

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

**YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN
MAYALAR VE ANTİFUNGAL AJANLARA
DUYARLILIKLARI**

131802

DR. M. CEM ERGON

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYELERİ
PROF. DR. MİNE YÜCESOY
PROF. DR. NURAN YULUĞ

İZMİR – 2003

TEŐEKKÜR

Eğitimimde ve tezimle ilgili çalıőmalarımda yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışman hocam Prof. Dr. Nuran YULUĞ'a, danışman hocamın emekli olmasından sonra tez çalıőmalarımın sürdürölmesinde değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Prof. Dr. Mine YÜCESOY'a, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hakan ABACIOĞLU'na, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimim sürecinde yetişmemde büyük emeği geçen tüm hocalarıma, aynı çalışma ortamında yardımlaőtığım tüm meslektaőtılarım ve arkadaşlarıma, ayrıca vermiş oldukları destekten dolayı aileme teőkükürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	i
KISALTMALAR	ii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Tarihçe	7
4.2. Yapı ve biyokimyasal özellikleri	8
4.3. Mantarların üremesi	9
4.3.1. Eşeyli üreme	9
4.3.2. Eşeyli üreme	10
4.4. Mantarların sınıflandırılması	10
4.5. Mantarların neden olduğu infeksiyonlar	12
4.6. Risk grubunda bulunan hastalarda fungal infeksiyonları kolaylaştıran faktörler	13
4.7. Risk grubunda bulunan hastalarda infeksiyon etkeni olan maya mantarları ve oluşturdukları klinik tablolar	14
4.7.1. <i>Candida</i> türleri	14
4.7.1.1. <i>Candida</i> türlerinin genel özellikleri	14
4.7.1.2. <i>Candida</i> türlerinin virülans faktörleri ve infeksiyon patogenezi	14
4.7.1.3. <i>Candida</i> türleri ile oluşan klinik tablolar	18
4.7.1.4. Risk grubunda bulunan hastalarda <i>Candida</i> türlerinin neden olduğu yüzeysel mikozlar	18
4.7.1.5. Risk grubunda bulunan hastalarda <i>Candida</i> türlerinin neden olduğu derin mikozlar	19
4.7.1.6. Risk grubunda bulunan hastalarda <i>Candida</i> türlerinin epidemiolojik dağılımı	20
4.7.2. Risk grubunda bulunan hastalarda <i>Candida</i> türleri dışında infeksiyon oluşturan mayalar ve oluşturdukları klinik tablolar	20
4.7.2.1. <i>Trichosporon</i> türleri	20
4.7.2.2. <i>Malassezia</i> türleri	21
4.7.2.3. <i>Geotrichum candidum</i>	21
4.7.2.4. <i>Rhodotorula</i> türleri	22
4.7.2.5. <i>Cryptococcus</i> türleri	22
4.8. Maya mantarlarının laboratuvar tanısı	22
4.9. Antifungal ilaçlar	25
4.9.1. Amfoterisin B	26
4.9.2. Azoller	27
4.9.3. Flusitozin (5-florositozin)	28
4.9.4. Glukan sentez inhibitörleri	29
4.9.5. Diğer antifungaller	29
4.10. Antifungal duyarlılık testleri	30

4.10.1. Dilüsyon temeline dayalı yöntemler	30
4.10.1.1. Buyyon makrodilüsyon yöntemi	30
4.10.1.2. Buyyon mikrodilüsyon yöntemi	31
4.10.1.3. Kolorimetrik mikrodilüsyon	31
4.10.1.4. Spektrofotometrik yöntem	31
4.10.1.5. Agar dilüsyon yöntemi	31
4.10.1.5.1. Yarı katı agar dilüsyon yöntemi	32
4.10.1.5.2. Agar tarama yöntemi	32
4.10.2. Difüzyon temeline dayalı yöntemler	32
4.10.2.1. Disk difüzyon yöntemi	32
4.10.2.2. E test yöntemi	33
4.10.3. Diğer yöntemler	33
4.10.3.1. Flovritometrik yöntem	33
4.10.3.2. Ergosterol kantitasyonu	33
5. GEREÇ VE YÖNTEM	34
5.1. İzolatlar	34
5.2. Maya türlerinin tanımlanması	34
5.2.1. Çimlenme borusu deneyi	34
5.2.2. Morfolojik özelliklerin incelenmesi	34
5.2.3. Üreaz deneyi	35
5.3. Antifungal duyarlılık deneyi	35
5.3.1. Besiyeri	35
5.3.2. Antifungal ilaçlar ve dilüsyonları	35
5.3.3. Maya inokulumlarının hazırlanması	36
5.3.4. İnkübasyon	36
5.3.5. Değerlendirme	37
6. BULGULAR	38
6.1. İdentifikasyon sonuçları	38
6.2. Antifungal duyarlılık sonuçları	42
7. TARTIŞMA	47
8. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
9. KAYNAKLAR	59

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Mantar hücre duvarında bulunan temel polisakkaridler	9
Tablo 2. Tıbbi önemi olan mantarların taksonomik şeması	11
Tablo 3. Başlıca mikoz tipleri ve etkenleri	12
Tablo 4. Risk grubunda bulunan hastalarda mantar infeksiyonlarını kolaylaştıran faktörler	13
Tablo 5. Soyutlanan maya mantarlarının klinik örneklerle göre dağılımı	38
Tablo 6. Örneklerin klinik bölümlere göre dağılımı	39
Tablo 7. Klinik örneklerden soyutlanan maya mantarlarının dağılımı	39
Tablo 8. Klinik örneklerden soyutlanan <i>Candida</i> türlerinin dağılımı	40
Tablo 9. Soyutlanan maya türlerinin klinik örneklerle göre dağılımı	41
Tablo 10. Buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen MİK aralıkları ile MİK ₅₀ ve MİK ₉₀ değerleri	44
Tablo 11. Çalışmaya alınan maya türlerinde antifungal ilaçlar için elde edilen MİK değerlerinin dağılımı	45
Tablo 12. <i>Candida</i> türlerinin direnç dağılımı	46
Tablo 13. Çeşitli çalışmalarda <i>Trichosporon</i> türleri için elde edilen değerler	56
Tablo 14. Çeşitli çalışmalarda <i>Candida</i> izolatları için flukonazol ile elde edilen değerler	56
Tablo 15. Çeşitli çalışmalarda <i>Candida</i> izolatları için itrakonazol ile elde edilen değerler	57
Tablo 16. Çeşitli çalışmalarda <i>Candida</i> izolatları için ketokonazol ile elde edilen değerler	57

KISALTMALAR

CDC:	Center for Disease Control
NNIS:	National Nosocomial Infection Surveillance
YBÜ:	Yoğun bakım ünitesi
MİK:	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
NCCLS:	National Committee for Clinical Laboratory Standards
SDA:	Sabouraud dekstroza agar
GİS:	Gastrointestinal sistem
Sap:	Sekretuar aspartik proteinaz
GÜS:	Genitoüriner sistem
SSS:	Santral sinir sistemi
PZT:	Polimeraz zincir tepkimesi
ITS:	Internal transcribed spacer
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
5-FC:	5-florositozin
MOPS:	Morfolinopropan sülfonik asit
DMSO:	Dimetil sülfoksit
KOÜ:	Koloni oluşturan ünite
D-BD:	Doza bağımlı duyarlı
AYB:	Anestezi yoğun bakım
DYB:	Dahiliye yoğun bakım
GKDC-YB:	Göğüs kalp damar cerrahisi yoğun bakım
KYB:	Koroner yoğun bakım
SSÖ:	Solunum sistemi örnekleri
NEMIS:	The National Epidemiology of Mycoses Survey

1. ÖZET

Yoğun Bakım Hastalarından İzole Edilen Mayalar ve Antifungal Ajanlara Duyarlılıkları

Gelişen dahili ve cerrahi sağaltım uygulamaları, organ nakilleri gibi yeni sağaltım teknikleri ve invaziv tanı girişimleri gibi nedenlerle fırsatçı mantar infeksiyonları yönünden risk grubuna giren hasta sayısı artmaktadır. Yoğun bakım üniteleri (YBÜ) en yüksek hastane infeksiyonları oranlarının saptandığı bölümlerdir. Bu bölümlerde yatan hastalar fırsatçı mantar infeksiyonları yönünden daha fazla risk altındadırlar. Bu infeksiyonlardan en sık soyutlanan etkenler *Candida* türleridir.

Maya türlerinin virülans ve antifungal ilaçlara direnç durumunda değişiklik göstermesi, YBÜ hastalarında mantar infeksiyonlarının yüksek mortalite ve morbiditeyle sonuçlanması gibi nedenlerle bu ünitelerdeki hastalardan soyutlanan maya izolatlarında tür dağılımı, duyarlılık paterni ve direnç oranlarının belirlenmesi önemlidir.

Çalışmamızda YBÜ hastalarına ait klinik örneklerden soyutlanan 113 maya izolatının tür tanımlaması, koloni görünümü, çimlenme borusu yapımı, mısır unu tween 80 agardaki görünüm ve üreaz aktivitesi araştırılarak yapılmıştır. Suşların amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve ketokonazole duyarlılıkları NCCLS M27-A standartlarına uygun olarak çalışılan mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Çalışmamızda yer alan 113 maya izolatının 55'i *C. albicans*, 22'si *C. glabrata*, 13'ü *C. tropicalis*, yedisi *Trichosporon spp.*, altısı *C. parapsilosis*, dördü *C. krusei*, üçü *C. guilliermondii*, ikisi *C. kefyr* ve biri *G. candidum* olarak tanımlanmıştır. Yapılan antifungal duyarlılık testlerinin sonuçlarına göre, suşlarımızda MİK değerleri amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol ve ketokonazol için sırası ile 0.06-1 µg/ml, 0.125-64 µg/ml, 0.015-8 µg/ml ve 0.03-8 µg/ml arasında belirlenmiştir. İzolatlarımızda amfoterisin B direnci saptanmazken

Candida türlerinde flukonazol ve itrakonazol direnci sırası ile %8.6 ve %13.3 oranlarında bulunmuştur.

Sonuç olarak, YBÜ hastalarından soyutlanan maya izolatlarının tanımlaması ve antifungal duyarlılık araştırmalarının gerekli olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamız verilerine göre amfoterisin B'nin halen etkin bir antifungal ilaç olduğunu söyleyebiliriz. *C. glabrata* türündeki artış ve bu türde azol grubu ilaçlara yüksek oranda direnç saptanmış olması önem taşımaktadır. *C. glabrata* dışındaki *Candida* türlerinde de azol direnci saptamamıza rağmen tür tanımlaması ile birlikte değerlendirildiğinde azol türevlerinin sağaltımda kullanılabileceğini görüşünderiz.

Anahtar kelimeler: Yoğun bakım ünitesi, maya mantarları, antifungal duyarlılık, mikrodilüsyon yöntemi

2. SUMMARY

Yeasts Isolated From Intensive Care Unit Patients and Their Susceptibilities Against Antifungal Agents

Due to the advances in medical and surgical treatment, new therapy technologies such as organ transplantations and invasive diagnostic methods, the number of the patients who are at risk for developing opportunistic fungal infections has increased. Intensive care units (ICU) are the services where the highest nosocomial infection rates are detected. Patients who are hospitalized in these services are at greater risk for developing opportunistic fungal infections. *Candida spp.* are the most frequent species that are isolated from these infections.

It is important to determine species distribution, susceptibility patterns and resistance rates of the yeast isolates recovered from ICU patients as yeast species show discrepancies about virulence and resistance to antifungal agents and cause infections with high mortality and morbidity.

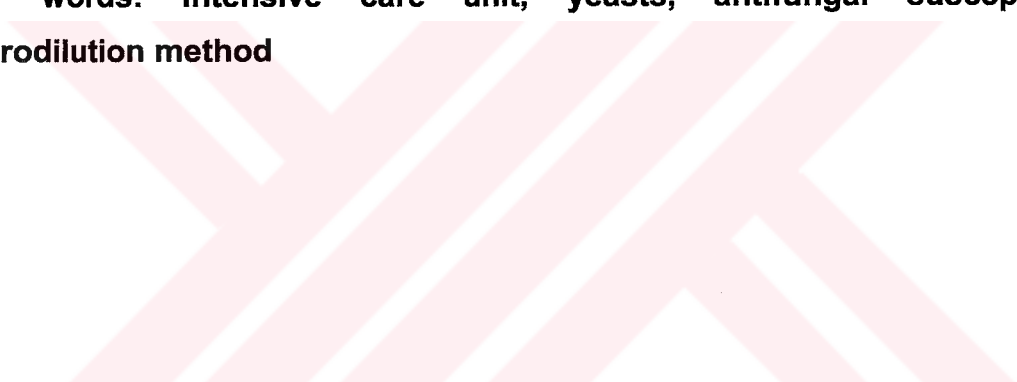
In our study, identification of 113 yeast isolates recovered from clinical specimens of ICU patients had been performed by investigating colony morphology, germ tube formation, microscopic morphology on corn meal agar with Tween 80 and activity of urease. Susceptibilities of the isolates to amphotericin B, fluconazole, itraconazole and ketoconazole had been determined with microdilution technique done according to the standards of NCCLS M27-A.

Fifty five of 113 yeast isolates had been identified as *C. albicans*, 22 as *C. glabrata*, 13 as *C. tropicalis*, seven as *Trichosporon spp.*, six as *C. parapsilosis*, four as *C. krusei*, three as *C. guilliermondii*, two as *C. kefir* and one as *G. candidum*. According to the results of antifungal susceptibility tests, MIC ranges for amphotericin B, fluconazole, itraconazole and ketoconazole were between 0.06-1 µg/ml, 0.125-64 µg/ml, 0.015-8 µg/ml and 0.03-8 µg/ml, respectively. While no resistance against amphotericin B had been detected among our isolates, the

resistance rates for fluconazole and itraconazole among *Candida spp* were 8.6% and 13.3% respectively.

As a result, we conclude that identification and detection of antifungal susceptibilities of the yeast isolates recovered from ICU patients are essential. According to our results, we can say that amphotericin B is still an effective antifungal agent. The increase in the incidence of *C. glabrata* isolation and the detection of high rate of resistance against azoles among this species are important. Although resistance against azoles were detected among *Candida* species other than *C. glabrata*, we think that azoles can still be used in treatment when it is evaluated together with identification results.

Key words: Intensive care unit, yeasts, antifungal susceptibility, microdilution method



3. GİRİŞ VE AMAÇ

Doğada yaklaşık 250000 civarında mantar türü bulunmasına rağmen bunlardan 150 kadarı insanlarda hastalık yapmaktadır (1). Ancak günümüzde giderek artan oranlarda antineoplastik ajanlar, antibiyotikler ve kortikosteroidlerin kullanılması, kemik iliği ve organ nakillerinin yapılması, invaziv tanı ve sağaltım girişimlerinin uygulanması ve AIDS hastalarının sayısının artması gibi nedenlerle immün sistemi baskılanarak risk grubuna giren hasta sayısı artmaktadır (2,3). Bu artışa paralel olarak infeksiyon nedeni olan mantar türü ve sayısı da yükselmektedir. Risk grubunda bulunan hastalarda görülen mantar infeksiyonları sıklıkla fırsatçı patojenlerle meydana gelmektedir (4). Bu infeksiyonların neredeyse tamamı hastane infeksiyonu şeklindedir. "Center for Disease Control" (CDC) verilerine göre tüm patojenlerle meydana gelen hastane infeksiyonlarında artış olsa da son yıllarda fungal etkenlerle ortaya çıkanlarda artış göreceli olarak daha fazladır (2). "National Nosocomial Infection Surveillance" (NNIS) verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri hastanelerinde, 1980-1990 yılları arasında fungal hastane infeksiyonlarının görülme sıklığı %0.2'den %0.4'e yükselmiştir (5). Fıratçı mikroorganizmalar içerisinde önemli bir yer tutan funguslar arasında en sık soyutlanan etkenler *Candida* türleridir (2). *Candida* türleri içerisinde *C. albicans* en sık görülen etken olmakla birlikte *albicans* dışı türlerde de artış izlenmektedir (6,7).

Risk grubunda bulunan hastalarda konak savunmasında oluşan yetersizlikler bu hastalarda artmış bir infeksiyon duyarlılığına neden olurken, primer hastalıkların tanı ve sağaltımına yönelik invaziv tıbbi girişimler de fırsatçı patojenlerin hastalık nedeni olmalarını kolaylaştırmaktadır. Sonuçta hastalar primer hastalıkları nedeniyle değil, sekonder olarak gelişen infeksiyonlar ile kaybedilmektedir (8).

En yüksek hastane infeksiyonu oranları yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) görülmektedir (3,9). Yetişkin ve pediatrik YBÜ'lerindeki hastane infeksiyonları oranlarının hastanelerin diğer birimlerindeki infeksiyon oranlarının üç katı olduğu bildirilmiştir (3). Hastanede yatan hastalar arasında fungal infeksiyonlar yönünden en fazla risk altına girenler YBÜ'lerindeki hastalardır. Bunun en önemli

nedenlerinden biri risk grubuna giren hastaların son dönemlerinde bu ünitelerde izlenmeleridir (10,11).

İmmün sistemi baskılanmış hasta grubunda diğer hastalara göre daha fazla oranda antifungal ilaçlara direnç görülmesi, bu hasta grubunda fungal infeksiyonlara bağlı mortalite ve morbidite oranlarının yüksek olması, doğru antifungal ilaçla hızlı olarak sağaltıma başlanmasının gerekliliği antifungal duyarlılık testlerini önemli hale getirmiştir. Ancak soyutlanan bütün fungal izolatlarla laboratuvarlarda rutin olarak duyarlılık testleri yapılmamaktadır. Antifungal duyarlılık testlerinin standardizasyonu ve in vivo-in vitro sonuçlar arasındaki uyum gibi konular halen araştırılmaktadır. Fungal infeksiyonların sıklığında artma, yeni antifungal ilaçları uygulama, terapötik ve toksik sınırları yakın olan bu ilaçlarda direnç gelişimini saptama gibi nedenlerden dolayı in vitro testler giderek önem kazanmaktadır (12-15). Her merkezin kendi hastanesinde yatmakta olan hastalardan soyutladığı suşlar için periyodik olarak duyarlılık paternlerini ve direnç oranlarını saptaması önerilmektedir (16). Böyle bir yaklaşım, epidemiyolojik çalışmalara yön verebilmekte ve ampirik sağaltım seçiminin daha doğru olmasına katkıda bulunmaktadır (17).

Antifungal duyarlılık testi için kullanılan yöntemler, buyyon makro ve mikro dilüsyon, kolorimetrik mikrodilüsyon, spektrofotometrik mikrodilüsyon, agar dilüsyon, disk difüzyon, E testi, flovsitometrik yöntemler ve ergosterol kantitasyonudur (18). Bu yöntemler içerisinde standardize edilmiş olanları "National Committee for Clinical Laboratory Standards" (NCCLS)'in önerdiği yöntemler olan buyyon makro ve mikrodilüsyon yöntemleridir (19,20). Diğer yöntemlerle, referans yöntemle değişen oranlarda uyumlu sonuçlar alınmakla birlikte henüz standardize edilememeleri nedeniyle bu metodlarla ilgili çalışmalar sürmektedir (21-24).

Çalışmamızda, hastanemizde, YBÜ'lerinde bulunan hastalardan soyutlanan maya türlerinin dağılımını ve de ampirik sağaltıma yön verebilmek amacı ile soyutladığımız izolatlarda amphotericin B ve azol grubu ilaçların minimum inhibisyon konsantrasyonlarını (MİK) saptayarak duyarlılık paternleri ile direnç oranlarını belirlemeyi amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Tarihçe

Mantarlar, yenilebilir mantarların görülebilmeleri için mikroskop gerektirmemeleri nedeniyle ilk tanınan mikroorganizmalardan olmuşlardır. Mikoloji kelimesi Yunanca yenilebilir mantar anlamına gelen “mykes” kelimesinden türetilmiştir (1). Vedas (M.Ö. 1200), mantarların bitkiler üzerinde üreyerek bitkilere zarar verdiğini belirtmiştir. Roma İmparatorluğu döneminde Pliny (M.S. 23-79), depolarda bulunan tahıllarda mantar ürediğini bildirmektedir. Loncier, *Claviceps purpurea*'nın Sclerotium formunu tanımlamış ve morfolojik özellikleri ile ilgili bilgiler vermiştir. Mantarlar üzerinde araştırmalar yapan Gaspard Bauhin (1560-1624), eserinde 100 kadar mantarın özelliklerini anlatmıştır. Marcello Malpighi (1628-1694), *Rhizopus*, *Mucor* ve *Penicillium* mantarları üzerinde çalışmalar yapmıştır. Tournefort (1656-1708), çeşitli mantarlar ve likenleri özelliklerine göre altı gruba ayırmıştır (25). *Aspergillus* ilk kez Micheli (1729) tarafından tanımlanmakla birlikte insanlarla ilişkilendirilmeleri ilk kez 19. yüzyıl ortalarında olmuştur (26). Bir çok araştırmacı mantarların sınıflaması için çalışmalar yapmıştır. Ancak bugünkü mantar sistematığının esasını Elias Fries (1794-1878) kurmuştur (25). Ağızdaki pamukçuk lezyonları Hippocrates ve Galen dönemlerinden beri bilinmektedir. Berg (1841), pamukçuğun mantara bağlı geliştiğini ortaya koymuştur. Bu organizmaya Rubin (1843) *Oidium albicans*, Zapf (1890) *Monilia albicans* ve en son Berkhout (1923) *Candida albicans* adını vermiştir. *Candida* ile oluşan derin infeksiyon olgusunu ilk kez Zenker (1861) tanımlamıştır. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımıyla birlikte 1940'lı yıllarda *Candida* infeksiyonlarının önemi artmıştır (27). Yirminci yüzyıl ortalarında invaziv aspergilloz ilk kez fırsatçı infeksiyon olarak tanımlanmıştır (26).

4.2. Yapı ve biyokimyasal özellikleri

Mantarların doğal olarak buldukları ortamlar su, toprak ve çürümekte olan organik artıklardır. Çoğu zorunlu veya fakültatif aeroptur. Fotosentez yapmayıp besinlerini doğada bulunan kimyasallardan elde ederler (28).

Mantarlar, maya ve küf olmak üzere iki temel morfolojik formda gelişirler. Maya formu mantarların tek hücreli gelişimini yansıtır. Yuvarlak veya elipsoit şekilli olup, 3-15 µm çaptadırlar. Çoğunluğu tomurcuklanarak ürer ve bu oluşuma blastokonidya denir. Katı besiyerinde opak, yumuşak kıvamlı ve sıklıkla krem renkli koloniler oluştururlar (1,28). Küf formu çok hücreli, filamentöz kolonilerin olduğu gelişme formunu yansıtır. Bu koloniler 2-10 µm çapta dallanan ve hif adı verilen silindirik tubullerden oluşur. Besiyerlerinde türlere göre farklı renk ve görünümüler oluştururlar (28).

Mantar türlerinin çoğunluğu sadece maya veya küf olarak gelişirken, bazı dimorfik türler çevre şartlarına göre her iki formda da gelişebilirler. Bazı patojenik mantarlar 37⁰C'de maya, 25⁰C-30⁰C'de küf formunda gelişerek termal dimorfizm gösterirler (28,29).

Tüm mantar hücreleri, en az bir nukleus, nukleus mebranı, endoplazmik retikulum ve mitokondri içerir. Gerek mayalarda gerekse küflerde hücreler sıklıkla birden fazla nukleus içerirler. Çoğu mantar hücrelerinin sert bir hücre duvarı vardır ve bazıları flagellalarıyla hareketli hücrelerdir. Bazı yüksek mantarlar doku ve daha özelleşmiş yapılar oluştururlar (1,28,30).

Bazı mantarlarda hücrenin dış yüzünü kaplayan bir salgı veya tam bir kapsül bulunabilir. Kapsül temel olarak amorfik polisakkaritlerden oluşur. Adezyonu ve hücrelerin bir arada bulunmasını sağlar (28).

Hücre duvarı mantarın temel yapılarından ve mantarın kuru ağırlığının yaklaşık %15-%30'unu oluşturur. Hücreye dayanıklılık sağlar. Hücre duvarının %80'ninden fazlası karbonhidratlardan oluşur (28,30). Farklı mantar türlerinin hücre duvarlarında birkaç çeşit polisakkaritin değişik kombinasyonları görülmektedir. Hücre duvarındaki temel polisakkaritler Tablo 1' de belirtilmiştir (28).

Tablo 1. Mantar hücre duvarında bulunan temel polisakkaridler

Polimer	Monomer
Kitin	N-asetilglukozamin
Kitozan	D-glukozamin
Sellüloz	D-glukoz
β -Glukan	D-glukoz
α -Glukan	D-glukoz
Mannan	D-manoz

Protein ve glikoproteinler, hücre duvarının kalan kısmını oluştururlar. Bunlar enzimler ve polisakkarit zincirleri arasındaki bağlantıları sağlayan yapılardır. Hücre duvarı mantarların serolojik tanısında önemlidir (28,31).

Mantarların iki tabakalı hücre zarı sitoplazmayı korur, sıvıların alınımı ve atılımını düzenler ve hücre duvarı ile kapsül sentezini kolaylaştırır. Diğer ökaryotlardakine benzer şekilde sterol içerir. Hücre zarındaki başlıca steroller ergosterol ve zimosteroldür (28).

Bir çok mantar türünün sitoplazmasında, içerisinde hidrolitik enzimlerin, iyonların ve metabolitlerin bulunduğu vakuoller bulunur. Mitokondrileri bitki ve hayvan hücrelerinde bulunanlara benzer ve sayısı hücrenin aktivitesine bağlı olarak değişir. Sitoplazmada, çoğunluğunu çift iplikli RNA virüslerinin oluşturduğu mantar plazmidleri ve diğer kromozom dışı genetik yapılar bulunmaktadır. Ayrıca sitoplazmada endoplazmik retikulum ve 80S yapısında ribozom yer alır (28).

4.3. Mantarların üremesi

4.3.1. Eşeysiz üreme

Tek bir ana hücrenin mitoz bölünmesi ile oluşur. Bu üreme şeklinde mayalar eşeysiz sporlarla, hifler ise vejetatif olarak çoğalmaktadır. Eşeysiz üremede dış ortam şartlarına daha dirençli olan spora gereksinim duyulur. Konidiyum temel eşeysiz üreme sporudur ve tallik ve blastik konidiyum olarak ikiye ayrılır. Tallik konidiyumlar bir hiften köken alarak enine septumlarla tek hücreler şekline dönüşen konidiyumlardır. Klamidokonidiyum ve artrokonidiyum şeklinde görülürler. Blastik konidiyumlar bir ana hücreden veya hifin ucundan köken alırlar.

Fiyalokonidyum, makro ve mikrokonidyum şeklinde görülürler. Bir diğer eşeysiz üreme sporu ise sporangiyokonidyumdur (28,31).

4.3.2. Eşeyli üreme

İki haploid yapıdaki mantar hücresinin bir araya gelmesi (plazmogami) ile başlayan süreç nükleusların füzyonu (karyogami) ve çekirdeğin mayoz bölünmesi ile sürer. Sonuçta haploid hücre oluşur. Askospor, bazidiyospor ve zigospor eşeyli üreme şekilleridir (28,31).

4.4. Mantarların sınıflandırılması

Mantarlar ilk önce bitkiler içerisinde sınıflanmışlar ancak daha sonra hücre yapısına göre canlıların beşinci alemi olarak kabul edilmişlerdir (1,31). Mantarların isimlendirilmesi "International Code of Botanical Nomenclature" tarafından yürütülmektedir (1). Mantarlar eşeyli üreme biçimleri, yaşam döngüleri, yapıları ve fizyolojik özelliklerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Eşeyli üremeleri saptanan mantarlar *Zygomycota*, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* filumları içerisinde incelenirler. Eşeyli üremesi saptanmamış olanlar ise *Deuteromycota* (*Fungi imperfecti*) filumu içerisinde yer alırlar (1,29,31). Tıbbi önemi olan mantarların taksonomik sınıflaması tablo 2' de gösterilmiştir (1,29).

Tablo 2. Tıbbi önemi olan mantarların taksonomik şeması

<ul style="list-style-type: none"> • Bölüm: <i>Zygomycota</i> Sınıf: <i>Zygomycetes</i> Takım: <i>Mucorales</i> Cins: <i>Rhizopus, Mucor, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella, Saksenaea</i> Takım: <i>Entomophthorales</i> Cins: <i>Basidiobolus, Conidiobolus</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Bölüm: <i>Ascomycota</i> Sınıf: <i>Ascomycetes</i> Takım: <i>Saccharomycetales.</i> Cins: <i>Saccharomyces, Pichia, bazı Candida türlerinin telemorfları</i> Takım: <i>Onygenales</i> Cins: <i>Arthroderma (Trichophyton ve Microsporum türlerinin telemorfları)</i> <i>Ajellomyces (Histoplasma ve Blastomyces türlerinin telemorfları)</i> Takım: <i>Eurotiales</i> Cins: <i>Bazı Aspergillus ve Penicillium türlerinin telemorfları</i> Takım: <i>Microascales</i> Cins: <i>Pseudallescheria boydii, Scedosporium apiospermum telemorfları</i> Takım: <i>Pyrenomycetes</i> Cins: <i>Nectria, Gibberella, bir çok Fusarium türünün telemorfları</i> Sınıf: <i>Archiascomycetes</i> Takım: <i>Pneumocystidales</i> Cins: <i>Pneumocystis carinii</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Bölüm: <i>Basidiomycota</i> Sınıf: <i>Basidiomycetes</i> Takım: <i>Agaricales</i> Cins: <i>Amanita, Agaricus</i> Takım: <i>Tremellales</i> Cins: <i>Filobasidiella, Cryptococcus neoformans telemorfları</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Bölüm: <i>Deuteromycota</i> Sınıf: <i>Deuteromycetes</i> Takım: <i>Cryptococcales</i> Cins: <i>Candida, Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia</i> Takım: <i>Moniliales</i> Aile: <i>Moniciliaceae</i> Cins: <i>Epidermophyton, Coccidioides, Paracoccidioides, Sporothrix,</i> <i>Aspergillus</i> Aile: <i>Dematiaceae</i> Cins: <i>Philaphora, Fonsecaea, Exophiala, Wangiella, Cladophialophora,</i> <i>Bipolaris, Exserohilum, Alternaria</i> Takım: <i>Sphaeropsidales</i> Cins: <i>Phoma</i>

4.5. Mantarların neden olduğu infeksiyonlar

İnsanlarda hastalık etkeni olan mantarlar vücutta yerleştikleri bölgeye göre yüzeysel, cilt, ciltaltı, sistemik ve fırsatçı mikozlar olarak sınıflandırılabilir (30,32). Başlıca mikoz tipleri, görüldükleri vücut bölgeleri ve etkenler tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Başlıca mikoz tipleri ve etkenleri

Mikoz tipi	Etkenler :
Yüzeysel mikozlar	<i>Malassezia furfur</i> <i>Exophiala wernecki</i> <i>Trichosporon beigeli</i> <i>Piedraia hortae</i>
Cilt mikozları	<i>Microsporum spp.</i> <i>Trichophyton spp.</i> <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Candida spp.</i>
Ciltaltı mikozları	<i>Sporothrix schenckii</i> <i>Phialophora verrucosa</i> <i>Fonsecaea pedrosoi</i> <i>Pseudoallescheria boydii</i> <i>Madurella mycetomatis</i>
Sistemik mikozlar	<i>Coccidioides immitis</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
Fırsatçı mikozlar	<i>Candida spp.</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Rhizopus spp.</i> <i>Absidia spp.</i> <i>Mucor spp.</i> diğer <i>Zygomycetes</i> cinsleri

Mantar infeksiyonları, epidemiolojik olarak toplumda ve hastanede yatan hastalarda görülen infeksiyonlar olarak iki grupta incelenebilir. Fungal hastalıklarda kişiden kişiye bulaş nadir olduğu için toplum kaynaklı fungal infeksiyonlar epidemi yapmaya eğilimli değildir. Ancak bazı endemik bölgelerden histoplazmoz, koksidioidomikoz ve blastomikoz olguları rapor edilmiştir. Düşük virülanslı *Aspergillus* ve *Cryptococcus* türleri doğal ortamda yaygın olarak bulunmalarına

rağmen sağlıklı kişilerde ancak çok sayıda bulaş olursa hastalık yapabilirler. Hastanede yatan hastalarda görülen mantar infeksiyonları çoğu kez fırsatçı fungal patojenler ile oluşmaktadır. Fırsatçı mantar infeksiyonları hastane dışında da gelişebilirse de çoğunlukla hastane infeksiyonları şeklindedir (33).

4.6. Risk grubunda bulunan hastalarda fungal infeksiyonları kolaylaştıran faktörler

İmmun sistemi baskılanmış, invaziv tanı ve sağaltım girişimleri yapılan ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar mantar infeksiyonları yönünden risk grubuna girmektedirler (2-4). Risk grubunda bulunan hastalarda mantar infeksiyonlarını kolaylaştıran faktörler tablo 4'te belirtilmiştir (2-4,10).

Tablo 4. Risk grubunda bulunan hastalarda mantar infeksiyonlarını kolaylaştıran faktörler

<ul style="list-style-type: none"> • Uzun süreli antibiyotik kullanımı • Kortikosteroidler • Kemoterapi • Antasidler • Nötropeni • Hematolojik malignite veya solid organ malignitesi • Önceki kolonizasyon • Santral venöz kateter, stentler • İdrar sondası • Total parenteral nutrisyon • Mekanik ventilasyon • Büyük operasyon ve geniş yanık • Malnutrisyon • Hemodiyaliz • Yoğun bakım ünitesinde uzun süre kalma
--

YBÜ'lerinde bulunan hastalar, bu ünitelerde en fazla hastane infeksiyonlarının görülmesi, invaziv cihaz ve girişimlere daha fazla maruz kalınması, yüksek oranlarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanılması ve risk grubuna giren hastaların son dönemlerinde bu ünitelerde izlenmesi nedenleriyle diğer bölümlerde yatan hastalara göre mantar infeksiyonları yönünden daha fazla risk taşımaktadır (3,9-11).

4.7. Risk grubunda bulunan hastalarda infeksiyon etkeni olan maya mantarları ve oluşturdıkları klinik tablolar

4.7.1. *Candida* türleri

4.7.1.1. *Candida* türlerinin genel özellikleri

Candida türleri 3-6 µm büyüklüğünde, ince duvarlı, kapsülsüz, tomurcuklanarak üreyen mantarlardır. Kanlı agar, Sabouraud dekstroz agar (SDA) gibi rutin besiyerlerinde, oda ısısı (22⁰-26⁰C) ve 37⁰C'de kolaylıkla ürerler. Kolonileri yumuşak kıvamlı, düzgün yüzeyli ve kirli beyaz renktedir (6,27). Heterojen bir cins olan *Candida* cinsinin türleri arasındaki taksonomik ilişkiler tam olarak tanımlanamamıştır. Fazla sayıdaki telemorfik ilişkiler *Candida* cinsinin ilişkisiz türlerden oluştuğunu göstermektedir (34). Yüz elliden fazla *Candida* türü bulunmasına rağmen bunların az bir kısmı insanlarda hastalık oluşturur. *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* (*C. pseudotropicalis*), *C. lusitaniae*, *C. glabrata* (*Torulopsis glabrata*) ve *C. dubliniensis* daha sık izole edilen türlerdir (27).

Candida türleri insan deri, gastrointestinal sistem (GİS), solunum sistemi ve kadınlarda genital sistem mukozalarında normal flora üyesi olarak bulunmaktadır. Hastane personelinin derisinde taşıyıcılık yüksek oranlarda görülmektedir. GİS'de en sık saptanan tür *C. albicans*' tır. Bunu *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata* izler. *Candida* türleri, klinik örneklerde kolonizasyon, gerçek infeksiyon ve çevresel kontaminasyona bağlı olarak bulunabilir. İnfeksiyonları çoğunlukla endojen kaynaklı olmalarına rağmen kişiden kişiye geçiş de mümkündür (27,34).

4.7.1.2. *Candida* türlerinin virülans faktörleri ve infeksiyon patogenezi

Candida türlerinin virülans faktörleri çimlenme borusu oluşturma, ekstrasellüler matriks proteinlerine adezyonu sağlayan yüzey integrin benzeri molekülleri, "slime" yapımı, sideroforları kullanabilme, proteaz, fosfolipaz, hiyalüronidaz, kondroitin fosfataz, kitinaz, esteraz, glukoamilaz, lipaz enzimleri,

endotoksin benzeri aktivite, morfolojik dimorfizm, antijenik çeşitlilik, moleküler benzeme, fenotipik değişim ve hücre duvar bileşenleridir (27,34-36). Bu virülans faktörleri kandida infeksiyonlarının oluşmasında önemlidir. Ancak fırsatçı mantar infeksiyonlarında konağa ait faktörler daha ön plana çıkmaktadır (37).

Kandidaların oral, vaginal epitel hücrelerine, fibronektine, endotele, trombosit fibrin pıhtılarına, akrilik ve plastik materyale adezyonu patogeneizde önemli bir basamaktır (27,29,36,38). *C. albicans*'ın çimlenme borusu oluşturması adezyonu kolaylaştırır da adezyon için zorunluluk değildir. Adezyon; maya hücresi yüzey hidrofobisitesi, mayanın fenotipi, pH, ısı, hamilelik, diabet ve konak florasında bulunan diğer mikroorganizmalar gibi faktörlerden etkilenmektedir (36).

"Slime" yapımı kandidaların katetere bağlı infeksiyonlarında önemli bir faktördür. Katetere adherans ve kolonizasyonda "slime" yapma özelliği, konağa ait fibrin ve fibronektinle birlikte hareket eder (35). Yapılan çalışmalarda yüksek oranda "slime" üretimi saptanan *C. parapsilosis*, bu özelliği nedeniyle biyomedikal aletlere bağlı infeksiyonlarda dikkat çekmektedir (39). Glukoz içeren solüsyonlarda *C. lipolytica*'nın "slime" yapımını gerçekleştirdiği ve kateter ile ilişkili kandidemi yapabildiği gösterilmiştir (40).

Candida türleri üremeleri için gerekli olan demiri, hem kendi sideroforlarından hem de kandidalara ait olmayan sideroforlardan alarak kullanabilmektedirler (41).

Candida türlerinin salgıladıkları enzimler, dokulara yayılmasına yardım etmektedir. Bu enzimlerden proteinaz ve fosfolipazın patojenitede önemi daha fazladır. İlk olarak Staib tarafından saptanan hücre dışı proteinazı, moleküler yöntemlerin kullanılmaya başlanması ile araştırılmış ve sekretuar aspartik proteinazın (Sap) salgılanmasının on üyeden oluşan SAP adı verilen bir gen ailesi tarafından kontrol edildiği ortaya konmuştur. SAP gen ailesinin *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. dubliniensis* gibi patojen türlerde bulunması, *Saccharomyces cerevisiae* gibi patojen olmayan mayalarda bulunmaması patojenite ile ilgisini göstermektedir (42). AIDS hastalarının sağaltımında kullanılan HIV-proteaz inhibitörlerinin, Sap enzimlerini inhibe ederek *C. albicans*'ın adezyonunu azalttığı gösterilmesi ve bu sağaltımı alan AIDS hastalarında orofaringeal kandidoza daha az rastlanması, Sap enzimlerinin önemini

vurgulamaktadır (43). Yapılan bir başka çalışmada, semptomatik AIDS hastalarının oral kavitelelerinden elde edilen *C. albicans* izolatlarının salgıladığı aspartik proteinazın, sağlıklı kişilerden elde edilen izolatların salgıladığı miktardan sekiz kat daha fazla olduğu bulunmuştur (44). Sap enziminin temel işlevlerinden biri konak proteinlerini parçalayarak nitrojen sağlamaktır (36,42). Bu enzimlerin, konak hücre yüzey yapılarını ve hücreler arası yapıları parçalayarak mikroorganizmanın adezyon ile invazyonunda ve konak immun sistem hücrelerini parçalayarak konak savunmasından kaçışında rol aldığı bildirilmektedir (42,45). Keratin, kollajen, laminin, fibronektin, müsin gibi hücre dışı matriks ve hücre yüzey proteinlerinin; laktoferrin, α -makroglobulin makrofaj enzimleri gibi konak savunma proteinlerinin ve immunglobulinlerin özellikle Sap2 enzimi tarafından parçalandığı belirtilmektedir (36,42).

Fosfolipaz enzimi konak hücre zarındaki fosfolipitleri hidrolize ederek hücreye zarar verir. Fosfolipaz aktivitesi en çok *C. albicans*' ta görülmekle birlikte, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* ve *C. krusei* türlerinde de saptanmıştır (46).

C. albicans'ın hücre duvarında bulunan glikoproteinlerin endotoksin benzeri aktiviteleri vardır. Ancak bu etki bakteri endotoksinlerinde olduğu kadar güçlü değildir (36).

Hif formu ve çimlenme borusu, blastosporlara göre dokuya girişi daha çok kolaylaştırmaktadır. Maya formu da epitele invaze olabilmektedir. Bu morfolojik değişim yeteneği kandidalara avantaj sağlamaktadır (35,47). İnfeksiyon sırasında *C. albicans*'ın hücre yüzey antijenlerinde değişiklik oluşması organizmayı immun yanıtıtan korumaktadır (48).

Kronik mukokutanöz kandidozlu hastalarda tek sarmallı DNA'ya karşı, kronik vaginal kandidozlu hastalarda overler ve timusa karşı ve dissemine kandidozlu hastalarda ısı şok proteinine karşı antikorlar saptandığı belirtilmektedir. *C. albicans*'ın, C3 fragmanı iC3b için yüzey reseptörleri eksprese ettiği, CD11b/CD18 ile yapısal olarak ilişkili protein sentezlediği ve *C. albicans*'ın bir başka proteininin ise monosit antijenine özgü bir monoklonal antikor (MY9) ile reaksiyona girdiği bildirilmiştir. Tüm bu veriler, *Candida* türlerinin moleküler

benzeme yolu ile de patogeneizde avantaj sağladıkları görüşünü desteklemektedir (35,49).

Candida türlerinin hücre duvar yapısında bulunan mannan, adezyonu kolaylaştırmakta ve hücrel yanıtı bozarak immun sistemi baskılamaktadır (47,50).

Kutanöz kandidoza karşı en önemli konak savunma mekanizması sağlam deri bütünlüğüdür. Deri yaralanmasına neden olan olaylar sağlıklı bireylerde dahi kutanöz kandidoza neden olabilir. *Candida* infeksiyonlarına karşı konak savunmasında en önemli rolü, yalancı hifleri parçalayabilme, blastosporları fagosite ederek öldürebilme özelliklerinden dolayı polimorf nüveli lökositler oynamaktadır. Monosit ve eozinofillerin *Candida* türlerini öldürebilme özellikleri vardır. Trombositlerin de *Candida* türlerine karşı etkileri bulunmaktadır (27). Bazı *C. albicans* suşlarının trombositlerden salgılanan mikrobisidial proteinlere karşı diğer suşlardan daha duyarlı olduğu tavşanlarda yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (51). Serum ve plazma, antikör içermelerine rağmen tek başlarına *Candida* hücrelerini öldürememektedirler. Myeloperoksidaz, hidrojen peroksit ve süperoksit anyon sistemleri *C. albicans*'ın hücre içi öldürülmesinden sorumlu temel sistemlerdir. Ferröz iyon-hidrojen peroksit-iodit sistemi ve kimotripsin benzeri katyonik proteinler de hücre içi öldürmede yer alırlar. Doku makrofajlarının da konak savunmasında rolü bulunmaktadır. Kronik mukokutanöz kandidozlu hastaların lenfositlerinde fonksiyon bozukluklarının saptanması ve AIDS hastalarının kutanöz kandidoza duyarlı olmaları konak savunmasında lenfositlerin de yer aldığını göstermektedir. Lenfosit yanıtını etkileyen en önemli hücre yapısı mannandır (27).

Isı stabil ve ısı labil serum opsoninlerinin *C. albicans*'ın nötrofiller tarafından sindirilmesini kolaylaştırması ve immunoglobulin G'nin *C. albicans*'ı opsonize etmesi, *Candida* infeksiyonlarında sıvısal bağışıklığın da önemli olduğunu göstermektedir. Serum demir bağlayan proteinlerin *Candida* gelişiminde rolü olan demiri bağlayarak hücrenin büyümesini engellediği bilinmektedir. *Candida* blastosporlarının optimal opsonizasyonu için komplemanın gerekliliği ve C3b'nin blastosporlara bağlandığı in-vitro olarak gösterilmiştir. *Candida* tarafından hem

klasik hem de alternatif yollar uyarılmakla birlikte daha önemli olan alternatif yoldur (27).

Candida canlı dokuya girdikten sonra mikroapseler oluşabilir. Dokuda hem maya hem de hif formları bulunur. İlk hücrel yanıt granülositlerle verilir. Histiyositler, dev hücreler ve epiteloid hücreler inflame bölgeye ilk gelen hücrelerdir (27). Sonuçta granülamatöz yangı oluşur. İmmun sistemi baskılanmış hastalarda inflamatuvar yanıt en düşük düzeyde olabilir veya hiç izlenmez (6,27).

4.7.1.3. *Candida* türleri ile oluşan klinik tablolar

Candida türleri başta GİS olmak üzere normal florada bulunduğundan infeksiyonlar çoğunlukla endojen kaynaklıdır. İnfeksiyondan önce florada bulunan kandidalar sayıca artış göstererek kolonize olur ve ardından infeksiyon gelişir. Ancak özellikle hastane infeksiyonlarında ekzojen kaynaktan da bulaş olabilmektedir. *Candida* türleri ile oluşan klinik tablolar yüzeysel ve derin infeksiyonlar olarak iki grupta incelenir. Yüzeysel kandidozlar deri ve mukozaların, derin kandidozlar ise iç organ ve sistemlerin infeksiyonlarıdır (6,27).

Candida türleri, toplumda özellikle nemli kıvrım yerlerinde yüzeysel mikozlar ile onikomikoz, yenidoğan ve diş protezi kullananlarda oral lezyonlar ve kadınlarda vajinite neden olmaktadır. Ancak bu hastalıklar önemli morbidite ve mortalite nedeni oluşturmazlar. *Candida* türleri, risk grubunda bulunan hastalarda ise lokal ve sistemik ciddi mikozlara neden olurlar (52). *Candida*ların mukokutanöz infeksiyonları çoğunlukla hücrel bağışıklıktaki sorunlara bağlıyken, sistemik formu daha çok nötropeniye bağlıdır (34).

4.7.1.4. Risk grubunda bulunan hastalarda *Candida* türlerinin neden olduğu yüzeysel mikozlar

Yüzeysel mikozlar arasında en sık görülen infeksiyon orofaringeal kandidozlardır (52). Bu infeksiyon özellikle inhalar steroid kullananlar, kanser ve AIDS hastalarında gözlenmektedir (27). Orofaringeal kandidoz, mukozanın antibiyotiklerle florasının değişmesi ve sitotoksik ilaçlarla zedelenmesi sonucu

kolonizasyonu takiben gelişir. Lezyonun ilerlemesi ile özofagus, larinks, trakea ve GİS mukozasında da lezyonlar görülebilir (52). Özofajit, ağızda lezyon bulunmadan da gelişebilmektedir (27).

GİS'in özofagus dışındaki bölümlerinde, kandidoz en sık kanser hastalarında görülür. Bu hastaların yapılan otopsilerinde, GİS'te özofagustan sonra en sık yerleşimin midede olduğu izlenmiştir (27).

Sistemik kandidozun deri lezyonları makronodüler lezyonlar şeklinde olup nötropenik hastalarda daha sıktır (27).

4.7.1.5. Risk grubunda bulunan hastalarda *Candida* türlerinin neden olduğu derin mikozlar

Üriner sistem kandidozu, üretral kateterli, geniş spektrumlu antibiyotik kullanan, kortikosteroid sağaltımı alan ve uzun süredir hastanede yatan hastalarda görülmektedir (52). YBÜ'lerinde kandidalara bağlı üriner sistem infeksiyonları son iki dekatta belirgin şekilde artmıştır ve bu ünitelerdeki hastane kökenli kandidürilerin %25'inde *Candida* türleri etken olarak saptanmıştır (11,52). Ancak bu ünitelerde yatan hastalarda koloni sayısı, kolonizasyon ile infeksiyonu ayırmada yeterli olmamaktadır (52).

Kandidemi, YBÜ'lerinde uzun süre kalan hastalarda hayatı tehdit eden infeksiyonlardan biridir (11). Kandidemi görülme sıklığı, risk grubuna giren hasta sayısının ve intravasküler kateter kullanımının artmasına paralel olarak artmıştır. Zedelenmiş damar endoteli ve kateterlere *Candida* adheransı, bu hastaları kandidemilere duyarlı hale getirmektedir (27).

Risk grubunda bulunan hastalarda organ tutulumları daha çok sistemik kandidoz ile birlikte görülür. Sıklıkla fokal odaktaki kolonizasyonu takiben etkenin kana karışması ile sistemik infeksiyon gelişir (27,52). Dissemine kandidoz daha sık olarak neoplastik hasta grubu içerisinde akut lösemililerde; büyük operasyon geçiren hasta grubu içerisinde organ nakli, kalp ve GİS operasyonu geçirenlerde ve ağır yanıklı hastalarda görülmektedir. Bu tablolarda, böbrek, beyin, miyokard ve göz tutulumu daha sık olmakla beraber akciğer, GİS, endokrin bezler ve deri

tutulumu da gözlenmektedir. İmmun sistemi baskılayıcı sağaltım gören kanser hastalarında karaciğer ve dalak tutulumunda artış izlenmektedir (27).

4.7.1.6. Risk grubunda bulunan hastalarda *Candida* türlerinin epidemiolojik dağılımı

C. albicans risk grubunda bulunan hastalardan en çok soyutlanan tür olup, ekzojen ve endojen kaynaklı infeksiyonlara neden olmaktadır. Yüksek virülanslı bir tür olan *C. tropicalis* ise özellikle gastrointestinal kolonizasyona bağlı invaziv infeksiyonlar yapmaktadır. Bunun yanında, ekzojen kaynaklı infeksiyonlara da neden olur (52). *C. glabrata*'ya bağlı kandidemiler, solit tümörlü hastalar ve onkoloji dışı hastalarda saptanmaktadır (52,53). Flukonazol profilaksisi alan hastalarda bu türün kolonizasyonu kolaylaşmaktadır. Kolonizasyon daha çok genitoüriner sistem (GÜS), solunum yolları ve cerrahi yaralarda söz konusu olmaktadır. Ancak düşük virülanslı olması nedeniyle bu türe bağlı invaziv infeksiyon nadir görülür. *C. parapsilosis* nozokomiyal özelliği en fazla olan *Candida* türüdür. *C. parapsilosis* tıbbi girişimler için kullanılan cihazlar ve hiperalimentasyon gibi nedenlerle ekzojen infeksiyonlara neden olur (52). *C. krusei* genellikle GİS'te kolonize olur ve çoğunlukla hematolojik maligniteli hastalarda görülür (52,53). *C. lusitaniae* daha çok immün sistemi baskılanmış hastalarda, solunum yolları ve GÜS'de endojen kaynaklı infeksiyonlar yapar. *C. albicans* ve *C. parapsilosis* ekzojen nozokomiyal geçişte ön plana çıkan türlerdir. *C. tropicalis* ve *C. lusitaniae* türlerine bağlı sınırlı epidemiler de bildirilmiştir. *C. glabrata* ve *C. krusei* ise endojen infeksiyonlara yol açan türler olarak ilk sıralarda yer almaktadır (52).

4.7.2. Risk grubunda bulunan hastalarda *Candida* türleri dışında infeksiyon oluşturan mayalar ve oluşturdukları klinik tablolar

4.7.2.1. *Trichosporon* türleri

Trichosporon türleri doğada ve GİS, üriner sistem ve de deri normal florasında bulunmaktadır (54,55). Taksonomide yapılan son değişikliklerle

insanlarda yüzeysel infeksiyonlara neden olanlar *Trichosporon asteroides* ve *Trichosporon cutaneum*; beyaz piedraaya neden olanlar ise *Trichosporon ovoides* ve *Trichosporon inkin* olarak isimlendirilmiştir. İnvaziv infeksiyonlara neden olanlar *Trichosporon asahii* ve *Trichosporon mucoides* olarak ayrılmıştır. Ancak halen klinik laboratuvarlarda, çoğunlukla *Trichosporon beigellii* olarak tanımlanmaktadır (34,54,56,57).

Bu türün yol açtığı nadir görülen invaziv infeksiyonlar, özellikle akut lösemili nötroopenik hastaları ve kortikosteroid sağaltımı alanları tutmaktadır. AIDS hastaları, organ nakli geçiren, solit tümörlü, protez kalp kapağı taşıyan, yanıklı, kateterli, kronik periton diyalizi olan hastalarda da gözlenmektedir (53-55). Sistemik trikosporonoz kandidoza benzer (4,55). Bu infeksiyonda fungemi, fungüri, deri, göz, dalak ve karaciğer tutulumu olabilmektedir (55). *Trichosporon* türlerinin göreceli olarak amfoterisin B'ye daha dirençli olması, bu mikroorganizmanın risk grubunda bulunan hastalarda önemini arttırmaktadır (53).

4.7.2.2. *Malassezia* türleri

Malassezia türleri normal deri florasında bulunan, lipofilik özelliği olan maya benzeri mantarlardır. İmmun sistemi normal olan kişilerde tinea versicolor infeksiyonuna neden olurlar. *Malassezia furfur* özellikle YBÜ'lerinde uzun süre kalan yenidoğanlarda, santral intravasküler kateter ile lipit içeren solüsyonların verilmesi nedeniyle fungemiler yapar. Seyrek olarak akciğer, periton ve diğer organlarda da tutulum olur. Bu mantar, immün sistemi baskılanmış kişiler ve kanser hastalarında da fırsatçı infeksiyonlara neden olabilir. Daha nadir olarak *Malassezia pachydermatis* de benzer tablolara yol açabilmektedir, ancak gelişimi için lipitlere gereksinim duymamaktadır. (29,34,54,55,58).

4.7.2.3. *Geotrichum candidum*

Doğada ve insanların %30'unun barsaklarında bulunabilen, maya benzeri bir mantardır. Düşük virülanslı olup nadiren fırsatçı fungemiler ve sistemik

infeksiyonlar yapar. Akut lösemi hastalarının otopsilerinde sistemik geotrikoz bulguları saptanmıştır (29,55).

4.7.2.4. *Rhodotorula* türleri

Rhodotorula türleri, ıslak eşyalar ve nemli deride bulunabilen mikroorganizmalardır. Bu mantara bağlı santral venöz kateter kaynaklı fungemiler, endokardit, menenjit ve perikardit olguları bildirilmiştir. Kemik iliği nakli geçiren kişilerde de bu mikroorganizmanın neden olduğu fungemiler saptanmıştır (34,59).

4.7.2.5. *Cryptococcus* türleri

Cryptococcus neoformans geniş polisakkarit yapıda kapsül içeren bir maya mantarıdır. Özellikle güvercin dışkılarının bulunduğu yerlerden vücuda solunum yoluyla alınmasıyla kriptokokkoz hastalığına neden olur (29,34,60,61). Sağlıklı kişilerde hafif gribe benzer bir infeksiyon şeklinde seyreder. İmmun sistemi baskılanmış hastalarda ise etken akciğerde çoğalarak en sık santral sinir sistemi (SSS) olmak üzere deri, böbrek, böbrek üstü bezi, kemik, barsak, karaciğer, dalak, kalp ve göz gibi organlara da yayılabilmektedir. Konak savunmasında en önemli faktörlerden biri T hücrelerinin fonksiyonudur. Bu nedenle kriptokokkoza AIDS hastalarında daha sık rastlanılmaktadır (34,60,61). YBÜ'lerindeki predispoze hastalarda da akciğer infeksiyonu, menenjit ve osteomyelit şeklindeki infeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (11).

C. neoformans dışındaki kriptokok türleri de nadir olarak infeksiyonlara yol açabilmektedir. Kemik iliği nakli geçiren bir kişide intravenöz kateterle ilişkili fungemide etken olarak *Cryptococcus laurentii* saptanmıştır (59).

4.8. Maya mantarlarının laboratuvar tanısı

Mantarların tanımlanmasında ilk basamak, klinik örneklerden hazırlanan direkt preparatların incelenmesidir. Örneklerin direkt incelemesinde, lam-lamel arası yaş preparasyon, Giemsa, Wright, Gram, periyodik asit-Schiff (PAS)

boyama, potasyum hidroksit (KOH), kalkoflor beyazı-KOH, çini mürekkebi preparasyonu gibi yöntemler kullanılmaktadır (62-64).

Mantarların tanımlanmasında ikinci basamak, kültürdeki koloni morfolojisinin incelenmesidir. Koloni morfolojisi maya mantarlarını küf mantarlarından ayırmada ilk kriterdir. Koloni görünümü, farklı maya türleri arasındaki ayırmada küflerdekenden daha az yardımcıdır. Oysa küf mantarlarında koloni morfolojisi ve bu kolonilerden hazırlanan taze preparasyonun mikroskopik incelenmesi ile dahi tür tanımlaması yapılabilir (62).

Mayaların tanımlanmasında ilk yöntem kültürdeki koloniye çimlenme borusu testinin uygulanmasıdır. Çimlenme borusu, maya hücresinden hücrenin genişliğinin yaklaşık yarısı, boyunun 3-4 katı kadar büyüklükte hif yapısının gelişmesi olarak tanımlanabilir. Gerçek çimlenme borusunda hif yapısı ana hücreden çıkışta darlık göstermez (29,34,62). Bu test insan, dana, fetal dana veya tavşan serumuna şüphe edilen kolonin inokülasyonu ve oluşan süspansiyonun 35-37⁰C'de üç saat inkübe edilmesi ile uygulanır (34,62,64). *C. albicans*'ın hızlı tanısına olanak tanıyan bu testte *C. tropicalis*'in de hif başlangıçları üretebildiği, ancak bunlarda blastokonidyanın daha geniş olduğu ve hifin blastokonidya ile birleştiği yerde darlık bulunduğu unutulmamalıdır. Çimlenme borusu testi, antifungal tedavi alan veya immun sistemi baskılanmış hastalardan soyutlanan *C. albicans* izolatlarında %5-10 oranında negatif sonuç vermektedir (29,34,62).

Eşeyli ve eşeysiz yapıların mikroskopik olarak incelenmesi cins düzeyinde tanıda kullanılmaktadır. Eşeysiz yapılar mısır unu agar veya mısır unu-Tween 80 agarda daha iyi gözlenmektedir (34,62). Test, incelenecek olan koloniden iğne uçlu öze ile az miktarda alınarak besiyerine birbirine paralel kısa çizgiler çizilmesi ve bu çizgiler arasına S harfi şeklinde ekim yapılması ile uygulanır. Ekim alanı steril lamelle kapatıldıktan sonra 22-26⁰C'de inkübe edilir (64). Agarın mikroskopik incelemesinde yalancı hiflerin boyut ve şekilleri, hif boyunca dizilmiş olan blastokonidyanın organizasyonu ve artrokonidya varlığı araştırılır. Yalancı hif ve blastokonidya varlığı ve artrokonidyanın yokluğu araştırılan koloninin *Candida* cinsine ait olduğunu gösterir. Kalın duvarlı klamidosporeler *C. albicans* için tanı koydurucudur. Diğer mayaların oluşturdukları görüntülerin incelenmesiyle bu mikroorganizmaların ayırıcı tanısını yapmak olasıdır (29,34,65).

Mayalarda üreaz enziminin varlığının araştırıldığı üreaz testi, özellikle üreaz pozitif olan *Cryptococcus spp.* ve *Rhodotorula spp.* tanısında önemlidir. *Trichosporon* türlerinin çoğunluğu pozitifken, *Geotrichum spp.* negatiftir. *C. lipolytica* ve *C. krusei*'nin bazı suşları dışında diğer *Candida* türleri üreaz negatiftir (34).

Karbonhidrat fermantasyon ve asimilasyon testleri mayaların tanısında önemi olan testlerdir. Karbonhidrat fermantasyon testinde mayaların farklı karbonhidratlardan gaz oluşturup oluşturmadıkları araştırılır. Endojen karbonhidratın hücre duvarı tarafından bağlanması nedeniyle elde edilen yalancı pozitiflikler bu testin dezavantajıdır. Karbonhidrat asimilasyon testinde mayaların oksijen varlığında tek karbon kaynağı olarak çeşitli karbonhidratları kullanabilme özelliği araştırılır (29,34).

Günümüzde artan sıklık ve çeşitte mayanın infeksiyonlara neden olması ve bu mayaların bazılarının belli antifungallere dirençli olması nedeniyle türlerin hızlı tanısı önem kazanmıştır. Hızlı tanı özellikle risk grubunda bulunan hastalar için daha da önemlidir (34). Wickerham ve Burton tarafından geliştirilmiş olan asimilasyon ve fermentasyon testleri, maya tanımlaması için altın standart olmakla birlikte, 14 günde sonuç vermesi dezavantajıdır (34,65). Daha hızlı sonuç veren "Minitek", "API 20C", "Uni-Yeast-Tek", "Vitek" ve "Microscan Yest Identification Panel" gibi hazır ticari testler geliştirilmiştir (34,64). Ancak ticari testlerin spektrumunda bulunmayan nadir türlerin tanımlanmasında Wickerham-Burton yöntemine gereksinim duyulmaktadır (62).

CHROMagar *Candida*, *Candida* türlerinin ayırımında kullanılan ve farklı türlerin farklı renklerde koloniler oluşturması ile ayırıcı tanının yapılabildiği bir besiyeridir. Bu yöntemle *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* ayırımını yapmak mümkün olmaktadır. Benzer amaçla, özellikle *C. albicans* ayırımında Biggy agar (Nickerson's medium) ve *Candida* ID agar da kullanılabilir (29,34).

Mayalarda serolojik tanı, daha çok koksidiyoidomikoz, parakoksidiyoidomikoz ve histoplazmoz tanılarında kullanılmaktadır (62). *Candida* türlerinin serolojik tanısında antikor araştırılmasının, çapraz tepkimeler ve infeksiyon ile kolonizasyon ayırımında yetersizlik nedenleriyle tanı değeri azdır.

Özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda zayıf antikor yanıtı nedeniyle sonuçlar yanıltıcıdır. Bu nedenle antijen araştırılması daha değerlidir (29).

Moleküler tanı yöntemleri, en acil olarak risk grubundaki hastalar için gereklidir. Nükleik asit, polimeraz zincir tepkimesi (PZT) veya başka bir yöntemle çoğaltılarak saptanacak düzeylere getirilir (29,63). Kültürde üremiş olan *Candida* türlerinin PZT yöntemi ile tür ayırımına yönelik çalışmalar vardır (66-68). Ancak risk grubundaki hastalarda daha değerli olan, klinik örnekten moleküler tanı yöntemi ile tür ayırımını yapabilmektir. Morace ve arkadaşları (69), yüksek derecede korunmuş bir bölgeyi kodlayan sitokrom P-450 lanosterol-14 α -demetilaz (L1A1) gen parçasını klinik örneklerden PZT yöntemi ile çoğaltarak restriksiyon enzim analizi ile *Candida* türlerinin ayırımını gerçekleştirmişlerdir. Chang ve arkadaşları (70), kan örneklerinden, 18S ve 5.8S rRNA genleri arasındaki "internal transcribed spacer 1" (ITS1) bölgesini ve *C. albicans*'ın ITS2 bölgesinde bulunan spesifik DNA parçasını multipleks PZT ile çoğaltmışlar ve *Candida* türlerinin ve *C. neoformans*'ın ayırımını yapmışlardır. Mayaların hızlı tanısına yönelik moleküler çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Ancak moleküler tanı yöntemlerinin her laboratuvarında bulunmaması ve yüksek maliyeti kullanımını sınırlamaktadır (63).

4.9. Antifungal ilaçlar

Mantar infeksiyonlarının sağaltımında ilk kullanılan ilaç, 1951 yılında geliştirilen, oral ve topikal etkili bir polyen antibiyotik olan nistatindir (71). Son yıllardaki fırsatçı mantar infeksiyonlarındaki artışa paralel olarak yeni antifungal ilaçlar geliştirilmektedir. Ancak bugün için sistemik etkili dokuz antifungal ilaç lisanslıdır. Bunlar, bir polyen olan amfoterisin B ve üç adet lipit formülasyonu, imidazol türevleri olan mikonazol ve ketokonazol, triazol türevleri olan flukonazol ve itrakonazol ve pirimidin sentez inhibitörü olan flusitozindir. Bir triazol olan vorikonazol ve ekinokandin türevi olan caspofungin, klinik araştırmaları süren ilaçlardır (12,18).

4.9.1. Amfoterisin B

Bir polyen makrolid antibiyotik olan amfoterisin B ve lipit formülasyonları sistemik infeksiyonlar ve hayatı tehdit eden mantar infeksiyonlarında ilk tercih edilen ilaçlardır (12,18). *Streptomyces nodosus*'tan fermente edilerek elde edilmektedir (12,71). Fizyolojik pH'da suda çözünmeyen amfoterisin B, deoksikolat, sodyum deoksikolat ve sodyum fosfat tamponu içeren toz halinde hazırlanmıştır. Bu karışıma su eklenmesi ile oluşan koloidal süspansiyon, %5 dekstroz içinde intravenöz (İV) olarak verilmektedir (12). Amfoterisin B ısı, ışık ve asit pH'da etkinliğinden kaybeder (18).

Amfoterisin B, mantar hücre zarındaki ergosterole bağlanır ve osmotik dengeyi etkiler. Düşük ilaç konsantrasyonlarında K⁺ kanalı aktivitesi artar; yüksek konsantrasyonlarda ise zarda porlar oluşturur. Potasyum ve diğer moleküllerin kaybı hücre ölümüne neden olur. Oksidasyonu artırarak hücre zarına yaptığı toksik etki ile antifungal aktivitesi artmaktadır. Amfoterisin B, memeli hücre zarında bulunan kolesterole daha az oranda bağlanmaktadır. Ancak bu özelliği toksik etkilere neden olması bakımından önemlidir (12,18,71).

Amfoterisin B'nin normal veya inflamasyonlu meninkslere, beyin, tükürük, bronşial sekresyonlar, pankreas, kas, kemik, vitröz sıvı ve amniyotik sıvıya geçişi zayıftır. En önemli yan etkisi böbrekler üzerinedir. Böbrek arteriolleri üzerine vazokonstriktif etki ile glomerüler ve renal tubuler kan akımını azaltır. Potasyum, magnezyum ve bikarbonat atılımını artırır ve eritropoetin yapımını azaltır. Diğer toksik etkileri flebit, normositik normokromik anemi, trombositopeni, lökopeni, koagülopati, aritmi, hemorajik enterit, bulantı, kusma ve ateştir (12).

Amfoterisin B'nin lipit formülasyonları, konvensiyonel sağaltıma yanıt alınamamış hastalarda ilacın etkinliğini arttırmak ve toksisitesini düşürmek amacıyla geliştirilmiştir. Lipit formülasyonların mantar hücrelerine seçici toksisiteleri vardır (12,18).

Amfoterisin B, *Candida* türleri, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* türleri ve *Zygomycetes* gibi küf mantarları ve dimorfik mantarlara in vivo ve in vitro etkilidir. *Pseudallescheria boydii* ise dirençlidir (30,72). Amfoterisin B'ye direnç

nadir görülmekle birlikte hücre zarı sterollerinde değişikliğe bağlı direnç başta *C. lusitaniae* olmak üzere diğer *Candida* türlerinde de gözlenmektedir (12,18).

4.9.2. Azoller

Azol türevleri, mantarların sitokrom P-450 bağımlı enzim sistemine bağlanarak lanosterolün C-14 α demetilasyonunu inhibe eder. Ergosterol sentezi bozulur. P-450 inhibisyonu memelilerde testosteron ve kortizol sentezini azaltır. Bazı azollerin mantar sitoplazma zarına ani etki gösteren zarar verme özellikleri de vardır (12,18).

Azoller, imidazoller ve triazoller olmak üzere iki gruba ayrılarak incelenir. Mikonazol ve ketokonazol imidazol grubunda yer alırken, flukonazol, itrakonazol ve vorikonazol triazol grubunda sınıflandırılır. Genel olarak azoller fungistatik etkilidir (18,71).

Kullanıma giren ilk İV azol türevi olan mikonazol, yüksek toksisite ve relaps oranları nedeniyle sınırlı kullanım alanı bulmaktadır. Penetrasyonu az olan bu ilacın bulantı, kusma, ishal ve hepatit gibi yan etkileri vardır. *P. boydii* miçetomu, refrakter kriptokokal menenjit ve çocuklarda koksidioidal menenjit durumlarında kullanılmaktadır (18,71).

Ketokonazol, emilimi için normal mide asiditesi gerektiren oral kullanımlı bir imidazoldür. Topikal formu da vardır. Beyin omurilik sıvısına (BOS) geçişi düşüktür. Bulantı, kusma, hepatit, testosteron ve adrenokortikotropik hormon seviyelerinde azalma gibi yan etkileri vardır. İmmun sistemi normal olan hastaların hayatı tehdit etmeyen, santral sinir sistemi dışındaki histoplazmoz, blastomikoz, parakoksidomikoz, koksidiomikoz ve mukokutanöz kandidoz olgularında etkilidir. *Aspergillus* türlerine etkili değildir (12,18,71).

Flukonazol, oral ve İV formları bulunan ve GİS'den emilimi iyi olan bir triazol türevidir. BOS, beyin, tükürük, idrar ve diğer sıvılara geçişi iyidir. Baş ağrısı, saç dökülmesi, iştahsızlık, aspartat aminotransferaz enziminde artış ve nadiren nörotoksisite gibi yan etkileri bulunmaktadır. *C. glabrata* ve *C. krusei* türleri flukonazole dirençlidir. Bu türler dışındaki türlerle oluşan kandidozlar, AIDS hastalarının kriptokokal menenjiti, dimorfik mantar infeksiyonları ve dermatofit

infeksiyonlarında endikedir. Mukormikoz, *Aspergillus* ve *P. boydii* infeksiyonlarında ise önerilmemektedir (12,18,71).

İtrakonazol lipofilik yapıya sahip, oral kullanımda emilimi iyi olan, deri ve yumuşak dokuya geniş bir şekilde yayılabilen ancak BOS ve idrara geçişi zayıf olan bir antifungaldir. Sadece oral formu bulunan bu triazol türevinin İV formunun klinik araştırmaları sürmektedir. Baş ağrısı ve GİS yakınmaları gibi yan etkileri vardır. Kandidoz, aspergilloz, dermatofitoz ve dimorfik mantar infeksiyonlarında etkilidir (12,71).

Klinik araştırmaları süren triazol türevi ilaçlardan biri olan vorikonazolün (UK-109,496) etki spektrumu flukonazolünkine benzer. Ancak *Aspergillus* türlerine ve flukonazole dirençli *Candida* türlerine de etkilidir. Araştırmaları süren diğer triazollerden bazıları, posakonazol (SCH 56592) ravukonazol (BMS 207147), Syn-2869, TAK-187, T-8581, UR-9746, UR-9751 ve D-0870'dir (12,73).

Candida türlerinde azol direnci, çeşitli mekanizmalarla gelişmektedir. Bunlardan birincisi ilaç hedefinde (14 α -demetilaz) mutasyonlar sonucunda değişikliktir. Hedef enzim demetilasyon işlevini sürdürebilmektedir. Ancak azollere affinitesi azalmıştır. Bir diğer mekanizma sterol sentezi basamaklarında değişiklik sonucunda ergosterol yerine 14 α -metil fekosterol oluşumudur. Başka bir mekanizmada ise CDR1, PDR5 ve BEN genlerince kodlanan ilaç spesifik efflüks pompalarının artmış ekspresyonu sonucu ilacın atılımında artış gerçekleşmektedir. Hücre zarı lipitleri ve sterol yapısındaki değişiklikler sonucunda ilacın penetrasyonunda azalma da bir diğer mekanizmayı oluşturmaktadır. Son mekanizmada ise hedef enzimin kopya sayısındaki artış ile ergosterol sentezinde artış ve bunun sonucunda flukonazol ve itrakonazol arasında çapraz direnç görülmektedir (18,74).

4.9.3. Flusitozin (5-florositozin)

Bir primidin türevi olan 5-florositozin (5-FC), maya RNA sentezinde urasilin kompetitif antimetaboliti gibi davranarak timidilat sentetaz enziminin aktivitesini inhibe eder. Böylece DNA sentezini inhibe ederek fungistatik etki gösterir (18,71).

Oral formu bulunan 5-FC'in GİS'ten emilimi iyidir. BOS'a serumdaki ilaç konsantrasyonunun %74' ü geçmektedir. Bronşiyal sekresyon, safra, periton sıvısı, kemik, eklem ve beyine geçişi iyidir (12,71).

5-FC'in en önemli endikasyonu, kriptokokal menenjitte sinerjik etki gösterdiği amfoterisin B ile beraber kullanılmasıdır (18). Bundan başka kandidoz, aspergilloz ve kromomikoz olgularında da kullanılmaktadır (12,71). Bulantı, kusma, diyare, lökopeni, trombositopeni ve hepatik disfonksiyon gibi yan etkileri vardır (12).

5-FC'e iki türlü direnç bilinmektedir. Birincisinde ilacın hücre içine alınmasında görevli olan sitozin permeaz enziminin aktivitesinde azalma olmaktadır. İkinci mekanizma da ise 5-FC'nin aktif form olan 5-florourasile dönüşümünü katalizleyen sitozin deaminaz enziminin aktivitesinde eksilme olmaktadır. 5-FC'e direnç çok hızlı geliştiği için genellikle tek başına kullanılmaması, kombine sağıaltımlarda uygulanması önerilmektedir (18,74).

4.9.4. Glukan sentez inhibitörleri

Glukan sentez inhibitörleri, β -(1,3)-glukan sentetaz enzimini nonkompetitif inhibe ederek nükleik asit ve mannan sentezini etkilemeksizin mantar hücre duvarında bulunan glukanın sentezini bozarlar. İnsanlarda bu enzim olmadığı için ilacın seçiciliği yüksektir. Flukonazol ve itrakonazole dirençli mayalar dahil bir çok maya türüne ve küf mantarlarına etkilidirler. *T. beigeli* ve *C. neoformans*'a karşı etkileri yoktur. Ekinokandin (LY 303366) ve pnömokandin (MK-0991) bu gruba ait olan ilaçlardır (12,18,74,75).

4.9.5. Diğer antifungaller

Kitin sentezini inhibe eden nikkomisin sınıfı ve mantarlarda protein sentezinde görev alan ve insan hücrelerinde bulunmayan elongasyon faktör 2'yi inhibe ederek protein sentezini durduran sordarinler araştırmaları halen süren antifungal ilaç gruplarına örnek olarak verilebilir (12,18,75).

4.10. Antifungal duyarlılık testleri

Risk grubunda bulunan hastalarda fungal infeksiyonlara bağlı mortalite ve morbidite oranlarının yüksek olması, bu hasta grubunda doğru ilaçla en kısa sürede sağaltıma başlamanın gerekliliğini göstermektedir. Yine risk grubundaki hastalarda antifungal ilaçlara direnç diğer hasta gruplarına göre daha fazladır. Bu nedenlerle bu grupta yer alan hastalarda antifungal duyarlılık testleri önem taşımaktadır. Direnç gelişimi ve yeni antifungallerin geliştirilmesi de antifungal duyarlılık testlerini önemli kılmaktadır (12-15).

Antifungal duyarlılık testi için kullanılan yöntemler dilüsyon temeline dayalı yöntemler, difüzyon temeline dayalı yöntemler ve diğer yöntemler olarak ayrılarak incelenebilir. Dilüsyon temeline dayalı yöntemler arasında buyyon makrodilüsyon, buyyon mikrodilüsyon, kolorimetrik mikrodilüsyon, spektrofotometrik mikrodilüsyon, agar dilüsyon, yarı katı agar dilüsyon ve agar tarama yöntemleri sayılabilir. Difüzyon temeline dayalı yöntemler ise disk difüzyon ve E testidir. Diğer yöntemler olarak flovsitometrik yöntem ve ergosterol kantitasyonu sayılabilir (18,76,77). Antifungal duyarlılık testlerinin, inokülüm büyüklüğü, besiyeri içeriği, pH'sı, şekli, MİK saptama yöntemi, mantara ait özellikler, ilaçlara ait özellikler ve in vivo uyum gibi değişkenler nedeniyle standardize edilmesi gerekmektedir (78).

4.10.1. Dilüsyon temeline dayalı yöntemler

4.10.1.1. Buyyon makrodilüsyon yöntemi

Mayalar için laboratuvarlar tarafından en çok kullanılan yöntem olması nedeniyle makrodilüsyon yönteminin NCCLS tarafından standardizasyonuna karar verilmiş ve ilk olarak M27-P dökümanı hazırlanmıştır. Daha sonra M27-T ve M27-A dökümanları yayınlanmıştır. Küf mantarlarının duyarlılık testleri ile ilgili en son yayınlanan döküman ise M38-P'dir. Besiyeri olarak NCCLS tarafından L-glutamin içeren sodyum bikarbonatsız RPMI 1640 sentetik besiyeri önerilmektedir. Bu besiyeri, 0.165 M morfolinopropan sülfonik asit (MOPS) ile pH 7.0'a ayarlanmalıdır. Bu yöntem, tüm ilaçların incelenmesi için yeterli olmakla birlikte

zaman alıcı ve pahalı olması nedeniyle artık daha küçük klinik laboratuvarlarda kullanılmaktadır (18-20,76,78).

4.10.1.2. Buyyon mikrodilüsyon yöntemi

Prensip olarak buyyon makrodilüsyon yöntemine benzemekle birlikte mikroplak çukurların kullanılmasıyla daha az miktarlarda malzeme kullanılmaktadır ve uygulaması daha kolaydır (18-20,76,78).

4.10.1.3. Kolorimetrik mikrodilüsyon

Bu yöntem, mikrodilüsyon yöntemine oksidasyon-redüksiyon indikatörü olan Alamar mavisi, XTT veya MTT eklenmesi ile uygulanmaktadır. MİK değerlerinin daha kolay okunmasını ve daha objektif son nokta elde edilmesini sağlayan bir yöntemdir (18,22,77,78).

4.10.1.4. Spektrofotometrik yöntem

Mikroplak kuyucuklarının spektrofotometrik olarak okutulmasıyla farklı derecelerdeki üreme inhibisyonlarını oldukça doğru saptayabilen ve değerlendirmede objektiflik sağlayan bir yöntemdir (18,77). Okuma öncesi plaklara uygulanacak çalkalama işleminin de son nokta okunmasında kolaylaştırıcı etkisi olduğu bildirilmektedir.(77).

4.10.1.5. Agar dilüsyon yöntemi

Bu yöntemin standardizasyonundaki zorluklar nedeniyle farklı sonuçlar elde edilmektedir (17).

4.10.1.5.1. Yarı katı agar dilüsyon yöntemi

Candida türlerinin antifungal duyarlılık durumları, farklı konsantrasyonlarda antifungal ilaç bulunduran yarı katı agar ortamlarının kullanılması ile araştırılabilir. Yapılan bir çalışmada, RPMI 1640, beyin-kalp infizyon ve Sabouraud dekstroz yarı katı agar ortamları kullanılarak *Candida* türlerinin amfoterisin B ve flukonazole karşı duyarlılıkları araştırılmış ve bu üç ortam içerisinde RPMI 1640 yarı katı agar ortamının kullanıldığı yöntem referans yöntem ile en fazla uyumu göstermiştir (79).

4.10.1.5.2. Agar tarama yöntemi

Duyarlılık ve direnç durumunu gösterecek kritik konsantrasyonlarda flukonazol içeren CHROMagar *Candida* ve Biggy agar besiyerlerinin kullanıldığı agar dilüsyon temeline dayalı tarama yöntemleri geliştirilmiştir. Bu araştırmalarda agar tarama yönteminin hızlı ve referans yöntem ile uyumlu olduğu bildirilmiştir (80,81).

4.10.2. Difüzyon temeline dayalı yöntemler

4.10.2.1. Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon yöntemleri antibakteriyel ilaçların duyarlılık araştırmalarında en çok kullanılan testlerdir. Flukonazol için uygulanan bir yöntem olup; 25 ve 50 µg'lık diskler ile uygulanmaktadır. Flukonazol için referans mikrodilüsyon yöntemi ile uyumlu sonuçlar alınmıştır. Yöntemde kullanılacak plağın yüzeyinin metilen mavisi ile boyanmasının sonuçları okumayı kolaylaştırdığı bildirilmektedir (18,21,76). Yapılan çalışmalarda "yeast nitrogen base agar", metilen mavisi eklenmiş Mueller Hinton agar ve RPMI 1640 agar ile uygun sonuçlar elde edilmiştir (21,76,82).

4.10.2.2. E test yöntemi

E test yöntemi, antifungal ilacın plastik şeritlerden sürekli konsantrasyon gradiyenti ile agara difüzyonu prensibine dayanır. Pahalı ama uygulaması kolay bir yöntemdir. Bu yöntemde mikroorganizma gelişimi için seçilen besiyerinin sonuçlar üzerinde kritik bir önemi vardır (18,76).

4.10.3. Diğer yöntemler

4.10.3.1. Flovsiometrik yöntem

Flovisometri yönteminde DNA'ya bağlanma yeteneği olan boyalar ile ölü ve canlı hücreler hızlıca birbirinden ayrılabilir (76). Amfoterisin B, flukonazol, ketokonazol ve 5-FC ile yapılmış olan uygulamalarında referans yöntem ile uyumlu sonuçlar alınmıştır (24).

4.10.3.2. Ergosterol kantitasyonu

Bu yöntemde, ergosterol sentezi kantitatif ölçülerek özellikle azol grubu ilaçların etkinliği araştırılır (76). *C. albicans* izolatlarında flukonazol duyarlılığının araştırıldığı bir çalışmada ergosterol kantitasyonu ve buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar uyumlu bulunmuş; doza bağımlı duyarlı (D-BD) ve dirençli suşların ergosterol kantitasyonu ile birbirlerinden daha iyi ayrılabilirdiği bildirilmiştir (83).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. İzolatlar

Çalışmaya Ocak 2001-Aralık 2001 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Mikoloji Laboratuvarına yoğun bakım ünitelerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerden soyutlanan maya mantarları alındı.

5.2. Maya türlerinin tanımlanması

Maya üremesi saptanan örneklerden SDA'a pasaj yapıldıktan sonra plaklar 37⁰C'de 24-48 saat inkübe edilerek saf kültür elde edildi. Soyutlanan maya türlerinin tanımlanması amacıyla koloni görünümü ve yapısı, çimlenme borusu yapımı, mısır unu tween 80 agardaki morfolojik görünüm ve üreaz aktivitesi araştırıldı (12,29,30,34,64,65).

5.2.1. Çimlenme borusu deneyi

SDA'da üremiş olan maya kolonilerinden iğne uçlu öze ile alınarak 0.5 ml insan serumu içeren tüplerde süspansiyon edildi. 37⁰C'de üç saat inkübe edilen serum örnekleri lam lamel arasında, ışık mikroskopunun 40x büyütmesi ile incelendi. Ana hücreden boğumlanmadan çıkan, ana hücrenin yarısı genişliğinde ve 3-4 katı uzunluğunda olan borucukların gözlemlendiği örnekler *C. albicans* olarak değerlendirildi.

5.2.2. Morfolojik özelliklerin incelenmesi

Maya türlerinin morfolojik özellikleri mısır unu (Oxoid) tween 80 (Merck) agar ortamındaki görünümüne göre değerlendirildi. Bu amaçla saf maya kültürlerinden besiyerine iğne öze ile ekimler yapıldı. Ekim çizgilerinin üzeri steril lamelle kapatılarak besiyerleri 24-26⁰C'de 48-72 saat inkübe edildi. Daha sonra besiyerleri ışık mikroskopunun 10x ve 40x büyütmelerinde incelenerek

klamidospor, yalancı hif, blastokonidya ve artrokonidya varlığı araştırıldı. Terminal klamidospor varlığı saptanan izolatlar *C. albicans* olarak tanımlanırken diğerleri oluşturdıkları morfolojik özelliklere göre değerlendirildi.

5.2.3. Üreaz deneyi

Üreaz deneyi, birçok türünde üreaz enzimi bulunan *Trichosporon* türlerinin *Geotrichum* türlerinden ayırımında kullanıldı. Bu amaçla, incelenecek olan izolatların kolonilerinden iğne öze ile az bir miktar alınarak üreli agara (Oxoid) inoküle edildi. Besiyerleri 24-26⁰C'de dört gün inkübe edildi. Bu süre içerisinde besiyerinde oluşan pembe renk, pozitif olarak kabul edildi.

5.3. Antifungal duyarlılık deneyi

Soyutlanan 113 maya izolatının antifungal duyarlılık deneyleri NCCLS tarafından önerilen NCCLS M27-A buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile yapıldı. Referans suş olarak *C. albicans* ATCC 90028 ve *C. krusei* ATCC 6258 suşları kullanıldı (19).

5.3.1. Besiyeri

Besiyeri olarak NCCLS'in önerdiği RPMI 1640 (L-glutaminli, sodyum bikarbonatsız) (Sigma) kullanıldı. 3-N-morfolinopropan sulfonik asit (MOPS) (Sigma) ile tamponlanan besiyerinin pH'sı 7.0'ye ayarlandı ve 0.22 µm'lik filtreden süzülerek steril hale getirildi. Steril, 96 kuyucuklu, U tabanlı mikrodilüsyon plaklarının yatay sırasında 2.-12. kuyucuklara çoklu kanallı bir pipet ile 100 µl'lik hacimlerde sıvı besiyerinden dağıtıldı.

5.3.2. Antifungal ilaçlar ve dilüsyonları

Çalışmada amfoterisin B ve flukonazolün IV preparatları, ketokonazol ve itrakonazolün hammaddeleri kullanıldı. Amfoterisin B ve flukonazol kendi

çözücüsünde; ketokonazol ve itrakonazol dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde sulandırıldı. İlaç solüsyonları son konsantrasyonun 10 katı olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra stok ilaç solüsyonları RPMI 1640 besiyeri ile 1/5 oranında dilüe edilerek son konsantrasyonun iki katı dilüsyonlar elde edildi. Mikrodilüsyon plaklarının yatay sırasında 1. ve 2. kuyucuklara 100 µl ilaç solüsyonlarından kondu. İkinci kuyucuktan başlayarak, ilaç solüsyonları daha önceden pipetlenmiş olan sıvı besiyeri ile süspansiyon edildi ve bir yandaki kuyucuğa bu süspansiyondan 100 µl aktarıldı. Aynı işlem 10. kuyucuğa kadar tekrar edildi ve 10. kuyucuktan 100 µl süspansiyon dışarı atıldı.

5.3.3. Maya inokulumlarının hazırlanması

Saf kültür elde etmek amacıyla maya kolonilerinden SDA'ya iki kez pasaj yapılarak 35-37⁰C'de 24 saat inkübe edildi. Taze kültürlerden alınan 3-5 koloni, 5 ml %0.9'luk serum fizyolojik içinde, bulanıklık derecesi Mc Farland 0.5 olacak şekilde süspansiyon edildi ve süspansiyon tüpleri vorteks ile karıştırıldı. Süspansiyon, RPMI 1640 ile ilk önce 1/50, sonra 1/20 dilüe edilerek test inokulumunun iki katı konsantrasyon ($1-5 \times 10^3$ KOÜ/ml) elde edildi. Maya süspansiyonları 1.-11. kuyucuklara çoklu kanallı pipet ile 100'er µl hacimde dağıtıldı. Maya süspansiyonu daha önceden dağıtılmış olan ilaç solüsyonları ile inokule edildiğinde istenilen son inokulum konsantrasyonu ($0.5-2.5 \times 10^3$ KOÜ/ml) ve amfoterisin B ile ketokonazol için 16-0.03 µg/ml, flukonazol için 64-0.125 µg/ml ve de itrakonazol için 8-0.015 µg/ml arasında konsantrasyonlar elde edilmiş oldu. 11. kuyucuk üreme kontrolü, 12. kuyucuk besiyeri kontrolü olarak kullanıldı.

5.3.4. Inkübasyon

Mikrodilüsyon plakları 35⁰C'de 48 saat inkübe edildi.

5.3.5. Değerlendirme

Duyarlılık deneyi sonuçları, üreme kontrolündeki bulanıklık ile karşılaştırılarak gözle değerlendirildi. Bu değerlendirmede 0-4 arası sayısal bir sistem kullanıldı:

Skor 0 : Hiç bulanıklık olmaması

Skor 1 : Hafif bulanıklık olması

Skor 2 : Bulanıklıkta belirgin azalma olması

Skor 3 : Bulanıklıkta hafif azalma olması

Skor 4 . Bulanıklıkta azalma olmaması

Amfoterisin B için skor 0, azoller için ise skor 2 değeri MİK değeri olarak kabul edildi. 2 µg/ml ve üzerinde MİK değeri saptanan maya türleri amfoterisin B için dirençli olarak değerlendirildi. Flukonazol için 64 µg/ml ve üzerinde MİK değeri saptanan izolatlar dirençli kabul edilirken 16-32 µg/ml arasındaki MİK değerleri D-BD olarak belirlendi. İtrakonazol için 1 µg/ml ve üzerinde MİK değerleri dirençli, 0.25-0.5 µg/ml arasındaki MİK değerleri D-BD olarak değerlendirildi. *Trichosporon spp.* ve *Geothricum candidium* için NCCLS'in önerdiği direnç ve duyarlılık değerleri bulunmadığı için bu izolatlarda MİK değerlerinin bildirilmesi ile yetinildi. Yine NCCLS'in ketokonazol için kabul ettiği direnç eşik değeri bulunmaması nedeniyle bu ilaç için sadece MİK değerleri bildirildi.

6. BULGULAR

6.1. İdentifikasyon sonuçları

Çalışmamızda soyutlanan 113 maya türünün 67'si idrar, 17'si kan, 15'i solunum sistemi, altısı yara yeri, beşi kateter, ikisi ağız ve biri safra içeriği örneklerinden elde edilmiştir. Soyutlanan maya mantarlarının klinik örneklere göre dağılımı Tablo 5'te gösterilmektedir. Örneklerin kliniklere göre dağılımı ise Tablo 6'da izlenmektedir.

Tablo 5. Soyutlanan maya mantarlarının klinik örneklere göre dağılımı

Klinik örnek türü	İzolat sayısı	%
İdrar	67	59.3
Kan	17	15.0
Solunum sistemi örnekleri*	15	13.3
Yara yeri	6	5.3
Kateter	5	4.4
Ağız	2	1.8
Safra içeriği	1	0.9

*Solunum sistemi örnekleri: Balgam, bronş lavaj, bronkoalveolar lavaj, trakeal sekret

Klinik örneklerden soyutlanan maya mantarları arasında en sık saptanan tür *C. albicans* (%48.7) oldu. Bunun yanında, *C. albicans* klinik örnek türlerinin tümünden en fazla soyutlanan tür olarak gözlemlendi. Tablo 7'de izlendiği gibi *C. albicans*'dan sonra ikinci ve üçüncü sıklıkta *C. glabrata* ve *C. tropicalis* saptandı. *Candida* türlerinin kendi aralarındaki tür dağılımları Tablo 8'de, izolatların klinik örneklere göre dağılımı ise Tablo 9'da gösterilmektedir.

Tablo 6. Örneklerin klinik bölümlere göre dağılımı

Klinik bölüm (örnek sayısı)	Klinik örnekler													
	Ağız		Solunum sistemi örnekleri*		İdrar		Kan		Kateter		Safra içeriği		Yara	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
AYB** (75)	0	0.0	4	5.3	51	68.0	14	18.7	3	4.0	1	1.3	2	2.7
DYB***(27)	2	7.4	8	29.6	14	51.9	1	3.7	1	3.7	0	0.0	1	3.7
GKDC-YB**** (9)	0	0.0	2	22.2	1	11.1	2	22.2	1	11.1	0	0.0	3	33.3
KYB***** (2)	0	0.0	1	50.0	1	50.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0

*Solunum sistemi örnekleri: Balgam, bronş lavaj, bronkoalveolar lavaj, trakeal sekret

**AYB: Anestezi yoğun bakım

***DYB: Dahiliye yoğun bakım

****GKDC-YB: Göğüs kalp damar cerrahisi yoğun bakım

*****KYB: Koroner yoğun bakım

Tablo 7. Klinik örneklerden soyutlanan maya mantarlarının dağılımı

Maya türleri	İzolat sayısı	%
<i>C. albicans</i>	55	48.7
<i>C. glabrata</i>	22	19.5
<i>C. tropicalis</i>	13	11.5
<i>Trichosporon spp.</i>	7	6.2
<i>C. parapsilosis</i>	6	5.3
<i>C. krusei</i>	4	3.5
<i>C. guilliermondii</i>	3	2.7
<i>C. kefyr</i>	2	1.8
<i>Geotrichum candidum</i>	1	0.9

Tablo 8. Klinik örneklerden soyutlanan *Candida* türlerinin dağılımı

<i>Candida</i> türleri	İzolat sayısı	%
<i>C. albicans</i>	55	52.4
<i>C. glabrata</i>	22	20.9
<i>C. tropicalis</i>	13	12.4
<i>C. parapsilosis</i>	6	5.7
<i>C. krusei</i>	4	3.8
<i>C. guilliermondii</i>	3	2.9
<i>C. kefyr</i>	2	1.9



Tablo 9. Soyutlanan maya türlerinin klinik örneklerle göre dağılımı

Klinik örnek(n)	C. <i>albicans</i>		C. <i>glabrata</i>		C. <i>tropicalis</i>		C. <i>parapsilosis</i>		C. <i>guilliermondii</i>		C. <i>kefyr</i>		C. <i>krusei</i>		Trichosporon spp.		G. <i>candidum</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
İdrar (67)	28	41.8	13	19.4	11	16.4	3	4.5	1	1.5	1	1.5	3	4.5	7	10.4	0	0.0
Kan (17)	9	52.9	1	5.9	1	5.9	3	33.3	1	5.9	1	5.9	1	5.9	0	0.0	0	0.0
SSÖ* (15)	8	53.3	5	33.3	0	0.0	0	0.0	1	6.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	6.7
Yara yeri (6)	5	83.3	1	16.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Kateter (5)	3	60.0	1	20.0	1	20.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Ağız (2)	2	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Safra içeriği (1)	0	0.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0

* SSÖ = Solunum sistemi örnekleri: Balgam, bronş lavajı, bronkoalveolar lavajı, trakeal sekret

6.2. Antifungal duyarlılık sonuçları

Amfoterisin B, flukonazol, ketokonazol ve itrakonazolün, çalışmamızda yer alan 113 izolata karşı MİK aralıkları ile izolatların %50'sinin (MİK₅₀) ve %90'ının (MİK₉₀) üremesini inhibe eden değerler Tablo 10'da gösterilmiştir. İzolatlarımızda antifungal ilaçlar için elde edilen MİK değerlerinin dağılımı ise Tablo 11'de izlenmektedir.

Mikrodilüsyon yönteminin kullanıldığı çalışmamızda amfoterisin B'ye ait MİK değerleri 113 maya izolatu için 0.06-1 µg/ml arasında belirlenirken, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0.5 µg/ml ve 1 µg/ml olarak saptandı. *Candida* izolatlarının tamamı (%100) amfoterisin B'ye duyarlı (MİK ≤ 1 µg/ml) olarak bulundu. MİK₅₀ değeri *C. parapsilosis* ve *C. kefyr* için 1 µg/ml olarak bulunurken diğer maya türleri için 0.5 µg/ml olarak belirlendi.

Maya türleri için flukonazole ait MİK değerleri 0.125-64 µg/ml arasında elde edilirken, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 1 µg/ml ve 32 µg/ml olarak saptandı. *Candida* türleri arasında toplam dokuz (%8.6) suş bu antifungale dirençli bulundu. Dirençli suşlar arasında dört *C. albicans*, dört *C. glabrata* ve bir *C. tropicalis* yer almaktaydı. *Candida* izolatlarının 14'ü (%13.3) D-BD, 82'si (%78.1) suş ise flukonazole duyarlı olarak bulundu. D-BD suşların ikisi *C. albicans*, sekizi *C. glabrata* ve dördü ise *C. krusei* şeklinde idi. En düşük MİK₅₀ değeri *C. albicans* izolatları için (0.25 µg/ml) elde edilirken en yüksek değer *C. krusei* izolatlarında (32 µg/ml) gözlemlendi. Flukonazole en yüksek oranda direnç ise *C. glabrata* izolatlarında (%18.2) belirlendi.

Çalışmaya alınan maya türleri için itrakonazole ait MİK değerleri 0.015-8 µg/ml arasında, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ise 0.125 µg/ml ile 1 µg/ml olarak saptandı. Toplam 105 *Candida* izolatının 14'ü (%13.3) itrakonazole dirençli bulunurken, 36'sı (%34.3) D-BD ve 55'i de (%52.4) duyarlı olarak bulundu. Dirençli suşlar 13 *C. glabrata* ve bir *C. tropicalis* izolatından; D-BD suşlar ise 14 *C. albicans*, sekiz *C. glabrata*, altı *C. tropicalis*, beş *C. parapsilosis* ve üç *C. krusei* izolatından oluşmaktaydı. İtrakonazole en yüksek oranda direnç *C. glabrata* izolatları arasında (%59.1) saptandı. En yüksek MİK₅₀ değeri de *C. glabrata* için (1 µg/ml) elde edildi.

Ketokonazol için 113 maya türünün MİK değerleri 0.03-8 µg/ml arasında izlenirken, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırası ile 0.06 µg/ml ve 0.5 µg/ml olarak saptandı. En yüksek MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri *C. glabrata* suşları için (0.5 µg/ml ve 1 µg/ml) elde edildi.

Candida türlerinin amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazole karşı direnç durumları Tablo 12'de birlikte verilmiştir. *Trichosporon* türleri ve *Geotrichum candidum* için belirlenen duyarlılık ve direnç sınırları söz konusu olmadığından bu izolatlar Tablo 12'ye dahil edilmemiştir.



Tablo 10. Buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen MİK aralıkları ile MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri

İzolatlar (n)	Antifungal ilaçlar	MİK aralıkları (µg/ml)	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
<i>C. albicans</i> (55)	Amfoterisin B	0.06-1	0.5	0.5
	Flukonazol	0.125-64	0.25	16
	İtrakonazol	0.015-0.5	0.06	0.25
	Ketokonazol	0.03-8	0.03	0.25
<i>C. glabrata</i> (22)	Amfoterisin B	0.125-1	0.5	1
	Flukonazol	2-64	16	64
	İtrakonazol	0.06-8	1	8
	Ketokonazol	0.25-2	0.5	1
<i>C. tropicalis</i> (13)	Amfoterisin B	0.25-1	0.5	1
	Flukonazol	0.5-64	1	4
	İtrakonazol	0.015-1	0.25	0.5
	Ketokonazol	0.03-0.5	0.03	0.5
<i>C. parapsilosis</i> (6)	Amfoterisin B	0.25-1	1	1
	Flukonazol	1-4	1	4
	İtrakonazol	0.06-0.25	0.25	0.25
	Ketokonazol	0.03-0.06	0.06	0.06
<i>C. krusei</i> (4)	Amfoterisin B	0.25-1	0.5	1
	Flukonazol	16-32	32	32
	İtrakonazol	0.125-0.25	0.25	0.25
	Ketokonazol	0.25-0.5	0.25	0.5
<i>C. guilliermondii</i> (3)	Amfoterisin B	0.25-1	-	-
	Flukonazol	1	-	-
	İtrakonazol	0.06-0.125	-	-
	Ketokonazol	0.03	-	-
<i>C. kefyr</i> (2)	Amfoterisin B	1	-	-
	Flukonazol	0.25-0.5	-	-
	İtrakonazol	0.015-0.125	-	-
	Ketokonazol	0.03	-	-
<i>Trichosporon spp.</i> (7)	Amfoterisin B	0.125-1	0.5	1
	Flukonazol	0.25-4	0.5	1
	İtrakonazol	0.06-0.25	0.125	0.25
	Ketokonazol	0.06-0.25	0.125	0.25
<i>G. candidum</i> (1)	Amfoterisin B	1	-	-
	Flukonazol	0.125	-	-
	İtrakonazol	1	-	-
	Ketokonazol	0.06	-	-

Tablo 12. *Candida* türlerinin direnç dağılımı

<i>Candida</i> türü (n)	Antifungal ilaçlar	D-BD*	R**
<i>C. albicans</i> (55)	Amfoterisin B	-	0
	Flukonazol	2	4
	İtrakonazol	14	0
<i>C. glabrata</i> (22)	Amfoterisin B	-	0
	Flukonazol	8	4
	İtrakonazol	8	13
<i>C. tropicalis</i> (13)	Amfoterisin B	-	0
	Flukonazol	0	1
	İtrakonazol	6	1
<i>C. parapsilosis</i> (6)	Amfoterisin B	-	0
	Flukonazol	0	0
	İtrakonazol	5	0
<i>C. krusei</i> (4)	Amfoterisin B	-	0
	Flukonazol	0	4
	İtrakonazol	0	3
<i>C. guilliermondii</i> (3)	Amfoterisin B	-	0
	Flukonazol	0	0
	İtrakonazol	0	0
<i>C. kefyr</i> (2)	Amfoterisin B	-	0
	Flukonazol	0	0
	İtrakonazol	0	0
Toplam (105)		43 (%41.0)	30 (%28.6)

* D-BD: Doza bağımlı duyarlı

** R: Dirençli

7. TARTIŞMA

Antifungallere direnç durumundaki değişiklikler ve virölans düzeyindeki farklılıklar mikoloji laboratuvarlarında kandidaları tür düzeyinde tanımlamanın gerekliliğini desteklemektedir. Bazı türlerde intrensek direnç bulunması sağaltımda ya da proflekside kullanılacak olan ilacın seçimi için tür tanımlamasının önemini vurgulamaktadır (12-15). YBÜ'lerinde yatan hastalarda mantar infeksiyonlarının daha fazla görülmesi, mantarlarla gelişen hastane infeksiyonlarında mortalitenin daha yüksek olması ve antifungal ilaçların terapötik ve toksik sınırlarının yakın olması gibi nedenler, bu hastaların klinik örneklerinden soyutlanan maya izolatlarında antifungal duyarlılık testlerinin çalışılmasını gerekli kılmaktadır (3,9,10,12,13). Biz de çalışmamızda, YBÜ'lerinde yatan hastalardan bir yıllık süre içerisinde soyutladığımız maya izolatlarının tür tanımlamasını, duyarlılık paterni ve direnç oranlarını belirleyerek hastanemiz YBÜ'lerindeki epidemiyolojik çalışmalara ve ampirik sağaltım seçimine katkıda bulunmayı hedefledik.

Gerek yurt içinde gerekse yurt dışında yapılan çalışmalarda *C. albicans* klinik örneklerden halen en sık soyutlanan tür olarak izlenmektedir. *C. albicans* dışı türlerdeki sıralama ise çeşitli merkezlere göre değişmektedir.

Cerrahi ve yenidoğan YBÜ'lerinde yatmakta olan hastalarda görülen fungal infeksiyonları araştırmak üzere Amerika Birleşik Devletleri'nde kurulmuş bir kuruluş olan "The National Epidemiology of Mycoses Survey" (NEMIS) tarafından altı merkezde yapılan çalışmada tüm merkezlerde en sık soyutlanan *Candida* türü *C. albicans* olarak saptanmıştır. Merkezler arasında sıralama değişmekle birlikte *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ve *C. tropicalis*, *C. albicans*'ı izleyen türler olmuşlardır (84). Kanada'da çok merkezli yürütölen iki yıllık bir süveyans çalışması sonucunda hastane infeksiyonu olduğu bilinen olgulara ait çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida* türleri sıklık sırasına göre %54 *C. albicans*, %15 *C. glabrata*, %12 *C. parapsilosis*, %9 *C. tropicalis*, %3 *C. lusitaniae*, %3 *C. krusei* ve %3 diğer *Candida* türleri şeklinde bir dağılım göstermiştir (85). Safdar ve arkadaşları (86), risk grubunda bulunan hastaların çeşitli klinik örneklerinden soyutlanan 349 *Candida* izolatının %67.3'ünün *C. albicans* olduğunu belirlemiştir. Aynı çalışmada *albicans* dışı 114 *Candida* türünün %45.6'sının *C. glabrata*, %18.4'ünün *C.*

tropicalis, %16.6'sinin *C. parapsilosis* ve %9.6'sinin *C. krusei* olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada idrar örneklerinden soyutlanan kandida türleri arasında en sık tanımlanan *C. albicans* olurken, bunu sıklık sırasına göre *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* izlemiştir.

Antimikrobiyal direnç ile ilgili son gelişmeleri izleme amacıyla oluşturulmuş bir program olan SENTRY antimikrobial sürveyans programı çerçevesinde 1997-1998 yılları arasında Kuzey Amerika ve Latin Amerika ülkelerinde bulunan hastanelerdeki kandidemili olgulardan soyutlanan *Candida* türleri araştırılmıştır. Toplam 634 kandidemi olgusunun %54.3'ünde *C. albicans*, %16.4'ünde *C. glabrata*, %14.9'unda *C. parapsilosis*, %8.2'sinde *C. tropicalis*, %1.6'sında *C. krusei* ve %4.6'sında diğer *Candida* türlerinin soyutlandığı bildirilmiştir. Kandidemili olgularda *C. albicans*'ın görülme oranında ABD'de hafif bir düşüş izlenirken Kanada ve Latin Amerika'da ise artış saptanmıştır. *C. glabrata* her üç bölgede de en sık soyutlanan ikinci *Candida* türü olarak belirlenmiştir (7).

Kostakoğlu ve arkadaşları (87), cerrahi YBÜ'nde bulunan hastaların kan ve idrar kültürlerine ait maya izolatları ile yaptıkları bir çalışmada, etkenlerin tür dağılımlarını %50.9 *C. albicans*, %15.1 *C. tropicalis*, %11.3 *C. parapsilosis*, %9.4 *T. asahii*, %7.6 *C. krusei* ve %5.7 diğer *Candida* türleri şeklinde saptamışlardır. Cerrahi YBÜ'nde yatan hastaların aspirasyon kateterlerinden elde edilen 33 maya izolatının incelendiği bir başka çalışmada suşların %87.8'i *C. albicans* ve %12.1'i *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır (88). Ermertcan ve arkadaşları (89), 16 aylık bir dönem içerisinde YBÜ hastalarının kan kültürlerinden soyutlanan 60 *Candida* suşunun tür dağılımını *C. albicans* (%45), *C. tropicalis* (%38.3) ve *C. parapsilosis* (%16.7) olarak saptamıştır. Kocazeybek ve arkadaşları (90), YBÜ'lerinde bulunan hastaların klinik örneklerinden soyutlanan mayaların %64'ünün *C. albicans*, %21'inin *C. krusei*, %11'inin *C. glabrata* ve %5'inin *C. parapsilosis* olarak tanımlandığını bildirmiştir. Yenidoğan YBÜ'nde yatan hastalardan soyutlanan mayalar ile ilgili bir araştırmada tür dağılımı sıklık sırasına göre *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* olarak saptanmıştır (91). Ener ve arkadaşları (92), hastane infeksiyonlarına bağlı kandidemi gelişen YBÜ hastalarından soyutladıkları mayaların tür dağılımının sıklık sırasına göre *C.*

albicans, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* olarak belirlendiğini bildirmişlerdir.

Türkiye’de çeşitli hastanelerde fungemili olgulardan soyutlanan suşlar incelendiğinde en fazla oranda *C. albicans*’ın (%31.8-60) saptandığı ve bu türü *C. tropicalis* (%10-36.7) ve *C. parapsilosis*’in (%17-32) izlediği gözlenmektedir (93-96).

Çeşitli klinik örneklerden elde edilen *Candida* türlerinin incelendiği araştırmalarda en fazla oranlarda *C. albicans* (%54-74.4), *C. glabrata* (%5-31) ve *C. tropicalis* (%4.7-18) saptanmıştır (97-99).

İlgili literatüre bakıldığında gerek risk grubundaki gerekse risk grubunda bulunmayan hastalardan soyutlanan *Candida* türleri içinde *C. albicans*’ın en yüksek oranda saptanan tür olduğu dikkat çekmektedir. Çalışmamızda da *C. albicans* (%52.4) en fazla oranda soyutlanan tür olmuştur. *C. glabrata* (%20.9) ise ikinci sırada yer almıştır. Bu durum risk grubunda bulunan hastalardan *C. glabrata*’nın giderek artan oranlarda soyutlandığını bildiren kaynaklar ile uyumludur (7,85,86). Saptanan diğer türlerin dağılımı da literatürle uyumlu bulunmuş olup, farklı olarak çalışmamızda hiç *C. lusitaniae* soyutlanmamıştır. Literatürlerde kan kültürlerinden en sık soyutlanan *Candida* türünün *C. albicans* olduğu bildirilmektedir. İkinci sıklıkta saptanan türler *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* arasında değişmektedir (7,89,94,95). Bizim çalışmamızda da yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden en sık soyutlanan etken *C. albicans* (%52.9) olurken, ikinci sıklıkta soyutlanan tür *C. parapsilosis* (%33.3) olmuştur. Yoğun bakım hastalarına çoğunlukla kateter takılmış olması ve *C. parapsilosis*’in kateter ile ilişkili infeksiyonlardan daha sık sorumlu olması, bu türün ikinci sıklıkta saptanmış olmasının nedeni olabilir. Çalışmamızda en fazla mantar üremesi görülen örnek türü olan idrardan en sık soyutlanan tür *C. albicans* (%41.8), ikinci sıklıkta soyutlanan tür ise *C. glabrata* (%19.4) olmuştur.

Amfoterisin B, nefrotoksik etkisine rağmen 30 yıl boyunca sistemik fungal infeksiyonların sağaltımında ilk tercih olmuştur (74). *Pseudallescheria boydii*, *Scopulariopsis*, *Fusarium*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *T. beigellii* türlerinde primer direnç bilinmektedir. İn vitro ve in vivo karşılaştırmalı yapılan çalışmalarda *C. glabrata* ve *C. krusei*’nin amfoterisin B’ye karşı azalmış bir duyarlılığı saptanmış

ve sağaltımda daha yüksek dozda amfoterisin B kullanılması gerektiği bildirilmiştir (100). Bu ajana sekonder direnç ise immun sistemi baskılanmış, özellikle kanser hastalarından soyutlanan *Candida* türlerinde görülmektedir (72).

NEMIS tarafından YBÜ'lerinde yatmakta olan hastalardan soyutlanan 408 maya izolatında amfoterisin B'nin MİK aralığı 0.25-2 µg/ml olarak saptanmıştır (84). Bart-Delabesse ve arkadaşları (101), yanıklı hastaların yattığı YBÜ'nde yaptıkları çalışmada 22 *Candida* izolatının MİK değerlerinin 0.5-2 µg/ml arasında değiştiğini bildirmiştir. Risk grubundaki hastaların çeşitli klinik örneklerinden soyutlanan mayaların MİK aralıkları 0.03-8 µg/ml arasında belirlenmiş olup, *C. glabrata* ve *C. krusei* türlerinde direnç saptanmıştır (85,86,102). SENTRY antimikrobial srveyans programı içerisinde yer alan ABD, Kanada, Latin Amerika ve Avrupa lkelerindeki hastanelerde kandidemili hastalardan dört yıllık bir süre boyunca soyutlanan 2047 *Candida* izolatının MİK aralığı 0.06-16 µg/ml olarak bildirilmiştir (103). Aynı çalışmada amfoterisin B'nin en etkili olduğu türün *C. albicans* olduğu ve *C. krusei* izolatlarının %27.8'nin, *C. glabrata* izolatlarının %17.4'ünün amfoterisin B'ye dirençli olarak saptandığı belirtilmektedir. Paphitou ve arkadaşları (104), klinik örneklerden soyutlanan 39 *Trichosporon* izolatının MİK değerlerini 0.06-8 µg/ml arasında bulmuş ve bu suşlara amfoterisin B'nin azollerden daha az etkin olduğunu belirtmiştir.

Kostakoğlu ve arkadaşları (87), YB hastalarından soyutladıkları 53 maya izolatının hiçbirinde amfoterisin B direncine rastlamamıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda çeşitli klinik örneklerden soyutlanan mayaların MİK aralıkları <0.015-4 µg/ml arasında saptanmış olup, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* türlerinde 1 µg/ml üzerinde MİK değerleri bildirilmiştir (96,99,105-108). Arıkan ve arkadaşları (109), amfoterisin B'nin MİK aralığını çeşitli klinik örneklerden soyutladıkları 43 *Trichosporon asahii* suşunda 1-8 µg/ml, MİK₉₀ değerini ise 4 µg/ml olarak bildirmiştir.

Çalışmamızda ise amfoterisin B'nin maya izolatları için MİK aralığı 0.06-1 µg/ml arasında değişmekte olup, tüm maya suşları duyarlı olarak saptanmıştır. Belirlediğimiz MİK aralığı kaynaklar ile uyumludur. Özellikle yurt dışında yapılan çalışmalarda risk grubundan soyutlanan suşlar için MİK değerleri daha yüksek bulunmuş ve dirençli suşlar saptanmıştır (84-86,101,103). Çalışmamızda yer alan

yedi *Trichosporon spp.* için MİK aralığı ve MİK₉₀ değerleri sırası ile 0.125-1 µg/ml ve 1 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu veriler literatür verilerine göre daha düşük değerlerdir (104,109). Çalışmamızdaki *Trichosporon* türleri için elde ettiğimiz değerler Tablo 13'de diğer çalışma verileri ile karşılaştırılmaktadır. Araştırmamızda maya izolatlarında amfoterisin B için elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, bu ilacın YBÜ hastalarında halen etkin bir antifungal ilaç olduğunu söyleyebiliriz.

1990'lı yıllarda kullanıma giren flukonazol yan etkilerinin az olması nedeniyle geniş kullanım alanı bulmuş ve bu nedenle de hızlı direnç gelişimi söz konusu olmuştur. Bu azole *C. glabrata* ve *C. krusei*'de primer direnç bilinmektedir. Kanseri hastaları, kemik iliği nakli geçiren hastalar ve yoğun bakım hastalarında flukonazol kullanımına bağlı olarak, bu primer dirençli türlerin seçilerek infeksiyonlara neden oldukları bildirilmektedir (72). Ancak bu görüşün tersini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (110). Flukonazole sekonder direnç ilk önce AIDS hastalarından soyutlanan *C. albicans* suşlarında gösterilmiş ancak daha sonra lösemili hastalar ve kemik iliği nakli geçiren hastalardan da dirençli suşlar soyutlanmıştır. Ayrıca immün sistemi normal olan kişilerden de soyutlanan dirençli izolatlar bildirilmiştir (72,111).

NEMIS tarafından yürütülen bir çalışmada YBÜ'lerinde yatmakta olan hastalardan soyutlanan 408 maya izolatında flukonazolün MİK aralığı 0.12-256 µg/ml olarak bildirilmiştir (84). Bart-Delabesse ve arkadaşları (101), yanıklı hastaların yattığı YBÜ'de yaptıkları çalışmada 22 *Candida* izolatının MİK değerlerinin 0.5-64 µg/ml arasında değiştiğini saptamıştır. Safdar ve arkadaşları (86), risk grubunda bulunan hastaların çeşitli klinik örneklerinden soyutladıkları 349 maya izolatında MİK aralığının 0.03-64 µg/ml arasında değiştiğini ve suşların tümünde %9.4 oranında direnç görüldüğünü belirtmiştir. Aynı yayında *C. glabrata* suşlarının %30.7'sinin flukonazole dirençli olarak saptandığı ve dirençli *C. glabrata* suşlarının %45.4'nün, dirençli *C. albicans* suşlarının %85.7'sinin daha önce triazol sağaltımı alan hastalardan soyutlandığı ve bunların yapılan moleküler genotiplendirme çalışmalarında farklı kökenler olduğu bildirilmektedir. Kanada'da çok merkezli yürütülen sürveyans çalışmasında risk grubunda bulunan hastalardan soyutlanan 442 maya izolatının MİK aralığı ≤0.25->256 µg/ml arasında ve izolatların %13'ü flukonazole dirençli olarak saptanmıştır (85). Bu

çalışmada en fazla direnç *C. krusei* suşlarında (%53) görülürken, *C. glabrata* suşlarının %13'ünde direnç izlenmiştir. SENTRY antimikrobiale sörveyans programı içerisinde yer alan hastanelerdeki kandidemili hastalardan soyutlanan 306 *Candida* izolatının MİK aralığı 0.12->128 µg/ml olarak belirlenmiştir (112). Aynı yayında suşların %97.7'sinin flukonazole duyarlı olduğu ve *C. krusei* izolatlarının tamamının (MİK değerine bakılmaksızın dirençli kabul edildiği belirtilmektedir) ve *C. glabrata* izolatlarının %8.7'sinin dirençli olarak saptandığı bildirilmektedir. Hoban ve arkadaşları (102), risk grubunda bulunan hastaların kan kültürlerinden soyutlanan 757 maya izolatının MİK değerlerinin 0.0313-32 µg/ml arasında değiştiğini ve izolatlarının hepsinin flukonazole duyarlı olarak saptandığını bildirmiştir. Bir başka çalışmada, klinik örneklerden soyutlanan 39 *Trichosporon* izolatının MİK değerleri 0.5->64 µg/ml arasında saptanmıştır (104):

Yurdumuzda da gerek risk grubunda bulunan gerek bulunmayan hasta gruplarından soyutlanan maya izolatlarında flukonazolün etkinliği araştırılmıştır. Kostakoğlu ve arkadaşları (87), YBÜ hastalarından soyutladıkları 53 maya izolatının hiçbirinde dirence rastlamazken, bir *C. krusei* suşunu D-BD olarak saptamıştır.

Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida* suşlarının incelendiği araştırmalarda MİK aralıkları 0.06->64 µg/ml arasında belirlenmiştir (96,105-108). Arıkan ve arkadaşları (109), flukonazolün MİK aralığını çeşitli klinik örneklerden soyutladıkları 43 *Trichosporon asahii* suşları için 0.25-16 µg/ml, MİK₉₀ değerini ise 8 µg/ml olarak bildirmiştir.

Çalışmamızda maya türleri için flukonazole ait MİK değerleri 0.125-64 µg/ml arasında saptanırken; 105 *Candida* izolatı içerisinde toplam dokuz (%8.6) suş dirençli bulunmuştur. Dirençli suşlar arasında dört *C. albicans*, dört *C. glabrata* ve bir *C. tropicalis* yer almaktadır. Flukonazole en yüksek oranda direnç (%18.2) *C. glabrata* izolatlarında izlenmiştir. Çalışmada yer alan dört *C. krusei* izolatı da D-BD bulunmuştur. Ancak *C. krusei* türü flukonazole intrensek dirençli olduğundan, bu izolatlar, MİK değerleri ne olursa olsun dirençli kabul edilmelidir. Araştırmamızda belirlenen gerek MİK aralığı değerleri gerekse saptanan dirençli türler literatür verileri ile uyumludur (72). Ancak flukonazole direnç oranımız risk grubunda bulunan hastaların izolatları ile yapılan bazı yurt dışı çalışmalardan (85,86) düşük;

bazı yurt içi çalışmalardan (87) ise yüksektir. Bu farkın nedeni hastaların daha önce aldığı antifungal sağaltım sıklığı ve süresi olabilir. Çalışmamızda flukonazol için elde ettiğimiz değerler ile risk grubunda bulunan hastalarda yapılan çeşitli çalışmalarda elde edilen değerler Tablo 14'te gösterilmektedir. Çalışmamızdaki *Trichosporon* türleri için MİK aralığı ve MİK₉₀ değerleri sırası ile 0.25-4 µg/ml ve 1 µg/ml olarak elde edilmiştir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında *Trichosporon* türleri ile ilgili verilerimizin daha düşük olduğu fark edilmektedir (104,109).

İtrakonazol için direnç eşik değeri NCCLS tarafından sadece mukozal kandida infeksiyonlarından soyutlanan izolatlar için önerilmiştir. Buna göre MİK değeri ≤ 0.125 µg/ml olan izolatlar duyarlı; >0.5 µg/ml olan izolatlar ise dirençli olarak kabul edilmektedir (19).

NEMIS tarafından yürütülen bir çalışmada, YBÜ'lerinde yatmakta olan hastalardan soyutlanan 408 maya izolatında itrakonazolün MİK aralığı 0.007-16 µg/ml olarak saptanmıştır (84). Bart-Delabesse ve arkadaşları (101), YBÜ'de bulunan yanıklı hastalardan soyutlanan 22 *Candida* izolatının MİK değerlerini 0.12-64 µg/ml; Safdar ve arkadaşları (86), risk grubunda bulunan hastaların çeşitli klinik örneklerinden soyutladıkları 349 maya izolatında MİK aralığını 0.03->16 µg/ml arasında saptamışlar ve suşların tümünde %10.8 oranında direnç belirlemişlerdir. Aynı çalışmada *C. glabrata* suşlarının %46.2'sinin itrakonazole dirençli olarak saptandığı bildirilmektedir. Kanada'da çok merkezli yürütülen süveyans çalışmasında risk grubunda bulunan hastalardan soyutlanan 442 maya izolatının MİK aralığı ≤0.008->8 µg/ml ve izolatların %26'sı itrakonazole dirençli olarak saptanmıştır (85). Bu çalışmada en fazla direnç *C. glabrata* suşlarında (%58) görülmüştür. SENTRY antimikrobiale süveyans programı içerisinde yer alan hastanelerdeki kandidemili hastalardan soyutlanan 306 *Candida* izolatının MİK aralığı 0.015->128 µg/ml olarak bulunurken, suşların %91.5'i itrakonazole duyarlı olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada *C. krusei* izolatlarının %66.6'sinin ve *C. glabrata* izolatlarının %36.9'unun dirençli olduğu bildirilmektedir (112). Hoban ve arkadaşları (102), risk grubunda bulunan hastaların kan kültürlerinden soyutladıkları 757 maya izolatının MİK aralığını 0.0078-4 µg/ml olarak bulmuştur.

Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida* suşlarının incelendiği araştırmalarda itrakonazol için MİK aralıkları ≤0.03->16µg/ml arasında

saptanmıştır (113,114). Paphitou ve arkadaşları (104), klinik örneklerden soyutladıkları 39 *Trichosporon* izolatında MİK değerlerini 0.03->16 µg/ml arasında saptamıştır.

Yurdumuzda itrakonazolün etkinliğinin çeşitli klinik örneklerden soyutlanan maya izolatlarında araştırıldığı bir çalışmada MİK değerleri 0.03-1 µg/ml arasında saptanmıştır (106). Arıkan ve arkadaşları (109), itrakonazol için MİK aralığını ve MİK₉₀ değerini çeşitli klinik örneklerden soyutladıkları 43 *Trichosporon asahii* suşunda 0.06-4 µg/ml ve 1 µg/ml olarak bildirmiştir.

Çalışmamızda maya türleri için itrakonazole ait MİK değerleri 0.015-8 µg/ml arasında elde edilirken, toplam 105 *Candida* izolatının 14'ü (%13.3) dirençli olarak belirlenmiştir. Dirençli suşlar arasında 13 *C. glabrata* ve bir *C. tropicalis* yer almaktadır. İtrakonazole en yüksek oranda direnç *C. glabrata* izolatlarında (%59.1) izlenmiştir. Araştırmamızda itrakonazol için belirlenen MİK aralığı ve dirençli türler literatür verileri ile uyumludur (72). Yine en yüksek oranda direncin *C. glabrata* izolatlarında saptanması bazı çalışmalar ile paralellik göstermektedir (85,86,114). Çalışmamız verileri ile diğer çalışmalarda elde edilen veriler Tablo 15'de özetlenmektedir. Çalışmamızdaki *Trichosporon* türleri için MİK aralığı ve MİK₉₀ değerleri sırası ile 0.06-0.25 µg/ml ve 0.25 µg/ml olarak elde edilmiştir. Bu veriler amfoterisin B ve flukonazol ile elde ettiğimiz verilerde olduğu gibi literatür verilerine göre daha düşük değerlerden oluşmaktadır (104,109). Bunun nedeni hastanemizdeki antifungal sağaltım politikası ve hastalara önceden uygulanmış olan antifungal sağaltım sıklığı ve süresi olabilir.

Ketokonazol için NCCLS'in önerdiği bir direnç değeri bulunmamaktadır (19). Bu nedenle çalışmamızda ketokonazol için direnç durumu ile ilgili yorum yapılmamıştır. Çeşitli çalışmalarda, elde edilen MİK değerleri ile klinik uyum arasında farklılıklar saptanmıştır. Ancak, 0.125 µg/ml ve üzerindeki MİK değerlerinin direnç ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (76).

Bart-Delabesse ve arkadaşları (101), YBÜ'ndeki yanıklı hastalardan soyutladıkları 22 *Candida* suşunda ketokonazolün MİK değerlerinin 0.12-32 µg/ml arasında değiştiğini bildirmiştir. Safdar ve arkadaşları (86), risk grubunda bulunan hastaların çeşitli klinik örneklerinden soyutladıkları 349 maya izolatında MİK aralığının 0.03-16 µg/ml arasında bulunduğunu saptamıştır. Bu çalışmada en

yüksek $MİK_{90}$ değerleri *C. glabrata* ve *C. tropicalis* izolatlarında (2 $\mu\text{g/ml}$) belirlenmiştir. Hoban ve arkadaşları (102), risk grubunda bulunan hastaların kan kültürlerinden soyutladıkları 757 maya izolatının $MİK$ değerlerini 0.0078-4 $\mu\text{g/ml}$ arasında saptarken en yüksek $MİK_{90}$ değerini *C. glabrata* izolatlarında izlemişlerdir. Torres-Rodriguez ve arkadaşları (115), çoğunluğunu AIDS hastalarının oluşturduğu kişilerden soyutladıkları 124 *Candida* izolatında ketokonazolun $MİK$ aralığını 0.03-4 $\mu\text{g/ml}$ arasında saptamıştır. Bu çalışmada en yüksek $MİK_{90}$ değeri *C. glabrata* izolatlarında (2 $\mu\text{g/ml}$) belirlenmiştir.

Davey ve arkadaşları (114), 180 *Candida* izolatında ketokonazol $MİK$ aralığını ≤ 0.12 -8 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptamışlar ve en yüksek $MİK_{90}$ değerini *C. glabrata* ve *C. tropicalis* izolatlarında (4 $\mu\text{g/ml}$) bulmuşlardır. Arthington-Skaggs ve arkadaşları (113), 64 *Candida* izolatında $MİK$ aralığını ≤ 0.03 - ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ olarak elde ederken, en yüksek $MİK_{90}$ değerini *C. albicans* izolatlarında (16 $\mu\text{g/ml}$) saptamışlardır.

Yurdumuzda da ketokonazolun etkinliğinin çeşitli klinik izolatlarda araştırıldığı çalışmalarda $MİK$ aralığı < 0.03 -4 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiş olup, en yüksek $MİK_{90}$ değeri *C. albicans* izolatlarında (1 $\mu\text{g/ml}$) bulunmuştur (96,106).

Çalışmamızda maya türleri için ketokonazole ait $MİK$ değerleri 0.03-8 $\mu\text{g/ml}$ arasında elde edilirken, en yüksek $MİK_{90}$ değeri *C. glabrata* izolatlarında (1 $\mu\text{g/ml}$) izlenmiştir. Ketokonazol ile ilgili olarak belirlediğimiz veriler diğer kaynak bulguları ile uyumludur. Çalışmamızda ketokonazol için saptadığımız değerler ile çeşitli çalışmalarda elde edilen değerler Tablo 16'da karşılaştırılmaktadır.

Çalışmamız verileri ışığında; YBÜ hastalarından halen en sık soyutlanan maya türünün *C. albicans* olduğunu ve *C. albicans* dışı türlerde özellikle *C. glabrata* insidansında belirgin bir artış olduğunu söyleyebiliriz. Araştırmamızda yedi *Trichosporon spp.* ve bir *Geotrichum candidum* saptanmış olması *Candida* türleri dışındaki maya türlerinin de YBÜ hastalarından etken olarak soyutlanabileceğini göstermektedir.

Araştırmamızdaki antifungal duyarlılık testi ile ilgili bulgularımıza baktığımızda, soyutladığımız maya izolatlarına karşı çalışılan antifungal ilaçlar içinde en etkilisinin amfoterisin B olduğunu görmekteyiz. Flukonazol ve itrakonazolün etkinliği karşılaştırıldığında, itrakonazole karşı direncin (%13.3)

flukonazole karşı olan dirençten (%8.6) daha yüksek oranda saptandığı gözlenmektedir.

Tablo 13. Çeşitli çalışmalarda *Trichosporon* türleri için elde edilen değerler

Araştırmacılar (kaynak)	Amfoterisin B		Flukonazol		İtrakonazol	
	MİK aralığı (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)	MİK aralığı (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)	MİK aralığı (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Paphitou ve ark (104)	0.06-8	BV*	0.5->64	BV*	0.03->16	BV*
Arıkan ve ark (109)	1-8	4	0.25-16	8	0.06-4	1
Çalışmamız	0.125-1	1	0.25-4	1	0.06-0.25	0.25

*BV: Bulgu verilmemiş

Tablo 14. Çeşitli çalışmalarda *Candida* izolatları için flukonazol ile elde edilen değerler

Araştırmacılar (kaynak)	MİK aralığı (µg/ml)	Direnç oranı (%)	En dirençli tür (%)
NEMIS (84)	0.12-256	BV*	BV*
Safdar ve ark (86)	0.03-64	9.4	<i>C. glabrata</i> (30.7)
St-Germain ve ark (85)	≤0.25->256	13	<i>C. krusei</i> (53)
Hoban ve ark (102)	0.03-32	0	BV*
SENTRY programı (103)	0.12->128	2.3	<i>C. glabrata</i> (8.7)
Kostakoğlu ve ark (87)	BV*	0	BV*
Çalışmamız	0.125-64	8	<i>C. glabrata</i> (18.2)

*BV: Bulgu verilmemiş

Tablo 15. Çeşitli çalışmalarda *Candida* izolatları için itrakonazol ile elde edilen değerler

Araştırmacılar (kaynak)	MİK aralığı (µg/ml)	Direnç oranı (%)	En dirençli tür (%)
NEMIS (84)	0.007-16	BV*	BV*
Safdar ve ark (86)	0.03->16	10.8	<i>C. glabrata</i> (46.2)
St-Germain ve ark (85)	≤0.008->8	26	<i>C. glabrata</i> (58)
Hoban ve ark (102)	0.008-4	BV*	BV*
SENTRY programı (112)	0.015->128	8.5	<i>C. krusei</i> (66.6)
Koç ve ark (106)	0.3-1	BV*	BV*
Çalışmamız	0.015-8	13	<i>C. glabrata</i> (59.1)

*BV: Bulgu verilmemiş

Tablo 16. Çeşitli çalışmalarda *Candida* izolatları için ketokonazol ile elde edilen değerler

Araştırmacılar (kaynak)	MİK aralığı (µg/ml)	En yüksek MİK ₉₀ değeri (saptandığı tür)
Bart-Delabesse ve ark (101)	0.12-32	BV*
Safdar ve ark (86)	0.03-16	2 (<i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i>)
Hoban ve ark (102)	0.008-4	2 (<i>C. glabrata</i>)
Torres-Rodriguez ve ark (115)	0.03-4	2 (<i>C. glabrata</i>)
Koç ve ark (106)	0.3-8	1 (<i>C. albicans</i>)
Çalışmamız	0.03-8	1 (<i>C. glabrata</i>)

*BV: Bulgu verilmemiş

8. SONUÇ VE ÖNERİLER

YBÜ'lerinden soyutladığımız 113 maya izolatu ile yaptığımız çalışma sonuçlarına göre:

1. Farklı maya türlerinde antifungallere direnç durumunda değişiklik ve bazı türlerde intrensek direnç bulunması, maya mantarlarıyla gelişen hastane infeksiyonlarında mortalitenin daha yüksek olması gibi nedenlerle YBÜ hastalarından soyutlanan maya izolatlarının tanımlaması ve antifungal duyarlılık araştırmalarının yapılmasının gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

2. *C. glabrata* türündeki artış ve bu türde azol grubu ilaçlara yüksek oranda direnç saptanmış olması dikkat çekmektedir. Dört *C. albicans* ve bir *C. tropicalis* izolatında flukonazole direnç belirlenmesi, *C. glabrata* türü dışındaki türlerde de bu ilaca karşı direnç ortaya çıktığını göstermesi bakımından önem taşımaktadır. Ancak yine de tür tanımlaması göz önüne alınarak dikkatli bir biçimde azol türevlerinin antifungal sağaltımda kullanabileceğini düşünmekteyiz.

3. İzolatlarımızın hepsinin amfoterisin B'ye duyarlı olması nedeniyle bu ilacın halen etkili bir antifungal olduğunu söyleyebiliriz.

- 26- Dennig DW. *Aspergillus* species. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000;2674-2685.
- 27- Edwards JE. *Candida* species. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000;2656-2674.
- 28- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. Medical mycology. Zinsser Microbiology. 20th ed. Connecticut: Appleton and Lange. 1992;1071-1157.
- 29- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Mycology. The Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co. 1997;983-1069.
- 30- Mitchell T. Medical mycology. In: Brooks GF, Butel JS, Morse SA eds. Medical Microbiology. 21th ed. Connecticut: Appleton and Lange. 1998;583-616.
- 31- İnci R. Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflanması. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999;1015-1021.
- 32- Yuluğ N. Mantar infeksiyonlarına genel bakış. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999;1023-1024.
- 33- Ener B. Fungal hastane infeksiyonları: Epidemiyoloji ve kontrol. Hastane İnfek Derg 1998;2:150-155.
- 34- Warren NG, Hazen KC. *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH eds. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington, DC: ASM press. 1999;1184-1199.
- 35- Yücesoy M. *Candida* türlerinin virülans faktörleri ve konağa ait faktörler. Dokuz Eylül Üniv Tıp Fak Derg 1999;13:377-388.
- 36- Vartivarian SE. Virulence properties and nonimmune pathogenetic mechanisms of fungi. Clin Infect Dis 1992;14(Suppl 1):S30-36.
- 37- De Pauw BE, Donnelly JP. Infections in the immunocompromised host: General principles. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000;3079-3090.
- 38- Hostetter MK. Adhesins and ligands involved in the interaction of *Candida* spp. with epithelial and endothelial surfaces. Clin Microbiol Rev 1994;7:29-42.

- 39- Branchini ML, Pfaller MA, Chalberg JR, Frempong T, Isenberg HD. Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida* isolates. *J Clin Microbiol* 1994;32:452-456.
- 40- D'Antonio D, Romano F, Pontieri E, Fioritoni G, Caracciolo C. Catheter-related candidemia caused by *Candida lipolytica* in a patient receiving allogenic bone marrow transplantation. *J Clin Microbiol* 2002;40:1381-1386.
- 41- Howard DH. Acquisition, transport and storage of iron by pathogenic fungi. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:394-404.
- 42- Hube B, Naglik J. *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. *Microbiology* 2001;147:1997-2005.
- 43- Zepelin MB, Meyer I, Thomssen, R, Würzner R, Sanglard D, Telenti A. HIV-Protease inhibitors reduce cell adherence of *Candida albicans* strains by inhibition of yeast secreted aspartic proteases. *J Invest Dermatol* 1999;113:747-751.
- 44- De Bernardis F, Chiani P, Ciccozzi M, Pellegrini, Ceddia T et al. Elevated aspartic proteinase secretion and experimental pathogenicity of *Candida albicans* isolates from oral cavities of subjects infected with Human Immunodeficiency Virus. *Infect Immun* 1996;64:466-471.
- 45- Kaminishi H, Miyaguchi H, Tamaki T, Suenaga N, Hisamatsu M et al. Degradation of humoral host defense by *Candida albicans* proteinase. *Infect Immun* 1995;63:984-988.
- 46- Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:122-143.
- 47- Martinez JP, Gil ML, Lopez-Ribot JL, Chaffin WJ. Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:121-141.
- 48- De Bernardis F, Molinari A, Boccanera M, Stringaro A, Robert R. Modulation of cell surface-associated mannoprotein antigen expression in experimental candidal vaginitis. *Infect Immun* 1994;62:509-519.
- 49- Ashman RB, Papadimitriou JM. Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* infection. *Microbiol Rev* 1995;59:646-672.
- 50- Kanbe T, Han Y, Redgrave B, Reisselman MH, Cutler JE. Evidence that mannans of *Candida albicans* are responsible for adherence of yeast forms to spleen and lymph node tissue. *Infect Immun* 1993;61:2578-2584.

- 51- Yeaman MR, Soldan SS, Ghannoum MA, Edwards JE, Filler SG. Resistance to platelet microbicidal protein results in increased severity of experimental *Candida albicans* endocarditis. *Infect Immun* 1996;64:1379-1384.
- 52- Ener B. Hastane infeksiyonu etkeni olarak mantarlar. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999;1123-1128.
- 53- Meunier F, Aoun M, Bitar N. Candidemia in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 1992;14(Suppl 1):S120-125.
- 54- Hospenthal DR, Bennett JE. Miscellaneous fungi and *Prototheca*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000;2772-2780.
- 55- Ener B. Nadir görülen fırsatçı mikozlar. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999;1105-1109.
- 56- Sugita T, Nishikawa A, Shinoda T. Identification of *Trichosporon asahii* by PCR based on sequences of the internal transcribed spacer regions. *J Clin Microbiol* 1998;36:2742-2744.
- 57- Sugita T, Nishikawa A, Shinoda T, Kume H. Taxonomic position of deep-seated, mucosa-associated and superficial isolates of *Trichosporon cutaneum* from Trichosporonosis patients. *J Clin Microbiol* 1995;33:1368-1370.
- 58- Vartivarian SE, Anaissie EJ, Bodey GP. Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: Classification, diagnosis and management. *Clin Infect Dis* 1993;17(Suppl 2):S487-491.
- 59- Van Burik JA, Weisdorf D. Infection in recipients of blood and marrow transplantation. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000;3136- 3147.
- 60- Diamond RD. *Cryptococcus neoformans*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000;2707-2718.
- 61- Tümbay E. *Cryptococcus neoformans*. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999;1087-1091.
- 62- Yıldırım ŞT. Mantar infeksiyonlarında laboratuvar tanı. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999;1129-1144.

76- Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A et al. Antifungal susceptibility testing: Practical aspects and current challenges. Clin Microbiol Rev 2001;14:643-658.

77- Pfaller MA, Yu WL. Antifungal susceptibility testing: New Technology and clinical applications. Infect Dis Clin North Am 2001;15:1227-1261.

78- Kuştimur S. Antifungal Duyarlılık Testleri. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999;1159-1166.

79- Esen N, Yücesoy M, Yuluğ N. Evaluation of semisolid agar screening tests for determining fluconazole and amphotericin B susceptibilities of *Candida* strains by using three different media. J Chemother (yayına kabul edilmiştir).

80- Yücesoy M, Marol S. *C. albicans* suşlarının flukonazole duyarlılığının belirlenmesinde farklı besiyerlerinin kullanıldığı agar tarama yöntemi. V. Antimikrobik Kemoterapi Günleri (1-3 Nisan 2002, İstanbul) Program ve Özet Kitabı;P/21:167.

81- Patterson TF, Revankar SG, Kirkpatrick WR, Dib O, Fothergill AW et al. Simple method for detecting fluconazole-resistant yeasts with chromogenic agar. J Clin Microbiol 1996;34:1794-1797.

82- Yücesoy M, Şentürker Güldaş N, Yuluğ N. Disk diffusion method for fluconazole susceptibility testing of *Candida albicans* strains. J Chemother 2001;13:161-166.

83- Arthington-Skaggs BA, Jradi H, Desai T, Morrison CJ. Quantitation of ergosterol content: Novel method for determination of fluconazole susceptibility of *Candida albicans*. J Clin Microbiol 1999;37:3332-3337.

84- Pfaller MA, Messer SA, Houston A, Rangel-Frousto MS, Wiblin T et al. National epidemiology of mycoses survey: A multicenter study of strain variation and antifungal susceptibility among isolates of *Candida* species. Diagn Microbiol Infect Dis 1998;31:289-296.

85- St-Germain G, Laverdiere M, Pelletier R, Burgoult AM, Libman M et al. Prevalence and antifungal susceptibility of 442 *Candida* isolates from blood and other normally sterile sites: Results of a 2-year (1996 to 1998) multicenter surveillance study in Quebec, Canada. J Clin Microbiol 2001;39:949-953.

86- Safdar A, Chaturvedi V, Cross EW, Park S, Bernard EM et al. Prospective study of *Candida* species in patients at a comprehensive cancer center. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:2129-2133.

- 87- Kostakoğlu U, Aydın K, aylan R, Kaya S, Aktoz G ve ark. Cerrahi yoğun bakım ünitesindeki fungal infeksiyonlar ve antifungal duyarlılığın değerlendirilmesi. Yoğun Bakım Derg 2002;2(Ek 1):157.
- 88- Kkateş E, Erturan Z, akan H, Kocazeybek B, Yeğenoğlu Y. Cerrahi yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların aspirasyon kateterlerinden izole edilen mayalar ve flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlılıkları. ANKEM Derg 1998;12:503-508.
- 89- Ermertcan Ő, İnci R, Hilmioğlu S, Tümbay E. Kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* kökenlerinin flukonazole in vitro duyarlılığı. İnfek Derg 1998;12:531-533.
- 90- Kocazeybek B, Ordu A, Ayyıldız A, Aslan M, Bayındır O ve ark. Yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan izole edilen mayalar. Türk Mikrobiol Cem Derg 1999;30:38-40.
- 91- Br , Tekin N, Kiraz N, Akşit MA. Candidemia in neonatal intensive care unit. İnfek Derg 2001;15:1-4.
- 92- Ener B, Sınırtaş M, Akalın H, Hacımustafaoğlu M, zakın C ve ark. Nozokomiyal kandidemi etkenlerinin retrospektif analizi. İnfek Derg 1998;12:85-88.
- 93- Hilmioğlu S, İnci R, Hoşgör M, Burhanoğlu D, Tümbay E ve ark. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde beş yıllık dönemde fungemi epizotları: Non-*Albicans Candida* türlerinde artış. II. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara) Kitabı:184.
- 94- Ko NA, Erdem F, etin N. Kan kültürlerinde üreyen mayaların retrospektif olarak değerlendirilmesi ve antifungal duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1999;29:177-182.
- 95- Saraçlı MA, Gönlüm A, Yıldırım ŞT, Doğancı L. Altı yıllık bir dönemde fungemi olgularından izole edilen fungus türleri. II. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara) Kitabı:185.
- 96- Yücesoy M, Yuluğ N. Kan kültürlerinden soyutlanan *Candida* türlerinin antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları. ANKEM Derg 2000;14:71-78.
- 97- Gller ŐS, zktk A, Yuluğ N. Sistemik infeksiyonlardan izole edilen *Candida*'ların antifungal ajanlara duyarlılıkları. İnfek Derg 2001;15:221-224.
- 98- Altanlar N, Erdemoğlu A, Emekdaş G, Kocabeyoğlu , Akın A. Değişik klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. ANKEM Derg 1999;13:92-96.
- 99-Fındık D, Tuncer İ, Arslan U. İdrar kültürlerinden izole edilen *Candida* türü maya mantarlarının antifungal duyarlılıkları. II. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara) Kitabı:267.

- 100- Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, Filler SG, Pappas PG et al. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Clin Infect Dis 2000;30:662-678.
- 101- Bart-Delabesse E, Deventer H, Goessens W, Poirot JL, Lioret N et al. Contribution of molecular typing methods and antifungal susceptibility testing to the study of a candidemia cluster in a burn care unit. J Clin Microbiol 1995;33:3278-3283.
- 102- Hoban DJ, Zhanel GG, Karlowsky JA. In vitro susceptibilities of *Candida* and *Cryptococcus neoformans* isolates from blood cultures of neutropenic patients. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:1463-1464.
- 103- Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollis RJ. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997 to 2000. J Clin Microbiol 2002;40:852-856.
- 104- Paphitou NI, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E et al. In vitro antifungal susceptibilities of *Trichosporon* species. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:1144-1146.
- 105- Coşkun Ö, Beşirbellioğlu AB, Yıldırım ŞT, Gönülüm A, Pahsa A. Kandidemili hastalardan izole edilen *Candida* türlerinin amfoterisin B ve flukonazole in vitro duyarlılıkları. Mikrobiyol Bül 2001;35:565-571.
- 106- Koç NA, Gökahmetoğlu S. In vitro activities of terbinafine, compared with those of amphotericin B and azoles against clinical *Candida* isolates. ANKEM Derg 2000;14:111-115.
- 107- Kiraz N, Erturan Z, Uzun M, Durmaz G, Us T. Üçyüz *Candida albicans* suşunun amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve mikonazole karşı duyarlılıklarının araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1997;27:121-124.
- 108- Yücesoy M, Karaman M, Yuluğ N. İdrar kültürlerinden soyutlanan *Candida* türlerinin flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlılıkları. II. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara) Kitabı:264.
- 109- Arıkan S, Haşçelik G. *Trichosporon asahii* suşlarının amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazole duyarlılığının mikrodilüsyon yöntemi ve E test ile araştırılması. II. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara) Kitabı:203-204.
- 110- Iwee PC, Kelly DM, Reed EC, Hinrichs SH. Invasive infection due to *Candida krusei* in immunocompromised patients not treated with fluconazole. Clin Infect Dis 1995;20:342-347.
- 111- Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1-8.

112- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ et al. 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. *J Clin Microbiol* 1998;36:1886-1889.

113- Arthington-Skaggs BA, Motley M, Warnock DW, Morrison CJ. Comparative evaluation of PASCO and National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of yeasts. *J Clin Microbiol* 2000;38:2254-2260.

114- Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekely A, Warnock DW. Comparative evaluation of FUNGITEST and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol* 1998;36:926-930.

115- Torres-Rodriguez JM, Mendez R, Lopez-Jodra O, Morera Y, Espasa M et al. In vitro susceptibilities of clinical yeast isolates to the new antifungal eberconazole compared with their susceptibilities to clotrimazole and ketoconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1258-1259.