydedildi.

Sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonların tanımlanmasında Centers for Disease Control and Prevention (CDC) kriterleri kullanıldı. Her hastanın kandida skoru, kandida kolonizasyon indeksi ve APACHE 2 skoru hesaplandı.

Kandida skoru; total parenteral nütrisyon 1 puan, multifokal kandida kolonizasyonu 1 puan, cerrahi geçirme 1 puan ve sepsis 2 puan olacak şekilde hesaplandı. Kandida kolonizasyon indeksi, pozitif kolonizasyon olan bölge sayısının örnek alınan bölge sayısına oranı hesaplanarak elde edildi. APACHE 2 değerleri akut fizyoloji skoru, yaş skoru ve kronik hastalık skoru sonuçlarının toplamından elde edildi. Akut fizyoloji skoru ise ateş, ortalama arteriyel basınç, nabız, alveolo arteriyel oksijen gradyenti (eğer $FIO_2 > \% 50$ ise) ya da parsiyel oksijen basıncı (eğer $FIO_2 < \% 50$ ise), arteriyel pH, Na, K, kreatinin, hematokrit, kan lökosit düzeyi, Glasgow Koma Skoru (GKS) değerleri puanlanarak elde edildi.

Sistemik antibiyotik kullanımı 1-3 gün/santral venöz kateter olması 1-3 gün ve minör kriterlerden en az 2'sinin olması (TPN 1-3 gün, diyaliz 1-3 gün, majör cerrahi 1-7 gün, pankreatit 1-7 gün, steroid kullanımı 3-7 gün/diğer immüsupresif kullanımı 0-7 gün) koşullarını sağlayanlar Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı'na göre antifungal başlanması gereken hastalar olarak kabul edildi.

İdrar kültürü, perine kültürü, aksilla kültürü, trakeal aspirat kültürü ve 2 set kan kültürü sonuçları takip edildi ve çıkan sonuçlar kaydedildi. $-40^{\circ}C$ 'de saklanan kanlar oda sıcaklığında çözdürülerek Candida multiplex PCR ve Candida real-time PCR çalışıldı.

3.2. Mikrobiyolojik Teknikler

Çalışmaya dâhil edilen hastalardan alınan 2 set kan kültürü ve $-40^{\circ}C$ 'de EDTA'lı tüpte saklanan tam kandan Candida multiplex PCR ve Candida real-time PCR çalışıldı.

3.2.1. Kan Kültürü

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'nde Kasım 2016 ve Haziran 2018 tarihleri arasında kan kültürü örnekleri prospektif olarak değerlendirildi. Kan örnekleri, kan kültür şişelerinde BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, ABD) otomatize sistemi içinde inkübe edildi.

Üreyen mikroorganizmaların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıkları VITEK 2 Compact sistemi (bioMérieux, Fransa) ile yapıldı. Tekrarlayan üremeler; cilt florası bakterileri ile kontaminasyon olasılığı düşünülen ve klinik olarak da enfeksiyon etkeni olmadığı kesinleştirilmiş üremeler (Koagülaz negatif stafilokok, *Corynebacterium spp.*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus anthracis* dışındaki *Bacillus* türleri, *Propionibacterium spp.*, *Aerococcus spp.* vb.) çalışmaya dahil edilmedi. Kan kültüründeki üremeler; hastaların klinik tablosuna uyması ve 2 set kan kültüründe üreme olmasına dikkat edilerek anlamlı kabul edildi.

Kan kültür şişesinde üreme belirlendiğinde katı besiyerlerine pasaj yapıldı. Gram boyalı preparatlar hazırlandı ve değerlendirildi. Plaklar 35-37°C’de, her gün kontrol edilerek en az 48 saat inkübe edildi. Gram boyama sonuçlarına göre kullanılan besiyerlerine mantarlar için Sabouraud Dekstroz Agar da eklendi. Kan kültürü ile ilgili tüm işlemler biyogüvenlik düzeyi II olan biyolojik güvenlik kabinleri içerisinde yapıldı. Kan kültürü örnekleri, BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, ABD) otomatize sisteminde yedi gün inkübe edildi. Pozitif sinyal veren şişelerden; % 5 Koyun Kanlı Agar (bioMérieux, Fransa), Çikolata Agar (bioMérieux, Fransa) ve MacConkey Agar (bioMérieux, Fransa) katı besiyerlerine ekilerek 37°C’de aerop şartlarda 48 saat inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmaların tanımlanmaları, konvansiyonel yöntemler (Koloni görünümü, hemoliz özelliği, Gram boyama, oksidaz testi, katalaz testi, plazma koagülaz testi, vb.) ve VITEK 2 Compact sisteminde (bioMérieux, Fransa) identifikasyon kartları kullanılarak yapıldı. Maya mantarlarının identifikasyonu için; koloni görünümü, Gram boyama incelemesi, üreme ısısı (25 °C ve/veya 37 °C’de üreme) gibi özelliklerin yanında VITEK 2 maya identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık kartları (YST-ID ve AST-Y08) kullanıldı. Hem bakterilerin hem de mayaların identifikasyonu için; VITEK 2 cihazının % 95 ve üzerinde olasılıkla verdiği sonuçlar değerlendirildi.

Antibiyotik duyarlılıkları; bakteriler için EUCAST 2017 kılavuzlarının önerileri doğrultusunda VITEK 2 cihazı ile değerlendirildi. Mayaların antifungal duyarlılıkları; CLSI M27-S4 Aralık 2012 kılavuzuna göre değerlendirildi.

3.2.2. Candida PCR

DNA Ekstraksiyonu: -40°C’de saklanan kan örnekleri oda sıcaklığında çözündürüldü ve fungal DNA elde etmek için ExiPrep16 Plus Tam Otomatik DNA/RNA Ekstraksiyon Cihazı (BIONEER, Daejeon, Korea) kullanıldı. Ardından DS-11+ Mikro

Hacimli Spektrofotometre (DeNovix, Wilmington, DE) ile DNA değerleri kayıt altına alındı. Örneklerin DNA izolasyonu için Genomic DNA Ekstraksiyon Kit'i (BIONEER, Daejeon, Korea) kullanıldı. Ekstraksiyon robotunun Genomic DNA Fungi protokolü seçilerek örneklerin Genomic DNA'ları elde edildi.

Kalite ve Konsantrasyon Testi: Elde edilen hasta DNA'larının saflık ve miktar tayinleri DS-11+ Mikro Hacimli Spektrofotometre ile yapıldı. Elde edilen DNA'ların saflık derecesinin uygunluğu ve konsantrasyonların yeterliliği kayıt altına alındı.

3.2.2.1. Candida Real-Time PCR

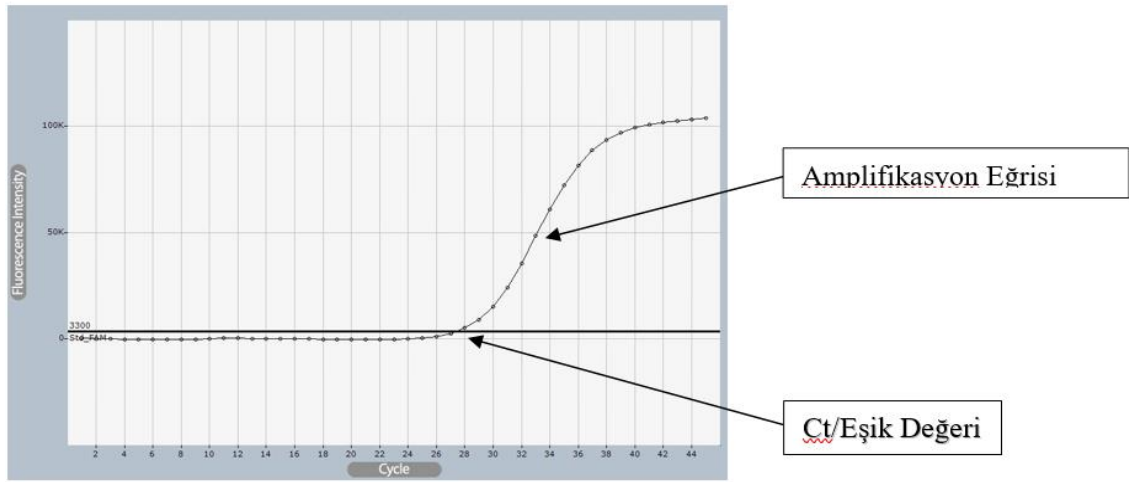
Oligo Sentezi: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* *C. krusei* ve *C. dubliniensis* genlerine ait hedef gen polimorfizmlerini tespit etmek amacıyla S-1001 primer setleri (BIONEER, Daejeon, Korea) kullanıldı. Primer veya probler, kullanılmış olduğumuz Q-PCR cihazının özelliklerine uygun olarak dizayn edildi. Primer setlerinin, % 20-80 oranında Guanin (G) - Sitozin (C) içermesine, özellikle G ile benzer çalışan nükleotitlerden ve probun 5' ucuna G bazı gelmemesine, seçilen dizide G'den çok C bazı olmasına, melting sıcaklığının (T_m) sıcaklığının 65-85 °C arasında olmasına dikkat edildi. Buna göre Q-PCR işlemimizde GreenStar qPCR Master Miks (BIONEER, Daejeon, Korea) ve primer setleri kullanıldı.

Tablo 6. Candida Real-Time PCR'da Gen Bölgesini Çoğaltmak İçin Kullanılan Primer Dizileri

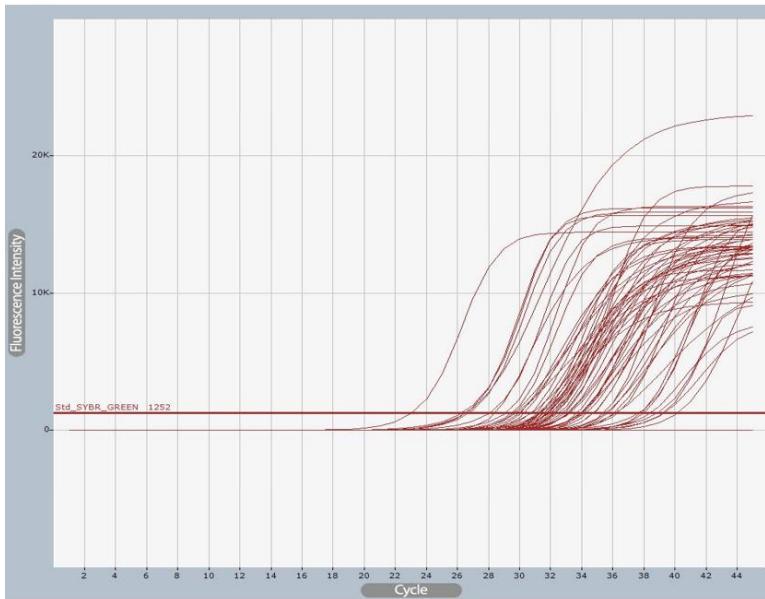
<u>Albicans-F</u>	TTTATCAACTTGTCACACCAGA	22
<u>Albicans-R</u>	ATCCCGCCTTACCACTACCG	20
<u>Glabrata-F</u>	AGGCCCGTTAAAGTAAAGGTCG	22
<u>Glabrata-R</u>	GGGGTAGAAGCGTTACTCGTT	21
<u>Tropicalis-F</u>	CAATCCTACCGCCAGAGGTTAT	22
<u>Tropicalis-R</u>	CGCTTAAATAAGTTTCCACGTTAAAT	27
<u>Parapsilosis-F</u>	GCCAGAGATTAAACTCAACCAA	22
<u>Parapsilosis-R</u>	CCTATCCATTAGTTTATACTCCGC	24
<u>Krusei-F</u>	GCATCGATGAAGAACGCAGC	20
<u>Krusei-R</u>	AAAAGTCTAGTTCGCTCGGGCC	22
<u>Dubliniens-F</u>	CTGGCGTCGCCCATTATT	20
<u>Dubliniens-R</u>	GCCACCCCCGAAAGAGTAACT	21

Primerin gen bölgelerini arttırıp azaltması SYBR Green boyasının serbest halde DNA üzerine bağlanmasıyla oluşan sinyalin, FAM filtresi kullanılarak floresan

miktarının ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Uygun PCR koşullarında primerin hedef bölge üzerine bağlanması ve uzamasının ardından yeni zincir oluşmaya başlar. DNA zincir sentezi uzadıkça ve her bir döngüde ürün miktarı arttıkça floresan ışımada ona bağlı olarak artmaya devam eder. Kullanılan primer dizileri uygun ve uyumlu olduğu sürece ilgili gen bölgesi çoğalır, tek bir baz değişikliği bile gen bölgesinin tamamının çoğalmasını engelleyeceği ve sonraki dizinin bölgeyi çoğaltmasına izin vermeyeceği için; aynı diziye sahip olmayan gen bölgelerinde farklı amplifikasyon eğrileri elde edilecektir. Örnek amplifikasyon eğrisi şekil 1’de gösterilmiştir.

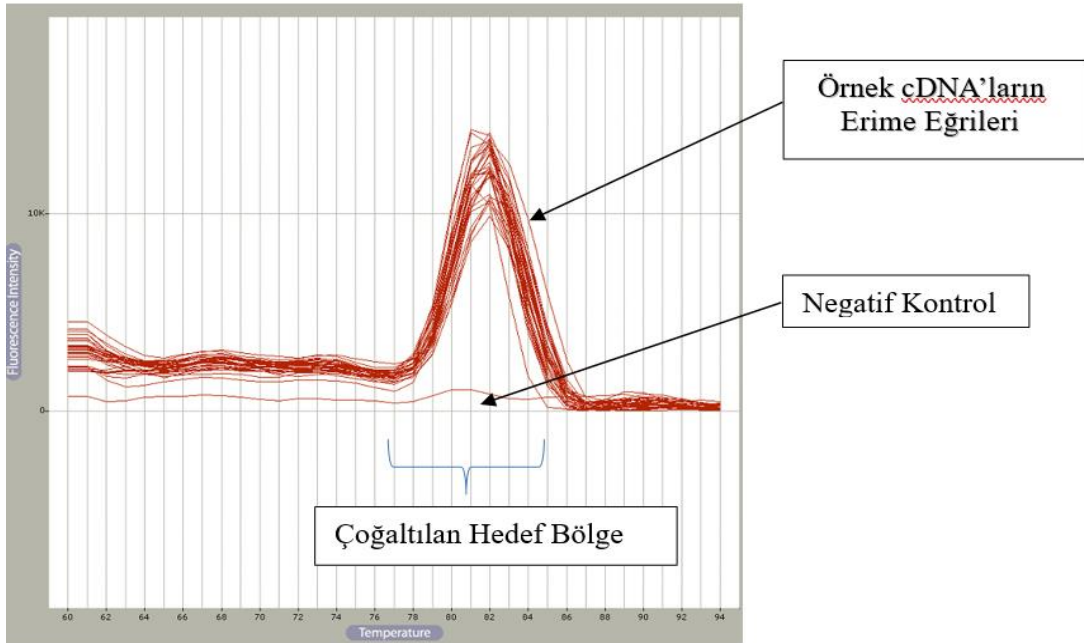


Şekil 1. Amplifikasyon Eğri Örneği



Şekil 2. Çalışmamızda Elde Edilen Amplifikasyon Eğrileri

Master Miksler ve Q-PCR Koşulları: Kantitatif analizlerden sonra yapılan ekspresyon testi deneylerinde, primerler ve örnek DNA hazır reaksiyon tüplerine eklendi, negatif kontrol için de PCR Grade Water ile son örnek hacmi 20 µl'ye tamamlanarak çalışıldı. Tüpler Q-PCR cihazına yüklenmeden önce, homojenliğin sağlanması için hem vortex hem de spin işlemini programlı şekilde otomatik olarak yapan ExiSpin Vortex-Mikser (BIONEER, Daejeon, Korea) kullanıldı. Hazırlanan miksler, optik şeffaf filme kaplı 0,2 ml'lik PCR tüpleri içerisinde ExiCycler96 Q-PCR (BIONEER, Daejeon, Korea) cihazına yerleştirildi. Takip eden işlemler üreticinin önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.



Şekil 3. Primer ve Dimer Kontrolü İçin Yapılan Çalışmanın Melting Curve Plotları

SYBR Green yöntemiyle yapılan Q-PCR'nin başlangıcında ortamda tek zincirli cDNA molekülü, primerler ve reaksiyon tampon çözeltisi içinde SYBR Green boyası bulunmaktadır. Bağlı olmayan serbest cDNA molekülü tek zincirli olduğu için çok az bir floresan ışıma yapmaktadır. Primerler bağlanıp uzama başladığında ise SYBR Green, çift zincirli cDNA'nın arasına girerek floresan yayılımı başlatmaktadır. Başlangıçtaki döngülerde zayıf olan floresan sinyal; oluşan ekspresyona bağlı olarak belirli sayıda çoğaltım sonrasında ilerleyen döngülerde hızla artmaya başlamaktadır. Bu artış miktarı Q-PCR cihazının 2D-CCD kamerasının algılayabildiği miktara ulaştığında Ct (Eşik

Değeri) olarak algılanmakta ve analiz yazılımı bu değerleri kullanarak sonuç vermektedir. qPCR süresi toplamda ortalama olarak 1 saat 45 dakika sürmektedir.

3.2.2.2. Candida Multiplex PCR

Oligo Sentezi: ITS1, ITS2, CA3, CA4, ITS2D genlerine ait S-1001 primer setleri (BIONEER, Daejeon, Korea) kullanıldı. PCR işlemleri ise K-2111 Multiplex PCR Premix kiti (BIONEER, Daejeon, Korea) ile yapıldı. Primerler, kullanmış olduğumuz PCR cihazı ve kitinin özelliklerine uygun olarak dizayn edildi.

Tablo 7. Candida Multiplex PCR’da Gen Bölgesini Çoğaltmak İçin Kullanılan Primer Dizileri

Primer Setleri	Sekanslar
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS2	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
CA3	GGTTTGGAAAGACGGTAG
CA4	AGTTTGAAGATATACGTGGTAG
ITS2D	GAGAACCAAGAGATCCGTTGTTG

Multiplex PCR Kiti ve PCR Koşulları: Primerler ve örnek DNA hazır reaksiyon tüplerine eklendi, PCR Grade water ile son örnek hacmi 20 µl’ye tamamlanarak çalışıldı. Hazırlanan mikslerin ExiSpin Vortex-Mixer cihazı ile homojenliği sağlandıktan sonra 0,2 ml’lik PCR tüpleri içerisinde Turboykler PCR (Blue-Ray, Taiwan) thermal-cycler cihazına yerleştirildi. Her primerin uygun annealing sıcaklıkları da protokole uygulanarak PCR çalışmaları tamamlandı.

Agaroz Jel Elektroforezi ve Basamakları:

Agaroz Jel Hazırlanması: 100-2500 bp arasında bulunan DNA için % 2’lik jel hazırlanır; 50 mL 1x TAE erlene koyulup, üzerine 1,5 g agaroz eklendi.

Tablo 8. Lineer DNA Moleküllerinin Ayrımı İçin Tavsiye Edilen Agaroz Jel Konsantrasyonu

Agaroz (%)	DNA büyüklük aralığı (bp)
0,75	10.000-15.000
1,00	500-10.000
1,25	300-5000
1,5	200-4000
2,00	100-2500
2,5	50-1000

Jel Görüntüleme ve Değerlendirme:

***C. glabrata*:** ITS1+ITS2+ITS2D primerleri ile multiplex çalışma yapıp jelde yürütüldü, 482–483 ve 462–463 bant aralığında 2 adet bant vermesi beklendi.

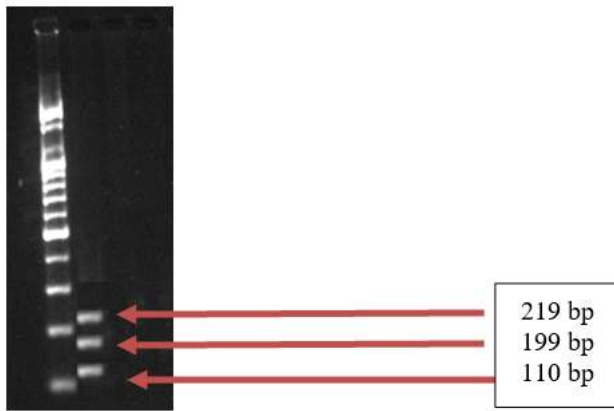
***C. parapilosis*:** ITS1+ITS2+ITS2D primerleri ile multiplex çalışma yapıp jelde yürütüldü, 229 ve 209 bant aralığında 2 adet bant vermesi beklendi.

***C. tropicalis*:** ITS1+ITS2+ITS2D primerleri ile multiplex çalışma yapıp jelde yürütüldü, 218 ve 199 bant aralığında 2 adet bant vermesi beklendi.

***C. albicans*:** ITS1+ITS2+ITS2D+CA3+CA4 primerleri ile multiplex çalışma yapıp jelde yürütüldü, 218-219, 198-199 ve 110 bant aralığında 3 adet bant vermesi beklendi.

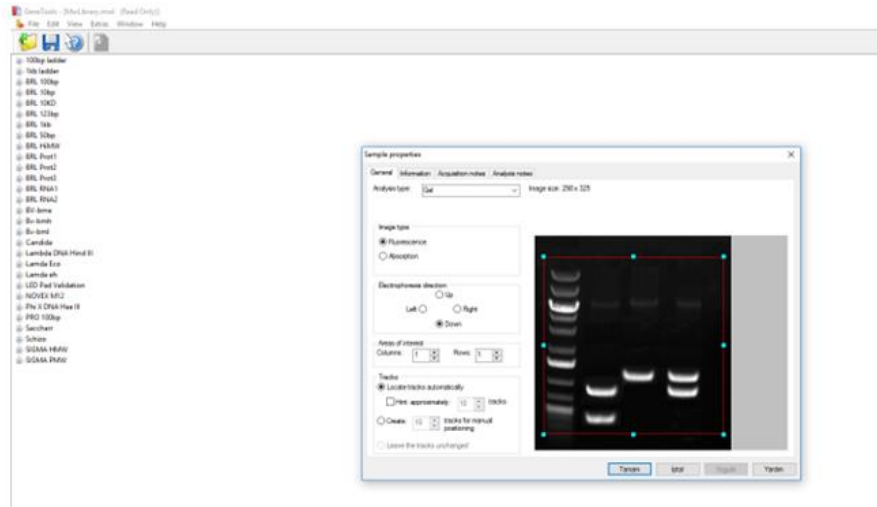
***C. krusei*:** ITS1+ITS2+ITS2D primerleri ile multiplex çalışma yapıp jelde yürütüldü, 182 ve 166 bant aralığında 2 adet bant vermesi beklendi.

***C. dubliniensis*:** ITS1+ ITS2D primerleri ile multiplex çalışma yapıp jelde yürütüldü, 198 bant aralığında 1 adet bant vermesi beklendi.

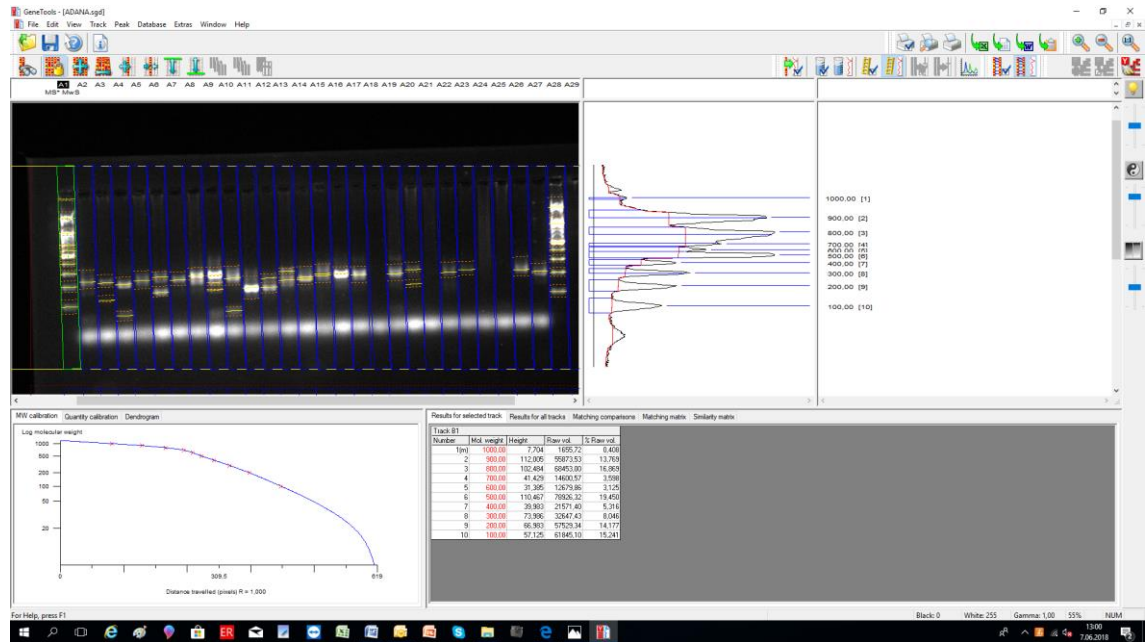


Şekil 4. *C. albicans* İçin Yürütme Sonrası 218-219, 198-199 Ve 110 Bant Aralığında 3 Adet Bant Veren Örnek Görüntüsü

Genetools (Syngene, Cambridge, USA) yazılımında analiz türüne göre seçilen jel görüntüsünü otomatik veya beklediğiniz kolon sayısını belirleyerek, yazılım otomatik olarak line'ları bulur ve bantlar belirlenir. Line'lar belirlendikten sonra DNA'lar arası kıyaslama yapabilmek ve bant verdiği bölgeleri belirlemek için öncelikle kullanılan DNA Ladder bilgileri bulunduğu kuyucukta işaretlenir. Daha sonra ladder baz alınarak, yürüyen diğer DNA'ların bant verdiği değerler belirlenir. Bu verilere göre otomatik moleküler ağırlık hesaplanır.



Şekil 5. DNA Ladder Kullanarak 'Moleküler Ağırlık' Hesaplama



Şekil 6. Jel Elektroferez Görüntüsünün Analiz Programında İncelenmesi

3.3. İstatistiksel Analiz

Hastaların demografik verileri, risk faktörleri, altta yatan klinik durumları, hesaplanan skorlar ile kan kültürü ve Candida multiplex ve Candida real-time PCR testlerinin sonuçlarının analizi SPSS versiyon 20.0 paket program ile yapılmıştır. Grupların karşılaştırılmasında bağımsız değişken t-testi, korelasyon analizi ve ki kare testi kullanılmıştır. Veriler ortalama (ort) $\pm$ standart sapma (ss), sayı (n) ve yüzde (%) olarak gösterilmiştir. $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 90 hastanın 46'sı (% 51,1) Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ünitesi, 44'ü (% 49,9) Genel Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi'nde değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan hastaların cinsiyete göre hasta sayısı ve yaş ortalaması tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Çalışmaya Alınan Hastaların Cinsiyete Göre Sayısı ve Yaş Ortalaması

Cinsiyet	Hasta Sayısı ve Yüzdesi	Yaş Ortalaması (±SS)
Kadın	41 (%45,5)	59,6 (±19,1)
Erkek	49 (%55,5)	56,8 (±17,9)
Toplam	90	58,1 (±18,4)

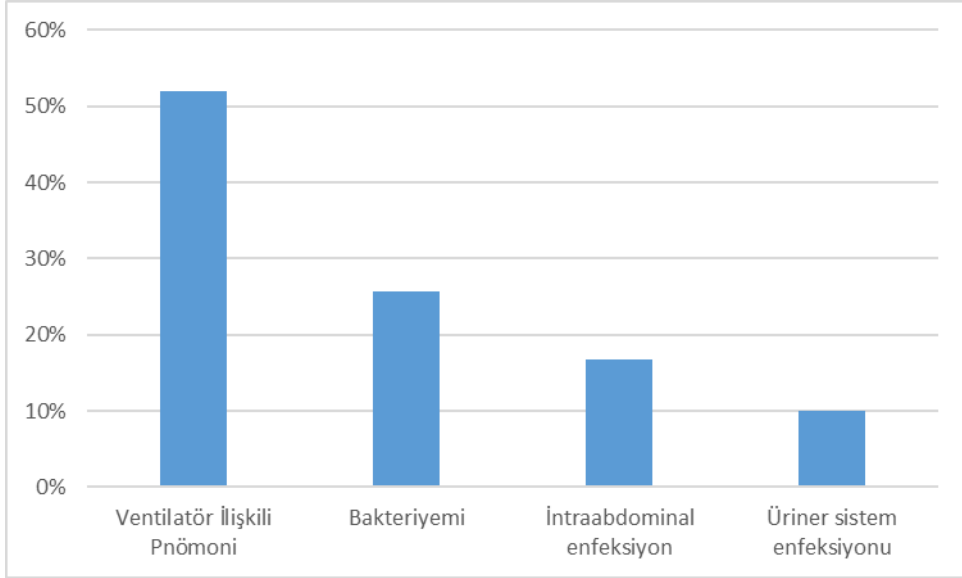
SS: Standart Sapma

Çalışmaya dahil edilen hastaların tanıları tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Çalışmaya Alınan Hastaların Tanıları

Tanı	Hasta sayısı (n)	Yüzde (%)
Malignite	41	45,5
Sepsis	57	63,3
Genel durum bozukluğu	13	14,4
Geçirilmiş cerrahi	64	71,1

Çalışmaya dahil edilen hastalarda 47 hastada (% 52,2) ventilatör ilişkili pnömoni (VİP), 23 hastada (% 25,6) bakteriyemi, 16 hastada (% 17,8) intraabdominal enfeksiyon, 9 hastada (% 10) üriner sistem enfeksiyonu vardı. Enfekte olan hastaların dağılımı şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7. Enfekte Olan Hastaların Dağılımı

Çalışmaya alınan hastaların komorbiditeleri tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Komorbiditeler

Komorbiditeler	Hasta Sayısı (n)	Yüzde (%)
HT	37	41,1
DM	23	25,6
Kalp Hastalığı	21	23,3
AC Hastalığı	15	16,7
ABY	15	16,7
KBH	7	7,7
Malignite öyküsü	41	45,5
Kronik KC Hastalığı	7	7,8

ABY: Akut Böbrek Yetmezliği, AC: Akciğer, DM: Diabetes Mellitus, HT: Hipertansiyon, KBH: Kronik Böbrek Hastalığı, KC: Karaciğer

Çalışmaya dahil edilen hastalarda kandidemi açısından en sık görülen risk faktörleri üriner kateterizasyon (% 93,3), son 3 ay içinde hastaneye yatış öyküsü (% 87,8) ve bir haftadan uzun süreli ab kullanımı (% 85,6) olarak belirlendi. Risk faktörlerine sahip hastaların sayısı ve yüzdesi tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. Risk Faktörleri

Risk Faktörleri	Hasta Sayısı (n)	Yüzde (%)
Multipl kandida kolonizasyonu	4	4,4
Malignite öyküsü	41	45,5
Sepsis	57	63,3
Cerrahi operasyon geçirme	64	71,1
Son 3 ay içinde hastaneye yatış öyküsü	79	87,8
Transplantasyon	2	2,2
İmmüsupresif İlaç Kullanımı	16	17,8
Bir haftadan uzun süreli ab kullanımı	77	85,6
Total parenteral nütrisyon	37	41,1
Santral venöz kateter	63	70
Üriner kateterizasyon	84	93,3
Dekübit veya açık yara varlığı	12	13,3
Mekanik ventilasyon	32	35,6
Endotrakeal entübasyon	23	25,5
Böbrek yetmezliği	16	17,8

Ab: Antibiyotik

Risk faktörleri ve Candida PCR arasındaki ilişki tablo 13’de gösterilmiştir.

Tablo 13. Risk Faktörleri ve PCR Arasındaki İlişki

RİSK FAKTÖRLERİ	Candida PCR pozitif (n)	Candida PCR negatif (n)	Odds Ratio (% 95 GA)	p Değeri
<u>Total Parenteral Nütrisyon</u>				
Var	11 (%29,7)	26 (%70,3)	3,31 (1,09-9,99)	0,028
Yok	6 (%11,3)	47 (%88,7)		
<u>Son 3 Ay İçinde Cerrahi Geçirme</u>				
Var	16 (%28)	41 (%72)	12,48(1,57-99,21)	0,003
Yok	1 (%3)	32 (%97)		
<u>Cinsiyet</u>				
Erkek	8 (%16,3)	41 (%83,7)	1,44 (0,5-4,15)	0,497
Kadın	9 (21,9)	32 (%78,1)		
<u>Mekanik Ventilasyon</u>				
Var	4 (%12,5)	28 (%87,5)	0,49 (0,14-1,66)	0,250
Yok	13 (%22,4)	45 (%77,6)		
<u>Bir Haftadan Uzun Süre Antibiyotik Alma</u>				
Var	15 (%19,5)	62 (%80,5)	1,33 (0,26-6,64)	1,0
Yok	2 (%15,4)	11 (%84,6)		

GA: Güven Aralığı

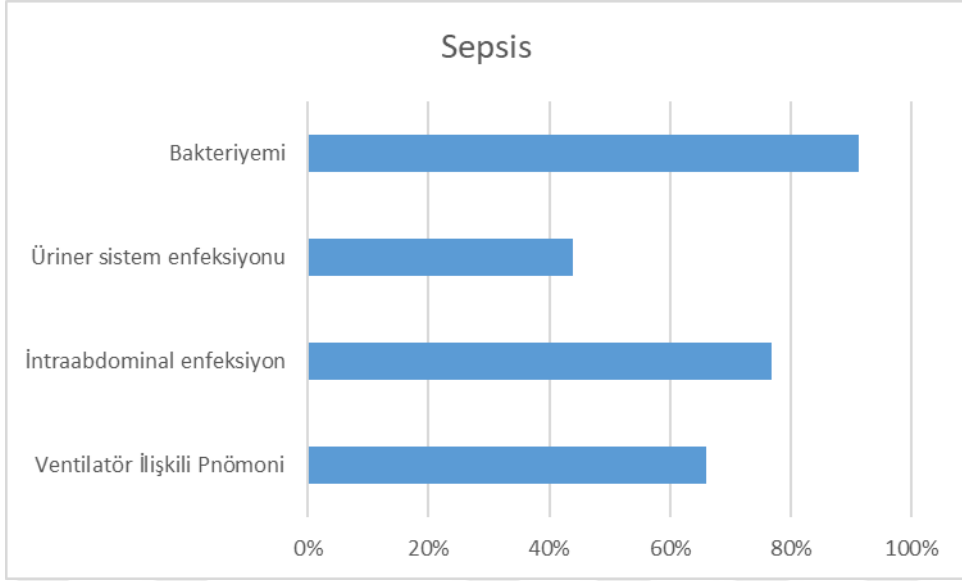
Tablo 13. Risk Faktörleri ve PCR Arasındaki İlişki (Devamı)

RİSK FAKTÖRLERİ	Candida PCR pozitif (n)	Candida PCR negatif (n)	Odds Ratio (% 95 GA)	p Değeri
<u>İmmunsupresif İlaç Kullanma</u> Var Yok	4 (% 25) 13 (% 17,6)	12 (% 75) 61 (% 82,4)	1,56 (0,43-5,62)	0,492
<u>Multipl Candida Kolonizasyonu</u> Var Yok	0 17 (% 19,8)	4 (% 100) 69 (% 80,2)	-	0,323
<u>Malignite</u> Var Yok	12 (% 29,3) 5 (% 10,2)	29 (% 70,7) 44 (% 89,8)	3,64 (1,16-11,42)	0,021
<u>Sepsis</u> Var Yok	12 (% 21) 5 (% 15,1)	45 (% 79) 28 (% 84,9)	1,49 (0,47-4,69)	0,491
<u>Santral Venöz Kateter</u> Var Yok	10 (% 15,9) 7 (% 25,9)	53 (% 84,1) 20 (% 74,1)	0,53 (0,18-1,61)	0,264
<u>Üriner Kateterizasyon</u> Var Yok	16 (% 19) 1 (% 16,7)	68 (% 81) 5 (% 83,3)	1,17 (0,12-10,77)	1,0
<u>Akut Böbrek Yetmezliği</u> Var Yok	0 17 (% 23)	16 (% 100) 57 (% 77)	-	0,035
<u>Son 3 Ay İçinde Hastaneye Yatış Öyküsü</u> Var Yok	14 (% 17,7) 3 (% 27,3)	65 (% 82,3) 8 (% 72,7)	0,57 (0,13-2,44)	0,429
<u>Dekübit veya Açık Yara Varlığı</u> Var Yok	1 (% 8,3) 16 (% 20,5)	11 (% 91,7) 62 (% 79,5)	0,35 (0,04-2,93)	0,450

GA: Güven Aralığı

TPN ile beslenen ($p=0,028$), akut böbrek yetmezliği olan ($p=0,035$), malignitesi olan ($p=0,021$) ve son 3 ay içinde cerrahi geçirme öyküsü olan ($p=0,003$) hastalarda Candida PCR pozitifliği olmayanlara göre anlamlı derecede yüksekti.

Sepsisi olan 57 hastanın 39'unda (% 68,4) cerrahi geçirme öyküsü, 27'sinde (% 47,4) malignite öyküsü vardı. Eşlik eden enfeksiyonları olan hastalarda gelişen sepsis oranları şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8. Eşlik Eden Enfeksiyonlar ile Sepsis Oranları

Eşlik eden enfeksiyonlar ile sepsis arasındaki ilişkiye baktığımızda; bakteriyemisi olan hastalarda sepsis oranı anlamlı derecede yüksekti ($p=0,001$). VİP ($p=0,589$), üriner sistem enfeksiyonu ($p=0,279$) ve intraabdominal enfeksiyon ile sepsis arasında ($p=0,379$) ise anlamlı ilişki bulunamadı.

Eşlik eden enfeksiyonların mortalite ile ilişkisi; VİP ($p=0,064$), intraabdominal enfeksiyon ($p=0,717$), üriner sistem enfeksiyonu ($p=0,720$) ve bakteriyemide ($p=0,472$) anlamlı bulunmadı.

Eşlik eden enfeksiyonu; VİP olan hastalarda ($p=0,009$), bakteriyemisi olan hastalarda ($p=0,036$) ve intraabdominal enfeksiyonu olan hastalarda ($p=0,003$) olmayanlara göre kandida kolonizasyonu oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti.

Eşlik eden üriner sistem enfeksiyonu olan hastalarda ($p=0,160$) ve sepsisi olan hastalarda olmayanlara göre kandida kolonizasyonu oranında fark saptanmadı ($p=0,392$).

Eşlik eden enfeksiyonu VİP olan hastalarda Candida PCR pozitifliği anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,037$). Eşlik eden enfeksiyonlarda Candida PCR pozitifliği oranları ve olmayanlara göre istatistiksel olarak fark olup olmadığı tablo 14’de gösterilmiştir.

Tablo 14. Eşlik Eden Enfeksiyonlarda Candida PCR Pozitifliği Oranı

Eşlik Eden Enfeksiyonlar (n)	PCR Pozitif Hasta Sayısı (n)	PCR Pozitif Hasta Yüzdesi (%)	<i>p</i> değeri
Ventilatör İlişkili Pnömoni (n=47)	5	11,5	0,037
İntraabdominal enfeksiyon (n=16)	2	26,7	0,064
Bakteriyemi (n=23)	3	13	0,544
Üriner Sistem enfeksiyonu (n=9)	16	19	0,199

Çalışmaya alınan hastaların cinsiyete göre kandida kolonizasyonları tablo 15’de gösterilmiştir.

Tablo 15. Hastaların Kandida Kolonizasyonu Oranları

Cinsiyet	Tek Bölgede Kandida Kolonizasyonu Olan Hasta Sayısı ve Yüzdesi	Multipl Kandida Kolonizasyonu Olan Hasta Sayısı ve Yüzdesi
Kadın	17 (% 18,9)	3 (% 3,3)
Erkek	17 (% 18,9)	1 (% 1,1)
Toplam	34 (% 37,8)	4 (% 4,4)

Yaş ($p=0,929$) ve cinsiyet ($p=0,249$) ile kandida kolonizasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.

Hastaların pozitif kandida kolonizasyon bölgeleri ve sayıları tablo 16’da gösterilmiştir.

Tablo 16. Kandida Kolonizasyon Pozitif Bölge ve Hasta Sayısı

Kandida Kolonizasyon Bölgesi	Pozitif Kolonizasyon Olan Hasta Sayısı
İdrar	34 (% 89,5)
Trakea	5 (% 13,1)
Perine	3 (% 7,9)
Aksilla	0

Kandida kolonizasyonunun en fazla idrarda (% 89,5) sonra trakea (% 13,1) ve perinede (% 7,9) olduğu görüldü. Aksillada kandida kolonizasyonuna rastlanmadı.

Kandidemi için risk faktörlerinin kandida kolonizasyonu ile arasındaki istatistiksel ilişkiye baktığımızda; son 3 ay içinde cerrahi geçirme öyküsü olan hastalarda ($p=0,025$) (son 3 ay içinde abdominal cerrahi geçirme öyküsü olan hastalarda ($p=0,002$)), TPN ile beslenen hastalarda kandida kolonizasyon oranı anlamlı derecede yüksekti ($p=0,015$).

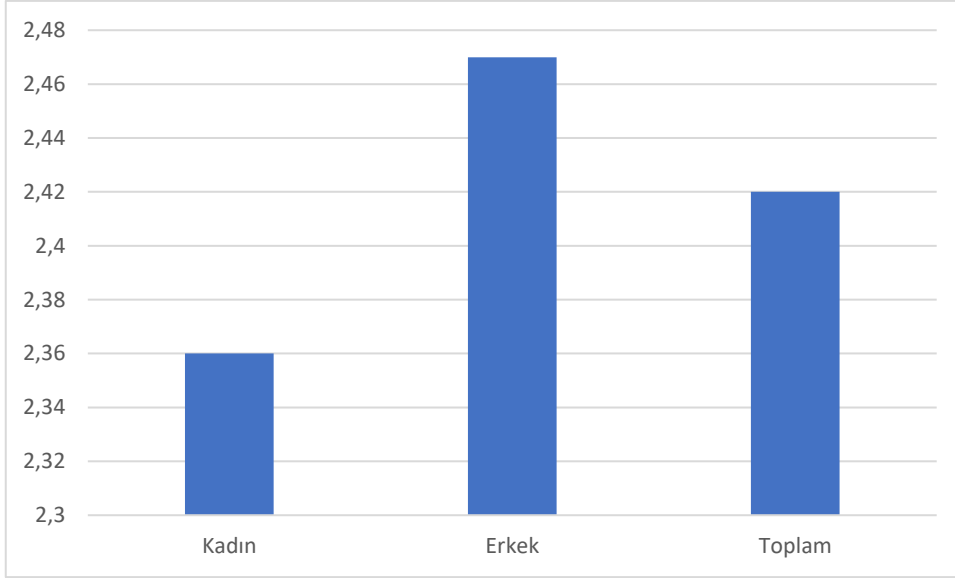
Son 3 ay içinde yatış öyküsü olanlarda ($p=0,192$), malignensi öyküsü olanlarda ($p=0,322$), immunsupresif tedavi alanlarda ($p=0,673$), bir haftadan uzun süreli antibiyotik kullananlarda ($p=0,767$), santral venöz kateteri olan hastalarda ($p=0,852$), üriner kateterizasyonu olanlarda ($p=0,694$), dekübit veya açık yara varlığı olan hastalarda ($p=0,066$), mekanik ventilasyon ile takip edilen hastalarda ($p=0,507$) ve ABY'si olan hastalarda olmayanlara göre ($p=0,210$) kandida kolonizasyonu açısından anlamlı bir fark yoktu.

Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı'na göre antifungal başlanması gereken hastalarda kandida kolonizasyon oranında anlamlı derecede fark saptandı ($p=0,035$).

Kandida kolonizasyonu olan hastalar ($p=0,679$) ile KİK 0,5 olan hastalarda ($p=1,00$) olmayanlara göre ölüm oranı arasında fark saptanmadı.

Hastaların kandida skorları total parenteral nütrisyon (1 puan), multifokal kandida kolonizasyonu (1 puan), cerrahi öyküsü (1 puan) ve sepsis (2 puan) olacak şekilde hesaplandı. Kandida skoru 3 ve daha fazla olan 45 hasta (% 50) vardı.

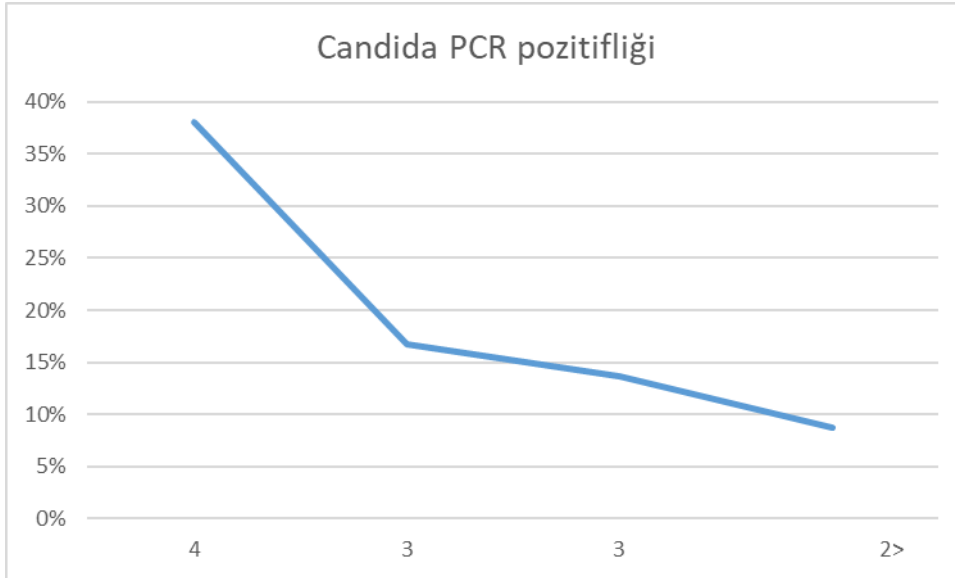
Çalışmaya alınan hastaların cinsiyete göre ve ortalama kandida skorları şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Ortalama Kandida Skorları

Cinsiyet ile kandida skoru arasında anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,688$). Ancak yaş ile kandida skoru arasındaki ilişki anlamlı bulundu ($p=0,037$).

Hastaların kandida skorlarına göre Candida PCR pozitiflik oranları şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Kandida Skoru-PCR Pozitiflik Oranı

Çalışmaya dahil edilen hastaların hesaplanan kandida skoru, Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı ve KKİ'nin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri tablo 17'de gösterilmiştir.

Tablo 17. Kandida Skoru, Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı ve KKİ'nin Duyarlılık, Özgüllük, Pozitif ve Negatif Prediktif Değerleri

Kandida Skoru Cut-off Değeri	Duyarlılık	Özgüllük	PPD	NPD
KS ≥ 2	% 88,2	% 28,7	% 22,3	% 91,3
KS ≥ 3	% 70,5	% 54,7	% 26,6	% 88,8
OKPK	% 41,1	% 83,5	% 36,8	% 85,9
KKİ $\geq 0,5$	% 2,86	% 75,0	% 28,5	% 18,0

KS: Kandida skoru, OKPK: Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı, KKİ: Kandida Kolonizasyon indeksi, PPD: Pozitif Prediktif Değer, NPD: Negatif Prediktif Değer

Çalışmaya alınan 41 kadın hastanın 9'unda (% 22) Candida PCR pozitifliği, 49 erkek hastanın ise 8'inde (% 16,3) Candida PCR pozitifliği mevcuttu. Candida PCR pozitifliği olanlar ve olmayanlar arasında yaş ($p=0,708$) ve cinsiyet ($p=0,497$) ile ilişki istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

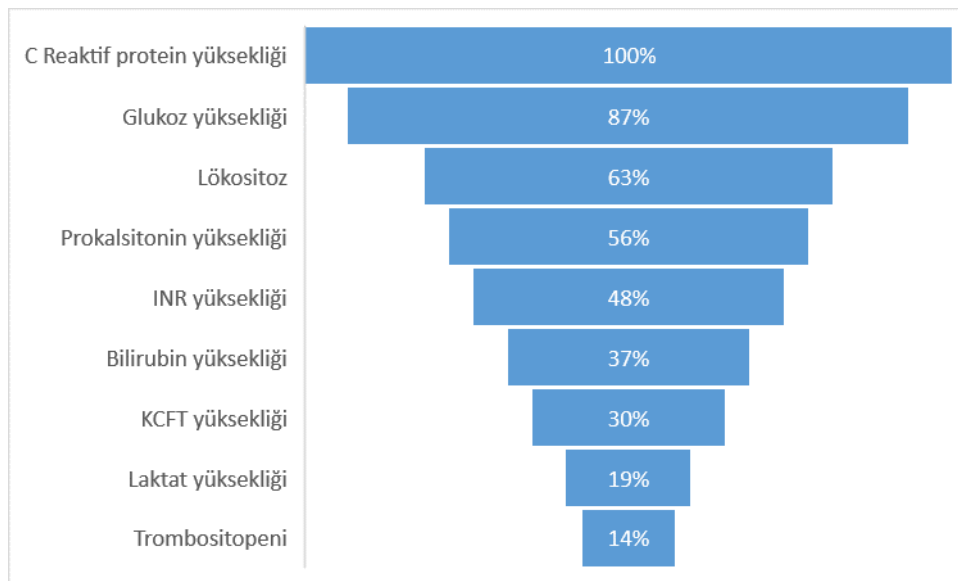
Kan kültüründe kandida üremesi olan üç hastanın kandida skorları 4'tü. Üç hastanın ikisi kadın, biri erkekti. Kadınlarda kan kültüründe kandida pozitifliği oranı % 4,9, erkeklerde % 2,0'dı.

Hastaların aldıkları intravenöz antibiyoterapi türleri, alan hasta sayısı ve yüzdeleri tablo 18'de gösterilmiştir.

Tablo 18. Kullanılan Antibiyotiklerin Dağılımı

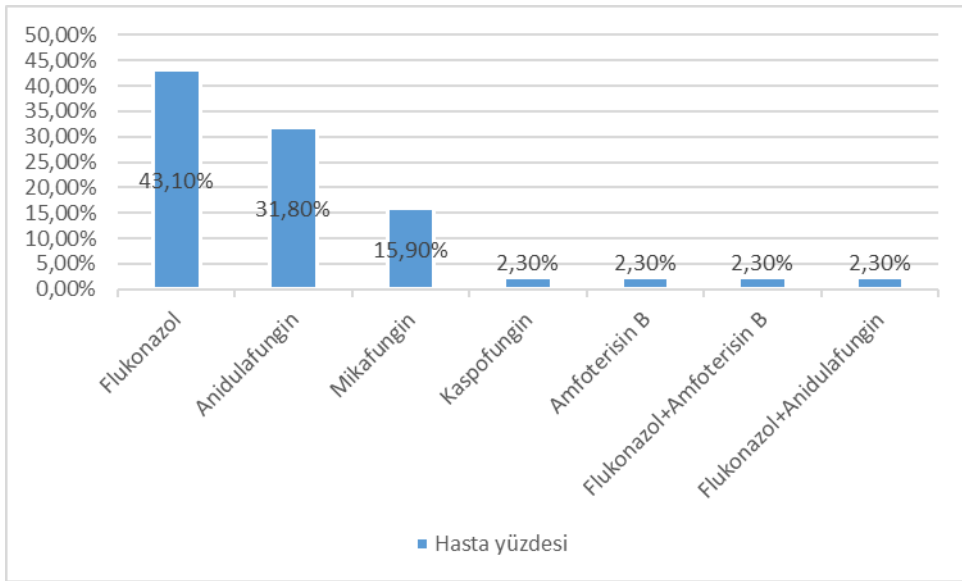
Kullanılan antibiyotikler	Hasta sayısı (n)	Yüzde (%)
Meropenem	33	42,8
Tigesiklin	19	24,6
Seftriakson	16	20,7
Piperasilin-tazobaktam	12	15,6
Colymicin	12	15,6
İmipenem	10	13,0
Metronidazol	7	9,0
Ornidazol	7	9,0
Sefazolin	5	6,5
Ertapenem	4	5,2
Ampisilin-sulbaktam	4	5,2
Linezolid	4	5,2
Amikasin	4	5,2
Daptomisin	4	5,2
Vankomisin	3	3,9
Teikoplanin	2	2,6
Klaritromisin	1	1,3
Moksifloksasin	1	1,3

Anormal laboratuvar değerlerine sahip hasta yüzdeleri şekil 11’de gösterilmiştir.

**Şekil 11. Hastaların Laboratuvar Değerleri**

Prokalsitonin yüksekliği olanlarda olmayanlara göre PCR pozitifliği arasında fark saptanmadı ($p=0,458$). Ancak prokalsitonin yüksekliği olanlarda olmayanlara göre sepsis açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p<0,005$). Ayrıca hastaların 13'ünde (% 14,4) 37,8°C'yi geçen ateş mevcuttu.

Hasta değerlendirildikten sonra antifungal başlanma oranı % 48,9 (44 hasta)'du. 44 antifungal başlanan hastada hastanın değerlendirildiği tarih ile antifungal başlama süresi arasındaki fark ortalama 3 gün olarak bulundu. Başlanan antifungal türleri ve yüzdeleri şekil 12'de gösterilmiştir.



şekil 12. Antifungal Tedavi Dağılımı

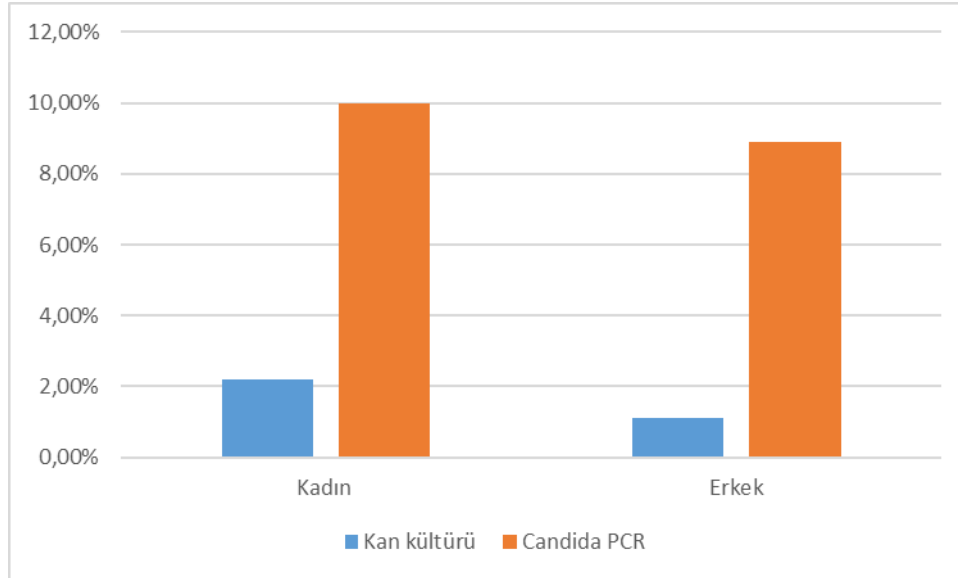
Antifungal tedavi başlanan hastalarda ölüm oranları tablo 19'da gösterilmiştir.

Tablo 19. Antifungal Tedavi Başlanan Hastalarda Ölüm Oranları

Antifungal Türü	Kullanan Hasta sayısı	Ex Olan Hasta Sayısı/Yüzdesi	Düzelen Hasta Sayısı/Yüzdesi
Flukonazol	19	12 (% 63,1)	7 (% 36,9)
Mikafungin	7	6 (% 85,7)	1 (% 14,3)
Anidulafungin	14	11 (% 78,5)	3 (% 21,5)
Kaspofungin	1	1 (% 100)	0
Amfoterisin B	1	1 (% 100)	0
Flukonazol+Amfoterisin B	1	1 (% 100)	0
Flukonazol+Anidulafungin	1	1 (% 100)	0

Ortalama antifungal kullanma süresi 13,3 ($\pm 7,4$) gündü. Antifungal alan 44 hastanın 33'ü (% 75) öldü.

Çalışmaya alınan kandidemi riski yüksek hastalarda kan kültüründe kandida üremesi olan ve Candida PCR sonucu pozitif olan hasta yüzdeleri ve cinsiyete göre dağılımı şekil 13'de gösterilmiştir.



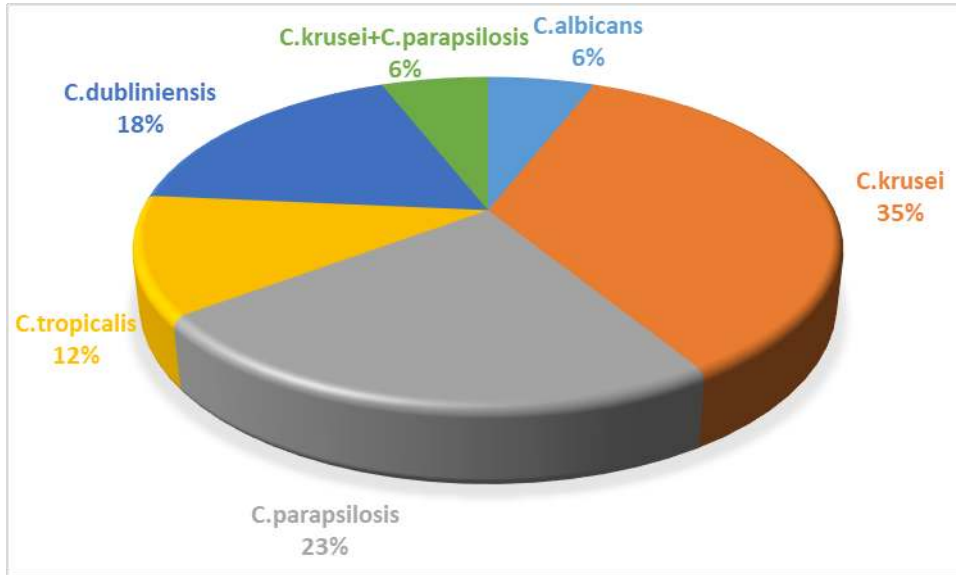
Şekil 13. Hastalarda Cinsiyete Göre Kan Kültürü ve Candida PCR Pozitiflik Oranları

Kan kültüründe kandida üremesi olan 3 hastanın tespit edilen kandida türleri ile Candida PCR testinde bulunan kandida türleri uyumluydu. Çalışmaya alınan 90 hastanın

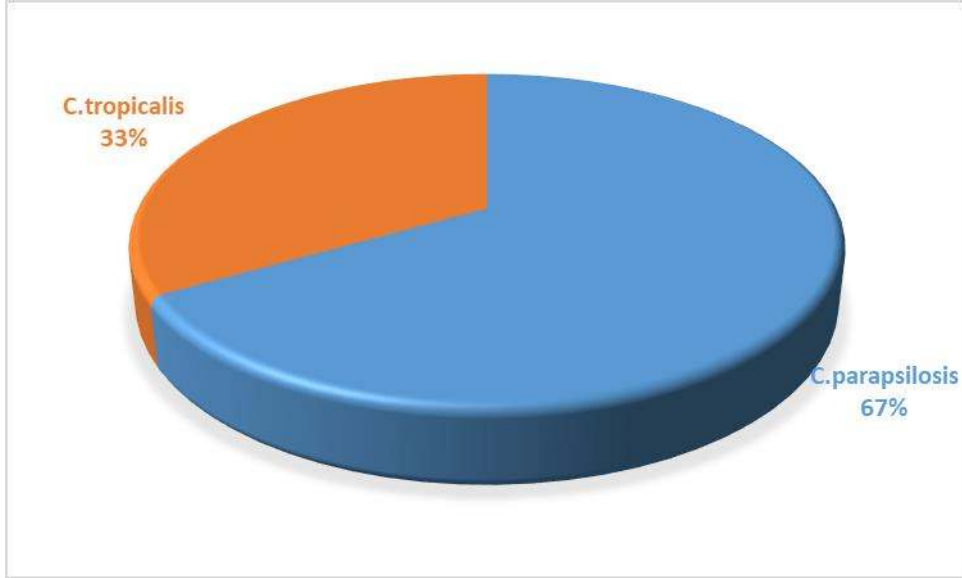
3'ünde kan kültüründe kandida üremesi olurken (ikisi kadın, biri erkek), Candida PCR'da pozitiflik tespit edilen 17 hasta (9 kadın hasta, 8 erkek hasta) vardı. Kan kültürü ve Candida PCR'da kandida tespit edilen hastalarda kandida türlerinin dağılımı tablo 20, şekil 14 ve 15'de gösterilmiştir.

Tablo 20. Kan Kültürü ve Candida PCR'da Tespit Edilen Kandida Tür Dağılımı

Türler	Kan kültürü	Candida PCR
<i>C. albicans</i>	0	1 (% 5,9)
<i>C. krusei</i>	0	6 (% 35,3)
<i>C. parapsilosis</i>	2 (% 66,7)	4 (% 23,5)
<i>C. tropicalis</i>	1 (% 33,3)	2 (% 11,7)
<i>C. dubliniensis</i>	0	3 (% 17,6)
<i>C. glabrata</i>	0	0
<i>C. krusei+C. parapsilosis</i>	0	1 (% 5,9)
Toplam	3 hasta (% 3,3)	17 hasta (% 18,9)



Şekil 14. Candida PCR'da Tespit Edilen Kandida Tür Dağılımı



Şekil 15. Kan Kültüründe Tespit Edilen Kandida Tür Dağılımı

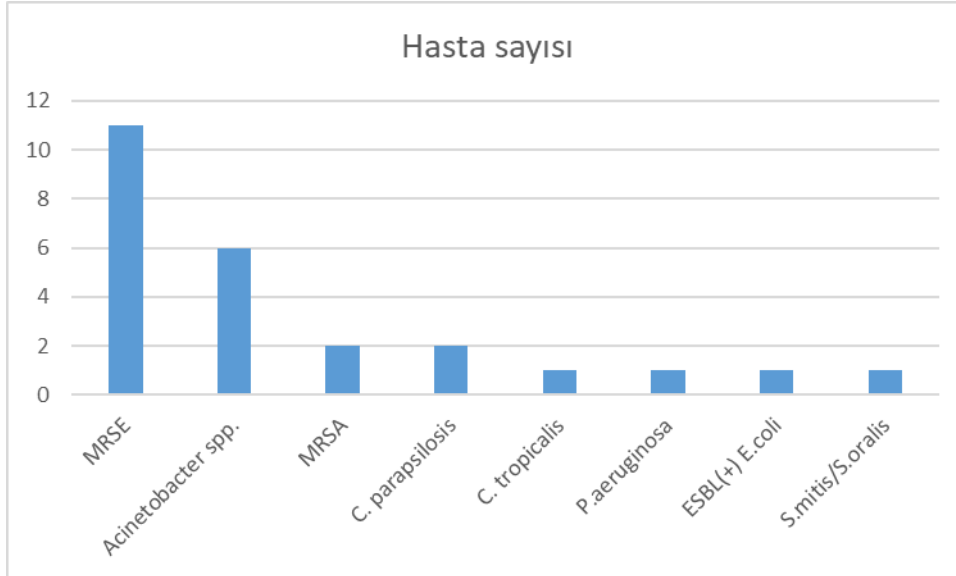
Çalışmaya alınan 90 hastanın ortalama APACHE 2 skoru $21,1 (\pm 7,5)$ 'di. PCR pozitif olan 17 hastanın APACHE 2 skoru ortalaması $17,8 (\pm 4,4)$, kan kültüründe kandida üremesi olan 3 hastanın ortalama APACHE 2 skoru $19 (\pm 1,7)$ 'du. Candida PCR pozitif hastalar ile PCR negatif hastalar arasındaki APACHE 2 skoru farkı anlamlı bulundu ($p=0,006$).

Ölen hastaların ortalama APACHE 2 skoru $23,2 (\pm 7,9)$, yaşayanların ise $17,4 (\pm 5,1)$ 'dü. Ölen hastalar ile yaşayanlar arasında APACHE 2 skoru farkı anlamlı bulundu ($p<0,005$).

APACHE 2 skoru 20 puandan fazla olan hasta sayısı 39 (% 43,3)'du. APACHE 2 skoru 20 puandan fazla olan 39 hastadan 5'inde (% 12,8) Candida PCR pozitifliği mevcuttu. APACHE 2 skorunun 20'nin üstünde olması ile Candida PCR pozitifliği ($p=0,178$), sepsis ($p=0,274$), kandida skorunun 3'ün üstünde olması ($p=0,833$), kandida kolonizasyon indeksinin 0,5'in üstünde olması ($p=0,434$), Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı'na göre antifungal başlanması gereken hastalar arasında ($p=0,438$) istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmadı. APACHE 2 skoru 20 puandan fazla olan hastalarda ölüm oranı olmayanlara göre istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p=0,049$).

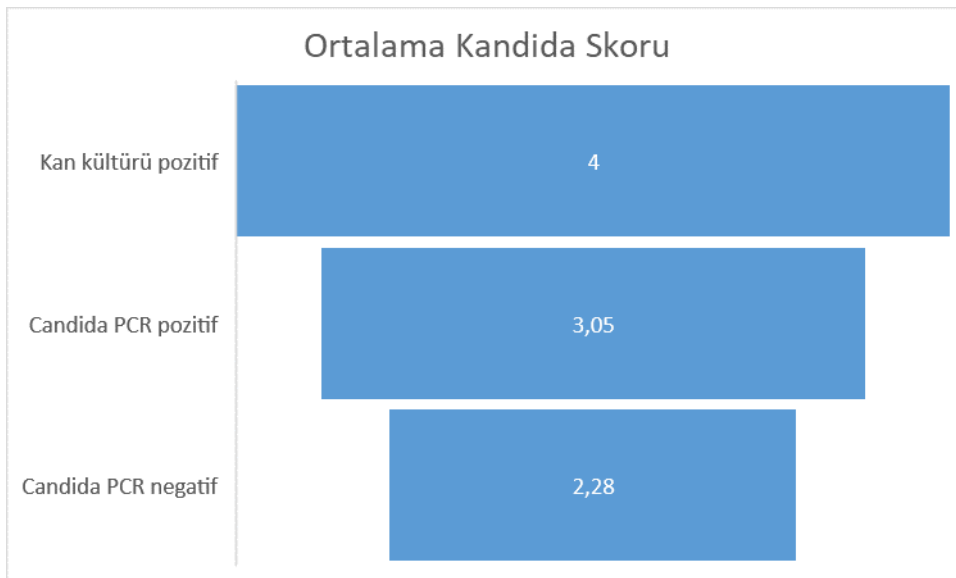
Kan kültüründe anlamlı üremesi olan 25 hastanın 11'inde (% 44) Metisiline dirençli *Staphylococcus epidermidis*, 6'sında (% 24) *Acinetobacter spp*, 2'sinde (%8) *C. parapsilosis*, 2'sinde (% 8) Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*, 1'inde (%4) *C. tropicalis*, 1'inde (% 4) *P. aeruginosa*, 1'inde (% 4) ESBL(+) *E. coli*, 1'inde (% 4)

S.mitis/S.oralis tespit edildi. Kan kültüründe üremesi olan hastalarda mikroorganizma dağılımı şekil 16’da gösterilmiştir.



Şekil 16. Kan Kültüründe Üremesi Olan Hastalarda Mikroorganizma Dağılımı

Kan kültürü, Candida PCR pozitifliği ve PCR negatifliği olan hastalarda ortalama kandida skorları şekil 17’de gösterilmiştir.



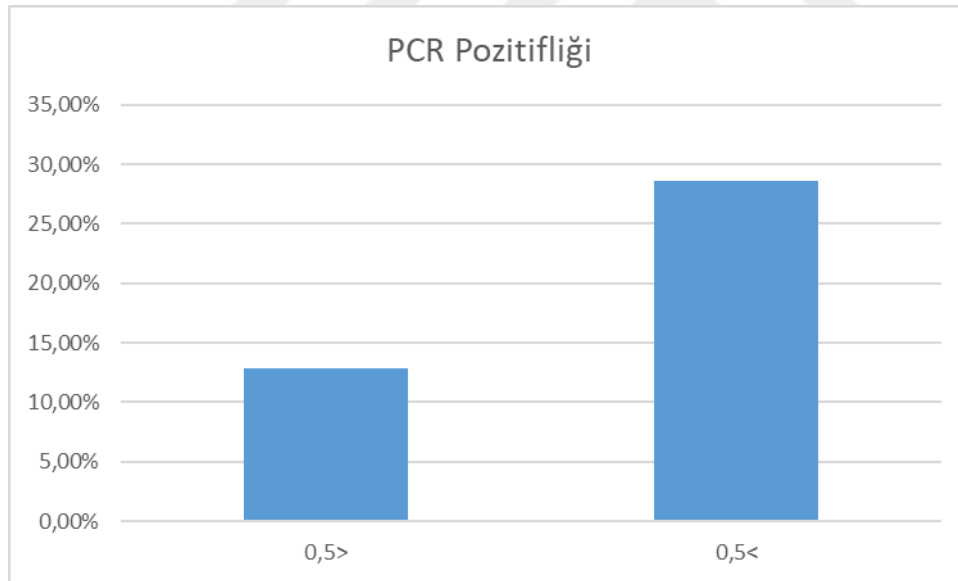
Şekil 17. Kan Kültürü ve Candida PCR Pozitifliği ve Negatifliği Olanlarda Ortalama Kandida Skorları

Candida PCR pozitif olanlar ile PCR negatif olan hastalar karşılaştırıldığında kandida skoru arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,015$).

Tek bölgede kandida kolonizasyonu olanlar ($p=0,521$) ile multipl bölgede kandida kolonizasyonu olanlarda ($p=0,323$) Candida PCR pozitifliğinde fark saptanmadı.

Kandida kolonizasyonu saptanan 38 hastanın hepsinde kandida kolonizasyon indeksi (KKİ) $\geq 0,2$ (fungal kolonizasyon) olarak saptandı. 38 hastanın 7'sinde (% 18,4) ise KKİ 0,5 (yoğun kolonizasyon) olarak bulundu. Kandida kolonizasyonu bulunan 38 hastanın 6'sında (% 15,8) PCR pozitifliği vardı.

Kandida kolonizasyon indeksi 0,5 (yoğun fungal kolonizasyon) olanlarda KKİ'si $<0,5$ olanlara göre Candida PCR pozitifliği oranı daha yüksekti. Ancak KKİ 0,5 olanlarda olmayanlara göre Candida PCR pozitifliğinde istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ($p=0,613$). Kandida kolonizasyon indeksi 0,5'ten küçük ve 0,5'ten büyük olanlarda Candida PCR pozitiflik oranları şekil 18'de gösterilmiştir.



Şekil 18. Kandida Kolonizasyon İndeksi ile PCR Pozitiflik Oranları

Kan kültüründe kandida üremesi olan 3 hastanın birinin KKİ'si 0,5, birinin 0,33 iken diğerinin kandida kolonizasyonu mevcut değildi.

Çalışmaya alınan 90 hastanın 19'u (% 21,1) Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı'na (OKPK) göre antifungal tedavi başlanması gereken hastalardı. Bizim çalışmamızda bu 19 hastanın 9'una (% 47,4) antifungal tedavi başlanmıştı.

OKPK'ye göre antifungal tedavi başlanması gereken 19 hastanın sadece birinde (% 5,3) kan kültüründe kandida üremesi olurken, 7 hastada (% 36,9) Candida PCR pozitifliği vardı. Bu hastaların ortalama kandida skoru 3,26'ydı.

OKPK'ye göre antifungal başlanması gereken hastalar ile başlanmaması gereken hastalar arasında PCR pozitifliği açısından anlamlı fark bulundu ($p=0,043$).

OKPK'ye göre antifungal başlanması gereken hastalar ile kandida kolonizasyonu ($p=0,035$) arasında ve kandida skorunun 3 ve daha fazla olması arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p=0,020$). Aynı zamanda OKPK'ye göre antifungal başlanması gereken hastalar ile başlanmaması gereken hastalar arasındaki kandida skoru farkı da anlamlı bulundu ($p=<0,005$).

Çalışmaya alınan hastaların 57'si (% 63,3) öldü. Ölen 57 hastanın yaş ortalaması 61,4 ($\pm 15,6$)'dü. Ölen hastaların değerlendirildiği tarih ile ölmeleri arasındaki geçen süre ortalama 22,7 gündü. Ölen hastaların ortalama kandida skoru 2,51 olarak bulundu. Ölen hastalar ile yaşayanlar arasında kandida skoru farkı anlamlı bulunmadı ($p=0,375$).

Kan kültüründe kandida üremesi olan 3 hastanın 2'si (% 66,7), Candida PCR pozitifliği olan 17 hastanın 7'si (% 41,1) öldü. Candida PCR pozitifliği olanlar ve olmayanlar arasında ölüm oranı arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,035$).

Kan kültürü ve Candida PCR'da tespit edilen kandida türlerine göre mortalite oranları tablo 21'de gösterilmiştir.

Tablo 21. Kan Kültürü ve Candida PCR’da Tespit Edilen Candida Türlerinin Mortalite Oranları

Kandida Türleri	Kan Kültürü		Candida PCR	
	Kültür Pozitif	Ex Sayısı/Yüzdesi	PCR Pozitif	Ex Sayısı/Yüzdesi
<i>C. albicans</i>	0	0	1	1
<i>C. parapsilosis</i>	2	2 (% 100)	4	3 (% 75)
<i>C. tropicalis</i>	1	0	2	0
<i>C. dubliniensis</i>	0	0	3	2 (% 66,7)
<i>C. krusei</i>	0	0	6	1 (%16,7)
<i>C. glabrata</i>	0	0	0	0
<i>C. krusei+</i> <i>C. parapsilosis</i>	0	0	1	1 (%100)
Toplam	3	2 (% 66,7)	17	8 (% 47)

Kan kültüründe *C. parapsilosis* üremesi olan 2 hasta da ex olurken, *C. tropicalis* üremesi olan 1 hasta yaşamaktaydı. PCR’da *C. parapsilosis* tespit edilen 4 hastanın 3’ü (% 75), *C. dubliniensis* tespit edilen 3 hastanın 2’si (% 66), *C. krusei* tespit edilen 6 hastanın 1’i (% 16,7), *C. albicans* tespit edilen 1 hasta ex oldu. *C. tropicalis* tespit edilen 2 hasta da yaşamaktaydı. Çalışmamızda *C. parapsilosis* ve *C. albicans* en yüksek mortaliteye sahip kandida türleri, *C. tropicalis* ve *C. krusei* de en az mortaliteye neden olan kandida türleri olarak tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Yoğun bakım ünitesinde kandida enfeksiyonu sıklığı “National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS)” sisteminde % 31 oranında saptanırken, ülkemizde yapılan çalışmalarda % 5-12 oranında bildirilmiştir. Medikal tedavilerdeki gelişmelere bağlı olarak yaşam sürelerinin uzaması, daha geniş cerrahi prosedürlerin uygulanması, immünsüpresif olmayan kritik hastalarda invaziv girişim sayısının artması, hastanede kalış süresinin uzaması, immünsüpresif tedavi ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı artışın en önemli sebebidir. YBÜ’de invaziv fungal enfeksiyonların % 70-90’ından sorumlu olan etken *Candida spp*’dir. *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Rhizopus spp.* % 10-20’sinden sorumlu tutulmaktadır.⁵ YBÜ ortamında yapılan bir çalışmada kandida, kan dolaşımındaki enfeksiyonların % 10,1’ini oluştururken, yatan hasta servislerinde % 7,9’unu oluşturduğu belirtilmiştir.¹⁰⁶

Kandida türleri ABD’de kan dolaşımı enfeksiyonlarının dördüncü sıklıkta etkenidir ve nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarından % 8-10 oranında sorumludur. Kandidemiye bağlı kaba ölüm hızı % 46-75 gibi oldukça yüksek bir hızdır, bu yükseklik büyük ölçüde altta yatan hastalıkların ciddiyeti ile ilişkilidir. Kandidemiye atfedilen ölüm hızı ise, prospektif çalışmalarda % 5-7, retrospektif çalışmalarda % 10-48 arasında değişmektedir. Diğer yandan, kandidemi hastanede yatış süresinin 3,5-30 gün uzamasına yol açmakta, 6,214-92,226 dolar ek maliyete yol açmaktadır.¹⁰⁷

Kandidaların kan dolaşımına ulaşmaları başlıca; gastrointestinal kanal mukozasından, damar içi kateterler yoluyla, pyelonefrit gibi lokalize enfeksiyon kaynağından olmaktadır. Hem YBÜ’de yatan hastalarda hem de nütropenik hastalarda kandidanın kan dolaşımına en fazla geçiş yolunun gastrointestinal kanaldan penetrasyonla olduğu kabul edilmektedir. Bunun nedeni, kandidaların bağırsak florasının normal üyesi olması, geniş etkili antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle aşırı çoğalabilmesi, çeşitli tedavilerle gastrointestinal kanal mukozasının zedelenmesiyle kan dolaşımına geçişlerinin kolay olmasıdır. Özellikle SVK’li hastalarda, kandidanın damar içi katater yüzeyinde kolonizasyonu ve bu yolla kan dolaşımına ulaşması önemli bir geçiş yoludur. Yatan hastaların değişik mukoza bölgelerine kandida kolonizasyonunun, kandidemi için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.¹⁰⁷

Yapılan çalışmalarda, YBÜ’de kandida kolonizasyon oranının % 50-100 olduğu ve kolonize hastaların % 3-25’inde invaziv kandida enfeksiyonunun geliştiği bildirilmektedir.¹⁰⁸ Ülkemizde yapılan bir çalışmada YBÜ’de yatan 100 hastanın 42’sinde (% 42) kandida kolonizasyonu belirlenmiş, 42 hastanın 9’unda (% 21,4) invaziv kandida enfeksiyonunun ortaya çıktığı belirtilmiştir.¹⁰⁹ Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer şekilde 90 hastanın 38’inde (% 42,2) kandida kolonizasyonu bulunmuş olup, bu hastaların 6’sında (% 15,8) Candida PCR pozitifliği, 2’sinde (% 5,3) kan kültüründe kandida üremesi tespit edilmiştir.

Kardiyovasküler cerrahi geçiren hastalarda yapılan bir çalışmada, kadın hastalarda kandida kolonizasyonu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.¹¹⁰ Ülkemizde yapılan bir çalışmada, YBÜ’de yatan hastalarda yaş ve cinsiyetle kandidemi arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır.¹¹¹ YBÜ’de yapılan başka bir çalışmada yapılan istatistiksel değerlendirmede, fungal kolonizasyon (KKİ >0,2) ile cinsiyet ($p=0,032$) arasında; yoğun kolonizasyon (KKİ $\geq 0,5$) ile cinsiyet ($p=0,008$) ve yaş ($p=0,012$) arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir.¹⁰⁸ Bizim çalışmamızda ise kadınlarda kandida kolonizasyon oranı % 22,2 iken, erkeklerde % 20’ydi. Cinsiyet ile kandida kolonizasyonu, KKİ’nin 0,5 olması ve kandida skoru arasında anlamlı ilişki bulunmadı. Yapılan çalışmalar, yaş ilerledikçe *Candida* spp ile kolonizasyon ve invaziv enfeksiyon riskinin arttığını göstermektedir.^{112,113} Bizim çalışmamızda ise yaş ile kandida kolonizasyonu ve kandida kolonizasyon indeksi arasında anlamlı ilişki bulunmadı. Ancak yaş ile kandida skoru arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p=0,037$). Bu sonucun çalışmaya alınan hastaların genel durum bozukluğuna, alta yatan hastalıklarına ve cerrahi geçirme oranının fazla olmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada kandida enfeksiyonu olan YBÜ hastalarında eşlik eden diğer sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlara bakılmış ve ventilatör ilişkili pnömoni % 40, bakteriyemi % 32,5, kateter ilişkili üriner sistem enfeksiyonu % 10 olarak bulunmuş.¹¹⁴ Başka bir çalışmada da kandida kolonizasyonunun daha çok bakteriyel sepsisli hastalarda ve yoğun antibiyotik tedavisi alan olgularda geliştiği saptanmıştır.¹⁰⁹ Bizim çalışmamıza dahil edilen hastalarda ventilatör ilişkili pnömoni % 50, bakteriyemi % 24, üriner sistem enfeksiyonu % 10 ve intraabdominal enfeksiyon % 16 oranında bulundu. Pnömoni ($p=0,009$), bakteriyemi ($p=0,036$) ve intraabdominal enfeksiyon ($p=0,003$) ile kandida kolonizasyonu arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı

bulundu. Üriner sistem enfeksiyonu ile kandida kolonizasyonu arasında ise ilişki saptanmadı.

Blumberg ve ark.'nın yaptığı çok merkezli olarak gerçekleştirilen ve kandidemi için risk faktörlerini belirlemeyi amaçlayan çalışmada bağımsız risk faktörleri geçirilmiş cerrahi öyküsü, akut böbrek yetmezliği, total parenteral nütrisyon olarak belirtilmiştir.¹¹⁵ Literatürde yapılmış diğer çalışmalarda, kandidemi ilişkili risk faktörleri arasında en sık olarak geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, santral kateter uygulaması, mekanik ventilasyon ve üriner kateter uygulaması yaklaşık olarak benzer oranlarda saptanmıştır.^{116,117} Ülkemizden Yapar ve ark.'nın 2010 yılında yaptıkları vaka-kontrol çalışmasında kandidemi gelişimi ile ilişkili bağımsız risk faktörleri; üretral kateter uygulaması, önceden antibiyotik kullanımı, eritrosit süspansiyon transfüzyon ve parenteral nütrisyon olarak saptanmıştır.¹¹⁸ Risk faktörlerine yönelik başka bir vaka-kontrol çalışmasında TPN tedavisi (OR: 9,05, % 95 CI: 1,02-80,12), cerrahi girişim (OR: 4,2, % 95 CI: 1,35-13,12) ve sefaperazon-sulbaktam kullanımı (OR: 3,96, % 95 CI: 1,18-13,26) en önemli risk faktörü olarak saptanmıştır.¹¹¹ Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada kandidemi gelişimi için TPN kullanımı, santral venöz kateter varlığı, altta yatan hastalıklardan özellikle malignite ve yanıklı hastaların yanı sıra öncesinde kullanılan antibiyotik tedavisi risk faktörleri olarak bulunmuştur.¹¹⁹ Bizim çalışmamızda da literatüre uygun olarak kandidemi ilişkili risk faktörleri; TPN ile beslenme ($p=0,028$), son 3 ay içinde cerrahi operasyon geçirme ($p=0,003$), malignite öyküsü ($p=0,021$) ve akut böbrek yetmezliği ($p=0,035$) olarak bulundu. Literatürde risk faktörlerinin araştırıldığı diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar saptanmıştır.^{106,120}

Yapılan bir çalışmada maya kolonizasyonunun en fazla rektal sürüntü (% 27,4), idrar (% 23,3) ve boğaz sürüntüsü (% 22,5) örneklerinde olduğu gözlenmiştir.¹⁰⁸ Cerrahi YBÜ'de yapılan başka bir çalışmada en sık orofarenks (% 63), üriner sistem (% 25) ve bağırsaklarda (% 11) kolonizasyon tespit edilmiştir.¹²¹ Bizim çalışmamızda ise kandida kolonizasyonunun en fazla idrarda (% 89,5) sonra trakea (% 13,1) ve perinede (% 7,9) olduğu görüldü. Aksillada kandida kolonizasyonuna rastlanmadı.

Bir çalışmada yapılan istatistiksel değerlendirmede, fungal kolonizasyon (KKİ >0,2) ve yoğun kolonizasyon (KKİ $\geq$ 0,5) ile altta yatan hastalık varlığı, APACHE II skoru, GKS, invaziv girişimler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, bakteriyel enfeksiyon varlığı, hemodiyaliz, transfüzyon ve önceden hastanede yatış öyküsü ile

arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.¹⁰⁸ YBÜ’de yatan hastaların değerlendirildiği bir çalışmada ise kolonize olan ve olmayan hastalar yaş, cinsiyet, APACHE II skoru, altta yatan hastalıkları, bulunduğu YBÜ’ye göre incelendiğinde aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, YBÜ’de uzun süreli yatış ve uzun süreli SVK uygulamasının kandida kolonizasyonu gelişimi için bağımsız risk faktörü olduğu saptanmıştır.¹⁰⁹ Kandida kolonizasyonu ile ilişkili olabilecek risk faktörleri değerlendirildiğinde; hastaların önemli bir kısmında mekanik ventilatör, SVK, üriner kateterizasyonunun uygulandığı ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının olduğu gösterilmiştir.^{122,123} Bizim çalışmamızda kandidemi için risk faktörlerinin kandida kolonizasyonu ile arasındaki istatistiksel ilişkiye baktığımızda son 3 ay içinde cerrahi geçirme öyküsü olan hastalarda ($p=0,025$) (son 3 ay içinde abdominal cerrahi geçirme öyküsü olan hastalarda ($p=0.002$)) ve TPN ile beslenen hastalarda beslenmeyenlere göre kandida kolonizasyon oranı anlamlı derecede yüksekti ($p=0,015$). Son 3 ay içinde yatış öyküsü olanlarda, malignensi öyküsü olanlarda, immunsupresif tedavi alanlarda, bir haftadan uzun süreli antibiyotik kullananlarda, santral venöz kateteri olan hastalarda, üriner kateterizasyonu olanlarda, dekübit veya açık yara varlığı olan hastalarda, mekanik ventilasyon ile takip edilen hastalarda ve ABY’si olan hastalarda olmayanlara göre kandida kolonizasyonu açısından anlamlı bir fark bulunmadı.

Leon ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınlanan, Mayıs 1998 ile Ocak 1999 arasında 70 hastaneyi kapsayan, 1699 YBÜ hastasının dahil edildiği prospektif çok merkezli çalışmada; kandidemde YBÜ’de yatış süresi, yoğun bakıma kabul öncesinde cerrahi operasyon varlığı, TPN, tek ya da birden çok bölgede kolonizasyon olması ve ciddi sepsis varlığının kandida ile kolonize ve enfekte hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı oranda farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Bu araştırmacılar cerrahi, total parenteral nütrisyon, birden çok bölgede kolonizasyon ve ciddi sepsisin kandida enfeksiyonu için bağımsız risk faktörü olduğunu ve bu parametreleri kullanarak kandida skoru oluşturulduğunu ifade etmişlerdir. İnvaziv kandidiyazis (İK) hastalarında kandida skorunun 2,5’un üstünde olmasının % 81 duyarlılık ve % 74 özgüllüğünün olduğu belirtilmiştir.⁹² 2009 yılında yine Leon ve arkadaşlarının yaptığı prospektif, çok merkezli, YBÜ’de takip edilen nötropenik olmayan 1107 hastanın dahil edildiği çalışmada kandida skorunun (KS) ≥ 3 olmasının duyarlılığının % 77,6, özgüllüğünün % 66,2, pozitif prediktif

değerinin (PPD) % 13,8, negatif prediktif değerinin (NPD) % 97,7 olarak bulunduğu ve KS <3 olan hastaların % 2,3'ünde, KS ≥3 olan hastaların % 13,8'inde İK geliştiği ve İK ile kandida skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) doğrusal bir ilişki olduğu belirtilmiştir.⁴ Kautzy ve arkadaşlarının çalışmasında, KS <2,5 olan hastaların hiçbirinde İK gelişmezken; KS ≥2,5 olan 17 hastanın 5'inde İK ortaya çıkmıştır ve duyarlılık % 100, özgüllük % 80, PPD % 29,4, NPD % 100 olarak bulunmuştur. KS'nin ≥2,5 olması, KKİ ≥0,5 olması ile karşılaştırıldığında invaziv kandidiyazisi saptamada daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür ($p < 0,001/p = 0,013$).¹²⁴ Bizim çalışmamızda da literatüre uygun olarak kandidemiye saptamada kandida skoru ≥2 olduğunda duyarlılık % 88,2, özgüllük % 28,7, PPD % 22,3, NPD % 91,3; KS ≥3 olduğunda duyarlılık % 70,5, özgüllük % 54,7, PPD % 26,6 ve NPD'si % 88,8 olarak bulundu. Candida PCR pozitif olan hastalar ile PCR negatif hastalar arasında kandida skoru farkı anlamlı bulundu ($p = 0,015$).

Kandida kolonizasyon indeksinin yüksek olmasıyla kandida enfeksiyonu arasında ilişki olduğu ve enfeksiyon açısından eşik değerin 0,5 ve üstü olabileceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Aynı çalışmalarda KKİ'nin duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 67-69 ve NPD % 100 olarak verilmektedir.^{93,122} Kautzy ve arkadaşları total parenteral nütrisyon, mekanik ventilasyon ve santral venöz kateter gibi invaziv girişimler ile KKİ arasında anlamlı ilişki bulmamıştır.¹²⁴ 2007-2009 yılları arasında prospektif gözlemsel yapılan 48 saatten uzun süre YBÜ'de yatan, kandidemi için risk faktörlerine sahip veya invaziv kandidiyazis şüphesi olan 100 hastanın dahil edildiği çalışmada kandidemi için risk faktörlerinin tespiti ve İK tanısında KKİ'nin katkısı değerlendirilmiş. En sık risk faktörleri geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve yabancı cisim olarak bulunmuş ve hastaların % 15'inde invaziv kandidiyazis gelişmiş. % 53 hastada KKİ değeri ≥0,5, % 47 hastada KKİ değeri <0,5 olarak saptanmış. KKİ'nin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD değeri sırasıyla % 93, % 48, % 26, % 98 olarak saptanmış. Sonuç olarak YBÜ'de yatan hastalarda tek başına KKİ kullanımının yararlı olmadığı sonucuna varılmıştır.¹²⁵ Güneş ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, YBÜ'de yatan hastaların % 14'ünde KKİ değerini ≥0,5 olarak saptamışlar ve hiçbir hastada kandidemiye rastlamamışlardır.¹²⁶ Bizim çalışmamızda da kandida kolonizasyonu olan 38 hastanın 7'sinde KKİ 0,5 olarak bulundu ve bu 7 hastanın sadece ikisinde Candida PCR pozitif olarak tespit edilerek, kandidemi ile kandida kolonizasyon indeksi arasında anlamlı ilişki bulunmadı. KKİ'nin 0,5

olmasının duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'si sırasıyla % 2,86, % 75, % 28,5, % 18 olarak bulundu. Bu sonucun hasta sayısının azlığına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

C. Leon ve Ostrosky-Zeichner'in 2014'te yaptığı bir çalışmada sistemik antibiyotik kullanımı 1-3 gün/santral venöz kateter olması 1-3 gün ve minör kriterlerden en az 2'sinin olmasının (TPN 1-3 gün, diyaliz 1-3 gün, majör cerrahi 1-7 gün, pankreatit 1-7 gün, steroid kullanımı 3-7 gün/diğer immunsupresif kullanımı 0-7 gün) negatif prediktif değeri % 97, pozitif prediktif değeri % 1 olarak bulunmuştur. Bu kurala kandida kolonizasyonu verileri de eklendiğinde invaziv kandidiyazisi saptamada duyarlılığının % 66, özgüllüğünün % 87 olduğu belirtilmiştir.⁷⁴ Bizim çalışmamızda da OKPK'nin kandidemiye saptamada duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'si sırasıyla % 41,1, % 83,5, % 36,8, % 85,9 olarak bulundu. Literatüre uygun olarak OKPK'nin özgüllüğünün ve NPD'sinin daha yüksek olduğu görüldü.

Bazı çalışmalarda invaziv kandidiyazis mevcut hastalarda kan kültürünün % 30-50 vakada negatif olabileceği belirtilmiştir. İnvaziv kandidiyazisi olabilecek şüpheli hastaların tanısı geç konulmakta ya da konulamamaktadır. Bu nedenle hızlı ve duyarlılığı daha yüksek olan tanı yöntemleri olan moleküler yöntemlerin araştırılması ön plana çıkmıştır. Ancak bu moleküler yöntemlerde kolonizasyon ve enfeksiyonu ayırt etmede güçlük, ekstraksiyon sırasında örnek kontaminasyon riski ve amplifikasyon reaksiyonunu inhibe edebilecek maddelerin varlığı gibi kısıtlılıklarının olması düşündürücüdür. Sonuç olarak, mantar enfeksiyonlarının teşhisine yeni yaklaşımlar önemli bir umut vaat ederken, kullanım maliyetleri düşürülene ve prosedürler standartlaştırılincaya kadar sınırlı kalacağının düşünüldüğü belirtilmiştir.¹²⁷

Morrell ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, pozitif test edilen ilk kan kültürü örneğinden 12 saat sonra antifungal tedavinin uygulanmasının hastane mortalitesinin bağımsız bir belirleyicisi olduğu belirtilmiştir (OR:2,09; $p:0,018$).¹²⁸

2012'de prospektif olarak yapılan invaziv kandidiyazisi olan 55 hastayı içeren bir çalışmada derin yerleşimli kandidiyazisi olan hastalarda Candida real-time PCR ve 1,3-b-D-glucan (BDG) testi kan kültürüne göre daha duyarlı olarak bulunmuştur (Sırasıyla % 88, % 62, % 17; $p=0,0005$ ve $p=0,003$). Hastaların % 82'sinde PCR ve kültür aynı kandida türlerini tanımlamıştır. Aynı çalışmada plazma veya serumda çalışılan PCR invaziv kandidiyazisi teşhis etmek için tam kandan çalışılan PCR'dan daha duyarlı olarak

bulunmuştur ($p=0,008$). Plazma ve serumdan çalışılan PCR aynı zamanda BDG testinden de daha duyarlı olarak tespit edilmiştir ($p=0,03$).⁸²

2009'da sepsisi mevcut, hematolojik malignitesi olan/nötropenik hastalarda ve kalıtsal/edinsel immün yetmezliği olup ateşi olan hastalarda (329 yetişkin, 55 çocuk) yapılan bir çalışmada, 18S rRNA gen hedefli real-time PCR ile kan kültürü karşılaştırılmıştır. Candida PCR, kan kültürü negatif ancak İK'si mevcut 8 hastanın 7'sinde ve kan kültürü pozitif 12 hastanın 7'sinde pozitif olarak bulunmuştur. Ayrıca 460 kan kültürü negatif örneğin 432'sinde Candida PCR negatif olarak tespit edilmiş ve negatif prediktif değeri % 99,8 olarak bulunmuştur.¹²⁹ Sonuçta Candida PCR testinin 4 saat gibi kısa sürede sonuçlanması, kandidemili hastalarda tedavide hızlı davranılarak mortalite ve morbiditenin azaltılmasında önemli olabileceği ve negatif prediktif değerinin yüksek olması nedeniyle antifungal başlanmada kararsız olduğu durumlarda yardımcı bir tanı yöntemi olabileceği düşünülmüştür.¹²⁹

2011'de 54 çalışmanın dâhil edildiği 4.694 hasta (963'ü kanıtlanmış veya olası invaziv kandidiyazisi olan) ile yapılan bir meta analiz derlemede, kanıtlanmış ve muhtemel invaziv kandidiyazis hastalarında PCR pozitifliği oranları % 85 (% 78 ila 91) iken kan kültürleri % 38 (% 29 ila 46) oranında pozitif bulunmuştur. Araştırmacılar İK tanısı için tam kandan direkt yapılan PCR testinin sensitivite ve spesifitesinin iyi olduğu ve erken tanıda önemli bir yöntem olabileceği sonucuna varmışlardır. Bu analizde ayrıca rRNA ve P450 gen bölgelerini hedefleyen primerlerin kullanımıyla daha yüksek bir performansın olduğu da gösterilmiştir.¹³⁰

Yapılan birçok çalışmada PCR testinin sensitivite ve spesifitesi sırasıyla % 80-100 ve % 90-100 gibi yüksek değerler bildirmektedir.¹³¹ Yoğun bakımda yatan nötropenik olmayan hastalarda yapılan kandida DNA'sının serum ve tam kandan çalışılmasını karşılaştıran bir çalışmada 94 invaziv kandidiyazis şüphesi düşük olan hasta ile 10 kanıtlanmış kandidemisi olan hastadan alınan serum ve tam kandan Candida real-time PCR çalışılmış. Kanıtlanmış kandidemisi olan 10 hastanın hepsinde serum PCR pozitifken, tam kan PCR'da yedisi pozitif olarak tespit edilmiş. Serumdan DNA ekstraksiyonu 1 saat sürerken, tam kandan DNA ekstraksiyonu 3 saat sürdüğü, sonuç olarak; serumdan çalışılan Candida real-time PCR'ın kısa sürmesi ve tam kana göre daha iyi sonuç vermesi nedeniyle serumdan PCR çalışılmasının daha uygun olacağı sonucuna varmışlardır.¹³² Yapılan başka bir çalışmada bir multiplex real-time PCR testinin *Candida*

spp'yi 2 saatten daha az bir sürede tanımlayabildiğini ve sonuçların, moleküler olmayan yöntemlerin sonuçlarıyla % 100 uyumlu olduğunu göstermiştir.¹³¹

2010-2012 yılları arasında yapılan bir çalışmada yoğun bakımda takip edilen invaziv kandidiyazis şüphesi olan 63 hasta prospektif olarak çalışmaya dâhil edilmiş. Hastalardan 0, 2, 7, 14 ve 21.günlerde kan kültürü alınmış ve hem tam kandan hem de serumdan multiplex quantitative real-time PCR (MRT-PCR) çalışılmak üzere -80°C'de saklanmış. MRT-PCR'da 6 kandida türünün (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* ve *Candida guilliermondii*) tespiti yapılmış. Ek olarak serumda b-D-glukan (BDG) ve *Candida albicans* germ tüpü antikor (CAGTA) ölçülmüş. BDG ölçümünde ≥ 80 pmol/mL'nin üstündeki değerler pozitif olarak kabul edilmiş. CAGTA'da ise 1/160 ve üstündeki değerler pozitif olarak alınmış. BDG 27 hastanın 22'sinde (% 81), CAGTA ise 20 hastada (% 74) pozitif olarak bulunmuş. Ancak diğer yandan invaziv kandidiyazisi olmayan 36 hastanın 8'inde (% 22,2) BDG ve 14'ünde (% 38,9) CAGTA yanlış pozitif olarak tespit edilmiş. 27 hastaya invaziv kandidiyazis tanısı konmuş. Bu hastalarda kandida kolonizasyonu anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,002$). İnvaziv kandidiyazisi olan ve olmayan hastalar arasında APACHE skoru, kandida skoru, mortalite arasında fark bulunmamış. Ancak kandida kolonizasyonu ($p=0,002$) ve kandida kolonizasyon indeksi ($p=0,013$) arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur. MRT-PCR'ın duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değeri sırasıyla % 96,3, % 97,3, % 92,8 ve % 98,7 olarak belirtilmiş. MRT-PCR'ın pozitif prediktif değeri ve özgüllüğü BDG ve CAGTA'dan daha yüksek bulunmuş. Özellikle derin yerleşimli kandidiyaziste MRT-PCR'ın kan kültürüne göre çok iyi sonuç verdiği belirtilmiştir (MRT-PCR duyarlılık % 90,9, kan kültürü duyarlılık % 45,4, $p=0,06$). Ayrıca MRT-PCR serum ve tam kandan çalışılmış ve benzer sonuçlar verdiği gözlenmiştir. MRT-PCR kan kültüründen daha iyi sonuç vermiş ancak istatistiksel olarak farkın anlamlı bulunmadığı belirtilmiştir. Sonuç olarak MRT-PCR'ın yüksek özgüllük ve pozitif prediktif değeri nedeniyle diğer tanı yöntemlerinden ve klinik skorlamalardan daha faydalı olabileceği belirtilmiştir.⁷⁵ Yapılan başka bir çalışmada da 82 hastadan alınan tam kan örneğinden 5.8 rRNA temelli real-time PCR çalışılmış ve kan kültürü ile karşılaştırılmış. PCR'ın duyarlılığı % 100 ve özgüllüğü % 98,4 olarak bulunmuş ve tam kandan çalışılan PCR testinin güvenilir olduğu belirtilmiştir.¹³³ Bizim çalışmamızda da tam kandan çalışılan Candida multiplex PCR ve Candida real-time PCR

ile invaziv kandidiyazis olgularının tespit edilme olasılığının daha fazla olduğunu bulduk ($p=0,006$) ve kan kültüründe üreme olan kandida türleri ile Candida multiplex PCR ve Candida real-time PCR ile tespit edilen kandida türlerinin uyumlu olduğunu gördük.

2009 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan bir tez çalışmasında 120 kandidemi atağında kan kültürlerinde izole edilen kandida türleri arasında en sık *C. albicans* (% 38,6), *C. parapsilosis* (% 28,3), *C. tropicalis* (% 10,8), *C. glabrata* (% 5,0), *C. krusei* (% 1,6) ve *C. lusitaniae* (% 1,6) tespit edilmiştir.⁸¹ 2015 yılında üniversitemizden yapılan başka bir çalışmada Ocak 2013-Aralık 2014 döneminde gönderilen kan kültürlerinde tespit edilen maya üremeleri taranmış. İzole edilen 280 kandida suşunun 95'i (% 33,9) *Candida parapsilosis*, 77'si (% 27,5) *Candida albicans*, 45'i (% 16) *Candida tropicalis*, 27'si (% 9,6) *Candida glabrata*, dokuzar tanesi (% 3,2) *Candida kefyr* ve *Candida lusitaniae*, beşi (% 1,7) *Candida krusei*, dörder tanesi (% 1,4) *Candida famata* ve *Candida sphaerica*, ikisi (% 0,7) *Candida dubliniensis*, birer tanesi de (% 0,3) *Candida haemulonii*, *Candida norvegensis* ve *Candida pelliculosa* olarak tanımlanmıştır.¹³⁴ Üniversitemizden yapılan bu iki çalışma yıllar geçtikçe albicans dışı kandida türlerinin de arttığını göstermiştir. Yine ülkemizden yapılan bir çalışmada Temmuz 2009-2011 tarihleri arasında 97 hastanın kan kültüründen izole edilen kandida türleri çalışmaya alınmış ve *C. albicans* en çok (% 68) izole edilen tür olup, bunu *C. parapsilosis* (% 14,5) ve *C. glabrata*'nın (% 9,3) izlediği görülmüştür.¹³⁵ Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada ise sekiz yıllık dönemde 1379 pozitif kan kültürünün 67 (% 4,9)'sinde fungal etken saptanmıştır. Etkenlerin 57 (% 85,1)'sinde *Candida* spp olduğu belirtilmiştir. Kan kültüründe üreyen 57 kandida türünün 49 (% 86)'u albicans dışı kandida türleri olup en sık olarak *C. tropicalis* (% 51) saptanmıştır. Hematolojik kanserli ve nötropenik hastalarda ampirik antifungal seçerken, bu hastalarda albicans dışı kandida oranının yüksek olduğunun (% 86) dikkate alınması gerektiği sonucuna varılmıştır.¹³⁶ Yurt dışında yapılan bir çalışmada sadece beş tür kandida türünün vakaların % 92'sini (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei*) oluşturduğunu; bununla birlikte dağılımları farklı coğrafi alanlarda yapılan popülasyona dayalı çalışmalarda farklılık gösterdiği belirtilmiştir. *C. albicans* en sık görülen türdür, ancak *C. glabrata* ve *C. parapsilosis*'in neden olduğu vaka sayısında artışlar görülmektedir. Kuzey Avrupa ve ABD'den yapılan araştırmalar, *C. glabrata* 'nın neden olduğu çok sayıda vaka bildirirken, İspanya ve Brezilya'dan yapılan araştırmalar, *C. glabrata* 'nın neden olduğu

daha az sayıda vaka ve *C. parapsilosis*'e atfedilen daha fazla sayıda vaka göstermiştir. Küresel olarak, *C. albicans* sıklığı azalırken, *C. glabrata* ve *C. krusei* stabil kalmakta ve *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* artmaktadır. Hasta özellikleri ve önceki antifungal tedavi, coğrafi alandan bağımsız olarak *Candida* spp'nin dağılımı ve sıklığı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.¹³⁷ Yurt dışında yapılan başka bir çalışmada da en yaygın türler tüm yaş gruplarında *C. albicans* (% 65), ardından *C. glabrata* (% 19) ve *C. parapsilosis* (% 10) olarak belirtilmiştir. *C. glabrata* daha çok yaşlı bireylerde bulunurken, *C. parapsilosis* çoğunlukla küçük çocuklarda görülmüştür ($p=0,008$).¹³⁸ Ülkemizde yapılan YBÜ'de takip edilen hastaların dahil edildiği prospektif gözlemsel bir çalışmada kandidemi vakalarından ikisinde *C. albicans* (% 8,3) izole edilirken, 22'si *albicans* dışı kandida türleri (% 91,7) olarak tanımlanmıştır.¹¹¹ Bizim çalışmamızda 90 hastanın üçünde kan kültüründe kandida üremesi tespit edildi. 3 hastanın 2'sinde *C. parapsilosis*, birinde *C. tropicalis* üremesi oldu. Candida PCR'da 17 hastada kandida tespit edildi. PCR'da tespit edilen kandida tür dağılımı *C. krusei* % 35,3 (6 hasta), *C. parapsilosis* % 23,5 (4 hasta), *C. dubliniensis* % 17,6 (3 hasta), *C. tropicalis* %35,2 (2 hasta), *C. albicans* % 5,9 (1 hasta), *C. krusei* + *C. parapsilosis* % 5,9 (1 hasta) olarak tespit edilmiş olup, *C. glabrata* tespit edilmedi. Çalışmamızda literatürden farklı olarak en fazla *C. krusei*, en az *C. albicans* bulundu ve *C. glabrata* tespit edilmedi. Bunun nedeni hasta sayısının az olması, hastaların altta yatan hastalıkları ve flukonazol profilaksisinin neden olabileceği düşünüldü.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada 2007-2014 yılları arasında kandidemi olguları retrospektif olarak incelenmiş ve kandida tür dağılımı, klinik özellikler ve mortalite oranları belirlenmiş. Kandidemi insidansı 1,23 atak/1000 başvuru olarak belirlenmiş. *C. albicans* albicans dışı kandida türlerden daha sık görülmüştür. Ancak yıllara göre *Candida albicans* ile albicans dışı kandida atakları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülememiştir. Daha önce yapılan çalışmalara göre *C. albicans* ile albicans dışı kandida türlerinin neden olduğu kandidemi arasında 7 gün ve 30 günlük mortalite açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Albicans dışı kandidalar içinde *Candida tropicalis* en yüksek 7 günlük mortalite ile ilişkiliyken (% 45), *Candida guilliermondii*, *Candida pelliculosa*, *Candida dubliniensis*, *Candida lusitanae* ve *Candida kefyr* nedeniyle ölüm görülmediği belirtilmiştir.¹³⁹ Japonya'da yapılmış retrospektif bir çalışmada ise Nisan 2011-Mart 2016 tarihleri arasında kandidemi ile yatan 289 yetişkin

hastada risk faktörleri ve mortalite araştırılmış. Kandidemiye en sık neden olan etken *Candida albicans* (% 44,3), ardından *C. parapsilosis* (% 25,3) ve *C. glabrata* (% 15,9) olarak bulunmuş. *C. parapsilosis*'in neden olduğu kandidemilerde hayatta kalma oranının diğer kandida türlerine göre daha fazla olduğu bulunmuş. Hayatta kalan hastalar ve 30 günlük mortalite grubu karşılaştırıldığında altta yatan hastalıklar, diyabet, kortikosteroid kullanımı, kanser, nötrojeni, YBÜ yatışı ve SVK olması arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür.¹⁴⁰ Çalışmamızda *C. parapsilosis* ve *C. albicans* en yüksek mortaliteye sahip kandida türleri, *C. tropicalis* ve *C. krusei* de en az mortaliteye neden olan kandida türleri olarak tespit edildi. Ancak hasta sayısı az olduğu için kandida türleri arasında mortalitenin belirlenmesi için daha geniş vaka gruplarında çalışılmasına ihtiyaç vardır.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise kandidemi gelişen ve gelişmeyen olgularda 14. gün mortalite ve 30. gün mortaliteleri benzer bulunmuştur.¹¹¹ Başka bir çalışmada da kandidemili olguların kaba mortalite oranı % 66,6 olup 14. gün mortalitesi 37,5 iken 30. gün mortalitesi % 58,3 bulunmuştur.¹¹¹ Yapılan başka çalışmalarda da kaba mortalite oranı % 44 ile 58 arasında değişmektedir.^{141,142} Bizim çalışmamızda ise çalışmaya alınan hastaların 57'si (% 63,3) öldü. Candida PCR pozitifliği olanlar ve olmayanlar arasında ölüm oranı arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,035$). Bu sonucun invaziv kandidiyazisli hastalarda antifungal tedavinin erken başlanmasıyla önemine işaret ettiğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yoğun bakım ünitesinde takip edilen hastaların deri ve mukoza bütünlüğünün bozulduğu cerrahi operasyon, entübasyon ya da damar kateterizasyonları, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı gibi durumlar kandida kolonizasyona neden olmaktadır. Kolonize hastaların ortalama olarak % 10'unda invaziv kandidiyazis gelişmektedir. Çalışmamızdaki amacımız, yoğun bakım ünitelerinde takip edilen kandidemi riski yüksek hastalarda moleküler bir yöntem olan Candida PCR testini tanıda hala altın standart olarak kullanılan kan kültürü ile karşılaştırmak ve Candida PCR testinin pratikte uygulanılabilirliğini sorgulamaktır.

Çalışmamızda Candida PCR ile kan kültürüne göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla pozitiflik elde edildi. Bu veriler ışığında, moleküler bir yöntem olan Candida PCR testinin, 3 saat gibi kısa bir zamanda sonuç vermesi nedeniyle, kandidemi şüpheli hastaların tanı ve tedavisinin hızlı bir şekilde yapılmasına olanak sağlayıp, kandidemiye bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamıza dahil edilen hastalarda son 3 ay içinde cerrahi geçirme öyküsü olan ve TPN ile beslenen hastalarda kandida kolonizasyon oranı anlamlı derecede yüksekti. Çalışmamızda en sık görülen risk faktörleri ise üriner kateterizasyon (% 93,3), son 3 ay içinde hastaneye yatış öyküsü (% 87,8), bir haftadan uzun süreli antibiyotik kullanımı (% 85,6) ve cerrahi operasyon geçirme (% 71) olarak belirlendi. Kandidemi ile ilişkilerine bakıldığında son 3 ay içinde cerrahi operasyon geçirme, TPN ile beslenme, akut böbrek yetmezliği ve malignite öyküsü ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. Bu risk faktörlerine sahip hastalarda kandidemi riski açısından daha dikkatli olunması gerektiği sonucuna varıldı.

Candida PCR pozitifliği olan ve olmayan hastalar arasında kandida skoru farkı anlamlı bulundu. Kandidemi riski yüksek hastalarda kan kültürünün geç sonuç vermesi nedeniyle ve Candida PCR'ın yapılamadığı durumlarda kandida skorunun kullanılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca çalışmamızda kandida skorunun yanında Ostrosky Klinik Prediksiyon Kuralı'nın da kandidemi riski yüksek hastaları saptamada önemli olduğu ve zamanında başlanan ampirik antifungal tedavilerle mortalite ve morbiditenin azalacağı düşünülmektedir.

Çalışmamıza dahil edilen kandidemi riski yüksek hastaların % 63,3'ü öldü. Mortalitenin bu kadar yüksek olduğu bir klinikte tanısının hızlı konması ve tedavinin ivedilikle başlanması gerektiği bilinmektedir. Mevcut tanı yöntemleriyle tanı süresinin uzaması nedeniyle yeni yöntemlerin araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda Candida PCR testinin tam kandan çalışılarak hızlı sonuç vermesi ve kan kültürüne göre kandidemi vakalarının tespit edilme olasılığının daha fazla olması nedeniyle pratikte kullanılabileceği sonucuna varıldı.



7. KAYNAKLAR

1. **Akalın H.** Nozokomiyal Fungal Enfeksiyonlar. In: Willke TA, Söyletir G, Doğanay M, Eds. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre Enfeksiyonlar*. 4. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2017**: 626-637.
2. **Tabak F.** Tanımlar ve Epidemiyoloji. In: Köksal İ, Çakar N, Arman D, Eds. *Yoğun Bakım Enfeksiyonları*, Ankara: Bilimsel Tıp Kitapevi, **2005**: 45-51.
3. **İnci R, Hilmioğlu S.** Nozokomiyal fungal infeksiyonlara yaklaşım. *Klinik Dergisi* **2000**; 13:28-31.
4. **León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Galván B, Blanco A, Castro C, Balasini C, Utande-Vázquez A, de Molina FJG, Blasco-Navalproto MA.** Usefulness of the “Candida score” for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. *Critical care medicine* **2009**; 37(5):1624-1633.
5. **Sezer BE, Arman D.** Yoğun Bakım Ünitesinde Gelişen Fungal İnfeksiyonlar. In: Ulusoy S, Arman D, Uzun Ö, Eds. *Önemli ve Sorunlu Fungal İnfeksiyonlar*. 2. Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, **2012**: 161-173.
6. **Beck-Sagué CM, Jarvis WR, System NNIS.** Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. *The Journal of infectious diseases* **1993**:1247-1251.
7. **Sezer BE, Arman D.** Yoğun Bakım Ünitesinde Gelişen Fungal İnfeksiyonlar. *Yoğun Bakım Dergisi* **2010**; 9(3):121-128.
8. **Michallet M, Ito JI.** Approaches to the management of invasive fungal infections in hematologic malignancy and hematopoietic cell transplantation. *Journal of clinical oncology* **2009**; 27(20):3398-3409.
9. **Enoch D, Ludlam H, Brown N.** Invasive fungal infections: a review of epidemiology and management options. *Journal of medical microbiology* **2006**; 55(7):809-818.
10. **Sancak B, Çerikçioğlu N.** Mantarların Genel Özellikleri ve Tanı Yöntemleri. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, Eds. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre Enfeksiyonlar*. 4. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2017**: 2097-2105.
11. **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: American Society for Microbiology, **1995**: 699-708.
12. **Çerikçioğlu N.** Candida Türleri. In: Willke TA, Söyletir G, Doğanay M, Eds. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre Enfeksiyonlar*. 4. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2017**: 2115-2129.
13. **Tümbay E.** Candida türleri. In: Ustaçelebi Ş, Eds. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**: 1081-1086.
14. **Warren NG, Hazen KC.** Candida, Cryptococcus and Other Yeasts of Medical Importance. In: Murray PR, Eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th Ed., Washington, DC: American Society for Microbiology, **1999**: 1184-1199.
15. **Howel SA, Hazen KC.** Candida, Cryptococcus and Other Yeasts of Medical Importance. In: Versalovic J, Karen C, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW, Eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 10th Ed., Washington, DC: ASM Press, **2011**: 1786-1796.

16. **Altanlar N.** Vulvovajinal Candidiasis Olgularından İzole Edilen Candidaların Türlerine Göre Dağılımı. *Ankara Ecz Fak Derg* **1999**; 28(1):61-70.
17. **Hazen KC, Howell AP.** Mycology and Antifungal Susceptibility Testing. In: Isenberg HD, Eds. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd Ed., Washington DC: ASM Press, **2004**: 801.
18. **Morrison CJ, Hurst SF, Reiss E.** Competitive binding inhibition enzyme-linked immunosorbent assay that uses the secreted aspartyl proteinase of *Candida albicans* as an antigenic marker for diagnosis of disseminated candidiasis. *Clin Diagn Lab Immunol* **2003**; 10(5):835-848.
19. **Martino P, Girmenia C, Micozzi A, De Bernardis F, Boccanera M, Cassone A.** Prospective study of *Candida* colonization, use of empiric amphotericin B and development of invasive mycosis in neutropenic patients. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **1994**; 13(10):797-804.
20. **Cutler JE.** Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annual review of microbiology* **1991**; 45(1):187-218.
21. **Nakagawa Y, Ohno N, Murai T.** Suppression by *Candida albicans* β -glucan of cytokine release from activated human monocytes and from T cells in the presence of monocytes. *The Journal of infectious diseases* **2003**; 187(4):710-713.
22. **Lo H-J, Köhler JR, DiDomenico B, Loebenberg D, Cacciapuoti A, Fink GR.** Nonfilamentous *C. albicans* mutants are avirulent. *Cell* **1997**; 90(5):939-949.
23. **Pascual A.** Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs. *Clinical Microbiology and Infection* **2002**; 8(5):256-264.
24. **Pittet D, Li N, Woolson RF, Wenzel RP.** Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: a 6-year validated, population-based model. *Clinical infectious diseases* **1997**; 24(6):1068-1078.
25. **Kurtaran B, Taşova Y.** *Candida* Enfeksiyonları. In: Erol Ç, Aktaş F, Eds. *İç hastalıkları Enfeksiyon Hastalıkları*. 1. Baskı, Ankara: Medikal ve Nobel Tıp Kitabevi, **2008**: 743-752.
26. **Jarvis WR.** Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. *Clinical Infectious Diseases* **1995**; 20(6):1526-1530.
27. **Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP.** Risk factors for hospital-acquired candidemia: a matched case-control study. *Archives of internal medicine* **1989**; 149(10):2349-2353.
28. **Ekenna O, Sherertz RJ, Bingham H.** Natural history of bloodstream infections in a burn patient population: the importance of candidemia. *American journal of infection control* **1993**; 21(4):189-195.
29. **Pfaller M, Jones R, Doern G, Sader HS, Hollis R, Messer S.** International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY program. *Journal of clinical microbiology* **1998**; 36(7):1886-1889.
30. **Pfaller M, Diekema D, Rinaldi MG, Barnes R, Hu B, Veselov A, Tiraboschi N, Nagy E, Gibbs D.** Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *Journal of clinical microbiology* **2005**; 43(12):5848-5859.

31. **Pfaller M, Jones R, Doern G, Sader H, Messer S, Houston A, Coffman S, Hollis R.** Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2000**; 44(3):747-751.
32. **Nieto M, Tellería O, Cisterna R.** Sentinel surveillance of invasive candidiasis in Spain: epidemiology and antifungal susceptibility. *Diagnostic microbiology and infectious disease* **2015**; 81(1):34-40.
33. **Ulu Kilic A, Alp E, Cevahir F, Ture Z, Yozgat N.** Epidemiology and cost implications of candidemia, a 6-year analysis from a developing country. *Mycoses* **2017**; 60(3):198-203.
34. **Mert D, Yılmaz GR, Çeken S, İskender G, Ertek M.** Candidemia in patients followed up in Oncology Hospital. E-poster 27th ECCMID Congress. Vienna-Austria, 22-25 April **2017**.
35. **Harris AD, Castro J, Sheppard DC, Carmeli Y, Samore MH.** Risk factors for nosocomial candiduria due to *Candida glabrata* and *Candida albicans*. *Clinical infectious diseases* **1999**; 29(4):926-928.
36. **Edwards JE.** *Candida* Species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th Ed., Philadelphia: Elsevier, **2015**: 2879-2894.
37. **Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, Gianotti L, Peck MD, Dunn DL, Pyles T.** The Process of microbial translocation. *Ann Surg* **1990**; 212:496-511.
38. **Cole GT, Halawa AA, Anaissie EJ.** The role of the gastrointestinal tract in hematogenous candidiasis: from the laboratory to the bedside. *Clinical Infectious Diseases* **1996**; 22(sup2):73-88.
39. **Kennedy MJ, Volz PA.** Ecology of *Candida albicans* gut colonization: inhibition of *Candida* adhesion, colonization, and dissemination from the gastrointestinal tract by bacterial antagonism. *Infection and Immunity* **1985**; 49(3):654-663.
40. **Martino P, Girmenia C, Venditti M, Micozzi A, Santilli S, Burgio VL, Mandelli F.** *Candida* colonization and systemic infection in neutropenic patients. A retrospective study. *Cancer* **1989**; 64(10):2030-2034.
41. **Calderone R, Diamond R, Senet JM, Warmington J, Filler S, Edwards JE.** Host cell-fungal cell interactions. *Journal of medical and veterinary mycology* **1994**; 32(sup1):151-168.
42. **Lyman CA, Walsh TJ.** Phagocytosis of medically important yeasts by polymorphonuclear leukocytes. *Infection and immunity* **1994**; 62(4):1489-1493.
43. **Lehrer R.** The fungicidal mechanisms of human monocytes. I. Evidence for myeloperoxidase-linked and myeloperoxidase-independent candidacidal mechanisms. *The Journal of clinical investigation* **1975**; 55(2):338-346.
44. **Lehrer RI.** Measurement of candidacidal activity of specific leukocyte types in mixed cell populations II. Normal and chronic granulomatous disease eosinophils. *Infection and immunity* **1971**; 3(6):800.
45. **Taschdjian CL, Toni EF, Hsu KC, Seelig MS, Cuesta MB, Kozinn PJ.** Immunofluorescence studies of *Candida* in human reticuloendothelial phagocytes: implications for immunogenesis and pathogenesis of systemic candidiasis. *American journal of clinical pathology* **1971**; 56(1):50-58.
46. **Kirkpatrick CH.** Chronic mucocutaneous candidiasis. *Journal of the American Academy of Dermatology* **1994**; 31(3):S14-S17.

47. **Powderly W.** Fungal infections in patients infected with HIV. *Missouri medicine* **1990**; 87(6):348-350.
48. **Domer JE, Garner RE.** Immunomodulation in response to Candida. *Immunology series* **1989**; 47:293-317.
49. **Solomkin JS, Mills EL, Giebink GS, Nelson RD, Simmons RL, Quie PG.** Phagocytosis of Candida albicans by human leukocytes: opsonic requirements. *Journal of Infectious Diseases* **1978**; 137(1):30-37.
50. **Kozel TR.** Activation of the complement system by pathogenic fungi. *Clinical microbiology reviews* **1996**; 9(1):34-46.
51. **Lefkowitz SS, Gelderman MP, Lefkowitz DL, Moguilevsky N, Bollen A.** Phagocytosis and intracellular killing of Candida albicans by macrophages exposed to myeloperoxidase. *Journal of Infectious Diseases* **1996**; 173(5):1202-1207.
52. **Richardson MD, Warnock DW.** *Fungal Infection, Diagnosis and management*. 2nd Ed., New Jersey: Blackwell Science, **1997**: 131.
53. **Yalçın AN.** Fungemiler. In: Ulusoy S, Arman D, Uzun Ö, Eds. *Fungal Enfeksiyonlar*. 1. Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi **2006**: 117-130.
54. **Kayabaş Ü.** Yoğun Bakım Ünitelerinde Fungal, Viral, Paraziter Enfeksiyonlar ve Yaklaşım. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences* **2006**; 2(46):50-56.
55. **Kiraz N, Kiremitçi A, Akgün Y.** *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyum Kitapçığı*. Eskişehir: OGÜ Basımevi, **2002**.
56. **Krishna R, Amuh D, Lowder CY, Gordon SM, Adal KA, Hall G.** Should all patients with candidaemia have an ophthalmic examination to rule out ocular candidiasis? *Eye* **2000**; 14(1):30.
57. **Akan H, Akan Ö, Akova M, Arıkan S, Aygün G, Korten V.** In: Akan H, Akova M, Eds. *İmmün Sistemi Baskılanmış Hastalarda İnvaziv Fungal İnfeksiyonlar*. 1. Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, **2006**.
58. **Semelka RC, Patrick Shoenut J, Greenberg HM, Bow EJ.** Detection of acute and treated lesions of hepatosplenic candidiasis: Comparison of dynamic contrast-enhanced CT and MR Imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* **1992**; 2(3):341-345.
59. **Akalın H.** Kandidemilerde risk faktörleri ve risk değerlendirmesi. *Ankem Derg* **2008**; 22(2):270-274.
60. **Edwards JJE, Bodey GP.** Internationale conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidal infections. *Clin Infect Dis* **1997**; 25:43-59.
61. **Walsh TJ, Pizzo PA.** Candidiasis. In: Bodey GP, Eds. *Pathogenesis, Diagnosis and Treatment*. 2nd Ed., New York: Raven Press, **1993**: 109-158.
62. **Stevens DA.** Diagnosis of fungal infections: current status. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2002**; 49(sup1):11-19.
63. **Verweij P, Meis J.** Microbiological diagnosis of invasive fungal infections in transplant recipients. *Transplant Infectious Disease: Review article* **2000**; 2(2):80-87.
64. **Body B, Pfaller M, Durrer J, Koontz F, Groeschel D.** Comparison of the lysis centrifugation and radiometric blood culture systems for recovery of yeast. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **1988**; 7(3):417-420.

65. **Pfaller MA.** Laboratory aids in the diagnosis of invasive candidiasis. *Mycopathologia* **1992**; 120(2):65-72.
66. **Maertens J.** Preemptif antifungal tedavi: daha çok yolumuz var. *Current Opinion in Infectious Diseases* **2007**; 2(1):25-32.
67. **Yeo SF, Wong B.** Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clinical microbiology reviews* **2002**; 15(3):465-484.
68. **Wheat L.** Antigen detection, serology, and molecular diagnosis of invasive mycoses in the immunocompromised host. *Transplant infectious disease* **2006**; 8(3):128-139.
69. **McLintock LA, Jones BL.** Advances in the molecular and serological diagnosis of invasive fungal infection in haemato-oncology patients. *British journal of haematology* **2004**; 126(3):289-297.
70. **Yucesoy M.** Hastane enfeksiyonları ve funguslar. In: Yuce A, Cakır N, Eds. *Hastane Enfeksiyonları*. 2. Baskı, İzmir: İzmir Güven Kitabevi, **2009**: 228-237.
71. **Shea Y.** Algorithms for detection and identification of fungi. *Manual of clinical microbiology* **2007**; 9:1745-1761.
72. **León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Castro C, Loza A, Zakariya I, Úbeda A, Parra M, Macías D, Tomás JI.** Contribution of Candida biomarkers and DNA detection for the diagnosis of invasive candidiasis in ICU patients with severe abdominal conditions. *Critical Care* **2016**; 20(1):149.
73. **Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C.** The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Critical care* **2010**; 14(6):R222.
74. **León C, Ostrosky-Zeichner L, Schuster M.** What's new in the clinical and diagnostic management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive care medicine* **2014**; 40(6):808-819.
75. **Fortun J, Meije Y, Buitrago M, Gago S, Bernal-Martinez L, Pemán J, Pérez M, Gómez-G^a Pedrosa E, Madrid N, Pintado V.** Clinical validation of a multiplex real-time PCR assay for detection of invasive candidiasis in intensive care unit patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2014**; 69(11):3134-3141.
76. **He S, Hang J-P, Zhang L, Wang F, Zhang D-C, Gong F-H.** A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1, 3- β -D-glucan for invasive fungal infection: focus on cutoff levels. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* **2015**; 48(4):351-361.
77. **Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME.** β -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases* **2011**; 52(6):750-770.
78. **Onishi A, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S.** Diagnostic accuracy of serum 1, 3- β -D-glucan for Pneumocystis jiroveci pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical microbiology* **2012**; 50(1):7-15.
79. **Parra-Sánchez M, Breval IZ-Y, Méndez CC, García-Rey S, Vazquez AL, Iglesias AÚ, Guerrero DM, Mejías AR, Gil CL, Martín-Mazuelos E.** Candida albicans germ-tube antibody: evaluation of a new automatic assay for diagnosing invasive candidiasis in ICU patients. *Mycopathologia* **2017**; 182(7-8):645-652.
80. **Quindós G, Moragues MD, Pontón J.** Is there a role for antibody testing in the diagnosis of invasive candidiasis? *Revista iberoamericana de micología* **2004**; 21(1):10-14.

81. **Akçam E.** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzlenen Kandidemi Olgularının Epidemiyolojik, Klinik ve Antifungal Duyarlılık Yönünden İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana/Türkiye, **2009**: 36.
82. **Nguyen MH, Wissel MC, Shields RK, Salomoni MA, Hao B, Press EG, Shields RM, Cheng S, Mitsani D, Vadnerkar A.** Performance of Candida real-time polymerase chain reaction, β -D-glucan assay, and blood cultures in the diagnosis of invasive candidiasis. *Clinical infectious diseases* **2012**; 54(9):1240-1248.
83. **McMullan R, Metwally L, Coyle P, Hedderwick S, McCloskey B, O'Neill H, Patterson C, Thompson G, Webb C, Hay R.** A prospective clinical trial of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of candidemia in nonneutropenic, critically ill adults. *Clinical infectious diseases* **2008**; 46(6):890-896.
84. **Biter G, Aslan SÖ, Yalçın B, Aydın M, Jabban IİK, Seyer A, Fouad A, Demir F, Kalkancı A, Kuştımur S.** Candida albicans DNA'sını Saptamaya Yönelik Gerçek Zamanlı PCR Testi ve Testin Maliyet Analizi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* **2011**; 41(1):9-14.
85. **Candel FJ, Pacheco P, Ruiz-Camps I, Maseda E, Montero A, Puig M, Gilsanz F, Aguilar J, Matesanz M.** Update on management of invasive candidiasis. *Rev Esp Quimioter* **2017**; 30(6):397-406.
86. **Spanu T, Posteraro B, Fiori B, D'Inzeo T, Campoli S, Ruggeri A, Tumbarello M, Canu G, Trecarichi EM, Parisi G.** Direct MALDI-TOF mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of Candida species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *Journal of clinical microbiology* **2012**; 50(1):176-179.
87. **Vella A, De Carolis E, Vaccaro L, Posteraro P, Perlin DS, Kostrzewa M, Posteraro B, Sanguinetti M.** Rapid antifungal susceptibility testing by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry analysis. *Journal of clinical microbiology* **2013**; 51(9):2964-2969.
88. **Farina C, Perin S, Andreoni S, Conte M, Fazii P, Lombardi G, Manso E, Morazzoni C, Sanna S.** Evaluation of the peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridisation technology for yeast identification directly from positive blood cultures: an Italian experience. *Mycoses* **2012**; 55(5):388-392.
89. **Pfaller MA, Wolk DM, Lowery TJ.** T2MR and T2Candida: novel technology for the rapid diagnosis of candidemia and invasive candidiasis. *Future microbiology* **2016**; 11(1):103-117.
90. **Voss A, Meis J, Lunel FV, le Noble J, Foudraine N.** Candidemia in intensive care unit patients: risk factors for mortality. *Infection* **1997**; 25(1):8-11.
91. **Pittet D.** Links Between Fungal Colonization and Infection. In: Vincent CL, Eds. *The Management of Fungal Infection in the ICU*. The Liposome Company Ltd, **1999**: 33-42.
92. **León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Álvarez-Lerma F, Garnacho-Montero J, León MÁ.** A bedside scoring system (“Candida score”) for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. *Critical care medicine* **2006**; 34(3):730-737.
93. **Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R.** Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Annals of surgery* **1994**; 220(6):751.
94. **Koç N.** Mantarların Taksonomisi ve Sınıflandırılması. In: Başustaoğlu A, Eds. *Klinik Mikrobiyoloji*. 9. Baskı, Ankara: Atlas Kitabçılık, **2009**: 1721-1727.

95. **Tümbay E.** Candida, Cryptococcus ve Tıbbi Önemi Olan Diğer Mantarlar. In: Başustaoğlu A, Eds. *Klinik Mikrobiyoloji*. 9. Baskı, Ankara: Atlas Kitapçılık, **2009**; 1762-1788.
96. **Yücel A, Kantarcıoğlu S.** Some important changes in taxonomy of *Candida albicans*. *Cerrahpaşa. J Med* **2000**; 30:236-246.
97. **Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnson TR, Karp JE, Saral R.** Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *New England Journal of Medicine* **1991**; 325(18):1274-1277.
98. **Banerjee SN, Emori TG, Culver DH, Gaynes RP, Jarvis WR, Horan T, Edwards JR, Tolson J, Henderson T, Martone WJ.** Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980–1989. *The American journal of medicine* **1991**; 91(3):86-89.
99. **Wayne P.** Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. *CLSI document M27-A3 and Supplement S* **2008**; 3:6-12.
100. **Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, Phelan M, Morgan J, Lee-Yang W, Ciblak MA.** Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *Journal of clinical microbiology* **2004**; 42(4):1519-1527.
101. **Koç AN.** Antifungal Duyarlılık Testleri ve Klinik Önemi. *ANKEM Derg* **2012**; 26(Ek2):270-276.
102. **Cuenca-Estrella M, Moore C, Barchiesi F, Bille J, Chryssanthou E, Denning D, Donnelly J, Dromer F, Dupont B, Rex J.** 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). *Clinical microbiology and infection* **2003**; 9(6):467-474.
103. **Wanger A, Mills K, Nelson PW, Rex JH.** Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing: enhanced ability to detect amphotericin B-resistant *Candida* isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1995**; 39(11):2520-2522.
104. **Espinel-Ingroff A, Ana V, Pfaller M, Erwin ME, Jones RN.** Susceptibility test methods; yeasts and filamentous fungi. *Manual of Clinical Microbiology* **2003**; 9(2):1880-1893.
105. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** Zone Diameter Interpretive Standards, Corresponding Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Interpretive Breakpoints and Quality Control Limits for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts. 2nd Ed., Wayne, Pennsylvania **2008**: CLSI document M44-A2
106. **Guery BP.** Management of invasive candidiasis and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part I. Epidemiology and diagnosis. *Intensive care medicine* **2009**; (35):55-62.
107. **Willke A.** Kandidemi: Nasıl Değerlendirilmeli Ne Yapılmalı. *İnfeksiyon Dergisi* **2007**; 21(Ek):117-122.
108. **Gökahmetoğlu G, Sarıgüzel FM, Koç AN, Behret O, Gökahmetoğlu S, Atalay MA, Elmalı F, Darçın K.** Anestezi Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastalarda *Candida* Kolonizasyonu ve *Candida* Skorunun Belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul* **2016**; 50(3):438-448.
109. **Ergin F, Tülek NE, Yetkin MA, Bulut C, Oral B, Ertem GT.** Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastalarda *Candida* Kolonizasyonunun Değerlendirilmesi ve Kolonizasyon İndeksinin Kullanılması. *Mikrobiyol Bul* **2013**; 47(2):305-317.

110. **Tran L, Auger P, Marchand R, Carrier M, Pelletier C.** Epidemiological study of *Candida* spp. colonization in cardiovascular surgical patients. *Mycoses* **1997**; 40(5-6):169-173.
111. **Akdoğan Ö, Ersoy Y, Kuzucu Ç, Gedik E, Yetkin F, Toğal T.** Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesinde Gelişen Kandidemi Olgularının Klinik Özellikleri ve Risk Faktörlerinin Araştırılması. *Journal of Turgut Ozal Medical Center* **2013**; 20(3).
112. **Paramythiotou E, Frantzeskaki F, Flevari A, Armaganidis A, Dimopoulos G.** Invasive fungal infections in the ICU: how to approach, how to treat. *Molecules* **2014**; 19(1):1085-1119.
113. **Malani AN, Psarros G, Malani PN, Kauffman CA.** Is age a risk factor for *Candida glabrata* colonisation? *Mycoses* **2011**; 54(6):531-537.
114. **Azak E, Ulukaya E, Willke A.** Yoğun Bakım Ünitesinde Gelişen *Candida* Enfeksiyonları ve Mortaliteyi Etkileyen Risk Faktörleri. Erişim: (<https://docplayer.biz.tr/15542727-Yogun-bakim-unitesinde-gelisen-kandida-enfeksiyonlari-ve-mortaliteyi-etkileyen-risk-faktorleri.html>) 2016. Erişim tarihi: 14.03.2019
115. **Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA, Rangel-Frausto MS, Rinaldi MG, Saiman L, Wiblin RT.** Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *Clinical Infectious Diseases* **2001**; 33(2):177-186.
116. **Conde-Rosa A, Amador R, Perez-Torres D, Colón E, Sánchez-Rivera C, Nieves-Plaza M, González-Ramos M, Bertrán-Pasarell J.** Candidemia distribution, associated risk factors, and attributed mortality at a university-based medical center. *Puerto Rico health sciences journal* **2010**; 29(1):26.
117. **Viudes A, Peman J, Canton E, Ubeda P, Lopez-Ribot J, Gobernado M.** Candidemia at a tertiary-care hospital: epidemiology, treatment, clinical outcome and risk factors for death. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2002**; 21(11):767-774.
118. **Yapar N, Pullukcu H, Avkan-Oguz V, Sayin-Kutlu S, Ertugrul B, Sacar S, Cetin B, Kaya O.** Evaluation of species distribution and risk factors of candidemia: a multicenter case-control study. *Medical mycology* **2011**; 49(1):26-31.
119. **Ahşkan HE, Bozkırlı ED, Çolakoğlu Ş, Demirbilek M.** Hastanemizde üç yıllık süreçte kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* ve non-*albicans* *Candida* türlerinin etken olduğu kandidemilerdeki risk faktörlerinin irdelenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Derg* **2015**; 73:15-24.
120. **Bouza E, Muñoz P.** Epidemiology of candidemia in intensive care units. *International journal of antimicrobial agents* **2008**; 32:87-91.
121. **Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP.** Hospital-acquired candidemia: the attributable mortality and excess length of stay. *Archives of internal medicine* **1988**; 148(12):2642-2645.
122. **Charles PE, Dalle F, Aube H, Doise JM, Quenot JP, Aho LS, Chavanet P, Blettery B.** *Candida* spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. *Intensive care medicine* **2005**; 31(3):393-400.
123. **Passos XS, Sales WS, Maciel PJ, Costa CR, Miranda KC, Lemos JdA, Batista MdA, Silva MdRR.** *Candida* colonization in intensive care unit patients' urine. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2005**; 100(8):925-928.
124. **Kautzky S, Staudinger T, Presterl E.** Invasive *Candida* infections in patients of a medical intensive care unit. *Wiener klinische Wochenschrift* **2015**; 127(3-4):132-142.

125. **Massou S, Ahid S, Azendour H, Bensghir M, Mounir K, Iken M, Lmimouni B, Balkhi H, Drissi NK, Haimeur C.** Systemic candidiasis in medical intensive care unit: analysis of risk factors and the contribution of colonization index. *Pathologie-biologie* **2013**; 61(3):108-112.
126. **Güneş İ, Aydın A, Kalkancı A, Kuştımur S.** Yoğun Bakım Ünitelerinde Candida Kolonizasyonunun Değerlendirilmesinde Kolonizasyon İndeksinin Kullanılması. *Türkiye Klinikleri Journal of Microbiology Infection* **2003**; 2(1):12-16.
127. **Montagna MT, Caggiano G, Borghi E, Morace G.** The role of the laboratory in the diagnosis of invasive candidiasis. *Drugs* **2009**; 69(1):59-63.
128. **Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH.** Delaying the empiric treatment of Candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2005**; 49(9):3640-3645.
129. **Wellinghausen N, Siegel D, Winter J, Gebert S.** Rapid diagnosis of candidaemia by real-time PCR detection of Candida DNA in blood samples. *Journal of medical microbiology* **2009**; 58(8):1106-1111.
130. **Avni T, Leibovici L, Paul M.** PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical microbiology* **2011**; 49(2):665-670.
131. **Arvanitis M, Anagnostou T, Fuchs BB, Caliendo AM, Mylonakis E.** Molecular and nonmolecular diagnostic methods for invasive fungal infections. *Clinical microbiology reviews* **2014**; 27(3):490-526.
132. **Metwally L, Fairley D, Coyle P, Hay R, Hedderwick S, McCloskey B, O'Neill H, Webb C, McMullan R.** Comparison of serum and whole-blood specimens for the detection of Candida DNA in critically ill, non-neutropenic patients. *Journal of medical microbiology* **2008**; 57(10):1269-1272.
133. **Guo Y, Yang J-x, Liang G-w.** A real-time PCR assay based on 5.8 S rRNA gene (5.8 S rDNA) for rapid detection of Candida from whole blood samples. *Mycopathologia* **2016**; 181(5-6):405-413.
134. **Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A.** Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida Türlerinin Dağılımının ve Antifungal Duyarlılıklarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Ankem Derg* **2015**; 29(3):105-113.
135. **Atalay MA, Sav H, Demir G, Koç AN.** Kan kültürlerinden izole edilen Candida türlerinin dağılımı ve amfoterisin b ve flukonazole in vitro duyarlılıkları. *Selçuk Tıp Derg* **2012**; 28(3):149-151.
136. **Yılmaz G, Çiftçioglu A, Gündüz M, Özen M, Sarıcaoglu EM, Akan H.** Kandidemi saptanan hematolojik kanserli hastalarda etken dağılımı ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi. *Klinik Derg* **2015**; 28(3):117-121.
137. **Guinea J.** Global trends in the distribution of C andida species causing candidemia. *Clinical Microbiology and Infection* **2014**; 20:5-10.
138. **Lindberg E, Hammarström H, Ataollahy N, Kondori N.** Species distribution and antifungal drug susceptibilities of yeasts isolated from the blood samples of patients with candidemia. *Scientific reports* **2019**; 9(1):3838.
139. **Yeşilkaya A, Azap Ö, Aydın M, Akçıl Ok M.** Epidemiology, species distribution, clinical characteristics and mortality of candidaemia in a tertiary care university hospital in Turkey, 2007-2014. *Mycoses* **2017**; 60(7):433-439.

140. **Kato H, Yoshimura Y, Suido Y, Shimizu H, Ide K, Sugiyama Y, Matsuno K, Nakajima H.** Mortality and risk factor analysis for Candida blood stream infection: A multicenter study. *Journal of Infection and Chemotherapy* **2019**.
141. **Koçak BY, Kuloğlu F, Çelik AD, Akata F.** Bir üçüncü basamak hastanesinde erişkin kandidemi olgularının epidemiyolojik özellikleri ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* **2011**; 45(3):489-503.
142. **Bassetti M, Taramasso L, Nicco E, Molinari MP, Mussap M, Viscoli C.** Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and outcome of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in Italy. *PLoS one* **2011**; 6(9):e24198.



8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuğçe Şimşek Bozok

Doğum Tarihi ve Yeri : 01.03.1989-Konya

Medeni Durumu : Evli

Adres : Huzurevler Mah.77248 Sok. Fuaroba Apt. 8/16
Çukurova/ADANA

Telefon : 05069423282

E-posta : tugce_0103@hotmail.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

Görev Yerleri : Siirt Kurtalan Devlet Hastanesi

Dernek Üyelikleri : EKMUD, KLİMİK

Yabancı Dil : İngilizce