T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

ÇEŞİTLİ CANDİDA TÜRLERİNİN DÖRT DEĞİŞİK ANTİFUNGALE DUYARLILIKLARININ MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Arş. Gör. Dr. Erdem KARAKOÇ

Tez Yöneticisi

Doç. Dr. Halil YAZGI

Uzmanlık Tezi

Erzurum-2007

İÇİNDEKİLER

	ONAY	v
	TEŞEKKÜR	vi
	ÖZET	vii
	SUMMARY	viii
1.	**GİRİŞ**	1
2.	**GENEL BİLGİLER**	2
2.1.	Mantar Sınıflamasında Kandidaların Yeri ve Genel Özellikleri	2
2.2.	Kandidaların Klinik Önemi	2
2.3.	Kandida İnfeksiyonlarının Patogenezi	4
2.4.	Kandidaların Laboratuar Tanısı	6
	2.4.1. Primer İzolasyon	6
	2.4.2. İdentifikasyon	7
	2.4.3. Serolojik Testler	11
	2.4.4. Kandidalarda Moleküler Tanı Yöntemleri	12
2.5.	Antifunfgal Ajanlar	13
	2.5.1. Amfoterisin B	14
	2.5.2. Flusitozin	15
	2.5.3. Azol Grubu Antifungaller	15
	2.5.4. Ekinokandinler	18
2.6.	Antifungal Duyarlılık Testleri	18
	2.6.1. Mikrodilüsyon Yöntemi	19

3. **GEREÇ VE YÖNTEM** 21
3.1 İzolasyon ve İdentifikasyon 21
3.1.1. Primer İzolasyon 21
3.1.2. İdentifikasyon 21
3.1.2.1. Çimlenme (Germ Tüp Oluşturma) Deneyi 21
3.1.2.2.Klamidospor, Blastospor, Artrospor, Pseudohif ve Hif Oluşturma Özelliğinin İncelenmesi 21
3.1.2.3. CHROM Agar (Kromojenik Besiyeri)'a ve BIGGY Agara ekim 22
3.1.2.4. API 20C AUX İdentifikasyon Sistemi İle İnceleme 22
3.2. Antifungal Duyarlılık Testi 22
3.2.1. Mikrodilüsyon Yöntemi 22
3.3. İstatistiksel Analiz 24
4. **BULGULAR** 25
5. **TARTIŞMA** 32
6. **SONUÇ** 39
7. **KAYNAKLAR** 41

,

ONAY

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Erdem KARAKOÇ'un "ÇEŞİTLİ CANDİDA TÜRLERİNİN DÖRT DEĞİŞİK ANTİFUNGALE DUYARLILIKLARININ MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI" isimli tez konusu:

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın 19.04.2006 tarihli Anabilim Dalı Kurulunda görüşülerek 2/1 no'lu karar ile kabul edilmiştir.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 17.03.2006 tarih ve. 3 sayılı oturumda görüşülen tez teklifi 10 no'lu karar ile etik kurallara uygun görülmüştür.

Temel Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığınca 20.04.2006 tarih ve 2/1.1 no'lu karar ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı yöneten, bilgi ve teşvikleri ile öğrenimime katkıda bulunan, sayın Doç. Dr. Halil YAZGI'ya, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, öğrenimim süresince bilgi ve yakın desteğini esirgemeyen Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam, sayın Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ'a, her konuda yardım ve desteklerini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sayın Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ'ye, sayın Prof. Dr. Osman AKTAŞ'a, mantarlar konusunda tüm deneyimlerini benimle paylaşan, tez çalışmamda yardım ve desteğini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Ayşe Esin AKTAŞ'a, her zaman destek ve yardımlarını gördüğüm sayın Doç. Dr. Ülkü ALTOPARLAK'a, sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZBEK'e, sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan USLU'ya, sayın Uzm. Dr. Hamidullah UYANIK'a, sayın Uzm. Tevfik AKMAN'a, tez çalışmamın istatistiki analizinde yardımını esirgemeyen sayın Yrd. Doç. Dr. Serhat VANÇELİK'e, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, tez çalışmamda bana destek olan anabilim dalı çalışanlarına; bu günlere gelmemde çok emek vermiş, babam Hacı KARAKOÇ ve annem Türkan KARAKOÇ'a, desteklerinden dolayı sevgili eşim Leticia Maria PASTRANA KARAKOÇ'a ve henüz yedi aylık olan oğlum Mustafa Jean Marco KARAKOÇ'a teşekkür ederim.

ÖZET

Fırsatçı ve nazokomiyal infeksiyonlara neden olan, antifungallere dirençli kandida türlerinin izolasyonunda son yıllarda belirgin biçimde artış olması, bu infeksiyonlardan izole edilecek kandida suşlarının tür düzeyinde tanımlanmasını ve antifungallere duyarlılık testlerinin yapılmasını zorunlu hale getirmiştir.

Çalışmaya dahil edilen kandida suşlarının tür düzeyinde tanımlanması için germ tüp testi, mısırunu-tween80 besiyerinde üreme şeklinin mikroskobik değerlendirilmesi, CHROM Agar ve BIGGY Agar'daki kromojenik koloni morfolojilerinin incelenmesi gibi testler yapıldı. Ayrıca tanıyı kesinleştirmek için API 20C AUX identifikasyon test kitleri de kullanıldı. İdentifikasyon sonunda kan kültürlerinden izole ettiğimiz 88 kandida suşunun 30'u (%34.1) C. *albicans*, 26'sı (%29.5) C. *tropicalis*, 15'i (%17.1) C. *parapsilosis*, 8'i (%9.1) C. *glabrata*, 5'i (%5.7) C. *kefyr*, 4'ü (%4.5) C. *krusei* olarak tanımlandı. İki standart kandida suşu (C. *krusei* ATCC 6258, C. *parapsilosis* ATCC 22019) da çalışmaya dahil edildi.

Tanımlanan kandidaların amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungine karşı duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı ve her bir ilaç için MİK aralıkları ile MİK 50/90 değerleri belirlendi. Bu amaçla Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen mikrodilüsyon yötemi kullanıldı.

Flukonazol için 8 kandida suşu doza bağımlı duyarlı (MİK değeri 16-32µg/ml) , 5 kandida suşu ise dirençli (MİK değeri ≥64µg/ml) olarak tespit edildi. Doza bağımlı duyarlı suşların 3'ü C. *albicans*, 3'ü C. *tropicalis*, 2'si C. *glabrata* olarak saptandı. Dirençli suşların ise 1'i C. *albicans*, 4'ü C. *krusei* olarak saptandı.

Kandida suşlarının tamamında MİK aralıkları, amfoterisin B için; 0.03-1 µg/ml, flukonazol için; 0.125-64 µg/ml, vorikonazol için 0.125-1 µg/ml, kaspofungin için; 0.03-1 µg/ml olarak belirlendi.

Çalışılan bütün suşlarda amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için MİK değerleri ≤1 µg/ml olarak belirlendi. Flukonazol'e karşı doza bağımlı duyarlı ve dirençli suşlarda da amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için düşük MİK değerleri tespit edildi.

Elde edilen düşük MİK değerleri göz önüne alındığında; Amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin'in kandida suşlarına karşı etkin olabileceği ve flukonazole dirençli suşlarda oluşan infeksiyonların tedavisinde alternatif ilaç olarak kullanılabilecekleri sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Kandida, antifungal duyarlılık, mikrodilüsyon.

SUMMARY

The Investigation of Various Candida Species of Susceptibilities to Four Different Antifungals By the Microdilution Method

In recent years, since there has been increasing trend in the isolation of candida species that cause opportunistic and nosocomial infections and resistant to antifungals, the identification of candida strains at species-level and the use of antifungal susceptibility tests become obligatory.

Strains included in the study were identified to the species level by using germ tube test, microscopic evaluation of the growing type on cornmeal-Tween80 medium, colonial morphology on CHROM agar and BIGGY agar. Moreover, the API 20C AUX identification kits were also used to definite the identification. Of the strains tested, 30 (%34.1) were C. *albicans,* 26 (%29.5) were C.*tropicalis*, 15 (%17.1) were C.*parapsilosis,* 8 (%9.1) were C.*glabrata*, 5 (%5.7) were C.*kefyr*, 4 (%4.5) were C.*krusei*. Two standard candida species (C.*krusei* ATCC 6258, C.*parapsilosis* ATCC 22019) were also included in the study.

The susceptibilities of what were investigated for amphotericin B, fluconazole, voriconazole and caspofungin of identified candidas and MIC ranges with MIC 50/90 values were determined for each agents. Microdilution technic which was recommended by Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) was used for this purpose.

Eight candida strains were dose dependent susceptible (MIC value 16-32µg/ml), 5 candida strains were detected as resistant (MIC value≥64µg/ml) for flukonazole. Three were C.*albicans*, 3 were C.*tropicalis*, 2 were detected as C.*glabrata* of dose dependent susceptible strains. Of the resistant strains one was C.*albicans* and four were C.*krusei*.

MIC ranges were detected for amphotericin B 0.03-1 µg/ml, for fluconazole were 0.125-64 µg/ml, for voriconazole were 0.125-1 µg/ml, for caspofungin were 0.03-1 µg/ml for all candida strains.

MIC values were detected ≤1 µg/ml for amphotericin B, voriconazole and caspofungin in all studied strains. Low MIC values were detected for amphotericin B, voriconazole and caspofungin also dose dependent susceptible and resistant for fluconazole.

When we look MIC values which we obtained, we concluded that amphotericin B, voriconazole and caspofungin may also be effective for candida strains and may also be an alternative for the resistant strains to fluconazole.

Key words: Candida, antifungal susceptibility, microdilution.

1. GİRİŞ

Kandida türleri doğada yaygın olarak bulunan; cansız yüzeylerde, birçok hayvan ve insanların deri ve mukozalarında yaşayan fırsatçı patojenler olup, esas olarak hastanede yatan immun sistemi zayıf hastalarda yüzeyel ve derin mikozlara yol açarlar. Normal florada bulunmaları nedeniyle birçok klinik örnekte bu tür mantarların üretilmesi kavram karmaşasına ve zaman zaman da gereksiz tedavilere neden olmaktadır [(1)].

Steril vücut sıvılarından (kan, BOS, plevral ve perikardial sıvılar v.s) veya doku örneklerinden izolasyonları ve üretilmeleri yada kültürde fazla sayıda olmaları önem arzeder. Klinik belirtiler olmaksızın balgam, idrar, feçes ve vajenden az sayıda izole edilmeleri durumunda ise genelde tedavi edilmezler [(2,3)].

Büyük cerrahi girişimlerin artması, yenidoğan ve erişkin yoğun bakım birimlerinde genel durumu bozuk hastaların daha fazla izlenmesi, geniş spektrumlu ve birden fazla antibiyotik kullanımının artması, yapay protezlerin kullanımının yaygınlaşması sonucu, fungal infeksiyonlarda bir artış olmuş ve fırsatçı patojenler arasında en önemli yeri mantarlar almıştır [(4)].

Son otuz yıldır özellikle immun yetmezliği olan hastalarda invaziv fungal infeksiyon insidansı artmıştır. Kanser nedeniyle ölen hastaların otopsi sonuçları; yarıdan fazlasında kandida enfeksiyonunu, üçte birinde aspergillus enfeksiyonunu, bazılarında ise kriptokok enfeksiyonlarını göstermektedir [(5,6)].

Kandida enfeksiyonlarının tedavisinde sınırlı sayıda antifungal ajan kullanılmaktadır. Son yıllarda tiazol grubu antifungallerin profilaksi ve tedavide sık kullanımları sonucu, daha az patojen ama dirençli olan C*. tropicalis*, C. *krusei*, C. *glabrata*, C. *parapsilosis* gibi kandida türleri ile kolonizasyon ve sistemik enfeksiyonlar artmıştır [(7-9)].

Bütün bunlar antifungal tedavi seçiminde in vitro duyarlılığı ölçen testlerin geliştirilmesine yönelik çalışmaları yoğunlaştırmıştır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından 1992'de mayalar için standart makrodilusyon yönteminin önerilmesi ile bu konuda önemli bir gelişme kaydedilmiştir. Ancak standart makrodilusyon testinin uygulanması zor ve zaman alıcı olması nedeniyle alternatif yöntem arayışları devam etmiştir. Bu araştırmaların sonucunda, daha pratik olan mikrodilüsyon yöntemi geliştirilmiştir [(8)].

Çalışmamızda kan kültürlerinden izole edilmiş kandidaların; Flukonazol, vorikonazol, amfoterisin B ve kaspofungin'e karşı duyarlılıklarının mikrodilüsyon yöntemiyle saptanması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Mantar Sınıflamasında Kandidaların Yeri ve Genel Özellikleri

Mantarlar ökaryotik, klorofilsiz, absorbsiyonla beslenen, genellikle yuvarlak veya oval şekilde, tomurcuklanarak üreyen mikroorganizmalardır. Tek hücreli ya da çok hücreli olabilirler ve birden fazla nukleuslu olmaya eğilimlidirler. Kitin ve selüloz içeren sert hücre duvarına sahiptirler. Mayozlu çekirdek bölünmesi vardır. Morfolojik yapılarına göre maya veya küf görünümündedirler [3,10].

Mayalar germ tüp, blastospor, klamidospor, artrospor ve kapsül gibi yapılar oluştururlar. Bunlar identifikasyonda önemlidir. Düşük oksijen basıncında ya da dokuda; Mayalar hif, pseudohif veya her ikisini birden oluşturabilirler [3].

Mayalar kültürlerinde krema kıvamında, yuvarlak, sınırları düzenli koloniler meydana getirirler. Kapsülü olanlarda mukoid koloniler görülür. Mayalar makroskobik ve mikroskobik morfolojik karakterleri ve biyokimyasal özelliklerine göre tür düzeyinde identifiye edilirler. Genel olarak seksüel üreme özelliklerine göre iki gruba ayrılmaktadırlar. Gerçek veya tam mayalar seksüel olarak ürer ve askospor veya basidiospor geliştirirler. Kusurlu veya maya benzeri mantarlar ise sadece aseksüel olarak ürerler [3,10].

1987'de Berlin'de 14. Ulusal Botanik Kongresinde, Dixon ve Fromling tarafından yapılan fungus sınıflandırması esas alınarak, tıbbi önemi olan fungusların bu sınıflama içindeki yeri belirlenmiş ve kandidalar bu sınıflamada Deuteromyces sınıfı içindeki üç takımdan birisi olan Cryptococcales takımı içine konulmuştur. Bu takım içinde Candida cinsi ile birlikte Cryptococcus, Trichosporum ve Pitryrosporum cinsleri de bulunmaktadır [3].

Kandida cinsi içinde yaklaşık 200 tür olmasına rağmen tıbbi önemi olan kandida türlerinin sayısı azdır. Bunlar: C. *albicans*, C. *tropicalis*, C. *guilliermondii*, C. *krusei*, C. *parapsilosis*, C. *pseudotropicalis* (C. *kefyr*), C. *glabrata*, C. *lusitaniae*, C. *rugosa*, C. *haemulonii*, C. *lipolytica*, C. *norvegensis*, C. *utilis*, C. *ciferrii*, C. *zeylanoides*, C. *pulcherrima* ve C. *stellatoidea*'dır. Bu listedeki üyelerin sayıları artma eğilimindedir [10-14].

2.2. Kandidaların Klinik Önemi

Kandidalar doğada ve insan vücut florasında yaygın olarak bulunurlar. Kandidaların insan florasındaki yerleşim ve dağılımı değişik özellikler gösterir. Deri florasında daha çok nemli kat yerlerinde olmak üzere C. *parapsilosis*, C. *guilliermondii*

ve daha az sıklıkla C. *tropicalis* ve C. *krusei*'ye ve ender olarak C. *albicans*'a rastlanır. Sıkı giyim ve lokal antibiyotik kullanımı kolonizasyonunu arttırır [10,11,13].

Kandidalar sindirim sistemi florasında da bulunur. Sindirim sistemindeki kandida kolonizasyonu üzerinde diyet, sindirim sistemi bakteri florası ve laktik asitin denetleyici etkisi vardır. Sağlıklı bireylerde ağızda %30, jejunum ve ileumda %55 ve gaitada %65 oranında kandida kolonizasyonuna rastlanmıştır [15]. Ağız florasında en çok bulunan tür C. *albicans* (%75) olup bunu C. *tropicalis* (%8), C. *krusei* (%6) ve C. *glabrata* (%2-6) izler. Ağız hijyeninin bozulması, diş protezi uygulanması, sigara içilmesi durumlarında ve diabetik hastalarda sayıları artar. Anorektal ve dışkı florasındaki kandidaların %50' sini C. *albicans*, %20' sini de C. *tropicalis* ve C. *glabrata* oluşturur. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süre kullanılması, kandidaların gastrointestinal kolonizasyonunu arttırır [10,13,15].

Mikrobiyolojik ve biyokimyasal yönden kompleks bir yapıya sahip olan vajen florasında pek çok mikroorganizma yer almaktadır. Bu mikroorganizmalar içinde kandidalar da önemli bir yer tutmaktadır. Sağlıklı kadınların %5-30'unun vajeninde flora üyesi olarak kandidalara rastlanır. Bu oran gebelik, oral kontraseptif kullanımı gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir [10,16-20].

Kandidalar fırsatçı patojenlerdir. Tüm diğer fırsatçı patojenler gibi çevresel ve bireysel koşulların konak aleyhine geliştiği durumlarda hafif yüzeyel infeksiyonlardan, ağır sistemik infeksiyonlara kadar çeşitli klinik tablolara yol açabilirler. Floralı bölgelerde fizyolojik koşulların değişmesi (deride aşırı terleme, vajende pH değişiklikleri vb.), hormonal denge bozukluğu, kortikosteroidler gibi immun sistemi baskılayıcı ilaçların kullanımı, kanser veya AIDS gibi immun yetmezliğe yol açan hastalıklar kandida infeksiyonlarının gelişimini kolaylaştırır [10,11,13,14].

AIDS hastalarında kandida infeksiyonları morbidite ve mortalitenin önemli nedeni olup, prototipik belirtisi mukokutanöz kandidiazistir. Bu gruptaki hastalarda, %41.8 oranında kandidal orofaringitis ve %9.4 oranında kandidal özefajit görülmektedir. HIV infeksiyonlu kadınlarda aynı zamanda kandida vajiniti de önemli bir problemdir. İnvaziv veya hematojen dissemine kandidiazis bu hasta grubunda nadir olmakla birlikte nötropeni ve/veya intravenöz kateter varlığında ortaya çıkabilir [1,2,21].

Konağın immün sistemi bozulduğunda, topikal mikozların varlığında sıklıkla hematojen mantar infeksiyonları gelişmektedir. Hematojen kandidoz olgularının nozokomiyal sepsis olguları içindeki sıklığı yaklaşık %6-15 dolayındadır [22,23]. Hematojen kandidoz sıklığı 1980'li yıllarda risk faktörlerinin değişmesiyle birlikte belirgin artış göstermiştir. Kandida türleri içinde en büyük dilimi oluşturan C. *albicans*'ın

payının gittikçe azaldığı kabul edilmektedir [24]. Erişkin hastalarda C. *albicans* damar içi yada peritoneal kateterlerle, C. *tropicalis* bunlara ek olarak genitoüriner sistem kaynaklı infeksiyon varlığı ile, C. *parapsilosis* ise hiperalimentasyon sıvıları ve damar içi basınç monitörleri aracılığıyla salgınlara neden olmaktadır [24].

Vajinal kandida infeksiyonları sık rastlanan klinik tablolardan biridir. Tüm vajinitli kadınların üçte birinde etkenin kandidalar olduğu ve erişkin kadınların %75'inin yaşamları boyunca en az bir kez vajinal kandida infeksiyonu geçirdiği bilinmektedir [16,25]. Vajinal kandida infeksiyonu kadında yarattığı rahatsızlık duygusuyla sosyo-psikolojik yaşantıyı, evlilik ilişkilerini etkileyebilmekte ve bakteriyel infeksiyonların gelişimine zemin hazırlayabilmektedir [19,25].

2.3. Kandida İnfeksiyonlarının Patogenezi

Genellikle kandidoz öncesinde florada bulunan mantarlar, sayıca artış gösterir ve bu kolonizasyonun sonrasında infeksiyon meydana gelir. Yüzeyel kandidozlarda, kandida deri veya mukozanın bütünlüğünün bozulduğu bölgeden yalancı hifleri ile doku içerisine girer ve tomurcuklanma ile oluşan blastokonidyumları ile dokuya yayılır. Derin veya sistemik kandidozlarda çoğu kez önce gastrointestinal sistemde kolonizasyon meydana gelir ve buradaki mukozayı geçerek kana ulaşan mantar, fagositik etkinliği yetersiz olan hastalarda hemen hemen her organ ve sisteme yerleşebilir [26].

Kandidalar dermise veya kan dolaşımına geçtiğinde polimorfonükleer lökositler savunmaya katılır. Nötrofillerden başka monosit ve eozinofiller fagositozda yer alır. Doku makrofajlarının ve yerleşik retikülоendotelyal hücrelerin de kandidaları öldürme kapasiteleri vardır [13]. Myeloperoksidaz, hidrojen peroksit ve süperoksit anyon sistemi fagositlerin kandidaları öldürmelerindeki başlıca mekanizmalardır. Ayrıca fagositler kimotripsin benzeri katyonik proteinler üretip membran geçirgenliğini arttırarak etki ederler. Isıya duyarlı ve dirençli opsoninler, nötrofillerin kandidaları fagositozunu kolaylaştırır [13,14].

Yerleşik floradaki bakteriler, besin maddelerini hızla tüketerek, çevre koşullarını kandidalar için uygun olmayacak şekilde değiştirir veya toksik maddeler üreterek kandidaların çoğalmasını engeller [10]. Kandidalara karşı humoral ve hücresel bağışıklık gelişmekle beraber hücresel bağışıklığın rolü daha büyüktür. Genel olarak yüzeyel deri infeksiyonlarında hücresel bağışıklığın, sistemik infeksiyonlarda ise doğal direncin yanında humoral bağışıklığın öne çıktığı söylenebilir [13,27].

Kandida infeksiyonlarının patogenezinde, konak epitel ve endotel hücrelerine adezyon, germ tüp oluşturma ve proteinaz enziminin üretimi majör virulans faktörlerdir.

Ayrıca fosfolipaz enzimi, toksinler, fenotip değişimi, hücre duvarı ve yüzey değişimi ile hidrofobisite gibi faktörler de virulans ve patogenezde rol oynamaktadır [2,3,28,29].

Adezyon: Mayaların epitel dokuya yapışma özellikleri invazyonda önemli bir faktördür. Kandidalarda yapışma hücre duvarındaki mannan ve protein komponentler vasıtasıyla gerçekleşmektedir [30].

Mantarın yapışmasını sağlayan diğer yüzey karbonhidrat yapıları beta glukan ve kitine karşılık; konakta bunların bağlanabileceği fukos, N- asetilglukozamin ve sialik asit gibi bağlayıcı yapılar vardır [31]. Bu tabakanın sentezinin yüksek oranda şeker içeren besiyeri kullanıldığı zaman arttığı ve bu besiyerlerinde üreyen C. *albicans* kökenlerinin epitel hücrelerine daha iyi bağlandığı saptanmıştır [32].

Germ tüp - hif oluşumu (dimorfizm): Kandidalarda aktif semptomatik infeksiyon, mikroorganizmanın hif şekilleri ile ilişkilidir [33]. Hif şeklinin maya şekline göre dokuya elli kez daha fazla yapışması, plastik yüzeylere yapışmayı sağlayan fibriler yüzey tabakası oluşturması, patogenez ve virulanstaki rolünü kanıtlayan bulgulardır. Tomurcuklu hücrelerden germ tüpe geçişte hücre yüzey bileşiminde birçok değişiklikler meydana gelmekte ve çeşitli adezinler oluşmaktadır [29,33]. Nötrofillerin C. *albicans* blastosporlarını fagosite etme yeteneği germ tüp ve uzun hiflere göre daha iyidir [31].

Proteinaz enzimi: Hücre dışına salınan enzimlerdendir. Asit pH'ta (pH: 2,5-4) aktivite gösterir [32]. İn vitro çalışmalarda proteinaz enziminin fizyolojik önemi olan albumin, immunoglobulin, laktoferrin, laktoperoksidaz, musin gibi substratları sindirdiği tespit edilmiştir [34]. Bir çok substrata etkili bu enzimin patojenitedeki rolü kesindir [35].

Fosfolipaz enzimleri: Hücre zarlarındaki fosfolipitlerin yıkımında rol oynayan fosfolipaz enzimleri; bir çok canlıda zara bağlı veziküllerde bulunan enzimlerdir. Bu enzimlerin aktivasyonu ile yıkılan fosfolipitlerden lisofosfolipoitler meydana gelir ve bunlar biyolojik membranların bütünlüğünün bozulmasına neden olur. C. *albicans'*ın patogenezinde en önemli rolü üstlendiği düşünülen fosfolipaz B enzimi 1995 yılında purifiye edilmiştir [32,34,35].

Toksinler: C. *albicans'*ın maya fazında endotoksin benzeri maddeler ve hemolizin ürettiği gösterilmiştir [36].

Yüksek molekül ağırlıklı toksinler; glikoprotein toksinler ve kanditoksindir. Glikoprotein toksinler, toksik bileşik olarak glikoz, mannoz gibi karbonhidratlar ve protein içeren maddelerdir. Kanditoksin ise, Iwata ve ark.ları tarafından virulan bir C. *albicans* kökeninden izole edilmiş, hücre öldürücü ve enfeksiyon arttırıcı yeteneği olduğu gösterilmiştir [36].

Düşük molekül ağırlıklı toksinler; Yine Iwata ve ark.ları tarafından kanditoksin üreten bir C. *albicans* kökeninde saptanmış ve bunun birbirinden farklı altı çeşidi olduğu gösterilmiştir [36].

Fenotip değişimi: Bazı C. *albicans* kökenlerinin fenotipik değişim gösterdiği, özgül sentetik besiyerinde değişik görünümde koloniler oluşturdukları ve bu değişikliklerin virulans ile ilgili olduğu saptanmıştır. Fenotipik değişikliklerin invazif infeksiyon yapan kökenlerde, kommensal kökenlere göre daha sık olduğu saptanmıştır ve kökenin invazyon için optimal olan fenotipi seçtiği sonucuna varılmıştır [37].

Hücre duvarı, yüzey değişimi ve hidrofobisite: Mayanın hücre duvarı ve zarının virulans ile ilgili en önemli işlevi adezyonda oynadığı roldür [32]. Moleküler düzeyde yapılan çeşitli çalışmalar sonucu, C. *albicans*'ın yüzeyinde bulunan ve epitel ve endotel hücrelerine bağlanmada rol oynayan ligandın hücre duvarı moleküllerinden mannoprotein olduğu anlaşılmıştır [38]. Mannoprotein immunomodülatör etkili molekül olup, antijen olarak konağa sunulur. Germ tüp oluşumu döneminde hücre yüzey hidrofobisitesi etkilenir ve C. *albicans*'ın plastik yüzeylere ve epitel hücrelerine bağlanma yeteneği artar [28].

C*. albicans* suşları yüzey özelliklerine göre iki gruba ayrılırlar: Grup 1: Besiyerindeki yüksek şeker konsantrasyonuna bağlı olarak yüzey kompozisyonunu değiştirebilen suşlar (bu durum mayanın çeşitli hücre ve yüzeylere bağlanmasını ve virulansını arttırmaktadır). Karbonhidratlardan zengin diyetle beslenen kişilerde oral kandidoz gelişmesi bu şekilde açıklanabilir [14,39]. Grup 2: Yüzeyini değiştirme özelliğini tamamen kaybetmiş olan suşlar (bunlar çok düşük patojenik potansiyele sahiptir) [14].

2.4. Kandidaların Laboratuvar Tanısı

Kandidalar normal florada da bulunduklarından, laboratuarlarda karşılaşılan en büyük problemlerden birisi klinik örneklerde üreyen kandidaların klinik bir öneminin olup olmadığını belirlemek ve rapor edilip edilmemesine karar vermektir. Bu nedenle, laboratuvar verilerin doğru yorumlanabilmesi için iyi bir klinik laboratuar işbirliğinin kurulması gerekir [1,40].

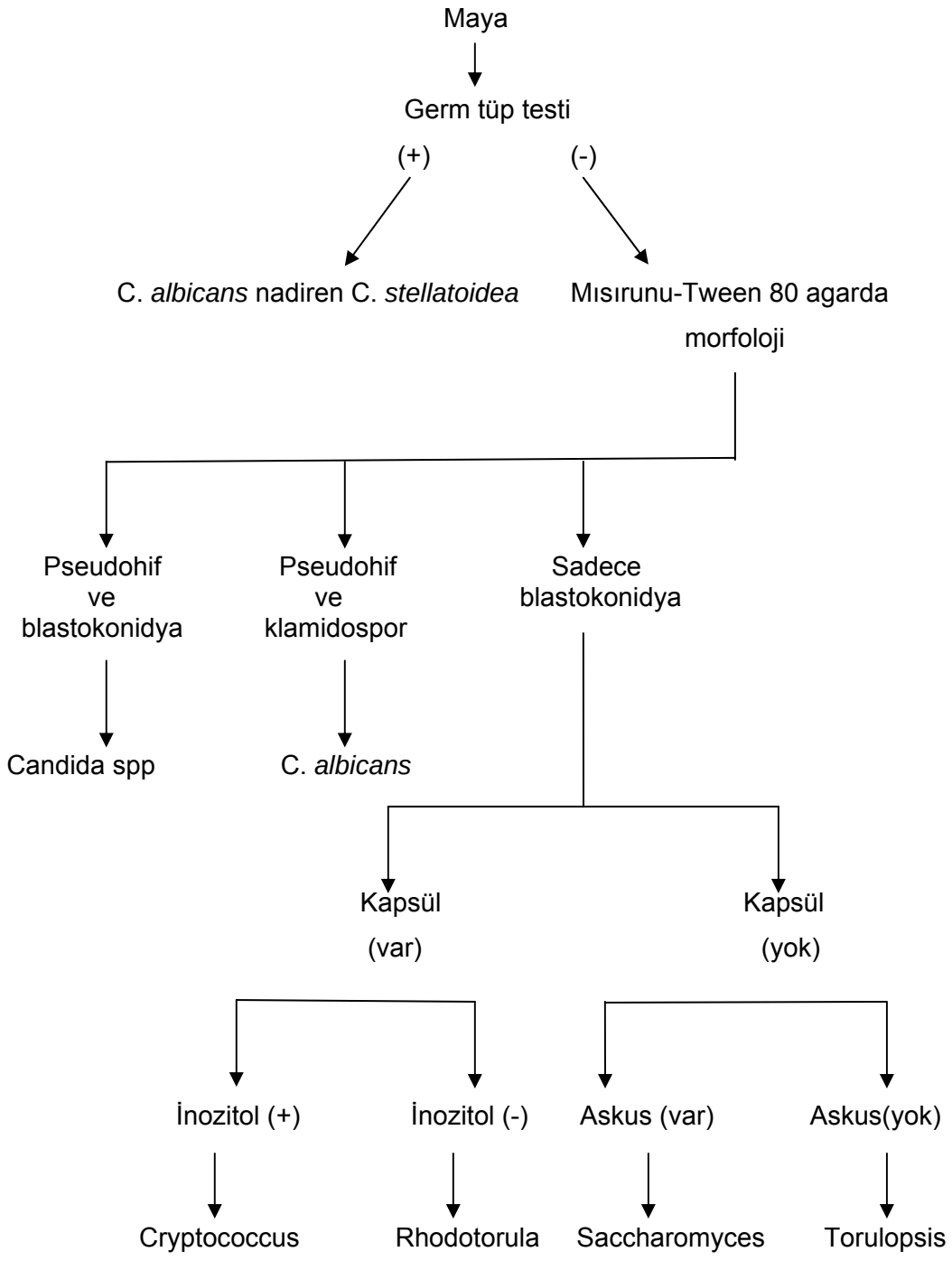
2.4.1. Primer izolasyon

Primer izolasyon için laboratuvarlarda en sık kullanılan besiyeri Sabauroud Dekstroz Agar (SDA)'dır [41]. Primer izolasyon besiyerlerinin bileşimine bakterilerin ve hızlı üreyen küflerin üremesini baskılayarak seçicilik sağlamak üzere antimikrobikler eklenebilir (Sikloheksimid, gentamisin, kloromfenikol gibi). Ayrıca ticari olarak hazırlanmış Mycobiotic Agar (Difco) gibi seçici besiyerleri de kullanılabilir [3,41].

Kültür için alınan örnekler uygun besiyerine ekildikten sonra 26 ve 37 °C'de ayrı ayrı inkübe edilirler. Patojen kandidaların çoğu 26 ve 37 °C'de birkaç günde ürerler. 37 °C'de üreyememe saprofitliği ortaya koyan bir özelliktir [42].

2.4.2. İdentifikasyon

Laboratuarda kandida türlerinin belirlenmesinde genel yaklaşım; koloni morfolojisi, germ tüp testi, klamidyospor oluşumu, mısır unlu agarda morfoloji, karbonhidrat asimilasyonu ve fermentasyonu ile daha pek çok biyokimyasal analizi kapsar [43].Klinik olarak anlamlı kandida kökenlerinin tanımı için en hızlı ve güvenilir kanıtlar germ tüp (çimlenme borusu) deneyinin pozitif olması ve klamidosporların görülmesidir [44]. Şekil 1'de izlenecek yol kısaca gösterilmiştir [45].



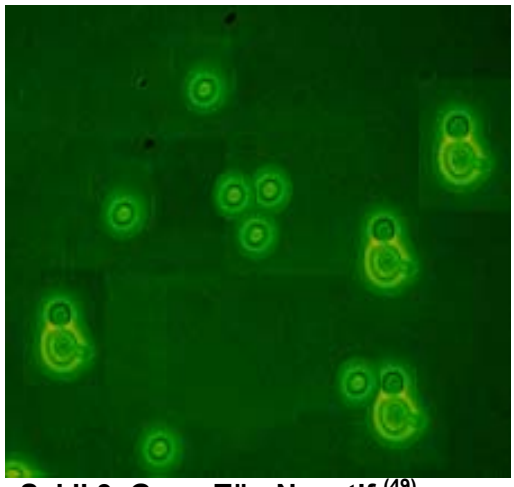
Şekil 1. Maya ve Maya Benzeri Mantarların İlk İdentifikasyonunda Pratik Yaklaşım.

Germ tüp (çimlenme borusu) deneyi: Kandidaların identifikasyonunda ilk adımdır. Hızlı sonuç veren, uygulaması kolay, C. *albicans*'ın diğer kandidalardan ayrılmasını sağlayan basit ve çok değerli bir testtir. Ancak C. *albicans* kökenlerinin hepsinde pozitif olmayıp yalancı pozitiflik vardır. C. *albicans* kökenlerinin %95-97'si germ tüp oluşturur. C. *albicans* dışında C. *stellatoidea* da germ tüp üretir. C. *tropicalis*, C. *kefyr*, C. *krusei*'de pseudo germ tüp oluşumu görülebilir [3,11,42,46,47]. Germ tüp, blastospordan orjin alan, başlangıç noktasında hiç daralma olmayan ve uzunluğu boyunca hiç kabarıklık yapmayan bir flament olarak gözlenir. Pseudo germ tüp de ise daha büyük bir blastospor vardır ve hif ile bağlantı bölgesinin daha belirgin olduğu gözlenir [11,46].

Steril seruma (0.5-1.0 ml. koyun, sığır veya insan serumu) incelenecek maya mantarının koyu olmayan bir süspansiyonu yapılır. Artı 37°C'de 2.5-3 saat inkübe edilir. Süspansiyondan bir damla alınıp lam-lamel arası mikroskopta incelenir ve maya hücrelerinin çimlenip çimlenmediğine bakılır, fasulye filizi gibi kısa uzantılar görülmesi testin pozitif olduğunu gösterir [44,47,48].



Şekil 2. Germ Tüp Pozitif [49].



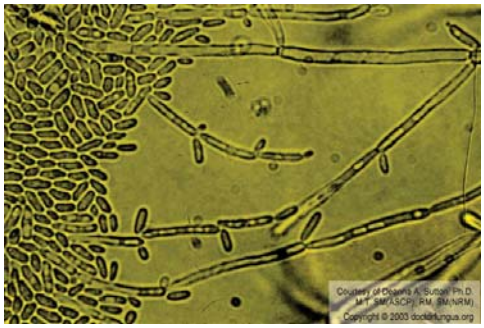
Şekil 3. Germ Tüp Negatif [49].

Klamidospor oluşumu: Mısırunlu jeloz gibi besince fakir bir ortam, maya hücrelerinin, iyi yedek besin depolayan klamidosporlar oluşturmasına yol açar. Bunlar oluşurken hifin veya yalancı hifin bir yerinde, sitoplazma yoğunlaşır, burası hifin çapından daha geniş olacak tarzda şişer ve duvarı kalınlaşır. Hiflerin içinde (ara klamidospor), kenarında (yan klamidospor) veya uçlarında (uç klamidospor) gelişebilen, büyük, yuvarlak ve kalın duvarlı bu oluşumlar, açlığa ve diğer değişik şartlara karşı kandidaların canlılığını korumasını sağlarlar [44].

C. *albicans* izolatlarının büyük bir çoğunluğu (>%90), mısırunlu agar, pirinçli- Tween 80 agar gibi besiyerlerine ekildikleri ve 25 °C'de 72 saat inkübe edildikleri zaman karakteristik klamidospor oluştururlar. Bu özellik C. *albicans* için germ tüp oluşumu kadar tipiktir. C. *tropicalis* ise 25 °C'de 72 saat inkübe edildikten ve bir haftadan fazla süreyle +4 °C'de bırakıldıktan sonra klamidospor oluşturabilir. C. *tropicalis'*in oluşturduğu klamidosporlar kalın bir duvarın olmaması ve sitoplazma içerisinde yansıma yapan globüllerin bulunmamasıyla C. *albicans'*ın oluşturduklarından farklılık gösterir [44,48]. Bazı kandida türlerinin mısırunu-Tween 80 agardaki mikroskobik görünümleri şekil 4-7'de gösterilmiştir.



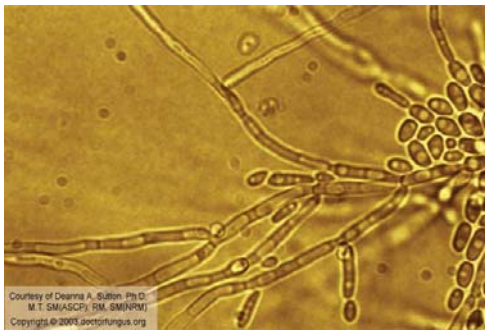
Şekil 4. C. *albicans* [50].



Şekil 5. C. *krusei* [50].



Şekil 6. C. *glabrata* [50].



Şekil 7. C. *tropicalis* [50].

Karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon testleri: Asimilasyon, mayaların oksijen varlığında karbon kaynağı olarak spesifik bir karbonhidratı kullanma yeteneklerini ortaya çıkarır. Fermentasyon ise karbonhidratların CO_2 ve etanol üretimiyle sonuçlanan anaerobik kullanımıdır [11,42]. Mikroorganizmalar karbonhidratları fermentasyona uğrattıklarında oluşan asit, besiyerine ilave edilen fenol kırmızısı gibi pH indikatörleri yardımıyla ortaya çıkan renk değişimleri ile saptanır. Besiyerinin renginin sarı olması reaksiyonun pozitif olduğunu gösterirken, tüpteki besiyerinin kırmızı renkte

kalması karbonhidratların fermente olmadığını gösterir [51]. Sık identifiye edilen kandida türlerinin karbonhidrat ve azot özümleme özellikleri tablo 1'de verilmiştir [47].

Tablo 1. Candida Türlerinin Karbonhidrat ve Azot Özümleme Özellikleri.

Candida türü	glikoz	maltoz	sakkaroz	laktoz	galaktoz	melibiyoz	selobiyoz	inozitol	ksiloz	rafinoz	trehaloz	dulsitol	KNO3
C. *albicans*	+	+	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	0
C. *guillermondii*	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+
C. *krusei*	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C. *parapsilosis*	+	+	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	0
C. *kefyr*	+	0	+	+	+	0	+	0	D	+	0	0	0
C. *stellatoidea*	+	+	0	0	+	0	0	0	+	0	D	0	0
C. *tropicalis*	+	+	+	0	+	0	D	0	+	0	+	0	0
C. *glabrata*	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0

+: Olumlu 0: Olumsuz D: Suşa göre değişken

Üreaz Testi: Üreaz enzimine sahip mikorganizmalar, üreyi amonyak ve karbondioksite parçalarlar. Amonyak ortamın alkali olmasını sağlar. Üre ve pH indikatörü olarak fenol kırmızısı içeren besiyerinde üreme olduğunda, üreaz enziminin varlığı, amonyağın yarattığı alkali ortamda fenol kırmızısının koyu pembe renge dönüşmesiyle saptanmaktadır. Bu test klinik önemi olan kandida türlerini diğer mayalardan ayırmaktadır. Klinik önemi olan türlerin büyük çoğunluğu üreaz negatiftir [48].

2.4.3. Serolojik Testler

Mikolojik hastalıkların tanısında mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeler yanında serolojik testlerde kullanılır [11]. Kandidoz olgularında antijen ölçümü, antikor ölçümüne göre daha yararlıdır [52].

Antijen saptanması:

a- Kandida hücre duvarı mannoprotein (mannan) antijeninin saptanması:

İnvazif kandidoz olgularında, dolaşımda hücre duvarı mannan antijenlerinin varlığı ilk kez 1976'da gösterilmiştir. Bu antijeni saptamak amacıyla EIA, RIA ve lateks aglütinasyon testleri geliştirilmiştir. Ayrıca monoklonal antikorlar kullanılarak uygulanan ''dot immunobinding'' yöntemi geliştirilmiştir. Mannoprotein antijenemisinin, kandidanın birinci haftasında ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Hücre duvarı mannan antijenlerinin varlığı invazif kandidozun tanısı ve tedavisi açısından iyi bir belirteç olarak değerlendirilmiştir [52].

b- 36-44 kDa'luk antijenlerin EIA ile saptanması: C. *albicans*'ın ısıya duyarlı 36, 38, 41, 42 ve 44 kDa'luk antijenlerinin EIA ile ölçümünün, kanserli nötropenik hastalardaki duyarlılığı %82, özgüllüğü %100 olarak bildirilmiştir [52].

c- Dolaşımda enolaz aktivitesinin saptanması: Kanserli ve nötropenili olup kandidoz riski yüksek hastaların serumlarında enolaz saptanması için ''lipozomal immunoassay'' uygulanmıştır. Test, bu grup hastalarda invazif infeksiyon ve kolonizasyon ayırımında yararlı ve kan kültürlerini destekleyici olarak değerlendirilmiştir [52].

Antikor saptanması: Serolojik açıdan antikor tarama testleri özellikle kandida infeksiyonlarında, bu maya cinsinin flora üyesi olması dolayısıyla başarısızdır. Ayrıca hem kandida antijenlerinin immünojenitesinin düşük olması hem de kandida infeksiyonlarının sık görüldüğü hasta grubunun immun yetmezlikli olması nedeniyle yeterli antikor cevabı oluşamamaktadır [53].

a-Sitoplazmik antijenlere karşı antikor araştırılması: ELISA ile invazif kandidozlu hastaların serumlarında erken dönemde IgG sınıfı antikorların saptanması, yüzeyel infeksiyonlardan ayırt ettirici olarak belirlenmiştir. Kandidanın enolaz antijenine karşı olan antikor yanıtı da araştırılmıştır. Kanıtlanmış invazif infeksiyonu olan ya da yalnızca kolonizasyonu olan, ancak bağışıklık sistemi normal işlevini görebilen hastalardan elde edilen IgG yanıtlarına göre yöntemin duyarlılığı %50, özgüllüğü %86 olarak belirlenmiştir [52].

b-Hücre duvarı (mannan) antijenine karşı antikor araştırılması: Radyo-immuno-assay (RIA) ve ELISA ile hücre duvarı mannan antijenine karşı antikorların invazif infeksiyonlular kadar, sağlıklı insanların serumunda da var olduğu gösterilmiştir. Bu testlerde en yüksek duyarlılık %65 olarak bildirilmiştir [52].

Antikor testleri için 1/32 veya üzerindeki titre yada üç hafta arayla titrede dört kat ve üzerindeki artış hastalığın tanısında değerli kabul edilmektedir. Daha düşük titreler ve aralıklı uygulanan testlerde dört katın altındaki artış, erken infeksiyonu veya nonspesifik çapraz reaksiyonu işaret eder [3]. Doku invazyonu kanıtlandığı halde kan kültüründe üreme olmayan hastalarda erken dönemde antikorun gösterilmiş olması tanı ve tedavi yaklaşımı açısından önemli bulunmuştur [52].

2.4.4. Kandidalarda moleküler tanı yöntemleri

5S rDNA, kromozomal DNA'daki transkripte edilmeyen bölgenin primer olarak kullanıldığı ve klinik örnekten C. *albicans'*ın saptanmasına yönelik bir ''Polymerase Chain Reaction'' (PCR) tekniği tanımlanmıştır. Kandan C. *albicans'*ın saptanmasına yönelik olarak, hedef DNA'daki türe spesifik 125-bp'lik bir bölgeyi çoğaltmayı

amaçlayan PCR çalışması da bildirilmiştir. Bu testlerin kullanımı için teknik beceri ve yeterli deneyim gerekmektedir [48,53]. Fungal yükün çok az olması sebebiyle kültür ve serolojik tanının henüz yetersiz olduğu evrede, PCR temelli tanı yöntemlerinin çok daha etkin olacağı görülmektedir [53].

2.5. Antifungal Ajanlar

İlk kez 1903 yılında bir sporotrikoz vakasında, iodidlerin ve 1939'da dermatofitlere karşı griseofulvinin tedavi maksadıyla kullanılmasından sonra, 1950'li yıllara kadar antifungal tedavide pek fazla gelişme olmamıştır. 1950'de nistatin, 1956'da amfoterisin B, 1964'de flusitozin ve 1960'ların sonlarında da azoller antifungal tedavide kullanılmaya başlanmıştır [45,54].

1970'li yılların sonlarında o zamana kadar tedavide kullanılan amfoterisin B ve flusitozine ek olarak intravenöz mikonazol ve oral ketokonazol tedaviye girmiştir. 1980'lerde triazollerin kullanılmaya başlaması ile sistemik antifungal seçenekleri artmış, günümüzde bu ajanlara ek olarak yeni triazoller, amfoterisin B'nin lipozomal türevleri, ekinokandinler, nikkomisinler, pradimisin ve analogları gibi yeni antifungaller de geliştirilmiştir. Ayrıca, fungal infeksiyon tedavisinde çeşitli antifungallerin ve immunodülatör ajanların birlikte kullanımı da gündeme gelmiştir. Tedavi seçeneklerinin bu denli genişlemiş olmasına karşın, antifungal ajanların yaygın kullanımı ile, bir veya birkaç ajana dirençli fungal patojenler ortaya çıkmıştır [45,55-57].

Fungal infeksiyonların tedavisi bakteriyel infeksiyonların tedavisinden daha zordur. Bu da mantarların insan hücreleri gibi ökaryotik olmasından ve fungal hücrelere selektif toksik etkili ajanlar bulunmasındaki zorluktan kaynaklanmaktadır. Yeni jenerasyon antifungal ajanların geliştirilmesinde iki hedef vardır. Biri bu infeksiyonun patogenezini daha iyi anlayabilmek için potansiyel hedefleri belirlemek, diğeri ise insan hücrelerine zarar vermeden maya hücrelerini selektif olarak inhibe edebilen, intrinsik insan savunma mekanizmalarından (rekombinant antikor) yararlanmaktır [45,58].

Tablo 2. Antifungal Ajanlar ve Etki Mekanizmaları [45,59,60].

Antifungal ajanlar	Etki mekanizması
Poliyenler (Nistatin, amfoterisin B, Am B Lipit Kompleks (ABLC), Am B colloidal dispersion(ABCD), Lipozomal Am B)	Mantar hücre duvarı ergosterolüne bağlanarak hücre duvarı geçirgenliğini artırır. Özellikle hücre içi K+ kaybı hücre canlılığını yitirmesine neden olur
Azoller (ketokonazol,flukonazol,itrakonazol, vorikonazol**)	Lanosterol 14α demetilaz inhibisyonu, **24 metilen dihidro lanosterol demetilaz inhibisyonu
Allilamin ve tiyokarbamatlar (naltifin, terbinafin, tolnaftat)	Oksidoskualen siklaz inhibisyonu
Morfolin, amorolfin	Sterol 14 redüktaz ve 7- 8 izomeraz inhibisyonu
Pirimidin (Flusitozin)	5 florourasile dönüşerek RNA, timine dönüşerek DNA yapısını bozar.
Ekinokandinler	1- 3 beta D-glukan sentetaz inhibitörü
Polyoxinler	Hücre duvarında kitin sentez inhibitörü
Pradimisinler	Mannan sentez inhibitörleri

2.5.1. Amfoterisin B

1950'li yılların sonlarına doğru kullanıma giren amfoterisin B, Streptomyces *nodosus*'un bir suşundan elde edilen bir haptendir [45,61]. Hücre membranında ergosterole irreversibl bağlanarak hücre permeabilitesini bozar, sitoplazmik içerik dışarı sızarak hücre ölümü meydana gelir (fungisidal) [45,62]. Amfoterisin B'nin C. *albicans* üzerindeki etkisinin elektron mikroskobunda incelenmesinde; onikinci saatte hücre membranının yer yer kesintiye uğrayarak, por yapılarının oluştuğu ve düzgün yapısını kaybettiği ayrıca hücre duvar yapısının yer yer kesintiye uğradığı ve inceldiği gösterilmiştir. Yirmidördüncü saatte hücre duvar ve membran yapılarında incelme ile sitoplazmalarında organel kaybı gözlenmekle birlikte, çoğalma şekli olan tomurcuklanmaya (budding) rastlanmamıştır [45,63].

Sistemik ve lokal kandidiaziste kullanılır. Sistemik kandidiazis ile aspergillozis, mukormikozis, kriptokokkozis, koksidiomikozis, dissemine histoplazmozisde en sık tercih edilen ilaç olup fungisid etkilidir. C. *lusitania*, C. *tropicalis*, C. *glabrata*, C. *parapsilosis* türlerinde direnç bildirilmiştir. Mantarların hücre membranlarındaki ergosterol sentezini azaltarak, amfoterisin B'ye dirençli hale geldikleri düşünülmektedir. Oral kullanımda emilimi iyi değildir, metobolize olmaz ve lipid den zengin dokularda birikir [45,61].

Tedavi sırasında nefrotoksisite görülebilir. Ayrıca ateş, titreme, hemoglobin konsantrasyonunda azalma, tromboflebit, nörotoksisite, kardiyotoksisite gibi yan etkileri de mevcuttur. İlacın böbreklere olan yan etkisi, direkt olarak böbrek kan akımını azaltması ve tübüler fonksiyonlarına olan etkisi sonucu ortaya çıkmaktadır [45,56,61].

2.5.2. Flusitozin

Etkinliğini Primidin metabolizmasını bozarak fungal hücrede RNA ve protein sentezini engelleyerek gösterir. Sitozin permeaz aracılığıyla fungal hücreye girer ve burada sitozin deaminaz ile 5-florourasile dönüşerek RNA ile etkileşir. Aynı zamanda 5-florourasilin metaboliti DNA sentezinde rol oynayan timidilat sentetazı inhibe eder. Sitozin permeazın eksik olduğu memeli hücresindeki flusitozin, 5-florourasile dönüşemeyeceğinden ilaç seçici olarak mantarlara toksik etki gösterir. Suda çözünebilir ve oral olarak verildiğinde yüzde 80-90 oranında emilir. Böbreklerden yüzde 90 oranında değişikliğe uğramadan atılır [45,61].

Etki spektrumu; kandida türleri, Cryptococcus *neoformans*, ve aspergillus türlerini içerir. Yan etkileri doza bağımlıdır. Düşük dozlarda bulantı, kusma, diyare, başağrısı, karaciğer enzimlerinde yükselme görülür. Flusitozin yüksek kan düzeylerinde belirgin kemik iliği toksisitesi gösterir [45,56,61].

Direnç gelişimi önemli bir problem olup en önemli nedeni ilacın tek başına kullanımıdır. Direnç ya ilacın metabolize olmasına ya da primidin biyosentezinin feedback kontrolünün yetersizliğine bağlıdır. C. *albicans* ve C. *glabrata*'da %7-10 diğer kandida türlerinde %21 oranında dirence rastlanmaktadır [45,57].

2.5.3. Azol grubu antifungaller

Azoller iki grup altında incelenir;

1) İmidazoller: Mikonazol, ketokonazol

2)Triazoller: Flukonazol, itrakonazol,vorikonazol [59].

Triazollerin imidazollerden üç noktada üstünlükleri vardır:

1) Daha yavaş metabolize edilirler ve daha uzun süre etkilidirler

2) İnsan hücresindeki sterollere daha az etkilidirler, direk toksik etkileri zayıftır

3) Endokrin yan etkileri yoktur [45,64,65].

Azollerin etki mekanizması lanosterolün ergosterole dönüşümünden sorumlu olan sitokrom P450'ye bağımlı olan C14 α-demetilazı inhibe etmek yoluyla olur. Bu süreç fungal organizmalar için gerekli ergosterolü azaltır. Sterol birikmesine fungal hücre metabolizması dayanamaz (fungustatik). Ayrıca endojen respirasyonun inhibisyonu, membran fosfolipitleri ile toksik etkileşim, mayaların miçel forma dönüşümünün inhibisyonu diğer etki mekanizmalarını oluşturur. İnsan hücrelerindeki sitokrom P450 enzimi ile etkileşime girerek bazı metabolik olaylarda bozulmaya yol açarlar. Adrenal ve gonad steroid hormonlarının sentezini bozarlar [45,56,64,66].

Azollere direnç mekanizmaları:

1) Klinik faktörler: Düşük doz, aralıklı kullanım ve profilaksi nedeniyle uzun süre kullanım, direncin ortaya çıkmasında önemli yer tutar.

2) Hücresel faktörler: Kişinin doğal dirençli endojen suşlar ile kolonize veya infekte olması direnç gelişiminde önemli yer tutar. Azol tedavisi duyarlı suşun dirençli suş ile yer değiştirmesine veya suşta mutasyon oluşturarak yada geçici gen ekspresyonuna neden olarak direnç gelişimine yol açmaktadır. Suşta hücresel direnç tanımı, izolata karşı ilaç MİK değerinin tedavi süresince gittikçe artıyor olması ile yapılır.

3) Dirençli suşlar; a) Membranın sterol komponentinde değişiklik yaparak ilaç girişini azaltırlar. Bu şekilde amfoterisin B'ye de direnç gelişmiş olur.

b)14 α-demetilaz enzimini kodlayan ERG 16 geninde spesifik nokta mutasyonları oluşturarak enzimin yapısını değiştirirler ve ilaç enzimi tanıyamaz yada gende amplifikasyon ve ekspresyon artmasına yol açarak, aşırı miktarda enzim oluşumuna ve ilacın bu miktardaki enzimi inhibe edememesine sebep olurlar.

c) İlaç atımındaki artış: Çoklu ilaç atım pompaları ilaçların ve küçük moleküllerin hücre içi konsantrosyonlarını azaltmaya yönelik çalışırlar. Dirençte majör rol oynayan bu atım pompaları iki tiptir: ABC transporter'lar, bir transmembran poru ile iki adet ATP bağlayan kasetten oluşur. Hem azollerin hemde diğer ilaçların transportunda rol alır. Diğeri ise tek bir transmembran porundan oluşur ve sadece flukonazol atımında rol oynar. Bu sistemlere ait gen ekspresyonunun artışı sonucunda ilacın dışarı atılma hızı ve miktarı artmakta, direnç gelişimi izlenmektedir [45,67,68].

Ketokonazol: 1978'de keşfedilen ketokonazol oral emilimi normal mide asidifikasyonunda iyi olan geniş spektrumlu, düşük toksisiteli bir ilaçtır. Enterohepatik sirkülasyonda metabolize edilir. Kandidalarda maya şeklinin lökositler tarafından fagositoza daha az elverişli olan pseudohif şekline dönüşümünü azaltarak da antifungal

etki yapar. Aktif üreme dönemindeki mantarlara etkili olduğundan yeterli süre tedavi yapılmamışsa nüks kaçınılmazdır. Hepatotoksik olabilmektedir. Ayrıca testesteronu, ACTH uyarımına bağlı kortizol yanıtını ve sentezini baskılayarak endokrin yan etkilere neden olabilmektedir (impotans, oligospermi, libido azalması, jinekomasti, menstruel düzensizlik) [45,56,61,64,65].

Siklosporinin metabolizmasını inhibe eder. Rifampinle birlikte ketokonazolün metabolizması hızlanarak kan düzeyi düşer. Sisaprit, astemizol veya terfenadin ile kullanımı kardiak aritmi riskini arttırır. Antiasit, simetidin ve ranitidin mide pH'sını artırarak ilacın emilimini azaltırlar [61].

Flukonazol: 1981 yılında imidazol çekirdeğinin değiştirilmesiyle elde edilmiştir. Suda çözünebilir. Oral ve parenteral olarak kullanılır. Yüksek kan düzeyine ulaşır ve BOS dahil tüm dokulara iyi dağılır. Mantar enzim sistemine memelilerden on bin kat daha fazla etkilidir [57,61].

Kandida ve kriptokokkus türlerine karşı etkilidir. Bununla birlikte C. *krusei* flukonazole karşı intirinsik direnç göstermektedir. C. *glabrata*'da genellikle yüksek MİK değerlerine sahiptir. C. *glabrata*'nın %15 lik bir kısmı ise tamamen direnç göstermektedir [69-73]. Flukonazol Coccidioides *immitis* tarfından oluşturulan menenjit olgularındada kullanılabilir [74].

Bulantı-kusma (<%5), eksfolyatif döküntü, Stevens Johnson Sendromu, AST ve ALT yükselmesi ve %1-7 oranında hepatit görülebilir. Uzun süreli tedavilerde karaciğer fonksiyon testleri takibi yapılmalıdır. Terfenadin ve sisaprit ile kullanılmamalıdır [59].

İtrakonazol: 1986'da keşfedilen itrakonazol geniş antifungal spektruma sahip bir ajan olmakla birlikte yan etkileri flukonazolden daha fazladır. Suda çözülmeyen bir triazol türevidir. Midenin asit ortamında absorbsiyonu artar. Yan etkileri daha çok bulantı kusma şeklindedir. Trigliseritlerde artma, hipopotasemi, transaminazlarda yükselme, deride lekelenme, periferal ödem ve hipertansiyon diğer yan etkileridir [45,61].

Vorikonazol: Sentetik flukonazol türevidir. 14 alfa demetilaz ve 24 metilen dihidro lanosterol demetilazı inhibe eder. Candida spp., Aspergillus spp., Cryptococcus *neoformans*, Blastomyces *dermatitidis*, Coccidioides *immitis*, Histoplasma *capsulatum*, Fusarium spp. ve Penicillium *marneffei*'ye karşı etkilidir [59,75-77].

Vorikonazol Candida spp. ve Cryptococcus *neoformans*'a karşı fungistatik etki gösterirken Aspergillus spp. için fungisidal etki göstermektedir [78].Yan etki olarak geçici görme bozukluğu, deride kızarıklık ve karaciğer enzimlerinde yükselme görülebilir [79].

2.5.4. Ekinokandinler

Siklik lipopeptid yapıda, fungisitik antifungal ajanlardır ve memelilerde bulunmayan 1- 3 beta D-glukan sentetaz enzimini nonkompetatif olarak inhibe edip hücre duvar sentezini önlerler [61].

Kaspofungin: Kaspofungin etkisini mantarların majör hücre duvar komponenti olan 1- 3 beta D-glukan'ın sentezini önleyerek gösterir. Kandidalara karşı fungisidaldir. Aspergillus spp.'ye karşı kullanılabilir. Cryptococcus *neoformans*'a karşı etkisizdir [80-83].

2.6. Antifungal Duyarlılık Testleri

İlk kez 1982 yılında CLSI bünyesinde antifungal duyarlılık testleri için bir alt komite oluşturulmuş ve bu konuda çok merkezli çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda toplanan veriler doğrultusunda ilk kez 1992 yılında kandida türleri ve C. *neoformans* izolatları için referans bir yöntem önerilmiş (CLSI M27-P), ilerleyen yıllarda bu yöntem ile ilgili çalışmalar sürdürülerek CLSI M27-T ve 1997 yılında CLSI M27-A dökümanları hazırlanmıştır. En son olarak CLSI M27-A2 dökümanı hazırlanmıştır [84-87].

Antifungal duyarlılık testleri;

1) Etken mikroorganizmaya etkili olduğu bilinen antifungal ilaç ile tedaviye yanıt alınamadığı durumlarda,

2) Alternatif ilaçların araştırılmasının gerektiği ve özellikle seçilen ilaca karşı mantarın direnci olduğu bilinen durumlarda (örn: C. *lusitaniae* ile amfoterisin B gibi),

3) Flusitozin ile tedavi yapılıyorsa (direnç sıklıkla görülmektedir),

4) Yeni ilaçların kullanıldığı durumlarda,

5) Ağır immun sistem yetmezliği bulunan hastalarda (nötropeni v.b.) sistemik infeksiyon geliştiği zaman,

6) İn vitro ve in vivo uyumun belirlenmesini amaçlayan durumlarda uygulanmalıdır [88].

Tablo 3. Antifungal Duyarlılık Testleri [45,86,88].

Yöntemler	MİK değerlerinin ölçülmesi
Buyyon makrodilüsyon	Görsel (1:5 kontrol üreme bulanıklığı ile karşılaştırma), ATP fotometre, bulanıklığı ölçme (turbidometre), kolorimetre, radyometre
Buyyon mikrodilüsyon	Görsel (kontrol üreme bulanıklığı ile karşılaştırma), ATP fotometre, bulanıklığı ölçme (turbidometre), kolorimetre, radyometre
Kolorimetrik buyyon mikrodilüsyon	Renk değişiminin görsel izlenmesi
Agar dilüsyon	Görsel
Agar difüzyon	
Disk	Görsel (zon çapı ölçümü)
E-test	Görsel (inhibisyon zonu)

2.6.1. Mikrodilüsyon Yöntemi

CLSI M27-A2 mikrodilüsyon yönteminin temel prensipleri [87].

Özellik	Standart
Yöntem	Mikrodilüsyon
İnokulum konsantrasyonu	$0.5x10^3$-$2.5x10^3$ cfu/ml
Besiyeri	RPMI 1640
Tampon	3-(N-Morfolino)-propan-sülfonik asit (MOPS)
pH	7
İnkubasyon ısısı	35ºC
İnkubasyon süresi	48 saat (kandida)
MİK değeri	Amfoterisin B:Hiç üreme görülmeyen (berrak) en düşük konsantrasyon (skor 0) Azoller ve 5-flusitozin: Üreme kontrol çukuruna göre bulanıklığı belirgin (~ %50) azaltan en düşük konsantrasyon (skor 2)

MİK direnç sınırları flukonazol, itrakonazol ve 5-flusitozin için kesin olarak belirlenmiştir. Buna göre flukonazol için MİK ≤ 8µg/ml duyarlı, 16-32 arası doza bağımlı duyarlı, ≥ 64 dirençli olarak bildirilmiştir. Itrakonazol için MİK ≤0.125µg/ml duyarlı, 0.25-0.5 arası doza bağımlı duyarlı, ≥ 1 ise dirençli olarak bildirilmiştir. 5- flusitozin içinse MİK ≤ 4µg/ml duyarlı, ≥ 32 dirençli olarak bildirilmiştir [87].

Amfoterisin B, kaspofungin ve yeni azoller için kesin olarak bir MİK direnç sınır değeri belirlenememiştir [89].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Aziziye ve Yakutiye Araştırma Hastaneleri Mikrobiyoloji rutin laboratuvarlarında kan kültürlerinden izole edilen 88 kandida suşu çalışma kapsamına alındı.

3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon

3.1.1. Primer İzolasyon

Rutin laboratuara mantar kültürü amacıyla gönderilen örnekler SDA'a ekilerek 25ºC ve 37ºC de bekletildi. Üremeler günlük olarak kontrol edildi ve 72 saat sonunda, maya üremesi olmayan örnekler çalışma dışı bırakıldı [2,45,90-92]. Üreyen maya kolonilerinden gram ve/veya metilen mavisi boyama yapılarak maya hücresi tanısı doğrulandı.

3.1.2. İdentifikasyon

3.1.2.1. Çimlenme (Germ Tüp Oluşturma) Deneyi

Test edilecek koloniden öze ile bir miktar alınıp tüp içindeki 1 ml insan serumu içinde süspansiyon haline getirildi; 37ºC'de 2,5-3 saat inkübe edildikten sonra süspansiyondan bir damla alınıp lam-lamel arası preparat yapılıp mikroskopta incelendi [44]. İncelemede ana hücreden orjin alan ve başlangıç noktasında boğumlanma yapmaksızın ve uzunluğu boyunca belirgin kabarık olmayan, flament şeklinde uzantılar gösteren yapılar germ tüp olarak değerlendirildi ve incelenen suşun *C. albicans* olduğuna karar verildi. Mikroskobik incelemede germ tüpe benzeyen ancak ana hücreden boğumlanarak dışa doğru uzama gösteren hifal yapıların duvarlarının birbirine paralellik göstermediği yalancı germ tüp oluşumları da gözlendi. İleri identifikasyonda bu oluşumların C. *tropicalis*'e ait oldukları saptandı [2,26,45,90,91,93-95].

3.1.2.2. Klamidospor, blastospor, artrospor, pseudohif ve hif oluşturma özelliğinin incelenmesi

Mısırunu-Tween 80 agara Dalmau tekniğine uygun olarak ekim yapıldı. Bunun için saf maya kolonilerinden iğne uçlu öze ile bir miktar alınarak birbirine paralel olarak dört çizgi şeklinde, besiyerini yırtmadan ve özeyi dibe kadar batırmadan çizgi ekim yapıldı. Ekim çizgilerinin üzerine, çizgilerin plak dışına bakan bölümünün yarısını kapatacak şekilde lamel yerleştirilerek 26 ºC'de 72 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonunda ekimler ışık mikroskobunda diyafram kapalı olarak 10x, 20x ve 40x büyütmede incelendi [26,45,93-95].

Pseudohiflerin uçlarında ve yan dallarında görülen büyük, kalın duvarlı, yuvarlak klamidosporlar ile hif birleştirme yerlerindeki blastospor kümeleri C. *albicans*;

pseudohif ve hif boyunca tek tek veya ufak kümeler yapacak şekilde dizilim gösteren blastosporlar C. *tropicalis*; pseudohif boyunca ırmakta yüzen kütükler görünümünde uzun blastosporlar C. *kefyr*; ağaca benzer şekilde dizilmiş uzun blastosporlar ve pseudohif C. *krusei*; dev hif ve göz yaşı damlası şeklinde blastosporlar C. *parapsilosis*; uzun pseudohifler, az sayıda blastospor oluşumu C. *lypolitica*; hif ve pseudohif yapısı olmadan ucunda tomurcuklanmalar görülen küçük oval blastosporlar C. *glabrata* olarak değerlendirildi [26,45,91,95].

3.1.2.3. CHROM Agar (Kromojenik Besiyeri)'a ve BIGGY Agara Ekim

Bu işlemin amacı kandidaların bu besiyerlerinde üreyerek oluşturdukları koloni renkleri yardımıyla ayırt edilmesidir. Deney için ekim yapılan suşlar 37 ºC'de 48-72 saat inkübe edildi. CHROM agarda yeşil renkli koloniler C. *albicans*, açık pembe basık koloniler C. *krusei*, pembe-menekşe koloniler C. *glabrata* veya C. *kefyr*, mavi koloniler C. *tropicalis*, pembe yayılan tüylü koloniler C. *lypolitica* lehine değerlendirildi [96-99].

Kandidaların tiplendirilmesinde tek başına yeterli olmamakla birlikte yol gösterici olarak kullanılan BIGGY agar besiyerinde siyah-kahverengi mat koloniler C. *albicans*, koyu kahverengi ve siyah merkezli koloniler C. *tropicalis*, gümüşü-kahverengi-siyah merkezli koloniler C. *krusei* ve koyu kırmızı-kahve parlak renkte koloniler C. *kefyr* olarak değerlendirildi [95,100,101].

3.1.2.4. API 20C AUX identifikasyon sistemi ile inceleme

Yukarıda açıklanan yöntemlerle tanımlanamayan veya tanımlanan suşların doğrulanması için kullanıldı. Bu sistem 20 mikrokuyucuk içerir. Bu kuyucukların 19'u karbonhidrat asimilasyon testlerini kapsar. Test edilen karbonhidratlar: glukoz, gliserol, 2-keto-D-glukonat, L-arabinoz, D-ksiloz, adonitol, ksilitol, galaktoz, inozitol, sorbitol, α-metil-D-glukosid, N-asetil-D-glukozamin, selobiyoz, laktoz, maltoz, sükroz, trehaloz, melibiyoz ve rafinozdur. Mayalar inoküle edildikleri mikro kuyucuktaki karbonhidratı karbon kaynağı olarak kullanıyorsa, o kuyucukta üreme olur ve karbonhidrat asimilasyon yetenekleri 24,48 ve 72 saatte değerlendirilerek sonuç verilir [94,95].

3.2. Antifungal Duyarlılık Testi

Çalışmaya alınan kandida kökenlerinin amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungine karşı antifungal duyarlılığı CLSI kriterlerine göre mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı [87].

3.2.1. Mikrodilüsyon yöntemi

Yöntem CLSI önerileri doğrultusunda hazırlandı ve uygulandı [87].

Antifungal ajanlar: Amfoterisin B (Sigma, ABD), flukonazol (Pfizer, Türkiye), vorikonazol (UK-109, 496; Vfend [Pfizer,Pharmaceuticals, New York]), kaspofungin (Merck Research Laboratories, Rahway, N.J.)'in saf etken maddeleri kullanıldı.

Besiyeri hazırlama: Besiyeri olarak RPMI 1640 (L glutaminli) (Sigma Chemical Co, St Louis, Mo, USA) kullanıldı. 900 ml distile suda 10.4 gr toz besiyeri eritildi ve tampon madde olarak 34.53 gr MOPS (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) eklendi. Besiyerinin homojenizasyonu sağlandıktan sonra 1M NaOH ile besiyerinin pH'ı 7'e ayarlandı. Distile su ile son hacim 1lt'ye tamamlandı. Besiyeri filtrasyon yöntemi ile sterilize edildi ve kullanılıncaya kadar +4 ºC'de saklandı [45,87,102,103].

İlaç sulandırımı: İlaç solüsyonlarından, amfoterisin B son konsantrasyonu 16-0.03 µg/ml olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülerek, flukonazol son konsantrasyonu 128-0.125 µg/ml olacak şekilde steril distile su içinde çözülerek, vorikonazol son konsantrasyonu 128-0.125 µg/ml olacak şekilde DMSO içinde çözülerek ve kaspofungin son konsantrasyonu 16-0.03 µg/ml olacak şekilde steril distile su içinde çözülerek hazırlandı [87].

Maya süspansiyonlarının hazırlanması: Test edilecek izolatların SDA'da saf kültürleri elde edildikten sonra 24 saatlik kültüründen birkaç koloni alınarak steril serum fizyolojik içinde homojen süspansiyonu hazırlandı. Süspansiyon vortexlendikten sonra bulanıklığı spektrofotometrik olarak 530 nm'de McFarland 0.5 standardının bulanıklığına ayarlandı. Daha sonra bu süspansiyondan 10 µl alınıp 2 ml steril serum fizyolojik içine konularak süspansiyon seyreltildi [87].

İnokulasyon işlemi: İlk başta mikroplaklardaki her bir kuyucuğa 100 µl besiyeri konuldu. Daha sonra ilk kuyucuklara 100 µl ilaç süspansiyonlarından konuldu ve ilk kuyucuklardan 100 µl alınıp ikinci kuyucuklara konuldu , ikinci kuyucuktan 100 µl alınıp üçüncü kuyucuklara konuldu ve bu şekilde son iki kuyucuğa kadar devam edilerek en son alınan 100 µl dışarı atıldı. En son olarak, sondan bir önceki kuyucuk hariç her bir kuyucuğa 10 µl maya süspansiyonu ilave edildi. İlaç ve maya süspansiyonu içermeyen sondan bir önceki kuyucuk besiyeri kontrol, ilaç içermeyen son kuyucuk ise mikroorganizma kontrol kuyucuğu olarak kullanıldı [87].

İnkubasyon ve MİK değerlerinin saptanması: Mikroplaklar 35 ºC'de 48 saat inkübe edildi. Mikroorganizma kontrolünde (son kuyucuk) üreme olduğu ve besiyeri kontrolünde (sondan bir önceki kuyucuk) üreme olmadığı tespit edildikten sonra, MİK değerleri CLSI'ın önerdiği kriterlere göre saptandı. Amfoterisin B ve kaspofungin için üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK olarak tespit edildi. Flukonazol ve

vorikonazol için üreme kontrol çukuruna göre bulanıklığı belirgin (~ %50) azaltan en düşük konsantrasyon MİK olarak tespit edildi. Daha sonra her antifungal için incelenen suşlarla ilgili olarak $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri hesaplandı [87].

3.3. İstatistiksel analiz

Elde edilen MİK değerlerine göre dört antifungal için kandida türleri arasında fark olup olmadığını analiz etmek için SPSS programının 11.0 sürümünde bulunan One-Way Anova Varyans analizi kullanıldı. Farklılığın hangi türden kaynaklandığını saptamak için Bonferroni düzeltmesi ile ileri analiz yapıldı. $P<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmada kan kültürlerinden izole edilen 88 kandida suşu ve 2 standart suş olmak üzere toplam 90 suş kullanıldı.

Germ tüp testi, Mısır unlu agarda mikroskobik görünümleri, CHROM agar ile BIGGY agardaki koloni rengi ve API 20C AUX sistemi yardımı ile tür düzeyinde tanımlanan 88 kandida suşundan 30'unun (%34.1) C. *albicans*, 26'sının (%29.5) C. *tropicalis*, 15'inin (%17.1) C. *parapsilosis*, 8'inin (%9.1) C. *glabrata*, 5'inin (%5.7) C. *kefyr*, 4'ünün (%4.5) C. *krusei* olduğu görüldü. İki standart kandida suşu (C. *krusei* ATCC 6258, C. *parapsilosis* ATCC 22019) çalışmaya dahil edildi.

Tablo 4. İdentifiye Edilen Kandida Türlerinin Dağılımı.

Kandida türü	Sayı	%
C. *albicans*	30	34.1
C. *tropicalis*	26	29.5
C. *parapsilosis*	15	17.1
C. *glabrata*	8	9.1
C. *kefyr*	5	5.7
C. *krusei*	4	4.5
Toplam	88	100

Kan kültürlerinden izole edilen bu 88 kandida suşunun antifungal duyarlılık testleri mikrodilüsyon yöntemiyle yapıldı. Kandida suşlarının mikrodilüsyon yöntemi ile MİK aralıkları, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla, amfoterisin B için; C. *albicans*'ta 0.03-1µg/ml, 0.125 ve 0.25µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.03-1µg/ml, 0.125 ve 0.25µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.03-1µg/ml, 0.06 ve 0.5µg/ml, C. *glabrata*'da 0.06-1µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, C. *krusei*'de 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *kefyr*'de 0.03-0.25µg/ml, 0.06 ve 0.125µg/ml, flukonazol için; C. *albicans*'ta 0.125-64µg/ml, 0.5 ve 16µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.125-32µg/ml, 0.5 ve 16µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.125-4µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, C. *glabrata*'da 0.125-32µg/ml, 0.5 ve 16µg/ml, C. *krusei*'de 64µg/ml, 64 ve 64µg/ml, C. *kefyr*'de 0.125-0.25µg/ml, 0.25 ve 0.25µg/ml, vorikonazol için; C. *albicans*'ta 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *glabrata*'da 0.125-

1µg/ml 0.25 ve 1µg/ml, C. *krusei*'de 0.25-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *kefyr*'de 0.125-0.25µg/ml, 0.125 ve 0.25µg/ml, kaspofungin için; C. *albicans*'ta 0.03-1µg/ml, 0.06 ve 0.25µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.03-1µg/ml, 0.125 ve 0.5µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.03-1µg/ml, 0.125µg/ml ve 0.5µg/ml, C. *glabrata*'da 0.06-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *krusei*'de 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *kefyr*'de 0.03-0.125µg/ml, 0.06 ve 0.125µg/ml olarak saptandı. Saptanan değerler tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Candida Türlerinin Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antifungal Duyarlılıkları.

Suşlar (n)	Antifungal ilaçlar	MİK aralığı (µg/ml)	$MİK_{50}$ (µg/ml)	$MİK_{90}$ (µg/ml)
C. *albicans*(30)	Flukonazol	0.125-64	0.5	16
	Vorikanazol	0.125-1	0.25	0.5
	Amfoterisin B	0.03-1	0.125	0.25
	Kaspofungin	0.03-1	0.06	0.25
C. *tropicalis*(26)	Flukonazol	0.125-32	0.5	16
	Vorikonazol	0.125-1	0.25	0.5
	Amfoterisin B	0.03-1	0.125	0.25
	Kaspofungin	0.03-1	0.125	0.5
C. *parasilosis*(15)	Flukonazol	0.125-4	0.5	1
	Vorikonazol	0.125-1	0.25	0.5
	Amfoterisin B	0.03-1	0.06	0.5
	Kaspofungin	0.03-1	0.125	0.5
C. *glabrata*(8)	Flukonazol	0.125-32	0.5	16
	Vorikonazol	0.125-1	0.25	1
	Amfoterisin B	0.06-1	0.5	1
	Kaspofungin	0.06-1	0.25	0.5
C. *kefyr*(5)	Flukonazol	0.125-0.5	0.25	0.25
	Vorikanazol	0.125-0.25	0.125	0.25
	Amfoterisin B	0.03-0.25	0.06	0.125
	Kaspofungin	0.03-0.125	0.06	0.125
C. *krusei(*4)	Flukonazol	64	64	64
	Vorikonazol	0.25-1	0.25	0.5
	Amfoterisin B	0.125-1	0.25	0.5
	Kaspofungin	0.125-1	0.25	0.5

Çalışılan standart suşlardan C. *krusei* ATCC 6258'de MİK değerleri flukonazol için 64 µg/ml, vorikonazol için 0.25 µg/ml, amfoterisin B için 1 µg/ml, kaspofungin için 0.5 µg/ml olarak saptandı. C. *parapsilosis* ATCC 22019'da MİK değerleri flukonazol için 1 µg/ml, vorikonazol için 0.125 µg/ml, amfoterisin B için 0.5 µg/ml, kaspofungin için 0.5 µg/ml olarak saptandı.

Amfoterisin B'ye karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerleri, C. *albicans* kökenlerinin; 5'inde 0.03 µg/ml, 7'sinde 0.06 µg/ml, 8'inde 0.125 µg/ml, 8'inde 0.25 µg/ml, 1'inde 0.5 µg/ml, 1'inde 1 µg/ml, C. *tropicalis* kökenlerinin; 1'inde 0.03 µg/ml, 7'sinde 0.06 µg/ml, 7'sinde 0.125 µg/ml, 9'unda 0.25 µg/ml, 1'inde 0.5 µg/ml, 1'inde 1 µg/ml, diğer kökenlerin; 4'ünde 0.03 µg/ml, 9'unda 0.06 µg/ml, 4'ünde 0.125 µg/ml, 5'inde 0.25 µg/ml, 6'sında 0.5 µg/ml, 4'ünde 1 µg/ml olarak saptandı.

Flukonazole karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerleri, C. *albicans* kökenlerinin; 6'sında 0.125 µg/ml, 8'inde 0.25 µg/ml, 5'inde 0.5 µg/ml, 5'inde 1 µg/ml, 2'sinde 2 µg/ml, 3'ünde 16 µg/ml, 1'inde 64 µg/ml, C. *tropicalis* kökenlerinin; 4'ünde 0.125 µg/ml, 6'sında 0.25 µg/ml, 5'inde 0.5 µg/ml, 2'sinde 1 µg/ml, 4'ünde 2 µg/ml, 1'inde 4 µg/ml, 1'inde 8 µg/ml, 2'sinde 16 µg/ml, 1'inde 32 µg/ml, diğer kökenlerin; 6'sında 0.125 µg/ml, 8'inde 0.25 µg/ml, 8'inde 0.5 µg/ml, 3'ünde 1 µg/ml, 1'inde 4 µg/ml, 1'inde 16 µg/ml, 1'inde 32 µg/ml, 4'ünde 64 µg/ml olarak saptandı. Flukonazol için 8 kandida suşu doza bağımlı duyarlı (MİK değeri 16-32µg/ml) , 5 kandida suşu ise dirençli (MİK değeri ≥64µg/ml) olarak tespit edildi. Doza bağımlı duyarlı suşların 3'ü C. *albicans*, 3'ü C. *tropicalis*, 2'si C. *glabrata* olarak saptandı. Dirençli suşların ise 1'i C. *albicans*, 4'ü C. *krusei* olarak saptandı. Duyarlılık testi yapılan kandida türlerinin flukonazole duyarlılıkları tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Kandida Türlerinin Mikrodilüsyon Yöntemiyle Flukonazole Duyarlılıkları*

		MİK değerleri (µg/ml)**		
Kandida türü	**Sayı**	**≤ 8 µg/ml**	**16-32 µg/ml**	**≥ 64 µg/ml**
C. *albicans*	30	26	3	1
C. *tropicalis*	26	23	3	-
C. *parapsilosis*	15	15	-	-
C. *glabrata*	8	6	2	-
C. *kefyr*	5	5	-	-
C. *krusei*	4	-	-	4
Toplam	88	75	8	5

*: CLSI M27-A2

**: ≤ 8 µg/ml: Duyarlı, 16-32 µg/ml: Doza bağımlı duyarlı, ≥ 64 µg/ml: Dirençli

Vorikonazole karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerleri, C. *albicans* kökenlerinin; 12'sinde 0.125 µg/ml, 11'inde 0.25 µg/ml, 6'sında 0.5 µg/ml, 1'inde 1 µg/ml, C. *tropicalis* kökenlerinin; 10'unda 0.125 µg/ml, 11'inde 0.25 µg/ml, 3'ünde 0.5 µg/ml, 2'sinde 1 µg/ml, diğer kökenlerin; 12'sinde 0.125 µg/ml, 12'sinde 0.25 µg/ml, 4'ünde 0.5 µg/ml, 4'ünde 1 µg/ml olarak saptandı.

Kaspofungine karşı in vitro duyarlılığın araştırılmasında mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerleri, C. *albicans* kökenlerinin; 6'sında 0.03 µg/ml, 9'unda 0.06 µg/ml, 5'inde 0.125 µg/ml, 8'inde 0.25 µg/ml, 1'inde 0.5 µg/ml, 1'inde 1 µg/ml, C. *tropicalis* kökenlerinin; 1'inde 0.03 µg/ml, 10'unda 0.06 µg/ml, 7'sinde 0.125 µg/ml, 3'ünde 0.25 µg/ml, 3'ünde 0.5 µg/ml, 2'sinde 1 µg/ml, diğer kökenlerin; 4'ünde 0.03 µg/ml, 5'inde 0.06 µg/ml, 9'unda 0.125 µg/ml, 6'sında 0.25 µg/ml, 5'inde 0.5 µg/ml, 3'ünde 1 µg/ml olarak saptandı.

Her bir kandida türünün dört değişik antifungal için saptanan MİK değerleri tablo 7-12'de gösterilmiştir.

Tablo 7. C. *parapsilosis'*in Dört Antifungal için MİK Değerleri.

Suş no	Kaspofungin (µg/ml)	AmfoterisinB (µg/ml)	Flukonazol (µg/ml)	Vorikonazol (µg/ml)
1	0.5	0.5	0.5	0.25
2	0.125	0.25	0.5	0.25
3	0.125	0.25	0.125	0.125
4	0.125	0.06	0.25	0.25
5	0.5	0.125	0.5	0.5
6	0.125	0.06	0.25	0.125
7	0.03	0.03	0.125	0.125
8	0.03	0.03	0.125	0.125
9	0.125	0.06	0.5	0.125
10	0.06	0.06	4	0.5
11	0.03	0.03	0.125	0.125
12	0.25	0.06	0.5	0.25
13	0.06	0.06	0.25	0.125
14	0.5	1	1	1
15	1	0.5	1	0.5

Tablo 8. C. *albicans'*ın Dört Antifungal için MİK Değerleri.

Suş no	Kaspofungin (µg/ml)	AmfoterisinB (µg/ml)	Flukonazol (µg/ml)	Vorikonazol (µg/ml)
1	0.03	0.06	0.125	0.125
2	0.25	0.25	0.125	0.125
3	0.5	0.5	1	0.125
4	0.25	0.25	0.125	0.125
5	0.25	0.125	16	0.5
6	0.03	0.06	0.5	0.25
7	0.06	0.03	1	0.25
8	0.03	0.03	0.25	0.125
9	0.25	0.25	64	1
10	0.03	0.06	0.25	0.125
11	0.06	0.125	0.125	0.125
12	0.06	0.06	16	0.5
13	0.03	0.03	0.125	0.125
14	0.125	0.25	0.5	0.25
15	0.03	0.06	0.125	0.125
16	0.125	0.125	1	0.5
17	0.06	0.03	0.25	0.25
18	0.25	0.125	0.5	0.25
19	0.06	0.125	0.25	0.125
20	0.25	0.25	0.5	0.25
21	0.25	0.125	2	0.25
22	0.125	0.25	0.5	0.25
23	0.06	0.06	0.25	0.125
24	0.06	0.03	1	0.25
25	0.06	0.125	0.25	0.25
26	0.25	0.25	16	0.5
27	0.125	0.125	0.25	0.125
28	0.125	0.25	1	0.5
29	1	1	2	0.5
30	0.06	0.06	0.25	0.25

Tablo 9. C. *glabrata'*nın Dört Antifungal için MİK Değerleri.

Suş no	Kaspofungin (µg/ml)	Amfoterisin B (µg/ml)	Flukonazol (µg/ml)	Vorikonazol (µg/ml)
1	0.25	0.25	32	1
2	0.25	0.5	0.125	0.125
3	0.25	1	0.5	0.25
4	0.5	1	1	0.25
5	0.06	0.06	0.25	0.125
6	0.25	0.5	0.5	0.25
7	0.125	0.125	0.25	0.25
8	1	0.5	16	1

Tablo 10. C. *tropicalis'*in Dört Antifungal için MİK Değerleri.

Suş no	Kaspofungin (µg/ml)	Amfoterisin B (µg/ml)	Flukonazol (µg/ml)	Vorikonazol (µg/ml)
1	0.25	0.25	0.25	0.25
2	0.03	0.03	0.125	0.125
3	0.06	0.25	2	0.25
4	0.06	0.06	0.125	0.125
5	0.06	0.25	4	0.125
6	0.06	0.125	0.25	0.125
7	0.125	0.125	2	0.125
8	0.5	0.5	1	0.25
9	0.125	0.25	0.25	0.25
10	0.125	0.25	0.25	0.125
11	0.06	0.06	0.5	0.25
12	0.125	0.25	2	0.5
13	0.06	0.125	0.125	0.125
14	1	0.25	0.25	0.25
15	0.125	0.125	0.5	0.25
16	0.5	0.25	0.5	0.25
17	0.06	0.06	0.125	0.125
18	0.06	0.06	32	1
19	0.25	0.125	2	0.5
20	0.06	0.06	0.25	0.125
21	0.125	0.06	0.5	0.25
22	0.125	0.125	1	0.25
23	0.06	0.06	0.5	0.125
24	1	1	16	1
25	0.25	0.125	8	0.25
26	0.5	0.25	16	0.5

Tablo 11. C. *kefyr*'in Dört Antifungal için MİK Değerleri.

Suş no	Kaspofungin (µg/ml)	Amfoterisin B (µg/ml)	Flukonazol (µg/ml)	Vorikonazol (µg/ml)
1	0.06	0.06	0.25	0.125
2	0.03	0.03	0.125	0.125
3	0.125	0.125	0.25	0.25
4	0.06	0.06	0.25	0.125
5	0.125	0.25	0.5	0.25

Tablo 12. C. *krusei'*nin Dört Antifungal için MİK Değerleri.

Suş no	Kaspofungin (µg/ml)	Amfoterisin B (µg/ml)	Flukonazol (µg/ml)	Vorikonazol (µg/ml)
1	0.5	0.5	64	0.5
2	0.25	0.25	64	0.25
3	1	1	64	1
4	0.125	0.125	64	0.25

One-Way Anova Varyans analizi ile dört antifungal için kandida türlerinde saptanan MİK değerlerinin ortalaması tablo 13'de gösterilmiştir.

Tablo 13. Kandida Türlerinin MİK Değerlerinin Ortalaması.

Kandida türü	Caspofungin	Amfoterisin B	Flukonazol	Vorikonazol
C. *albicans*	0.16±0.19	0.17±0.19	4.21±12.24	0.28±0.20
C. *tropicalis*	0.22±0.27	0.20±0.20	3.49±7.27	0.29±0.24
C. *parapsilosis*	0.24±0.27	0.21±0.27	0.65±0.97	0.29±0.24
C. *glabrata*	0.33±0.29	0.49±0.36	6.33±11.72	0.41±0.37
C. *krusei*	0.47±0.39	0.46±0.38	64.00±0.00	0.50±0.35
C. *kefyr*	0.08±0.04	0.11±0.08	0.28±0.14	0.18±0.06

Elde edilen verilere göre istatistiksel olarak amfoterisin B için C. *glabrata* ile C. *albicans* ve C. *tropicalis* arasında önemli fark saptandı ($p<0.05$). Flukonazol için farklılığın C. *krusei*'den kaynaklandığı tespit edildi. Kaspofungin ve vorikonazol için kandida türleri arasında bir fark saptanamadı.

5.TARTIŞMA

Mantar infeksiyonlarında görülen artışla birlikte, bu infeksiyonlara neden olan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmeye başlamıştır. Endojen kaynaklı olması nedeniyle hala nozokomiyal fungal infeksiyonlarda ilk sırayı C.*albicans* almakla birlikte, antifungal tedaviye daha zor yanıt verdiği bilinen C. *tropicalis*, C. *lusitaniae*, C. *krusei*, C. *glabrata*, C. *parapsilosis* gibi, non albicans türlerle karşılaşma oranı hızla artmaktadır. Bu nedenle türlerin identifikasyonu ve direnç profillerinin belirlenmesi önem taşımaktadır [(7)].

Kandida türleri normalde insan deri ve mukoza florasında bulunan mikroorganizmalardır. Normal bireylerin % 30-50'sinin ağız ve gastrointestinal sisteminde bulunurlar, bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında kandidoz olarak tanımlanan enfeksiyonları yaparlar [(104)].

Kandidalar kan dolaşımı ile ilişkili enfeksiyon etkenlerinin % 8'ini oluşturmaktadır. Non albicans etkenli enfeksiyonlarının artışı antimikrobiyal dirençlilik açısından önemlidir. Çünkü bu suşların önemli bir bölümü flukonazole dirençlidir. C. *albicans* koagülaz üreterek trombogenezin etkisinden korunur. Bu olay onun fibronektine ve fibrin tabakasına sıkıca yapışmasını sağlar [(105)].

Kan kültürleri ile ilgili çalışmalarda, izole edien kandida türlerinin dağılımı incelendiğinde; Ermertcan [(102)] izole ettiği 60 kökenin % 45'ini C. *albicans,* % 38.3'ünü C. *tropicalis* ve % 16.6'sını C. *parapsilosis* olarak bildirmiştir.

Sandven ve arkadaşları [(106)] 1991-1996 yılları arasında fungemi etkeni olarak izole ettikleri 576 kökenin % 66.6'sını C. *albicans,* diğerlerini sırasıyla C. *glabrata*, C. *parapsilosis*, C. *tropicalis*, C. *krusei*, C. *guillermondii* ve diğer türler olarak saptamışlardır.

Pfaller ve arkadaşları [(107)] Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Güney Amerika'yı kapsayan 34 merkezde yaptıkları araştırmada tespit ettikleri 306 kandidemi etkeninin, % 53.3'ünü C. *albicans*, diğerlerini sırasıyla C. *parapsilosis*, C. *glabrata*, C. *tropicalis*, C. *krusei*, C. *guillermondii* ve diğer türler olarak belirlemişlerdir. ABD'de non albicans türler % 43.8 oranında saptanmış ve en sık olarak C. *glabrata* (%18.7)'yı belirlemişlerdir. Kanada'da % 47.5 ve en sık C. *parapsilosis* (%22.9), Güney Amerika'da ise % 59.5 ve ilk sırayı C. *parapsilosis* (%38.1) daha sonra C. *tropicalis* (%11.9)'in aldığını bildirmişlerdir.

Canton ve arkadaşları [108] çalışmalarında kandidemi etkeni olan 143 suşun % 45.5'ini C. *albicans*, % 40.5'ini C. *parapsilosis* diğerlerini ise C. *tropicalis* , C. *glabrata* ve C. *krusei* olarak tespit etmişlerdir.

Vural ve arkadaşları[109] kan kültürlerinden izole ettikleri 30 kökenin % 50'sini C. *albicans*, % 27'sini C. *tropicalis* ve geri kalanını diğer türler olarak belirlemişlerdir.

Yücesoy ve Yuluğ [110] izole ettikleri 40 kandida suşunun % 60'ını C. *albicans*, diğerlerini C. *parapsilosis*, C. *tropicalis*, C. *guillermondii* ve C. *lypolitica* olarak belirlemişlerdir.

Nguyen ve Yu [111] kandidemi etkeni olan 95 kandida suşunun % 41'ini C. *albicans*, % 22'sini C. *glabrata*, % 20'sini C. *tropicalis*, diğerlerini sırasıyla C. *parapsilosis*, C. *lusitaniae*, C. *krusei* olarak tespit etmişlerdir.

Godoy ve arkadaşları [112] Latin Amerika hastanelerindeki kan kültürlerinden izole ettikleri 103 kandida suşunun % 42'sini C. *albicans*, % 24.2 sini C. *tropicalis*, % 21.3'ünü C. *parapsilosis*, diğerlerini sırasıyla C. *glabrata*, C. *guillermondii* ve C. *lusitaniae* olarak belirlemişlerdir.

Kurt ve arkadaşları [113] kan kültürlerinden izole ettikleri 50 kandida suşunun % 60'ını C. *albicans*, % 18'ini C. *parapsilosis*, % 10'unu C. *tropicalis*, diğerlerini sırasıyla C. *krusei*, C. *kefyr*, C. *lusitaniae*, C. *famata* ve C. *glabrata* olarak bildirmişlerdir.

Estrella ve arkadaşları [114] İspanya'da yaptıkları çalışmada kan kültürlerinden izole ettikleri 351 kandida suşunun % 51'ini C. *albicans*, % 23'ünü C. *parapsilosis*, % 10'unu C. *tropicalis*, diğerlerini sırasıyla C. *glabrata*, C. *krusei*, C. *kefyr*, C. *lusitaniae*, C. *guillermondii*, C. *inconspicua*, C. *norvegensis* ve C. *dublinensis* olarak belirlemişlerdir.

Pfaller ve arkadaşları [115] yaptıkları bir çalışmada kan kültürlerinden izole ettikleri 2047 kandida suşunun % 54'ünü C. *albicans*, % 16'sını C. *glabrata*, % 15'ini C. *parapsilosis*, % 10'unu C. *tropicalis*, diğerlerini sırasıyla C. *krusei*, C. *guillermondii*, C. *lusitaniae* ve diğer suşlar olarak saptamışlardır.

Çalışmamızda kan kültürlerinden izole edilen 88 kandida suşundan 30'unun (%34.1) C. *albicans*, 26'sının (%29.5) C. *tropicalis*, 15'inin (%17.1) C. *parapsilosis*, 8'inin (%9.1) C. *glabrata*, 5'inin (%5.7) C. *kefyr*, 4'ünün (%4.5) C. *krusei* olduğu görüldü.

Son yıllarda non albicans kandida türlerinin sıklığında bir artış olmuştur [116,117,118]. Çalışmamızda da buna paralel olarak izole edilen kandida suşları arasında non albicans türlerin sıklığı dikkat çekicidir.

Hastane infeksiyonları arasında kandida kaynaklı olanlar gittikçe artan oranda görülmeye başlamış olup, bu oranın araştırıldığı çeşitli çalışmalar incelendiğinde; İnan ve Çakmakçı [119] bakteriyel ve fungal etkenler arasında kandida türlerinin yoğun bakım ünitesinde % 7-17.1 oranında olduğunu, Bengisun ve arkadaşları [22] sepsis etkenleri içerisinde kandida türlerini üçüncü sırada saptadıklarını, Kızırgil ve arkadaşları [120] kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların % 11.5'ini, Durmaz ve arkadaşları [121] % 15.1'ini kandida türlerinin oluşturduğunu, Tekerekoğlu ve arkadaşları [23] ise % 6'sını kandida türleri olarak identifiye ettiklerini bildirmişlerdir.

Son yıllarda kandida infeksiyonlarının insidansındaki artışa paralel olarak pek çok yeni antifungal ajan kullanıma girmiş ve bunların profilaksi ve tedavide kullanımları giderek yaygınlaşmıştır. Özellikle triazol grubu antifungal ajanların sık kullanılması ile hem C. *albicans* dışındaki türlerde artış hemde antifungal ajanlara dirençte artış saptanmıştır ve bütün bunların sonucunda antifungal ajanların invitro duyarlılıklarını ölçen testlerin önemi artmış ve buna yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır [8,9].

Çalışmamızda izole ettiğimiz ve tiplendirdiğimiz kandida kökenlerinin amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve kaspofungin'e karşı in vitro antifungal duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılarak, MİK değerleri ve $MİK_{50}$, $MİK_{90}$ değerleri belirlenmiştir.

Kalkancı ve arkadaşları [122] hemotolojik malignensili ve nötropenisi olan hastalardan izole ettikleri 111 kandida suşunun antifungal duyarlılığını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırmışlar, sonuç olarak flukonazol için C. *glabrata*, C. *tropicalis* ve C. *krusei*'de yüksek MİK değerleri tespit etmişlerdir. Vorikonazol için bütün kandida suşlarında MİK aralığını 0.07-2µg/ml arasında tespit etmişlerdir.

Sandven ve arkadaşları [106] Norveç'te 5 yıllık süre içinde izole ettikleri suşların antifungal duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırdıklarında, flukonazol için 16µg/ml'den yüksek MİK değerlerine sahip suş oranının beş yıl sonunda yüzde 9.6'dan yüzde 18.6'ya yükseldiğine ve bu durumun son yıllarda C. *glabrata* ve C. *krusei* suşlarındaki artıştan kaynaklandığına dikkat çekmişlerdir.

Pfaller ve arkadaşları [123] kan kültüründen izole ettikleri 559 C. *glabrata* suşunun fulukonazole duyarlılıklarını Amerika Birleşik Devletlerinde yaş gurubuna ve coğrafik dağılıma göre mikrodilüsyon yöntemiyle incelemişler ve sonuç olarak bu 559 suşun % 60'ının flukonazole duyarlı, % 31'inin doza bağımlı duyarlı, % 9'unun ise dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Coğrafik dağılımlara göre bakıldığında C. *glabrata*'nın flukonazole duyarlılığını en yüksek oranda güney batı bölgesinde, en düşük oranda ise Pasifik bölgesinde tespit etmişlerdir. Yaş dağılımına göre ise en az suş 15 yaş altında

izole edilmiş ve izole edilen 13 suşun sadece birinde direnç tespit etmişlerdir. En çok miktarda dirençli suşu ise 16-64 yaşları arasında bildirmişlerdir.

Godoy ve arkadaşları [112] Latin Amerika hastanelerinde kan kültürlerinden izole ettikleri kandida suşlarının antifungal duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak, MİK aralığı, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerini sırasıyla, amfoterisin B için C. *albicans*'ta 0.125-1µg/ml, 0.5 ve 0.5 µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.25-1µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.25-1µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, C. *glabrata*'da 0.5-1µg/ml, 0.5 ve 0.5µg/ml, flukonazol için C. *albicans*'ta 0.125-0.5µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.125-0.5µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.125-2µg/ml, 0.5 ve 2µg/ml, C. *glabrata*'da 2-8µg/ml, 2 ve 4µg/ml olarak bildirmişlerdir.

Cuenca-Estrella ve arkadaşları [114] İspanya'da yaptıkları bir çalışmada kan kültüründen izole ettikleri kandida suşlarının altı antifungal ajana duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak, MİK aralığı ve $MİK_{90}$ değerlerini sırasıyla, amfoterisin B için; C. *albicans*'ta 0.03-0.25mg/L ve 0.12 mg/L, C. *parapsilosis*'te 0.03-0.25mg/L ve 0.25mg/L , C. *tropicalis*'te 0.06-0.5mg/L ve 0.12mg/L, C. *glabrata*'da 0.03-0.5mg/L ve 0.25 mg/L, C. *krusei*'de 0.25-0.5mg/L ve 0.5mg/L, flukonazol için; C. *albicans*'ta 0.125-8mg/L ve 0.25mg/L, C. *parapsilosis*'te 0.125- > 64mg/L ve 1mg/L, C. *tropicalis*'te 0.125- > 64mg/L ve 0.5 mg/L, C. *glabrata*'da 2- > 64mg/L ve 16 mg/L, C. *krusei*'de 32- > 64µg/ml ve 64µg/ml, vorikonazol için; C. *albicans*'ta 0.01-0.5mg/L ve 0.01mg/L, C. *parapsilosis*'te 0.01-0.5mg/L ve 0.03mg/L, C. *tropicalis*'te 0.01-8µg/ml ve 0.06µg/ml, C. *glabrata*'da 0.06-2µg/ml ve 0.5µg/ml, C. *krusei*'de 0.25-1mg/L ve 0.5mg/L, kaspofungin için; C. *albicans*'ta 0.01-1mg/L ve 0.25mg/L, C. *parapsilosis*'te 0.125-2mg/L ve 1mg/L, C. *tropicalis*'te 0.01-2mg/L ve 0.25mg/L, C. *glabrata*'da 0.06-0.5mg/L ve 0.5mg/L, C. *krusei*'de 0.5-2mg/L ve 1mg/L olarak bildirmişlerdir. Çalışma kapsamına alınan 351 suştan sadece 24 tanesinde flukonazol için MİK değeri ≥ 16mg/L olarak belirlenmiştir. Bunlardan 18 tanesi doza bağımlı duyarlı, 6 tanesi ise dirençli olarak tespit edilmiştir. Bu 24 suş için amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin ile düşük MİK değerleri tespit edilmiştir. Çalışılan bütün suşlar için amfoterisin B ile genel MİK aralığı 0.03-0.5 mg/L olarak tespit edilmiş ve bunların içinde en yüksek MİK değerlerini C. *krusei* göstermiştir. Kaspofungin için sadece 19 suşta MİK değeri ≥ 1mg/L olarak tespit edilmiştir. Vorikonazol için; sadece 3 suşta MİK değeri ≥ 1mg/L olarak tespit edilmiştir. Bu 3 suş C. *albicans*, C. *tropicalis* ve C. *glabrata* olarak bildirilmiştir.

Kurt ve arkadaşları [113] yaptıkları çalışmada kan kültürlerinden izole ettikleri kandida suşlarının antifungal duyarlılığını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak bütün

suşlar için MİK aralığı, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerini sırasıyla, amfoterisin B için; 0.25-1µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, flukonazol için 0.125-64µg/ml, 0.25 ve 2µg/ml olarak bildirmişlerdir. Amfoterisin için bütün suşları duyarlı olarak tespit etmişler, flukonazol içinse sadece C. *krusei*'de direnç tespit etmişlerdir.

Pfaller ve arkadaşları [124] yaptıkları bir çalışmada flukonazole dirençli suşlarda kaspofungin aktivitesini mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak; flukonazole direçli 351 suşun %99'unda kaspofungin için MİK değerini ≤2µg/ml olarak olarak tespit etmişlerdir ve hiçbir suşta MİK değerini 4µg/ml'den büyük bulmamışlardır.

Pfaller ve arkadaşları [125] yaptıkları başka bir çalışmada iki farklı besiyeri kullanarak kandida suşlarının kaspofungin'e karşı antifungal duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırmışlar, RPMI 1640 besiyeri ile yapılan çalışmada 3322 kandida suşunun kaspofungine karşı duyarlılık sonuçlarına bakıldığında sadece 11 suşta MİK değerini ≥2µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Bu 11 suşun 8 tanesi glukan sentetik mutant olarak bildirmişler ve glukan sentetik mutant olan kandida suşlarının büyük bir çoğunluğunun kaspofungin'in in vitro duyarlılığını azalttığını bildirmişlerdir.

Antunes ve arkadaşları [126] Brezilya'da yaptıkları bir çalışmada Santa Casa hastaneler kompleksinden elde edilen kan kültürlerinden izole edilen kandida suşlarının antifungal duyarlılığını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak, MİK aralıklarını, Amfoterisin B için; C. *albicans*'ta 0.25-1µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.12-1µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.5-1µg/ml, C. *glabrata*'da 0.5-1µg/ml, C. *krusei*'de 0.5-1µg/ml, flukonazol için; C. *albicans*'ta 0.12-8µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.12-2µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.12-2µg/ml, C. *glabrata*'da 1-8µg/ml, C. *krusei*'de 16µg/ml olarak bildirmişlerdir. Sonuç olarak hiçbir suşta flukonazol ve amfoterisin B için dirençlilik tespit edememişlerdir.

Nawrot ve arkasdaşları [127] yaptıkları çalışmada hemotolojik rahatsızlığı bulunan çocuk ve erişkin hastaların steril vücut sıvıları ve kan örneklerinden izole ettikleri kandida suşlarının antifungal duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırmışlardır. Çalışılan 206 suşdan %99'unu amfoterisin B için duyarlı tespit etmişlerdir sadece bir C. *krusei* amfoterisin B için orta derecede duyarlı bildirilmiştir. Flukonazol için; C. *albicans*'ta 109 suş duyarlı, 4 suş orta derecede duyarlı, 5 suş dirençli, C. *glabrata*'da 9 suş doza orta derecede duyarlı, 4 suş dirençli, C. *krusei*'de 10 suş dirençli, diğer kandida suşlarında 11 suş doza bağımlı duyarlı, 6 suş dirençli olarak bildirilmiştir.

Swinne ve arkadaşları[128] çoğunluğunu kan kültüründen izole ettikleri 193 non albicans suşun antifungal duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak, MİK aralıkları, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerini sırasıyla, amfoterisin B için; C. *glabrata*'da 0.5-2µg/ml, 1 ve 2µg/ml, C. *parapsilosis*'de 0.5-2µg/ml, 1 ve 2µg/ml, C. *tropicalis*'te 1-

2µg/ml, 1 ve 2µg/ml, C. *krusei*'de 0.25-2µg/ml, 1 ve 1µg/ml, C. *lusitaniae*'da 0-5-1µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, flukonazol için; C. *glabrata*'da 4-> 64µg/ml, 16 ve 64µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.25-64µg/ml, 1 ve 2µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.5-> 64µg/ml, 1 ve 4µg/ml, C. *krusei*'de 32-> 64µg/ml, 64 ve > 64µg/ml, C. *lusitaniae*'da 0.13-1µg/ml, 0.25 ve 1µg/ml, vorikonazol için; C. *glabrata*'da 0.13-4µg/ml, 0.25 ve 2µg/ml, C. *parapsilosis*'te < 0.008-0.25µg/ml, 0.016 ve 0.063µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.032-16µg/ml, 0.063 ve 0.5µg/ml, C. *krusei*'de 0.25-2µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, C. *lusitaniae*'da < 0.008-0.016µg/ml, < 0.008 ve 0.016µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Flukonazol için direnç gelişimi en çok C. *glabrata* ve C. *krusei*'de bildirilmiştir. Çalışılan bütün suşlarda vorikonazol için MİK değerini %94 oranda ≤ 1µg/ml olarak saptamışlardır. Vorikonazol için duyarlılık oranlarını en yüksek C. *parapsilosis* ve C. *lusitaniae*'da, en düşük ise C. *glabrata*'da bildirmişlerdir. Ayrıca elde ettikleri sonuçların vorikonazol'ün amfoterisin B'ye dirençli maya infeksiyonlarının tedavisinde etkin olabiceğini belirtmişlerdir.

Rubio ve arkadaşları [129] vorikonazol'ün kandida suşlarına karşı antifungal etkinliğini mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak MİK aralıklarını C. *albicans* için ≤0.015-0.03mg/l, C. *glabrata* için 0.03-1mg/l, C. *tropicalis* için ≤0.015-0.06mg/l, C. *krusei* için 0.12-0.25mg/l, C. *parapsilosis* için ≤0.015-0.03mg/l olarak tespit etmişlerdir. 114 kandida suşunun tümüne bakıldığında ise ≤0.015-1mg/l olarak tespit etmişlerdir.

Yun-Liang Yang ve arkadaşları [130] 1999 ve 2002 yıllarında Tayvan TSARY hastanelerinden izole ettikleri kandida suşlarının flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırarak, amfoterisin B için, 1999 yılında 10 suşta 2002 yılında ise 1 suşta direnç tespit etmişlerdir. 11 suşun 9'unu non albicans olarak tespit etmişler ve en düşük duyarlılık oranını C. *krusei*'de saptamışlardır. Flukonazol için, 1999 yılında 289 suş duyarlı, 23 suş doza bağımlı duyarlı, 30 suş dirençli olarak, 2002 yılında 391 suş duyarlı, 55 suş doza bağımlı duyarlı, 10 suş dirençli olarak bildirmişlerdir. genel anlamda flukonazol için en dirençli suş olarak C. *krusei'yi*, en duyarlı suş olarak ise C. *parapsilosis*'i saptamışlardır.

Koç ve arkadaşları [131] yaptıkları bir çalışmada kandida suşlarının antifungal duyarlılıklarını araştırarak E test ve mikrodilüsyon yöntemini karşılaştırmışlardır. Mikrodilüsyon yöntemiyle elde ettikleri sonuçlarda, bütün suşlar için amfoterisin B'yi en etkili antifungal olarak tespit etmişlerdir. C. *tropicalis* ve C. *glabrata* dışında bütün suşlarda MİK değerini ≤1µg/ml olarak saptamışlardır. Flukonazol için çalışılan 102 suş'dan 6 C. *albicans*, 2 C. *tropicalis*, 1 C. *kefyr*, 5 C. *krusei*, 1 C. *guilliermondii*, 3 C. *glabrata* ve 2 Rhodoturula suşunda MİK değerini ≥8µg/ml olarak tespit etmişlerdir.

Mitchell ve arkadaşları [132] yaptıkları bir çalışmada kandida suşlarının kaspofungin'e karşı antifungal duyarlılığını Flow Cyrometry ile araştırmışlar ve bunu CLSI M27-A2 broth mikrodilüsyon yöntemiyle karşılaştırmışlardır. CLSI M27-A2 broth mikrodilüsyon yöntemiyle elde ettikleri sonuçlara bakıldığında MİK aralıkları, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerini sırasıyla, C. *albicans*'ta 0.25-1µg/ml, 0.5 ve 0.5µg/ml, C. *glabrata*'da 0.25-0.5µg/ml, 0.5 ve 0.5µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.25-0.5µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.5-1µg/ml, 1 ve 1µg/ml, C. *krusei*'de 0.5-1µg/ml, 1 ve 1µg/ml, C. *lusitaniae*'da 0.5-1µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, C. *lipolytica*'da 1µg/ml, 1 ve 1µg/ml olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda kandida suşlarının mikrodilüsyon yöntemi ile dört antifungal için saptanan MİK aralıkları, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri tablo 5'de gösterilmiştir.

Çalışmamızda flukonazol için 8 kandida suşu doza bağımlı duyarlı (MİK değeri 16-32µg/ml) , 5 kandida suşu ise dirençli (MİK değeri ≥64µg/ml) olarak tespit edilmiştir. Doza bağımlı duyarlı suşların 3'ü C. *albicans*, 3'ü C. *tropicalis*, 2'si C. *glabrata* olarak saptanmıştır. Dirençli suşların ise 1'i C. *albicans*, 4'ü C. *krusei* olarak saptanmıştır.

Kandida suşlarının tamamında MİK aralıkları, amfoterisin B için; 0.03-1 µg/ml, flukonazol için; 0.125-64 µg/ml, vorikonazol için 0.125-1 µg/ml, kaspofungin için; 0.03-1 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Çalışılan bütün suşlarda amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için MİK değerleri ≤1 µg/ml olarak belirlenmiştir. Flukonazol'e karşı doza bağımlı duyarlı ve dirençli suşlarda da amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için düşük MİK değerleri tespit edilmiştir.

6.SONUÇ

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır:

1) Kan kültürlerinden izole ettiğimiz 88 kandida suşunun 30'u (%34.1) C. *albicans*, 26'sı (%29.5) C. *tropicalis*, 15'i (%17.1) C. *parapsilosis*, 8'i (%9.1) C. *glabrata*, 5'i (%5.7) C. *kefyr*, 4'ü (%4.5) C. *krusei* olarak saptanmıştır.

2) Kandida suşlarının mikrodilüsyon yöntemi ile MİK aralıkları, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla, amfoterisin B için; C. *albicans*'ta 0.03-1µg/ml, 0.125 ve 0.25µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.03-1µg/ml, 0.125 ve 0.25µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.03-1µg/ml, 0.06 ve 0.5µg/ml, C. *glabrata*'da 0.06-1µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, C. *krusei*'de 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *kefyr*'de 0.03-0.25µg/ml, 0.06 ve 0.125µg/ml, flukonazol için; C. *albicans*'ta 0.125-64µg/ml, 0.5 ve 16µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.125-32µg/ml, 0.5 ve 16µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.125-4µg/ml, 0.5 ve 1µg/ml, C. *glabrata*'da 0.125-32µg/ml, 0.5 ve 16µg/ml, C. *krusei*'de 64µg/ml, 64 ve 64µg/ml, C. *kefyr*'de 0.125-0.25µg/ml, 0.25 ve 0.25µg/ml, vorikonazol için; C. *albicans*'ta 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *glabrata*'da 0.125-1µg/ml 0.25 ve 1µg/ml, C. *krusei*'de 0.25-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *kefyr*'de 0.125-0.25µg/ml, 0.125 ve 0.25µg/ml, kaspofungin için; C. *albicans*'ta 0.03-1µg/ml, 0.06 ve 0.25µg/ml, C. *tropicalis*'te 0.03-1µg/ml, 0.125 ve 0.5µg/ml, C. *parapsilosis*'te 0.03-1µg/ml, 0.125µg/ml ve 0.5µg/ml, C. *glabrata*'da 0.06-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *krusei*'de 0.125-1µg/ml, 0.25 ve 0.5µg/ml, C. *kefyr*'de 0.03-0.125µg/ml, 0.06 ve 0.125µg/ml olarak saptanmıştır.

3) Çalışılan standart suşlardan C. *krusei* ATCC 6258'de MİK değerleri flukonazol için 64 µg/ml, vorikonazol için 0.25 µg/ml, amfoterisin B için 1 µg/ml, kaspofungin için 0.5 µg/ml bulunmuştur. C. *parapsilosis* ATCC 22019'da MİK değerleri flukonazol için 1 µg/ml, vorikonazol için 0.125 µg/ml, amfoterisin B için 0.5 µg/ml, kaspofungin için 0.5 µg/ml olarak saptanmıştır.

4) Kandida türlerinde saptanan MİK değerlerinin ortalaması göz önüne alındığında; İstatistiksel olarak amfoterisin B için C. *glabrata* ile C. *albicans* ve C. *tropicalis* arasında önemli fark saptanmıştır ($p<0.05$). Flukonazol için farklılığın C. *krusei*'den kaynaklandığı tespit edilmiştir. Kaspofungin ve vorikonazol için kandida türleri arasında bir fark bulunamamıştır.

5) Flukonazol için 8 kandida suşu doza bağımlı duyarlı (MİK değeri 16-32µg/ml) , 5 kandida suşu ise dirençli (MİK değeri ≥64µg/ml) olarak tespit edilmiştir. Doza

bağımlı duyarlı suşların 3'ü C. *albicans*, 3'ü C. *tropicalis*, 2'si C. *glabrata* olarak saptanmıştır. Dirençli suşların ise 1'i C. *albicans*, 4'ü C. *krusei* olarak saptanmıştır.

6) Kandida suşlarının tamamında MİK aralıkları, amfoterisin B için; 0.03-1 µg/ml, flukonazol için; 0.125-64 µg/ml, vorikonazol için 0.125-1 µg/ml, kaspofungin için; 0.03-1 µg/ml olarak belirlenmiştir.

7) Çalışılan bütün suşlarda amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için MİK değerleri ≤1 µg/ml olarak belirlenmiştir. Flukonazol'e karşı doza bağımlı duyarlı ve dirençli suşlarda da amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin için düşük MİK değerleri tespit edilmiştir.

8) Elde edilen düşük MİK değerleri göz önüne alındığında; Amfoterisin B, vorikonazol ve kaspofungin'in kandida suşlarına karşı etkin olabileceği ve flukonazole dirençli suşlarda oluşan enfeksiyonların tedavisinde alternatif ilaç olarak kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır.

7.KAYNAKLAR

1. Ener B. Mantar infeksiyonlarında klinikten laboratuvara tanı sorunları. Ankem derg 1998;12(3): 248-252.
2. Tilton RC, McGinnis MR. Yeasts. In Howard BJ, Klass J, Rubin SJ, Weissfeld AS, Tilton RC, eds. Clinical and Pathogenic Microbiology. CV Mosby, 1987: 595-605.
3. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Philadelphia New York 1997: 983-1069.
4. Yücel A, Kantarcıoğlu S. Hastane kaynaklı mantar infeksiyonlarının epidemiyolojisi. Cerrahpaşa J Med 2001; 32: 259-569.
5. Anaissie E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host. Experience at a cancer center and review. Clin Infect Dis 1992;14:43-53.
6. Walsh TJ. Invasive fungal infections problems and challenges in developing new antifungal compounds. In Surcliffe J. Georgopapadakon NH, eds. Emerging targets in antibacterial and antifungal chemotherapy. New York. Chapman & Hall, 1992: 349-373.
7. Ener B. İn vitro antifungal duyarlılık testleri: Standardizasyon ve klinik önemi. Mikrobiyol Bült 1996; 30: 419-425.
8. Kuştimur S. Mayaların antifungal duyarlılık testleri. 3. Antimikrobiyal Kemoterapi günleri, Kuşadası, kongre kitabı 1997: 118-121.
9. Yuluğ N. Antifungal duyarlılık testlerinde standardizasyon girişimleri. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Kongre kitabı 1996:126-127.
10. Erbakan N. Derinin Mantar hastalıkları. Ankara, Türkiye klinikleri Yayınevi, 1989: 1-332.
11. Warren NG, Shadomy HJ. Candida, cryptococcus and other yeasts of medical importance. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, eds. Manual of Clinical Microbiology . Washington DC, ASM Pres 1995: 723-737.
12. Akova M. Yoğun bakım ünitelerinde fungal infeksiyonlar. Aknem Derg 1992;6:331-334.
13. Edwards JE. Candida Species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, eds. Principles and Practice of Infectious Disease. Vol 2. New York, Churchill Livigstone, 1995: 2289-2306.

14. Kuştimur S. Kandida patogenezinde rol oynayan faktörler. Mikrobiyol Bült 1994; 28: 175-181.
15. Trier JS, Bjorkmann DJ. Esophageal, gastric and intestinal candidiasis. Am J Med 1984; 30: 39-43.
16. Altınok A, Gezer A. Kadınlarda genital akıntılar ve tedavileri. Ankem Derg 1994;8: 269-274.
17. Arıkan S, Tunçkanat F, Günalp S. Vajinal akıntı yakınmasıyla başvuran hastalarda tkenlerin mikrobiyolojik olarak değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bült 1997;31: 103-111.
18. Cengiz AT, Ataoğlu H, Cengiz L, Seyhun A, Gülmezoğlu M. Vajinal akıntılardan izole edilen kandida türlerinin dağılımı. Mikrobiyol Bült 1989; 23: 275-283.
19. Hayran O, Kayhan M, Aksayan S. Vulvovajinal kandidozda risk faktörleri. İnfekt Derg 1992; 6: 135-139.
20. Katırcıoğlu İ, Tosun İ, Uyanık E, Bozkaya H, Bingöl R. Vajinal akıntısı örneklerinde saptanan mayaların tiplendirilmesi. İnfekt Derg 1995; 9: 297-301.
21. Dupont B, Denning DW, Marriott D, Sugar A, Viviani MA, Sirisanthana T. Mycoses in AIDS patients. J Med Vet Mycol 1994; 32(1): 65-77.
22. Bengisun JS, Palabıyıklıoğlu İ, Akan H. Hematoloji kliniği kan kültür sonuçları. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, Kongre Kitabı 1999: 284.
23. Tekerekoğlu MS, Durmaz B, Taştekin N, Otlu B. Otomatize kan kültür sistemi ile üç yıllık dönemde alınan sonuçların değerlendirilmesi. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, Kongre Kitabı 1999: 202.
24. Hoşoğlu S. Nozokomiyal hematojen kandidoz. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, İzmir, Kongre Kitabı, 1999:157-165.
25. Rex JH, Pfaller MA, Rinaldi MG, Polak A, Galgiani JN. Antifungal drug susceptibility testing. Clin Microbiol Rev 1993; 6: 367-381.
26. Tümbay E. Kandida türleri. Ustaçalebi Ş, ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü basımevi. Güneş Kitabevi 1999:1081-1085.
27. Kirkpatrick CH. Host factors in defence against fungal infections. Am J Med, 1984; 30: 1-12.
28. Kuştimur S. Kandida da virulans faktörleri. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, İzmir, Kongre Kitabı, 1999:145-150.

29. Tsuboi R, Ogawa H, Bramanono K, Richardson MD, Shankland GS, Croizer WJ, Sei Y, Ninomiya J, Nakabayashi A, Tacaiuchi I, Payna CD, Ray TL. Pathogenesis of superficial mycoses. J Medical and Veterinary Mycology 1994; 32(1): 91-104.
30. Öztaş M. Ptriyasis versicolor ve candida infeksiyonları. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, Ankara, Kongre Kitabı 2001: 85-89.
31. İnci R. Candida infeksiyonlarının patogenezinde konağın rolü. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Eskişehir, Kongre Kitabı 2002: 71-83.
32. Ener B. Candida infeksiyonlarının patogenezi: etkenin rolü. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Eskişehir, Kongre Kitabı 2002: 65-70.
33. Odds FC. Presidential address. Candida albicans, the life and times of a pathogenic yeast. J Medical and Veterinary Mycology 1994; 32(1):1-8.
34. Arıkan S, Sancak B, Hasçelik G, Günalp A. Candida albicans izolatlarında fosfolipaz aktivitesinin saptanması. Flora 1998; 3: 240-243.
35. Magee BB, Hube B, Wright RJ, Sullivan PJ, Magee PT. The genes encoding the secreted aspartyl proteinase of Candida albicans constitute a family with at least three members. Infect Immun 1993; 61: 3240-3243.
36. Ghannoum MA, Abu-Elteen KH. Patogenicity determinants of candida. Mycoses 1990; 33:268-282.
37. Kiraz N. Candida türlerinde fenotipik ve genotipik tiplendirme. 1. Ulusal Mantar Hastalıkalrı ve Klinik Mikoloji Kongresi, İzmir, Kongre Kitabı 1999:125-135.
38. Critchley IA, Kouglas JL. Isolation and partial characterization of an adhesin from Candida albicans. J Gen Microbiol 1978; 133:629-632.
39. Ener B, Douglas LJ. Correlation between cell-surface hydrophobicity of Candida albicans adhesion to buccal epithelial cells. Fems Microbiol Letter 1992; 99:37-42.
40. Kaufman RH. Establishing a correct diagnosis of vulvovaginal infection. Am J Obstet Gynecol 1988; 158: 986-988.
41. Rodriguez-Todela JL, Martinez-Suarez JV. Improved medium for flukonazole susceptibility testing of Candida albicans. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38:45-48.

42. Buckley HR. Identifications of yeasts. In: Evans EGV and Richardson MD (eds). Medical Mycology: A Practical Approach. Oxford, Oxford University Press, 1989: 97-109.
43. Warnock DW. Methods a pratical approach. IRL Pres England 1989: 235-259.
44. Yücel A, Kantarcıoğlu S. Some important changes in taxonomy of Candida albicans. Cerrahpaşa J Med. 2000;30:236-246.
45. Doğruman Al F. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Kandida Türlerinin tiplendirilmesi ve Antifungal Duyarlılığının Belirlenmesinde Standart Makrodilüsyon ile E Test Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 2000.
46. Helvacı S, Gedikoğlu S, Mıstık R. Candida albicans tanısında germ tüp testi. İnfekt Derg 1992; 6:141-143.
47. Tümbay E. Pratik Tıp Mikolojisi. Bilgehan Basımevi, İzmir, 1983: 3-219.
48. Yıldıran ŞT. Mantar İnfeksiyonlarında Laboratuar Tanı. Ustaçelebi Ş, eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi, Güneş Kitabevi, 1999: 1129-1144.
49. http://images.google.com.tr/www.dcss.cs.amedd.army.mil/.../germ_choice.htm.
50. http://www.doctorfungus.org/imageban/index_enlarge.pl.
51. Çotuk A. Mantarlar. Genel Mikrobiyoloji Laboratuar yöntemleri. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2003:97-102.
52. Çerikçioğlu N. Mantar İnfeksiyonlarında Seroloji ve Deri Testleri. Ustaçelebi Ş, eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi, Güneş Kitabevi, 1999:1145-1158.
53. Saraçlı MA. Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısında moleküler ve genetik tanı yöntemleri. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Eskişehir, Kongre Kitabı, 2002:133-145.
54. Shadomy S, Pfaller MA. Laboratory studies with antifungal agents susceptibility tests and quantitation in body fluids. In Balows A, Hausler WJ, Herman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. Manual of Clinical Microbiology. Edit Washington DC, 1991: 1173-1181.
55. Yuluğ N. Antifungal duyarlılık testleri ve antifungal ajanların önemi. III. Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik Laboratuar Uygulamaları ve Yenilikler. İzmir, Kongre Kitabı, 1997: 115-117.

56. Uzun Ö. Sistemik etkili antifungal ilaçlar. Akalın E, eds. Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar. Güneş Kitabevi, Ankara, 1994:273-298.
57. Wingard JR. Infections due to resistant Candida species in patients with cancer who are receiving chemotherapy. Clinical Infectious Diseases 1994; 19(1):49-53.
58. Matthews RC. Pathogenicity determinants of Candida albicans: potential targets for immunotherapy?. Microbiology 1994: 1505-1511.
59. Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002: 296.
60. Ener B. Yeni antifungaller üzerine çalışmalar. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya, Kongre Kitabı, 1996: 123-125.
61. Sugar AM, Lyman CA. A pratical guide to medically important fungi and the diseases they cause. Lippincott-Raven Publishers New York 1998:95-119.
62. Ener B. Antifungal direnç. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, İzmir, Kongre Kitabı, 1999: 187-199.
63. Gün H, Başustaoğlu A, Baysallar M, Kubar A, Özyurt M. Amfoterisin B'nin Candida albicans üzerine etkisinin geçirim elektron mikroskop ile gösterilmesi. Gata Bült 1994; 36: 265-269.
64. Andriole VT. İnvaziv fungal infeksiyonlarda güncel ve gelecekteki tedavi. In Remington JS, Swartz MN, eds. İnfeksiyon hastalıklarında güncel ve klinik yaklaşımlar. Ünal S. Black well science 1998:20-40.
65. Kayaalp O. Antifungal antibiyotikler ve diğer antifungal ilaçlar. Kayaalp O, ed. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaası, Ankara, 1998;1: 293-302.
66. Sürücüoğlu S. Sistemik azoller ve amfoterisin B'nin yeni formülasyonları. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, İzmir, Kongre Kitabı, 1999: 183-186.
67. White TC. antifungal drug resistance in Candida albicans. ASM News 1997; 63:427-433.
68. Sanglard D, Kuchler K, Ischer F, et al. Mechanisms of resistance to azole antifungal agents in C.albicans isolates from AIDS patients involve specific multidrug transporters. Antimicrob Agents Chemother 1995: 2378-2386.
69. Bodey GP. Azole antifungal agents. Clin Infect Dis 1992;14(1):161-169.

70. Collin B, Clancy CJ, Nguyen MH. Antifungal resistance in non-albicans Candida species. Drug Resist Update. 1999;2:9-14.
71. 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.
72. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of Candida species to fluconazole. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39:1-8.
73. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Doern GV, Brandt ME, Hajjeh RA. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of Candida species in the United States. Diagn Microbiol Infect Dis. 1999;33:217-222.
74. Galgiani JN. Coccidioidomycosis. West. J. Med. 1993;159:153-171.
75. Arikan S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, Nangia S, Rex JH. Microdilution susceptibility testing of amphotericin B, itraconazole, and voriconazole against clinical isolates of Aspergillus and Fusarium species. J Clin Microbiol. 1999;37:3946-3951.
76. Espinel-Ingroff A. In vitro activities of the new triazole voriconazole (UK-109,496) against opportunistic filamentous and dimorphic fungi and common and emerging yeast pathogens. J. Clin. Microbiol. 1998;36:198-202.
77. McGinnis MR, Pasarell L, Sutton DA, Fothergill AW, Cooper CR, Rinaldi MG. In vitro activity of voriconazole against selected fungi. Med Mycol. 1998;36:239-242.
78. Clancy CJ, Nguyen MH. In vitro efficacy and fungicidal activity of voriconazole against Aspergillus and Fusarium species. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1998;17:573-575.
79. Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM. Current and emerging azole antifungal agents. Clin. Microbiol. Rev. 1999;12:40-79.
80. Kurtz MB, Abruzzo G, Flattery A, Bartizal K, Marinan JA, Li W, Milligan J, Nollstadt K, Douglas CM. Characterization of echinocandin-resistant mutants of Candida albicans: Genetic, biochemical, and virulence studies. Infect. Immun.1996;64:3244-3251.
81. Bartizal K, Gill CJ, Abruzzo GK, Flattery AM, Kong L, Scott PM, Smith JG, Leighton CE, Bouffard A, Dropinski JF, Balkovec J. In vitro preclinical evaluation studies with the echinocandin antifungal MK-0991 (L-743,872). Antimicrob Agents Chemother.1997;41:2326-2332.

82. Pfaller MA, Marco F, Messer SA, Jones RN. In vitro activity of two echinocandin derivatives, LY303366 and MK-0991 (L-743,792), against clinical isolates of Aspergillus, Fusarium, Rhizopus, and other filamentous fungi. Diagn Microbiol Infect Dis.1998;30:251-255.
83. Franzot SP, Casadevall A. Pneumoncandin L-743,872 enhances the activities of amphotericin B and fluconazole against Cryptococcus neoformans in vitro. Antimicrob. Agents Chemother. 1997;41:331-336.
84. Arıkan S. Antifungal duyarlılık testleri. ANKEM Derg, 1999;13:332-336.
85. National Committee for clinical laboratory Standads. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts.Proposed Standard. CLSI document M27-P. Villanova, PA: CLSI, 1992.
86. Yücesoy M. Mayalar için antifungal duyarlılık testleri. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikolji Kongresi, İzmir, Kongre Kitabı, 1999: 191-198.
87. National Committee for clinical laboratory Standads. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved Standards. Second edition, document M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
88. Kuştimur S. Antifungal duyarlılık testleri. Usataçelebi Ş, eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi. Güneş Kitabevi, 1999: 1159-1165.
89. Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Messer SA, Knapp CC, Holliday N, Killian SB. Multicenter Comparison of the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Panel with the CLSI M27-A2 Reference Method for Testing New Antifungal Agents against Clinical Isolates of *Candida* spp. Journal of Clinical Microbiology 2004; 42(2): 718-721.
90. Warren NG, Shadomy HJ. Yeasts of medical importance. In Balows A, eds. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1991: 617-629.
91. Walsh TJ, Chanock SJ. İnvaziv fungal infeksiyonlarının tanısı: Kültür dışı sistemlerde gelişmeler. In Remington JS, Swartz MN, eds. İnfeksiyon hastalıklarında güncel ve klinik yaklaşımlar. Ünal S. Blackwell Science. 1998: 105-129.
92. İnci R. Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflandırılması. Ustaçelebi Ş, eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi. Güneş Kitabevi, 1999: 1015-1021.

93. Sandven P. Laboratory identification and sensivity testing of yeast isolates. Acta Odontol Scand 1990; 48:27-36.
94. Roberts GD. Laboratory methods in basic micology. In Baron EJ, Finegold EJ, eds. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. St. Louis: CV Mosby. 1990: 747-773.
95. Kuzucu Malçok H. Farklı kandida türlerinin in vitro ortamda hemolitik aktivitelerinin araştırılması. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 2005.
96. Yücesoy M, Marol S. Performance of CHROM agar candida and BIGGY agar for identification of yeast species. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2003; 2:8.
97. Jabra-Rizk MA, Brenner TM, Romagnoli M, Baqui AA, Merz WG, Falkler WA Jr, Meiller TF. Evaluation of a reformulated CHROMagar Candida. J Clin Microbiol. 2001; 39: 2015-2016.
98. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. J Clin Microbiol. 1994; 32: 1923-1929.
99. Aktaş E, Yiğit N, Tuncel E. Candida türlerinin tanımlanmasında candida chromagarbesiyerinin kullanılması. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, Ankara, Kongre Kitabı, 2001: 252.
100. Kalkancı A, Kuştimur S, Arslan A. Çeşitli Candida kökenlerinin tiplendirilmesinde Biggy agar kullanılması. İnfeksiyon Derg 1999; 13: 407-411.
101. Aktaş AE, Doğruman Al F, Yiğit N, Ayyyıldız A. Kromojenik bir besiyeri olan Biggy agar'ın candida kökenlerinin tanımlanmasında değerlendirilmesi. Acta Parasitologica Turcica 2001; 25: 301-304.
102. Ermertcan Ş. Kan kültürlerinden soyutlanan Candida kökenlerinin flukonazole in vitro duyarlılığının makrodilüsyon ve kolorimetrik mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanması. Ege Üniversitesi Tıp fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Bornova, İzmir, 1998.
103. Birinci A. Kandida türlerinin tiplendirilmesinde ve antifungal duyarlılığın belirlenmesinde çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması. On Dokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Samsun, 1999.
104. Koç AN. Tıbbi bakımdan önemi olan candida türlerinin mikolojik özellikleri. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Eskişehir, Kongre Kitabı 2002: 37-50.

105. Çolak H. Hastane kaynaklı kan dolaşımı infeksiyonları. Klimik Derg 2000; 13: 11-15.

106. Sandven P, Bevanger L, Digranes A, Gausted P, Haukland HH, Steinbakk M. Constant low rate of fungemia in Norway, 1991 to 1996. J Clin Microbiol 1998; 36(12): 3455-3459.

107. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA. International survelliance 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(7): 1886-1889.

108. Canton E, Peman J, Carillo-Munoz A, Orero A, Ubedo P, Vıudes A, Gobernado M. Flukonazole susceptibilities of bloodstream Candida sp. Isolates as determined by National Committee for Clinical Laboratory standarts method M27-A and two other methods. J Clin Microbiol 1999; 37(7): 2197-2200.

109. Vural T, Çolak D, Çelebioğlu N, Felek R, Öngüt G, Er D, Şekercioğlu AE, Tuncer D, Saygan M, Gökay S. Kan kültürlerinden izole edilen Candida türleri ve antifungal duyarlılıkları. Ankem Derg 1998; 12(2): 147.

110. Yücesoy M, Yuluğ N. Kan kültürlerinden soyutlanan kandida türlerinin antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, İzmir, Kongre Kitabı 1999: 234.

111. Hong Nguyen M, Yu CY. Influence of incubation time inoculum size, and glucosa concentrations on spectrophotometric endpoint determinations for amphotericin B, fluconazole, and itraconazole. J Clin Microbiol 1999; 37(1): 141-145.

112. Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, Almeida LP, Matta DA, Colombo AL. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *candida* spp. bloodstream isolates from latin american hospitals. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98(3): 401-405.

113. Kurt Ö, Kurt H, Bayar B, Memikoğlu KO, Azap A, Tekelli E. Typing and antifungal susceptibility testing of Candida strains isolated from the blood cultures of candidemia patiens. Clinical Microbiology and infection 2002; 8: 559.

114. Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B, Morgan J, Planes AM, Almela M, Mensa J, Sanchez F, Ayats J, Gimenez M, Salvado M, Warnock DW, Pahissa A, Rodriguez-Tudela JL; Barcelona Candidemia Project Study Group. In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of Candida species to six

antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003. J Antimicrob Chemother 2005 ; 55(2):194-199.

115. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollis RJ, SENTRY Participants Group. 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.
116. Kocabay G, Aydın S, Tiryaki B, Vatansever S, Erk O, Akkaya V, Güler K. Candida *kefyr* ile oluşan pnömoni. İst Tıp Fak Derg 2005;68:26-28.
117. Krcmery V, Barnes AJ. Non-albicans Candida spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. J Hosp Infect 2002;50:243-260.
118. Nguyen MH, Peacock JE Jr, Morris AJ. The changing face of candidemia: emergence of non-Candida albicans species and antifungal resistance. Am J Med 1996;100:617-623.
119. İnan M, Çakmakçı M. Cerrahi yoğun bakım infeksiyonları. Hastane İnfeksiyonları Derg 1997;1: 91-96.
120. Kızırgil A, Çalaşyer İ, Erkmen N, Aral M, Kerküklü F, Aşçı Z. Fırat Tıp Merkezinde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, Kongre Kitabı 1999:251.
121. Durmaz G, Us T, Aydınlı A, Kiraz N, Akgün Y. Bactec 9120 otomatik kan kültür sistemi sonuçlarının 3 yıllık analizi. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, Kongre Kitabı 1999: 203.
122. Kalkancı A, Güzel Ö, Şenol E, Kuştimur S. In vitro activities of vorikonazole, amphoterisin B and flukonazole against Candida strains isolated from neutropenic patiens with haematologic malignancies. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), 2003, Glasgow, UK. Clinical Mikrobiology and Infection 2003;9(1):365.
123. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Variation in Susceptibility of Bloodstream Isolates of *Candida glabrata* to Fluconazole According to Patient Age and Geographic Location. J Clin Microbiol. 2003; 41(5): 2176–2179

124. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Caspofungin activity against clinical isolates of flukonazole-resitant candida. J Clin Microbiol 2003; 41(12): 5729-5731.

125. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Further standardization of broth microdilution methodology for in vitro susceptibility testing of caspofungin against candida species by use of an international collection of more than 3000 clinical isolates. J Clin Microbiol 2004; 42(7): 3117-3119.

126. Antunes AGV, Pasqualotto AC, Diaz MC, d'Azevedo PA, Severo LC. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: species distribution and antifungal susceptibility patterns. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2004; 46(5): 239-241.

127. Nawrot U, Nowicka J, Juszczak K, Gusin B. Susceptibility to antifungal agents of Candida species isolated from pediatric and adult patients with haematological diseases. Mycoses 2005; 48(6): 385-390.

128. Swinne D, Watelle M, Nolard N. In vitro activities of voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B against non *Candida albicans* yeast isolates. Rev Iberoam Micol 2005; 22: 24-28.

129. Rubio MC, de Ocariz IR, Gil J, Benito R, Rezusta A. Potential fungicidal effect of voriconazole against Candida spp. Int J Antimicrob Agents 2005; 25(3): 264-267.

130. Yang YL, Li SY, Cheng HH, Lo HJ, TSARY Hospitals. The trend of susceptibilities to amphotericin B and fluconazole of Candida species from 1999 to 2002 in Taiwan. BMC Infect Dis 2005; 5: 99.

131. Koç AN, Gökahmetoğlu S, Oğuzkaya M. Comparison of Etest with the broth microdilution method in susceptibility testing of yeast isolates against four antifungals. Mycoses 2000; 43(7-8): 293-297.

132. Mitchell M, Hudspeth M, Wright A. Flow cytometry susceptibility testing for the antifungal caspofungin. J Clin Microbiol 2005; 43(6): 2586-2589.