

TC
Atatürk Ünivesitesi Tıp Fakóltesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**İNVAZİV CANDİDA ENFEKSİYONU
SAPTANAN HASTALARDA RİSK
FAKTÖRLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ,
İZOLE EDİLEN CANDİDALARIN
VİRULANS FAKTÖRLERİNİN VE
ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

DR. BÜŞRA ARDIÇ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. HAKAN USLU

ERZURUM – 2020

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İLGİ: 21.02.2020 tarih ve 2000056731 sayılı yazınız.

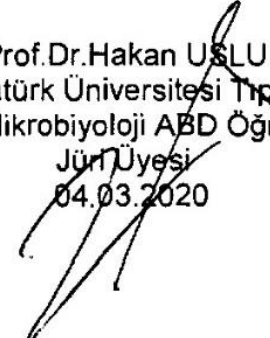
TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi Arş.Gör.Dr.Büşra ARDIÇ'ın "İnvaziv Candida Enfeksiyonu Saptanan Hastalarda Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi, İzole Edilen Candidaların Virulans Faktörlerinin ve Antifungal Duyarlılıklarının Araştırılması" konulu tezini incelemek üzere oluşturulan tez jürisine üye olarak seçildiğimiz ilgi yazınızla bildirilmesi üzerine jüri üyeleri, 04.03.2020 tarihinde toplanmış ve ilgili öğrenci tez savunmasına alınmıştır.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçen tezi jüri üyelerince oy birliği ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinize arz ederiz.


Prof.Dr.Selahattin ÇELEBİ
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Başkanı
Jüri Başkanı
04.03.2020


Prof.Dr.Hakan UŞLU
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Öğretim Üyesi
Jüri Üyesi
04.03.2020


Prof.Dr. Hüseyin GUDUCUOĞLU
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Öğretim Üyesi
Jüri Üyesi
04.03.2020

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....	iv
TABLOLAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
RESİMLER LİSTESİ	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.Tarihçe;	2
2.2. Sınıflandırma ve genel özellikler;	2
2.3. Epidemiyoloji;.....	3
2.4. Patogenez ve virulans faktörleri;.....	4
Virulans faktörleri;.....	4
2.5.Candida Enfeksiyonları ve Risk Faktörleri.....	9
2.5.1.Yüzeyel enfeksiyonlar.....	11
2.5.2. İnvaziv Enfeksiyonlar	15
2.6.Candida Enfeksiyonlarında Tanı:.....	19
2.6.1.Örnek alınması ve taşınması:	19
2.6.2.Direk mikroskopik inceleme:.....	20
2.6.3.Kültür:	20
2.6.4.Serolojik Testler:.....	24
2.6.5.Moleküler Testler:.....	25
2.7.Candida Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungal Ajanlar:	26
2.7.1. Polyenler:	26
2.7.2. Azoller:	27
2.7.3. Ekinokandinler:	28
2.7.4. Flusitozin:	29
2.8. Antifungal Duyarlılık Testleri:.....	29
2.8.1. Dilüsyon Temeline Dayalı Yöntemler:	29
2.8.2. Difüzyon Temeline Dayalı Yöntemler:.....	30
2.8.3. Flovritometri Temeline Dayalı Yöntemler:	30

3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Primer İzolasyon:	32
3.2. İdentifikasyon	33
3.2.1. Germ Tüp Testi:	33
3.2.2. Kromojenik Agar Besiyerine Ekim:.....	33
3.2.3. Mısır Unlu Besiyerindeki Morfolojik Özellikler:	34
3.2.4. BD Phoenix™ cihazı ile tanımlama:.....	35
3.3. Antifungal Duyarlılık Testleri:.....	36
3.4. Virulans Faktör Deneyleri:	37
3.4.1. Biyofilm Üretiminin İncelenmesi:	37
3.4.2. Fosfolipaz Aktivitesinin İncelenmesi:.....	38
3.4.3. Proteinaz aktivitesinin incelenmesi:.....	40
3.5. İstatistiksel İncelemeler:	42
4.BULGULAR.....	43
4.1.Hasta özellikleri:	43
4.2.Risk faktörlerinin değerlendirilmesi:	47
4.3.İzolatların değerlendirilmesi:	52
4.4.Virulans faktörlerinin değerlendirilmesi:.....	54
4.5.Antifungal duyarlılıkların değerlendirilmesi:	56
5.TARTIŞMA	60
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	80
7.KAYNAKLAR	82
EKLER.....	99

KISALTMALAR

AIDS: Acquired Immunodeficiency Syndrom

ALP: Alkalen Fosfataz

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

CDC: Centers of Disease Control

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

DM: Diyabetes Mellitus

DNA: Deoksiribonükleik asit

ELİSA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

EMB: Eozin Metilen Blue

EVDS: Ekstraventriküler Drenaj Sistemi

HIV: Human Immunodeficiency Virus

IV: İntravenöz

KDİKE: Kandidemi Dışı İnvaziv Kandida Enfeksiyonu

KOH: Potasyum Hidroksit

MV: Mekanik Ventilasyon

MİK (MIC): Minimal İnhibitör Konsantrasyon

QS: Quorum Sensing

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RIA: Radio İmmun Assay

RNA: Ribonükleik asit

SAP: Salgısal Asit Proteinaz

SDA: Sabouraud Dekstroz Agar

SDB: Sabouraud Dekstroz Broth

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

SVK: Santral Venöz Kateter

VP: Ventriküloperitoneal

YEPD: Yeast Pepton Dekstroz

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Örneklerin gönderildiği kliniklerin dağılımı.....	44
Tablo 2. Hastaların yatış tanılarına göre dağılımları.....	44
Tablo 3. Hastaların kandidemi ve kandidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu tanılarına göre prognoz dağılımları.....	46
Tablo 4. Hastaların türlere göre prognoz dağılımı.....	46
Tablo 5. Risk faktörlerinin türlere ve tanılarına göre dağılımı.....	47
Tablo 6. Hastalarda izole edilen türe göre geçirilmiş cerrahi öyküsü dağılımı.....	49
Tablo 7. Bakteriyemili hastalarda etkenlerin dağılımı.....	49
Tablo 8. Hastaların tanılarına göre geniş spektrumlu antibiyotik kullanım oranları.....	50
Tablo 9. Hastaların tanılarına göre mekanik ventilasyon oranları.....	51
Tablo 10. Hastaların tanılarına göre santral venöz kateter kullanım oranları.....	51
Tablo 11. Herhangi bir vücut bölgesinde candida üremesi olan hastaların dağılımı.....	52
Tablo 12. İnvaziv örnek alınan yerlerin dağılımı.....	53
Tablo 13. İzole edilen candidaların tür düzeyinde dağılımı.....	53
Tablo 14. Virulans faktörlerinin (Proteinaz, Fosfolipaz ve Biyofilm) izole edilen türlere göre dağılımı.....	54
Tablo 15. İzole edilen türe göre proteinaz aktivitesi dağılımı.....	55
Tablo 16. İzole edilen türe göre fosfolipaz aktivitesi dağılımı.....	56
Tablo 17. Türler göre antifungallerin ortalama MİK değerleri.....	57
Tablo 18. Suşların flukonazol duyarlılıklarına göre fosfolipaz aktivitelerinin dağılımı.....	59
Tablo 19. Ülkemizden yapılan çalışmalarda saptanan her 1000 başvuru için kandidemi insidans hızı oranları.....	61
Tablo 20. Ülkemizde yapılan çalışmalarda non-albicans türlerden en sık görülen türler.....	64

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Hastaların kandidemi ve KDİKE tanılarına göre dağılımları.....	43
Şekil 2. İzole edilen candidaların tür düzeyinde dağılımı.....	54

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. <i>C.albicans</i> 'ın oluşturduğu germ tüpün mikroskopik görüntüsü (400x).....	33
Resim 2. Kromojenik agarda <i>C.albicans</i> ve <i>C.parapsilosis</i> 'in görünümü.....	34
Resim 3. Kromojenik agarda <i>C.glabrata</i> ve <i>C.tropicalis</i> 'in görünümü.....	34
Resim 4. <i>C.parapsilosis</i> 'in mısır unlu agardaki çalı görüntüsü(100x).....	35
Resim 5. <i>C.albicans</i> 'ın mısır unlu agar görüntüsü(400x).....	35
Resim 6. Sensititre YeastOne plak görüntüsü.....	36
Resim 7. Biyofilm aktivitesi pozitif ve negatif suşlar.....	38
Resim 8. Fosfolipaz aktivitesi pozitif ve negatif suşlar.....	40
Resim 9. Proteinaz aktivitesi pozitif ve negatif suşlar.....	42

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmam sürecinde bilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Hakan USLU'ya,

Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ'ye ve hocalarımız Prof. Dr. Osman AKTAŞ, Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK, Prof. Dr. Halil YAZGI ve Prof. Dr. M. Hamidullah Uyanık'a,

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Dr. Sümeyra Ebru UMUDUM, Dr. Bahar ÇİMEN, Dr. Büşra AYYILDIZ ve Dr. Şeyma TANYILDIZI'na,

İstatistik aşamasında desteğini esirgemeyen Halk Sağlığı Anabilim Dalından Dr. Öğretim Üyesi Sinan Yılmaz'a,

Sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim başta biricik ablam ve annem olmak üzere aileme tüm kalbimle teşekkür ederim.

ÖZET

İnvaziv Candida Enfeksiyonu Saptanan Hastalarda Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi, İzole Edilen Candidaların Virulans Faktörlerinin ve Antifungal Duyarlılıklarının Araştırılması

Candidalar insanlarda patojen olan fungal etkenler arasında en sık görülen organizmalardır ve önemi giderek artmaktadır. Enfeksiyon gelişiminde hastanın risk faktörleri ve virulans faktörleri önemlidir. Bizim çalışmamızda amacımız; laboratuvarımıza gönderilen invaziv hasta örneklerinden izole edilen candida suşlarının virulans faktörleri ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması ve hastalara ait risk faktörlerinin belirlenmesidir.

Çalışmamıza invaziv örneklerden izole edilen 70 candida suşu dahil edildi. Suşlara ait virulans faktörlerinden proteinaz, fosfolipaz ve biyofilm aktivitesi fenotipik yöntemlerle test edildi. Proteinaz aktivitesi için sığır serum albumin içeren agar; fosfolipaz aktivitesi için yumurta sarılı agar ve biyofilm aktivitesi için modifiye tüp aderans yöntemi kullanıldı. Antifungal duyarlılık için Sensititre YeastOne(Thermo Scientific™, ABD) kullanıldı. Hastalara ait risk faktörleri hastane otomasyon sistemi üzerinden taranarak edinildi.

Çalışmaya klinik örnekleri dahil edilen hastaların %15,7'sinde Diyabetes mellitus, %15,7'sinde renal yetmezlik, %32,9'unda malignite, %20'sinde immunsupresif tedavi öyküsü bulunmaktaydı. Hastaların %34,3'ünde geçirilmiş cerrahi, %18,6'sında bakteriyemi, %62,9'unda geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı mevcuttu. Geçirilmiş cerrahi non-albicans'lı hastalarda *C.albicans*'lılara göre anlamlı yüksekti. Hastaların yatışları süresinde %48,6'sına mekanik ventilasyon(MV), %14,3'üne total parenteral nütrisyon, %40'ına santral venöz kateter(SVK), %61,4'üne üriner kateter uygulanmıştı. Kandidemili hastalarda kandidemi dışı enfeksiyonu olanlara göre SVK, MV kullanımı ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı anlamlı yüksekti. .

İzole edilen suşların %80'i kandan, %20'si kan dışı örnektendi ve suşların %35,7'si *C.albicans*, %64,3'ü non-albicanstı. 70 candida suşunun %80'i proteinaz, %32,8'i fosfolipaz ve %21,4'ü biyofilm pozitif. *C.albicans* suşlarının fosfolipaz

aktivitesi non-albicans türler'e göre anlamlı olarak yüksekti ve *C.albicans* türlerinin hepsi proteinaz pozitifti.

Suşıların MİK dağılımları flukonazol için 0,008-32 µg/mL, vorikonazol için 0,008-1 µg/mL, caspofungin için 0,008-0,5 µg/mL, micafungin için 0,008-2 µg/mL ve anidulafungin için 0,015-2 µg/mL'ydi. Tüm antifungallerin ortalama MİK değeri non-albicans türlerde *C.albicans*'a göre anlamlı yüksekti. Sadece sekiz *C.parapsilosis* flukonazole dirençliydi. Fosfolipaz aktivitesi negatif suşların MİK değeri tüm beş antifungal için fosfolipaz pozitif suşlardan anlamlı yüksekti. Antifungal direnç giderek artan bir sorun olmaya başlamıştır. Bu nedenle virulans faktörleri ve antifungal direnç arasındaki ilişkiye yönelik genotipik ve fenotipik çalışmaların artırılıp antifungal etkili yeni ajanlar üzerinde çalışılması faydalı olacaktır.

Anahtar sözcükler: Candida, risk faktörleri, virulans faktörleri, antifungal duyarlılık

ABSTRACT

Evaluation of Risk Factors in Patients with Invasive Candida Infection, Investigation of Virulence Factors and Antifungal Sensitivity of Isolated Candida

Candidas are the most common organisms among fungal agents that are pathogenic in humans and their importance is gradually increasing. The risk factors and virulence factors of the patient are important in the development of the infection. The aim of our study; to investigate virulence factors and antifungal susceptibilities of candida strains isolated from invasive patient samples sent to our laboratory and to determine risk factors of patients.

In our study, 70 candida strains isolated from invasive samples were included. Proteinase, phospholipase and biofilm activity of strains were tested with phenotypic methods. Agar containing bovine serum albumin for proteinase activity; egg yolk agar was used for phospholipase activity and modified tube adherence method was used for biofilm activity. Sensititre YeastOne(Thermo Scientific™, USA) was used for antifungal susceptibility. Risk factors of the patients were obtained by scanning through the hospital automation system.

The patients included in the study had a history of DM in 15.7%, renal failure in 15.7%, malignancy in 32.9%, and immunosuppressive therapy in 20%. There was surgery 34.3% of patients, bacteremia in 18.6%, and broad-spectrum antibiotics in 62.9% in their histories. The previous surgery was significantly higher in patients with non-albicans than in *C.albicans* patients. During the hospitalization period, mechanical ventilation (MV) was applied to 48.6%, total parenteral nutrition to 14.3%, central venous catheter (CVC) to 40%, urinary catheter to 61.4%. In patients with candidemia, CVC, MV use and broad-spectrum antibiotic use were significantly higher than those with non-candidemia infection. .

80% of the isolated strains were from blood, 20% were non-blood samples, and 35.7% of strains were *C.albicans*, 64.3% were non-albicans. Of 70 candida strains, 80% were proteinase, 32.8% were phospholipase and 21.4% were biofilm positive. The phospholipase activity of *C.albicans* strains was significantly higher than non-albicans strains and *C.albicans* strains were all proteinase positive.

MIC range of strains were 0.008-32 µg/mL for fluconazole, 0.008-1 µg/mL for voriconazole, 0.008-0.5 µg/mL for caspofungin, 0.008-2 µg/mL for micafungin, and 0.015-2 µg/mL for anidulafungin. The mean MIC values of all antifungals were significantly higher in non-albicans than *C.albicans*. Only eight *C.parapsilosis* were resistant to fluconazole. MIC values of phospholipase activity negative strains were significantly higher than phospholipase positive strains for all five antifungals. Antifungal resistance has become an increasing problem. For this reason, it will be beneficial to increase the genotypic and phenotypic studies on the relationship between virulence factors and antifungal resistance and to study new antifungal effective agents.

Keywords: Candida, risk factors, virulence factors, antifungal susceptibility

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Candidalar insanlarda en sık enfeksiyona yol açan fungal patojenlerdir. Candidalar doğada oldukça yaygın bulunurlar. Aynı zamanda insan vücudunda deri, mukoza ve gastrointestinal sistemde normal flora üyesi olarak da bulunmaktadır. (1). Candidalar cilt, boğaz, vajina gibi birçok farklı anatomik bölgeden izole edilebilir. Bu nedenle candida enfeksiyonları genellikle endojen kaynaklıdır. Candidalar çeşitli doku ve organlarda sınırlı lokal enfeksiyonlara yol açabileceği gibi ciddi invaziv ve sistemik enfeksiyonlara da yol açabilirler (2).

Hastane kaynaklı enfeksiyonlar her geçen gün önemini arttıran bir sorundur. Candida enfeksiyonları da nazokomiyal enfeksiyonların önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Özellikle son yıllarda çeşitli nedenlerle uygulanan immunsupresif tedavilerin artması, yoğun bakım ünitelerinde uzun süre yatan ve invaziv girişim uygulanan hastaların artması, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının artması gibi nedenler nazokomiyal candida enfeksiyonlarına zemin hazırlamaktadır. Bu gibi kolaylaştırıcı nedenlere ek olarak candidaların çeşitli virulans faktörleri de enfeksiyonların gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Bu virulans faktörlerinden bazıları; dimorfizm, biyofilm oluşumu, fosfolipaz, esteraz, proteinaz gibi enzimler, adezinler olarak sıralanabilir (3,4,5).

Candida enfeksiyonlarının tanısı ve tedavisi güçtür ve mortalite ve morbiditesi yüksektir (3). Bu nedenle hastanede yatan hastaların invaziv candida enfeksiyonu gelişimi açısından takip edilmesi, risk faktörlerinin değerlendirilmesi, uygun örneklerin alınması oldukça önemlidir. Bunlar sayesinde erken tanı konması ve uygun tedavilerin yapılması hasta sağkalımı açısından önem arz etmektedir.

Çalışmamızda laboratuvarımıza çeşitli kliniklerden gelen invaziv hasta örneklerinden izole edilen candida suşlarının tiplendirmesinin yapılması, antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi, virulans faktörlerinden fosfolipaz ve proteinaz enzim varlıklarının ve biyofilm oluşturma yeteneklerinin saptanması, candida suşlarının izole edildiği hastaların takip edildiği kliniklerin sınıflandırılması ve hastalarda invaziv candida enfeksiyonu için risk faktörlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe;

Mantarlar ve mantarların sebep olduğu hastalıkları inceleyen bilim dalının ismi olan mikoloji sözcüğü, Yunanca şapkalı mantar anlamına gelen “mykes” kelimesinden üretilmiştir. Mantarlar çok eski yıllardan beri varlığı bilinen organizmalardır. Pamukçuk olduğu düşünülen oral lezyonlar Galen ve Hipokrat dönemi olan 2. yüzyıldan beri tanımlanmaktadır. Galen bu lezyonları “ad aphthas albus” olarak tanımlamıştır (6).

1839 yılında Langenbeck bir hastanın ağızdaki lezyonlarında mantar varlığının göstermiştir. 1841 de Berg sağlıklı bebeklerin ağızlarında aftöz membran materyaline sebep olan pamukçuğun sebebinin mantar olduğunu yayınlamıştır. Robin 1843 te bu mantara “Oidium albicans” adını vermiştir. *C.albicans* için 100 den fazla isim bulunmuş. Ancak iki tanesi kalıcı olmuştur. 1890 da ilk Zopf tarafından kullanılan “Monilia albicans” ve 1923 te Berkhout tarafından kullanılan “*Candida albicans*” (4).

1861 tarihinde Zenker ilk derin yerleşimli candida olgusunu tanımlamış, yine ilk candida etkenli endokardit vakası 1940’da tanımlanmıştır. 1940’lardan sonra antibiyotik kullanımının yaygınlaşması nedeniyle candida enfeksiyonları da daha çok tanınmaya başlanmış (4).

2.2. Sınıflandırma ve genel özellikler;

Tıbbi açıdan önemli Candida cinsi taksonomik olarak;

Şube; Ascomycota şubesi

Alt Şube; Saccharomycotina alt şubesi

Sınıf; Saccharomycetes sınıfı

Takım; Saccharomycetales takımı

Aile; Saccharomycetaceae ailesi

Cins; Candida cinsi

içinde yer alır. Bu sınıflandırma gen analizleri sonucu tanımlanmıştır (2).

Candidalar boyutları 4-6 mikrometre olan, ince bir hücre duvarı bulunan, oval şekilli tek hücreli organizmalardır. Tomurcuklanma veya füzyon (ortadan ikiye bölünme) ile çoğalırlar. Kanlı agar, EMB agar gibi çeşitli agar yüzeylerinde ve kan kültürü şişelerinde rahatlıkla ürerler. Üretilmeleri için özel bir mantar besiyerine gereksinim duymazlar. Candidaların maya formları, hif ve psödohifleri klinik örneklerin mikroskopik incelemesinde saptanabilirler. Bu organizmalar çeşitli flöresan ve histolojik boyalarla boyanabilirler. Gram boyasıyla boyandıklarında gram pozitif olarak boyanırlar (4,7).

Candidaların hücre duvarları bakterilerden farklı yapıdadır. Hücre duvarı içeriğinde polisakkaritler, mannan, glukan ve kitin bulunur. Glukan ve kitin komponentleri candida hücre duvarı yapısının büyük bir kısmını oluşturmaktadır (6). Hücre duvarının altında ana yapı elemanı ergosterol olan bir hücre membranı bulunur. Bu ergosterol bazı antifungal ilaçlar için hedef yapıdır. Candidaların sitoplazmasında diğer ökaryotik canlılarda olduğu gibi çeşitli organeller bulunur. Aynı zamanda candidaların sitoplazmasındaki en büyük organeller vakuollerdir. Bu vakuoller hücre içi proteinlerin taşınmasında, iyon konsantrasyonu ve osmotik basıncın düzenlenmesinde görev alırlar (2).

Candida cinsi içinde en az 200 farklı türü bulunmaktadır. Ancak bunların az bir kısmı insanlarda enfeksiyona neden olabilir. Bunlardan en sık izole edilenler; *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* ve *Candida tropicalis* 'tir. Daha az sıklıkla enfeksiyon etkeni olarak izole edilen türler ise; *Candida kefyr*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae*, *Candida stellatoidea* ve *Candida dubliniensis* 'tir (7). *Candida albicans* bu türler içerisinde lokal ve sistemik enfeksiyonlara en sık yol açan ve klinik örneklerden en sık izole edilen türdür. Ancak non-albicans olarak da anılan diğer türlerin sıklığı da giderek artmaktadır (8).

2.3. Epidemiyoloji;

Candidalar doğada toprakta, suda, bitkilerde yaygın olarak bulunan organizmalardır. Bu maya mantarları aynı zamanda insan vücudunda çeşitli doku ve organlarda kommensal olarak bulunurlar. Bu nedenle insanlardaki candida enfeksiyonları, olguların çoğunluğunda endojen kaynaklı olarak gelişir. Ancak özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda, sağlık çalışanlarının elleri, kontamine

infüzyon sıvıları, tıbbi cihazlar gibi ekzojen kaynaklar da olabilir. Hastane enfeksiyonları gelişiminde en önemli mekanizmalardan biri hastadan hastaya taşınma yolu ile olandır. Bu taşınmada bahsi geçen ekzojen kaynaklar önemli rol oynar (4,7,9). Yapılan bir çok çalışmada yoğun bakım ünitelerindeki *Candida albicans* etkenli salgınlarda sağlık çalışanlarının ellerinin kaynak olarak saptandığı raporlanmıştır (8,10).

Hastane kaynaklı mantar enfeksiyonlarının en sık etkeni *Candida* türleridir. ABD de candida türleri kan dolaşımı enfeksiyonlarının 4. en sık etkenleridir (11,12) . Son yıllarda kandidiyazis olgularında saptanan türlerde değişiklik gözlenmeye başlanmıştır. *Candida* enfeksiyonlarından en sık izole edilen tür *Candida albicans*’ tır. Ancak son yıllarda *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* gibi albicans dışı candidalarda *C.albicans*’a göre bir artış mevcuttur. Yapılan birçok çalışmada invaziv candida enfeksiyonlarının yarıdan fazlasında etken non-albicans candida türleridir (12,13,14). Bu artışın sebebinin non-albicans türlerin antifungallere özellikle azollere karşı daha sıklıkla direnç geliştirmesi olduğu düşünülmektedir (13).

2.4. Patogenez ve virulans faktörleri;

Patojenite bir mikroorganizmanın hastalık yapma yeteneğidir. Patojen mikroorganizmaların hastalık yapma gücü ise virulans olarak tanımlanır. İnsan vücudunda bir enfeksiyonun gelişmesindeki ilk aşama patojen mikroorganizmanın vücuda girmesidir. Ancak bu tek başına yeterli değildir. Patojen bir mantarın insanda enfeksiyon oluşturabilmesi için konağa ait bir takım kolaylaştırıcı etmenlerin gerekliliğinin yanısıra mantarın kendisine ait virulans faktörleri de enfeksiyon gelişiminde oldukça önemlidir (15).

Virulans faktörleri;

1.Adezyon (Yapışma):

Yapışma, tutunma mantar hücresi ile konak hücre ilişkisinin ilk aşamasıdır. Candidaların dokulara yerleşmesi ve yayılması için önce adezyon yeteneği ile hücreye tutunması gerekmektedir. *Candida albicans* dokulara tutunma yeteneği en fazla olan türdür. Bu konak hücreye tutunma aşamasında, konağa ait çeşitli faktörlerin yanısıra,

maya hücresinin yüzey hidrofobisitesinin, adezinlerin, çeşitli reseptörlerin ve proteinlerin de önemli bir rolü bulunmaktadır (7,15, 16).

Mantarların konak hücre yüzeyine adezyonunda spesifik ve non spesifik mekanizmalar rol oynar. Hidrofobik ve iyonik mekanizmalar non spesifiktir. Ancak tutunmada önemli rol oynayan ligand reseptör etkileşimine dayalı spesifik mekanizmalar da bulunmaktadır. Bu olayda çeşitli adezinler, proteinler ve bunlara özgül reseptörler rol oynar (17). Hücre yüzeyinin hidrofobik özelliği: Adezyonun non spesifik mekanizmalarından biridir. Mantar yüzeyleri de konak yüzeyleri gibi negatif yüklüdür. Bu iki negatif yüklü yüzeyin birbirine tutunabilmesi hidrofobik maddeler sayesinde olur. Örneğin fenilalanin, metionin gibi nonpolar maddeler ve hidrokarbonların adezyonu desteklediği bilinmektedir (7,16). Adezyon olayında konağın epitel hücrelerine tutunmasında rol alan çeşitli yüzey adezinleri bulunmaktadır. Bunlar; iC3b reseptörü, C3d reseptörü, fibronektin reseptörü, östrojen reseptörü, laminin reseptörü gibi reseptör molekülleri ve yapışkan mannoprotein, salgısal asit proteinaz, faktör 6, ALS(agglutinin like sequence) proteinleri, HWP 1 P ve INT-1 proteinleri ve fibrinojen bağlayan proteinler gibi moleküllerdir (1).

2.Dimorfizm:

Bu tanım mayalarda özellikle *C.albicans* türlerinde gerçekleşen, tek hücreli maya formundan psödohif ve bazen gerçek hif morfolojisine dönüşüm olarak bilinen önemli bir virulans faktörüdür. Bu dönüşümün ilk aşaması germ tüp oluşumudur. Hifal forma geçişi kolaylaştıran faktörler; N-asetil glukozamin, serum, biyotin, prolin varlığı, nötral pH, ortam ısısı (37°C), CO₂ dir (1). Bir çok genin bu dönüşümde görevli olduğu ve süreç içerisinde farklı evrelerde eksprese oldukları bilinmektedir. Bu genler; PHR1, ECE1, HYR1, RBF1, CHS2, CHS3 gibi genlerdir (16). Enfeksiyonun ilk basamağında *C.albicans*'ın maya formları yüzey epitel hücrelerinin içine girer. Dokuya yayılım aşamasında maya formu daha işlevseldir. Daha sonraki aşamalarda fagositoz yapan immun sistem hücrelerinin etkisinden kaçmak için hifal forma transforme olur. Hifal formdaki mantarlar fagositer hücreleri mekanik olarak lizise uğratarak kaçır ve diğer dokulara yayılır. Dokudaki ileri hasar ve invazyon aşamasında da hifal formlar daha etkilidir (15,16,18).

3.Fenotipik Dönüşüm:

Candidalar özellikle *C.albicans* konak hücredeki koşullara uyum sağlayabilmek için fenotipik değişim gösterirler. *C.albicans* türlerine ait koloniler düzgün(smooth) koloni tipinden halka tipi, yıldız şekilli, buruşuk, tüylü gibi farklı koloni morfolojilerine değişim gösterebilmektedirler. Bu değişim $10^{-2} - 10^{-3}$ sıklıkta ve enfeksiyon sırasında daha etkili ve daha virulan olma amacıyla olmaktadır (1,16). Kolonilerdeki beyaz-opak değişim(w-o) (white-opaque) de 10^{-4} sıklıkta gerçekleşir. Bu koloni morfolojilerindeki mayaların mikroskopik görüntüleri de farklıdır. Beyaz kolonilerdeki hücreler oval yuvarlak şekilli iken, opak koloni morfolojisindeki maya hücreleri uzamış fasülye şekilli görünmektedir. Opak hücrelerde SAP1 ve SAP3 daha belirgin eksprese olurken, beyaz hücrelerde SAP2, WHI1, EFG1 genlerinin daha baskın eksprese olduğu saptanmıştır. Opak hücrelerde beyaz hücrelere göre kutanöz bir modelde cilt kolonizasyonu kapasitesinin daha yüksek olduğu ve eşeyli üremenin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Opak hücrelerin daha az virulan oldukları sistemik hayvan modellerinde gösterilmiştir (1,19).

4.Biyofilm:

Candidaların insan normal mikrobiyatasında sıklıkla bulunan organizmalar olması candidaların insan hücre yüzeylerine ve dokulara yerleştirilen biyomateryallere tutunması ve kolonize olmasını kolaylaştıran bir durumdur. Hastaların tedavi süreçlerinde sıklıkla kullanılan stent, şant, kateter, protezler gibi biyomateryaller candidaların bu materyaller üzerinde kolonize olmasına ve biyofilm oluşturmaya ortam hazırlamaktadır. Biyofilm canlı veya cansız bir yüzeye bağlanmış halde bulunan ve dış polimerik bir matriksle çevrili olan mikrobiyal topluluk olarak tanımlanmaktadır (20). Candidaların herhangi bir yüzeye kolonize olabilmesi için öncelikle tutunması gerekmektedir. Bu tutunma spesifik ve non spesifik faktörlerin birlikte etkisiyle gerçekleşir. Biofilm oluşumu non spesifik faktörlerden özellikle hücre yüzey hidrofobisitesi ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda hücre yüzeyine tutunmada görevli spesifik faktörlerden ALS ve EAP1 genleri tarafından kodlanan hücre yüzey proteinlerinin önemli rol oynadığı saptanmıştır. ALS genlerinin ekspresyonu biofilm oluşturan hücrelerde planktonik hücrelere göre daha fazladır (20,21,22). Elektron mikroskopisi aracılı yapılan çalışmalarda *C.albicans* biyofilmi, ilk 3-6 saat içerisinde tutunma ve sonrasında germ tüp oluşumu aşamalarını takiben

24-48 saatlik inkübasyon sonrası, içerisinde mayalar, yalancı hif ve gerçek hiflerin bulunduğu ve kalınlığının 25-450 µm arası olduğu matür bir yapı şeklinde oluşur. Biyofilm yapımı sırasında hifal formdaki mantar yapılarının temel elemanlar olduğu ve bu süreçte de Efg1 ve Cph1 genlerinin önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Bu genlerde mutasyon olduğunda sadece maya hücrelerini içeren tek katmanlı ince bir biyofilm oluşturdıkları saptanmıştır (16,20,23).

Hücre-hücre sinyal iletişim mekanizması (quorum sensing, QS) diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi candidalarda da son yıllarda üzerine çokça çalışma yapılan bir konu olup mikrobiyal biofilm oluşumunda da temel rol oynadığı gösterilmiştir. Quorum sensing fazladan gereksiz hücre çoğalmasını ve hücrelerin besinler için yarışmasını kontrol altında tutarak sağlam bir biyofilm oluşumunda avantaj sağlar (23,24). Yapılan çalışmalarda farnesolün quorum sensing molekülü gibi davranarak *C.albicans*'ta filamentöz yapı oluşumunu inhibe ettiği ve yüksek dozlarında ise biofilm formasyonunu da inhibe ettiği gösterilmiştir. Tirosool ise diğer bir regülatör molekül olup germ tüp ve filamentöz yapı oluşumunu indüklemektedir. Bu iki molekülü kodlayan genler biyofilm yapımında otoregülasyon yapmaktadır (1,20,25).

5.Fosfolipaz:

Fosfolipaz enzimi hücre membranlarındaki fosfolipitleri lizise uğratan ve bir çok farklı organizmada bulunan enzimlerdir. Bu ekstrasellüler fosfolipazların *C.albicans* tarafından da sekrete edildiği ilk kez 1960'larda Costa ve Werner tarafından yumurta sarısı ve lesitin içeren besiyerleri kullanılarak saptanmıştır. Daha sonra bir çok araştırmacı tarafından farklı yöntemlerle çalışmalar yapılmıştır (26). Candidaların konak dokuya invazyonu blastosporlarının konak hücre membranına temas etmesiye başlar. Bu temas sonrası blastosporlardan invazyon için gerekli olan hifal yapılar gelişmeye başlar. Bu hifal yapıların başlangıç noktasında fosfolipaz aktivitesi oldukça yoğundur. Bu bilgiler ışığında araştırmacılar fosfolipaz enziminin *C.albicans*'ın dokulara invazyonunda ve patogenezinde önemli bir rolü olduğunu saptamışlardır (26,27,28,29).

Yapılan ilk çalışmalarda yalnızca *C.albicans*'ın fosfolipaz aktivitesi olduğu düşünülürken, 1998'de Clancy ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *C.parapsilosis*,

C.krusei, *C.lusitaniae*, *C.tropicalis* ve *C.glabrata* gibi non-albicans türlerin de fosfolipaz aktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir (26).

Candidal fosfolipazların A, B, C ve D olmak üzere 4 tipi bulunmaktadır. Fosfolipaz B'nin virulansta en önemli role sahip olduğu düşünülmektedir. Fosfolipaz B enziminin aynı zamanda hidrolaz ve lizofosfolipaz-transaçilaz aktiviteleri de bulunmaktadır (17,19,28,30). *C.albicans*'ta fosfolipaz B enziminin caPLB1 ve caPLB2 geni ile, fosfolipaz C enziminin CAPLC1 geni ile ve fosfolipaz D enziminin de caPLD geni ile kodlandığı belirlenmiştir (17,26).

Candidalarda fosfolipaz aktivitesinin değerlendirilmesi için Price tarafından 1982 yılında tanımlanan ve 1984'te Samaranayake tarafından modifiye edilen yumurta sarılı besiyeri kullanılmaktadır. Yumurta sarısı içeriğinde yüksek oranda fosfolipid özellikle de fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin bulundurduğu için SDA besiyeri içerisine fosfolipaz aktivitesinin ölçülmesi için eklenmektedir. Bu besiyerinde maya kolonileri ürettiğinde fosfolipaz pozitif olan suşlarda koloni etrafında bir presipitasyon zonu oluşmaktadır. Bu presipitasyon zonunun, yumurta sarısı içindeki fosfolipidlerin fosfolipaz enzimi ile parçalanıp yapılarındaki yağ asitlerinin serbest kalmasına ve bu yağ asitlerinin de besiyeri içerisindeki kalsiyum(Ca) ile bir kompleks oluşturmaya bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir. Bu zona ve koloni çapına bağlı bir Pz değeri elde edilir. Buna göre suşların fosfolipaz aktivitesi derecelendirilir (17,26,30,31).

6.Proteinaz:

Proteinaz enzimi konak insanda bulunan albumin, hemoglobin, keratin, kollajen, laminin gibi bir çok proteini lizise uğratan enzimdir. Bu enzim asit ortamda işlev gördüğü için "asit proteinaz" ve yapısında bol sayıda aspartik asit bulunduğundan da "aspartil proteinaz" olarak adlandırılmaktadır (16,19,28). Bu ekstrasellüler enzim ilk olarak Staib tarafından 1965 yılında tanımlanmış ve yapılan diğer çalışmalarla bu enzimin *C.albicans* ve diğer bazı non-albicans türler tarafından da salgılandığı saptanmıştır (28,32). Sonrasında yapılan Macdonald ve Odds ve Kwon-Chung gibi araştırmacıların yaptığı çeşitli çalışmalar ile proteinaz enzimi ile Candidaların virulansı arasındaki ilişki ortaya konmuştur (33,34).

Proteinaz enzimi başlangıçta tek bir yapısal özellikte olduğu düşünülürken yapılan çalışmalarla enzimin moleküler yapısı incelendiğinde, bu enzimin farklı

moleküler ağırlıkta olan, farklı pH'larda daha iyi aktivite gösteren ve birbirleriyle çapraz reaksiyon verebilen izoenzimlerinin olduğu saptanmış ve bu izoenzimlerin SAP1-10 arası genler ile kodlandığı bulunmuştur. İn vitro ortamda en fazla salgılanan SAP2 enzimidir (28,35,36).

SAP1,2 ve 3 sadece maya hücrelerinde bulunurlar ve düşük pH'da daha aktif çalışırlar ve SAP1 ve 2 özellikle erken invazyonda rol alırlar. SAP4,5 ve 6 ise hif yapısındaki formlar tarafından salınırlar ve pH 5-7 civarındaki ortamlarda daha iyi aktivite gösterirler. SAP6 hifal büyümede rol almaktadır. SAP8'in ise özellikle penetrasyondan sorumlu olduğu saptanmıştır. SAP 1-8 arası enzimler extrasellüler ortama salınan izoenzimlerken SAP9 ve 10 mantar hücre yüzeyine GPI bölgeleri ile bağlı bulunan izoenzimlerdir ve hem maya hem hifal formda bulunurlar. SAP2,4,5 ve 6 hem oral kandidiyazisli hastalarda hem de asemptomatik taşıyıcılarda saptanmıştır. Özellikle SAP4,5 ve 6 nötral pH'da çalıştığı için tükürük ortamında aktif olup oral kandidiyaziste önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (16,19,35,37).

Pepstatinin bir asit proteinaz inhibitörü olduğu ve bu madde varlığında candidaların invazyon ve virulans yeteneklerinin azaldığı saptanmıştır. Pepstatin en belirgin SAP2'yi inhibe etmektedir (38,39). Maya suşlarının proteinaz aktiviteleri 1965 yılında Staib tarafından içerisinde protein kaynağı olarak sığır serum albumini bulunan agar besiyerindeki üremeleri gözlemlenerek saptanmıştır. Bu agar metodu halen proteinaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (32,40).

2.5.Candida Enfeksiyonları ve Risk Faktörleri

Candida enfeksiyonları hastanede yatan hastalarda özellikle de yoğun bakım ünitelerinde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Yoğun bakım hastalarında candida enfeksiyonlarının sıklığı %31 olarak bildirilmektedir. Bu oran Türkiyede ise %5-12 arasındadır (41,42). CDC'de yer alan bilgilere göre candidalar hastane kaynaklı patojenler arasında 5. ve nazokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonu etkenleri arasında ise 4.sırada görülmektedir (43).

Candida enfeksiyonlarının oluşumunda etken mayanın virulans faktörleri ve konağa ait faktörler birlikte rol oynamaktadırlar. Yapılan çeşitli çalışmalarda özellikle immunsupresif hastalarda ve yoğun bakım hastalarında candida enfeksiyonlarının gelişiminin öngörülmesi ve erken dönemde antifungal tedavi başlanması amacıyla

farklı skorlama sistemleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Bunlardan en bilinenleri candida kolonizasyon indeksi ve candida skorudur (43,44).

Pittet ve arkadaşları 1994 yılında, daha önce yapılan çalışmalarda üzerinde durulan, candida enfeksiyonlarının gelişimi için ilk aşamanın hastanın kolonize olması ve kolonizasyonun candida enfeksiyonu için bir risk faktörü olduğu bilgilerinden yola çıkarak yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardaki candida kolonizasyonunun derecesini saptamak için candida kolonizasyon indeksini geliştirmişlerdir. Bu indekste candida kolonizasyonu saptanan vücut bölge sayısının, taranan vücut bölge sayısına oranı kolonizasyon indeksini vermektedir. Bu çalışmaya göre bir hastada candida kolonizasyonu yok ise invaziv candida enfeksiyonu gelişme riski oldukça düşüktür (44,45).

2006 yılında İspanyol bir grup araştırmacı invaziv candida enfeksiyonlarının gelişimini öngören dört belirleyici tanımlamış ve bu belirleyicilere göre candida skoru olarak adlandırdıkları bir skorlama sistemi geliştirmişlerdir. Bu skordaki belirleyiciler; total parenteral nütrisyon, cerrahi, multifokal kolonizasyon ve ciddi sepsis olarak tanımlanmıştır. Bu skoru 2,5'in üstünde olan hastaların erken antifungal tedaviden fayda görebilecek olan hastalar oldukları belirtilmiştir (46,47). Aynı grup araştırmacı 2009 da yaptıkları prospektif bir çalışmada ise yüksek candida skoru ile invaziv candida enfeksiyonu gelişimi oranı arasında lineer bir ilişki olduğunu saptamışlardır (47,48).

Bunlar gibi skorlama sistemlerinin dışında, yapılan kapsamlı çalışmalarda candida enfeksiyonu oluşumu için konağa ait çeşitli risk faktörleri saptanmıştır. Bunlar;

- Diabetes Mellitus
- Nötropeni
- Renal yetmezlik
- Hemodiyaliz
- Geçirilmiş cerrahi (özellikle abdominal cerrahi)
- İmmüsupresif tedavi kullanımı
- Malignite

- Hastanede yatış süresi (Candida enfeksiyonu öncesi)
- Hastaneye yatış tanısı
- Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
- Ciddi sepsis varlığı
- Mekanik ventilasyon
- Total parenteral nütrisyon
- Santral venöz kateter varlığı
- Üriner kateter varlığı
- Candida kolonizasyon varlığı
- Organ transplantasyonu
- Kan ürünü replasmanı
- Prematürite

gibi risk faktörleridir. Bu risk faktörleri çeşitli oranlarda candida enfeksiyonu gelişiminde etkili olmaktadır (49,50,51,52,53,54,55,56,58).

Candidaların oluşturduğu enfeksiyonlar yüzeysel ve invaziv enfeksiyonlar olarak gruplandırılır.

2.5.1.Yüzeysel enfeksiyonlar

Ağız, gastrointestinal mukoza, vajen, cilt gibi bölgeleri tutan ve genellikle konağın kendi florasından kaynaklanan enfeksiyonlardır.

2.5.1.1.Orofaringeal Kandidiyazis ve Pamukçuk:

3 farklı formda görülebilir. Psödomembranöz Kandidiyazis, Eritematöz (atrofik) Kandidiyazis ve Hiperplastik Kandidiyazis

2.5.1.1.1.Psödomembranöz Kandidiyazis:

Pamukçuk olarak da bilinen akut bir enfeksiyondur. Yenidoğanlarda, inhaler kortikosteroid kullananlarda, yaşlı hastalarda, onkolojik hastalarda daha sık görülür. Kandidiyozisin AIDS hastalarındaki en sık görülen formudur. Orofaringeal kandidiyazisin en sık etkeni %80-90 sıklıkla *C.albicans*'tır. Pamukçuk olan hastalarda, asemptomatik olabileceği gibi dilde yanma, ağrı ve yutma güçlüğü gibi semptomlar da olabilir. Ağız mukozası, dil, damaklar ve bazen de tonsillerde çeşitli formlarda

lezyonlar oluşturabilir. Genellikle beyaz plaklar şeklinde görülür ve bu plaklar kaldırılınca eritematöz hatta kanamalı bir zemin oluşabilir (1,7,8).

2.5.1.1.2.Kronik Atrofik Kandidiyazis:

Protez diş stomatiti olarak bilinen, protezlerin damağa temas ettiği bölgede diffüz eritem ve ödem şeklinde görülen bir lezyondur. Genellikle semptom vermez ancak bazı hastalarda ağız içinde ağrı ve yanma görülebilir (7).

2.5.1.1.3.Kronik Hiperplastik Kandidiyazis:

Kandidal lökoplaki olarak da bilinen bu lezyonlar yanakların iç kısmında ve nadiren de dil üstünde olabilirler. Translügen bir görüntüden opak beyaz plaklara kadar değişebilen lezyonlar olarak görülürler. Daha çok erkeklerde ve sigara ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu lezyonlar malignleşebilme potansiyelleri olması açısından önemlidir (7,8).

2.5.1.2.Kandida Özefajiti:

Bazı kaynaklarda derin kandidiyaz olarak da değerlendirilmektedir. Özefagus mukozasına yerleşen mayalar sıklıkla ağız sekresyonları ile buraya ulaşmaktadır. AIDS hastalığı ile birlikte sıklığı artmıştır. AIDS hastalığı dışında immun sistemi zayıflatan çeşitli durumlarda da görülme olasılığı artmaktadır. Organ alıcılarında, kanserli hastalarda, kemoterapi ve lokal radyoterapi alan hastalarda, kortikosteroid kullananlarda daha yaygın görülebilmektedir. Bu hastalarda sıklıkla ağrılı yutma, yutma güçlüğü, retrosternal yanma, ağrı gibi semptomlar görülür. Endoskopik incelemede özefagusta yama tarzında beyaz plaklar görülebilir. Bu bölgelerden alınan örneklerin patolojik incelemesi ve kültürde üretilmesi ile tanı kesinleştirilir (1,7).

2.5.1.3.Kandida vulvovajiniti ve Balanit:

Kandida vulvovajiniti sık görülen bir enfeksiyondur. Bilinen predispozan faktörler; gebelik, diyabet ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımıdır. Hayatları boyunca kadınların %75'i en az bir kere kandida vulvovajiniti geçirirler. Bunların da %80'inde etken *C.albicans*'tır. Ancak son yıllarda non-albicans türlerinde sıklığı artmaktadır (1,4). Bu hastalarda sıklıkla vulva ve vajen bölgesinde kaşıntı, beyaz renkli vajinal akıntı, yanma, disüri, dispareni gibi semptomlar bulunur. Muayenede vulva bölgesi ve labiumlar eritemlidir. Bazı hastalarda rekürren ve persistan enfeksiyonlar görülebilir (1,8).

Balanit (penil kandidiyaz) genellikle diyabet hastası erkeklerde görülen bir enfeksiyondur. Penil kateteri uzun süre kullanan hastalarda da görülebilir. Hastalarda sıklıkla glans peniste ağrı ve irritasyon şikayetleri bulunur ve muayenede glans peniste diffüz eritem ve makülopapüler döküntü izlenir (8).

2.5.1.4.Primer Kutanöz Kandidiyazlar:

Kandidalar, konak immun sisteminde bir eksiklik olduğunda veya anatomik koruyucu bariyerlerde bir kaçak olduğunda vücudun herhangi bir yerinden giriş yapabilir ve cilt, saç ve tırnaklarda yüzeysel enfeksiyonlara neden olabilir. *C.albicans* kutanöz enfeksiyonlara en sık neden olan türdür. Genellikle axiller, perineal, intergluteal, interdigital, inguinal bölgeler ve cilt katlantı bölgeleri gibi daha sıcak ve nemli bölgelere yerleşme eğilimindedir. Bu enfeksiyonlar özellikle diyabetik ve obez hastalarda daha sık görülmektedir (7,8).

Kandidaya bağlı en yaygın cilt lezyonu intertrigodur. Bu lezyon cilt yüzeylerinin birbirlerine yakın temasta olan ve daha nemli ve sıcak olan bölgelerinde daha çok gelişir. Perinede, aksillada, meme altlarında, umbilikal bölgelerde olabilir. Lezyon vezikülopüstüler ve kaşıntılı olarak başlar ve daha sonra genişleyip maserasyona ve eritemli bir lezyona ilerleyebilir (2,7).

Diaper raş infantlarda, bebek bezinin temas ettiği perineal bölgede görülen, genellikle bebek bezinin zamanında değiştirilmediği bu nedenle ıslaklık ve irritasyona bağlı gelişen bir dermatittir. Bazen bel ve karın bölgesine de ilerleyebilen maserasyon ve eritem şeklinde de görülebilir (2).

2.5.1.5.Onikomikoz ve Paronişi:

Kandidalar paronişinin en sık etkenlerinden biridir. Tırnak çevresinde lokal inflamasyon bulgularına sebep olur ve bu bölgeden alınan örneklerden izole edilebilir. Kandidaya bağlı paronişi gelişen hastalar genellikle suyla teması fazla olan işlerde çalışanlardır ve yine diyabetik hastalarda da paronişi sıklığı daha fazladır (4).

Kandida enfeksiyonları tüm onikomikozların %5-10'luk kısmını oluşturmaktadır. Kadınlarda daha fazladır ve el tırnaklarını daha çok tutar. Dermatofitler veya diğer küf mantarları ile birlikte olabilir. Tırnağın distal veya proksimal bölgesinde görülebilir. Özellikle distal yerleşimli onikomikozları

dermatofilerden ayırt etmek zordur. Kandida onikomikozları sıklıkla immün sistem defekti olan hastalarda görülmekle birlikte immün sistemi normal olan, tırnakları sıklıkla suya maruz kalan veya tırnak hasarı olan hastalarda da görülebilir (2,8).

2.5.1.6.Kronik Mukokutanöz Kandidiyazis:

Bu tanım, immünolojik veya endokrinolojik bir hastalığı olan kişilerde kandidaların etken olduğu, persistan ve rekürren olabilen kutanöz, mukozal ve tırnak enfeksiyonları için kullanılan bir tanımdır. Genellikle yaşamın ilk 3 yılında görülür (8). Tek bir hastalık değil konağın savunma mekanizmalarında birden çok defekt olması sonucu oluşan ve kandidaların normalde kommensal olarak bulundukları bölgelerde gelişen kronik ve yüzeysel enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonlar kandida granülomu olarak adlandırılan lezyonlara ilerleyebilir. Genellikle T lenfosit sayıları ve fonksiyonlarındaki kusurlara bağlı olarak gelişir. B lenfositler ve immünglobulinler genellikle normal seviyededir (4,7).

Kronik mukokutanöz kandidiyazisin geniş bir klinik spektrumu tanımlanmıştır. 1.grup HIV, protez stomatiti, demir eksikliği ve inhale steroid kullanımı ile ilişkili kronik oral kandidiyazistir. 2.grup “Kandida endokrinopati sendromu” veya “otoimmün poliendokrinopati kandidiyazis sendromu” olarak da adlandırılan otozomal resesif geçişli bir endokrinopatidir. Otoimmün regülatör gende bir mutasyon sonucu gelişir. 3.grup her iki elde hiperkeratoz ve kutanöz boynuz gelişimi ile karakterize lokal formdur. Bu grupta endokrinopati bulunmaz. 4.grup hastalarda yaygın ve ciddi enfeksiyonların olduğu diffüz formdur. Familial faktörler bilinmemektedir. 5.grup timoma ile ilişkili kronik mukokutanöz kandidiyazistir ve genellikle yaşamın üçüncü dekadında ortaya çıkar. Bu grupta aynı zamanda myastenia gravis, hipogamaglobulinemi, aplastik anemi, nötroopeni gibi patolojiler de eşlik edebilir. 6.grup intersitisyel keratit ile ilişkili kronik mukokutanöz kandidiyazistir. 7.grup ise iktiyozis, keratit ve sağırlıkla giden KID(keratitis, ichthyosis, deafness) sendromu da denen bir formdur (2,7,59).

Kronik mukokutanöz kandidiyazisin ilk ortaya çıkan lezyonu çoğunlukla pamukçukla başlayan oral kandidiyazistir. Persistan tırnak enfeksiyonları da yaygındır. Sonrasında çeşitli kutanöz enfeksiyonlar da eklenir. Kronik mukokutanöz

kandidiyazisli hastalar genellikle uzun yaşam sürelerine sahiptir. Ancak bazı hastalarda lezyonlar ciddi seyredip nadiren de organlara invazyon gösterebilir (4,7).

2.5.2. İnvaziv Enfeksiyonlar

2.5.2.1. Dissemine Kandidiyazis ve Kandidemi

Kandidanın etken olduğu kan dolaşımı enfeksiyonu kandidemi olarak tanımlanır. Kandidemide organ tutulumu yoktur ve bir yada daha fazla hemokültürde kandida üremesi vardır. Ateş en sık semptomdur. Kandidemiye bağlı mortalite %40 lara ulaşmaktadır. Sistemik kandidiyazis 4 şekilde görülebilir. Bunlar; kateter ilişkili kandidemi, akut dissemine kandidiyazis, kronik dissemine kandidiyazis (hepatosplenik kandidiyozis) ve derin organ kandidiyazisi (1,7).

Akut dissemine kandidiyazis tanımı hematojen yayılım yoluyla birbiriyle ilişkisiz iki veya daha fazla organ tutulumunun olduğu bir sendromdur. Nötropenik olan ve olmayan hastalarda görülebilir. Akut dissemine kandidiyazlı hastalarda genellikle geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen persistan ateş ve bazı klinik tutulumlara ait semptomlar vardır. Kutanöz makronodüler lezyonlar ve endoftalmi özellikle en belirgin klinik belirtileridir. Diğer klinik tutulumlar; endokardit, menenjit, renal abse, miyokardit ve geç dönemde artritis ve osteomyelitis olabilir (1,8).

Dissemine kandidiyaz düşük doğum ağırlıklı (<1500 g) ve yenidoğan yoğun bakımda uzun süreli yatan bebeklerde de sık görülür. Bu bebeklerde de yaşamın ilk haftalarında non spesifik semptomlar görülür. Entübe olan, uzun süreli santral venöz kateteri bulunan, total parenteral nütrisyonla beslenen ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan bebekler kandidemi açısından risk altındadır (8).

Kronik dissemine kandidiyazisin diğer adı hepatosplenik kandidiyazistir ancak başka organlarda da tutulum olabilir. Genellikle lösemili hastaların nötropenik dönemlerinde başlar. Bu dönemde antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen ısrarcı bir ateş vardır. Herhangi bir organ tutulumuna ait bir belirti bulunmayabilir. Sonrasında nötrofil sayısı normale döner ancak hastanın persistan ateşi devam eder ve kilo kaybı vardır. Hastalarda karın ağrısı şikayeti, fizik muayenede hepatosplenomegali ve laboratuvar bulgularında ALP yüksekliği olabilir. Abdomen tomografisinde karaciğer

ve dalakta çok sayıda radyolüsen lezyonlar görülebilir. Çoğu olguda kan kültürleri negatiftir. Tanı biyopsi ile doğrulanabilir (1,8).

2.5.2.2. Renal ve Üriner sistem Kandidiyazisi:

Kandidüri hastanede yatan ve özellikle üriner kateteri bulunan hastalarda oldukça sık görülen bir durumdur. Yoğun bakım hastalarının idrarlarından en sık izole edilen patojen kandidalardır. Diyabet hastaları ve immunsuprese hastalarda da kandida kolonizasyonu ve kandidüri sıklığı artmaktadır (7).

Renal kandidiyazis asendan yolla veya hematojen yayılımla meydana gelebilir. Ancak hematojen yayılım daha sıktır. Dissemine kandidiyazisi olan hastaların %80 kadarında renal kandida enfeksiyonu gelişmektedir. Candida türlerinin böbreklere tropizmi bulunmaktadır. Persistan kandidüresi olan hastalarda böbreklerde invaziv enfeksiyon gelişimi açısından dikkatli olunmalıdır. Renal kandidiyazis bazı durumlarda abse formasyonu veya fungus topu şeklinde görülebilir. Fungus topu oluşumu üst üriner sistemde obstrüksiyona neden olabilir. Buna bağlı olarak da hidronefroz ve anüri gelişebilir (8). Üriner sistem kandidiyazisine en sık sebep olan tür *C.albicans*, ikinci en sık tür ise *C.glabrata*'dır (7,8).

2.5.2.3. Akciğer Kandidiyazisi:

Kandidalar balgam ve trakeal aspirattan sıklıkla izole edilir. Ancak bunların çok azı klinik açıdan anlamlı enfeksiyon göstergesidir. Kandida pnömonisinin iki formu tanımlanmıştır. Bunlardan biri endobronşiyal yayılım sonucu gelişen lokal veya diffüz bronkopnömonidir. Bu oldukça nadir görülen bir formdur ve genellikle riskli hastalarda aspirasyon sonucu gelişir. Kandida pnömonisinin diğer formu ise hematojen yayılımla gelişen nodüler veya diffüz infiltrasyonlara sebep olan formudur. Nekrotizan pnömoni, pulmoner miçetom ve allerjik bronkopulmoner kandidiyazise bağlı geçici infiltratlar gibi pulmoner kandidiyazisin diğer formları daha nadir görülmektedir (4,7).

Kandida pnömonisinin tanısı için spesifik bir radyolojik bulgu yoktur ve balgam veya aspirattan kandida türlerinin izole edilmesi tanı koydurmaz. Kandida pnömonisinin en güvenilir tanı yöntemi bronkoskopik girişimle elde edilen doku biyopsisinin histopatolojik incelemesinde maya elemanlarının dokuya invazyon yaptığının gösterilmesidir (4).

2.5.2.4. Osteomyelit ve artrit

Kemik eklem tutulumu kandidiyazisin nadir formlarındandır. Kandideminin geç komplikasyonu olarak görülebilir. Osteomyelit sıklıkla hematogen yayılımla gelişir ve çocuklarda genellikle uzun kemiklerde, erişkinlerde ise aksiyal iskelette meydana gelir. Ancak femur, skapula, proksimal humerus, kostokondral eklemler, kostalar da tutulabilir. Osteomyelit nadiren cerrahi veya travma sonucu direk inokulasyonla da oluşabilir. En sık semptom lokal ağrıdır. Kan kültürleri genellikle negatiftir. Etkilenen bölgeden alınan örnekler tanıda yararlıdır (4,8).

Kandida artriti de yine dissemine kandidiyazisin bir komplikasyonu olarak meydana gelir. Bazı durumlarda travma, cerrahi veya intraartiküler steroid enjeksiyonları sonucu da oluşabilir. Romatoid artrit gibi eklem hastalıkları olanlar ve protez eklemi bulunanlarda da risk artmıştır. Herhangi bir eklemden görülebilmesine karşın büyük eklemler daha çok tutulur. Diğer kandida enfeksiyonlarından farklı olarak candida artritlerinde etken daha çok non-albicans türlerdir (7).

2.5.2.5. Peritonit:

Kandidalar gastrointestinal sistem florasında bulunan organizmalardır. Bu nedenle peritonit genellikle cerrahi veya travma sonrası gelişen bağırsak perforasyonu nedeniyle gelişir ve sıklıkla bakteriyel etkenlerle birlikte mikst olarak bulunur. Kandida peritonitinin semptomları diğer enfeksiyöz peritonitlerle benzer olarak ateş, abdominal gerginlik ve ağrıdır. Periton diyalizi yapan hastalarda da nadiren kandida peritoniti gelişebilir. Bu da genellikle periton diyaliz kateterinin kandidalar ile kolonizasyonu sonucu meydana gelmektedir (2,8).

2.5.2.6. Endokardit:

Fungal endokarditler içinde en sık görülen kandida endokarditidir. Tüm etkenler içerisinde ise kandida endokarditlerinin oranı %2 dir (1,2). Kandida etkenli endokarditler için ana predispozan faktörler olarak kalp kapak anomalisi, protez kapak, IV ilaç bağımlılığı ve uzun süreli intravasküler kateter varlığı sıralanabilir. Diğer risk faktörleri ise immunsupresyon, abdominal cerrahi, immun sistemi baskılayan ilaç kullanımı ve önceden bakteriyel endokardit varlığıdır (60).

Klinik bulgular bakteriyel endokarditlerle benzerdir. Sadece kandida endokarditlerine özgül bulgular büyük boyutlu vejetasyon ve ana damarlarda büyük

embolilerdir. En çok tutulan kapaklar aort ve mitral kapaktır. Kandida endokarditlerinde sıklıkla kan kültürleri pozitifdir. Ancak bazı hastalarda negatif olabilir bu da tanıda gecikmelere neden olabilir. Negatif kan kültürü olan hastalarda ekokardiyografide büyük vejetasyonların görülmesi akla kandida endokarditini getirmelidir (1,7).

Kandidalar kalpte miyokard ve perikardı da tutabilir. Kandidalara bağlı miyokardit genellikle dissemine enfeksiyonun bir parçası olarak gelişir ve hematojen yolla miyokarda yerleşir. Miyokardda mikroabseler oluşturur ve bunlar genellikle otopside tanımlanır (7).

2.5.2.7. Menenjit:

Yaygın kandidiyozun bir parçası olarak veya izole bir enfeksiyon olarak ortaya çıkabilir. Özellikle dissemine kandidiyazisi olan düşük doğum ağırlıklı infantlarda %60'a ulaşan oranlarda kandida menenjitini tanımlanmıştır. Bu hastalarda mortalite ve sekel kalma oranı yüksektir (8).

Erişkin hastalarda ise kandida menenjitini için risk faktörleri; geçirilmiş nöroşirürjik cerrahi, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, önceden var olan bakteriyel menenjit ve ventriküloperitoneal şant varlığı olarak tanımlanmıştır (1,8).

Kandida menenjitinin tanısı zordur. Bu nedenle uygun antibiyotik tedavisine cevap vermeyen menenjit öntanılı hastalar ve nörolojik semptomları ortaya çıkan dissemine kandidiyazisli hastalarda akla gelmelidir. BOS'ta artmış protein, normal/düşük glukoz, nötrofilik veya lenfositik hücre artışı vardır. Tanı etkenin BOS'ta üretilmesi ile kesinleştirilir (1).

2.5.2.8. Endoftalmit:

Hematojen yolla yayılan dissemine kandidiyazisin bir parçası olarak veya travma ve cerrahi ile direk inokülasyon sonucu oluşabilir. Öncelikle koryoretinit oluşur oradan vitröz humora yayılır ve endoftalmiye neden olur. Muayenede sarı-beyaz renkli koryoretinal ve vitreoretinal lezyonlar görülebilir. Kandida kandan veya vitreus sıvısından izole edilebilir. Tedavisi zordur ve kalıcı görme kusuru kalma riski yüksektir (4,8).

2.6.Candida Enfeksiyonlarında Tanı:

Tüm enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi mantar enfeksiyonlarında da tanı için klinik ve laboratuvar işbirliği içinde çalışmalıdır. Klinisyen hastanın anamnez ve fizik muayene bulguları ile bir fungal enfeksiyon öntanısı düşündüğünde tanıyı laboratuvar bulguları ile konfirmasyon için uygun yerden, uygun zamanda ve uygun şekilde klinik örneği alıp önerilen süre içerisinde laboratuvara ulaştırmalıdır. Klinik örnek üzerinde hastaya ait bilgiler, hastanın öyküsü ve muayenesinde laboratuvara yol gösterecek bulgular ve öntanıya ait yeterli ve gerekli bilgi bulunmalıdır. Candida enfeksiyonlarının tanısında boyalı ve boyasız direk mikroskopik inceleme, kültür, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır (61).

2.6.1.Örnek alınması ve taşınması:

Klinik örneklerden candida türlerinin izolasyonunda ilk aşama uygun örneklerin alınması ve laboratuvara ulaştırılmasıdır. Uygun örnek alımı laboratuvar tanısının en önemli aşamalarından biridir. Klinisyen örneği almadan önce laboratuvarla iletişime geçerek öntanısı için hangi örneklerin uygun olacağı ve örneğin nereden ve ne şekilde alınıp laboratuvara ulaştıracağına dair bilgi almalı ve en doğru yöntemi uygulamak için laboratuvar ve klinik birlikte hareket etmelidir (8,62).

Klinisyen hastaya ait bilgileri örneğin; hastanın yaşadığı yer ve koşulları, hayvan teması olup olmadığını, yakın zamanda seyahat öyküsü olup olmadığını, altta yatan bir hastalığı veya immunsupresyon yaratacak bir durumunun olup olmadığını, herhangi bir ilaç kullanımı ve yakın zamanda hastanede yatma, operasyon geçirme gibi candida enfeksiyonlarına predispozisyon yaratacak durumların varlığı açısından laboratuvarı bilgilendirmelidir. Aynı zamanda örnek bir lezyondan alınmışsa istem kağıdında lezyonun tanımı yapılmalı ve önemli fizik muayene bulguları laboratuvarla paylaşılmalıdır. Bu bilgiler laboratuvar için örnekte hangi fungal patojenlerin aranacağı ve bunlara yönelik en uygun hangi testlerin seçileceği ile ilgili karar vermek açısından yönlendirici olacaktır (8,61).

Örnekler laboratuvara taşınırken özellikle sıvı örnekler için mutlaka kapaklı ve steril kaplar kullanılmalı, kan örnekleri standart kan kültürü şişelerine alınmalı, serolojik testler için kanlar antikoagölansız tüplere alınmalı, yara ve doku örneklerinden izolasyon için sürüntü örnekleri yerine aspirasyon veya biyopsi

örnekleri tercih edilmeli, örnek kapları sızdırmaz olmalı ve herhangi bir kontaminasyona sebep olmayacak şekilde taşınmalıdır (62).

2.6.2.Direk mikroskopik inceleme:

Fungal patojenlerin tanısında direk mikroskopik inceleme hızlı ve basit bir uygulamadır ve mikoloji laboratuvarına gönderilen her örnek için uygulanması önerilmektedir. Bu inceleme ile örnekte fungal patojen olup olmadığı kolay ve hızlıca değerlendirilebildiği gibi kültür için uygun besiyeri seçimi için de yönlendirici olabilir (62).

Klinik örneklerin serum fizyolojik ile veya KOH ile hazırlanan boyasız preparatlarında tomurcuklanan maya hücreleri, gerçek ve yalancı hif yapıları görülebilmektedir. Yine mikroskopik inceleme için çeşitli boyalarla da preparatlar hazırlanıp değerlendirilebilir. Kandida tanısı için örnekler metilen mavisi, gram, giemsa boyaları gibi boyalar kullanılarak ışık mikroskopunda incelenebileceği gibi kalkoflor beyazı gibi floresan boyalarla boyanarak floresan mikroskopunda da incelenip tanı konulabilir. Gram boyamada kandidalar gram pozitif boyanmış tomurcuklanan maya hücreleri olarak görülürler. Yine gram ve diğer boyalarla da maya hücreleri ve hif-psödohif yapıları görülebilir. Kalkoflor beyazı ile incelemede kandidalar yeşil floresan veren oval/yuvarlak maya hücreleri olarak görülebilirler (4,62).

2.6.3.Kültür:

Klinik örnekten primer izolasyon ve identifikasyon için çeşitli besiyerleri kullanılmaktadır. Kandidalar bakterilerin izolasyonu için kullanılan kanlı agar, çikolatamsı agar, EMB agar gibi bir çok besiyerinde rahatlıkla üreyebilmektedir. Ancak bu besiyerlerinde mantarlara özgül yapılar, sporlanmalar zayıf olabilmektedir. Bu nedenle bir çok laboratuvar da mantarlar için özel olarak hazırlanan ve kullanılan çeşitli besiyerleri bulunmaktadır (8).

Kandidalar mantarlara özgül besiyerleri olan Sabouraud Dekstrozu Agar(SDA), Mycosel yada Mycobiotic Agar gibi besiyerlerinde rahatlıkla ürerler. Kandidaların primer izolasyonu için en sık kullanılan besiyeri SDA'dır. Mantar besiyerlerinin içerisinde, örnekte bulunabilecek ve üremesi halinde mantarların üremesini baskılayabilecek bakterilerin üremesini engellemek için penisilin, gentamisin,

streptomisin ve kloramfenikol gibi antibakteriyel ajanlar eklenebilir. Bakterilerin dışında hızlı üreyen kontaminan küf mantarlarının üremesini engellemek amacıyla da besiyeri içine sikloheksimid eklenebilir. Rutin mantar kültürlerinde kandidaların izolasyonu için bir çok laboratuvar tarafından genellikle bir antibiyotikli/sikloheksimidli ve bir antibiyotiksiz/sikloheksimidsiz besiyerine ekim yöntemi uygulanmaktadır (8,62).

Besiyerlerine ekim yapıldıktan sonra oda ısısında(22-26°C) ve 37°C'de inkübe edilirler. Bazı kaynaklarda tek bir etüv kullanma imkanı varsa mantar besiyerlerinin 30°C'de inkübe edilebileceği söylenmektedir (62). Kandidalar rutin besiyerlerinde genellikle 1-3 gün içerisinde ürerler. Maya kolonileri genellikle gri,beyaz renkli, macunumsu, düzgün yüzeyli(S tipi) dir. Üreyen kolonilerden gram boyama yapılarak tomurcuklanan maya hücrelerinin görülmesi üzerine ileri tanımlama için çeşitli işlemler ve subkültürler yapılır (8).

Mayalar cilt, mukoza gibi yüzeyel bölgeler ve solunum yolu örneklerinden sıklıkla kommensal olarak izole edilmektedir. Bu izolatların klinik olarak anlamlı olup olmadığı değerlendirilmelidir. Yine yara ve sürüntü örneklerinden izole edilen mayaların da klinik önemi değerlendirilip ona göre cins ve tür düzeyinde tanımlama yapılmalıdır. Ancak kan ve steril vücut sıvılarından izole edilen mayalar mutlaka tür ve cins düzeyinde tanımlanıp raporlanmalıdır (62).

Primer izolasyon besiyerlerinde üreyen maya hücrelerinin identifikasyonu için germ tüp testi, kromojenik agar besiyerine ekim, biyokimyasal ve karbonhidrat asimilasyon testleri, mısır unlu agardaki morfolojik özellikleri ve otomatize yöntemler kullanılabilir (62,63).

2.6.3.1.Germ Tüp Testi:

Mayaların geleneksel tanımlanmasında ilk aşama germ tüp oluşumunun saptanmasıdır. Germ tüp, *C.albicans*'a özgül olan gerçek hif yapısının başlangıç kısmıdır ve psödohifte olduğu gibi ana hücreden ayrıldığı yerinde bir daralma görülmez. Ana hücrenin yaklaşık yarı genişliğinde ve 3-4 kat uzunluğundadır. Germ tüp testi için besiyerinde üreyen kandida kolonilerinden bir miktar alınarak tavşan veya insan serumundan 0,5 ml içeren tüp içine inoküle edilir ve 37°C'de en fazla iki saat olacak şekilde inkübe edilir. İnkübasyondan sonra tüp içindeki serumdan bir damla

temiz bir lama damlatılır üzerine lamel kapatılarak mikroskopta x400 büyütmede germ tüp varlığı açısından incelenir (7,62).

Germ tüp testinde, germ tüp oluşumu tespit edildiğinde *C.albicans* olarak tanımlanır ve çoğunlukla ek teste tabi tutulmaz. Ancak *C.albicans* dışında *C.dubliniensis* de germ tüp oluşturmaktadır. Bu iki türün ayrımı için farklı testlere gereksinim vardır. Ancak hemen tüm laboratuvarlar germ tüp oluşturan izolatları *C.albicans* olarak raporlamaktadır. *C.tropicalis* türü ise özellikle germ tüp testi iki saatten sonra değerlendirilir ise yalancı pozitifliğe neden olabilir. Bunun nedeni bu türün psödohifleri uzayarak germ tüp gibi bir görünüm oluşturabilmektedir. Bu psödohif yapısının gerçek germ tüpten ayırt edilmesi için hif/psödohif yapısının ana hücreden ayrıldığı bölge dikkatli incelenmelidir. Zira *C.tropicalis*'e ait psödohifin ana hücre ile birleştiği bölgede tipik daralma görüntüsü bulunmaktadır. *C.albicans* türlerinin %5 kadarı da germ tüp oluşturmamaktadır (62,63).

2.6.3.2.Kromojenik Besiyerine Ekim:

Kromojenik agar kandida türlerinin kromojenik olarak hızlı bir şekilde ayrımının yapılması için kullanılan bir besiyeridir. Özellikle karışık kültürlerdeki farklı kandida türlerinin ayrımı için kromojenik agarların kullanılması tanıya yardımcı olmaktadır. *C.albicans* genellikle sarı-yeşil veya mavi-yeşil renk değişikliği oluşturur. Ancak kromojenik agardaki türe göre renk değişiklikleri ticari besiyerlerinde firmaya göre farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle kullanılan ticari besiyerinin önerileri dikkatle incelenmeli ve sonuçlar ona göre yorumlanmalıdır (62).

Yapılan bir çalışmada candida tanımlanmasında maliyet ve süre açısından kromojenik agar ile SDA karşılaştırılmıştır. Çalışmada AIDS hastalarında nötropenisi olan hastaların örneklerinden izole edilen 21 maya izolatında, kromojenik agarın duyarlılığının %95,2 olduğu, *C.albicans* için ise duyarlılığın %100 olduğu bulunmuştur. O nedenle çalışmadaki araştırmacılar kromojenik agarın kandidaların ön tanımlanmasında ucuz ve hızlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Hatta bu araştırmacılar kan kültürlerinin pozitif şişelerinden yapılan boyamada maya hücreleri görüldüğünde kromojenik agara doğrudan pasajlanmasının da hızlı tanı için faydalı olabileceğini söylemektedir (64).

2.6.3.3.Mısır Unlu Agardaki Morfolojik Özellikler:

Tween 80’li mısır unlu agar kandidaların hifal özelliklerine göre tanımlanması ve ayırt edilebilmesi için kullanılan bir besiyeridir. Tween 80 özellikle *C.albicans*’ ın klamidospor yapısı oluşumunun gösterilmesi için besiyerine eklenmektedir (65,67).

Bu yöntem için besiyerinde üreyen maya kolonilerinden iğne öze ile alınarak mısır unlu besiyeri yüzeyine 1 cm aralıklarla üç paralel çizgi şeklinde ekim yapılır ve ekim alanlarının üzerini kaplayacak şekilde bir lamel kapatılır. Plaklar 30°C de 48-72 saat kadar inkübe edilir. İnkübasyon sonunda lamel üzerinden 100x ve 400x lük büyütmede morfolojik özellikler açısından incelenir (62,67).

Mısır unlu agardaki morfoloji incelenirken tomurcuklanan maya hücrelerinin, blastokonidyalardan ve psödohif yapılarının görülmesi izolatın candida cinsine ait olduğunu düşündürür. Tür tanımlaması için ise bazı türlere ait spesifik morfolojik özellikler kullanılır. Örneğin klamidospor yapısının görülmesi ve psödohif üzerine kümeler şeklinde blastokonidyalardan görülmesi üreyen türün *C.albicans* olduğunu düşündürür. Yine kandidalar içerisinde psödohif oluşturmeyen tür olarak bilinen *C.glabrata* da mısır unlu agarda yalancı hif oluşturmeyen, tomurcuklanan düzenli maya hücreleri kümeleri şeklinde görülebilir. *C.parapsilosis* de mısır unlu agarda ekim çizgileri boyunca çalı şeklinde görülen satelit üreme paterni göstermesiyle ayırt edilir. Yine *C.parapsilosis*’e ait dev hif görüntüsü de saptanabilir. *C.kefyr* ise uzun, dikdörtgen şekilde blastokonidyalardan kümeler yapıp “suda yüzen kütükler” şeklinde görülmesi ile tanıyı bu türe yönlendirir (62,66,67).

2.6.3.4.Üreaz Testi:

Tıbbi önemi olan candida türlerinin çoğunluğu üreaz negatiftir. Genellikle üreaz negatif kandidaları üreaz pozitif diğer mayalardan ayırt etmede kullanılan bir testtir. Bu testle üreaz enzimi olan organizmalar üreyi parçalar, reaksiyon sonucunda amonyak açığa çıkar. Amonyak pH’ın alkali tarafa kaymasına neden olur ve besiyerinde bulunan fenol kırmızısı alkali ortamda sarı renkten koyu pembe renge dönüşür (63).

2.6.3.5.Karbonhidrat Asimilasyon ve Fermentasyon Testleri:

Asimilasyon testleri mayaların oksijen varlığında karbonhidratları tek karbon kaynağı olarak kullanma özelliklerinin araştırıldığı testlerdir. Bu amaçla kullanılan

API 20C AUX, API ID 32C, Uni-Yeast Tek gibi bir çok ticari kit ve otomatize ve yarı otomatize sistemler vardır.(30,31) Fermentatif mayalar karbonhidrat kullanımı sonucu karbondioksit ve alkol oluşturur ve fermentasyonun göstergesi olarak da gaz açığa çıkarırlar. Fermentasyon testleri nadiren kullanılır (65).

2.6.3.6.Hızlı Trehaloz Testi:

C.glabrata'nın 3 saat içerisinde tanımlanmasına olanak sağlayan hızlı bir testtir. CLSI, *C.glabrata*'nın trehalozu asimile etmesi özelliğinin baz alındığı hızlı bir test prosedürünü, M35-A dokümanında *C.glabrata*'nın identifikasyonu için yayınlamıştır. Bu test için GLABRATA RTT adlı bir ticari kit mevcuttur (65).

2.6.4.Serolojik Testler:

Mantar enfeksiyonlarının tanısında serolojik testlerin kullanımı belirli etkenlerle sınırlıdır. Yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle bu testler mantar hastalıklarının tanısında tek başına yeterli olmayıp klinik, radyoloji ve diğer tanı yöntemleri ile birlikte değerlendirilmelidir. Serolojik testlerde ya mantar antijeni yada bu antijenlere karşı oluşmuş antikorlar aranmaktadır. Candida enfeksiyonları için antijen aranan testler daha çok kullanılmaktadır (63,68).

Antikor aranması;

Kandidaların somatik antijenlerine karşı antikor aranan testler mevcuttur. Ancak bu testlerin pozitif sonuçlarının invaziv enfeksiyona mı yoksa kolonizasyona mı bağlı olduğu ayırt edilememektedir. Bu nedenle bu antikor testlerinin anlamlı olması için ya yüksek titrede pozitif olması yada tekrarlayan ölçümlerde antikor titresinin artışının saptanması gerekmektedir (1,63).

Kandida hücre duvarı yapısında bulunan polisakkarit mannan antijenine karşı oluşan antikorlar da ELİSA ve RIA testleri ile saptanabilmektedir (63).

C.albicans'ın germ tüp yapısına karşı antikor aranmasında kullanılan İFA ve ELİSA testleri mevcuttur (*Candida albicans* germ tube antibody, CAGTA). Yapılan çalışmalarda CAGTA saptanmasının özellikle hematolojik malignitesi olanlarda ve yoğun bakım hastalarında invaziv kandidiyazis tanısında faydalı olabileceği belirtilmektedir (68).

Antijen aranması;

Kandidaların mannan antijeninin tespiti invaziv enfeksiyon tanısında önemli bir tanı testidir. Mannan antijeni saptanması için ELİSA, RİA, lateral akım immunokromatografi tabanlı testler kullanılmaktadır ve hepsinin özgüllük ve duyarlılıkları farklıdır. Çeşitli vücut sıvılarında mannan antijeni saptanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda invaziv kandidiyazisten şüphelenilen hastalarda mannan ve anti-mannan testlerinin birlikte uygulanmasının oldukça yüksek bir duyarlılığa sahip olduğu belirlenmiştir (61,63,68).

Kandidaların sitoplazmik bir antijeni olan enolazın kanda saptanması hastanın derin doku enfeksiyonu olduğuna dair önemli bir işarettir. ELİSA ve immunblot yöntemleriyle saptanabilmektedir (63).

Kandidaların hücre duvarı antijenlerinden (1,3)- β -D-glukanın serum seviyesinin tespiti de invaziv kandidiyazisin erken tanısında tarama testi olarak son yıllarda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu antijen panfungal bir antijen olduğu için diğer mantar enfeksiyonlarında da pozitif olabilmektedir (61,68).

2.6.5.Moleküler Testler:

Günümüzde moleküler testler klinik örnekten direk maya izolasyonu için rutin olarak kullanılmamaktadır. Daha çok araştırma ve epidemiyolojik çalışmalar için tercih edilmektedir. Ancak giderek bu yöntemlerin kullanımı artmaktadır. Mantar enfeksiyonlarında moleküler yöntemler tanı için kullanılabilmesinin yanı sıra tür tanımlaması, antifungal direnç, epidemiyolojik amaçlarla da kullanılır (61,69).

İlk olarak hibridizasyon yöntemleri kullanıma girmiştir. Problarla PCR ürünlerinin saptandığı yöntemlerde hibridizasyon kullanılır. Kan kültürlerinden maya mantarlarının hızlı tanısında floresan in situ hibridizasyondan yararlanılabilir. Sonrasında nükleik asit amplifikasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Kanda bulunan Candida nükleik asitleri PCR yöntemi ile saptanabilmektedir. Yine PCR ile çeşitli örneklerdeki candida DNA'sının kantitasyonu saptanarak kolonizasyon ile enfeksiyon ayrımı yapılabilir (1,69).

2.7.Candida Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungal Ajanlar:

Antifungal ajanlar içinde 4 temel grup vardır bunlar; polyenler, azoller, allilaminler ve ekinokandinlerdir. Bir de bu gruplara girmeyen flusitozin, griseofulvin gibi farklı antifungal ajanlar vardır. Son yıllarda antifungal ajan sayısı da giderek artmaktadır (8).

2.7.1. Polyenler:

Polyen grubu antifungaller *Streptomyces nodosus* 'un metabolik ürünlerinden elde edilmektedir. Aktivitesini mantar hücre membranındaki ergosterole bağlanarak gösterir. Bu bağlanma sonucunda membranda porlar oluşur ve bu porlardan hücre içi iyonlar hücre dışına geçer. Sonuçta sitoplazmik membranın stabilitesi bozulur. Bu olaylar hücre ölümüyle sonuçlanır (63,70).

Bu grupta 2 önemli ilaç bulunmaktadır. Bunlar Amfoterisin B ve Nistatindir. Nistatin toksik etkisinden dolayı sadece topikal tedavide kullanılır. Amfoterisin B ise parenteral yoldan kullanılan tek polyendir. Bağırsaktan emilimi iyi olmadığı için sadece intravenöz kullanım için uygundur (63).

Amfoterisin B'nin etki spektrumu oldukça geniştir. Bir çok patojen *Aspergillus* türleri, *Mucor* türleri ve diğer fırsatçı küf mantarlarına, bir çok *Candida* türüne, *Cryptococcus neoformans* gibi maya mantarlarına ve *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Penicillium marneffii* gibi dimorfik mantarlara etkilidir. Bu nedenle çoğu sistemik fungal enfeksiyonda kullanılabilir (8,63).

Bazı mantarlar amfoterisin B'ye intrensek dirençlidir. Bunlar; *Candida lusitanae*, *Scedosporium apiospermum*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium* türleri ve *Scopulariopsis* türleridir. Kazanılmış amfoterisin B direnci nadir olarak bazı *C.neoformans* suşları ve bazı *Candida* türlerinde görülür. Direnç mekanizması ergosterol sentezinin azaltılıp, alternatif sterol sentezlenmesi ve bu sayede amfoterisin B'nin fungal membrana bağlanmasını önlemektir. Diğer bir mekanizma ise mantarlarda reaktif oksijen radikalleri üretimini arttırıp ilaç molekülü üzerinde oksidatif hasar oluşturmaktır (4,7).

Amfoterisin B nefrotoksisite başta olmak üzere ciddi sistemik yan etkileri olan bir antifungaldir. Bu nedenle klinik kullanımı sınırlıdır. Bu toksik etkilerini azaltmak ve kullanımını arttırabilmek için lipid içeren formulasyonları geliştirilmiştir. Şuan kullanımda olan formları; amfoterisin B lipid kompleks, amfoterisin B kolloidal dispersiyon ve lipozomal amfoterisin B'dir (7,63).

2.7.2. Azoller:

Azol grubu antifungaller ilk mikonazolun lisans almasıyla kullanıma girmiştir. Mikonazol oldukça toksik etkileri olan bir ilaç iken bu ilaçtan sonra geliştirilen flukonazol, itrakonazol, vorikonazol ve posakonazol gibi yeni ilaçlar sistemik kullanımda daha güvenlidir (70).

Azollerin etki mekanizması, bir sitokrom p450 enzimi olan lanosterol 14- α -demetilaza bağlanarak, mantar hücre membranının temel bileşeni ergosterolün öncülü olan lanosterolün 14 α demetilizasyonunu inhibe etmektir. Bu sayede ergosterolün biyosentezini inhibe eder ve sonuçta mantar hücre membranının normal yapısı ve fonksiyonu bozulur. Fungistatik etkilidir (2,7).

Azoller imidazoller ve triazoller olarak 2 grupta sınıflandırılır. İmidazoller; ketokonazol, mikonazol, klotrimazol iken triazoller; flukonazol ve itrakonazoldür. Bu ilaçlar hem sistemik hem hem lokal enfeksiyonlarda kullanılabilen geniş spektrumlu ilaçlardır. Yeni kullanıma giren 3 azol grubu ilaç daha vardır. Bunlar; vorikonazol, posakonazol ve ravukonazoldür. Vorikonazol IV ve oral kullanılabilirken posakonazolün sadece oral formu bulunmaktadır (63).

İtrakonazol aspergilloziste, dimorfik mantar enfeksiyonlarında, feohifomikozlarda ve nötropenik hastalarda profilakside kullanılmaktadır. Flukonazol kandidiyaziste, kriptokok menenjitinde, dimorfik mantar enfeksiyonlarında yine nötropenik hastalarda, AIDS hastalarında, preterm yenidoğanlarda profilakside kullanılabilir. Ancak aspergillus ve zygomycetes enfeksiyonlarında kullanılmaz. Vorikonazol aspergilloziste, fusarium enfeksiyonlarında, kandidiyaziste kullanılabilir. Posakonazol ise bir çok maya ve küf mantar enfeksiyonlarında ve immunsuprese hastalarda invaziv fungal enfeksiyon profilaksisinde kullanılabilir (4).

Azollere direnç intrinsik veya kazanılmış olabilir. İntrinsik dirençte en bilinen *C.krusei*'de görülen flukonazol direncidir. Kazanılmış direnç klinik açıdan daha çok problem olmaktadır (11). Kandidalardaki kazanılmış azol direnci bir kaç farklı mekanizma ile açıklanmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı azollerin hedef enzimleri olan lanosterol 14- α -demetilazı kodlayan ERG11 geninde mutasyon veya fazla ekspresyon mekanizması ile dirençtir. Diğer bir mekanizma efflux pompası ile dirençtir. Kandidalarda CDR ve MDR olmak üzere efflux pompa sistemini kodlayan iki gen ailesi vardır. CDR gen ailesi tüm azollere etkili iken, MDR gen ailesi sadece flukonazole etkilidir. Toksik 14-methoxysterollerin birikmesini engelleyen enzimde fonksiyon kaybı da bir diğer direnç mekanizmasıdır. *C.albicans*'ta MTL(mating type like) bölgesinde ve 5.kromozomda bulunan TAC1(transcriptional activator of CDR genes) geninde heterozigotluğun kaybı da azol direnci ile ilgili bulunmuştur (2,7).

2.7.3. Ekinokandinler:

Ekinokandinler geniş spektrumlu parenteral antifungallerdir. Lipopeptid yapısındadırlar. İlk geliştirilen ekinokandin cilofungindir ancak bu ilacın sistemik toksisitesi fazla olduğu için anidulafungin, caspofungin ve mikafungin gibi yeni sistemik etkili ekinokandin türleri geliştirilmiştir (65).

Etkilerini mantar hücre duvarının bileşeni bir polisakkarit olan 1,3- β -D-glukan sentezini inhibe ederek gösterirler. Bu molekül, kitin ve diğer hücre duvarı proteinleri ile birlikte mantar hücresinin osmotik stabilitesinde, hücre bölünmesi ve büyümesinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu antifungal 1,3- β -D-glukan sentezini inhibe ettiğinde mantar hücre duvarı osmotik olarak frajil hale gelir, hücre morfolojisi bozulur ve sonuçta mantar hücresinin ölümü gerçekleşir (4,7).

Ekinokandinler bir çok maya ve küf mantarına etkili antifungallerdir. Kandidiyazis, aspergillozis ve febril nötropenik hastalarda invaziv fungal enfeksiyon profilaksisinde kullanılabilir. Bu ilaçlar *C.neoformans* ve *Trichosporon* türlerine etkili değildir (2,4).

Ekinokandinlerde tek ajana dirençli bulunan suşlar tüm ekinokandinlere dirençli kabul edilir. *Aspergillus* türlerinde ekinokandin direnci in vitro gösterilmiş ancak hastalarda tespit edilememiştir. *Candida* türlerinde ise nadir olmakla birlikte hastalarda ekinokandinlere karşı kazanılmış dirençli suşlar tespit edilmiştir. *Candida*

ve aspergillus türlerindeki ekinokandin direncinin FKS1 genindeki iki bölgedeki mutasyonlarla meydana geldiği gösterilmiştir (7).

2.7.4. Flusitozin:

Dar spektrumlu bir antifungaldir. Kandidalara ve kriptokoklara oldukça etkilidir. Aspergillus türlerine ve kromoblastomikoz etkenlerine de sıklıkla etkin olduğu bilinmektedir. Genellikle amfoterisin B ile kombine edilerek kullanılmaktadır. Oral yoldan emilimi iyidir (4,63). Flusitozinin etkisi direk nükleik asit sentezi üzerinedir. Flusitozin mantar hücrelerine sitozin permeaz yoluyla girer ve hücre içinde sitozin deaminaz enzimi ile deamine edilir. Oluşan aktif metabolitler DNA ve RNA sentezini sonuçta da protein sentezini inhibe eder (70).

Bu antifungale direnç sitozin permeaz enziminin yokluğunda veya flusitozinin aktif metabolitlerine dönüşmesinde rol alan diğer enzimlerin fonksiyon bozukluklarında gelişebilir (4).

2.8. Antifungal Duyarlılık Testleri:

Antifungal duyarlılık testleri 3 grupta toplanmaktadır.

2.8.1. Dilüsyon Temeline Dayalı Yöntemler:

a. Buyyon Makrodilüsyon Yöntemi: Candida türleri ve *C.neoformans* için kullanılabilir. Öncelikle antifungaller için uygun çözücüler kullanılarak stok solüsyonlar hazırlanır. Bu solüsyonlar -60°C ve altında 6 aydan uzun süre saklanabilir. Besiyeri olarak pH indikatörlü RPMI 1640 kullanılmaktadır. Duyarlılık testi çalışılacak maya suşunun steril serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu hazırlanır. Daha sonra bu süspansiyon sulandırılarak son konsantrasyonu $0,5-2,5 \times 10^3$ hücre/ml olacak şekilde hazırlanır. Test için 12x75 mm'lik tüpler kullanılır. Tüpler içerisine antifungal solüsyonlarından 0,1 ml koyulur. Üzerine de 0,9 ml maya süspansiyonundan eklenir. Pozitif ve negatif kontroller mutlaka teste eklenmelidir. Tüpler 35°C'de 46-50 saat kadar inkübe edilir. İnkübasyon sonunda tüpler kontrol tüpleri ile karşılaştırılarak görsel olarak değerlendirilir (63,71).

b. Buyyon Mikrodilüsyon Yöntemi: Mikroplaklarda yapılan dilüsyon yöntemidir. Yapılması daha kolay ve değerlendirme süresi daha kısadır. Bu yöntem de makrodilüsyon yöntemi gibi referans yöntem olarak kabul edilmektedir. Test için 96

kuyucuklu U tabanlı mikropalaklar kullanılmaktadır. Antifungal süspansiyonları kuyucuklara 100'er µL koyulur. Daha sonra 0,5 McFarlanda ayarlanmış ve sulandırılmış maya süspansiyonlarından kuyucuklara yine 100'er µL eklenir. Kuyucuklardaki maya süspansiyonlarının son konsantrasyonu yine $0,5-2,5 \times 10^3$ hücre/ml olur. Pozitif ve negatif kontroller teste eklenir ve mikropalak 35°C'de 24-48 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda kuyucuklar kontrol kuyucuğu ile karşılaştırılarak görsel veya spektrofotometrik olarak değerlendirilir (63,71).

c. Agar Dilüsyon Yöntemi: Bu yöntemde agar besiyeri hazırlanırken antifungal dilüsyonları besiyeri içine eklenir. Bir de antifungal içermeyen agar hazırlanır. Maya süspansiyonundan agarlara 1-3 µL ekilir. 30°C'de 24 saat inkübasyon sonunda kontrol besiyeri ile karşılaştırılarak değerlendirilir. MİK değeri üremenin olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu olarak belirlenir (63).

2.8.2. Difüzyon Temeline Dayalı Yöntemler:

a. Disk Difüzyon Yöntemi: Bu yöntem genellikle flukonazol için kullanılmaktadır. Yeast Morphology Agar besiyeri kullanılır. Kolay uygulanabilir ve referans yöntemle iyi koreledir. Dezavantajı doza bağımlı duyarlı suşları ayırt edememesidir (71).

b. E-test Yöntemi: Maiyeti yüksek bir test olmasına rağmen dilüsyon yöntemleri kadar zahmetli olmayıp, MİK değerinin de saptanabilmesi nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. RPMI 1640 besiyeri kullanılır (63).

2.8.3. Flovritometri Temeline Dayalı Yöntemler:

Bu yöntemde floresanlı boyalar antifungal ajana bağlıdır ve ilaca bağlı olarak bir membran hasarı olduğunda bu boyalar hücre içine girer. Sonuçta antifungal ajanların etkin olup olmadığı ve hatta MİK değerlerinin belirlenebildiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (63,71).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun B.30.2.ATA.0.01.00/213 sayı ve 22.04.2019 tarihli kararı ile etik kurul onayı alındı. Bu çalışmaya Temmuz 2018 ile Ağustos 2019 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen invaziv örneklerden izole edilen 70 candida suşu dahil edildi. Toplanan suşlar stok besiyerine (Orgamik, İstanbul, Türkiye) inoküle edilerek çalışma zamanı gelinceye kadar -20°C'de saklandı. Stoklanmış suşlar çalışma zamanı geldiğinde SDA besiyerine pasajlanarak canlandırıldı.

Candida suşlarının izole edildiği hastalara ait risk faktörleri otomasyon sistemi üzerinden retrospektif olarak tarandı. Hastaların yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri kaydedildi. Hastaların yatarak tedavi gördükleri klinikler, hastaneye yatış tanıları, invaziv candida enfeksiyonu gelişmeden önce hastanedeki yatış süreleri, hasta ex olmuş ise candida enfeksiyonu tanısı konduktan sonraki kaçınıcı günde ex olduğu bilgileri toplandı. Hastaların diabetes mellitus, akut/kronik böbrek yetmezliği, malignite, organ transplantı gibi altta yatan hastalıklarına ait bilgiler hastaların sistemdeki anamnez formlarından edinildi. Hemogram testlerinde nötrofil sayısının mm³ te 500'ün altında olması nötropeni olarak değerlendirildi. İmmüsupresif tedavi olarak kemoterapi ajanları, transplant alıcılarında kullanılan diğer immüsupresif ajanlar ve kortikosteroidler kabul edildi. Son 1 ay içerisinde geçirilmiş cerrahi öyküsü olan hastalar abdominal/non abdominal cerrahi olarak sınıflandırıldı. Hastalara yatış süresince kullanılan trombosit süspansiyonu, eritrosit süspansiyonu, taze donmuş plazma gibi kan ürünleri kaydedildi. Yenidoğan yoğun bakım ve çocuk yoğun bakımda tedavi gören hastalar için prematürite öyküsü değerlendirildi. Hastalara yatışları süresince uygulanan invaziv işlemler; santral venöz kateter varlığı, mekanik ventilasyon uygulanması, total parenteral nütrisyon ile beslenme, üriner kateter varlığı, toraks tüpü varlığı, ventriküloperitoneal şant varlığı, ekstraventriküler drenaj sistemi varlığı, periton kateteri varlığı olarak değerlendirildi. Hastalarda invaziv candida enfeksiyonu gelişmeden önce bakteriyemi varlığı ve çeşitli bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle kullanılan geniş spektrumlu antibiyotikler kaydedildi. Yine hastaların invaziv kandidiyazis gelişimi öncesinde başka bir vücut bölgesinde saptanan candida üremeleri kolonizasyon olarak değerlendirildi.

Yapılan çeşitli çalışmalarda risk faktörleri içerisinde değerlendirilen ciddi sepsis varlığı, bu tanının klinik ve laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirilerek konulması ve otomasyon sistemi üzerinden hastalarda bu tanıya ait bilgilerin elde edilememesi sebebiyle bizim çalışmamızda risk faktörleri arasında değerlendirilememiştir. Bu parametre yerine hastada son bir ay içerisinde geçirilmiş bir bakteriyemi olup olmadığı bilgisi edinilerek risk faktörleri içerisine dahil edilmiştir. Yine bir çok farklı çalışmada saptanan ve kullanılan candida skoru ve candida kolonizasyonu gibi skorlama sistemleri çalışmamız retrospektif olduğu için değerlendirilememiştir. Bunun yerine hastanın invaziv olmayan herhangi bir vücut bölgesinden alınan candida açısından pozitif kültür varlığı candida kolonizasyonu olarak kabul edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen suşların 56'sı kan, 6'sı plevral mayi, 3'ü BOS(beyin omurilik sıvısı), 3'ü abse, 1'i periton mayi, 1'i vitreus sıvısından izole edilen suşlardı.

Çalışmamızda kullanılan standart suşlar;

Proteinaz pozitif suş: *Candida parapsilosis* ATCC 22019 (75)

Fosfolipaz pozitif suş: *Candida albicans* ATCC 90028 (76)

Biyofilm pozitif suş: *Candida krusei* ATCC 6258 (77)

3.1. Primer İzolasyon:

Laboratuvarımıza gelen kan örnekleri standart kan kültürü şişeleri(Becton Dickinson, New Jersey, ABD) içine inoküle edilmiş olarak geldi. Diğer BOS, plevral mayi, periton mayi, vitreus sıvısı gibi steril vücut sıvıları ve abse aspirasyon örnekleri de laboratuvarımızda pediatrik kan kültürü şişelerine(BD, New Jersey, ABD) inoküle edildi. Örneklerin ekilmiş olduğu kan kültürü şişeleri BACTEC™ (BD, New Jersey, ABD) otomatize kan kültürü sistemine yüklendi. Kan kültürü sisteminde pozitif sinyal veren şişeler rutin koyun kanlı agar (Oxoid, England), çukulatamsı agar (Oxoid, England) ve EMB(eozin metilen blue) agar (Oxoid, England), besiyerlerine pasajlandı ve 37°C'lik etüvde 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda besiyeri yüzeyinde üreyen kolonilerden gram boyama yapıldı. Gram boyalı incelemede maya hücresi saptanan suşlar tür tanımlaması ve antifungal duyarlılık işlemlerinin yapılması için Sabouraud Dekstroz Agar(SDA) besiyerine (Oxoid,

England) pasajlandı ve 37°C'lik etüvde 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda SDA besiyerinde üreyen krem rengi-beyaz renkli candida kolonilerinden saf olduğundan emin olduktan sonra stok besiyerine alındı ve çalışmaya kadar -20° C'de saklandı.

3.2. İdentifikasyon

3.2.1. Germ Tüp Testi:

SDA besiyerinde üreyen maya kolonilerinden bir miktar öze ile alınarak 0,5 cc insan serumu içeren tüp içine inoküle edildi. Tüpler 37°C'de 2 saat süreyle etüvde inkübe edildi. 2 saat sonunda tüpteki serumdan temiz bir lam üzerine bir damla koyuldu üzerine de lamel kapatılarak mikroskopta 400x lük büyütmede incelendi. Maya hücresinden çıkan başlangıç noktasında boğumlanma olmayan hif şeklindeki uzantılar germ tüp olarak değerlendirildi. Germ tüp oluşturan suşlar *C.albicans* olarak tanımlandı (62). Resim 1' de *C.albicans*'ın oluşturduğu germ tüp yapısının mikroskop görüntüsü verilmiştir.

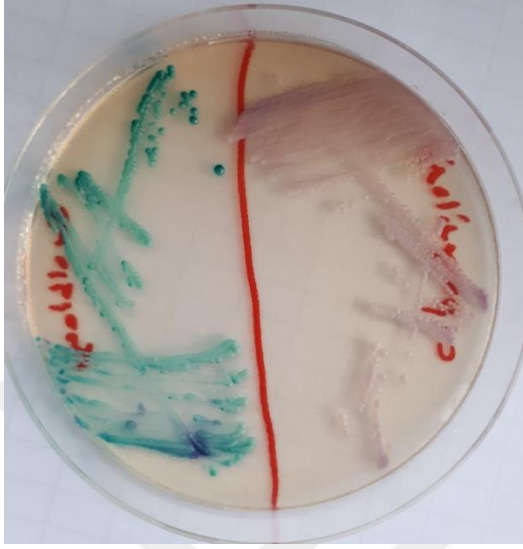


Resim 1. *C.albicans*'ın oluşturduğu germ tüpün mikroskopik görüntüsü (400x)(Çalışmadan)

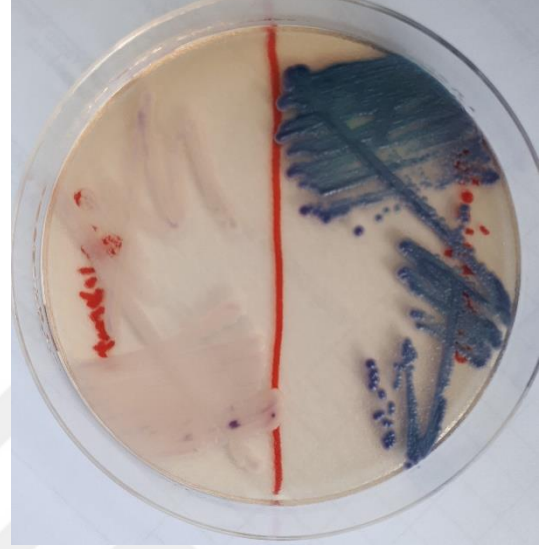
3.2.2. Kromojenik Agar Besiyerine Ekim:

İncelenecek maya kolonileri SDA besiyeri yüzeyinden öze ile alınarak kromojenik agar besiyerine (HiMedia,İndia) pasajlandı ve 37°C'de 48-72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kolonilerdeki renk değişimi üretici firmanın önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Yeşil renkli koloniler *C.albicans*, mor-yeşil renkli

koloniler *C.tropicalis* ve beyaz-krem renkli koloniler ise diğer türler olarak değerlendirildi (62,65). Resim 2 ve 3’de *C.parapsilosis*, *C.albicans*, *C.tropicalis* ve *C.glabrata*’nın kromojenik besiyerindeki görüntüleri verilmiştir.



Resim 2. Solda *C.albicans*, sağda *C.parapsilosis*(Çalışmadan)



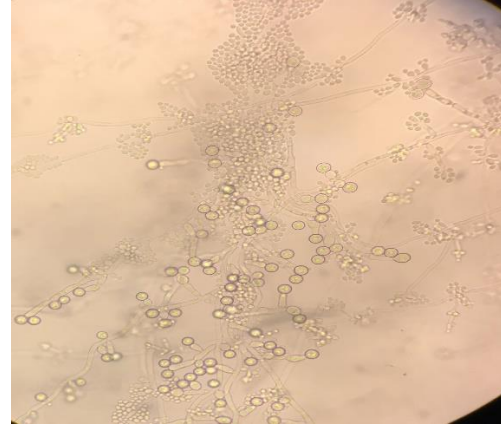
Resim 3. Solda *C.glabrata*, sağda *C.tropicalis*(Çalışmadan)

3.2.3. Mısır Unlu Besiyerindeki Morfolojik Özellikler:

SDA besiyerinde üreyen maya kolonilerinden iğne öze ile alınarak mısır unlu besiyerine(HiMedia, İndia) Dalmau tekniğine göre birbirine paralel 3 çizgi şeklinde ekim yapıldı ve ekim çizgilerinin üzerini kaplayacak şekilde lamel ile kapatıldı ve 25-26°C’de 48-72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda ışık mikroskopunda 100x ve 400x büyütmede incelendi. Psöдохif oluşturmeyan kümelenmiş maya hücreleri görüldüğünde *C.glabrata* olarak değerlendirildi. Hiflerin özellikle uç kısımlarında kalın duvarlı klamidosporeların görüldüğü ve blastokonidyaların psöдохif yapısı üzerinde küme küme toplanmış şekilde görüldüğü suşlar *C.albicans* olarak değerlendirildi. 100x lük büyütmede çalı gibi yapılar oluşturan psöдохiflerin olduğu ve dev hif yapılarının görüldüğü suşlar *C.parapsilosis* lehine değerlendirildi. Uzun dikdörtgen şeklinde blastokonidyaların kümeler oluşturduğu morfolojinin saptandığı suşlar *C.kefir* olarak değerlendirildi (66,67). Resim 4’te *C.parapsilosis*’in ve resim 5’te *C.albicans*’ın mısır unlu agardaki mikroskopik görüntüleri verilmiştir.



Resim 4. *C.parapsilosis*'in mısır unlu agardaki çalı görüntüsü(100x) (Çalışmadan)



Resim 5. *C.albicans*'ın mısır unlu agar görüntüsü(400x) (Çalışmadan)

3.2.4. BD Phoenix™ cihazı ile tanımlama:

Mayaların biyokimyasal özelliklerine göre tanımlama yapmak için BD Phoenix™ 100 otomatize cihazı kullanıldı. SDA agarda üreyen maya kolonilerinden eküvyon çubuğu ile bir miktar alınarak Phoenix ID solüsyonu içerisine yoğunluğu 2 McFarland olacak şekilde süspansiyon edildi. Daha sonra bu süspansiyon Phoenix Yeast ID kitinin sol taraftaki kuyucuğu içerisine döküldü ve Phoenix cihazına hasta barkodu ve kitin barkodu okutularak yerleştirildi. 16-24 saat sonrasında cihaz tarafından tanımlama işlemi tamamlandı (57).

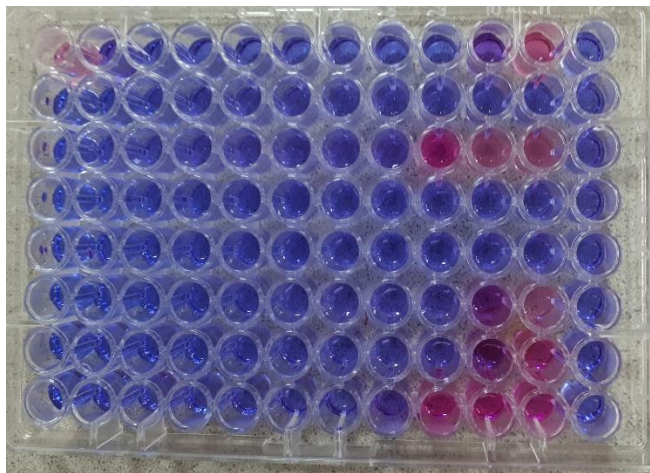
BD Phoenix™ cihazı maya tanımlaması yapmak için alttaki biyokimyasal parametreleri test eden otomatize bir cihazdır;

- Asparagine
- Benzyl-L-Cysteine
- Dextrose, D-Mannitol, D-Sucrose, D-Fructose, D-Galactose, D-Trehalose
- Esculin
- Glycine, Glycine-Proline, Glycine-Arginin-7-Amido-4-methylcoumarin,
- H-B-Alanine-7-Amido-4-methylcoumarin, Hydroxy Proline
- L-Alanine, L-Citrulline-7-Amido-4-methylcoumarin, L-Glutamine-7-Amido-4-methylcoumarin, L-Glutamic acid, L-Histidine, L-proline, L-Tryptophane, L-Tyrosine, L-Valine, L-Arginine, L-Sorbose, L-Proline-p-Nitroanilide, L-Gamma-Glutamyl-p-Nitroanilide
- Lysine-Proline-7-Amido-4-methylcoumarin, Lysine-Alanine,
- Methyl-α-D-Glucopyranoside, Maltotriose

- Nitrophenyl-B-D-Glucopyranosic, N-Acetyl-B-D-Glucosaminide
- Ornithine
- p-Nitrophenyl-B-D-Glucoside, p-Nitrophenyl-a-D-Glucoside
- Threonine, Urea
- 4-Methylumbelliferyl Phospate

3.3. Antifungal Duyarlılık Testleri:

İzole edilen suşların antifungal duyarlılıkları Sensititre™ YeastOne™ YO9 AST Plate (Thermo Scientific™, ABD) ile çalışıldı. Sensititre™ YeastOne™ YO9 AST Plate sistemi maya ve küf mantarları için 9 farklı antifungal ajanın test edilebildiği ve sonuçların kolorimetrik olarak değerlendirilmesine olanak veren ve mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılan bir testtir. Bu test için SDA agarda üreyen maya kolonilerinden eküvyon çubuğu ile bir miktar alınıp kite ait demineralize su içerisine süspansiyon edildi ve bulanıklığı 0,5 McFarland olarak ayarlandı. Daha sonra bu süspansiyondan pipet ile 20 µL alınarak yeast one broth içerisine inoküle edildi. İnokülasyon yapılan tüp alt üst edilerek karışması sağlandı. Daha sonra bu süspansiyondan çoklu pipetle 100'er µL alınarak yeast one platedeki kuyucuklara aktarıldı ve üzeri kapatılarak 37°C lik etüve kaldırıldı. 24 saatlik inkübasyon sonunda üremeler kolorimetrik olarak değerlendirildi (159,161). Elde edilen MİK değerleri CLSI M27-S4 dokümanına göre değerlendirilerek antifungal duyarlılık sonuçları tamamlandı (173). Resim 6'da örnek Sensititre YeastOne plağı gösterilmiştir.



Resim 6. Sensititre YeastOne plak görüntüsü(Çalışmadan)

3.4. Virulans Faktör Deneyleri:

3.4.1. Biyofilm Üretiminin İncelenmesi:

Suşların biyofilm üretimi özelliklerini saptamak için modifiye tüp aderans yöntemi kullanıldı. Bunun için %8 glukoz içeren Sabouraud Dekstroz buyyon(SDB) besiyeri hazırlandı.

%8 glukoz içeren SDB;

Pepton 10 g

Glukoz 80 g

Distile Su 1000 ml

Distile su içerisinde glukoz(Merck, Germany) ve pepton(Oxoid, England) çözündürüldü ve karışım 121°C de 15 dakika süreyle otoklavlanarak steril edildi.

Biyofilm aktivitesi araştırılacak olan suşlar SDA besiyerine pasajlanarak 37°C’de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda üreyen maya kolonilerinden bir öze dolusu alınarak, içerisinde %8 glukozlu SDB bulunan 10 ml’lik polistren falkon tüplerine inoküle edildi ve tüpler 35°C de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tüp içindeki sıvı boşaltıldı ve tüpler iki defa distile su ile yıkandı. Daha sonra tüplerin içerisine %1’lik safranin(ChemBio, Newyork, ABD) boya çözeltisi koyuldu ve 30 dakika bekletildi. Sonra boya çözeltisi boşaltıldı ve tüpler ters çevrili bir şekilde kurutma kağıdı üzerine konularak 24 saat süreyle kurumaya bırakıldı. 24 saat sonunda tüplerin iç çeperinde oluşan renkli tabaka varlığı biyofilm pozitifliği olarak değerlendirildi. Oluşan tabakanın kalınlığına göre biyofilm aktivitesi zayıf pozitif(+), orta pozitif(++) ve kuvvetli pozitif(+++) olarak belirlendi. Deney her suş için 3 defa çalışıldı (72,73). Resim 7’de biyofilm aktivitesinin modifiye tüp aderans testi ile çalışılan sonuçları gösterilmiştir.



Resim 7. Soldan sağı biyofilm 3(+), 2(+), 1(+) ve biyofilm negatif suş (Çalışmadan)

3.4.2. Fosfolipaz Aktivitesinin İncelenmesi:

Fosfolipaz aktivitesinin araştırılması amacıyla yumurta sarılı agar besiyeri kullanıldı.

Temel Besiyeri;

Pepton 1,25 g

Glukoz 2,5 g

Agar 2,5 g

NaCl 7,3 g

CaCl₂2H₂O 0,14 g

Distile su 115 ml

Bu maddeler distile su içerisinde çözündürüldü. Karışım 121°C de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi ve diğer malzemeler hazırlanana kadar 50°C'lik su banyosunda bekletildi.

Sitrik asit-Disodyum fosfat tampon çözeltisi;

C₆H₈O₇H₂O 5,25 g/ 250 ml (0,1 M)

Na₂HPO₄2H₂O 8,9/ 250 ml (0,2 M)

Bu iki çözelti son hacim 125 ml olacak şekilde uygun oranda karıştırılarak pH 4,2 olan tampon çözeltisi hazırlandı.

Yumurta sarısının hazırlanması;

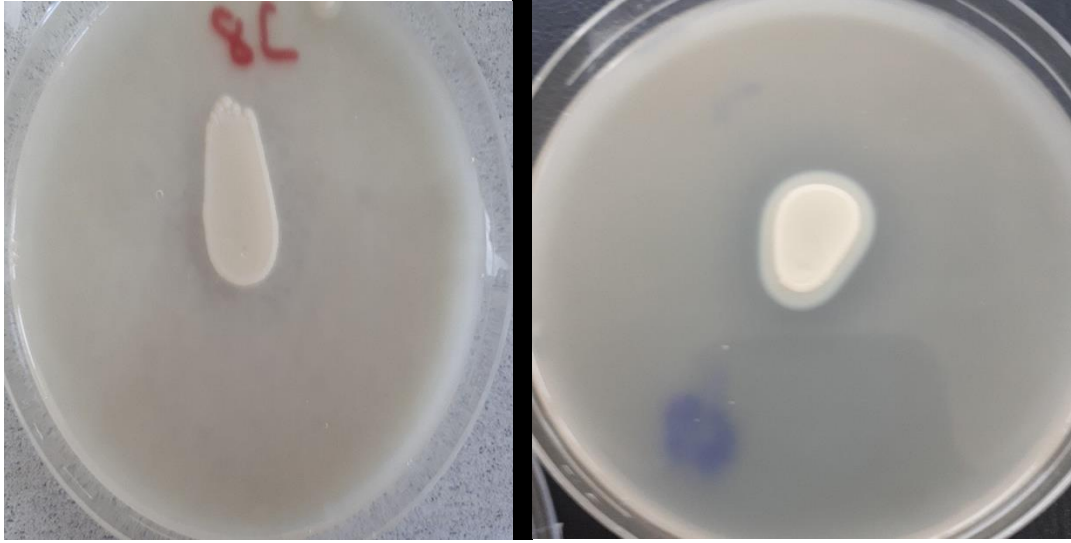
Yumurtalar 1/10 oranında sulandırılmış çamaşır suyu içerisine konularak 1 dakika bekletildi. Daha sonra çıkarılarak steril şartlarda kurulandı ve steril şartlarda kırıldı. Yumurtaların sarıları 50 ml'lik falkon tüplerine alındı. Üzerine eşit miktarda serum fizyolojik eklendi ve içerisine steril cam boncuklar konularak karıştırıldı. Karışım 24 saat süreyle buzdolabında bekletildi. 24 saat sonunda falkon tüpleri 2000 rpm'de 30 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst kısımdaki sıvıdan 10 ml alındı. Bu 10 ml sıvı 125 ml sitrik asit-disodyum fosfat tamponu ile karıştırıldı ve temel besiyerine eklendi. Son karışımdan 9 cm'lik petrilere 10 ml dökülerek soğumaya bırakıldı (72).

Deneyin yapılışı;

Test edilecek suşların SDA'da üreyen kolonilerinden alınarak içerisinde serum fizyolojik bulunan tüpler içine inoküle edildi ve McFarland 0,5'e ayarlandı. Bu süspansiyondan 10 µl alınarak yumurta sarılı agar besiyerine ekim yapıldı. 37°C de 4 gün süreyle inkübe edildi. 4 gün sonunda plaklar fosfolipaz aktivitesi yönünden değerlendirildi. Değerlendirme için maya kolonisi çevresinde oluşan halka şeklindeki presipitasyon zonunun çapı ölçüldü. Fosfolipaz aktivitesini ölçmek için koloninin çapı, koloni artı presipitasyon zonunun toplam çapına oranlanarak Pz değeri hesaplandı.

$$Pz = \frac{\text{Koloni çapı}}{\text{Koloni çapı} + \text{Presipitasyon zonu çapı}}$$

Pz değeri 0,9-1 arasında olanlar fosfolipaz aktivitesi için (+); 0,8-0,89 arasında olanlar (++); 0,7-0,79 arasında olanlar (+++) ve <0,69 olan suşlar (+++++) olarak değerlendirildi. Pz değeri 1 olanlar ise negatif olarak değerlendirildi. Yani suşlara ait Pz değeri küçüldükçe fosfolipaz aktivitesi artmaktadır (26,31,72). Resim 8'de fosfolipaz pozitif ve negatif suşlar gösterilmiştir.



Resim 8. Solda fosfolipaz negatif, sağda fosfolipaz pozitif suş(Çalışmadan)

3.4.3. Proteinaz aktivitesinin incelenmesi:

Proteinaz aktivitesinin araştırılması için %1'lik sığır serum albumini içeren besiyeri kullanıldı.

Temel besiyeri;

Dekstroz 2 g

Agar 2 g

KH_2PO_4 0,1 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05 g

Distile su 100 ml

Karışım 121°C de 15 dakika süreyle otoklavlanarak steril edildi ve diğer malzemeler hazırlanana kadar 50°C 'lik su banyosunda bekletildi.

Yeast Pepton Dekstroz (YEPD) buyyon;

Yeast ekstrakt (maya özütü) 1 g (HiMedia,İndia)

Dekstroz 2 g

Pepton 2 g

Distile su 100 ml

Bu maddeler distile su içerisinde çözündürüldü. Karışım 121°C de 15 dakika süreyle otoklavda steril edildi.

Protein Çözeltilisi;

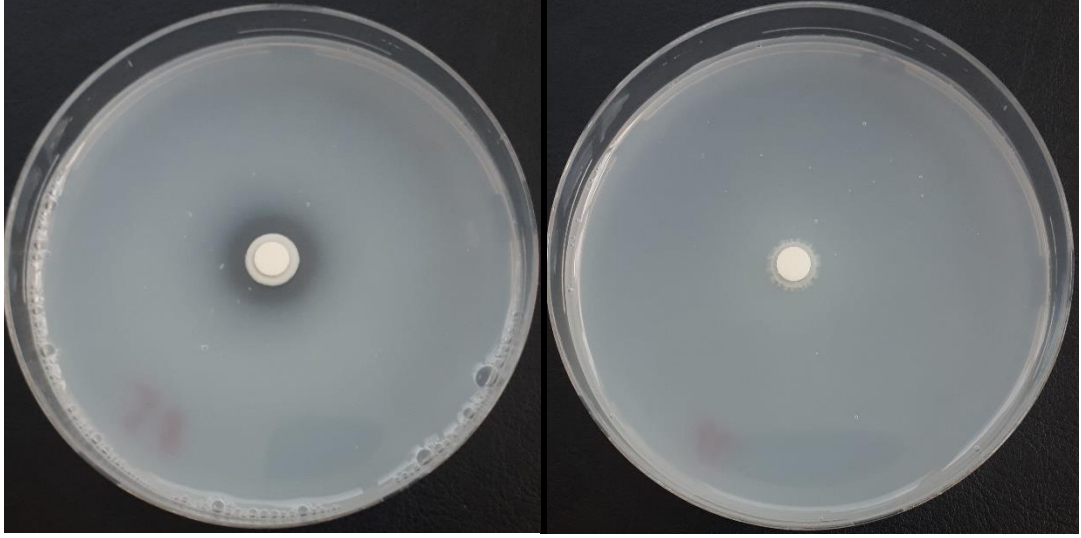
Sığır serum albumini 1 g

Distile su 100 ml

Sığır serum albumini(HiMedia, İndia) distile su içerisine konularak manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak çözündürüldü. Daha sonra bu çözelti 0,2 µm'lik filtreden(Millipore, Ireland) süzülerek steril edildi. Hazırlanan bu steril protein çözeltisinden temel besiyeri içerisine %20 oranında katılarak oluşan karışımdan 9 cm'lik petri kaplarına 10 ml döküldü.

Deneyin yapılışı;

Test edilecek maya suşları SDA besiyerine pasajlanarak 24-48 saat süreyle 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyeri yüzeyinde üreyen kolonilerden öze ile alınarak içerisinde YEPD buyyon bulunan tüplere inoküle edildi. Tüpler 30°C'lik etüvde 4 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüp içerisindeki sıvıların McFarland'ı 0,5'e ayarlandı. Bu sıvıdan 10 µl alınarak sığır serum albumini içeren katı besiyeri üzerine yerleştirilmiş olan steril kağıt diskler üzerine ekildi ve besiyerleri 30°C'de 6 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda diskin çevresinde besiyerindeki proteinin parçalanmasıyla oluşan erime zonları ölçülerek proteinaz aktivitesi değerlendirildi. Diskin kenarından itibaren 1-2 mm erime zonu olanlar proteinaz aktivitesi yönünden zayıf pozitif (+); 3-5 mm erime zonu olanlar ise kuvvetli pozitif (++) olarak değerlendirildi. Erime zonu olmayanlar ise proteinaz aktivitesi negatif olarak belirlendi (40,72,74). Resim 9'da proteinaz negatif ve pozitif suşlar gösterilmiştir.



Resim 9. Solda proteinaz pozitif ve sağda proteinaz negatif suş (Çalışmadan)

3.5. İstatistiksel İncelemeler:

Verilerin analizinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS v20) programı kullanıldı. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde, numerik değişkenler ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. Numerik değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov Testi, çarpıklık ve basıklık için hesaplanan z değerleri ve grafikleme yöntemleri ile araştırıldı. Normal dağılmayan sayısal değişkenlerin iki grup arasındaki karşılaştırmalarında Mann Whitney U, kategorik değişkenler arasındaki dağılımların karşılaştırılmasında ise χ^2 testleri kullanıldı. Normal dağılmayan sürekli değişkenler arasındaki ilişkilerin araştırılmasında Spearman's rho korelasyon analizinden yararlanıldı. Analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

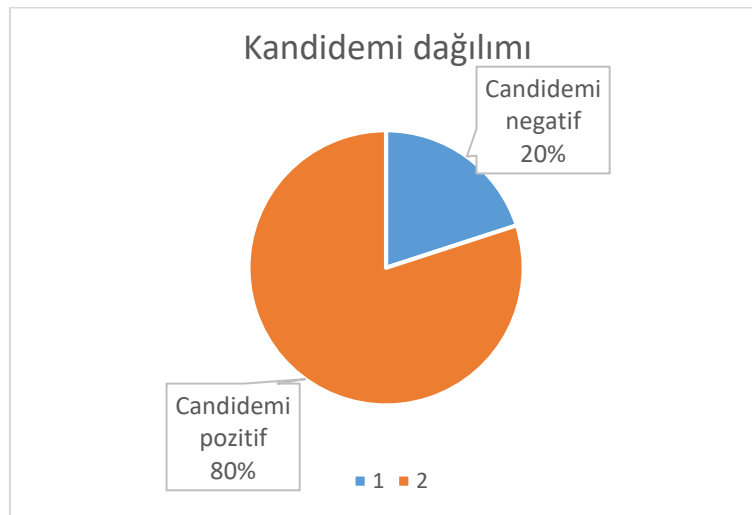
4.BULGULAR

Çalışmamıza Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD'na bağlı rutin mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen invaziv candida enfeksiyonu öntanılı hastaların örnekleri dahil edilmiştir. Çalışmamıza invaziv örnek olarak kan, plevral mayi, periton mayi, abse drenaj örneği, beyin omurilik sıvısı, vitreus sıvısı örnek kültürlerinden izole edilen 70 adet candida suşu dahil edilmiştir. En az bir kan kültüründen candida türleri izole edilen klinik tablo kandidemi, kan kültüründe üreme olmayıp, normalde steril olan invaziv bölge kültürlerinden candida izole edilen klinik tablo ise kandidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu (KDİKE) olarak değerlendirildi.

4.1.Hasta özellikleri:

Çalışmaya klinik örnekleri dahil edilen 70 hastanın 27'si kadın(% 38,6), 43' ü erkek (%61,4) idi. Kandidemi ve kandidemi dışı invaziv enfeksiyonu olan hastaların cinsiyet oranları arasında anlamlı farklılık bulunmadı.(p=0,056)

Hastaların yaş dağılımları 1-96 arasında dağılmıştı. Hastaların yaş ortalaması $41,6 \pm 30,7$ yıl idi. Çalışmadaki hastalardan dört tanesi bir yaşın altında olduğundan, yaş ortalaması alınırken bu hastaların yaşları değerlendirilememiştir. Kandidemi ve kandidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastalar arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. (p=0,625)



Şekil 1. Hastaların kandidemi ve KDİKE tanılarına göre dağılımları

Hastalar izole edilen suşlara göre karşılaştırıldığında ise *C.albicans* ve non-albicans candida üremesi olan hastaların cinsiyet dağılımları ve yaş ortalamaları benzer bulundu.

İnvaziv örneklerin gönderildiği klinikler dahili, cerrahi ve yoğun bakım klinikleri olarak sınıflandırılmıştır. Dahiliye ve pediatri klinikleri dahili klinik olarak; genel cerrahi, göğüs cerrahisi, göz hastalıkları, plastik cerrahi, yanık ünitesi, üroloji kliniği, beyin cerrahisi ve organ nakli klinikleri cerrahi klinik olarak ve yenidoğan yoğun bakım, çocuk yoğun bakım, dahili yoğun bakım, genel cerrahi yoğun bakım, kalp damar cerrahisi yoğun bakım, anestezi yoğun bakım ve göğüs hastalıkları yoğun bakım üniteleri de yoğun bakım kliniği olarak sınıflandırıldı. Buna göre 39 hasta(%55,6) yoğun bakım kliniklerinde, 17 hasta(%24,5) cerrahi kliniklerde ve 14 hasta(%19,9) da dahili kliniklerde tedavi görmekteydi. (Tablo 1)

Tablo 1. Örneklerin gönderildiği kliniklerin dağılımı

KLİNİKLER	Sayı (n)/ Yüzde (%)
Cerrahi klinik	17/24,5
Dahili klinik	14/19,9
Yoğun bakım	39/55,6
Toplam	70/100

Çalışmaya dahil edilen hastaların yatış tanıları incelendiğinde en sık tanı 8 hasta (%11,4) ile genel durum bozukluğu idi. Bunu takip eden diğer tanı ise 7 hasta (%10) ile pnömoni idi. Hastaların yatış tanıları tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Hastaların yatış tanılarına göre dağılımları

Tanı	Sayı (n)	Yüzde (%)
Genel Durum Bozukluğu	8	11,4
Pnömoni	7	10
Solunum Arresti	3	4,3
Konjestif Kalp Yetmezliği	3	4,3
Özefagus Perforasyonu	3	4,3
Plevral Effüzyon	3	4,3
Spinal Muskuler Atrofi	3	4,3

Akut batin	2	2,9
Akut Lenfositik Lösemi	2	2,9
Beyin tümörü+hidrosefali	2	2,9
Down Sendromu+Solunum sıkıntısı	2	2,9
Düşme	2	2,9
Retroperitoneal ve iliopsoas absesi	2	2,9
Trakeoözefageal Fistül	2	2,9
Akut Myelositer Lösemi	1	1,4
Aterosklerotik kalp hastalığı	1	1,4
Ateşli silah yaralanması	1	1,4
Endoftalmi	1	1,4
Febril nötroopeni	1	1,4
Gulianne-Barre sendromu	1	1,4
GIS kanama	1	1,4
Glial tümör	1	1,4
Hidrosefali	1	1,4
Karın ağrısı	1	1,4
Kateter enfeksiyonu	1	1,4
Karaciğer transplant alıcısı	1	1,4
Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı	1	1,4
Kolon kanseri	1	1,4
Konvülsiyon	1	1,4
Over kanseri	1	1,4
Peritonit	1	1,4
Post—op	1	1,4
Respiratuar Distres Sendromu	1	1,4
Renal transplant alıcısı	1	1,4
Sepsis	1	1,4
Siroz	1	1,4
Status epileptikus	1	1,4
Serebrovasküler olay	1	1,4
Şant disfonksiyonu	1	1,4
Yanık	1	1,4
Toplam	70	100

Hastaların invaziv candida enfeksiyonu gelişmeden önceki yatış süreleri incelendiğinde yatış süresi en kısa 2 gün iken, en uzun 135 gündü. Hastaların ortalama yatış süresi $33,6 \pm 30,4$ gündü.

Hastaların prognozları değerlendirildiğinde, 70 hastanın 36'sı (%51,4) takipleri sonunda ex olmuş, 34 hasta ise (%48,6) hastaneden taburcu edilmiştir. Ex olan hastalarda invaziv candida enfeksiyonu geliştikten ex olana kadar geçen süre en kısa 1 gün ve en uzun 100 gün idi ve bu hastalar için ex olana kadar geçen süre ortalama $23,3 \pm 25,1$ gündü. Candidemi ve candidemi dışı invaziv enfeksiyonu olan vakalar karşılaştırıldığında candidemili hastalarda ex olma oranı diğer hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ($p=0,012$) (Tablo 3)

Tablo 3. Hastaların kandidemi ve kandidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu tanılarına göre prognoz dağılımları (n (%))

Tanı	Ex olan	Yaşayan	Toplam	p değeri
Kandidemi	33 (58,9)	23 (41,1)	56 (100)	0,012
Kandidemi dışı enfeksiyon	3 (21,4)	11 (78,6)	14 (100)	

Hastaların prognozu ve ex olan hastalar için geçen süreler, hastalarda izole edilen türe göre karşılaştırıldığında ise *C.albicans* üremesi olan 25 hastanın %72'si ($n=18$) ex olmuş, %18'i ($n=7$) ise taburcu olmuşken, non-albicans üremesi olan hastalarda ise 45 hastanın %40'ı ($n=18$) ex olmuş, %60'ı ($n=27$) ise taburcu olmuştur. Buna göre *C.albicans* üremesi olan hastaların ex olma oranı diğer gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ($p=0,010$) (Tablo 4)

Tablo 4. Hastaların türlere göre prognoz dağılımı (n (%))

İzolat türü	Ex olan	Yaşayan	Toplam	p değeri
<i>C.albicans</i>	18 (72)	7 (28)	25 (100)	0,010
Non-albicans Candida	18 (40)	27 (60)	45 (100)	

Bu iki grupta ex olan hastalar için candida enfeksiyonu geliştikten sonra ex olana kadar geçen süre karşılaştırıldığında, *C.albicans*'lı ex olan 18 hasta için ortalama geçen süre 15 gün iken, non-albicanslı ex olan 18 hasta için ortalama süre 21 gün olarak bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p=0,059$)

4.2.Risk faktörlerinin değerlendirilmesi:

Çalışmamızdaki hastalara ait risk faktörlerinin dağılımı tablo 5'te gösterilmiştir. Hastalara ait risk faktörleri değerlendirildiğinde; hastaların %15,7'sinde (n=11) Diyabetes mellitus tanısı olduğu ve %84,3'ünün (n=59) ise bilinen diyabet tanısı olmadığı saptandı. Candidemi tanılı hastalarda Diyabetes mellitus oranı %19,6 iken, candidemi dışı invaziv enfeksiyonu olan hastaların hiçbirinde Diyabetes mellitus tanısı bulunmamaktadır.

Tablo 5. Risk faktörlerinin türlere ve tanılara göre dağılımı (n (%))

Risk faktörleri (n _T)	<i>C.albicans</i>	Non-albicans	p değeri	Kandidemi	Kandidemi dışı	p değeri
Bakteriyemi (n _T =13)	3 (12)	10 (22,2)	0,35	13 (23,2)	0 (0)	
DM (n _T =11)	6 (24)	5 (11,1)	0,18	11 (19,6)	0 (0)	
EVDS (n _T =2)	2 (8)	0 (0)		2 (3,6)	0 (0)	
Geçirilmiş cerrahi (n _T =24)	4 (16)	20 (44,4)	0,016	16(28,6)	8 (57,1)	0,061
Geniş Spek. Ab. (n _T =44)	14 (56)	30 (66,7)	0,37	41 (73,2)	3 (21,4)	<0,001
Hemodiyaliz (n _T =10)	5 (20)	5 (11,1)	0,47	8 (14,3)	2 (14,3)	1
İmmüsupresif ted. (n _T =14)	5 (20)	9 (20)	1	12 (21,4)	2 (14,3)	0,72
Kan ürünü (n _T =47)	20 (80)	27 (60)	0,08	40 (71,4)	7 (50)	0,2
Kolonizasyon (n _T =18)	9 (36)	9 (20)	1	18 (32,4)	0 (0)	
Malignite (n _T =23)	8 (32)	15 (33,3)	0,9	17 (30,4)	6 (42,9)	0,52
Mekanik Vent. (n _T =34)	15 (60)	19 (42,2)	0,15	33 (58,9)	1 (7,1)	0,001
Nötropeni (n _T =3)	1 (4)	2 (4,4)	1	2 (3,6)	1 (7,1)	0,49
Periton Kateteri (n _T =2)	2 (8)	0 (0)		2 (3,6)	0 (0)	
Prematürite (n _T =5)	2 (8)	3 (6,7)	1	5 (9)	0 (0)	
Renal Yetmezlik (n _T =11)	5 (20)	6 (13,3)	0,5	9 (16,1)	2 (14,3)	1
SVK (n _T =28)	10 (40)	18 (40)	1	26 (46,4)	2 (14,3)	0,028
Toraks tüpü (n _T =6)	2 (8)	4 (8,9)	1	3 (5,4)	3 (21,4)	0,09
TPN (n _T =10)	3 (12)	7 (15,6)	1	8 (14,3)	2 (14,3)	1
Transplantasyon (n _T =4)	1 (4)	3 (6,7)	1	4 (7,2)	0 (0)	
Üriner kateter (n _T =43)	16 (64)	27 (60)	0,74	34 (60,7)	9 (64,3)	0,8
VP şant (n _T =3)	0 (0)	3 (6,7)		1 (1,8)	2 (14,3)	0,1

DM: Diyabetes Mellitus, EVDS: Ekstraventriküler Drenaj Sistemi, Geniş Spek. Ab: Geniş Spektrumlu Antibiyotik Kullanımı, SVK: Santral Venöz Kateter, TPN: Toral Parenteral Nutrisyon, VP şant: Ventriküloperitoneal şant n_T: Toplam sayı

70 hastadan %15,7'sinin (n=11) renal yetmezlik tanısı olduğu, %84,3'ünün (n=59) ise renal yetmezlik tanısı olmadığı öğrenildi. Hastalardan hemodiyalize girenler değerlendirildiğinde 10 hastanın (%14,3) hemodiyalize girdiği, bu hastalardan 8 tanesinin bilinen renal yetmezliği olduğu, 2 hastanın ise yatış süresinde yeni gelişen renal yetmezlikten dolayı diyalize girdiği öğrenildi. Renal yetmezliği olan 2 hastanın da periton kateteri bulunup periton diyalizi yaptıkları öğrenildi. Candidemi olan ve candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastalarda diyabet, renal yetmezlik ve hemodiyaliz öyküleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. (p>0,05)

Hastaların türe göre karşılaştırması yapıldığında *C.albicans* ve non-albicans candida üremesi olan hastalar arasında diyabet, renal yetmezlik ve hemodiyaliz öyküleri açısından anlamlı farklılık bulunamadı. (p>0,05)

Hastaların sadece %4,3'ünde (n=3) nötropeni saptanmışken, %95,7'sinde (n=67) nötropeni saptanmadı. Hastaların %32,9'unda (n=23) malignite öyküsü bulunurken, %67,1'inde (n=47) malignite öyküsü bulunmamaktadır. Hastaların %20'sinde (n=14) immunsupresif tedavi kullanımı varken, %80'inde (n=56) immunsupresif tedavi kullanma öyküsü bulunmamaktadır. Candidemi tanılı ve candidemi dışı invaziv enfeksiyonu olan hastalar arasında nötropeni varlığı, malignite ve immunsupresif kullanım öyküleri açısından anlamlı farklılık bulunamadı.(p>0,05) Hastalar türe göre karşılaştırıldığında ise *C.albicans* ve non-albicans candida üremesi olan hastalarda nötropeni, malignite ve immunsupresif tedavi öyküleri arasında anlamlı farklılık bulunamadı.(p>0,05)

70 hastadan %34,3'ünde (n=24) geçirilmiş cerrahi öyküsü bulunmaktadır. Cerrahi operasyonlar batin ve batin dışı olarak sınıflandırıldığında hastaların %17,1'inde (n=12) batını içeren operasyon öyküsü bulunmaktadır. Non-albicans candida türleri izole edilen hastalardan %44,4'ünde (n=20) geçirilmiş cerrahi öyküsü bulunurken, *C.albicans* izole edilen hastaların ise %16'sında (n=4) cerrahi öyküsü bulunmaktadır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. (p=0,016) (Tablo 6)

Tablo 6. Hastalarda izole edilen türe göre geçirilmiş cerrahi öyküsü dağılımı (n (%))

İzolat türü	G. cerrahisi olan	G. cerrahisi olmayan	Toplam	p değeri
<i>C.albicans</i>	4 (16)	21 (84)	25 (100)	0,016
Non-albicans Candida	20 (44,4)	25 (55,6)	45 (100)	

Hastaların 4'ünde (%5,7) organ transplantasyonu öyküsü bulunmaktaydı. Bu hastaların da ikisinde kemik iliği transplantı, birinde renal transplant, birinde ise karaciğer transplantı öyküsü bulunmaktaydı.

Prematürite sadece yenidoğan ve çocuk kliniklerindeki hastalar için değerlendirilen bir risk faktörüydü ve hastalarımızın sadece beş tanesi prematüreydi.

Hastalarda son 1 ay içerisinde geçirilen bakteriyemi öyküsü ve invaziv candida enfeksiyonu öncesi geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı öyküsü değerlendirildi. Hastaların %18,6'sında (n=13) son bir ay içerisinde gelişen bakteriyemi saptandı ve %81,4'ünde (n=57) ise bakteriyemi öyküsü bulunamadı. Bakteriyemi saptanan hastalardan ikisinde *Enterococcus spp*, ikisinde *Klebsiella pneumoniae*, iki hastada *Pseudomonas aeruginosa*, birinde *Acinetobacter baumannii*, birinde *Escherichia coli*, birinde *Chryseobacterium indologenes*, bir hastada *Ochrobactrum antropi*, bir hastada Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*(MRSA) , bir hastada Metisilin Duyarlı *Staphylococcus aureus*(MSSA) ve bir hastada da *Klebsiella aerogenes* ve *Acinetobacter baumannii* 'nin birlikte bakteriyemileri olduğu öğrenildi. (Tablo 7)

Tablo 7. Bakteriyemili hastalarda etkenlerin dağılımı

<i>Etken</i>	<i>Sayı</i>
<i>Enterococcus spp.</i>	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i>	1
Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>	1
Metisilin Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Ochrobactrum antropi</i>	1

Hastalardaki son bir ay içerisindeki antibiyotik kullanımı değerlendirildiğinde hastaların %62,9'unda (n=44) geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı öyküsü bulunduğu, %37,1'inde (n=26) ise antibiyotik kullanım öyküsü bulunmadığı öğrenildi. Candidemi tanımlı hastalarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanma oranı candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu tanımlı hastalara göre çok anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ($p<0,001$) (Tablo 8)

Tablo 8. Hastaların tanılarına göre geniş spektrumlu antibiyotik kullanım oranları (n (%))

Tanı	GS Ab kullanan	GS Ab kullanmayan	Toplam	p değeri
Candidemi	41 (73,2)	15 (26,8)	56 (100)	<0,001
Candidemi dışı enfeksiyon	3 (21,4)	11 (78,6)	14 (100)	

Hastaların türe göre karşılaştırılmasında *C.albicans* ve non-albicans candida üremesi olanlar arasında bakteriyemi ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı açısından anlamlı farklılık bulunamadı. ($p>0,05$)

İnvaziv candida enfeksiyonu gelişen hastalarımızın geçirdikleri girişimsel işlemler, kan ürünü kullanıp kullanılmadığı ve kateter gibi yabancı cisim bulunup bulunmadığı değerlendirildi. Hastaların %67,1'inde (n=47) kan ürünü kullanımı varken, %32,9'unda (n=23) ise kan ürünü kullanımı öyküsü saptanmadı.

Hastaların %48,6'sında (n=34) mekanik ventilasyon öyküsü bulunurken, %51,4'ünde (n=36) böyle bir öykü saptanmadı. Candidemi olan hastaların %58,9'unda (n=33) mekanik ventilasyon öyküsü varken, candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastaların ise sadece %7,1'inde (n=1) bu öykü bulunmaktadır. Buna göre candidemili hastalarda diğer gruba göre mekanik ventilasyon uygulaması anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. ($p=0.001$) (Tablo 9)

Tablo 9. Hastaların tanılarına göre mekanik ventilasyon oranları (n (%))

Tanı	MV uygulanan	MV uygulanmayan	Toplam	p değeri
Candidemi	33 (58,9)	23 (41,1)	56 (100)	0,001
Candidemi dışı enfeksiyon	1 (7,1)	13 (92,9)	14 (100)	

Hastaların %14,3'ünde (n=10) total parenteral beslenme öyküsü bulunduğu, kalan %85,7'sinde (n=60) ise böyle bir öykü bulunmadığı saptanmıştır.

Hastaların %40'ında (n=28) santral venöz kateter (SVK) bulunurken, %60'ında (n=42) santral venöz kateter kullanımı saptanmadı. Candidemili hastaların %46,4'ünde (n=26) santral venöz kateter bulunurken, candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastaların ise sadece %14,3'ünde (n=2) bulunmaktadır. Buna göre candidemili hastalarda diğer gruba göre santral venöz kateter bulunma oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.(p=0,028) (Tablo 10)

Tablo 10. Hastaların tanılarına göre santral venöz kateter kullanım oranları (n (%))

Tanı	SVK bulunan	SVK bulunmayan	Toplam	p değeri
Candidemi	26 (46,4)	30 (53,6)	56 (100)	0,028
Candidemi dışı enfeksiyon	2 (14,3)	12 (85,7)	14 (100)	

Hastaların %61,4'ünde (n=43) üriner kateter bulunurken, %38,6'sında (n=27) üriner kateter kullanımı olmadığı öğrenildi. Hastaların sadece iki tanesinde periton kateteri mevcuttu. Yalnızca iki hastada ekstreventriküler drenaj sistemi bulunmaktaydı. Sadece üç hastada ventriküloperitoneal şant mevcuttu. Hastalardan altı tanesinde ise toraks tüpü bulunmaktaydı. Candidemisi olan ve candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastalar arasında kan ürünü, TPN, üriner kateter, EVDS, VP şant ve toraks tüpü bulunma oranları açısından anlamlı farklılık saptanmadı. (p>0,05)

Hastalar izole edilen türe göre karşılaştırıldığında *C.albicans* ve non-albicans candida üremesi olan hastalar arasında kan ürünü kullanımı, TPN kullanımı, üriner

kateter, EVDS ,VP şant , toraks tüpü, mekanik ventilasyon ve santral venöz kateter gibi yabancı cisim bulundurma açısından da anlamlı farklılık saptanmadı. ($p>0,05$)

Hastalarda invaziv candida enfeksiyonu gelişmeden önce herhangi bir vücut bölgesi kültüründe candida üremesi varlığı değerlendirildiğinde, hastaların %25,7'sinde ($n=18$) bu şekilde bir üreme bulunduğu tespit edildi. Bu hastalardan 10 tanesinin idrar kültüründe, iki tanesinin yara kültüründe, bir hastanın periton sıvısı kültüründe, üç hastanın hem idrar hem yara kültüründe, bir hastanın hem idrar hem balgam kültüründe, bir hastanın ise hem yara hem aspirat kültüründe candida üremesi olduğu saptandı. (Tablo 11)

Tablo 11. Herhangi bir vücut bölgesinde candida üremesi olan hastaların dağılımı

Pozitif kültür yeri	Sayı
İdrar	10
İdrar ve yara	3
Yara	2
İdrar ve balgam	1
Yara ve aspirat	1
Periton	1
Toplam	18

4.3.İzolatların değerlendirilmesi:

Hastalardan gelen invaziv örnekler alındıkları yerlere göre değerlendirildiğinde, en fazla örnek 56 taneyle (%80) kan örnekleriydi. Kalan kan dışı 14 örnekten; 6 tanesi (%8,6) plevral mayi, üç tanesi (%4,3) beyin omurilik sıvısı, üç tanesi (%4,3) abse örneği, biri (%1,4) periton mayi ve biri de (%1,4) vitreus sıvısı idi. (Tablo 12)

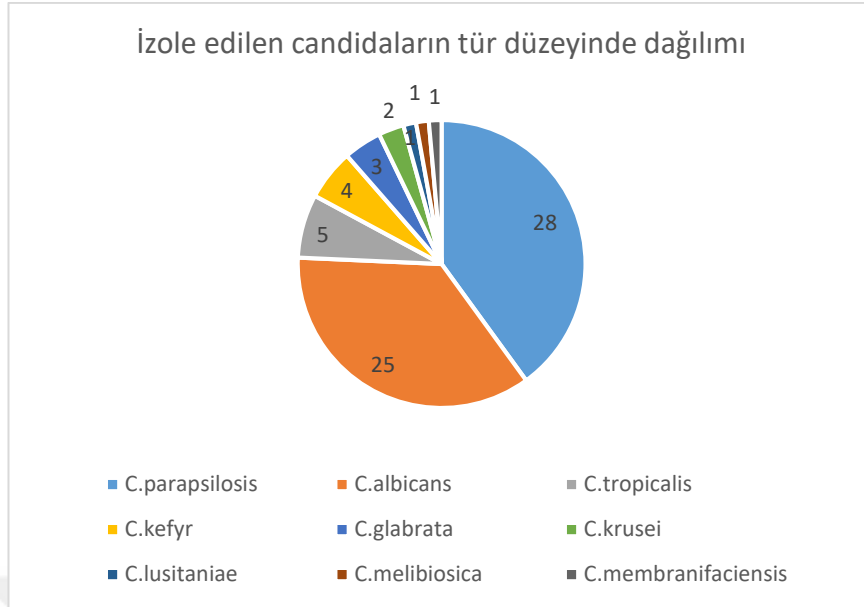
Tablo 12. İnvaziv örnek alınan yerlerin dağılımı

Örnek alınan yer	Sayı (n)	Yüzde (%)
Kan	56	80,0
Plevral mayi	6	8,6
Abse	3	4,3
BOS	3	4,3
Periton mayi	1	1,4
Vitreus sıvısı	1	1,4
Toplam	70	100

İzole edilen candidaların tür düzeyinde sınıflandırılması değerlendirildiğinde, suşların 28 tanesi (%40) *Candida parapsilosis*, 25 tanesi (%35,7) *Candida albicans*, 5 tanesi (%7,1) *Candida tropicalis*, dört tanesi (%5,7) *Candida kefir*, üç tanesi (4,3) *Candida glabrata*, ikisi (%2,9) *Candida krusei* ve birer tane (%1,4) *Candida lusitaniae*, *Candida melibiosica* ve *Candida membranifaciensis* idi. (Tablo 13)

Tablo 13. İzole edilen candidaların tür düzeyinde dağılımı

Tür	Sayı (n)	Yüzde (%)
<i>C.parapsilosis</i>	28	40
<i>C.albicans</i>	25	35,7
<i>C.tropicalis</i>	5	7,1
<i>C.kefir</i>	4	5,7
<i>C.glabrata</i>	3	4,3
<i>C.krusei</i>	2	2,9
<i>C.lusitaniae</i>	1	1,4
<i>C.melibiosica</i>	1	1,4
<i>C.membranifaciensis</i>	1	1,4
Toplam	70	100



Şekil 2. İzole edilen candidaların tür düzeyinde dağılımı

4.4. Virulans faktörlerinin değerlendirilmesi:

Virulans faktörlerinden proteinaz, fosfolipaz ve biyofilm aktiviteleri değerlendirildi. Suşların virulans faktörlerinin dağılımı tablo 14’te gösterilmiştir.

Tablo 14. Virulans faktörlerinin (Proteinaz, Fosfolipaz ve Biyofilm) izole edilen türlere göre dağılımı

Tür (nt=sayı)	Proteinaz (+) n (%)	Fosfolipaz (+) n (%)	Biyofilm (+) n (%)
<i>C.parapsilosis</i> (28)	26 (92)	0 (0)	2 (8)
<i>C.albicans</i> (25)	25 (100)	22 (88)	3 (12)
<i>C.tropicalis</i> (5)	5 (100)	1 (20)	5 (100)
<i>C.kefyr</i> (4)	0 (0)	0 (0)	2 (50)
<i>C.glabrata</i> (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C.krusei</i> (2)	0 (0)	0 (0)	2 (100)
<i>C.lusitaniae</i> (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C.melibiosica</i> (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C.membranifaciensis</i> (1)	0 (0)	0 (0)	1 (100)

İncelenen 70 candida suşunun %80'inde (n=56) proteinaz aktivitesi pozitif olarak bulundu. Proteinaz aktivitesi pozitif olan suşlardan 16 tanesi (%22,7) kuvvetli pozitif (++) iken, 40 tanesi (%57,3) zayıf pozitif (+) idi. Proteinaz aktivitesi pozitif olan suşların 25'i (%44,6) *C.albicans*, 26'sı (%46,4) *C.parapsilosis* ve 5'i (%9) *C.tropicalis* idi. İki *C.parapsilosis* suşu proteinaz negatif idi. *C.kefyr*, *C.krusei*, *C.glabrata*, *C.lusitaniae*, *C.melibiosica* ve *C.membranifaciensis* türlerinin hiçbirinin proteinaz aktivitesi saptanamadı. Proteinaz aktivitesi tür düzeyinde karşılaştırıldığında izole edilen 25 *C.albicans* suşunun hepsinde proteinaz aktivitesi pozitif bulunmuşken, 45 non-albicans candida suşunun 31 tanesinde proteinaz aktivitesi pozitif, kalan 14 suşun ise proteinaz aktivitesi negatif bulunmuştur. (Tablo 15)

Tablo 15. İzole edilen türe göre proteinaz aktivitesi dağılımı (n (%))

İzolat türü	Proteinaz (+)	Proteinaz (-)	Toplam
<i>C.albicans</i>	25 (100)	0 (0)	25 (100)
Non-albicans Candida	31 (68,9)	14 (31,1)	45 (100)

Fosfolipaz aktiviteleri değerlendirildiğinde; 70 suşun %32,8'inde (n=23) fosfolipaz aktivitesi pozitif olarak saptanırken, %67,2'sinde (n=47) fosfolipaz aktivitesi negatif olarak bulundu. Fosfolipaz aktivitesi pozitif olarak bulunan suşlardan 13 tanesi (%18,4) 4+(++++); 5 tanesi (%7,1) 3+(+++); 3 tanesi (%4,2) 2+(++) ve 2 tanesi (%3,1) de 1+(+) olarak bulundu. Fosfolipaz pozitif suşların 22'si (%95,6) *C.albicans* ve biri (%4,4) *C.tropicalis* idi. Bu *C.albicans* ve *C.tropicalis* dışındaki tüm candida türlerinin, 3 adet *C.albicans* suşunun ve 4 adet *C.tropicalis* suşunun fosfolipaz aktiviteleri negatif olarak saptandı. (Tablo 14)

Fosfolipaz aktivitesi tür düzeyinde karşılaştırıldığında izole edilen 25 *C.albicans* suşunun 22 tanesinde fosfolipaz aktivitesi pozitif iken, 45 non-albicans candida suşunun sadece bir tanesinde fosfolipaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. İki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,001$) (Tablo 16)

Tablo 16. İzole edilen türe göre fosfolipaz aktivitesi dağılımı (n (%))

İzolat türü	Fosfolipaz (+)	Fosfolipaz (-)	Toplam	p değeri
<i>C.albicans</i>	22 (88)	3 (12)	25 (100)	<0,001
Non-albicans Candida	1 (2,2)	44 (97,8)	45 (100)	

Biyofilm aktivitelerinin değerlendirilmesinde ise 70 candida suşunun %21,4'ünde (n=15) biyofilm aktivitesi pozitif olarak bulundu ve hastaların %78,6'sında (n=55) ise biyofilm aktivitesi negatif idi. Biyofilm aktivitesi pozitif olan suşlardan 2 tanesi (%2,8) kuvvetli pozitif (+++); 7 tanesi (%10,1) orta pozitif (++) ve 6 tanesi (%8,5) de zayıf pozitif (+) olarak saptandı. Biyofilm pozitif olan suşların 5'i (%35) *C.tropicalis*, 3'ü (%20) *C.albicans*, 2'si (%13) *C.kefyr*, 2'si (%13) *C.parapsilosis*, 2'si (%13) *C.krusei* ve 1'i (%6) *C.membranifaciensis*'idi. *C.melibiosica*, *C.lusitaniae* ve *C.glabrata* suşlarının hiçbirinde biyofilm aktivitesi saptanamadı. (Tablo 14)

İzole edilen 25 *C.albicans* ve 45 non-albicans candida türleri arasında biyofilm aktivitesi açısından anlamlı farklılık saptanmadı(p=0,226)

Virulans faktörleri açısından candidemili ve candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastaların sonuçları benzer bulunmuştur. (p>0,05)

4.5.Antifungal duyarlılıkların değerlendirilmesi:

İzolatların antifungal duyarlılıkları Sensititre Yeast One AST Plate ile çalışıldı. Mikrodilüsyon temelli kolorimetrik değerlendirme sağlayan bu yöntemle suşların flukonazol, voikonazol, caspofungin, micafungin ve anidulafungin'e karşı duyarlılıklarını belirlemek için MİK değerleri saptandı. Bu MİK değerleri CLSI M27 S4 dokümanına göre değerlendirilerek antifungal duyarlılık sonuçları raporlandı. Çalışmamızda bulunan Birer *C.melibiosica*, *C.membranifaciensis*, *C.lusitaniae* ve dört tane *C.kefyr* suşu için CLSI rehberinde sınır değerleri bildirilmediği için bu suşların sadece MİK değerleri saptanmış, duyarlılık yorumu yapılamamıştır. İzolatların ortalama MİK değerleri tablo 17'da gösterilmiştir.

Tablo 17. Türlerle göre antifungallerin ortalama MİK değerleri

Tür (sayı)	Flukonazol	Vorikonazol	Caspofungin	Micafungin	Anidulafungin
<i>C.parapsilosis</i> (28)	5,69	0,08	0,28	0,72	0,80
<i>C.albicans</i> (25)	0,37	0,06	0,06	0,01	0,04
<i>C.tropicalis</i> (5)	1,60	0,23	0,03	0,02	0,05
<i>C.kefyr</i> (4)	0,16	0,01	0,02	0,04	0,19
<i>C.glabrata</i> (3)	21,33	-	0,07	0,05	0,14
<i>C.krusei</i> (2)	-	0,38	0,50	0,12	0,12
<i>C.lusitaniae</i> (1)	0,25	0,06	0,12	0,06	0,12
<i>C.melibiosica</i> (1)	0,25	0,03	0,02	0,02	0,03
<i>C.membranifaciensis</i> (1)	0,12	0,01	0,50	0,06	0,50

70 candida suşunun flukonazol için MİK değerleri en küçük 0,008 ve en büyük 32 µg/mL idi. Ortalama MİK değeri $3,55 \pm 7,49$ µg/mL olarak saptandı. 8 tane izolat flukonazole dirençli olarak bulundu ve bu suşların hepsi *C.parapsilosi* 'ti. 6 tane izolat da flukonazole doza bağımlı duyarlı bulundu. Doza bağımlı duyarlı olan suşların üç tanesi *C.glabrata* ve üç tanesi de *C.parapsilosis* idi. İki *C.krusei* suşu da flukonazole intrensek dirençli olduğu için bu suşlarda flukonazol MİK değeri araştırılmadı.

Candidemili hastaların flukonazol için ortalama MİK değeri 4 µg/mL iken candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu gelişen hastalarda flukonazolün ortalama MİK değeri 1,62 µg/mL bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p=0,043$) Candidemi saptanan hastaların 7' sinde izole edilen suş flukonazole dirençli iken, candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastalardan sadece birinde flukonazol direnci saptanmıştır. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p=1$)

Flukonazol ortalama MİK değerleri tür düzeyinde karşılaştırıldığında 25 *C.albicans* suşunun flukonazol için ortalama MİK değeri 0,37 µg/mL iken, 45 adet non-albicans candida suşunun ortalama MİK değeri 5,41 µg/mL bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,001$) Hiçbir *C.albicans* suşunda flukonazole direnç saptanmamıştır.

İzolatların vorikonazol için MİK değerleri en küçük 0,008 ve en büyük ise 1 µg/mL idi. Ortalama MİK değeri 0,089±0,175 µg/mL olarak saptandı. 70 suşun hiçbirinde vorikonazol direnci saptanmadı. 6 izolat vorikonazole doza bağımlı duyarlı olarak bulundu. Bu doza bağımlı duyarlı izolatların 5'i *C.parapsilosis* ve biri *C.tropicalis* idi. Vorikonazol ortalama MİK değerleri tür düzeyinde karşılaştırıldığında 25 *C.albicans* suşunun vorikonazol için ortalama MİK değeri 0,06 µg/mL iken, 45 adet non-albicans candida suşunun ortalama MİK değeri 0,11 µg/mL bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,001$)

70 candida suşunun caspofungin için MİK değerleri en küçük 0,008 ve en büyük 0,5 µg/mL idi. Ortalama MİK değeri 0,162±0,180 µg/mL olarak saptandı. Suşların hiçbirinde caspofungin direnci saptanmazken, sadece iki *C.krusei* suşu caspofungin için orta duyarlı olarak bulundu.

Suşların micafungin için MİK değerleri en küçük 0,008 ve en büyük 2 µg/mL idi. Suşların ortalama MİK değeri 0,356±0,529 µg/mL olarak saptandı. Suşların hiçbirinde micafungin direnci saptanmadı.

70 candida izolatının anidulafungin için MİK değerleri en küçük 0,015 ve en büyük 2 µg/mL idi. İzolatların ortalama MİK değeri 0,366±0,554 µg/mL olarak saptandı. Suşların hiçbirinde anidulafungin direnci saptanmadı.

Ekinokandinlerin ortalama MİK değerleri türe göre karşılaştırıldığında non-albicans candida suşlarının caspofungin, micafungin ve anidulafungin için ortalama MİK değerleri, *C.albicans* suşlarının ortalama MİK değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. (p değerleri caspofungin, micafungin ve anidulafungin için sırasıyla $p=0,001$; $p<0,001$ ve $p<0,001$)

Vorikonazol, caspofungin, micafungin ve anidulafungin için ortalama MİK değerleri candidemi ve candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu gruplarında benzer bulunmuştur. ($p>0,05$)

İzole edilen candida suşlarının virulans faktörleri ile antifungal duyarlılıkları arasındaki ilişki incelendi. İncelenen flukonazol, vorikonazol ve ekinokandin grubu antifungallerin ortalama MİK değerleri, biyofilm ve proteinaz aktivitesi pozitif ve negatif olan suşlar arasında benzer olarak bulundu. Ancak fosfolipaz aktivitesi negatif

olan suşların flukonazol, vorikonazol, caspofungin, micafungin ve anidulafungin için ortalama MİK değerleri, fosfolipaz pozitif olan suşların MİK değerlerine göre yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,05$) Flukonazol duyarlı olan suşların %43,4'ünde ($n=23$) fosfolipaz aktivitesi pozitif iken, flukonazol dirençli tüm suşların fosfolipaz aktivitesi negatif bulunmuştur. (Tablo 18)

Tablo 18. Suşların flukonazol duyarlılıklarına göre fosfolipaz aktivitelerinin dağılımı

Flukonazol	Fosfolipaz (+)	Fosfolipaz (-)	Toplam
Duyarlı (S)	23 (43,4)	30 (56,6)	53 (100)
Dirençli (R)	0 (0)	8 (100)	8 (100)

5.TARTIŞMA

Candidalar insanlarda enfeksiyona en sık neden olan fungal patojenlerdir. Son yıllarda özellikle 1980'lerden itibaren sağlık sistemindeki değişim ve gelişimler nedeniyle candidaların önemi giderek artmaktadır. Bunun nedenleri arasında en önemlisi immunsüpresif tedaviler nedeniyle bağışıklığı baskılanmış hasta sayısındaki artıştır. Yine gelişen sağlık sistemi sonucu yaşlı popülasyon oranı artmış ve özellikle bu popülasyonda uzun süreli hastane ve yoğun bakım yatış oranları bu artışıdaki önemli nedenlerdendir. Uzun süreli hastane yatışları nedeniyle hastalara uygulanan girişimsel işlemler artmakta ve bu işlemler de doğal bariyerleri bozmaktadır. Bunun sonucunda da insanın normal florasında bulunan candida türleri çeşitli vücut bölgelerine yerleşmekte ve fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır (11,79).

Candidaların nazokomiyal enfeksiyonlar arasında da önemli bir yeri vardır. Hastaların özellikle yoğun bakımda yatış sürelerinin uzaması, uygulanan girişimler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının artması, immunsüpresif tedavilerin artması gibi nedenler nazokomiyal mantar enfeksiyonlarının artmasını sağlamıştır. Nazokomiyal mantar enfeksiyonları arasında da ilk sırada candidalar bulunmaktadır (3,11).

Nazokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonları arasında candidalara bağlı enfeksiyonlar önemli bir yer tutmaktadır. Pfaller ve ark'nın 1995-96 yıllarında Amerikada ulusal nazokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonları sürveyans programı dahilinde yaptıkları çalışmada ABD'nin farklı bölgelerinden 50 adet sağlık merkezinden bilgi toplanmış ve çalışma sonucunda candidaların nazokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonları arasında 4. sırada yer aldığı saptanmıştır (78). Avrupada ise candidemi oranı ABD'ye göre daha düşük bulunmuştur. Sandven'in 2000 yılında yaptığı derleme çalışmasında dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmaları karşılaştırmış ve ABD'de bir yıllık sürede candidemi sıklığı %5 civarında iken Avrupada bu oranın %2-3 olduğunu saptamıştır (80). Tortorano ve ark'nın 1997-1999 yılları arasında 7 Avrupa ülkesinden 106 merkezin dahil edildiği çalışmalarında hastaneye kabul edilen her 1000 hastada candidemi sıklığının 0,20-0,38 arasında olduğunu saptamışlardır (81).

Ülkemizden yapılan candidemi epidemiyoloji çalışmalarından ilki olan Bakır ve ark'nın 1994-2000 yıllarını kapsayan 400 yataklı bir üniversite hastanesinde yapılan çalışmalarında nazokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonları arasında candidemi oranının %20 ve hastaneye her 10.000 başvuruda candidemi sıklığının 11,1 olduğunu saptamışlardır. Bu oran diğer ülkelerden yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında daha yüksektir (79). Yine ülkemizden yapılan bir diğer çalışma olan Yapar ve ark'nın 850 yataklı bir üniversite hastanesinde 4 yıllık periyodu kapsayan çalışmalarında candidemi sıklığının hastaneye başvuran her 1000 hasta için 0,56 olduğunu ve candidemi insidansının 4 yıl boyunca anlamlı olarak arttığını bulmuşlardır (82). Yakın zamanlı çalışmalardan Çiçek-Kolak ve ark'nın bir üniversite hastanesinde yaptıkları çalışmada ise 2 yıllık periyotta candidemi insidans hızını 1000 başvuruda 1,22 vaka olarak bulmuşlardır (83). Hazırolan ve ark'nın 2010-2015 yılları arasında kapsayan 1000 klinik ve 80 yoğun bakım yataklı bir eğitim araştırma hastanesinde yaptıkları çalışmada 3840 nazokomiyal enfeksiyon içerisinde 350 adet candida nazokomiyal enfeksiyonu saptamışlar. Bu oran nazokomiyal enfeksiyonlar arasında %9,1 olarak bulunmuştur (84). Ülkemizden yapılan çalışmalarda saptanan her 1000 hasta başvurusu için candidemi insidans hızı oranları tablo 19'de özetlenmiştir.

Tablo 19. Ülkemizden yapılan çalışmalarda saptanan her 1000 başvuru için candidemi insidans hızı oranları

ÇALIŞMA	YER	YIL	KANDİDEMİ
Bakır ve ark'nın	İSTANBUL	1994-2000	1,11
Yapar ve ark'nın	İZMİR	2000-2003	0,56
Yenigün ve ark'nın	EDİRNE	2008	1,68
Hazırolan ve ark'nın	ANKARA	2010-2015	2,58
Çiçek-Kolak ve ark'nın	ANTALYA	2016	1,22

Bizim üniversitemizde Erol ve ark'nın 1997-98 yılları arasında 20 aylık periyotta yoğun bakım ünitesindeki nazokomiyal enfeksiyonları araştırdıkları 99 vakanın incelendiği çalışmada candidaların %7,5 sıklıkla yoğun bakım ünitesindeki hastane enfeksiyonlarının etkeni olduğu ve diğer etkenler içerisinde 6. Sırada olduğu bulunmuştur (85). Yine üniversitemizde 1999 yılında Taşyaran ve ark'nın yaptığı

hastanemizdeki tüm klinikleri ve yoğun bakımları kapsayan çalışmada bir yıllık sürede gelişen hastane enfeksiyonu vakası 1122 tane olup candidalar 68 vaka ile etkenler içerisinde 6.sırada olup %6,1 sıklıkta hastane enfeksiyonu etkeni olarak saptanmıştır (86).

Candida türleri içerisinde son dekada kadar en sık görülen tür *C.albicans* idi. Ancak 1990'lı yıllardan itibaren non-albicans candidaların sıklığında önemli bir artış görülmeye başlanmıştır. Bunun nedeni, özellikle azol grubu antifungallerin tedavi ve profilakside sık kullanılmaya başlanması sonucu daha duyarlı bir tür olan *C.albicans*'ın baskılanıp daha dirençli ve virulan olan albicans dışı candidaların artış göstermesidir. Albicans dışı candidalarda intrensek direnç de görülebilmektedir. Örneğin *C.krusei*'nin sık kullanılan ajanlardan flukonazole intrensek dirençli olması gibi. Non-albicans türlerin sıklığı ise genellikle coğrafi bölge özellikleri, hastanelerdeki tedavi seçimleri gibi faktörlere bağlıdır (11,78,79).

Cleveland ve ark'nın 2008-2011 yılları arasını kapsayan 3 yıllık surveyans çalışmasında Atlanta ve Baltimore'da 39 hastaneden candidemi tanılı hastaların verileri toplanmış ve Atlanta'da 1992-1993 ve Baltimore'da 1998-2000 yıllarında yapılan surveyans çalışmaları ile karşılaştırılmış. Karşılaştırma sonucunda Atlanta'da 1993 de yapılan çalışmada *C.albicans* sıklığı %52, non-albicans candida sıklığı ise %48 iken, yeni yapılan çalışmada *C.albicans* sıklığının %40'a düştüğü, non-albicans candidaların sıklığının ise %60'a yükseldiği görülmüştür. Baltimore'da ise ilk çalışmada *C.albicans* sıklığı %42, non-albicans candida sıklığı ise %58 iken, yeni yapılan çalışmada *C.albicans* sıklığının %33'e düştüğü, non-albicans sıklığının ise %67'ye yükseldiği saptanmıştır. Bu çalışmada non-albicans candidalardan en sık üç etken sırasıyla *C.glabrata*, *C.parapsilosis* ve *C.tropicalis* olarak bulunmuştur (87). ABD de yapılan Harrington ve ark'nın çalışmasında ise pediatrik hasta grubu değerlendirilmiş ve bu hastalarda non-albicans candida türlerinden en sık izole edilen *C.parapsilosis* olmuştur (91).

Pfaller ve ark'nın 2004-2008 yılları arasında PATH(Prospective Antifungal Therapy) kayıtlarının verilerini kullandığı çalışmalarında candidemili hastalardan izole edilen 4067 izolat arasında tür düzeyinde en sık etken %42,1 ile *C.albicans*

olmakla birlikte, tüm izolatlar içerisinde non-albicans türler %57,9 sıklığında saptanmıştır. Non-albicans türlerden yine en sık görülen tür *C.glabrata* olmuştur (88).

Hindistanda Deorukhkar ve ark'nın 2010-2013 yılları arasındaki 523 candida izolatını değerlendirdikleri çalışmada izolatların %36,7'si *C.albicans* iken, %63,3'ü non-albicans candida olarak tanımlanmıştır. Non-albicans türlerden de en sık *C.tropicalis*, ikinci sırada *C.glabrata* tanımlanmıştır (89).

Gong ve ark'nın yaptığı çalışmada 2009-2011 yılları arasında Çin'de 67 yoğun bakım ünitesindeki 306 invaziv candida enfeksiyonu olan hastalarda %40,1 oranında *C.albicans* izole edilmişken %59,9 oranında non-albicans candida türleri izole edilmiş. Non-albicans türlerden de en sık izole edilen *C.parapsilosis*, ikinci sırada *C.tropicalis* olmuştur (90).

Yine Pfaller ve ark'nın yaptığı 39 ülkede 135 merkezin 20 yıllık invaziv candida enfeksiyonu verilerinin değerlendirildiği geniş kapsamlı çalışmada 20.788 candida izolatı içerisinde ilk yılların verilerinde *C.albicans*'ın %57,4 ile en sık etken olduğu non-albicans türlerin ise %42,6 oranında olduğu saptanmış. Ancak günümüze yaklaştıkça *C.albicans* oranının azalarak en son 2016 verilerinde %46,4'e düştüğü, non-albicans türlerin ise oranlarının %53,4'e yükseldiği saptanmıştır. Non-albicans türlerden ise en sık *C.glabrata* iken, ikinci sırada *C.parapsilosis* gelmektedir (92).

Morii ve ark'nın çalışmasında(106) ve Doi ve ark'nın çalışmasında(107) da non-albicans türler daha yüksek oranda bulunmuştur. Non albicans türlerden de iki çalışmada da en sık *C.parapsilosis* saptanmıştır.

Ülkemizden yapılan çalışmalara bakıldığında Hazırolan ve ark'nın yaptığı çalışmada nazokomiyal candida enfeksiyonlarında etkenlerin %39,7'si *C.albicans* iken %66,7 si ise non-albicans türler olduğu saptanmıştır. Non-albicans türlerden de en sık %20,9 ile *C.parapsilosis* iken, ikinci en sık %17,4 ile *C.glabrata* olmuştur (84).

Çetin ve ark'nın bir eğitim araştırma hastanesi yoğun bakım ünitesinde iki yıllık süreci kapsayan çalışmalarında 41 nazokomiyal candida enfeksiyonu değerlendirilmiş ve non-albicans türlerin %73,2 oranında etken olduğu saptanmıştır. Non-albicans türlerden de en sık %53,7 ile tiplendirilmemiş candida türleri olduğu bulunmuştur (93).

Alışkan ve ark'nın üç yıllık süreçte kandidemi olgularını inceledikleri çalışmalarında 163 olgunun %51,5'inde non-albicans türlerin etken olduğu, %48,5'inde ise *C.albicans*'ın etken olduğu bulunmuştur. Non-albicans türlerden en sık *C.parapsilosis* izole edilmiştir (94).

Gültekin ve ark'nın 5 yılda 46 candidemi izolatını değerlendirdiği çalışmalarında non-albicans türlerin %63, *C.albicans*'ın ise %37 oranında etken olduğu, en sık izole edilen türün ise %39 ile *C.parapsilosis* olduğu saptanmıştır (95).

Yiş ve ark'nın çalışmasında 146 candida izolatının PCR ile tiplendirilmesi sonucu %27,3'ünün *C.albicans*, %72,7'sinin non-albicans türler olduğu ve en sık non-albicans türün %18,4 ile *C.parapsilosis* olduğu saptanmıştır (96).

Özkaya ve ark'nın bir şehir hastanesinde 3 yıllık candidemi verilerini değerlendirdiği çalışmalarında 93 candida izolatının en sık %62 ile *C.parapsilosis*, ikinci sırada %34 ile *C.albicans* olduğunu saptamışlardır (97).

Bizim çalışmamızda da yakın zamanlı bu çalışmalarla benzer şekilde non-albicans candidaların oranı 70 suş içerisinde %64,3 olup, *C.albicans* oranı %35,7 olarak bulunmuştur. en sık izole edilen tür %40 ile *C.parapsilosis* olmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalarda non-albicans türlerden en sık görülen türler tablo 20'de özetlenmiştir.

Tablo 20. Ülkemizde yapılan çalışmalarda non-albicans türlerden en sık görülen türler

ÇALIŞMA	YER	YIL	TÜR	ORAN
Bakır ve ark	İSTANBUL	1994-2000	<i>C.parapsilosis</i>	%32,2
Karakoç ve ark	ERZURUM	2007	<i>C.tropicalis</i>	%29,5
Gültekin ve ark	AYDIN	2005-2010	<i>C.parapsilosis</i>	%39
Yapar ve ark	İZMİR	2008-2009	<i>C.tropicalis</i>	%24,1
Alışkan ve ark	ANKARA	2008-2010	<i>C.parapsilosis</i>	%32,9
Hazırolan ve ark	ANKARA	2010-2015	<i>C.parapsilosis</i>	%20,9
Özkaya ve ark	K.MARAŞ	2013-2015	<i>C.parapsilosis</i>	%62
Çiçek-Kolak ve ark	ANTALYA	2016	<i>C.parapsilosis</i>	%22,5
Yiş ve ark	İZMİR	2017	<i>C.parapsilosis</i>	%18,4
Bu çalışma	ERZURUM	2018-2019	<i>C.parapsilosis</i>	%40

Dünyadan ve ülkemizden özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda non-albicans türlerin daha yüksek oranda etken olduğu saptanan yayınlara rağmen yine son yıllarda yapılan ve *C.albicans*'ın daha yüksek oranda bulunduğu çalışmalar da mevcuttur. Playford ve ark çalışmasında(105), Avrupa'dan Klingspor ve ark'nın çalışması(102), Lortholary ve ark'nın çalışması(103), Milazzo ve ark'nın çalışması(104) gibi geniş kapsamlı çalışmalarda da en sık etken *C.albicans* olarak bulunmuş ve non-albicans türlerden ise üç çalışmada en sık *C.glabrata*, diğerinde ise *C.parapsilosis* saptanmıştır.

Ülkemizde Savcı ve ark'nın çalışmasında(100), Atalay ve ark'nın çalışmasında(99), Öztürk ve ark'nın çalışmasında(101) Ergon ve ark'nın çalışmalarında(98) *C.albicans*'ın daha yüksek oranda etken olduğu saptanmıştır. Bu çalışmalarda non-albicans türlerin sıklığı da değişmektedir. İki çalışmada *C.parapsilosis*, bir çalışmada *C.glabrata* ve bir çalışmada da *C.tropicalis* en sık non-albicans tür olarak saptanmıştır.

Bizim üniversitemizde 2007 yılında Karakoç ve ark'nın çalışmasında kan kültürlerinden izole edilen 88 candida suşunun %34,1'i *C.albicans*, %65,9'u ise non-albicans türler olarak saptanmış ve non-albicans türlerden en sık *C.tropicalis* saptanmıştır (109). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde non-albicans türler daha yüksek oranda saptanmış ancak bu çalışmadan farklı olarak non-albicans türlerden en sık *C.parapsilosis* saptanmıştır.

Yine üniversitemizde 2012-2015 yılında yapılan Coşkun ve ark'nın çalışmasında candidemili 74 hastanın izolatları değerlendirilmiş ve %66,2 ile *C.albicans* en sık etken olurken %33,8 ile non-albicans türler izole edilmiştir. Non-albicans türlerden de en sık %20,2 ile *C.parapsilosis* izole edilmiştir (108). 3 yıl sonra yapılan bizim çalışmamızda ise non-albicans türler daha fazla oranda bulunmuş ancak non-albicans türlerden benzer şekilde en sık *C.parapsilosis* izole edilmiştir. Bu farklılığın sebebi bizim çalışmamızda kan dışı invaziv örnekler de dahil edilmişken, bu çalışmada sadece kan izolatları değerlendirilmiştir. Bunu destekler nitelikte bizim çalışmamızda kan dışı örneklerden izole edilen 14 suşun, %28,5'i(n=4) *C.albicans* iken, %71,5'i(n=10) non-albicans türlerdir.

Yapılan çalışmalarda invaziv kandidiyazis vakalarının çoğunluğunda en sık görülen klinik kablo kandidemi olmuştur. Nieto ve ark'nın(55) çalışmasında invaziv kandidiyazisli hastalardan izole edilen suşların %75,5'i kandan kalan %24,5'i ise kan dışı invaziv örneklerden soyutlanmıştır. Leon ve ark'nın iki çalışmasının birinde invaziv kandidiyazis vakalarının %63,7'si kandidemi iken, %36,3'ü kandidemi dışı invaziv candida enfeksiyonları; diğer çalışmalarında ise %59,7'si kandidemi, %40,3'ü ise kandidemi dışı enfeksiyon olarak belirlenmiştir (46,48). Ostrosky ve ark'nın (51) çalışmasında da vakaların %81,8'i kandidemi, %18,2'si kandidemi dışı invaziv enfeksiyon olarak tanımlanmıştır. Leroy ve ark'nın (126) çalışmasında da 271 invaziv kandidiyazis vakasının %34,4'ü izole kandidemi, %28,4'ü kandidemi ile birlikte invaziv candida enfeksiyonu ve %32,1'i ise kandidemi olmadan invaziv candida enfeksiyonu olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer şekilde invaziv kandidiyazis vakalarımızın %80'ini kandidemiler oluştururken, %20 vaka kandidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olarak tanımlanmıştır.

Candida enfeksiyonlarının son yıllarda artış göstermesinin önemli nedenleri hastane ve özellikle yoğun bakım yatış sürelerinin uzaması, girişimsel işlemlerin artması ve immunsuprese hasta popülasyonunun artması gibi nedenlerdir. Biz de çalışmamızda invaziv candida enfeksiyonu gelişen hastalardaki risk faktörlerinin varlığını araştırdık. Yapılan bir çok çalışmada yoğun bakımlarda uzun süreli yatış ve burada uygulanan girişimsel işlemler nedeniyle invaziv candida enfeksiyonlarının yoğun bakımlarda daha sık görüldüğü belirtilmiştir. Ostrosky-Zeichner ve ark invaziv kandidiyazislerle ilgili yaptıkları derlemede yoğun bakımlarda bu enfeksiyonların dahili ve cerrahi kliniklere göre 10 kat daha fazla görüldüğünü saptamışlardır (110). Blumberg ve ark'nın yaptığı çalışmada cerrahi yoğun bakımlarda gelişen 458 kan dolaşımı enfeksiyonu içerisinde kandidemilerin oranı %9,2 olarak saptanmış ve bu kandidemi vakaları yoğun bakıma yatıştan sonraki üç hafta içerisinde gelişmiş (56).

Yine ülkemizden yapılan Özkaya ve ark'nın(97) çalışmasında da kandidemi olgularının en sık %96 ile yoğun bakım ünitelerinde görüldüğü saptanmıştır. Hazırolan ve ark'nın(84) çalışmasında da yine yoğun bakımlarda candida enfeksiyonlarının diğer servislere göre daha sık olduğu bulunmuş. Aynı şekilde Yapar ve ark'nın(82) çalışmasında da kandidemilerin en sık yoğun bakım ünitelerinde saptandığı belirtilmiş. Bu çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da cerrahi ve dahili kliniklere göre

yoğun bakım ünitelerinde %55,6 ile invaziv candida enfeksiyonu oranı daha yüksek bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda invaziv candida enfeksiyonu gelişen hastalarda yaş ortalaması $41,6 \pm 30,7$ olarak bulunmuş. Cinsiyet ise %61,4'ü erkek, %38,6'sı kadın olarak bulundu. Karşılaştırılan gruplar arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı farklılık bulunamadı. Yapılan birçok çalışmada da cinsiyetin invaziv candida enfeksiyonları gelişimi üzerinde ve etken olan tür üzerinde bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Dünya genelinden ve ülkemizden çalışmalara bakıldığında erkek cinsiyet candida enfeksiyonları için risk faktörü olarak araştırılmış ve bu çalışmaların büyük bir kısmında erkek cinsiyette candida enfeksiyonu daha yüksek oranda bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış (41,52,114,115,116). Blumberg ve ark'nın(56) çalışmasında da bizim çalışmamızda olduğu gibi erkek hastalarda candidemi sıklığı daha fazla ve yaş ortalaması da $53,5 \pm 18,2$ idi. Ve bu çalışmadada cinsiyet ve yaş anlamlı farklılık oluşturmamıştı. Ancak Davis ve ark'nın (113) çalışmasında ise erkek cinsiyetin non-albicans türler ile gelişen candidemi oranını arttırdığı bulunmuştur. Tadeo ve ark'nın(54) çalışmasında ise cinsiyetin izole edilen türe göre anlamlı olduğu bulunmuş. Diğer türler erkek cinsiyette daha fazla izole edilmişken, *C.tropicalis* enfeksiyonunun erkek cinsiyette daha az olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda genellikle invaziv kandidiyazis gelişen hastaların yaş ortalaması 50 yaş üstü olarak bulunmuş (41,52,55,112,117,118,119). Ancak bir kaç çalışmada yaştan izole edilen tür ile ilişkisi ortaya konmuştur. Örneğin Cugno ve ark'nın (121) derlemesinde *C.krusei* ve *C.parapsilosis* türlerinin daha genç yaşlarda görüldüğü belirtilmiş. Tigen ve ark'nın(41) çalışmasında da non-albicans türlerin izole edildiği hasta popülasyonunun yaş ortalaması anlamlı olarak düşük bulunmuş. Wu ve ark'nın (120) çalışmasında da yine non-albicans türlerin izole edildiği hasta grubunun yaş ortalaması 41,2 iken *C.albicans*'lı hasta grubunun ortalaması 50,2 ile daha yüksek bulunmuş. Tadeo ve ark'nın(54) çalışmasında da diğer türlere göre *C.parapsilosis* izole edilen hastaların yaş ortalaması oldukça düşük bulunmuş. Bizim çalışmamızda da hastaların yaş ortalaması 41,6 ile bir çok çalışmadan daha düşük idi. Ancak bizim çalışmamızda da non-albicans candida izole edilen hasta grubu daha yüksek oranda,

ve bu grubun yaş ortalaması 31,42 idi. Ayrıca bizim çalışmamızda en sık izole edilen tür *C.parapsilosis* 'di ve çalışmada pediatrik yaş grubu da mevcuttu.

Hastaların özellikle yoğun bakımda yatış süreleri de candida enfeksiyonu gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Bir çok çalışmada 30 günden uzun süreli hastane yatışı candida enfeksiyonları için risk faktörleri içerisinde değerlendirilmiştir. Yine invaziv candida enfeksiyonu gelişen hastaların ortalama yatış süreleri 30 günün üzerinde bulunmuştur (52,115,116,117,122). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde hastalarımızın ortalama yatış süreleri 33,6 gün olarak saptanmıştı.

İnvaziv candida enfeksiyonlarının yüksek mortalite ile ilişkili olduğu birçok çalışmada belirlenmiştir (11). Özellikle yoğun bakım hastalarında nazokomiyal candida enfeksiyonunun mortaliteyi arttırdığı saptanmıştır (123). Birkaç çalışmada da mortalitenin izole edilen tür ile ilişkili olduğu belirtilmiş. Dimopoulos ve ark'nın(124) çalışmasında non-albicans candida izole edilen hastalarda mortalite oranının daha yüksek olduğu saptanmış. Pfaller ve ark'nın çalışmasında(13) ve Cugno ve ark'nın (121) çalışmasında *C.parapsilosis* düşük mortalite ile ilişkilendirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise *C.albicans* ve non-albicans türlerin izole edildiği hastalar karşılaştırıldığında *C.albicans*'lı hastalarda mortalite oranı daha yüksek bulunmuştu ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bunun sebebi bizim çalışmamızda en fazla izole edilen suşun *C.parapsilosis* olması ve bu etkenin de düşük mortalite ile ilişkili olması olabilir.

Ayrıca bizim çalışmamızda invaziv kandidiyazisli hastalardan candidemili olan hasta grubundaki ex olma oranı, candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştu. ($p=0,012$) Bunun sebebi ise candidemili hastalardan izole edilen türlerin %62,5'i non-albicans türler iken, %37,5'i *C.albicans* idi. Bu da non-albicans candidaların izole edildiği hastalardaki yüksek mortalite oranını belirten çalışmalarla benzerdir (115,124).

Çalışmamızda irdedeğimiz bir konu da invaziv kandidiyazis gelişen hastaların altta yatan hastalıklarının risk faktörü olarak değerlendirilmesi idi. Diyabetes mellitusun(DM) risk faktörü olarak araştırıldığı bir çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda invaziv kandidiyazis gelişen hastalarda altta yatan hastalıklardan en fazla görülenlerden biri Diyabetes mellitus olmuştur (114,125,126). Diyabetes Mellitus'un

anlamli farklılık oluşturmadığı çalışmalar da mevcuttur (41,52). Ayrıca Leroy ve ark'nın(126) çalışmasında invaziv kandidiyazisli hastalardan candidemili olan grupta candidemi dışı enfeksiyonu olanlara göre anlamli olmasa da Diyabetes mellitus daha fazla görülmüştür. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde candidemili hastalarda %19,1 oranında Diyabetes mellitus bulunurken, candidemi dışı inaziv enfeksiyonu olan grupta hiç Diyabetes mellitus'lu olgu saptanmamıştır. Yine çalışmalarda diyabetin izole edilen tür ile ilişkili olduğu da belirtilmiştir. Bir araştırmacı *C.albicans*'lılarda daha fazla DM saptamışken(120) , daha çok araştırıcı ise non-albicans grupta daha fazla DM'lu hasta saptamışlardır (13,55,117). Bizim çalışmamızda ise DM iki grup arasında benzer orandaydı.

Bir diğer risk faktörü renal yetmezlik ve hemodiyaliz öyküsü idi. Bir çok çalışmada risk faktörü olarak kronik renal yetmezlik ve hemodiyaliz kabul edilmiştir (13,119,126,127). Blumberg ve ark(56) ise akut renal yetmezliği risk faktörü olarak değerlendirmiştir. Bizim çalışmamızda iki risk faktörü ağıısından da karşılaştırma grupları arasında anlamli fark bulunmamıştır.

Risk faktörleri arasında nötropeni, malignite öyküsü,organ transplantasyonu ve immunsupresif tedavi de değerlendirilmiştir. Malignite öyküsü hematolojik malignite ve solid organ malignitesi olarak bir çok çalışmada risk faktörü olarak alınmıştır (41,52,54,122). Bizim çalışmamızda anlamli bulunmamıştır. Nötropenin ve hematolojik malignitenin özellikle *C.tropicalis* enfeksiyonları ağıısından riski arttırdığını saptayan çalışmalar mevcuttur (54,128). Bizim çalışmamızda sadece üç hasta nötropenikti. Onlardan bir hasta Akut lenfositik lösemi hastasıydı ve bu hastadan *C.tropicalis* izole edildi.

Organ transplantasyonu sonrasında uzun süreli immunsupresif tedavi kullanımını gerektirdiğı için invaziv candida enfeksiyonu gelişimi ağıısından risklidir (55,114). Ancak bizim çalışmamızda sadece dört tane transplantlı hasta bulunmaktaydı. Bu nedenle karşılaştırmalarımız anlamli olmadı. İmmunsupresif tedavi de yine bir çok çalışmada risk faktörü olarak değerlendirilmiştir. Bu tedaviler hem fırsatçı kandida enfeksiyonlarına yol açmakta aynı zamanda candidaların translokasyonuna da neden olabilmektedirler (13,114,115,126). Nieto ve ark (55) ayrıca immunsupresif tedavi öyküsünün non-albicans candidalarda daha fazla

olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da immunsupresif tedavi non-albicanslılarda daha fazla bulundu ancak anlamlı değildi. Bizim çalışmamızda malignite, organ transplantasyonu, nötropeni ve immunsupresif tedavi açısından karşılaştırma gruplarımızın oranları arasında anlamlı fark bulunamadı. Bunun sebebi çalışmamızda bu hasta popülasyonunun düşük sayıda olması olabilir.

Candidalar gastrointestinal flora başta olmak üzere bir çok vücut bölgesinde florada bulunan mayalardır. Bu nedenle özellikle batını içeren geçirilmiş cerrahi öyküsü candidaların translokasyonuna neden olabilir. Bu da invaziv enfeksiyon riskini arttırmaktadır (11,13). Bu konuda yapılmış çalışmalarda geçirilmiş operasyon risk faktörü olarak değerlendirilmiştir ve invaziv kandidiyazisle ilişkili bulunmuştur (56,110,115,118,125,126). Bizim çalışmamızda %34,3'ünde geçirilmiş cerrahi öyküsü mevcuttu. Cerrahilerin ise sadece %17,1'i batınla ilişkiliydi. Yapılan çalışmalarda cerrahi öyküsü olan hastalarda anlamlı olmasa da çoğunlukla non-albicans türlerin daha yüksek oranda etken olduğu belirlenmiştir (13,83,90,113,120). Çalışmamızda benzer şekilde non-albicans türler izole edilen hastalarda geçirilmiş cerrahi öyküsü *C.albicans*'lılara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Prematürite özellikle infantlarda yapılan çeşitli çalışmalarda risk faktörü olarak incelenmiştir. *C.parapsilosis* özellikle yenidoğan ve infantlarda daha sık görülen bir patojen olarak değerlendirilmektedir (120,121,122,131). Bizim çalışmamızda yalnızca beş hasta prematüdü o nedenle karşılaştırmalar anlamlı olmadı ve 5 hastadan ikisinde *C.parapsilosis* izole edildi.

Diğer incelediğimiz risk faktörleri hastalarda son bir ay içerisindeki bakteriyemi ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanım öyküsüydü. Yapılan bir çok çalışmada eş zamanlı veya yakın zamanda geçirilmiş bakteriyemi varlığı risk faktörü olarak değerlendirilmiş ancak bir kısmında kontrol gruba göre anlamlı bulunmamıştır (117,118,119,126). Literatürdeki bazı çalışmalarda bakteriyeminin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek oranda saptandığı bildirilmiş (41,116). Anunnatsiri ve ark'nın(129) çalışmasında ise bakteriyemi öyküsü *C.albicans*'lılarda daha yüksek oranda bulunmuş. Bizim çalışmamızda 70 hastadan sadece %18,6'sında bakteriyemi öyküsü mevcuttu ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulunamadı.

İnvaziv kandidiyazis gelişmeden önce geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı öyküsü de literatürdeki çalışmaların çoğunluğunda risk faktörü olarak değerlendirilmiş ve kontrol gruba göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. (41,43,55,114,115,117,118,119,125). Çalışmalarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı öyküsü candida türleri arasında anlamlı bulunmamış (54,117). Leroy ve ark'nın(126) çalışmasında candidemili hastalarda geniş spektrumlu antibiyotik öyküsü candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde candidemili grupta diğer gruba göre geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı anlamlı yüksek bulunmuştur.($p<0,001$)

Çalışmamızda risk faktörlerinden invaziv girişimler, kan ürünü kullanımı, kateter gibi yabancı cisimlerin varlığı değerlendirildi. Kan ürünü özellikle de eritrosit süspansiyonu kullanımının invaziv kandidiyazis risk faktörleri arasında değerlendirildiği bir çok çalışma vardır (43,119,125). Bizim çalışmamızda invaziv kandidiyazis gelişen 70 hastanın %67,1'inde kan ürünü kullanım öyküsü bulunmuş ancak karşılaştırılan gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Mekanik ventilasyon özellikle candida enfeksiyonu oranının yüksek olduğu yoğun bakım ünitelerinde çokça gerçekleştirilen girişimsel bir işlemdir. Bir çok çalışmada mekanik ventilasyon risk faktörü olarak değerlendirilmiştir (41,56,115,118,131). İki çalışmada da mekanik ventilasyon varlığı candida tür düzeyinde karşılaştırılmış ve türler arasında anlamlı farklılık saptanmamış (55,117). Leroy ve ark'nın(126) çalışmasında candidemili hastalarda mekanik ventilasyon oranı candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastalardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da mekanik ventilasyon hastalarımızın %48,6'sında saptandı ve Leroy'un çalışmasıyla benzer şekilde candidemili hastalarda mekanik ventilasyon oranı, candidemi dışı invaziv candida enfeksiyonu olan hastalardan anlamlı olarak yüksek bulundu.($p=0,001$)

Santral venöz kateter de vücuda yerleştirilen yabancı cisimlerden en sık kullanılanlardandır. Yine bir çok çalışmada kateteri bulunan hastalarda candida enfeksiyonunun daha sık görüldüğü saptanmıştır. (41,43,114,116,118,119,125,127,130,133). Bu olayda candidaların yabancı yüzeylerde biyofilm oluşturma yeteneğinin önemli rolü bulunmaktadır. Özellikle

C.parapsilosis'in kateter kaynaklı candida enfeksiyonlarında önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir (55,121). Ancak santral venöz kateter varlığının, candida türlerine bağlı enfeksiyonlar arasında farklı olmadığını belirten çalışmalar da vardır (54,113,117,120,122). Santral venöz kateterin bulunduğu gün sayısı arttıkça invaziv kandidiyazis riskinin arttığını saptayan çalışmalar da bulunmaktadır (116,119). Bizim çalışmamızda da türler arasında farklılık bulunmazken, candidemi gelişen hastalarda diğer gruba göre santral venöz kateterin daha fazla bulunduğu saptanmıştır.(p=0,028)

Üriner kateter de hastaneye yatan hastaların çoğunluğuna uygulanan bir girişimsel işlemdir. Çalışmalarda üriner kateter varlığı da risk faktörleri arasında değerlendirilmiştir (43,56,118,119,127). Üriner kateterin de süresi arttıkça riskin arttığını belirten çalışmalar vardır (115,119). Üriner kateter varlığının tür düzeyinde anlamlı olmadığını belirten çalışmalar mevcutken (122,126), aynı zamanda *C.parapsilosis* ve *C.glabrata*'nın üriner kateterlilerde daha düşük oranda etken olduğunu belirten çalışma da vardır (55). Bizim çalışmamızda da üriner kateter hastaların %61,4'ünde bulunurken, karşılaştırma grupları arasında benzer oranlar mevcuttu.

Total parenteral nutrisyon(TPN), enteral beslenmenin yapılamadığı özellikle yoğun bakım hastalarında ve özefagus cerrahisi sonrası uygulanan bir işlemdir. Bir çok çalışmada TPN'nin invaziv kandidiyazis riskini arttırdığı saptanmıştır (41,43,56,114,125,132). TPN'li hastalarda türe göre *C.albicans*'a bağlı invaziv enfeksiyon görülme riskinin arttığını saptayan çalışmalar bulunmaktadır (117,122). Bizim çalışmamızda sadece 10 hastada TPN öyküsü bulunmaktadır. Türler arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır.

Çalışmamızda 6 tane olguda toraks tüpü mevcuttu. Fungal ampiyemlerle ilgili çalışmalarda en sık etkenin candidalar olduğu ve etyolojide de sıklıkla trakeoözefageal fistül, özefagus perforasyonu, plevral effüzyon, post operatif, pnömoni gibi patolojilerin bulunduğu bildirilmiştir (134,135). Bir çalışmada fungal ampiyem olan 116 hastanın %26,7'sinde fungemi geliştiği bildirilmiştir (133). Bizim hastalarımızın da üç tanesi özefagus perforasyonu, biri pnömoni, birisi plevral effüzyon ve birisi de fistül tanımlı hastalardı, ancak invaziv kandidiyazis gelişiminde anlamlı fark bulunamadı. Bunun sebebi vaka sayımızın az olması olarak düşünüldü. Koçak ve

ark'nın(119) çalışmasında da bizim çalışmamızla benzer şekilde toraks tüpü risk faktörü olarak değerlendirilmiş ve kontrol grubuna göre anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Peritonit invaziv candida enfeksiyonlarından biri olarak kabul edilmektedir. Çalışmalarda peritonitin genellikle operasyon sonrası, gastrointestinal sistem perforasyonu sonrası nadiren de diyaliz kateteri olanlarda peritonit gelişebildiği bildirilmiştir (46,53,136). Bizim çalışmamızda sadece bir hastada peritonit tespit edildi ve o hastanın da etyolojisinde siroz hastalığı bulunmaktaydı. İki hastamızda da periton diyaliz kateteri bulunmaktaydı. Bu iki hastanın birisinde candida peritoniti sonrası candidemi de gelişmişti.

Candida menenjitide invaziv enfeksiyonlardan birisidir. Çalışmalarda hastalarda ektraventriküler drenaj sistemi(EVDS) ve ventriküloperitoneal(VP) şant gibi BOS şant cihazlarının bulunmasının candida menenjitide riskini arttırdığı söylenmektedir. Aynı zamanda diğer invaziv candida enfeksiyonu risk faktörlerinin bu hastalar için de aynı şekilde risk oluşturduğu bilinmektedir. Candida menenjitide izole olarak veya dissemine candidiyazisin bir parçası olarak ortaya çıkabilmektedir. Şanta bağlı enfeksiyonu olan hastaların genellikle çocuk ve genç yaştaki hastalar olduğu bildirilmektedir. En sık etken olarak *C.albicans* bulunmuş ancak non-albicans türlerin sıklığı da artmaktadır (137,138,139,140). Bizim çalışmamızda yalnızca ikişer vakada VP şant ve EVDS bulunmaktaydı ve hastalarımız genç yaşlarda idi. Vaka sayımız az olduğu için karşılaştırma yapılamadı. Bizim vakalarımızda VP şantı olan iki hastamızda da candida menenjitide tablosu gelişmişti.

İnvaziv candida enfeksiyonlarının oluşumunda ilk aşamalardan birisinin candidaların vücutta kolonizasyonu olduğu bilinmektedir. Özellikle yoğun bakım hastalarında yatıştan sonra kısa süre içerisinde candida kolonizasyonunun başladığı ve bunun da nazokomiyal candida enfeksiyonları için risk faktörü olduğu bilinmektedir. Candida enfeksiyonlarının öngörülebilmesi için çeşitli skorlama sistemleri geliştirilmiştir (44,45,46,47,48). Ancak bizim çalışmamız retrospektif özellikte olduğu için bu skorlama sistemlerini kullanmamız mümkün olmamıştır. Bunun yerine hastalarımızda invaziv candida enfeksiyonu gelişmeden önce herhangi bir vücut bölgesi kültüründe candida üremesi olup olmadığı araştırılmıştır ve sonuç olarak 70

hastamızın 18 tanesinde bu şekilde bir üreme tespit edilmiştir. Bu üremeleri olan hastalarımızın hepsi candidemili hasta grubundandı, candidemi dışı enfeksiyonu olan grupta hiç kolonizasyon saptanamadı. Ayrıca türler arasında da anlamlı farklılık bulunmadı.

Hastaya ait risk faktörlerinin yanı sıra enfeksiyon oluşumunda diğer bir etken de izolata ait virulans faktörleridir. Biz çalışmamızda izolatların proteinaz, fosfolipaz enzimi varlığını ve biofilm oluşturma yeteneklerini araştırdık. Proteinaz enzimi konak hücrelerindeki bir çok protein yapısını parçalayarak etki gösterir (16). Bizim çalışmamızda bu enzimin varlığını gösterebilmek için sığır serum albuminli besiyeri kullanıldı. Yapılan çeşitli çalışmalarda candida türleri proteinaz aktivitesi açısından araştırılmıştır. Hindistandan bir çalışmada proteinaz üretimi hem türler arasında hem de kan ve vajenden izole edilen izolatlar arasında karşılaştırılmış ve proteinaz aktivitesinin anlamlı olmasa da non-albicans türlerde daha fazla olduğunu saptamış. Ayrıca kandan izole edilen suşlarda proteinaz aktivitesi anlamlı olarak yüksek bulunmuş (141). Yine Mushi ve ark'nın(142) çalışmasında da proteinaz aktivitesi *C.albicans*'ın kan izolatlarında idrar izolatlarına göre oldukça yüksek bulunmuş. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde anlamlı olmasa da candidemi izolatlarında proteinaz aktivitesi yüksek bulunmuştu.

Bir çok çalışmada proteinaz aktivitesinin *C.albicans*'ta daha yüksek oranda olduğu bulunmuştur (73,74,143,144,145,146,156). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da *C.albicans* izolatlarında proteinaz aktivitesi daha yüksek bulunmuştur. Proteinaz aktivitesi olmayan *C.albicans* suşu saptanmamıştır.

Candidaların bir diğer enzimi olan fosfolipaz da konak hücre membranlarındaki fosfolipitleri parçalayarak invazyonu sağlayan virulans faktörüdür (26,27). Bizim çalışmamızda bu enzimin varlığını gösterebilmek için yumurta sarılı agar besiyeri kullanıldı. Literatürdeki çalışmaların çoğunluğunda *C.albicans*'ın diğer türlere oranla anlamlı şekilde yüksek fosfolipaz aktivitesi olduğu saptanmıştır (73,74,141,144,145,147,148,151,157). Hatta çalışmalara dahil edilen tüm *C.albicans* suşlarında fosfolipaz aktivitesinin pozitif olduğu çalışmalar da mevcuttur (95,149,150,156). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde fosfolipaz aktivitesi *C.albicans*'ta non-albicans türlere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.($p<0,001$)

Coşkun ve ark'nın(158) 2018 yılında yaptıkları çalışmada kandan izole edilen candida suşları ile hastane dışı sağlıklı insanların oral floralarından izole edilen candida suşlarının virulans faktörleri karşılaştırılmış. Hastalardan izole edilen candida suşlarının fosfolipaz aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş.

Mushi ve ark'nın(142) çalışmasında *C.albicans*'ın kan izolatlarının hepsinde fosfolipaz aktivitesi saptanmışken, idrar izolatlarının %48,4'ünde saptanmıştır. Bu da fosfolipazın patogeneizde invazyon için önemli bir katkısı olduğunu destekler niteliktedir. Bizim çalışmamızda da anlamlı olmasa da candidemili hastaların izolatlarında fosfolipaz aktivitesi daha yüksek oranda bulunmuştur.

Bir diğer virulans faktörü olan biyofilm aktivitesini gösterebilmek için bizim çalışmamızda modifiye tüp aderans testi kullanıldı. Biyofilm yapısı özellikle vücuda yerleştirilen kateter, protez, şant gibi yabancı yüzeylere tutunup kolonize olmayı sağlayan yapıdır (20). Biyofilm aktivitesi çalışmaların çoğunluğunda non-albicans türlerde daha yüksek bulunmuştur (74,145,146,150,151,154,156,157). Ancak biyofilm aktivitesinin *C.albicans* izolatlarında daha yüksek bulunduğu çalışmalar da mevcuttur (152,153). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde anlamlı olmasa da non-albicans türlerin biyofilm aktivitesi *C.albicans*'a oranla daha yüksek bulunmuştur.

Subramanya ve ark'nın(144) çalışmasında biyofilm aktivitesi diğer klinik örnekler içerisinde kandan ve vücutta bulunan yabancı materyallerden izole edilen candida türlerinde daha yüksek oranda bulunmuştur. Bizim hastanemizde 2011 yılında yapılan Uyanık ve ark'nın(155) yaptığı çalışmada farklı klinik örneklerden izole edilen candida izolatlarının biyofilm aktiviteleri incelenmiş ve bu çalışmada da diğer çalışmalarla benzer şekilde non-albicans türlerde biyofilm aktivitesi *C.albicans*'a göre daha yüksek bulunmuş. Ayrıca bu çalışmada kandan izole edilen non-albicans türlerdeki biyofilm aktivitesi de diğer klinik örneklerden izole edilenlere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda izole ettiğimiz suşların 5 (flukonazol, vorikonazol, caspofungin, micafungin, anidulafungin) antifungal için duyarlılıkları kolorimetrik bir yöntem olan Sensititre YeastOne testi ile çalışıldı. Bu metod klinik ve araştırma laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan bir methodur. Bu test ile ilgili yapılan

çalışmalarda referans metod olan sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında hata oranının oldukça düşük olduğu belirtilmiştir (159,160,161).

Flukonazol azol grubundan bir antifungal olup sıklıkla kullanılmaktadır. Çalışmalarda candida türlerinin flukonazol için ortalama MİK değerleri değişmektedir. Ülkemizden ve dünyadan yapılan çalışmalarda candida türlerinde gittikçe artan bir flukonazol direnci saptanmaktadır. Bizim çalışmamızda flukonazol için MİK değerleri 0,008-32 arasında bulunmuştur. Gültekin ve ark'nın(95) çalışmasında *C.albicans* suşlarının ortalama MİK değerleri <0,12-1 arasında saptanmış ve hiç bir türde direnç bildirilmemiştir. Seneviratne ve ark'nın(153) çalışmasında ise tüm türlerde %31,7 oranında flukonazol direnci saptanmış ve *C.albicans*'ın %40'ı dirençli bulunmuş. Stephen ve ark'nın(162) çalışmasında %5 flukonazol direnci saptanırken, Subramanya ve ark'nın(144) çalışmasında ise%46,4 oranında direnç saptanmış ve direncin en fazla *C.albicans*'ta olduğu bulunmuştur. Küçükateş ve ark'nın(164) çalışmasında da yine en fazla flukonazol direnci *C.albicans*'ta tespit edilmiş. Adana'da yapılan bir tez çalışmasında da *C.albicans*'ta %10 oranında flukonazol direnci bulunmuş (165).

Morris ve ark'nın(163) çalışmasında candida türlerinin flukonazol için MİK ortalaması 0,5-64 arasında bulunmuş ve bu çalışmada non-albicans türlerde direnç daha yüksek saptanmış. Yine Posteraro ve ark'nın(159) çalışmasında non-albicans türlerde direnç daha fazla saptanmıştır. Çiçek Kolak ve ark'nın(83) çalışmasında *C.albicans* izolatlarının hiçbirinde flukonazol direnci saptanmamış. Non-albicans türlerden ise *C.parapsilosis* ve *C.tropicalis*'te direnç saptanmış. Pfaller ve ark'nın(92) çalışmasında da yine non-albicans türlerde daha yüksek direnç oranları saptanmış. Özkaya ve ark'nın(97) çalışmasında da non-albicans türlerde flukonazol direnci daha yüksek saptanmış, en fazla direnç *C.parapsilosis*'te saptanmış ve *C.albicans* suşlarının hepsi duyarlı bulunmuş. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer şekilde *C.albicans* suşlarının hiçbirinde flukonazol direnci saptanmadı ve non-albicans türlerde flukonazol direnci %22,2 oranında bulundu ve dirençli suşların hepsi *C.parapsilosis*'ti. Çalışmamızda ayrıca non-albicans türlerin ortalama MİK değerleri *C.albicans* suşlarının MİK değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.(p<0,001)

Bizim çalışmamızda kandan izole edilen suşların flukonazol MİK değerleri, kan dışı örneklerden izole edilen gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Mushi (142) ve Tellapragada(141) çalışmalarında kandan ve diğer bölgelerden izole edilen türler arasında farklılık saptamamışlardır. Bunun nedeni bu çalışmalarda flukonazol dirençli suş sayısının çok az olması olabilir. Coşkun ve ark'nın(158) çalışmasında kan kültürlerinden izole edilen suşlarda antifungal direnç oranları sağlıklı hasta grubunun suşlarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Hastanemizde 2007 yılında yapılmış olan bir çalışmada sadece bir tane dirençli suş tespit edilmiş ve o suşun da *C.albicans* olduğu tespit edilmiş. (109). Hastanemizden yapılan diğer bir çalışmada 2012-2015 arasını kapsamış ve tüm türlerde flukonazol direnci %2,7 olarak bulunmuş ve non-albicans türlerde direnç daha yüksek oranda saptanmış (108). Bizim çalışmamızda ise flukonazol direnci %22,2 oranı ile daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni olarak zaman geçtikçe flukonazol kullanımının artmasına bağlı olarak direnç oranının da artması olarak düşünüldü. Buna benzer şekilde Deroukhkar ve ark'nın 2007-2016 arasında flukonazol direnci insidansını araştırdıkları çalışmalarında 2007'de flukonazol direnci %18,3 oranında iken 2016'da bu oran %39,1'e yükselmiştir ve her yıl direnç oranının arttığı tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak daha dirençli olan non-albicans türlerin etken olarak sıklığının da aynı şekilde 2007'den 2016'ya kadar artması olduğunu belirtmişlerdir (174).

Bizim çalışmamızda vorikonazole dirençli bir suş saptanmadı. Ancak çalışmamızda non-albicans türlerin ortalama MİK değerleri *C.albicans* suşlarının MİK değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.($p<0,001$) Benzer şekilde vorikonazol dirençli suş saptanmayan çalışmalar mevcuttur (95,159). Diğer çalışmalarda da düşük düzeyde dirençten bahsedilmektedir ve bu direnç non-albicans suşlarda daha fazla bulunmuştur (144,162,163).

Ekinokandinler son yıllarda özellikle kullanımı artan antifungallerdir. Toksisitesi ve direnç oranları daha düşük olduğu için tercih edilmektedir (167). Bizim çalışmamızda ekinokandinlere dirençli suş saptanmadı. Ancak tüm ekinokandinlerin ortalama MİK değerleri non-albicans türlerde *C.albicans*'a göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Ekinokandin direncinin yaygın olmadığı ancak dünyada giderek artmakta

olduğunu bildiren çalışmalar literatürde mevcuttur ve bu çalışmalarda da non-albicans suşlarda daha yüksek MİK değerleri saptanmıştır (92,159,161,166,167).

Candidaların virulans faktörleri ile antifungal duyarlılıkları arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda incelenmiş ancak halen yeterli değildir. Rajndran ve ark(170) çalışmasında biyofilm aktivitesinin azoller, polyenler ve ekinokandinlerin etkinlikleri üzerine etkilerini araştırmış ve azol grubu hem kuvvetli hem de zayıf biyofilm üzerine diğer iki gruba göre etkisiz olarak bulunmuş. Bu çalışma ile biyofilm yapısı ve kuvvetinin hastaların tedavisinde hangi antifungal ajanın seçileceğini belirleyebileceği sonucuna varılmış.

El-Houssaini ve ark(171) çalışmalarında Amfoterisin B MİK değeri ile biyofilm arasında pozitif bir korelasyon bulunmuş. Ayrıca flukonazol MİK'leri ile biyofilm arasında ve vorikonazol MİK'leri ile proteinaz arasında negatif korelasyon bulunmuş.

Subramanya ve ark(144) çalışmalarında biyofilm üretmeyen *C.albicans* suşlarının vorikonazol, flukonazol ve amfoterisin B için daha yüksek MİK değerleri olduğunu belirtmişler. Biyofilm üreten non-albicans suşlarda ise flukonazol MİK değerleri daha yüksek bulunmuş. Benzer şekilde biyofilm üretmeyen non-albicans candidaların amfoterisin B MİK değerleri daha yüksek bulunmuş. Bu açıdan El-Houssaini'nin çalışması ile benzer sonuçlar elde edilmiş.

Ying ve ark(168) çalışmalarında ise flukonazol dirençli ve duyarlı olan *C.albicans* suşlarının fosfolipaz aktivitesini genotipik ve fenotipik olarak değerlendirmiş ve dirençli olan suşlarda fosfolipaz aktivitesini daha yüksek bulmuşlardır. Benzer şekilde Deorukhkar ve ark'nın(169) çalışmasında *C.tropicalis*'in biyofilm ve fosfolipaz üreten suşları flukonazole daha dirençli bulunmuş.

Özkan ve ark'nın(154) çalışmasında biyofilm ve proteinaz aktivitesini *C.albicans* ve *C.parapsilosis*'in flukonazol, ketokonazol ve amfoterisin B duyarlılıkları ile karşılaştırılmış. Biyofilm aktivitesi ile bu üç antifungalın MİK değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamış. Ancak proteinaz aktivitesi ile ketokonazol MİK değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tüm bu

Çalışmaların gösterdiği, bu konu üzerinde daha fazla çalışma yapılmasının gerekliliğidir. Bu sayede gittikçe artan azol direncine karşı alternatifler üretilir.

Bizim alışmamızda biofilm ve proteinaz aktivitesi pozitif olan ve negatif olan suşlar arasında flukonazol, vorikonazol ve ekinokandin grubu antifungallerin MİK değerleri benzer olarak bulundu. Ancak alışmamızda fosfolipaz aktivitesi negatif olan suşların ortalama MİK değerleri, fosfolipaz pozitif suşların MİK değerlerinden tüm 5 antifungal için de anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0,05$) Aynı zamanda bizim çalışmamızda flukonazole duyarlı suşların fosfolipaz aktivitesi, flukonazole dirençli olan suşlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0,020$) Keçeli ve ark'nın(172) alışmasında ise candida suşlarının flukonazol direnci ile fosfolipaz aktivitesi arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır.

Bu açılardan bizim çalışmamızın sonuçları Ying ve Deroukhar'ın çalışmaları ile uyumlu değildir (168,169). Bunun nedeni bizim çalışmamızda flukonazol dirençli suş sayımızın yetersiz olması olabilir. Ayrıca bir nedeni de bizim çalışmamızda fosfolipaz aktivitesi pozitif olan 23 suşun 22'sinin *C.albicans* olduğu ve *C.albicans*'ın incelenen 5 antifungal ajan için de MİK değerlerinin non-albicans türlere göre anlamlı olarak düşük olması olabilir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda laboratuvarımıza, çeşitli kliniklerden gönderilen invaziv kandida enfeksiyonu öntanılı 70 hastanın örneği değerlendirilmiş ve bu hastalara ait risk faktörleri, izolatların virulans faktörleri ve antifungal duyarlılıkları araştırılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarında kandidemili hastaların mortalite oranı daha yüksek bulundu. Kandidemili hastalarda mekanik ventilasyon, santral venöz kateter ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanma öyküsü kandidemi dışı invaziv enfeksiyonlu hastalara göre daha yüksekti. Non-albicans'lı grupta geçirilmiş cerrahi öyküsü *C.albicans*'lı gruba göre daha yüksekti.

İzole edilen suşların %40'ı *C.parapsilosis*, %35,7'si *C.albicans*, %7,1'i *C.tropicalis*, %5,7'si *C.kefyr*, %4,3'ü *C.glabrata*, %2,9'u *C.krusei* ve %1,4'er oranla *C.lusitaniae*, *C.melibiosica* ve *C.membranifaciensis* idi. Suşların %80'i kandan, %8,6'sı plevral mayiden, %4,3'ü abseden, %4,3'ü BOS'tan, %1,4'ü periton mayiden ve %1,4'ü vitreus sıvısından izole edildi. İzolatların %80'inin proteinazı pozitif, %32,8'inin fosfolipazı pozitif ve %21,4'ünün biyofilm aktivitesi pozitif. *C.albicans* suşlarının fosfolipaz aktivitesi anlamlı olarak yüksekti. Yine tüm *C.albicans* suşlarının proteinazı pozitif.

Suşların ortalama MİK değerleri flukonazol için $3,55 \pm 7,49$ µg/mL; vorikonazol için $0,089 \pm 0,175$ µg/mL; caspofungin için $0,162 \pm 0,180$ µg/mL; micafungin için $0,356 \pm 0,529$ µg/mL ve anidulafungin için $0,366 \pm 0,554$ µg/mL olarak saptandı. Kandidemili hastalarda flukonazol ortalama MİK değeri diğer gruba göre anlamlı yüksek bulundu. Sadece sekiz *C.parapsilosis* suşu flukonazol dirençliydi. Non-albicans türlerin beş antifungal için ortalama MİK değerleri *C.albicans*'lara göre anlamlı yüksek bulundu.

Fosfolipaz aktivitesi negatif olan suşların flukonazol, vorikonazol ve ekinokandinler için ortalama MİK değerleri, fosfolipaz pozitif suşların MİK değerlerine göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Kandida enfeksiyonları giderek önemi artan ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlardır. Bunun için riskli hastaların iyi değerlendirilmesi ve erken tanı ve tedavi başlanmasını ve bu da mortalite oranının düşmesini sağlayacaktır. Ayrıca

antifungal direnç de önemli bir sorun haline gelmeye başlamıştır. Bu nedenle virulans faktörleri ile antifungal direnç arasındaki ilişkiyi araştırmaya yönelik daha çok araştırma yapılmasının faydalı olacağını ve bunun antifungal etkili yeni ajanların bulunmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.



7.KAYNAKLAR

1. Willke AT, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008.
2. Reiss E, Shadomy HJ, Lyon GM. Fundamental Medical Mycology. New Jersey: Wiley-Blackwell; 2012
3. Erdem F, Ertem GT, Oral B, ve ark. Candida türlerine bağlı nozokomiyal enfeksiyonların epidemiyolojik ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni 2012; 46(4): 637-48.
4. Mandell G, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2009.
5. Şahiner F, Ergünay K, Özyurt M, ve ark. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen Candida suşlarının genotipik ve fenotipik olarak tanımlanması. Mikrobiyoloji Bülteni 2011; 45(3): 478-88.
6. McCullough MJ, Ross BC, Reade PC. Candida albicans: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. International journal of oral and maxillofacial surgery 1996; 25(2): 136-44.
7. Kauffman CA, Pappas PG, Sobel JD, Dismukes WE. Essentials of clinical mycology. 2nd ed. New York: Springer; 2011.
8. Richardson MD, WARNOCK DW. Fungal infection: diagnosis and management. 3rd ed. Massachusetts: Blackwell; 2012.
9. Sakita KM, Faria DR, Silva EM, et al. Healthcare workers' hands as a vehicle for the transmission of virulent strains of Candida spp.: A virulence factor approach. Microbial pathogenesis 2017; 113: 225-32.
10. Brühwasser C, Hinterberger G, Mutschlechner W, et al. A point prevalence survey on hand hygiene, with a special focus on Candida species. American journal of infection control 2016; 44(1): 71-73.
11. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 2007; 20(1): 133-63.
12. Seyedmousavi S, İlkit M, Durdu M, ve ark. Candida and Candidosis: Updates on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, Antifungal Drug Resistance and Host Genetic Susceptibility. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2015; 45(1): 1-11.

13. Pfaller MA, Andes DR, Diekema DJ, et al. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-albicans species of *Candida* in 2,496 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) registry 2004–2008. *PloS one* 2014; 9(7): 1-12.
14. Hazırolan G. Yatan hasta örneklerinden izole edilen *Candida* izolatlarının tür dağılımlarının ve antifungal duyarlılık profillerinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2015; 72(1): 17-26.
15. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. *Candidaların Patojenlik Belirtgenleri*. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 2000; 31(3): 172-86
16. Çerikoğlu N. Mantarlarda virülans faktörleri. *Ankem Dergisi* 2012; 26(Ek 2): 261-69.
17. Calderone RA, Cihlar RL. *Fungal pathogenesis: principles and clinical applications*. New York: Marcel Dekker; 2002.
18. Gow NAR, Gadd GM. *The growing fungus*. London: Chapman&Hall; 1995.
19. Yang YL, Virulence factors of *Candida* species. *Journal of Microbiology Immunology and Infection* 2003; 36(4): 223-28.
20. Ramage G, Saville SP, Thomas DP, Lopez-Ribot JL. *Candida* biofilms: an update. *Eukaryotic cell* 2005; 4(4): 633-38.
21. Green CB, Cheng G, Chandra J, et al. RT-PCR detection of *Candida albicans* ALS gene expression in the reconstituted human epithelium (RHE) model of oral candidiasis and in model biofilms. *Microbiology* 2004; 150(2): 267-75.
22. Li F, Palecek SP. EAP1, a *Candida albicans* gene involved in binding human epithelial cells. *Eukaryotic cell* 2003; 2(6): 1266-73.
23. Hawser SP, Douglas LJ. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infection and immunity* 1994; 62(3): 915-21.
24. Hogan DA. Talking to themselves: autoregulation and quorum sensing in fungi. *Eukaryotic cell* 2006; 5(4): 613-19.
25. Ramage G, Saville SP, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68(11): 5459-63.
26. Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clinical microbiology reviews* 2000; 13(1): 122-43.

27. Pugh D, Cawson RA. The cytochemical localization of phospholipase in *Candida albicans* infecting the chick chorio-allantoic membrane. *Sabouraudia* 1977; 15(1): 29-35.
28. Ener B. *Candida* infeksiyonlarının patogenezi: Etkenin rolü. içinde Kiraz N, Kiremitçi A, Akgün Y, editörler. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar* 2002; 65-70.
29. Barrett-Bee K, Hayes Y, Wilson RG, Ryley JF. A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeasts. *Journal of General Microbiology* 1985; 131(5): 1217-21.
30. Ibrahim AS, Mirbod F, Filler SG, et al. Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. *Infection and immunity* 1995; 63(5): 1993-98.
31. Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology* 1982; 20(1): 7-14.
32. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003; 67(3): 400-28.
33. Kwon-Chung KJ, Lehman D, Good C, Magee PT. Genetic evidence for role of extracellular proteinase in virulence of *Candida albicans*. *Infection and Immunity* 1985; 49(3): 571-75.
34. Macdonald F, Odds FC. Virulence for mice of a proteinase-secreting strain of *Candida albicans* and a proteinase-deficient mutant. *Microbiology* 1983; 129(2): 431-38.
35. Schaller M, Schackert C, Korting HC, et al. Invasion of *Candida albicans* correlates with expression of secreted aspartic proteinases during experimental infection of human epidermis. *Journal of Investigative Dermatology* 2000; 114(4): 712-17.
36. Magee BB, Hube B, Wright RJ, et al. The genes encoding the secreted aspartyl proteinases of *Candida albicans* constitute a family with at least three members. *Infection and immunity* 1993; 61(8): 3240-43.

37. Kuştımur S. Candida'da virulans faktörleri. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kongresi Tutanaklar 1999; 145-50.
38. Rüchel R, Ritter B, Schaffrinski M. Modulation of experimental systemic murine candidosis by intravenous pepstatin. Zentralblatt für Bakteriologie 1990; 273(3): 391-403.
39. Borg M, Ruchel R. Expression of extracellular acid proteinase by proteolytic Candida spp. during experimental infection of oral mucosa. Infection and Immunity 1988; 56(3): 626-31.
40. Staib F. Serum-proteins as nitrogen source for yeastlike fungi. Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology 1966; 4(3): 187-93.
41. Tigen ET, Bilgin H, Gürün HP, et al. Risk factors, characteristics, and outcomes of candidemia in an adult intensive care unit in Turkey. American journal of infection control 2017; 45(6): 61-3.
42. Meriç M, Willke A, Çağlayan Ç, Toker K. Intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish university hospital. Japanese journal of infectious diseases 2005; 58(5): 297-302
43. Yapar N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. Therapeutics and clinical risk management 2014; 10: 95-105.
44. Gökahmetoğlu G, Sarıgüzel FM, Koç AN, ve ark. Anestezi Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastalarda Candida Kolonizasyonu ve Candida Skorunun Belirlenmesi. Mikrobiyoloji Bülteni 2016; 50(3): 438-48.
45. Pittet D, Monod M, Suter PM, et al. Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. Annals of surgery 1994; 220(6): 751-58.
46. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra-Santana P, Alvarez-Lerma F. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. Critical care medicine 2006; 34(3): 730-37.
47. Leroy G, Lambiotte F, Thevenin D, et al. Evaluation of "Candida score" in critically ill patients: a prospective, multicenter, observational, cohort study. Annals of intensive care 2011; 1(50): 1-7.

48. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra-Santana P, Balasini C. Usefulness of the “Candida score” for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. *Critical care medicine* 2009; 37(5): 1624-33.
49. O'leary RA, Einav S, Leone M, et al. Management of invasive candidiasis and candidaemia in critically ill adults: expert opinion of the European Society of Anaesthesia Intensive Care Scientific Subcommittee. *Journal of Hospital Infection* 2018; 98(4): 382-90.
50. Wu YM, Huang PY, Lu JJ, et al. Risk factors and outcomes of candidemia caused by *Candida parapsilosis* complex in a medical center in northern Taiwan. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2018; 90(1): 44-49.
51. Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J, et al. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2007; 26(4): 271-76.
52. Yapar N, Pullukçu H, Avkan-Oğuz V, et al. Evaluation of species distribution and risk factors of candidemia: a multicenter case-control study. *Medical mycology* 2011; 49(1): 26-31.
53. Paphitou NI, Ostrosky-Zeichner L, Rex JH. Rules for identifying patients at increased risk for candidal infections in the surgical intensive care unit: approach to developing practical criteria for systematic use in antifungal prophylaxis trials. *Medical mycology* 2005; 43(3): 235-43.
54. Tadec L, Talarmin JP, Gastinne T, et al. Epidemiology, risk factor, species distribution, antifungal resistance and outcome of Candidemia at a single French hospital: a 7-year study. *Mycoses* 2016; 59(5): 296-303.
55. Nieto MC, Tellería O, Cisterna R. Sentinel surveillance of invasive candidiasis in Spain: epidemiology and antifungal susceptibility. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2015; 81(1): 34-40.
56. Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie M, et al. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 33(2): 177-186.

57. Posteraro B, Ruggeri A, De Carolis E, et al. Comparative evaluation of BD Phoenix and Vitek 2 systems for species identification of common and uncommon pathogenic yeasts. *Journal of clinical microbiology* 2013; 51(11): 3841-45.
58. Wey SB, Mori M, Pfaller MA, et al. Risk factors for hospital-acquired candidemia: a matched case-control study. *Archives of internal medicine* 1989; 149(10): 2349-53.
59. Kirkpatrick CH. Chronic mucocutaneous candidiasis: Immunology For The Pediatrician. *The Pediatric infectious disease journal* 2001; 20(2): 197-206.
60. Ellis ME, Al-Abdely H, Sandridge A, et al. Fungal endocarditis: evidence in the world literature, 1965–1995. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 32(1): 50-62.
61. Ener B. Candida infeksiyonlarında epidemiyoloji ve laboratuvar tani. *ANKEM dergisi* 2008; 22: 264-9.
62. Procop GW, Church DL, Hall GS, et al. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2017.
63. Poyraz Ö. Genel ve özel tıbbi mikoloji. Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları; 2006.
64. Ainscough S, Kibbler CC. An evaluation of the cost-effectiveness of using CHROMagar for yeast identification in a routine microbiology laboratory. *Journal of medical microbiology* 1998; 47(7): 623-28.
65. Murray PR, Baron EJ, Landry ML, Jorgensen JH, Pfaller MA. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007
66. Walsh TJ, Hayden RT, Larone DH. *Larone's medically important fungi: a guide to identification*. 6th ed. Washington DC: ASM Press; 2018.
67. Campbell CK, Johnson EM, Warnock DW. *Identification of pathogenic fungi*. 2nd ed. New Jersey: Wiley-Blackwell; 2013.
68. Us AD. *Temel İmmunoloji ve Seroloji*. Ankara: Hipokrat Kitabevi; 2016
69. Koç AN. *Mantarlarda Moleküler Tanı Yöntemleri*. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı. Ankara: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını 2001; 105-110.

70. Calderone RA, Clancy CJ. *Candida and candidiasis*. 2nd ed. Washington DC: ASM Press; 2012.
71. Yücesoy M. Mayalar İçin Antifungal Duyarlılık Testleri. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı. İzmir: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını 1999;191-199
72. Turan D. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida Albicans* Türlerinde Virulans Faktörlerinin Fenotipik ve Genotipik Olarak Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Yandal Uzmanlık Tezi, 2014, İstanbul
73. Ay G. *Candida* Enfeksiyonlarına Duyarlı Hastalardan Soyutlanan *Candida* 'ların ve Virülans Faktörlerinin Belirlenmesi, Antifungal Duyarlılıklarının Araştırılması. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2004, Edirne.
74. Gayyurhan ED. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida* Türlerindeki Viulans Faktörlerinin Araştırılması ve Antifungal Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2009, Gaziantep.
75. Akçağlar S, Ener B, Töre O. Acid proteinase enzyme activity in *Candida albicans* strains: a comparison of spectrophotometry and plate methods. *Turkish Journal of Biology* 2011; 35(5): 559-67.
76. Samaranayake YH, Dassanayake RS, Cheung BPK, et al. Differential phospholipase gene expression by *Candida albicans* in artificial media and cultured human oral epithelium. *Apmis* 2006; 114(12): 857-66.
77. Alnuaimi AD, O'Brien-Simpson NM, Reynolds EC, et al. Clinical isolates and laboratory reference *Candida* species and strains have varying abilities to form biofilms. *FEMS yeast research* 2013; 13(7): 689-99.
78. Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, et al. National surveillance of nosocomial blood stream infection due to species of *Candida* other than *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 1998; 30(2): 121-29.
79. Bakır M, Çerikçioğlu N, Barton R, Yağcı A. Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital. *Apmis* 2006; 114(9): 601-10.

80. Sandven P. Epidemiology of candidemia. *Revista Iberoamericana de Micologia* 2000; 17(3): 73-81.
81. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2004; 23(4): 317-22.
82. Yapar N, Uysal Ü, Yücesoy M, et al. Nosocomial bloodstream infections associated with *Candida* species in a Turkish University Hospital. *Mycoses* 2006; 49(2): 134-38.
83. Çiçek-Kolak Ç, Erman-Daloğlu A, Özhak B, ve ark. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde İzlenen Yetişkin Hastalarda Kandidemi Epidemiyolojisi, *Candida* Türlerinin Antifungal Duyarlılıkları ve Mortalite Üzerine Etkileri. *Klimik Dergisi* 2019; 32(3): 250-58
84. Hazırolan G. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Candida* suşlarının dağılımı (2010-2015). *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji* 2018; 75(1): 21-28
85. Erol S, Kürşat H, Özkurt Z, ve ark. Reanimasyon ünitemizdeki hastane enfeksiyonları. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 2000; 4: 97-100.
86. Taşyaran MA, Ertek M, Çelebi S, ve ark. Atatürk Üniversitesi Hastaneleri'nde hastane enfeksiyonları: 1999 yılı sonuçları. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 2001; 5: 38-42.
87. Cleveland AA, Farley MM, Harrison LH, et al. Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008–2011. *Clinical infectious diseases* 2012; 55(10): 1352-61.
88. Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004–2008. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2012; 74(4): 323-31.
89. Deorukhkar SC, Saini S, Mathew S. Non-albicans *Candida* infection: an emerging threat. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases* 2014, 2014:1-7.

90. Gong X, Luan T, Wu X, et al. Invasive candidiasis in intensive care units in China: risk factors and prognoses of *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* infections. *American journal of infection control* 2016; 44(5): 59-63.
91. Harrington R, Kindermann SL, Hou Q, et al. Candidemia and invasive candidiasis among hospitalized neonates and pediatric patients. *Current medical research and opinion* 2017; 33(10): 1803-12.
92. Pfaller MA, Diekema DJ, Turnidge JD, et al. Twenty years of the SENTRY antifungal surveillance program: results for *Candida* species from 1997–2016. In: *Open forum infectious diseases*. US: Oxford University Press; 2019.79-94.
93. Çetin Ş, Sav H, Çelik İ, ve ark. Yoğun bakım ünitesinde gelişen sağlık bakımı ile ilişkili *Candida* enfeksiyonlarının değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2019; 76(2): 169-76
94. Alışkan HE, Bozkırlı ED, Çolakoğlu Ş, Demirbilek M. Hastanemizde üç yıllık süreçte kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* ve non-*albicans* *Candida* türlerinin etken olduğu kandidemilerdeki risk faktörlerinin irdelenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2015; 73(1): 15-24.
95. Gültekin B, Eyigör M, Tiryaki Y, ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarında antifungal duyarlılığın ve bazı virülans faktörlerinin araştırılması ve RAPD-PCR ile genotiplendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2011; 45(2): 306-17.
96. Yiş R, Doluca M. Identification of *Candida* species by restriction enzyme analysis. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2018; 48(5): 1058-67.
97. Özkaya E, Çalışkan A, Kirişçi Ö, Tümer S. Son üç yılda Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesinde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2016; 46(2): 63-68.
98. Ergon MC, Yücesoy M. Yoğun bakım ünitelerinden dört yıllık dönemde izole edilen mayaların tür dağılımının değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2005; 39: 309-318.
99. Atalay MA, Sav H, Demir G, Koç AN. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve amfoterisin B ve flukonazole in vitro duyarlılıkları. *Selçuk Tıp Derg* 2012; 28(3): 149-151.

100. Savcı U, Yılmaz N. Distribution of *Candida* species isolated from various sample and antifungal resistance ratio. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory* 2017; 8: 85-90.
101. Öztürk T, Özseven AG, Çetin ES, Kaya S. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarının tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2013; 14(1): 17-22.
102. Klingspor L, Tortorano AM, Peman J, et al. Invasive *Candida* infections in surgical patients in intensive care units: a prospective, multicentre survey initiated by the European Confederation of Medical Mycology (ECMM)(2006–2008). *Clinical Microbiology and Infection* 2015; 21(1): 87. e1-87. e10.
103. Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, et al. Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002–2010). *Intensive care medicine* 2014; 40(9): 1303-12.
104. Milazzo L, Peri AM, Mazzali C, et al. *Candidaemia* observed at a university hospital in Milan (northern Italy) and review of published studies from 2010 to 2014. *Mycopathologia* 2014; 178(3-4): 227-41.
105. Playford EG, Marriott D, Nguyen Q, et al. Candidemia in nonneutropenic critically ill patients: risk factors for non-*albicans* *Candida* spp. *Critical care medicine* 2008; 36(7): 2034-39.
106. Morii D, Seki M, Binongo JN, et al. Distribution of *Candida* species isolated from blood cultures in hospitals in Osaka, Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2014; 20(9): 558-62.
107. Doi AM, Pignatari ACC, Edmond MB, et al. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian national surveillance program. *PloS one* 2016; 11(1): 1-9.
108. Coşkun MV, Ağan İ, Uyanık MH, ve ark. Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida* Türlerinin Flukonazol E Test Duyarlılıklarının CLSI Referans Mikrodilasyon Yöntemi ile Karşılaştırılması. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2017; 21(2): 400-06.

109. Karakoç E, Yazgı H, Aktaş AE, Uyanık MH. Çeşitli Candida Türlerinin İki Farklı Triazole Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon Yöntemi ile Araştırılması. *The Eurasian of Medicine* 2007; 39: 173-77.
110. Ostrosky-Zeichner L, Pappas PG. Invasive candidiasis in the intensive care unit. *Critical care medicine* 2006; 34(3): 857-63.
111. Wenzel RP. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. *Clinical Infectious Diseases* 1995; 20(6): 1531-34.
112. Leleu G, Aegerter P, Guidet B. Systemic candidiasis in intensive care units: a multicenter, matched-cohort study. *Journal of critical care* 2002; 17(3): 168-75.
113. Davis SL, Vazquez JA, McKinnon PS. Epidemiology, risk factors, and outcomes of *Candida albicans* versus non-*albicans* candidemia in nonneutropenic patients. *Annals of Pharmacotherapy* 2007; 41(4): 568-73.
114. Falcone M, Tiseo G, Tascini C, et al. Assessment of risk factors for candidemia in non-neutropenic patients hospitalized in Internal Medicine wards: A multicenter study. *European journal of internal medicine* 2017; 41: 33-38.
115. Li D, Xia R, Zhang Q, et al. Evaluation of candidemia in epidemiology and risk factors among cancer patients in a cancer center of China: an 8-year case-control study. *BMC infectious diseases* 2017; 17(1): 536.
116. Feja KN, Wu F, Roberts K, et al. Risk factors for candidemia in critically ill infants: a matched case-control study. *The Journal of pediatrics* 2005; 147(2): 156-61.
117. Ding X, Yan D, Sun W, et al. Epidemiology and risk factors for nosocomial Non-*Candida albicans* candidemia in adult patients at a tertiary care hospital in North China. *Medical mycology* 2015; 53(7): 684-90.
118. Aguilar G, Delgado C, Corrales I, et al. Epidemiology of invasive candidiasis in a surgical intensive care unit: an observational study. *BMC research notes* 2015; 8(1): 491.
119. Koçak BY, Kuloğlu F, Çelik AD, Akata F. Bir üçüncü basamak hastanesinde erişkin kandidemi olgularının epidemiyolojik özellikleri ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2011; 45(3): 489-503.

120. Wu Z, Liu Y, Feng X, et al. Candidemia: incidence rates, type of species, and risk factors at a tertiary care academic hospital in China. *International Journal of Infectious Diseases* 2014; 22: 4-8.
121. Cugno C, Cesaro S. Epidemiology, risk factors and therapy of candidemia in pediatric hematological patients. *Pediatric reports* 2012; 4(9): 30-33
122. Fışgın NT, Tanyel E, Çiçek B, ve ark. Kandidemi gelişen hastaların değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 2009; 23(3): 97-103.
123. Chen YC, Lin SF, Liu CJ, et al. Risk factors for ICU mortality in critically ill patients. *Journal-Formosan Medical Association* 2001; 100(10): 656-61.
124. Dimopoulos G, Fotinie N, George R, et al. *Candida albicans* versus non-*albicans* intensive care unit-acquired bloodstream infections: differences in risk factors and outcome. *Anesthesia & Analgesia* 2008; 106(2): 523-29.
125. Gómez J, Garcia-Vasquez E, Espinoza C, et al. Nosocomial candidemia at a general hospital: the change of epidemiological and clinical characteristics. A comparative study of 2 cohorts (1993–1998 versus 2002–2005). *Revista iberoamericana de micologia* 2009; 26(3): 184-88.
126. Leroy O, Gangneux JP, Montravers P, et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006). *Critical care medicine* 2009; 37(5): 1612-18.
127. Bassetti M, Trecarichi EM, Righi E, et al. Incidence, risk factors, and predictors of outcome of candidemia. Survey in 2 Italian university hospitals. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2007; 58(3): 325-31.
128. Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, et al. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clinical Infectious Diseases* 1997; 24(6): 1122-28.
129. Anunnatsiri S, Chetchotisakd P, Mootsikapun P. Fungemia in non-HIV-infected patients: a five-year review. *International Journal of Infectious Diseases* 2009; 13(1): 90-96.

130. Barberino MG, Silva N, Rebouças C, et al. Evaluation of blood stream infections by *Candida* in three tertiary hospitals in Salvador, Brazil: a case-control study. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2006; 10(1): 36-40.
131. Ben Abdeijelil J, Saghrouni F, Nouri S, et al. Neonatal invasive candidiasis in Tunisian hospital: incidence, risk factors, distribution of species and antifungal susceptibility. *Mycoses* 2012; 55(6): 493-500.
132. Luzzati R, Cavinato S, Giangreco M, et al. Peripheral and total parenteral nutrition as the strongest risk factors for nosocomial candidemia in elderly patients: a matched case-control study. *Mycoses* 2013; 56(6): 664-71.
133. Tascini C, Sozio E, Tintori G, et al. Peripherally inserted central catheter as a predominant risk factor for candidemia in critically ill patients in Internal Medicine wards in Italy. *Intensive care medicine* 2015; 41(8): 1498-99.
134. Ko SC, Chen KY, Hsueh PR, et al. Fungal empyema thoracis. *Chest* 2000; 117(6): 1672-78.
135. Nigo M, Vial MR, Munita JM, et al. Fungal empyema thoracis in cancer patients. *Journal of Infection* 2016; 72(5): 615-21.
136. Dupont H, Bourichon A, Paugam-Burtz C, et al. Can yeast isolation in peritoneal fluid be predicted in intensive care unit patients with peritonitis?. *Critical care medicine* 2003; 31(3): 752-57.
137. Montero A, Romero J, Vargas JA, et al. *Candida* infection of cerebrospinal fluid shunt devices: report of two cases and review of the literature. *Acta neurochirurgica* 2000; 142(1): 67-74.
138. Chiou CC, Wong TT, Lin HH, et al. Fungal infection of ventriculoperitoneal shunts in children. *Clinical infectious diseases* 1994; 19(6): 1049-53.
139. Sánchez-Portocarrero J, Martín-Rabadan P, Saldana CJ, et al. *Candida* cerebrospinal fluid shunt infection report of two new cases and review of the literature. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 1994; 20(1): 33-40.
140. Shapiro S, Javed T, Mealey JRJ. *Candida albicans* shunt infection. *Pediatric Neurosurgery* 1989; 15(3): 125-30.

141. Tellapragada C, Eshwara VK, Johar R, et al. Antifungal susceptibility patterns, in vitro production of virulence factors, and evaluation of diagnostic modalities for the speciation of pathogenic *Candida* from blood stream infections and vulvovaginal candidiasis. *Journal of pathogens* 2014; 2014: 1-8.
142. Mushi MF, Bader O, Bii C, et al. Virulence and susceptibility patterns of clinical *Candida* spp. isolates from a tertiary hospital, Tanzania. *Medical mycology* 2019; 57(5): 566-72.
143. Canela HMS, Cardoso B, Vitali LH, et al. Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in Brazil. *Mycoses* 2018; 61(1): 11-21.
144. Subramanya SH, Baral BP, Sharan NK, et al. Antifungal susceptibility and phenotypic virulence markers of *Candida* species isolated from Nepal. *BMC research notes* 2017; 10(1): 543.
145. Sarıgüzel FM, Berk E, Koç AN, et al. Investigation of the relationship between virulence factors and genotype of *Candida* spp. isolated from blood cultures. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2015; 9(8): 857-64.
146. Inci M, Atalay MA, Koç AN, et al. Investigating virulence factors of clinical *Candida* isolates in relation to atmospheric conditions and genotype. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2012; 42(2): 1476-83.
147. Neji S, Hadrich I, Trabelsi H, et al. Virulence factors, antifungal susceptibility and molecular mechanisms of azole resistance among *Candida parapsilosis* complex isolates recovered from clinical specimens. *Journal of biomedical science* 2017; 24(1): 67.
148. Gürcan S, Alver O, Ercan I, Ener B. Çeşitli *Candida* Türlerinde Virülansın Değerlendirilmesi: In Vitro ve In Vivo Çalışma/Evaluation of Virulence in Various *Candida* Species: In Vitro and In Vivo Study. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 2010; 30(5): 1493-1502.
149. Melo APV, Zuza-Alves DL, Silva-Rocha WP, et al. Virulence factors of *Candida* spp. obtained from blood cultures of patients with candidemia attended at tertiary hospitals in Northeast Brazil. *Journal de Mycologie Medicale* 2019; 29(2): 132-39.

150. Ahmed N, Rizk DE, El Said M, et al. Molecular Identification and Virulence Factors Determination in Candida Species Isolated from Egyptian Patients. American Journal of Microbiological Research 2019; 7(4): 108-17.
151. Yıldırım M, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, et al. İnfeksiyon Etkeni Olarak İzole Edilen Candida Albicans ve Non-albicans Candida Suşlarındaki Bazı Virulans Faktörlerinin Karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2009; 39: 62-68.
152. Dabiri S, Shams-Ghahfarokhi M, Razzaghi-Abyaneh M. Comparative analysis of proteinase, phospholipase, hydrophobicity and biofilm forming ability in Candida species isolated from clinical specimens. Journal de Mycologie Medicale 2018; 28(3): 437-42.
153. Seneviratne CJ, Rajan S, Wong SSW, et al. Antifungal susceptibility in serum and virulence determinants of candida bloodstream isolates from Hong Kong. Frontiers in microbiology 2016; 7: 1-8.
154. Ozkan S, Kaynak F, Kalkancı A, et al. Slime production and proteinase activity of Candida species isolated from blood samples and the comparison of these activities with minimum inhibitory concentration values of antifungal agents. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2005; 100(3): 319-24.
155. Uyanık MH, Ayyıldız A, Aktaş AE, et al. Investigation of biofilm production by Candida species isolated from various clinical samples. British journal of biomedical science 2011; 68(1): 43-45.
156. Aynalı A. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzole Edilerek Tiplendirilen Candidalarda Virulans Faktörlerinin Araştırılması ve Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2010, Isparta.
157. Özhun M. Çeşitli Klinik Örneklerden Soyutlanan Candida Suşlarının Virulans Faktörlerinin Araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2015, İzmir.
158. Coşkun USS, Aksu N, Kurşun Ş, Mumcuoğlu İ. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida Suşlarında Virulans Faktörlerinin ve Antifungal Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2018; 10(3): 110-22.

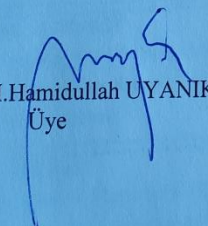
159. Posteraro B, Spanu T, Fiori B, et al. Antifungal susceptibility profiles of bloodstream yeast isolates by Sensititre YeastOne over nine years at a large Italian teaching hospital. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2015; 59(7): 3944-55.
160. Xiao M, Fan X, Chen SCA, et al. Antifungal susceptibilities of *Candida glabrata* species complex, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* species complex and *Candida tropicalis* causing invasive candidiasis in China: 3 year national surveillance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2015; 70(3): 802-10.
161. Aigner M, Erbeznik T, Gschwentner M, Lass-Flörl C. Etest and Sensititre YeastOne susceptibility testing of echinocandins against *Candida* species from a single center in Austria. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2017; 61(8): 512-17.
162. Stephen S, Pramodhini S, Shanmugam J, Bhuvaneshwar D. Prevalence of virulence factors and antifungal susceptibility testing of *Candida* species isolated from clinical specimens. *Indian Journal of Microbiology Research* 2018; 5(1): 106-09.
163. Morris AJ, Rogers K, McKinney WP, et al. Antifungal susceptibility testing results of New Zealand yeast isolates, 2001–2015: Impact of recent CLSI breakpoints and epidemiological cut-off values for *Candida* and other yeast species. *Journal of global antimicrobial resistance* 2018; 14: 72-77.
164. Küçükateş E, Gültekin NN, Alisan Z, et al. Identification of *Candida* species and susceptibility testing with Sensititre YeastOne microdilution panel to 9 antifungal agents. *Saudi medical journal* 2016; 37(7): 750-57.
165. Akçam A. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzlenen Kandidemi Olgularının Epidemiyolojik, Klinik ve Antifungal Duyarlılık Yönünden İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2009, Adana.
166. Espinel-Ingroff A, Alvarez-Fernandez M, Canton E, et al. Multicenter study of epidemiological cutoff values and detection of resistance in *Candida* spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin using the Sensititre

- YeastOne colorimetric method. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2015; 59(11): 6725-32.
167. Pfaller MA, Chaturvedi V, Diekema DJ, et al. Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel for antifungal susceptibility testing of the echinocandins anidulafungin, caspofungin, and micafungin. *Journal of clinical microbiology* 2008; 46(7): 2155-59.
168. Ying S, Chunyang L. Correlation between phospholipase of *Candida albicans* and resistance to fluconazole. *Mycoses* 2012; 55(1): 50-55.
169. Deorukhkar SC, Saini S, Mathew S. Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candida tropicalis* and its antifungal susceptibility profile. *International journal of microbiology* 2014; 2014: 1-6.
170. Rajendran R, Sherry L, Nile CJ, et al. Biofilm formation is a risk factor for mortality in patients with *Candida albicans* bloodstream infection—Scotland, 2012–2013. *Clinical Microbiology and Infection* 2016; 22(1): 87-93.
171. El-Houssaini HH, Elnabawy OM, Nasser HA, Elkhatib WF. Correlation between antifungal resistance and virulence factors in *Candida albicans* recovered from vaginal specimens. *Microbial pathogenesis* 2019; 128: 13-19.
172. Keçeli S, Budak F, Sönmez Tamer G, Willke A. *Candida* türlerinin bazı antifungallere duyarlılıklarının ve fosfolipaz aktivitelerinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2003; 17(3): 321-24.
173. CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Fourth Informational Supplement. CLSI document M27-S4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012
174. Deorukhkar SC, Roushani S. Fluconazole resistance in *Candida* Species: Ten Year's Experience at a Rural Tertiary Care Teaching Hospital in India. *Journal of Infect Dis and Pathog* 2017; 1(1): 102.

EKLER

EK1- ETİK KURUL ONAY FORMU

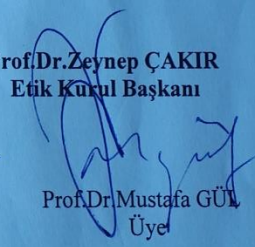
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
KARAR		
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Arş.Gör.Dr.Büşra ARDIÇ
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		İnvaziv Candida Enfeksiyonu Saptanan Hastalarda Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi, İzole Edilen Candidaların Virulans Faktörlerinin ve Antifungal Duyarlılıklarının Araştırılması
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 03 Karar No: 30	Tarih: 22.04.2019
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin kendisi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	



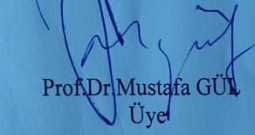
Prof. Dr. M. Hamidullah UYANIK
Üye



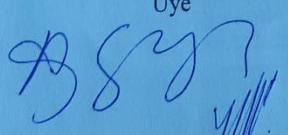
Prof. Dr. Zekai HALICI
Üye



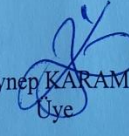
Prof. Dr. Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı



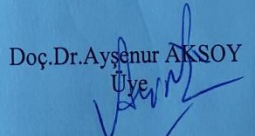
Prof. Dr. Mustafa GÜL
Üye



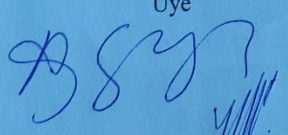
Doç. Dr. Atilla ÇAYIR
Üye



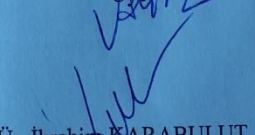
Doç. Dr. Zeynep KARAMAN ÖZLÜ
Üye



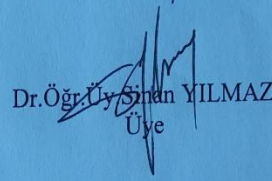
Doç. Dr. Ayşenur AKSOY
Üye



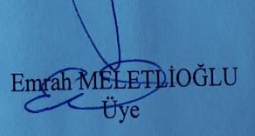
Doç. Dr. Yasemin ÇAYIR
Üye



Dr. Öğr. Üy. İbrahim KARABULUT
Üye



Dr. Öğr. Üy. Sinan YILMAZ
Üye



Emrah MELETLİOĞLU
Üye