



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**CANDIDA TÜRLERİNİN TANIMLANMASINDA İKİ FARKLI YÖNTEMİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Ülkü GAYIBOV

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2014



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**CANDIDA TÜRLERİNİN TANIMLANMASINDA İKİ FARKLI YÖNTEMİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Ülkü GAYIBOV

Danışman: Prof. Dr. Beyza ENER

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2014

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet	ii
İngilizce Özet	iv
Giriş	
I. <i>Candida</i> türlerinin taksonomideki yeri	1
II. <i>Candida</i> türlerinin morfolojik özellikleri	2
III. <i>Candida</i> türlerinin oluşturduğu hastalıklar	3
IV. <i>Candida</i> enfeksiyonlarının tanısı	6
V. <i>Candida</i> enfeksiyonlarında örneklerin ekimi ve direkt mikroskopik inceleme	8
VI. <i>Candida</i> türlerinin tanımlanması	9
Gereç ve Yöntem	
I. Çalışmada tanımlanan koloniler	19
II. Çimlenme borusu testi	19
III. Mısır unu tween-80 ağara ekim	20
IV. Fenotipik tanımlama	20
Bulgular	23
Tartışma ve Sonuç	31
Kaynaklar	36
Teşekkür	42
Özgeçmiş	43

ÖZET

Fırsatçı mantarlar, nozokomiyal enfeksiyonların önemli nedenlerinden biri olup, *C. albicans* ve diğer *Candida* türleri hastalardan artan sıklıkta izole edilmektedir. Bunlardan bir kısmı yaygın kullandığımız antifungallere dirençli olduklarından, uygun tedaviye başlamak için hızlı ve doğru tanımlama gerekir. Bu çalışmada da API ID 32 C (bioMerieux France) ve Phoenix Yeast ID (Becton, Dickinson Diagnostics, Sparks, MD) tanımlama sistemlerinin karşılaştırılması ve morfolojik bulguların tanımlamaya etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

İzolatlar, çalışma döneminde Uludağ Üniversitesi Hastanesi'nde yatan hastaların örneklerinden elde edilmiştir. Tüm izolatlar çimlenme borusu ve mikroskopik morfoloji açısından incelenmiş ve üretici firmaların önerileri doğrultusunda tanımlama yapılmıştır. İki sistem arasındaki uyum yüzde olarak hesaplanmış ve uyumsuz sonuçlar, morfolojik bulgularla çözümlenmeye çalışılmıştır.

Yüz otuz yedi hastadan toplam 211 maya izolasyonu olmuştur. İzolatların 159'unda aynı tanımlama elde edilmiş olup, %75,4 uyum saptanmıştır. Uyum, sık izole edilen türlerde (%81,7), seyrek olanlara (%38,7) göre anlamlı olarak ($p=0.034$; χ^2 test) daha yüksek bulunmuştur. Her ne kadar anlamlı olmasa da ($p=0.31$; χ^2 test) morfolojik bulguların eklenmesi ile uyum oranı (%88,1) artmıştır. Uyumlu tanımlama bulgularına göre, en sık izole edilen tür *C. albicans* (%44,1) olmuş, bunu *C. tropicalis* (%9,9), *C. glabrata* (%9,5), *C. parapsilosis* (%8,5) ve *C. kefyr* (%8,1) izlemiştir.

Tür tanımlanmasında moleküler yöntemler daha doğru olsa da, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında halen fenotipik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bu çalışmada da iki sistemin karşılaştırılabilir olduğu ve morfolojinin tanımlamaya pozitif etkisi görülmüştür. Phoenix Yeast ID Panel kullanımı ve yorumlanması kolay olup, API ID 32 C'den 24 saat daha erken

sonuçlanmaktadır. Hiçbir yöntemin tek başına tamamen güvenilir olmadığı düşünülürse, laboratuvarlarda tür tanımlamasında dikkatli değerlendirme şarttır.

Anahtar kelimeler: *Candida* türleri, tanımlama, API ID 32 C, Phoenix Yeast ID Panel

SUMMARY

Comparison of Two Different Methods for Identification of *Candida* species

Opportunistic fungal pathogens are becoming important causes of nosocomial infections. *Candida albicans* and other *Candida* species are increasingly recovered from patients. Since many of the yeasts have been found to be resistant to the most common antifungal agents, the introduction of appropriate therapy depends on the rapid and accurate identification. The aim of this study, was to compare the identification of API ID 32 C (bioMerieux France) and Phoenix Yeast ID (Becton, Dickinson Diagnostics, Sparks, MD) and to evaluate the effect of morphological findings in identification.

Isolates were obtained from cultures of clinical specimens of individual patients, hospitalized at Uludağ University Hospital during the study period. Germ tube production and microscopic morphology were examined. All yeasts were tested according to manufacturer's recommendations and percentage of concordance between the two commercial systems was calculated. Discrepant results between the systems were tried to resolve by morphological tests.

A total of 211 clinical yeast specimens from 137 patients were tested. Same identification was obtained among 159 isolates and 75,4% concordance was found. The concordance was found significantly higher ($p=0.034$; χ^2 test) in species more frequently isolated (81,7%) than the rare ones (38,7%). Although not significant ($p=0.31$; χ^2 test), the rate of concordance between the systems was increase (88,1%), when adding the morphological findings. According to the concordant identification, the most frequently isolated species was found *C. albicans* (44,1%) followed by *C. tropicalis* (9,9%), *C. glabrata* (9,5%), *C. parapsilosis* (8,5%) and *C. kefyr* (8,1%).

Although molecular methods are more accurate to identify the species, many clinical microbiology laboratories still rely on phenotypic methods. We found that the two identification systems were comparable and careful observation of yeast morphology can add confidence to the identification. The Phoenix Yeast ID system was very easy to use and interpret, and the results were obtained approximately 24 hours earlier than those of the API ID 32 C system. As none of the methods evaluated was completely reliable as a stand-alone, careful evaluation is necessary for laboratories to identify these species.

Key words: *Candida* species, identification, API ID 32 C, Phoenix Yeast ID Panel

GİRİŞ

Mantarlar doğada yaygın olarak bulunan ökaryotik canlılar olup, klorofilsiz olmaları ile bitkilerden, sahip oldukları hücre duvarları ile hayvanlardan ayrılırlar. En önemli işlevleri organik atıkların parçalanması ve yapı taşlarının doğaya tekrar kazandırılmasıdır. Genellikle toprakta yaşayan, eşeyli ve eşeysiz sporları ile çoğalan canlılar olup, sporların hava akımı ile yer değiştirmesi sonucu dağılırlar. Doğada 250 bin mantar türü olduğu tahmin edilmektedir. Esas olarak fitopatojen olan mantarların yaklaşık 100-150 tanesi insanlarda çeşitli hastalıklara yol açar. Hastalıkların çoğu, genel durumu bozuk hastalarda görülen fırsatçı enfeksiyonlar olup, son 20 yıl içinde bu enfeksiyonlarda ciddi bir sıçrama olmuştur. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) raporuna göre 1980-1990 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri (ABD) hastanelerinde, yatan her 1000 hasta için fırsatçı mantar enfeksiyonu gelişme oranı 2'den 3,8'e yükselmiştir (1-4). *Candida* ve *Aspergillus* türleri, fırsatçı mantar enfeksiyonlarında en sık karşımıza çıkan etkenlerdir (5,6). *Candida* türleri, cansız ortamlarda bulunabildiği gibi, insan ve diğer memelilerin deri, vajen ve gastrointestinal sistem normal florasında da yer alır. Normal florada bulunması nedeniyle, endojen fırsatçı fungal enfeksiyonlara birincil olarak yol açan bir etkindir (7).

I. *Candida* Türlerinin Taksonomideki Yeri

Candida türlerinin eşeyli üreyen şekilleri (teleomorfik yapı); mantarlar aleminde *Ascomycota* bölümü, *Hemiascomycetes* sınıfında farklı aile ve cinslerde (*Clavispora*, *Debaryomycetes*, *Issatchenkia*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Yarrowia* gibi) yer almaktadır (8). Bu bağlamda taksonomik olarak birbirine uzak olup, eşeysiz çoğalan (anamorfik yapı) türlerin oluşturduğu yapay ve heterojen bir gruptur. Eşeysiz tomurcuklanarak çoğalan bir tür, tablo-1'de belirtilen özelliklere sahip **olmadığı** zaman *Candida* cinsi içinde yer alır. *C. albicans*, *C. ciferrii*, *C. dubliniensis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C.*

guilliermondii, *C. haemulonii*, *C. inconspicua*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. parapsilosis*, *C. pulcherrima*, *C. rugosa*, *C. tropicalis*, *C. utilis* ve *C. zeylanoides* tıbbi öneme sahip *Candida* türleridir. Bununla beraber olguların %90'ından fazlası *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* tarafından oluşturulur (9).

Tablo-1: *Candida* cinsinde yer alacak türlerde **olmaması** gereken özellikler.

- Mukoid koloni oluşturma
- Kırmızı, pembe veya turuncu pigmentasyon
- Asetik asit üretimi
- Artrospor
- Ballistospor
- Simpodyal blastospor
- Geniş tabanlı tomurcuklanma
- Üçgen hücreler

II. *Candida* Türlerinin Morfolojik Özellikleri

Candida türleri yuvarlak veya oval, 4-6µm çapında blastosporlardan oluşmuştur. Eşeysiz çoğalma, blastosporların multilateral tomurcuklanması ile olur. Tomurcukların ana hücreden ayrılmayıp uzaması sonucu yalancı hifler meydana gelir. Bazı türler (*C. albicans*, *C. dubliniensis*) gerçek hifler de oluşturabilir. Eşeyli üreme sonucu gelişen ve 4-8 hücreden oluşan tipik askosporlar, gerçek taksonominin anlaşılmasını sağlar (7,9,10).

Aerobik veya fakültatif anaerobik olabilen *Candida* türleri çok çeşitli besiyerlerinde 24-72 saat arasında üreyebilmektedir. Genellikle beyaz-krem renginde, düzgün ve tereyağı kıvamında koloniler oluşturur. Koloniler eskidikçe düzgünlüklerini kaybetmeye başlar. Bazı türler başlangıçtan itibaren buruşuk koloniler oluşturabilir. *C. albicans* bazen, kanlı agarda, ayaksız çıkıntıları (colonies with feet) olan koloniler yapar (9,10).

III. *Candida* Türlerinin Oluşturduğu Hastalıklar

Candida türleri ile gelişen enfeksiyonlara kandidoz denir. Kandidozların büyük çoğunluğu, etkenin normal florada (gastrointestinal sistem, vajina, deri) bulunması nedeniyle endojen kaynaklıdır. Ancak vajinal kandidozlu anneden bebeğine, eşler arasında cinsel ilişkiyle ve el taşıyıcılığının %70'lere ulaştığı hastane personelinden eller aracılığı ile kişiden kişiye bulaş da olabilir (11-13). Ellerin *Candida* türleri ile inoküle olmasından sonra, sağlık personelinin etkeni, en az 45 dakika ellerinde taşıdığı ve diğer hastalara aktardığı gösterilmiştir (14).

Candida türleri deri ve deri eklerinde, mukozalarda hastalıklar oluşturmakta ve özellikle immun sistemi zayıflamış kişilerde ciddi sistemik enfeksiyonlara yol açmaktadır. Tablo-2'de *Candida* türleri ile gelişen enfeksiyonlar özetlenmiştir (11).

Tablo-2: *Candida* türleri ile gelişen enfeksiyonlar.

<ul style="list-style-type: none">• Kutanöz kandidozlar<ul style="list-style-type: none">➤ Erosia interdigitalis blastomycetica➤ Intertrigo➤ Paronişi ve onikomikoz
<ul style="list-style-type: none">• Kronik mukokutanöz kandidoz
<ul style="list-style-type: none">• Mukoza kandidozları<ul style="list-style-type: none">➤ Pamukçuk (orofaringeal kandidoz)➤ Kandida özafajiti➤ Mide-barsak kandidozu➤ Kandida vajiniti
<ul style="list-style-type: none">• Kandidemiler
<ul style="list-style-type: none">• Derin organ kandidozları<ul style="list-style-type: none">➤ Lokal derin organ enfeksiyonları (Genellikle kateter ve şantlarla ilişkili)➤ Yaygın enfeksiyonlar

III.A. Kandidozların Patogenezi

III.A.a. Kutanöz Kandidozlarda Patogenez

Kutanöz kandidozlar, immun sistemi normal kişilerde de görülebilen; kötü hijen, kötü beslenme, nem ve aşırı terleme gibi uygunsuz durumlarda

deri florasında bulunan *Candida* türlerinin aşırı çoğalması ile gelişen tablolardır. Koşullar düzeldiği zaman iyileşme çabuk ve kolay olur (11).

III.A.b. Kronik Mukokutanöz Kandidoz

Erken çocukluk döneminde başlayan, T hücre aracılı immunitede selektif bir defekt, endokrinopatiler ve oto-immun hastalıklarla beraber görülen nadir bir tablodur. Bazı olgularda otozomal dominant veya otozomal resesif ailesel geçişler olduğu da bildirilmiştir (15-18).

III.A.c. Mukoza Kandidozlarında Patogenez

Başta *C. albicans* olmak üzere *Candida* türleri doğumdan hemen sonra deri ve mukozalarda kolonize olur. Kolonizasyon oranları kişiler arasında farklılık gösterse de; ağız boşluğunda %2-41, gastrointestinal kanalda %0-55, vajende %2-68 oranlarında bulunabilir (7). Yoğun antibiyotik kullanımına bağlı normal floranın bozulması, mukozalarda kolonizasyonun artması ve mukozal enfeksiyonların gelişmesi açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle uzun süre hastanede kalan ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalarda, mukozal kandidozlar sık görülür (19,20). Ayrıca, normal bakteri florası yeterince gelişmemiş olan yeni doğanlar ve ileri derecede hücresel immun yetmezlik altında olan AIDS hastaları da mukoza enfeksiyonları açısından riskli gruba oluşturur (7).

Candida türlerinin mukozalarda kolonize olmasında, bahsedilen konak faktörleri yanı sıra patojene ait faktörler de etkili olmaktadır. Mantar hücre yüzey hidrofobik özelliği ve çeşitli hücre yüzey adezinleri konak dokulara adezyon ve kolonizasyonda önemli rol oynar. Bu özellikler açısından *Candida* türleri arasında farklılıklar vardır ve virülans faktörlerine en fazla sahip olan tür *C. albicans*'dır (21,22).

III.A.d. Kandidemi Patogenezi

Kanıtlanmış organ tutulumu olmaksızın bir ya da daha fazla kan kültüründe *Candida* türlerinin üremesine kandidemi denir. Kandidemi olgularının bir kısmının patogenezinde, gastrointestinal sistemden translokasyon önemlidir. Özellikle gastrointestinal kolonizasyon ve/veya enfeksiyonu olan hastalarda; radyoterapi, kemoterapi, abdominal cerrahi, kronik inflamatuvar hastalıklar gibi mukoza harabiyetine sebep olan durumlar

varsa translokasyon sık ve kolay olmaktadır (11,23-26). Maya formundan hif formuna geçme; fosfolipaz, proteinaz ve esteraz gibi konak dokularının yıkımını sağlayan enzimler, translokasyonu kolaylaştırıcı patojene ait virölans özellikleri olup, patogeneizde önem taşımaktadır. *C. albicans* ve *C. tropicalis* mukoza invazyonu ve gastrointestinal sistem kaynaklı kandidemilerde en sık karşımıza çıkan türlerdir (21).

Damar içi kateterler, kandidemi gelişmesinde bir diğer önemli risk faktörüdür. Özellikle yoğun bakım hastalarında gelişen kandidemilerde, kötü kateter bakımı sonucu deri florasında bulunan *C. albicans* ve *C. parapsilosis* gibi türler kana karışarak enfeksiyona sebep olabilir. Bu tarzda gelişen kandidemilerde ekzojen nazokomiyal özellik de vardır ve eller aracılığı ile bulaş sonucu küçük epidemiler olabilir (3,13,26-29). Adezyonu kolaylaştıran ve fagositozdan kaçışı sağlayan biyofilm oluşumu, kateter ilişkili kandidemilerin patogeneizinde rol oynayan patojene ait önemli bir virölans faktörüdür (30-32).

III.A.d. Derin Organ Kandidozlarında Patogenez

Derin organ kandidozları; kandidemi sonucu tüm vücuda yayılmayla ya da üriner sonda, periton kateteri, beyin omurilik şantı gibi durumlarda yabancı cisme bağlı olarak lokal organ tutulumu ile gelişen tablolardır. Lokal tablolar yabancı cismin çıkarılmasıyla düzelebilirken; kandidemi sonucu yayılma, akut ve mortalitesi yüksek bir tablodur. Merkezi sinir sistemi (MSS), böbrek, karaciğer, dalak gibi parankimatöz organlar en fazla etkilenen organlar olmaktadır. Mantar sporlarının kandan uzaklaştırılmasında en etkin rolü nütrofiller oynadığından, nütropeni kandidemi ve akut yaygın kandidozun en önemli risk faktörüdür (23,24).

Kandidemi gelişmiş nütropenik bir hasta, hastalığın seyri sırasında nütropeniden çıkarsa, kronik yaygın kandidoz tablosu gelişebilir. Bu tabloda, çoğalan nütrofiller, mantar sporlarının karaciğer ve dalak gibi organlarda tutulmasına neden olarak kronik bir hastalığın gelişmesine yol açar. Bu tablo hemen daima nütropeniden çıkan hematolojik maliniteli hastalarda görölmektedir (11).

III.B. Kandidozlarda Epidemiyoloji

Candida enfeksiyonları arasında epidemiyolojik verilen genellikle kandidemilerden elde edilmektedir. Kandidemi insidansı bölgeden bölgeye ve aynı bölge içinde hastaneden hastaneye farklılık göstermekte ve 0,2-2,8/1000 başvuru arasında değişmektedir (3,33). Uludağ Üniversitesi Hastanesi'nde bu oran, 1996-2007 yıllarını kapsayan 12 yıllık bir taramada ortalama 1,9/1000 başvuruda olarak bulunmuştur (34). Kuzey Amerika ve Avrupa'da yapılan sürveyans çalışmalarına göre *Candida* türleri kan dolaşımı enfeksiyonlarına dördüncü sıklıkta sebep olmakta ve tüm nazokomiyal kan dolaşımı etkenleri arasında %8-10 oranında görülmektedir (3,24,33,35,36). Kandidemilere en fazla sebep olan tür *C. albicans* olmakla beraber, *C. albicans* dışı türler giderek artan sıklıkta karşımıza çıkmaktadır. ABD ve Kuzey Avrupa gibi yaş ortalaması yüksek gelişmiş ülkelerde ikinci sıklıkta görülen tür *C. glabrata* iken, hastane enfeksiyon kontrol önlemleri yeterli olmayan ülkelerde, *C. parapsilosis* ikinci sıklıkta görülen türdür (24,37,38). *C. krusei*'nin flukonazole intrensek, *C. glabrata*'nın ise yüksek düzeyde direnç geliştirebilmesi nedeniyle flukonazol kullanımının yüksek olduğu merkezlerde bu türlerin daha fazla izole edilebileceği görüşü yaygındır (39-42).

IV. Candida Enfeksiyonlarının Tanısı

Kutenöz kandidozlarda; hastanın alışkanlıkları ve sosyo-ekonomik koşulları sorgulanarak, lezyonlar incelenerek ve lezyonlardan yapılan direkt mikroskopik incelemede (%10-20 KOH kullanılarak yapılan fresh inceleme) blastosporların görülmesi ile tanı konulabilir. Destek tedavi önerileri ve topikal antifungaller, çoğu olguda yeterli olduğundan, ekim yaparak etkeni üretmek ve tanımlamak çoğunlukla anlamlı değildir (43).

Kronik mukokutanöz kandidoz nadir görülen bir tablo olup, hastaların immunolojik, endokrinolojik ve genetik incelemelerinin yapılması tanıda önceliklidir. Bu incelemeler ile kesin tanısı konan hastalar, tekrarlayan mukokutanöz kandidoz atakları geçireceklerinden ve her atakta antifungal ajan almak zorunda olacaklarından kültür ve üreyen *Candida* türünün

tanımlanması gerekir. Bu hastalarda antifungal direnç sık geliştiğinden duyarlılık testlerine de ilerleyen olgularda ihtiyaç duyulur (15-18).

Mukozal kandidozlar değerlendirilmesi ve yorumlanması en zor tablolardır. Orofaringeal ve vajinal mukoza dışında diğer mukozaların incelenmesi, endoskopi yapılmadığı sürece mümkün olmadığından, balgam, diğer solunum yolları ve dışkı gibi örneklerdeki üremelerin enfeksiyon açısından hiçbir anlamı yoktur ve tanımlanması çok gerekli değildir. Ancak, uzun süre hastanede kalan ve kan kültüründe üreme olmayan yoğun bakım hastalarında, invazif kandidoz tanısına ulaşmak için kolonizasyon indeksini saptamak önemli olabilir. Bu tür hastaların bahsedilen örneklerindeki üremeleri tür düzeyinde tanımlanmalıdır. *Candida* skorlamasının araştırıldığı prospektif çok merkezli bir çalışmada, nötropenik olmayan kritik hastalarda *Candida* skoru <3 ise invazif kandidoz riskinin çok düşük olduğu bildirilmiştir (44). Hastanemizde yapılan bir diğer çalışmada ise kandidemi olgularının %74'ünde kan kültüründe üreyen izolat ile değişik anatomik bölgelerde kolonize olan izolatların fenotipik ve genotipik olarak aynı olduğu gösterilmiştir. En az üç anatomik bölgede aynı tür ile kolonizasyonun olması durumunda, kandidemi ve kandidoz ihtimalinin çok yüksek olacağı ve ampirik antifungal tedavinin başlanması gerektiği sonucuna varılmıştır (45).

Kan kültürleri, steril vücut sıvıları ve derin organ biyopsi örneklerindeki üremeler ise her zaman anlamlı kabul edilerek, tür düzeyinde tanımlanmalıdır (46). Derin organ biyopsilerine ulaşmak her zaman mümkün olmadığı için kandidemi ve invazif kandidozlarda esas tanı aracı kan kültürleridir. Tanı kılavuzlarının çoğunda; kandidemi ve invazif kandidoz şüphesi olan hastalardan standart kurallara uyarak her gün kan alınması, otomatik kan kültür sistemlerinin kullanılması ve inkübasyon süresinin en az beş gün olması güçlü olarak önerilmektedir (47,48). Bununla beraber, tüm önerilere uyulsa bile kandidemi ve akut yaygın kandidozda kan kültürlerinin duyarlılığı ortalama %50 civarındadır (49-51). Kronik yaygın kandidozda bu oran çok daha düşük (%5) seviyelere iner. Kan kültürlerinin istenilen duyarlılıkta olmaması nedeniyle, β -glukan, mannan antijen ve mannan antikor testlerinin de tanıda önemli yeri vardır (52-54)

V- *Candida* Enfeksiyonlarında Örnekleri Ekimi ve Direkt Mikroskopik İncelemesi

V.A. Kan Kültürleri

Bahsedildiği gibi kan kültürlerinin, kandidemi ve akut invazif kandidoz tanısında önemi büyüktür. Duyarlılığı arttırmada standart bakteriyolojik kan kültür şişeleri yerine mikolojik kan kültür şişelerinin kullanılması gündemdedir. Yapılan çalışmalarda, mikolojik kan kültür şişelerinin kullanılmasının, üreme zamanını kısalttığı ve *C. glabrata*'nın üretilmesini anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur (55,56). Her merkezin *C. glabrata* oranlarını bilmesi ve özellikle *C. glabrata* oranı yüksek merkezlerde, riskli hastalara mikolojik kan kültür şişelerinin kullanılması önerilmektedir (57).

V.B. Diğer Kültürler

Candida türleri, kanlı, çikolata, beyin-kalp infüzyon agar gibi rutin bakteriyolojik besiyerlerinde çoğunlukla üreyebilmektedir. Ancak, Sabouraud's dextrose agar (SDA) veya potato dextrose agar (PDA) gibi besiyerlerinde üreme daha güçlü olmakta ve bu nedenle, mantar enfeksiyonu şüphesi olduğunda, primer izolasyon besiyerleri arasına bu besiyerlerinin de eklenmesi önerilmektedir. Solunum yolları örnekleri ve dışkı gibi normal floralı bölgelerden gelen örneklerin ekiminde, besiyerlerinin içine antibiyotikler eklenerek, *Candida* türlerine özgü seçicilik kazandırılabilir. Kloramfenikol, gentamisin, streptomisin, penisilin ve siprofloksasin bu amaçla en çok kullanılan antibiyotiklerdir. Kromojenik besiyerleri seçicilik yanı sıra, *Candida* türlerinin tanımlanması ve miks üremelerin fark edilmesinde avantajlıdır ve primer izolasyonda kullanılması önemli olabilir. Ancak, pahalı besiyerleri olduğu için maliyet-etkinlik analizleri iyi yapılmalıdır (58).

Ekim yapılan tüm örneklerden direkt mikroskopik inceleme de yapılmalıdır. Direkt mikroskopik inceleme kültüre göre çok daha kısa sürede sonuç verecek ve örnek hakkında fikir sahibi olunmasını sağlayacaktır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık kullanılan Gram boyama yöntemi çoğu örnekte *Candida* sporlarının da boyanmasını sağlar ve *Candida* sporları gram pozitif olarak boyanırlar. Yalancı veya gerçek hif yapılarının Gram yöntemi ile

boyanması daha zordur. Bu nedenle mantar şüphesi olduğu zaman, örneğin lam-lamel arası incelenmesi, bir diğer önemli mikroskopi yöntemidir. Bu incelemede %10-20 KOH ve/veya blankophor P, calcofluor white ya da uvitex 2B gibi mantar hücre duvarına özgül olarak bağlanmayan floresan boyalar da kullanılabilir (59).

VI. *Candida* Türlerinin Tanımlanması

Candida türlerinin tanımlanmasında koloni morfolojisi, mikroskobik morfoloji, fenotipik ve genotipik özelliklerden yararlanır. Genotipik tanımlama en kesin sonucu oluşturmakla beraber rutin laboratuvarlarda, esas olarak fenotipik özellikler kullanılır ve burada fenotipik özelliklerden bahsedilecektir.

VI.A. Tanımlamada Koloni Morfolojisi

VI.A.a. Genel Amaçlı Besiyerlerinde Koloni Morfolojisi

Bahsedildiği gibi, *Candida* türleri birçok katı besiyerinde, 30-37°C'da 24-72 saat içinde kolaylıkla üreyerek koloniler oluşturur. Oluşturdukları kolonilerin bakteri kolonilerinden çok farkı yoktur ve deneyimsiz kişilerin mutlaka mikroskobik inceleme yaparak farklı kolonileri değerlendirmesi gerekir. Rutinde *Candida* türlerinin kolonileri ile en çok kanlı agar ve SDA besiyerlerinde karşılaşılır. Her iki besiyerinden de koloni morfolojisi ile tanımlama yapmak mümkün değildir. Ancak bazı özellikler vurgulanabilir. *C. albicans* ve *C. tropicalis*, hızlı üreyen 24 saatte koloni oluşturabilen türlerdir. Koloni görünümleri düzgün, beyaz-krem ve tereyağ kıvamında olup, birbirlerinden farklı bir özellik yoktur. *C. parapsilosis* kolonisi de *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e benzemekle beraber, bu türde üreme daha yavaştır ve koloni oluşumu 48 saatte başlar. *C. glabrata* koloni oluşumu en yavaş olan tür olup, bazen 72-96 saate ihtiyaç duyulabilir ve 48 saatte çok ince net seçilemeyen bir üreme görülür. Koloniler tam geliştiği zaman ise yine düzgün *C. albicans* kolonisine benzer koloniler oluşturur. *C. krusei* koloni yapısı en farklı olan türdür. Genellikle kuru mat buruşuk koloniler oluşturur. Üremesi hızlı olup, 24 saatte koloniler görülür. Ancak benzer koloniler, nadir *Candida* türleri (*C.*

inconspicua, *C. norvegensis*, *C. lambica*) ve *Geotricum* ve *Trichosporon* türleri gibi maya morfolojisindeki farklı mantarlar tarafından da oluşturulabilir. Dolayısı ile koloni morfolojisi ile tanımlama yapmak mümkün değildir (5,9,58).

VI.A.b. Kromojenik Besiyerlerindeki Koloni Morfolojisi

Candida türlerine özgü kromojenik besiyerleri, primer izolasyon besiyeri olarak kullanıldığı zaman, kolonilerin rengine göre erken tanımlama yapmak mümkündür. Ayrıca bu besiyerleri, miks üremeleri göstermesi açısından da avantajlıdır (9). CHROMagar *Candida* (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD), *Candida* ID 2 (bioMerieux, Marcy L'Etoile, France), CandiSelect (Bio-Rad, Marnes La Coquette France), Oxoid Chromogenic *Candida* Agar (OCCA, Basingstoke, UK), HiChrome *Candida* (HiMedia Laboratories, Mumbai, India) ticari olarak temin edilebilecek *Candida* türlerinin izolasyon ve tanımlanmasına yönelik kromojenik besiyeleridir. Bu besiyerlerinin içinde değişik kromojenik substratlar vardır ve üreme esnasında salınan ekzo-enzimler (öz. β -hekzosaminidaz) aracılığı ile substratın yıkılmasına bağlı olarak oluşan kromojenik ürün, koloni renginin değişmesini sağlar. Inkübasyon zamanı ve inkübasyon ısı gibi parametreler ekzo-enzim salınımını çok etkilediğinden üretici firmaların önerilerine sıkı sıkıya uymak gerekir (9,58). Bu besiyerlerinin çoğu *C. albicans* tanımlanmasında başarılıdır. Kromojenik substratın özelliğine göre *C. albicans* yeşil ya da mavi koloniler oluşturur. Ayrıca *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. glabrata*'nın oluşturduğu koloni renkleri de tanımlamada yararlıdır (60,61). Diğer türler ise çoğunlukla pembe-beyaz koloniler oluşturarak, bu besiyerlerinde tanımlanamazlar (Şekil-1).



Şekil-1: Kromojenik besiyerinde *Candida* türlerinin oluşturduğu koloniler. Yeşil: *C. albicans*; Mavi: *C. tropicalis*; Düzgün pembe: *C. glabrata*; Buruşuk pembe: *C. krusei*.

VI.B. Tanımlamada Hızlı Testler (≤ 24 saat)

İster genel amaçlı, ister kromojenik besiyeri olsun *Candida* türlerinin ayırımında koloni morfolojisi yeterli değildir ve farklı testlere ihtiyaç vardır. Bunlardan bir kısmı koloni oluşumu ile aynı gün içinde sonuçlanabilen hızlı testlerdir. Bu testlerden çimlenme borusu (germ tüp) hariç diğerleri, mantarların oluşturdukları ekzo-enzimler aracılığı ile tanımlama yapan reaksiyonlardır. Testler çabuk sonuçlanmakla beraber, enzimatik reaksiyonlarda her zaman hata mümkün olduğundan, tanımlama güvenilir testlerle doğrulanmalıdır.

VI.B.a. Çimlenme Borusu Testi

C. albicans ve *C. dubliniensis*'in hızlı tanısı için kullanılan oldukça başarılı bir testir ve ilk defa 1954 yılında Johnson tarafından kullanılmıştır (62). Testin sonuçlanması için 3-4 saatte ihtiyaç vardır. Şüpheli koloni steril serum (koyun, sığır veya insan) içinde süspanse edilerek 37°C'da üç saat tutulur ve gerçek hif başlangıcı olan çimlenme borusu mikroskop altında görüldüğünde, izolatin *C. albicans* ya da *C. dubliniensis* olduğuna karar verilir (şekil 2a). Testin özgüllük ve duyarlılığı oldukça yüksektir ve *C. albicans*

suşlarının %95-97'si çimlenme borusu oluşturur. Orofaringeal kandidozlar dışındaki klinik tablolarda *C. dubliniensis* olasılığı çok düşük olduğundan, pozitif çimlenme borusu sonucunda, başka bir tanımlama testi beklenmeden rapor verilir. Ancak, tekrarlayan orofaringeal kandidoz olgularından izole edilen çimlenme borusu pozitif izolatlarda, her zaman *C. dubliniensis* de akılda bulundurulmalı ve tanımlamada ileri testlere gidilmelidir. Deneyimsiz kişiler, *C. tropicalis*'i bazen yanlış değerlendirerek yalancı pozitifliğe yol açabilir. *C. tropicalis*, nadiren çimlenme borusuna benzeyen uzamış yalancı hifler oluştur; ancak, çimlenme borusuna benzeyen bu yalancı hiflerin, maya hücrelerinden çıktığı yerde bir daralma görülür (şekil 2b). Oysa bu daralma *C. albicans*'in çimlenme borusunda görülmemektedir (10).



Şekil-2: *C. albicans* (a) ve *C. tropicalis* 'in (b) görünümü.

VI.B.b. *C. albicans* Tanısına Yönelik Hızlı Testler

Çimlenme borusu testi mikroskopik inceleme ve deneyim gerektirdiğinden, *C. albicans* tanımlamasına yönelik diğer hızlı testlere olan ilgi artmaktadır. Bu testlerle, *C. albicans* tarafından salınan iki ekzo-enzimin (prolin aminopeptidaz ve β -galactoaminidaz) varlığı araştırılır. Bu enzimlerin etkili olduğu kromojenik substratların yıkılması ile oluşan renk değişikliği ile tanımlama yapılır. Ticari olarak bu enzimleri saptayan çeşitli kitler (Bactocard *Candida*=Remel Lab/USA, Albistrip=LabM/UK, *Albicans*-Sure=Clinical Standards Lab/USA, Rapidec *albicans*=bioMerieux/France) bulunmaktadır ve bunların çoğu 5-10 dakikada sonuçlanmaktadır (5,9,58,62).

VI.B.c. *C. glabrata* Tanısına Yönelik Hızlı Trehaloz Testi

C. glabrata'nın hızlı tanımlanması, flukonazol ve diğer azollere dirençli olabilmesi açısından önemlidir ve trehaloz, hızlı tanımlanmada kullanılan bir şekerdir. Trehaloz, diğer *Candida* türleri ve farklı mayalar tarafından da hidrolize edilebilen bir şeker olmakla beraber, *C. glabrata* tarafından hızlı bir şekilde yıkılır. Trehalozun hızlı yıkımı için geliştirilen çeşitli ticari kitler (*Glabrata* RTT=Fumouze/France, *Glabrata*Quick=Hardy Lab/USA, RAT Test=Scientific Device/USA) bulunmaktadır. Ancak bunlar içinde en hızlı ve en doğru sonucu veren *glabrata* RTT testidir. Kitte bulunan üç kuyucuğa (trehaloz, maltoz ve şeker içermeyen besiyeri) distile suda hazırlanmış maya süspansiyonundan eklenir. Oda ısısında 20 dakika bekledikten sonra trehaloz kuyucuğunda turuncu bir rengin olması durumunda izolatin *C. glabrata* olduğuna karar verilir (63). Bununla beraber ileri tetkiklerle tanımlama doğrulanmalıdır (5,9,58,62).

VI.B.d. Hızlı Tanıda Diğer Sistemler

Bu sistemler sadece *C. albicans* ya da *C. glabrata*'ya özgü olmayıp daha fazla türü kapsamaktadır. Ancak yukarıda da bahsedildiği gibi enzimatik testler olduğundan, kapsadığı tür sayısı arttıkça özgüllük ve duyarlılığında sıkıntılar olmaktadır. Bu sistemlerde mantarların salgıladığı aminopeptidaz, lipaz, fosfataz, esteraz, üreaz, β -fukosidaz, α -galaktosidaz gibi enzimlerin etkilediği substratlar kullanılmaktadır. Bu sistemler yaklaşık dört saatte sonuçlanmakta olup, değişik ticari firmaların kitleri vardır. Bunlar içinde "MicroScan Rapid Yeast Identification panel (Siemens, USA)" ve "RapID Yeast Plus (Remel, USA)" en sık kullanılanıdır. Ancak bahsedildiği gibi enzimatik temelli testler her zaman şüpheli olup, doğrulanmaları gerekir (5).

VI.C. Tanımlamada Diğer Morfolojik ve Fenotipik Testler (≥ 24 saat)

Bu testler tanımlamada daha geç sonuç vermekle beraber, güvenilirlikleri daha fazla olup, birçok hızlı testin bu testlerle doğrulanması gerekmektedir. Morfolojik inceleme bütün fenotipik tanı testleri ile her zaman beraber yapılması gereken incelemidir. Kişisel deneyim gerektirmekle

beraber, fenotipik testlere ek bilgi oluşturması açısından çok yararlıdır. Fenotipik testlerin bir kısmında karbonhidrat ve nitrat asimilasyonuna dayanan testler kullanılırken, bir kısmında bunlara **ek olarak** enzimatik reaksiyonlar da kullanılmaktadır (5,9,62).

VI.C.a. Morfolojik İnceleme

Candida türleri, oksijen saturasyonu az olan ortamlarda yalancı hif üretimi arttırmakta ve bazı özel sporlar oluşturmaktadır. Oluşmuş olan bu yapıların incelenmesi tür tanımlanmasında oldukça önemli olup, bu amaçla tanımlanacak olan izolat, piriç ekstresi/tween-80 agar veya mısır unu/tween-80 agar gibi besiyerlerine “Dalmau tekniği” ile ekilir. Bu teknikte, bir öze dolusu maya kolonisinden besiyerinin ortasına çizgi şeklinde ekim yapılır. Daha sonra ilk çizgiye paralel ikinci ve üçüncü çizgiler çekilerek koloninin seyrettilmesi sağlanır ve ekim çizgileri üzerine steril bir lamel kapatılır. Plaklar 30°C’da 48 saat inkube edilir ve mikroskop altında, 100/400 büyütme ile ekim çizgileri incelenir. Kapatılan lamel ortamın oksijeninin azalmasını, tween-80 ise yüzey geriliminin düşmesini sağlamaktadır.

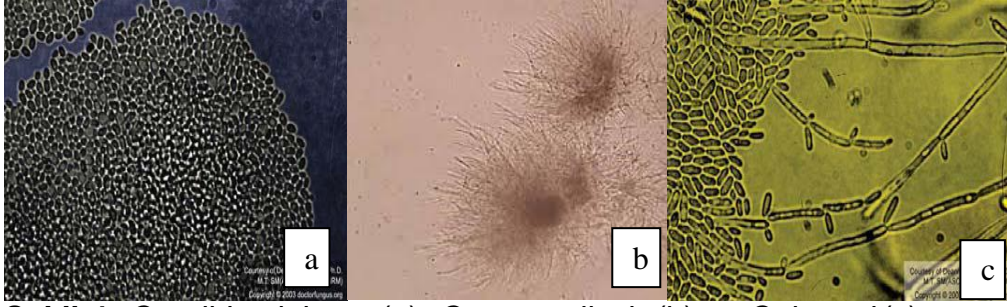
Bu şekilde yapılan inceleme ile *Candida* türleri ve diğer bazı mayaların tanımlanması için mikroskobik bulgular elde edilmektedir. Ancak, en önemli yararı *C. albicans* ve *C. dubliniensis* tarafından oluşturulan klamidospor yapısının saptanmasıdır. Bu sporlar, büyük (8-12µm), yuvarlak, ve sitoplazması yoğun sporlardır. Polisakkaritten yapılmış kalın bir dış duvarı; protein ve çok miktarda lipid taşıyan bir i tabakası vardır. Hiflerin içinde (ara klamidospor), kenarında (yan klamidospor) veya uçlarında (u klamidospor) gelişebilir. *C. dubliniensis*’in (1995) tanımlanmasından önce sadece *C. albicans*’a özgü kabul edilen bu yapı, aynen çimlenme borusu gibi son derece özgüdür. Bu iki türün oluşturduğu klamidospor görünümünde bazı küçük farklılıklar bulunmakta ve özellikle tekrarlayan orofaringeal lezyonlardan elde edilen izolatlarda bu küçük ayrıntılara dikkat etmek gerekmektedir. *C. albicans* genellikle gerçek veya psdohiflerin ucunda tek tek klamidosporlar üretir (şekil 3a). Buna karşın *C. dubliniensis*’in sporları çok daha bol ve çoğunlukla çiftler halinde veya l, hatta bazen kümeler veya

salkımlar oluşturarak farklı bir düzen gösterir (şekil 3b). Ancak buradan kesin ayrıma gitmek mümkün olmayıp, ileri testlere ihtiyaç duyulur (5,9,58,62).



Şekil-3: *C. albicans* (a) ve *C. dubliniensis* (b) klamidosporu.

Klamidospor dışında diğer *Candida* türlerinin tanımlamasını sağlayan çok tipik mikroskopik bir bulgu yoktur ve klamidospor saptanmadığı zaman diğer testlerle ileri tanımlamaya gitmeye gerek vardır. Ancak bazı özellikler tanımlamada yardımcı olabilir. *C. glabrata* hif oluşturmayan bir türdür. Dalmau yöntemi ile yapılmış ekimde, ekim çizgileri boyunca mikroskopik olarak hif yapısının olmaması *C. glabrata* lehine güçlü bir bulgudur (şekil 4a). Ancak *Cryptococcus neoformans* ve *Saccharomyces cerevisiae* gibi diğer bazı maya morfolojisindeki mantarlar da hif oluşturmaz. Bununla beraber *C. glabrata* blastosporları tüm maya morfolojisindeki mantarlar arasında en küçük olanıdır. Blastosporların küçük boyutları ile tanımlama yapmak olası olmakla beraber, deneyim gerektiren bir durumdur. Sık rastlanan türlerden *C. tropicalis*'in tipik bir görüntüsü yoktur. *C. parapsilosis* ise mikroskopik olarak küçük büyütmede (10X), örümcek ağına benzeyen görüntüler oluşturabilir (şekil 4b). Tanımlamada çok yardımcı olmakla beraber kesin değildir. Ayrıca *C. parapsilosis*'in dev hücreler (giant cell) denen iri blastospor ve hiflerini de görmek mümkün olabilir (5,9,58). *C. krusei* uzun blastosporlarla karakterize bir tür olup, görünümü ağaç dalına benzetilmiştir (şekil 4c).



Şekil-4: *Candida glabrata* (a), *C. parapsilosis* (b) ve *C. krusei* (c).

VI.C.b. Asimilasyon ve Fermentasyon Testleri

Candida türlerinin fenotipik tanımlanmasında, karbonhidrat/nitrat asimilasyon ve karbonhidrat fermentasyon testleri en önemli basamağı oluşturur. Asimilasyon, oksijenli ortamda değişik karbon ya da nitrojen (potasyum nitrat; KNO_3) birleşiklerinin kullanılmasıdır. Karbon veya nitrojen kaynağının kullanılması sonunda, besiyerlerinde ya bulanıklık olur ya da indikatör varlığında değişen pH'a bağlı besiyerinin rengi değişir. Oksijensiz olarak karbonhidratların kullanılması ise fermentasyon olup, gaz çıkışı karbonhidrat fermentasyonunun tek göstergesidir. *Candida* türleri tarafından fermente edilen bütün karbonhidratlar asimile edildiğinden, besiyerindeki indikatörün renk değiştirmesi fermentasyonu göstermez. Tersine geçerli olmayıp, asimile edilen karbonhidratları tümü fermente edilemediğinden asimilasyon testleri tanımlamada daha yararlıdır (5,9,10,58,62).

Değişik karbon kaynaklarının asimilasyonu ile tanımlama, klasik Wickerman-Burton yöntemiyle yapılmaktadır. Yaklaşık 60 yıl önce ilk kez denenen bu yöntemde, esas olarak sıvı besiyerleri kullanılmakla beraber, petri kutularında oksanografik modifikasyonu da uygulanabilir (62). Karbonhidrat asimilasyonu için "yeast nitrojen base" besiyerine değişik karbonhidratlar konularak hazırlanan tüplere, tanımlanacak izolat eklenir. Uygun inkübasyondan (7-14 gün; 30-37°C) sonra kontrol tüpüne göre değişik karbonhidratların bulunduğu tüplerdeki bulanıklık incelenerek izolatın karbonhidrat asimilasyon paterni değerlendirilir. Nitrat asimilasyonunda ise "yeast carbon base" besiyerine KNO_3 konularak hazırlanan tüpler kullanılır ve aynı şekilde inkübe edilir. Oksanografik yöntem de benzer olup, "yeast nitrojen base" ya da "yeast carbon base" besiyerlerine incelenecek suşlar ve

agar eklenerek petri kutularına dökülür. Hazırlanan besiyerine değişik şeker diskleri ya da KNO₃ kristalleri konularak etraflarında üreme olup olmadığına bakılır. Oksanografik yöntem sıvı ortama göre daha hızlı (24-48 saat) sonuç vermekle beraber besiyerlerinin hazırlanması zor olup, rutin laboratuvarlarda sıkıntı oluşturmaktadır (58). Wickerman-Burton yöntemi Adams ve Cooper (64) tarafından modifiye edilmiştir. Prensipte aynı olmakla beraber, ortama indikatör olarak bromkresol moru eklenerek asimilasyon sonrası mor rengin sarıya dönmesi sağlanır. Böylece karbonhidratın kullanıldığı bulanıklığa göre daha rahat anlaşılabilir olur.

Klasik olarak maya fermentasyonunda kullanılan besiyeri “yeast extract”, “pepton”, indikatör olarak “brom timol mavisi” ve incelenecek karbonhidratları içerir. Ayrıca ortama ters olarak “Durham” tüpü konur ve tüpün içinin besiyeri ile tamamen dolması sağlanır. Tanımlanacak suş eklendikten sonra 10-14 günlük inkübasyondan sonra “Durham” tüpünün içinde gaz oluşumunun olup olmadığına bakılır. Bahsedildiği gibi besiyerinin renginin değişmesi sadece karbonhidratın asimile edildiğini ve asit oluştuğunu gösterir; bu fermentasyon değildir. Fermentasyon için mutlaka gaz oluşumuna bakmak gerekir (58).

VI.C.c. Ticari Tanımlama Panelleri (≥24 saat)

Klasik asimilasyon ve fermentasyon testleri, bahsedildiği gibi zaman alan ve laboratuvarlara aşırı iş yükü getiren testler olduğundan, çeşitli ticari tanımlama panelleri rutin laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bunların hiçbirinin, klasik asimilasyon-fermentasyon testleriyle veya birbirleriyle tamamen uyumlu olması beklenemez. Bunların bir kısmı (API 20C ve API ID 32C=bioMerieux/France) aynen klasik yöntem gibi asimilasyon temeline dayanır; bir kısmı ise (VITEK 2 YST=bioMerieux/France, Phoenix Yeast ID=Becton-Dickonson/USA) değişik karbonhidratların asimilasyonu yanı sıra bazı enzimatik reaksiyonları da içerir. Sadece asimilasyona dayanan sistemlerde sonuçlar genellikle en erken 48 saat sonra alınırken, enzimatik reaksiyonları destek alan sistemlerde 24 saat içinde sonuçlar alınabilmektedir. Bu nedenle bu

sistemlere ilgi giderek artmakta olup, rutin laboratuvarlarda daha çok kullanılması hedeflenmektedir.

Bu çalışmada da, ülkemizde yeni kullanıma giren ve asimilasyon yanı sıra enzimatik reaksiyonları da bereber kullanan Phoenix Yeast ID Panel (Phoenix BD/USA) ile uzun süredir kullandığımız asimilasyon temelli API ID 32 C (bioMerieux; France) karşılaştırılmıştır. Her iki fenotipik tanımlama sistemi, morfolojik tanımlama ile desteklenmiş ve ülkemize yeni giren ve daha kısa sürede (24 saat içinde) sonuç veren sistemin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 16.07.2013 tarih ve 2013-13/20 sayılı kararla alınan izin ile yapılmıştır.

I. Çalışmada Tanımlanan Koloniler

Bu çalışmada; Uludağ Üniversitesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, 01.10.2013-15.01.2014 tarihleri arasında, klinik örneklerde üreyen maya kolonileri farklı yöntemler ile tanımlanmıştır. Zengin (Kanlı agar=Becton-Dickonson NJ) veya kromojenik seçici/ayırt edici (CHROMagar *Candida*=Becton-Dickonson NJ) besiyerlerinde üreyen şüpheli kolonilerden öncelikle lam-lamel arası ve/veya Gram yöntemiyle inceleme yapılmış ve mikroskopik olarak blastospor/artrospor oluşturan koloniler saf ise direkt tanımlamaya alınmıştır. Karışık üremelerde ise her bir farklı maya kolonisi gentamisin/kloramfenikollü SDA besiyerine (Becton-Dickonson NJ) pasajlanmış ve çoğaltıldıktan sonra tanımlamaya alınmıştır. Ayrıca kromojenik besiyerinde üreyen kolonilerin renkleri daha sonra kullanılmak üzere kayıt edilmiştir. Kalite kontrolü amacıyla; *C. albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 14053, *C. albicans* ATCC 24433, *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* ATCC 1021 *C. parapsilosis* ATCC 220199, *C. neoformans* ATCC 90112 standart suşları kullanılmıştır.

II. Çimlenme Borusu Testi

Koloni morfolojisi ve mikroskopik görünümü ile maya olduğuna karar verilen tüm üremelere çimlenme borusu testi yapılmıştır. Bu test için 22µm por çaplı filtrelerden süzülerek steril edilen insan serumu kullanılmıştır. Steril serumlar, 0,5-1ml olacak şekilde tüplere dağıtılmış ve şüpheli koloninin serum içinde yaklaşık 10^5 - 10^6 /ml yoğunlukta süspansiyonu yapılmıştır.

Hazırlanan süspansiyon 35°C'da üç saat tutulmuş ve daha sonra içinden bir damla alınarak lam-lamel arasında 400 büyütmede mikroskopik olarak incelenmiştir (58). Şekil-2a'da görüldüğü gibi gerçek hif başlangıcı oluşturanlar *C. albicans* olarak değerlendirilmiş; diğerleri *C. albicans* dışı türler olarak kabul edilmiştir.

III. Mısır Unu/Tween-80 Agara Ekim

Maya tanımlanmasında önemli bir yeri olan mikroskopik incelemenin yapılabilmesi için mısır unu/tween-80 agara, "Dalmau" yöntemiyle ekim yapılmıştır. Bunun için bir öze dolusu koloni alınmış ve besiyeri ortasına agarı parçalamadan çizgi şeklinde ekim yapılmıştır. Daha sonra ilk çizgiye paralel ikinci ve üçüncü çizgiler çekilerek koloninin seyreltilmesi sağlanmış ve çizgi ekimlerin üzerine, tamamen kapatacak şekilde steril bir lamel yerleştirilmiştir. Ekim plakları 30°C'da 48 saat inkübe edilmiş ve petri kutusunun kapağı açılarak lamel altında kalan alanlar mikroskopik olarak 100 ve 400 büyütmede incelenmiştir (58). Şekil-3a'da görüldüğü gibi klamidospore oluşturanlar *C. albicans* olarak kabul edilmiş; diğerleri şekil-4 esas alınarak, oluşturdukları görünüme göre tahmin edilmeye çalışılmıştır.

IV. Fenotipik Tanımlama

Bu çalışmada, yukarıda bahsedilen çimlenme borusu testi ve mısır unu/tween-80 agardaki mikroskopik morfoloji yanı sıra iki ticari fenotipik tanımlama sistemi de kullanılmış ve karşılaştırılmıştır. Bunlardan bir tanesi sadece asimilasyona dayanan API ID 32 C (bioMerieux=France) olup, birçok çalışmada kullanılmış güvenilir bir tanımlama sistemidir (62). Diğer ise Phoenix Yeast ID Panel (Becton-Dickonson=USA) olup, asimilasyon yanı sıra enzimatik reaksiyonlar da kullanan, daha yeni ve deneyimin az olduğu bir tanımlama sistemidir (65).

IV.A. API ID 32 C ile Tanımlama

Şüpheli kolonilerin tanımlama işlemi üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Öncelikle tanımlanmak istenen koloniden steril serum fizyolojik içinde McFarland 2 bulanıklığında bir süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan bu süspansiyondan 250µl, kit içinden çıkan 7ml API C besiyerine aktararak çalışma solüsyonu oluşturulmuştur. API ID 32 C stripleri 32 kuyucuk olup, bu kuyucukların bir tanesinde hiçbir substrat yoktur ve negatif kontrol olarak kullanılır. Dehidrate glikoz bulunan diğer bir kuyucuk ise pozitif kontrol olarak kullanılır. Sikloheksimid duyarlılığını ve eskülin kullanımını ölçen iki kuyucuk dışında, kalan 28 kuyucukta dehidrate farklı substratlar vardır ve bu substratların asimilasyon özelliğine göre tanımlama yapılır (62). Şekil-5'de, API ID 32 C'nin bir stripi örnek olarak görülmektedir. Hazırlanan çalışma solüsyonundan 135µl her bir kuyucuğa eklendikten sonra stripler 30°C'da 48 saat inkübe edilmiştir. Değerlendirme türbidimetrik olup, Mini API cihazı (bioMerieux, France) kullanarak otomatik olarak yapılmıştır. Cihaz içinde kurulmuş algoritme göre tanımlama, mükemmel (excellent), iyi (good), kabul edilebilir (acceptable) ve düşük (low) olarak yapılmaktadır. Düşük tanımlama, hiç tanımlayamama ve diğer sistem ile farklı tanımlama olduğu zaman inkübasyon 72 saate uzatılmış ve yeniden okuma yapılmıştır.



Şekil-5: API ID 32C test stripi ve mini API cihazı.

IV.B. Phoenix Yeast ID Panel ile Tanımlama

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Üretici firma tarafından sağlanan yaklaşık 2ml sıvı ortamda, McFarland 2 bulanıklığında koloni süspansiyonu yapılmış ve şekil-6'da görülen 51 kuyucuktan oluşmuş stripe 2ml'lik süspansiyon aktarılmıştır. Bu şekilde inoküle edilen stripler,

35°C'da BD Phoenix cihazında (Phoenix BD/USA) 16 saat inkübe edilerek değerlendirilmiştir. Bu sistemde sadece karbonhidratların asimilasyonu söz konusu olmayıp, bazı enzimatik reaksiyonlar da kullanılmaktadır (65). Substratlar kromojenik ve florojenik olup, okuma 16 saat boyunca her 20 dakikada bir yapılmaktadır.



Şekil-6: BD Phoenix Yeast Panel malzemeleri.

Phoenix sistemi %90'nın üzerinde ayırım sağladığı zaman sonuç vermekte, daha düşük ayrımlarda tanımlama yapamamaktadır. Bir gecelik inkübasyon sonunda tanımlama yapılamadığı veya diğer sistemle uyumlu tanımlama olmadığı zaman inkübasyon uzatılmış ve 32 saat sonra tekrar değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada 137 hastaya ait 211 maya kolonisi tanımlanmıştır. Üremelerin hasta örneklerine ve kliniklere göre dağılımı tablo-3 ve tablo-4'de görülmektedir. Tablolarda da görüldüğü gibi örneklerin çoğunluğunu idrar oluşturmakta olup, yarısı dahili bilimlerden gelmiştir.

Tablo-3: Üremelerin örneklere göre dağılımı.

Hasta Örnekleri	Sayı (%)
• İdrar	111 (52,6)
• Kan ve vasküler kateter	34 (16,1)
• Üst ve alt Solunum yolları örnekleri (balgam, TAS ve bronkoskopik örnekler)	27 (12,8)
• Enfekte materyal (apse, pü, ameliyat materyali)	16 (7,6)
• Deri ve mukoza örnekleri (boğaz, vajen)	13 (6,1)
• Steril vücut sıvısı (BOS, plevra, periton)	10 (4,7)
Toplam	211

TAS: Trakeal aspirat; BOS: Beyin omurilik sıvısı

Tablo-4: Üremelerin kliniklere göre dağılımı.

Klinikler	Sayı (%)
• Dahili bilimler	105 (49,8)
• ÇSH ve çocuk cerrahisi	48 (22,7)
• Cerrahi bilimler	44 (20,8)
• Reanimasyon	10 (4,7)
• Acil ve poliklinik	4 (1,9)
Toplam	211

ÇSH: Çocuk sağlığı ve hastalıkları

Hasta örneklerindeki 211 üremenin 94 tanesi (%44,5) serumda çimlenme borusu oluşturarak *C. albicans* veya *C. dubliniensis* olarak

değerlendirilmiştir. Tanımlamanın yedi tanesi kromojenik besiyerinden yapılmış olup, hepsi bu besiyerinde *C. albicans*'a özgü yeşil renkli koloni oluşturmuştur. Çimlenme borusu oluşturan ve oluşturmayan tüm izolatlar, mısır unu/tween-80 agara ekilmiş ve 48 saat sonra incelenmiştir. Çimlenme borusu oluşturan izolatların hepsi (94 izolat) klamidospor oluşturmuş, diğerlerinde ise klamidospora rastlanmamıştır.

Tablo-5'de, tür tanımlamasında kullanılan iki sistemin karşılaştırılması görülmektedir. İzolatların (211 izolat) 159 tanesi (%75,4), her iki ticari sistemle aynı tanımlanmıştır. Görüldüğü gibi *Candida* cinsinde yedi farklı tür, *C. neoformans* ve *G. capitatum* her iki sistem ile aynı tanımlanmışlardır. İzolatların (211 izolat) 52 tanesi (%24,6) tanımlama sistemleri ile farklı sonuç vermiştir. En fazla izole edilmiş olan ilk beş tür (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. kefyr*) için iki tanımlama sistemi uyumu, %81,7 (147/180) olarak bulunmuşken; nadir rastlanan diğer türler için iki sistem arasındaki uyum %38,7 (12/31) olarak bulunmuştur. Aradaki fark anlamlıdır ($p=0.034$; χ^2 testi).

API ID 32 C ile 12 (%5,7), Phoenix Yeast ID Panel ile 13 (%6,2) izolat hiç tanımlanamamış olup (Tablo-5), bu açıdan aralarında anlamlı bir fark yoktur ($p=1$; χ^2 testi).

Çimlenme borusu ve klamidospor oluşturan 94 *C. albicans* izolatının üç tanesi API ID 32 C ile, yedi tanesi ise Phoenix Yeast ID Panel ile farklı ya da hiç tanımlanamamıştır (Tablo-5). Dolayısıyla morfolojik tanımlamaya göre Phoenix Yeast ID Panel %92,5, API ID 32 C %96,8 doğrulukta sonuç vermiştir ve aralarında anlamlı bir fark yoktur ($p=0.835$; χ^2 testi). Phoenix Yeast ID Panel ile bir izolat *C. dubliniensis* olarak saptanmıştır. *C. dubliniensis*, *C. albicans* gibi çimlenme borusu ve klamidospor oluşturduğundan bu izolatın kesin tanımlanması için moleküler analize gerek vardır.

Phoenix Yeast ID Panel ile *C. tropicalis*, *C. kefyr* ve *C. krusei* olarak tanımlanan türler API ID 32 C ile de aynı sonucu vermiştir. Ancak API ID 32 C ile *C. kefyr* olarak tanımlanan 18 izolatın altı tanesi Phoenix Yeast ID Panel ile *S. cerevisiae* olarak tanımlanmıştır (Tablo-5). Ancak, bu suşların mısır

unu/tween-80 agarda hif oluştuduğu saptanmış (*Saccharomyces* turleri hif oluşturmaz) ve *S. cerevisiae*'ya ait askosporlar görülmemiştir.

Her iki sistemle 21 *C. parapsilosis* belirlenmiş olmakla beraber sadece 17'si iki sistemde de aynı saptanmıştır (Tablo-5). Phoenix Yeast ID Panel, API ID 32 C ile *C. parapsilosis* olarak belirlenen  izolatu hiç tanımlayamamış, bir izolatu ise *C. neoformans* olarak belirlemiştir. Ancak bu izolatin morfolojik incelemesinde *C. parapsilosis*'de sık görülen örümcek şeklinde hifler görülmüştür. API ID 32 C ise çimlenme borusu ve klamidospor oluşturan bir suşu yanlış olarak *C. parapsilosis* şeklinde belirlemiştir.

Çalışma döneminde; kriptokok menenjitli olan bir hastaya ait, ini mürekkebi incelemesi pozitif dört örnekten üreme olmuş ve izolatların hepsi Phoenix Yeast ID Panel ile *C. neoformans* olarak tanımlanmıştır. API ID 32 C ancak ikisini saptamış; mısır unu/tween-80 agar morfolojisi *C. neoformans* için tipik olan diğer ikisini ise yanlış (*C. utilis* ve *T. mucoides*) tanımlamıştır (Tablo-5). Buna karşı mısır unu/tween-80 agar morfolojisinde hifler görülen beş izolatu, Phoenix Yeast ID Panel *C. neoformans* olarak yanlış tanımlanmıştır (*C. neoformans* hif oluşturmaz). Bu izolatlardan ikisi, API ID 32 C ile *C. parapsilosis* ve *C. krusei* olarak belirlenmiş,  izolatta ise herhangi bir tanımlama yapılamamıştır (Tablo-5).

Tablo-5'da; her iki sistem ile farklı tanımlanan, ancak mısır unu/tween-80 morfolojisi ile birinin lehine bulgu saptanarak doğrulan izolatlar, yeşil ile taranarak gösterilmiştir. Dolayısıyla 27 izolatin tanımlanmasında morfolojik inceleme destek olmuş ve toplam 186 izolat (%88,1) tür düzeyinde fenotipik olarak tanımlanmıştır. Morfolojik bulguların tanımlanmaya eklenmesi oranı %75,4'ten %88,1'e çıkarmış olsa da artış, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.31$; χ^2 testi). Buna karşılık, tablo 5'de sarı olarak taranan 25 izolat için mısır unu/tween-80 agarda morfolojik tanımlama yapılamamıştır.

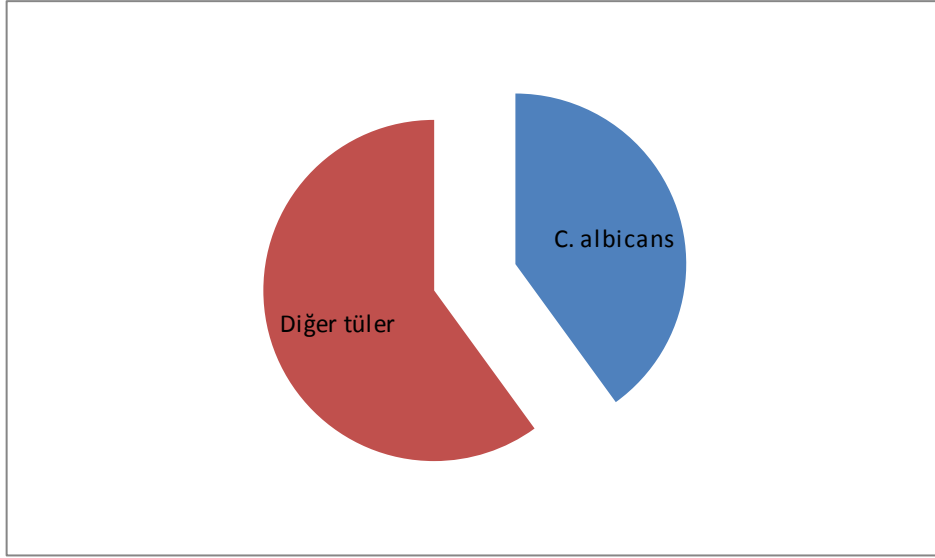
Tablo-5: *Candida* türlerin tanımlanmasında iki sistemin karşılaştırılması.

API ID 32 C	Phoenix Yeast ID Panel																				
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida kefyri</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida lusitanae</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Geotrichum capitatum</i>	<i>Candida dublinensis</i>	<i>Candida melibiosica</i>	<i>Candida sake</i>	<i>Candida apicola</i>	<i>Candida incos/norvegen</i>	<i>Candida famata</i>	<i>Candida utilis</i>	<i>Candida catenulata</i>	<i>Saccaromuces cereviciae</i>	<i>Trichosporon mucoides</i>	Tanımlanmayan	Toplam
<i>Candida albicans</i>	84		1	1						1										4	91
<i>Candida tropicalis</i>		20		1		1					1	1									24
<i>Candida parapsilosis</i>			17				1													3	21
<i>Candida glabrata</i>				15				1													16
<i>Candida kefyri</i>					11													6		1	18
<i>Candida krusei</i>						7	1	1					2							1	12
<i>Candida lusitanae</i>			1				2											1		1	5
<i>Cryptococcus neoformans</i>								2													2
<i>Geotrichum capitatum</i>									1												1
<i>Candida dublinensis</i>																					
<i>Candida melibiosica</i>																					
<i>Candida sake</i>																					
<i>Candida apicola</i>																					
<i>Candida incos/norvegen</i>							1					1								3	5
<i>Candida famata</i>			1																		1
<i>Candida utilis</i>								1													1
<i>Candida catenulata</i>																		1			1
<i>Saccaromuces cereviciae</i>																					
<i>Trichosporon mucoides</i>								1													1
Tanımlanmadı	3		1	4				3										1			12
Toplam	87	20	21	21	11	7	4	9	3	1	1	2	2					9		13	211

Tablo-6'da en az iki sistemle (iki ticari sistemle aynı veya morfoloji ile desteklenen bir ticari sistem) doğrulanmış türlerin dağılımı görülmektedir. Görüldüğü gibi izolatların %44,1'ini *C. albicans* oluşturmuştur. Çimlenme borusu ve klamidospore oluşturan bir izolat, Phoenix Yeast ID Panel ile *C. dubliniensis* olarak belirlendiğinden total sayı 94 yerine 93 olarak alınmıştır. En az iki sistem ile doğrulanamayan izolatların oranı ise %11,8 olarak bulunmuştur. Şekil-7'de *C. albicans* ve diğer türlerin dağılımı görülmektedir.

Tablo-6: Her iki sistemle veya bir sisteme morfolojinin eklenmesi elde edilen tür dağılımı.

Tür	Sayı (%)
<i>C. albicans</i>	93 (44,1)
<i>C. tropicalis</i>	21 (9,9)
<i>C. glabrata</i>	20 (9,5)
<i>C. parapsilosis</i>	18 (8,5)
<i>C. kefyr</i>	17 (8,1)
<i>C. krusei</i>	9 (4,3)
<i>C. lusitaniae</i>	3 (1,4)
<i>C. neoformans</i>	4 (1,9)
<i>G. capitatum</i>	1 (0,5)
Dorulanamayan	25 (11,8)
TOPLAM	211



Şekil-7: *C. albicans* ve diğer türlerin görülme sıklığı

Gereç ve yöntemde bahsedildiği gibi üretici firma tarafından önerilen inkübasyon süresi sonunda, iki sistem ile farklı tanımlanan veya tanımlanamayan 52 izolat için (Tablo-5) inkübasyon süresi, API ID 32 C sisteminde 72 saate, Phoenix Yeast ID Panel sisteminde 32 saate uzatılmıştır. API ID 32 C tanımlamalarında bir değişiklik olmamış, Phoenix Yeast ID Panel tanımlamalarının ise sadece beş tanesinde (%9,6) değişiklik olmuştur. Bu değişiklikle iki ticari sistem arasındaki toplam uyum 164'e (%77,7) çıkmış, ancak artış oranı anlamlı bulunmamıştır ($p=0.88$; χ^2 testi). Tablo-7'de bu beş izolatın önerilen saatler sonundaki ve uzatılmış inkübasyon sonundaki tanımlamaları görülmektedir. Phoenix Yeast ID Panel ile *S. cerevisiae*, ancak API ID 32 C ile *C. kefyr* olarak belirlenen altı izolatın üç tanesi uzatılmış inkübasyonda *C. kefyr*'e dönmüştür (Tablo-5 ve 7).

Tablo-7: Uzatılmış inkübasyonun tanımlamada oluşturduğu değişiklikler.

API ID 32 C (48 s)	API ID 32 C (72 s)	Phoenix Yeast ID Panel (16 s)	Phoenix Yeast ID Panel (32 s)
<i>C. krusei</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. apicola</i>	<i>C. krusei</i>
<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	Tanımlamadı	<i>C. albicans</i>
<i>C. kefyra</i>	<i>C. kefyra</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. kefyra</i>
<i>C. kefyra</i>	<i>C. kefyra</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. kefyra</i>
<i>C. kefyra</i>	<i>C. kefyra</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. kefyra</i>

Bu çalışmada tanımlama, saf kültürlerde direkt olarak primer izolasyon besiyerinden, karışık kültürlerde ise SDA'ya pasajlandıktan sonra yapılmıştır. Dolayısı ile kanlı (50/211; %23,7) ve kromojenik (37/211; %17,5) besiyerlerindeki üremelerden yapılan tanımlamalar primer izolasyon tanımlamalarını; SDA'dan (124/211; %58,8) yapılan tanımlamalar ise pasaj sonrası tanımlamayı oluşturdu. Tablo-8'de besiyerlerine göre iki sistem ile aynı tanımlanan izolatların oranları görülmektedir. Tabloda da görüldüğü gibi en uyumlu tanımlama SDA besiyerinde yapılmış olmakla beraber aralarındaki fark anlamlı olarak bulunmamıştır.

Tablo-8: Farklı besiyerlerinde aynı tanımlanma oranları.

Besiyeri (n)	Aynı tanımlanan tür sayısı (%)
SDA (124)	101 (81)
Kanlı agar (50)	37 (74)
Kromojenik besiyeri (37)	21 (57)
Toplam (211)	159 (75)

SDA: Sabouraud's dextrose agar; SDA/Kanlı agar ($p=0.799$; χ^2 testi); SDA/Kromojenik ($p=0.298$; χ^2 testi); Kanlı agar/Kromojenik ($p=0.492$; χ^2 testi)

Bu çalışmada 37 izolatın tanımlanması kromojenik besiyerinden yapılmıştır. Kromojenik besiyerinde oluşan kolonilerin renklerine göre API ID 32 C ve Phoenix ID Yeast Panel tanımlaması tablo-9'de görülmektedir. *C. albicans* için yeşil rengin, *C. tropicalis* için mavi rengin oldukça özgül olduğu saptanmıştır. Düzgün pembe kolonilerden dört tanesi API ID 32 C ile

tanımlanamamıştır. Beyaz-buruşuk koloni yapısı *C. krusei* için oldukça özgül olmakla beraber bu kolonilerden yapılan tanımlamada, üç tanesi API ID 32 C tarafından *C. krusei*'ye çok benzeyen *C. inconspicua*/*C. norvegensis* olarak tanımlanmıştır. Pembe-beyaz düzgün koloni yapısı çeşitli türler tarafından oluşturulduğundan tanımlamada yararlı olmamıştır.

Tablo-9: Kromojenik besiyerindeki koloni rengi ve tanımlama.

Koloni rengi (n)	API ID 32 C	Phoenix ID Panel
Yeşil (7)	<i>C. albicans</i> (5) Tanımlamadı (2)	<i>C. albicans</i> (7)
Mavi (2)	<i>C. tropicalis</i> (2)	<i>C. tropicalis</i> (2)
Düzgün pembe (8)	<i>C. glabrata</i> (4) Tanımlamadı (4)	<i>C. glabrata</i> (7) <i>C. neoformans</i> (1)
Beyaz-buruşuk (7)	<i>C. krusei</i> (4) <i>C. lusitaniae</i> (1) Okumadı (2)	<i>C. krusei</i> (4) <i>C. incons/C. norvagen</i> (3)
Beyaz-düzgün (13)	Çeşitli türler	Çeşitli türler

C. incons/C.norvagen: *C. incospicua* ve *C. norvegensis*; Çeşitli türler: *C. kefir*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. catenulata*, *S. cereviciae*

TARTIŞMA ve SONUÇ

Son birkaç dekatta tıptaki sayısız gelişmelere paralel olarak mikozların görülme sıklığı da hızla artmıştır. Kemik iliği ve organ nakillerinin yaygınlaşması, yeni ve gelişmiş tedavi olanaklarıyla kanser ve yoğun bakım hastalarının yaşam sürelerinin uzaması, mantar enfeksiyonlarına riskli hasta grubunu genişletmektedir. Çeşitli nedenlere bağlı olarak geniş spektrumlu antibiyotik, kortikosteroid, anti-kanser ve immün baskılayıcı ilaçlar ve damar içi kateterlerin sık kullanılması mantar enfeksiyonu gelişimi açısından en önemli olumsuz faktörler olup, saprofit olarak değerlendirdiğimiz birçok mantar türü fırsatçı etkenler olarak karşımıza çıkmaktadır (66,67). Fırsatçı etkenlerin başında *C. albicans* gelmekle beraber diğer *Candida* türleri ve *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* gibi diğer maya mantarları ile oluşan hastalıklar da az değildir (68,69). Bunun ötesinde bazı *Candida* türleri ve nadir diğer mayalarda ciddi antifungal direnç görülmektedir. Örneğin, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. kefyi*, *C. krusei*, *C. rugosa* ve *Trichosporon* türlerinde amfoterisin B direnci tespit edilmiştir (70-72). Ayrıca *C. glabrata* ve *C. krusei*'de, başta flukonazol olmak üzere azol direnci iyi bilinen bir durum olup, günlük pratikte bu türlerin çabuk belirlenmesi önem taşımaktadır (73,74). Tekrarlayan orofaringeal kandidozlarda *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'de de azol direncinin geliştiği görülmektedir (75). Bunun ötesinde ekinokandinlerin, *C. guilliermondii* ve *C. parapsilosis*'e azalmış etkinliği vardır (76). Avrupa'da "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST) ve ABD'de "Clinical Laboratory Standards Institute" (CLSI) tarafından, *Candida* türleri ve diğer maya mantarlarının in vitro duyarlılığını ölçmeye yönelik referans yöntemler geliştirilmiş olmakla beraber, sonuçların çıkması 48-72 saati almaktadır (77,78). Bu nedenle erken tedaviye başlayabilmek için tür düzeyinde belirleme büyük önem taşır ve iyileşme ve mortalitenin azalmasında etkenin tür düzeyinde belirlenmesinin rolü yadsınamaz.

Candida türleri ve diğer maya mantarlarının tanımlanmasında genotipik yöntemler esas olmakla beraber, rutin laboratuvarlarda morfolojik ve fenotipik tanımlama yaygın kullanılmakta olup, günümüzde çok sayıda fenotipik tanımlama yapan ticari sistemler vardır. Bu sistemlerin çeşitli cins ve türleri tanımlayabilme yetenekleri kullandıkları substrat sayısı, veri tabanları ve kullandıkları algoritmeler ile ilişkilidir. Substratların kullanılması sonucu bulanıklılık, enzimatik yıkılmaları sonucu ise renk değişimi gözlenmektedir. Bir kısmı manuel olarak okunurken, bir kısmı otomatik olarak cihaz yardımı ile okunur ve değerlendirilir. Kolay uygulanabilirlik, hızlı sonuçlanma ve maliyet laboratuvarların seçiminde rol oynayan en önemli parametrelerdir (62). Bu çalışmada da fenotipi tanımlama yapan iki ticari sistem karşılaştırılmıştır. Genotipik tanımlama yapılmadığı için kullanılan ticari sistemlerden her hangi biri standart kabul edilmemiş ve bu nedenle özgüllük ve duyarlılık hesaplanmamıştır. Sadece iki sistemin uyumuna bakılmış, morfolojik bulguların tanımlamaya etkisi değerlendirilmiştir.

API ID 32 C deneyimizin fazla olduğu ve uzun süredir laboratuvarımızda kullanılan bir sistem olup, 48 saatte sonuçlanmaktadır. Veri tabanı 63 farklı türü tanımlayabilecek şekilde programlanmıştır ve bu çalışmada, çimlenme borusu ve klamidospore pozitif izolatları %97 oranında *C. albicans* olarak tanımlayarak literatür ile uyumlu bulunmuştur (79,80). Phoenix Yeast ID panelin *C. albicans*'i tanımlama oranı, API ID 32 C'den biraz düşük (%92) olsa da aralarında anlamlı bir fark yoktur. Bu sistemin, Vitek 2 kolorimetrik YST kart ile karşılaştırıldığı benzer bir çalışmada, *C. albicans* suşları için %98 oranında uyumluluk saptanmıştır (65).

C. albicans dışı türlerin tanımlanmasında morfolojik bulgular daha az özgül olduğundan fenotipik ve genotipik tanımlama bu türlerde daha önemlidir. Bununla beraber, morfolojik inceleme ile bazı önemli bulgular saptanabilir ve morfolojinin her zaman diğer tanımlama sistemlerine ek olarak kullanılması güçlü olarak önerilir (5,9,58,62). Örneğin, *C. glabrata* mısır unu/tween-80 agarda hiç hif oluşturmayan ve tüm mayalar arasında en küçük blastospora sahip olan türdür (58). Bu çalışmada da API ID 32 C ile tanımlanamayan dört izolat ve Phoenix Yeast ID Panel ile yanlış tanımlanan

bir izolat, morfolojik destekleme ile *C. glabrata* olarak belirlenmiştir. Flukonazole dirençli olabilen bu türün çalışma döneminde üçüncü sıklıkta görülmesi önemli olup, tanımlamaya dikkat edilmelidir (Tablo-6). Yine benzer şekilde kriptokok menenjitisi olan bir hastanın iki izolatı API ID 32 C ile yanlış tanımlanmış olmasına rağmen direkt mikroskopik inceleme ve mısır unu/tween-80 morfolojisi ile tanımlama düzeltilmiştir (Tablo-6).

API ID 32 C ile *C. kefyri* olarak tanımlanan ve morfolojik inceleme ile desteklenen altı izolat, Phoenix Yeast ID panel tarafından *S. cerevisiae* olarak tanımlanmıştır (Tablo-5). Ancak Phoenix Yeast ID Panel ileri inkübasyona alındığında bunlardan üç tanesi *C. kefyri* olarak değişmiştir. Morfolojik uyumsuzluk olduğu zaman Phoenix Yeast ID Panelin ileri inkübasyona alınabilmesi büyük bir avantajdır ve yaygın kullanılan ticari sistemlerin bir kısmında bu özellik yoktur (81,82). Bu çalışmada her ne kadar inkübasyonun uzatılmasının sonuçlara anlamlı bir etkisi olmasa da beşinci sıklıkta saptadığımız *C. kefyri* için önemli bir bulgudur.

Bu çalışmada izolatların %75'i iki ticari sistem ile aynı sonucu vermişken; uyumsuz tanımlamalarda bir sistemin sonucu morfoloji ile desteklendiği zaman tanımlama oranı, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da %88'e çıkmıştır. Morfolojinin desteklediği API ID 32 C ile yapılan bir çalışmada tanımlama oranı %98 olarak bulunmuştur (79). Bizim saptadığımız oran biraz daha düşük görünmekle beraber, bu çalışmada tanımlama kanlı agar, kromojenik ve SDA gibi farklı besiyerlerinden yapılmıştır ve besiyeri farklılığının sonuçları etkileyebileceği literatürde vurgulanmaktadır (83). Her ne kadar doğru olan, tek koloninin pasajlandıktan sonra tanımlamaya alınması ise de bu gecikmeye yol açmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada kanlı agar veya kromojenik besiyerleri gibi primer izolasyon besiyerlerinden, saf üreme olduğu zaman tanımlama yapılmıştır. Tek koloni pasajından sonra SDA'dan yapılan tanımlamalarda iki sistem arasındaki uyum daha yüksek bulunsa da fark anlamlı değildir. Aradaki fark anlamlı olmadığından, özellikle kan kültürü gibi hızlı sonuç verilmesi gerektiği zaman, primer izolasyon besiyerlerinden de tanımlama yapılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Bu çalışmada yaklaşık üç aylık bir süreçte bütün klinik örneklerden izole edilen maya mantarlarının tanımlanması yapılmıştır. En sık karşımıza çıkan tür olan *C. albicans*'ın izolasyon oranı %44 olarak bulunmuş ve literatür ile uyumlu olarak diğer *Candida* ve maya türlerine bir kayış olduğu saptanmıştır. Pfaller ve ark (84) tarafından 6,5 yıl boyunca yapılan ve tüm dünyayı kapsayan global bir çalışmada, *C. albicans* dışı türlere kayış çok net olarak vurgulanmış, özellikle seyrek rastlanan türlerde artışın %50'e ulaştığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ikinci sıklıkta saptanan tür *C. tropicalis* olmuş, ona hemen yakın oranda *C. glabrata* saptanmıştır. En sık ilk beş içine *C. krusei* değil, *C. kefyr*'in girmesi ise daha nadir gördüğümüz türlerdeki artışın bir başka göstergesidir. Hastenemizde yatan hastalardaki kan kültürlerinde üreyen *Candida* türleri arasında ikinci sırada *C. parapsilosis* yer almaktadır (34). Ancak bu çalışmada sadece kan kültürleri değil tüm örneklerdeki üremeler tanımlanmıştır. Örneklerin yarısının idrar olması, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. kefyr* üremelerinin sıklığını açıklamaktadır (3,7). Gastrointestinal sistemde kolonize olabilen bu türler sondalı hastalarda sıklıkla üriner sistem enfeksiyonlarına sebep olmaktadır (7). Her ne kadar bu çalışma kısa bir dönemi içerse de ilk beş içine *C. kefyr*'in girmesi ve *C. glabrata*'nın üçüncü sırada olması önemli bir bulgudur.

Bu çalışmada iki sistemin sık rastlanan beş türü (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*) seyrek rastlanan türlerden anlamlı olarak daha uyumlu saptadığı ve bu bulgunun literatürle uyumlu olduğu görülmüştür (65,79).

Bu çalışmada, dünyada ve ülkemizde yeni kullanıma giren Phoenix Yeast ID Panelin, uzun süredir kullanılan API ID 32 C ile uyumuna bakılmıştır. Phoenix Yeast ID Panel yeni olduğu için bu sistemle çalışılan çok çalışma yoktur. Sadece bir makale ve iki kongre bildirisine ulaşılmıştır (65,85,86). Bu üç çalışmada sistem, genotipik olarak doğrulanmış suşlarla karşılaştırılmış ve >%90 doğruluk ile tanımlama yaptığı bulunmuştur (65,85,86). Ülkemizde ise bu sistemin denendiği başka bir çalışma yoktur. Bahsedildiği gibi genotipik bir tanımlama yapılamadığından kesin olarak sistemin saptama oranları verilememiştir. İki ticari sistem arasında saptanan

%75'lik uyum düşük gibi gelse de, hiçbir ticari sistemin birbiriyle ve klasik yöntemlerle tamamen uyumlu olması beklenemez (9,58). Üstelik bu iki ticari sistem prensip olarak birbirinden oldukça farklıdır. API ID 32 C substratları sadece asimilasyonla kullanırken, Phoenix Yeast ID Panel substratların enzimatik yıkımını da uyguladığından daha hızlı sonuç vermektedir.

Sonuç olarak, iki sistem arasındaki uyum çok yüksek saptanmasa da, Phoenix Yeast ID Panelin kullanılması;

- API ID 32 C'ye göre daha kısa sürede sonuçlanması
 - Morfolojik tanımlamanın eklenmesi ile uyumun artması
 - Sık izole edilen türlerde uyumun yüksek olması
 - Sistemin ileri inkübasyona olanak vermesi
 - Maliyetinin daha düşük olması (Bir API ID 32 C stripi yaklaşık 25TL iken; Bir Phoenix Yeast ID Panel stripi yaklaşık 11 TL'dir)
- nedenleriyle önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Ener B. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak mantarlar. In: Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve klinik mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. 1123-8.
- 2- Toscano CM, Jarvis WR. Epidemiology and clinical aspects of unusual fungal nosocomial infections. Clinical updates in fungal infections. 1999; 2:1-7.
- 3- Eggiman P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species: infections in critically ill non-immunosupressed patients. Lancet Infect Dis 2003; 3:685-702.
- 4- Rolston K. Overview of systemic fungal infections. Oncology 2001; 15:11-4.
- 5- Reis E, Shadomy HJ, Lyon GH (eds). Fundamental medical mycology. New Jersey: Wiley-Blackwell; 2012.
- 6- Warnock DW. Taxonomy and classification of fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). Manual of clinical microbiology. 9th edition. Washington DC: ASM Press; 2007. 1721-7.
- 7- Kauffman CA. Overview of candida infections. Up to date 2013.
- 8- de Hoog GS, Gene GJ, Figueras MJ (eds). Atlas of clinical fungi. 3rd edition. Utrecht: CBS; 2009.
- 9- Hazen CK, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeast of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). Manual of clinical microbiology. 9th edition. Washington DC: ASM Press; 2007. 1762-88.
- 10- Tümbay E. *Candida*, *Cryptococcus* ve tıbbi önemi olan diğer mayalar. In: Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldiran ŞT, Tanyüksel M (çev editörleri). Klinik mikrobiyoloji. 9. Baskı. Ankara: Atlas Kitabçılık; 2009. 1762-4.
- 11- Edwards JE. *Candida* species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE (eds). Principles and practice of infectious diseases. London: Churchill Livingstone; 2010. 3225-40.
- 12- Calderone RA (ed). *Candida* and candidiasis. Washington DC: ASM Press; 2002.
- 13- Fındık D, Ural O, Baysal B. Bacterial colonization and yeast carriage on the hands of nurses. J Hosp Infect 1996; 34:2235-7.
- 14- Lunel FMV, Meis JFG, Voss A. Nosocomial fungal infections: candidemia. Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 34:213-20.
- 15- Myhre AG, Stray-Pedersen A, Spangen S, et al. Chronic mucocutaneous candidiasis and primary hypothyroidism in two families. Eur J Pediatr 2004; 163:604-11.
- 16- Manz B, Scholz GH, Willgerodt H, Haustein UF, Nenoff P. Autoimmune polyglandular syndrome (APS) type 1 and candida onychomycosis. Eur J Dermatol 2002; 12:283-6.
- 17- Ryan KR, Hong M, Arkwright PD, et al. Impaired dendritic cell maturation and cytokine production in patients with chronic

- mucocutaneous candidiasis with or without APECED. Clin Exper Immunol 2008; 154:406-14.
- 18- Kobrynski LJ, Tanimune L, Kilpatrick L, Campbell DE, Douglas SD. Production of T-helper cell subsets and cytokines by lymphocytes from patients with chronic mucocutaneous candidiasis Clin Diagn Lab Immunol 1996; 3:740-5.
 - 19- Saraçlı MA. Mantar hastalıklarının patogenezi. In: Başustaoğlu A (çeviri editörü). Tıbbi mikrobiyoloji. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2010. 679-88.
 - 20- Tümbay E. Kandida türleri. Ustaçalebi Ş (ed). Temel ve klinik mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. 1081-5.
 - 21- Huffnagle GB, Herring AC, Traynor TR. Role of fungal virulence factors in evasion of host defences. Ann Rev Sci 2000; 2:77-90.
 - 22- Karkowska-Kuleta J, Rapala-Kozik M, Kozik A. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. Acta Biochemica Polonica 2009; 56:211-24.
 - 23- Diekema DJ, Messer RJ, Hollis R, Jones N, Pfaller MA. Nosocomial candidemia: an ounce of prevention is better than a pound of cure. Infect Cont Hosp Epidemiol 2004; 25:624-6.
 - 24- Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 2007; 20:133-63.
 - 25- Akalın H. Kandidemilerde risk faktörleri ve risk değerlendirilmesi. ANKEM Derg 2008; 22(Ek 2):270-4.
 - 26- Bergamasco MD, Garnica M, Colombo AL, Nucci M. Epidemiology of candidemia in patients with hematologic malignancies and solid tumours in Brazil. Mycoses 2013; 56:256-63.
 - 27- Wenzel RP, Gennings C. Bloodstream infectious due to *Candida* species in the intensive care unit: identifying especially high-risk patients to determine prevention strategies. Clin Infect Dis 2005; 41(Suppl 6): 389-93.
 - 28- Reagan DR, Pfaller MA, Hollis RJ, et al. Characterization of the sequence of colonization and nosocomial candidemia using DNA fingerprinting and a DNA probe. J Clin Microbiol 1990; 28:2733-8.
 - 29- Gürcüoğlu E, Akalın H, Ener B, et al. Nosocomial candidemia in adults: risk and prognostic factors. Journal de Mycologie Médicale 2010; 20:269-78.
 - 30- Seneviratne CJ, Jin L, Samaranayake LP. Biofilm life style of *Candida*: a mini review. Oral Dis 2008; 14:582-90.
 - 31- Nobile CJ, Schneider HA, Nett JE, et al. Complementary adhesin function in *C. albicans* biofilm formation. Curr Biol 2008; 18:1017-24.
 - 32- Sandven P. Epidemiology of candidemia. Rev Iberoam Micology 2000; 17:73-81.
 - 33- Morgan J. Global trends in candidemia: review of reports from 1995–2005. Curr Infect Dis Rep 2005; 7:429–39.
 - 34- Gürcüoğlu E, Ener B, Akalın H, et al. Epidemiology of nosocomial candidemia in a Turkish University Hospital: 12-year study. *Epidemiology and Infection* 2010; 138:1328-35.

- 35- Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin Microbiol Rev 1996; 9:499–511.
- 36- Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent M, Seifert H, Wenzel RP, Edmond, MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 2004; 39:309–17.
- 37- Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, et al. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. J Clin Microbiol 2004; 42:1519–27.
- 38- Cuenca-Estrella M, Rodero L, Garcia-Effron G, Rodriguez-Tudela JL. Antifungal susceptibilities of *Candida* species isolated from blood in Spain and Argentina, 1996–1999. J Antimicrob Chemother 2002; 49:981–7.
- 39- White MH. The contribution of fluconazole to the changing epidemiology of invasive candidal infections. Clin Infect Dis 1997; 24:1129–30.
- 40- Dery MA, Hasbun R. Fluconazole resistant *Candida*: mechanisms and risk factor identification. Curr Fungal Infect Rep 2011; 5:23-8.
- 41- Lee I, Zaoutis TE, Fishman NO, Morales KH, Nachamkin I, Lautenbach E. Risk factors for fluconazole resistance in patients with *Candida glabrata* bloodstream infection potential impact of control group selection on characterizing the association between previous fluconazole use and fluconazole resistance. Am J Infect Control 2010; 38:456-60.
- 42- Ben-Ami R, Olshtain-Pops K, Krieger M, et al. Antibiotic exposure as a risk factor for fluconazole-resistant *Candida* bloodstream infection. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56:2518-23.
- 43- Pappas PG, Bergamo B. Superficial and mucosal fungal infections. In: Maertens JA, Marr KA (eds). Diagnosis of fungal infections. New York: Informa Healthcare; 2007. 153-69.
- 44- León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, et al. Usefulness of the “*Candida* score” for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. Crit Care Med 2009; 37:1624-33.
- 45- Gürcüoğlu E, Akalın H, Ener B, Gedikoğlu S. Colonisation in adult patients with nosocomial candidemia. Mycoses 2012; 55:269-75.
- 46- Denning DW, Kibbler CC, Barnes RA. British Society for Medical Mycology proposed standards of care for patients with invasive fungal infections. Lancet Infect Dis 2003; 3:230–40.
- 47- Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures CMI 2012; 18 (Suppl. 7): 9-18.
- 48- Arendrup MC, Bille J, Dannaoui E, Ruhnke M, Heussel CP, Kibbler C. ECIL-3 classical diagnostic procedures for the diagnosis of invasive fungal diseases in patients with leukaemia. Bone Marrow Transplant 2012; 47:1030-45.
- 49- Ostrosky-Zeichner L, Pappas PG. Invasive candidiasis in the intensive care unit. Crit Care Med 2006; 34:857-63.

- 50- Sims CR, Ostrosky-Zeichner L, Rex JH. Invasive candidiasis in immunocompromised hospitalized patients. *Arch Med Res* 2005; 36:660-71.
- 51- Berenguer J, DiazGuerra TM, RuizDiez B, DeQuiros JCLB, RodriguezTudela JL, MartinezSuarez JV. Genetic dissimilarity of two fluconazole-resistant *Candida albicans* strains causing meningitis and oral candidiasis in the same AIDS patient. *J Clin Microbiol* 1996; 34:1542-5.
- 52- Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C, the Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Crit Care* 2010; 14:R222.
- 53- Marchetti O, Lamoth F, Mikulska M, Viscoli C, Verweij P, Bretagne S, the European Conference on Infections in Leukemia (ECIL) Laboratory Working Groups. ECIL recommendations for the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic SCT recipients. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47:846–54.
- 54- Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (Suppl 7):9–18.
- 55- Chiarini A, Palmeri A, Amato T, Immordino R, Distefano S, Giammanco A. Detection of bacterial and yeast species with the Bactec 9120 automated system with routine use of aerobic, anaerobic, and fungal media. *JCM* 2008; 46:4029-33.
- 56- Kirby J, Delaney M, Qinfang Q, Gold HS. Optimal use of Myco/F lytic and standard BACTEC blood culture bottles for detection of yeast and mycobacteria. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133:93-6.
- 57- Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, et al. National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). *JCM* 2011; 49:325-34.
- 58- Larone DH (ed). *Medically important fungi*. 5th edition. Washington DC: ASM Press; 2011.
- 59- Verweij PE, Lee HAL, Rijs AJMM. The Role of conventional diagnostic tools. In: Maertens JA, Marr KA (eds). *Diagnosis of fungal infections*. New York: Informa Healthcare; 2007. 19-40.
- 60- Marcos Y, Pincus DH, O'Connor L, Glynn B (eds). *Fungal diagnostics: methods in molecular biology*. 2013.
- 61- Baumgartner C, Freydiere A, Gille Y. Direct identification and recognition of yeasts species from clinical material by using *Albicans* ID and CHROMagar *Candida* plates. *J Clin Microbiol* 2003; 34:454-6.
- 62- Pincus DH, Orega S, Chatellier S. Yeast identification past, present, and future methods. *Med Mycol* 2007; 45:97-121.
- 63- Freydiere AM, Robert R, Ploton C, et al. Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, GLABRATA RTT. *J Clin Microbiol* 2003; 41:3861-3.

- 64- Adams ED, Cooper BH. Evaluation of a modified Wickerman medium for identifying medically important yeasts. *Am J Med Technol* 1974; 40:377-88.
- 65- Posteraro B, Ruggeri A, Carolis E, et al. Comparative evaluation of BD Phoenix and Vitek 2 systems for species identification of common and uncommon pathogenic yeasts. *J Clin Microbiol* 2013; 51:3841-5.
- 66- Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive mycoses in North America. *Crit Rev Microbiol* 2010; 36:1-53.
- 67- Azie N, Neofytos D, Pfaller M, Meier-Kriesche HU, Quan SP, Horn D. The PATH (Prospective Antifungal Therapy) Alliance registry and invasive fungal infections: update. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 73:293–300.
- 68- Falagas ME, Roussos N, Vardakas KZ. Relative frequency of *Candida albicans* and the various non-albicans *Candida* spp among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: a systematic review. *Int J Infect Dis* 2010; 14:e954–e966.
- 69- Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis* 2011; 11:142-51.
- 70- Merz WG. *Candida lusitanae*: frequency of recovery, colonization, infection, and amphotericin B resistance. *J Clin Microbiol* 1984; 20:1194-5.
- 71- Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Jones RN and the International Fungal Surveillance Participant Group. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and four licensed systemic antifungal agents against *Candida* species infrequently isolated from blood. *J Clin Microbiol* 2003; 41:78-83.
- 72- Walsh TJ, Melcher GP, Rinaldi MG, et al. *Trichosporon beigelii*, an emerging pathogen resistant to amphotericin B. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1616-22.
- 73- Hitchcock CA, Pye GW, Troke PF, Johnson EM, Warnock DW. Fluconazole resistance in *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1962-5.
- 74- Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:1-8.
- 75- Moran GP, Sullivan DJ, Henman MC, et al. Antifungal drug susceptibilities of oral *Candida dubliniensis* isolates from human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected subjects and generation of stable fluconazole-resistant derivatives in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:617-23.
- 76- Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, et al. In vitro activities of anidulafungin against more than 2,500 clinical isolates of *Candida* spp., including 315 isolates resistant to fluconazole. *J Clin Microbiol* 2005; 43:5425-7.
- 77- EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14:398-405.
- 78- Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard.

- CLSI Document M27-A3. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- 79- Ramani R, Gromadzki S, Pincus DH, Salkin IF, Chaturvedi V. Efficacy of API 20C and ID 32C systems for identification of common and rare clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3396-8.
 - 80- Fricker-Hidalgo H, Vandapel O, Duchesne MA, et al. Comparison of the new API Candida System to the ID 32 C system for identification of clinically important yeast species. *J Clin Microbiol* 1996; 34:1846-8.
 - 81- Fenn JP, Segal H, Barland B, et al. Comparison of updated Vitek yeast biochemical card and API 20C yeast identification systems. *J Clin Microbiol* 1994; 32:1184-7.
 - 82- Graf B, Adam T, Zill E, Gobel UB. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid identification of yeasts and yeast-like organisms. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1782-5.
 - 83- Odds FC. Sabouraud's agar. *J Med Vet Mycol* 1991; 29:355-9.
 - 84- Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, et al. Results from the ARTEMIS disk global antifungal surveillance Study: a 6.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol* 2005; 43:5848-59.
 - 85- Morgan M, Urquiza Y, Tracey J, Nwosu O. Comparative evaluation of the BD Phoenix yeast ID panel and the Vitek2 colorimetric yeast identification card for identification of yeast isolated from clinical samples. 112th General Meeting of American Society for Microbiology. Washington DC: ASM Press; 2012. abstr P-1220.
 - 86- Majors ML, Robinson A. Evaluation of the Phoenix yeast ID for the automated identification of yeast isolates. 112th General Meeting of American Society for Microbiology. Washington DC: ASM Press; 2012. abstr P-1221.

TEŞEKKÜR

Yaşadıklarımın öğrendiğim bir şey var:

Yaşadın mı büyük yaşayacaksın, ırmaklara, göğe, bütün evrene
karışırasına,

Yaşadıklarımın öğrendim;

Bütün kitapları okumak, bütün hayatları tanımak arzusuyla yanmalısın

Değişmemelisin hiç bir şeyle bir bardak su içmenin mutluluğunu

Ve kederi de yaşamalısın, namusluca, bütün benliğine

Çünkü acılar da, sevinçler gibi olgunlaştırır insanı....

Ve şimdi balıklama dalma zamanıdır hayatın içine öğrendiklerimle, yaşama
karışmak zamanıdır tüm kaslarımla ve gövdemle. Şimdi teşekkür etme
zamanıdır bu yolda benimle yürüyecek olan aileme, bana öğrettikleri
herşeyden dolayı Sayın Prof. Dr. Okan Töre, Prof. Dr. Güher Göral, Prof. Dr.
Cüneyt Özakin, Prof. Dr. Barbaros Oral, Doç. Dr. Melda Sınırtaş, Doç. Dr.
Oktay Alver, Doç. Dr. Ferah Budak, Yrd. Doç. Dr. Harun Ağca ve Enfeksiyon
Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm değerli hocalarına ve her zaman desteğini
hissettiğim tez hocam Prof. Dr. Beyza Ener'e, birlikte çalıştığım bütün
teknisyen ve asistan arkadaşlarıma.

Asistanlık süremde sahip olduğum en güzel şey; yavru kuşum bu tez için...

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ülkü ÜNVER GAYIBOV

Doğum Yeri ve Tarihi: ANKARA, 29. 03. 1976

Medeni Durumu: Evli

Ünvanı: Doktor

Yabancı Dil: İngilizce

Yazışma Adresi:

100. Yıl Mah. 513. sok. Gülçin Sitesi E Blok D: 6

Nilüfer/ BURSA

Tel: (554) 698 39 05

e-posta: drgayibova@gmail.com

Öğrenim Durumu:

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Tıp	Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi	1994- 2001
Tıpta Uzmanlık	Tıbbi Mikrobiyoloji	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi	2008- 2014

Uzmanlık Tezi: *Candida* türlerinin tanımlanmasında iki farklı yöntemin karşılaştırılması. (2014- BURSA)

Tez danışman: Prof. Dr. Beyza ENER