T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAYDARPAŞA NUMUNE
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TÜRLERİNDE ANTİFUNGAL DUYARLILIĞIN SAPTANMASINDA İKİ FARKLI TİCARİ SİSTEMİN STANDART SIVI MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

DR. NİHAN YILDIZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2020

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAYDARPAŞA NUMUNE
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TÜRLERİNDE ANTİFUNGAL DUYARLILIĞIN SAPTANMASINDA İKİ FARKLI TİCARİ SİSTEMİN STANDART SIVI MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Nihan Yıldız

Tez Danışmanı
Doç. Rıza Adaleti

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2020

TEŞEKKÜR

Asistanlığa ilk başladığım günden mezun olana kadar yanımda ve destekçim olduğunu hissettiren, her zaman kibar, saygılı, dışa dönük, neşeli ve çalışkan oluşunu kendime örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. Sebahat Aksaray'a,

Bilgi ve tecrübelerini bize her fırsatta aktarmaya çalışan tez danışmanım Doç. Rıza Adaleti'ye, tez yapım ve yazım aşamasında her türlü desteğini ve bilgisini büyük bir özveriyle paylaşan, mikrobiyolojiye yaklaşımı ve deneyimleriyle ufkumu genişleten sevgili yandal uzmanımız Dr. Deniz Turan'a, asistanlık eğitimim boyunca bilgilerini bizlerle paylaşmaya her zaman hazır olan Dr. Nilgün Kansak, Dr. Müge Aslan başta olmak üzere tüm uzmanlarımıza,

Asistanlık yıllarıma anlam katan şimdilerde taze uzman olan sevgili arkadaşlarım Gülden Aydın ve Kübra Özhan'a, beraber eğlenip kederlendiğimiz ne zaman sıkışsam yanımda ve destekçim olan sevgili eşkıdemim Dr. Ezgi Akpınar ve Dr. Şeyma Çalık'a ve benimle birlikte asistan odasında bulunmuş tüm arkadaşlarıma,

Tezimin yapılış aşamasında her türlü desteğini esirgemeyen, özveriyle çalışan sevgili teknisyen arkadaşlarım Aynur Büyüktürk ve Özlem Kocabaş'a,

Her zaman yanımda olan başarılarımla sevinip, dertlerimle kederlenen ve elinden gelen tüm desteğini esirgemeyen fedakar anneciğime, sevgili ablalarım neşe kaynaklarım Tuğba Kart ve Havva Arslan'a, karizmatik kardeşim can yoldaşım Faruk Yasin Erdem'e,

Hayatın zorluklarını da mutluluğunu da birlikte paylaştığımız, her zaman desteğini arkamda hissettiğim sevgili eşim Dr. Ömer Yıldız'a ve mutluluk kaynağım canım oğlum Tarık'a,

En içten sevgi ve teşekkürlerimle...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **i**
İÇİNDEKİLER ..... **ii**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **v**
TABLO LİSTESİ ..... **vii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **viii**
ÖZET ..... **ix**
ABSTRACT ..... **xi**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. MİKROBİYOLOJİ 4
2.1.1. Mantarların Genel Özellikleri ve Hücre Yapısı 4
2.1.2. Mantar Sporları 4
2.1.2.1. Eşeyli (seksüel) üreme 4
2.1.2.2. Eşeysiz (aseksüel) üreme 4
2.1.2.3. Paraseksüel üreme 4
2.1.3. Mantarların Morfolojik Sınıflandırılması 4
2.1.3.1. Mayalar 5
2.1.3.2. Küfler 5
2.1.3.3. Dimorfik Mantarlar 5
2.1.4. *Candida*'ların Genel Özellikleri 5
2.2. *Candida*'ların Virülans Faktörleri ve Enfeksiyon Patogenezi 6
2.2.1. Klinik Bulgular 7
2.2.2. *Candida* Türlerinin İdentifikasyonu 8
2.2.3. Kandan *Candida*'ların İzolasyonu 8
2.2.4. Antifungal İlaçlar 9
2.2.4.1. Poliyen antifungaller 9
2.2.4.1.1. Amfoterisin B 9
2.2.4.1.2. Nistatin 10
2.2.4.2. Azoller 10
2.2.4.2.1. Ketokonazol 11

2.2.4.2.2. Flukonazol 11
2.2.4.2.3. İtrakonazol 11
2.2.4.2.4. Vorikonazol 11
2.2.4.2.5. Posakonazol 12
2.2.4.2.6. İsavukonazol (İsavukonazonyum Sülfat) 12
2.2.4.3. Antimetabolitler 12
2.2.4.3.1. Flusitozin 12
2.2.4.4. Alilaminler 12
2.2.4.4.1. Naftifin, terbinafin 12
2.2.4.4.2. Griseofulvin 13
2.2.4.5. Ekinokandinler 13
2.2.5. Antifungal Duyarlılık Testleri 13
2.2.5.1. Dilüsyon temeline dayalı yöntemler 14
2.2.5.1.1. Sıvı makrodilüsyon yöntemi 14
2.2.5.1.2. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi (SMD) 14
2.2.5.1.3. Agar dilüsyon yöntemi 15
2.2.5.2. Difüzyon yöntemleri 15
2.2.5.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi 15
2.2.5.2.2. Gradiyent test yöntemi 15
2.2.5.3. Akımsitometri (Flowcytometry) temeline dayanan yöntemler 15
2.2.5.4. Ticari mikrodilüsyon yöntemleri 16
2.2.5.4.1. Sensititre YeastOne Colorimetric Plate (Thermo Scientific, USA) 16
2.2.5.4.2. Vitek-2 yeast susceptibility test (Biomérieux, France) 16
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER 17
3.1. ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ 17
3.1.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi (SMD) 17
3.1.1.1. RPMI 1640 besiyerinin hazırlanması 18
3.1.1.1.1. Malzemeler (1 litre RPMI 1640 için) 18
3.1.1.1.2. İşlemler 18
3.1.1.2. Antifungal stok solüsyonlarının hazırlanması 18
3.1.1.2.1. İşlemler 19

3.1.1.3. Antifungal dilüsyonlarının ve test plaklarının hazırlanması 19
3.1.1.4. Test edilecek suşların hazırlanması 20
3.1.1.5. Testin uygulanması ve değerlendirilmesi 21
3.1.1.6. Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin saptanması 21
3.1.2. Sensititre YeastOne(TREK Diagnostic Systems Inc., USA) 21
3.1.2.1. Testin yapılışı 21
3.1.2.2. Testin değerlendirilmesi 23
3.1.3. Vitek-2 Yeast Susceptibility Test (Biomérieux, France) 24
3.1.3.1. Testin yapılışı 24
3.1.4. Veri Analizi 24
4. BULGULAR 27
5. TARTIŞMA 39
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 61
7. KAYNAKLAR 63

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADT	Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri
AFD	Antifungal Duyarlılık
AFDT	Antifungal Duyarlılık Testi
BH	Büyük Hata
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsi (Clinical Laboratory and Standards Institute)
ÇBH	Çok Büyük Hata
DBD	Doza Bağımlı Duyarlılık
EED	Epidemiyolojik Eşik Değerlerden
EU	Esansiyel Uyum
EUCAST	Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
FDA	Amerikan Gıda ve Ilaç Dairesi (USA Food and Drug Administration)
FU	Fluorourasil
I	Orta Duyarlı (Intermediate)
KSD	Klinik Sınır Değerleri
KU	Kategorik Uyum
KH	Küçük Hata
MALDI-TOF MS	Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry)
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
MOPS	3-N-morpholino propanesulfonic acid
NCCLS	Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi (National Committe for Clinical Laboratory Standards)
S	Duyarlı (Sensitive)
SDA	Sabouraud Dekstroz Agar

SDD	Doza bağlı duyarlı
SMD	Sıvı Mikrodilüsyon
R	Dirençli (Resistant)

TABLO LİSTESİ

Tablo 1 CLSI Önerilerine Göre Antifungal İlaçların *Candida* Türleri İçin Belirlenmiş Epidemiyolojik Eşik ve Klinik Direnç Sınır Değerleri

Tablo 2 Antifungal ilaçlara karşı üç farklı AFDT ile elde edilen $MİK_{50}$, $MİK_{90}$ değerleri ve MİK aralıkları

Tablo 3 *Candida albicans'*ın Antifungal ilaçlara karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Tablo 4 *Candida parapsilosis'*in Antifungal ilaçlara karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Tablo 5 *Candida glabrata'*nın Antifungal ilaçlara karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Tablo 6 *Candida tropicalis'*in Antifungal ilaçlara karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Tablo 7 *Candida* spp.'nin Antifungal ilaçlara karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Tablo 8 *Candida* Türlerine Göre AFDT'lerinin CLSI SMD'ye Göre Uyum Yüzdeleri ve Hata Oranları

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 Sensititre YeastOne Amfoterisin B ve Ekinokandinler için MİK değerlendirmesi

Şekil 2 Sensititre YeastOne azol grubu antifungaller için MİK değerlendirmesi

Şekil 3 Çalışmamız kapsamına alınan *Candida* türler ve oranları

ÖZET

AMAÇ

Standart antifungal duyarlılık testi (AFDT) olan sıvı mikrodilüsyon (SMD) yönteminin uygulanması klinik laboratuvarlar için zaman alıcı ve uygulanması zordur. Günümüzde manuel, yarı otomatize ve otomatize yöntemler de dahil olmak üzere bulunan bazı yöntemlerin uygulanması daha kolay olup rutin kullanımda *Candida* spp., *Cryptococcus* türleri ve filamentöz mantarlara karşı in vitro antifungal ilaçları test etmek için kullanılan alternatif diğer yöntemler bulunmaktadır. Bu çalışmada piyasada bulunan iki farklı ticari yöntemin [SensititreYeastOne (TrekDiagnosticSystem, USA) ve Vitek-2 (bioMérieux,Fransa)] altın standart SMD yöntemiyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza 01.01.2018-31.12.2018 tarihleri arasında İstanbul Kamu Hizmetleri Başkanlığı 2. hizmet bölgesinde bulunan hastanelerin çeşitli kliniklerinden mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen kan kültürlerinden izole edilen 127 *Candida* suşu dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanması matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi [MALDI TOF-MS (bio-Mérieux, France)], AFDT ise kolorimetrik mikrodilüsyon testi [SensititreYeastOne (TREK Diagnostic Systems Inc., Westlake, Ohio)], otomatize Vitek-2 (bioMérieux,Fransa) ve standart SMD testi ile merkez laboratuvarımızda yapılmıştır.

Her üç yöntemin karşılaştırılması amacıyla yapılan değerlendirmede; veri analizi, Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (ADT) için Amerikan gıda ve ilaç dairesi (USA Food and Drug Administration) klavuzuna göre yapılmıştır. Buna göre yöntemler arasında ADT'de, esansiyel uyum (EU), kategorik uyum (KU), mod, çok büyük hata (ÇBH), büyük hata (BH) ve küçük hata (KH) değerleri hesaplanmıştır.

BULGULAR

Her üç yöntemin verileri karşılaştırıldığında KU değerlendirilmesinde *C.tropicalis'*te posakonazol için %80 ve az sayıda izole edilen türleri de içeren toplam değerlendirmede KU posakonazol için %97.6 ve vorikonazol için %96.9

olarak saptanmıştır. Bunların dışında kalan izolatlarda tüm antifungaller için KU %100 olarak saptanmıştır.

Her iki ticari yöntemde esansiyel uyum %17-100 arasında değişmektedir. Buna göre *C. albicans* izolatlarının amfoterisin B ile EU'su hem YeastOne (%34) hem de Vitek-2 (%23) sistemi ile düşük saptanmıştır. *Candida albicans* izolatlarının vorikonazol için Vitek-2 (%17.1) yöntemi ile EU'su düşük saptanmıştır. *Candida glabrata* suşlarında özellikle azol grubunda 24. saat uyum oranları 48. saatlik uyum oranlarına göre daha düşük saptanmıştır.

SONUÇ

Kategorik uyum sonuçlarımıza göre, uygulanması ve yorumlanması daha kolay olan aynı zamanda daha kısa sürede sonuç veren bu iki ticari yöntemin standart SMD yöntemi ile uyumlu olduğu ve rutin laboratuvar işleyişinde kullanılabileceği düşünülmüştür. Bu ticari yöntemlerin maliyeti yüksek gibi görünmekle birlikte erken ve doğru antifungal tedavinin hasta sonuçları üzerine yapacağı etkiler ile, yoğun bakım yatış süresini kısaltmak gibi maliyet etkin olacağı düşünülmüştür.

ANAHTAR KELİMELER: *Candida* spp., antifungal duyarlılık testleri, sıvı mikrodilüsyon yöntemi, SensititreYeastOne, Vitek-2

ABSTRACT

AİM

The application of the standard broth microdilution method, which is an antifungal susceptibility test, is time consuming and difficult for clinical laboratories. Nowadays some methods including manual, semi-automated and automated methods, are easier to apply, and there are other alternative methods used to test in vitro antifungal drugs against *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and filamentous fungi in routine use. In this study, it was aimed to compare two different commercial methods [SensititreYeastOne (Trek Diagnostic System, USA) and Vitek-2 (bioMérieux, France)] with the gold standard broth microdilution method.

MATERIALS AND METHODS

Blood cultures sent to microbiology laboratories from various clinics of hospitals in the 2nd service area of Istanbul Public Services Presidency between 01.01.2018 and 31.12.2018 were included in our study which were isolated 127 *Candida* strains. Identification of the isolates was done by Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry [MALDI TOF-MS (bio-Mérieux, France)]. Antifungal susceptibility tests were performed in the laboratory with the colorimetric microdilution test [Sensitre YeastOne (TREK Diagnostic Systems Inc., Westlake, Ohio)], automated Vitek-2 (bioMérieux, France) and standard broth microdilution test.

In the evaluation made to compare all three methods; data analysis was performed according to the Food and Drug Administration guidelines for Antimicrobial Susceptibility Tests. According to this, essential agreement, categorical agreement, mode, very major error, major error and minor error were calculated.

RESULTS

The data of all three methods were compared, the categorical agreement was found to be 80% for posaconazole in *C. tropicalis* and 97.6% for posaconazole and 96.9% for voriconazole in the total evaluation including other less common species. The categorical agreement was 100% for all antifungals in isolates other than these.

Essential agreement varies between 17-100%. According to this, essential agreement of *C. albicans* isolates with amphotericin B was found to be low with both YeastOne (34%) and Vitek-2 (23%) systems.The essential agreement of *C. albicans* isolates with the Vitek-2 (17.1%) method for voriconazole was found to be low. In *C. glabrata* strains, especially in the azole group, the 24-hour agreement rates were lower than the 48-hour agreement rates.

CONCLUSION

According to our categorical agreement results, it was thought that these two commercial methods, which are easier to apply and interpret, but also give results in a shorter time, are compatible with the standard broth microdilution method and can be used in routine laboratory work. Although the cost of these commercial methods seems to be high, it is thought that the effects of early and correct antifungal treatment on patient outcomes will be cost effective, such as shortening the duration of intensive care stay.

KEYWORDS: *Candida* spp., antifungal susceptibility tests, broth mikrodilution, Sensititre YeastOne, Vitek-2

.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Candida türleri, insanlarda mantar kaynaklı enfeksiyonlar içinde en sık saptanan patojenler olup insan deri ve mukozasında normal flora elemanı olarak bulunan mikroorganizmalardır. *Candida* türleri doğum esnasında veya doğumdan kısa bir süre sonra yenidoğanın deri ve mukoza floralarında yer alırlar. Sağlıklı insanların %30-50'sinin ağız ve gastrointestinal sisteminde bulunurlar. Herhangi bir nedenle bulundukları bölgede sayıları artarsa veya steril bir bölgeye geçerlerse, fırsatçı *Candida* enfeksiyonlarına neden olabilirler (1–3). İnsanlarda enfeksiyona yol açan yaklaşık 15 tür olmakla birlikte en sık etken olan patojenler; *C. albicans, C. glabrata, C. tropicalis, C. parapsilosis* ve *C. krusei*'dir (3). Dünyada nozokomial kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalar arasında *Candida* türleri dördüncü sırada, fungal etkenler arasında ise ilk sırada yer almaktadır (4–6).

Son yıllarda savunma sistemi zayıf olan hastaların (derin immünosupresyon, geniş spektrumlu antibiyotiklere uzun süreli maruz kalma, implante edilmiş tıbbi cihazlar, AIDS gibi) sayısındaki artışa paralel olarak invazif mantar enfeksiyonlarında artış saptanmaktadır (7). Kandidemi vasküler sistemde *Candida* bulunmasıdır. Kan kültürlerinden *Candida* izole edilmesi ile tanı konur. Genellikle sepsis ve organ disfonksiyonu bulgularına eşlik etmektedir (8–10). Nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarında mortalitenin bağımsız bir indikatörü olarak kabul edilmektedir (4,11). Hastanede yatan hastalarda *Candida'*ya bağlı kan dolaşımı enfeksiyonları diğer etkenlere bağlı olarak gelişen kan dolaşımı enfeksiyonlarından daha ölümcül seyreder. Kandidemi %47 oranlarına kadar mortalite ile ilişkilendirilmiştir, bu oran septik şoku olan hastalarda daha da yüksektir. Yapılan çalışmalar bu yüksek mortalite oranlarının hem tedavi zamanlaması hem de kaynak kontrolü ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Yani, uygun antifungal tedaviye daha erken başlanması, kontamine olmuş bir santral venöz kateterin çıkarılması veya enfekte olmuş materyalin drenajı hastanın iyileşme sürecine olumlu katkı sağlamaktadır. Bununla birlikte kandidemisi olan bir hastaya 24 saat içinde tedavi başlanmaması neredeyse %100 mortaliteye neden olabilir (3,11).

Kandideminin erken tanısı ve antifungal duyarlılık testlerinin erken sonuçlandırılması, uygun antifungal tedavinin mümkün olduğunca erken başlanması, morbidite ve mortalitenin azalmasında önemli bir basamaktır (2,12,13).

Antifungallere duyarlılık açısından *Candida* türleri arasında farklılıklar görülmektedir. Örneğin; *C.krusei* flukonazole doğal dirençlidir; *C. glabrata*'da flukonazole, *C. lusitaniae'da* ise amfoterisin B'ye karşı duyarlılığın diğer türlere göre daha az olduğu saptanmıştır (2,6). Uygun antifungal tedavi sırasındaki kısa süreli gecikmelerde bile mortalite oranı artabilmektedir. Antifungal duyarlılık testlerinin standardize edilerek sonuçlarının hızlı belirlenmesi için yapılan çalışmaların önemi bu sorunların önüne geçebilmek ya da en aza indirebilmek için giderek artmaktadır (12).

Candida albicans en sık izole edilen türdür, ancak non-*albicans Candida* türleri toplamda izole edilen mayaların yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır ve bu oran artış eğilimindedir. Son zamanlarda *Candida* türleri arasındaki artan azol direnci dikkat çekmektedir. Bunun nedeni profilaksi ve tedavide azol grubu antifungallerin sık kullanılması olabilir. Tüm bu sebepler göz önüne alındığında *Candida* türlerinin oluşturduğu enfeksiyonlardan izole edilen etkenlerin tür düzeyinde tanımlanması ve antifungal tedavi seçiminde in vitro duyarlılığı hızlı bir şekilde ölçen testlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır (3,14).

Candida türlerinin tanımlanması, antifungal duyarlılık testlerinin (AFDT) yapılması uzun süreli emek yoğun bir iştir. Etkin tedavi sağlanması için bu sürenin minimumda tutulması önemlidir (2). Altın standart olan sıvı mikrodilüsyon (SMD) yönteminin uygulanması yoğun emek gerektirir, yorumlanması zordur ve sonuçlanması iki güne kadar sürebilmektedir. Bu nedenle günümüzde daha hızlı sonuç alabileceğimiz alternatif AFDT'lere ihtiyaç artmaktadır.

Antifungal duyarlılık testi olan standart SMD yönteminin uygulanması klinik laboratuvarlar için zaman alıcı ve zahmetlidir. Bununla birlikte manuel, yarı otomatize ve otomatize testler de dahil olmak üzere piyasada bulunan bazı yöntemlerin uygulanması daha kolay olup rutin kullanımda *Candida, Cryptococcus* türleri ve filamentöz mantarlara karşı in vitro antifungal ilaçları test etmek için kullanılan alternatif diğer yöntemlerdir (15).

Bu yöntemlerden biri olan Sensititre YeastOne (Trek Diagnostic System, USA); antifungal ilacın seri dilüsyonlarını içeren 96 kuyucuklu bir plakadan oluşmakta olup; kuyucuklara üreme göstergesi olan alamar mavisi eklenmiştir. Değerlendirme, maya üremesi ve MİK tayini, kuyucuktaki renk değişikliğine

dayanır. Bu yöntemin yorumlanması standart SMD yöntemine göre daha kolaydır (7).

Diğer bir yöntem olan Vitek-2 (bioMérieux,Fransa) SMD yönteminin bir versiyonu olup maya tanımlama ve AFDT'yi organizmanın üremesine göre analiz eden otomatize bir sistemdir. *Candida* türlerinde sonuç verme süresi 7.5-18 saat arasındadır (15).

Çalışmamızda uygulanması ve yorumlanması daha kolay olan aynı zamanda daha kısa sürede sonuç veren bu iki ticari yöntemin altın standart SMD yöntemiyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MİKROBİYOLOJİ

2.1.1. Mantarların Genel Özellikleri ve Hücre Yapısı

Mantarlar, bakteri ve viruslerden daha kompleks bir yapıya sahiptirler; iyi sınırlandırılmış bir nukleus, golgi cisimciği, endoplazmik retikulum ve mitokondri içerirler. Diğer ökaryotlardan farklı olarak kitin ve glukan içeren sert bir hücre duvarı ve ergesterol içeren bir hücre zarı vardır, mantar türüne göre hücre duvarının içerdiği polisakkarit türü ve miktarı değişir (16).

Mantarlar, bakterilere göre daha yavaş ürerler, duplikasyon zamanları saatlerle belirtilir. Yüz binlerce mantar cinsi olduğu tahmin edilse de insanlarda hastalık yapan 200 civarında cins tanımlanmıştır ve bu sayı gün geçtikçe artmaktadır (11).

2.1.2. Mantar Sporları

Mantar sporları eşeyli ya da eşeysiz üremeden sorumludur.

2.1.2.1. Eşeyli (seksüel) üreme

Doğada, eşeyli sporlar aracılığıyla iki hücre çekirdeği birleşir ve ardından mayoz bölünme gerçekleşir.

2.1.2.2. Eşeysiz (aseksüel) üreme

Eşeysiz sporlar vasıtasıyla çekirdekler arasında füzyon olmadan gerçekleşir.

2.1.2.3. Paraseksüel üreme

Eşeyli sporları olmayan mantarlarda rekombinasyon yoluyla genetik alışverişinin olmasıyla gerçekleşir (17).

2.1.3. Mantarların Morfolojik Sınıflandırılması

Mantarlar morfolojik olarak küf ve maya olarak iki grupta incelenirler. Dimorfik mantarlar olarak adlandırılan diğer bir grup mantar ise ortam şartlarına göre hem küf hem maya morfolojisi gösterebilir.

2.1.3.1. Mayalar

Tek hücreli, 1-5 µm eninde, 5-30 µm boyunda küresel ya da oval şekilde yapılardır ve tomurcuklanarak çoğalırlar (17).

2.1.3.2. Küfler

Çok hücreli organizmalardır ve hif olarak adlandırılan 2-10 µm çapında silindirik, uzun, ipliksi yapılardan ve sporlardan meydana gelirler. Hifler ağ ya da örgü benzeri miçelyum olarak adlandırılan yapılar oluştururlar (17).

2.1.3.3. Dimorfik Mantarlar

Bu mantarlar CO_2, ısı, pH, sistein gibi ortam koşullarındaki değişikliklere göre form değiştirebilirler (17).

2.1.4. *Candida*'ların Genel Özellikleri

Candida cinsi Ascomycetes filumunun Saccaromycetes sınıfında yer alır (11,18). *Candida'*lar, hücre duvarında kitin ve/veya selüloz içeren ökaryotik tek hücreli kemoheterotrop, oval, kapsülsüz, hareketsiz, Gram pozitif, 1-3 x 4-6 µm boyutlarında, lateral tomurcuklanma (blastospor) veya ortadan ikiye bölünme şeklinde eşeysiz olarak üreyen, aerop mayalardır (9,17,19,20).

Candida cinsi içindeki mayalar arasında nadir istisnalar haricinde makroskopik ve mikroskopik görünümlerinde farklılık gözlenmez. Hepsi 25 ℃ ya da 37˚C'de SDA besiyerinde 2-3 mm çaplı, beyaz veya krem renkli, düzgün yüzeyli veya göbekli, mat ya da parlak olabilen koloniler oluştururlar (9).

Maya formu dışında bazı *Candida* türleri kültür ve dokularda yalancı hif veya gerçek hif oluşturabilirler. Yalancı hifler, tomurcuklanma sırasında meydana gelen uzantının ana hücreden ayrılmaması sonucu gelişir. Gerçek hiften farkı, boğumlanmalar içermesidir. Pseudohifler *Candida*'ların dokulara invazyonunu arttırmaktadır. Gerçek hifler ise apikal uzantı tarzında, bölmeli ve düzgün kenarlıdır (9,19–21).

*Candida'*ların çok katlı hücre duvarının %80-90'ı karbonhidratlardan (mannan, beta glukan, kitin), protein (%6-25) ve lipitten (%1-7) oluşur (22). En dışta bulunan protein tabakası konak hücreye adezyonunu sağlar (asit fosfataz ve N-asetil

glukozaminidaz gibi enzimler içerir). *Candida* türlerinin birbirlerinden ayrılmasında mannoproteinlerdeki farklılıklardan yararlanılır. Ancak, bazen aralarında çapraz reaksiyon görülebilmekte ve hatalı tür tayinine sebep olabilmektedir. *Candida'*ların hücre duvarında sterol esterleri (zimosterol, ergosterol), trigliseritler ve fosfolipitlerden oluşan lipitler bulunmaktadır (23). Klinik örnekler içinden maya hücrelerinin aranmasında potasyum hidroksit ve kalkoflor beyazı ile floresan boyamada kullanılır. Kalkoflor beyazı floresan boyası maya hücre duvarındaki kitin ve selülozla nonspesifik bağlanır ve yeşilden maviye değişen renklerde floresan verir (20,24).

*Candida'*ya bağlı fungemilerin yaklaşık %95'i; *C.albicans, C.glabrata, C.parapsilosis* ve *C.tropicalis* olmak üzere bu dört türle oluşmaktadır (11). İnsanlarda sıklıkla enfeksiyon etkeni olarak izole edilen türler: *C.albicans, C.glabrata, C.parapsilosis, C.tropicalis, C.krusei, C.lusitaniae, C.dubliniensis* ve *C.guillermondii'*dir (21,24).

2.2. *Candida*'ların Virülans Faktörleri ve Enfeksiyon Patogenezi

Candida spp. gastrointestinal mukozada kolonizedir ve gastrointestinal translokasyon veya kontamine vasküler kateterler yoluyla kan dolaşımına ulaşır, konakçı savunmaları ile etkileşime geçer, karaciğer, dalak, böbrekler, kalp ve beyin gibi hedef organların derin dokularını istila etmek için intravasküler kompartmandan çıkar (11).

Candida türlerinin virülans faktörleri germ tüp oluşturması, "slime" faktörü ile dokulara yapışabilme, ekstrasellüler matriks proteinlerine adezyonu sağlayan yüzey integrin benzeri moleküller, sideroforları kullanabilme özelliği, proteaz, fosfolipaz, hyalüronidaz, kondroitin fosfataz, kitinaz, esteraz ve lipaz enzimleri, endotoksin benzeri aktivite, antijenik çeşitlilik, maya-hifal dimorfizmi yeteneği, fenotipik değişim ve hücre duvar bileşenleri olarak sayılabilir (11). *Candida* enfeksiyonlarının oluşmasında bu virülans faktörleri önemlidir. Enfeksiyonun erken aşamalarında çeşitli dokulara ve cansız yüzeylere yapışabilmesi önemli kabul edilir. Bununla birlikte fırsatçı mantar enfeksiyonlarında konağa ait faktörler daha önemli hale gelmektedir (11,25).

Aderans, spesifik ve spesifik olmayan (elektrostatik, van der Waals kuvvetleri) mekanizmalarının bir kombinasyonu ile ortaya çıkar ve *Candida'*ların patogenezinde oral ve vajinal epitel hücrelerine, fibronektine, endotele, trombosit-fibrin pıhtılarına ve plastik materyale adezyonu önemli faktörlerdendir (10,11,25). Kolonizasyonun ilk aşaması *Candida'*ların mukozal epitel ve endotel hücrelerine yapışmasıdır. En sık izole edilen *Candida* türü olan *C. albicans*'ın en önemli özelliklerinden biri mukoza yüzeylerine yapışmayı sağlayan adezyon yeteneğidir. Organizmada bu yabancı cisimler fibronektin, fibrinojen ve laminin ile kaplanırlar ve yüzeye yapışan, çoğunlukla polisakkarit yapısında bir biyofilm tabakası oluştururlar. *Candida albicans* ve *C. parapsilosis* biyofilm tabakası oluşturarak enfeksiyonlara neden olabilen mantar türleridir (26,27).

Sıcaklık ve pH'ya göre düzenlenen maya-hif dönüşümü *Candida* spp.'nin mikroortamdaki değişikliklere cevap verme şeklidir ve patojenitede önemli olduğu düşünülmektedir (11). Hücre duvar bileşeni olan mannan *Candida* türlerinin hücre duvarında bulunmakta, hücresel adezyonu kolaylaştırmakta ve immün sistemi hücresel yanıtı bozarak baskılamaktadır (28).

2.2.1. Klinik Bulgular

Candida'ya bağlı hastalıkların sıklığı arttıkça, daha önce tanınmayan veya çok seyrek görülen vakalar tespit edilmektedir. Bu klinik bulguların daha iyi anlaşılması için; mukokutanöz ve derin organ tutulumlu enfeksiyonlar olarak bölünmüştür (29).

2.2.1.1. Mukokutanöz enfeksiyonlar

a. Pamukçuk
b. *Candida* Özofajiti
c. Özofagus Dışı Gastrointestinal Kandidiyazis
d. *Candida* Vajiniti
e. Kutanöz Kandidiyaz Sendromları
f. Kronik Mukokutanöz Kandidiyazis (29).

2.2.1.2. İnvazif *Candida* enfeksiyonları ve tipleri

a. Merkezi Sinir Sistemi Kandidiyazisi

b. Solunum Yolu Kandidiyazisi

c. Kardiyak Kandidiyazis

d. İdrar Yolu Kandidiyazisi

e. *Candida* Artriti, Osteomiyeliti, Kostokondriti Ve Miyoziti

f. İntraabdominal Kandidiyazis: Periton, Karaciğer, Dalak ve Safra Kesesi *Candida* Enfeksiyonu

g. Oküler Kandidiyazis

h. Kandidemi (29).

2.2.2. *Candida* Türlerinin İdentifikasyonu

Candida türlerinin tanımlanması makroskopik ve mikroskopik olarak morfolojik karakterlerin incelenmesi ve biyokimyasal özellikleri değerlendirilmesi ile yapılır. Bu temel morfolojik ve biyokimyasal özellikler; kolonilerin besiyerlerindeki görünümü ve rengi, hücrelerin boyutu ve şekli, germ tüp oluşturabilme yeteneği, hif/psödohif ve klamidospor oluşturması, karbonhidrat asimilasyonu, nitrat asimilasyonu, şeker fermentasyonu olarak gruplandırılabilir. Geleneksel yöntemlerin bazıları zor ve zaman alıcıdır. Bundan dolayı birçok hızlı tanı yöntemi geliştirilmiş ve ticari olarak mikrobiyoloji laboratuvarının kullanımına sunulmuştur (30). Mayaların tanımlanması için laboratuvarlar arasında farklı yöntemler uygulanmakta olup matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS), polimeraz zincir reaksiyonu, floresan in situ hibridizasyon, otomatik veya manuel biyokimyasal paneller bu yöntemler arasında yer almaktadır (29).

2.2.3. Kandan *Candida*'ların İzolasyonu

İnvazif kandidiyazisin en sık karşılaşılan şekli kandidemidir. İnvazif kandidiyazis olan hastaların %50-70'inde üreme saptanmaktadır. Kan dolaşımı enfeksiyonlarının saptanması için altın standart kültür yapılmasıdır. *Candida* türleri normal florada bulunduğundan, kan kültürü alım tekniklerine bağlı olarak bazen kontaminasyona neden olmaktadır. Ancak pozitif kan kültürlerinin büyük kısmı gerçek kan dolaşımı enfeksiyonlarını yansıtmaktadır ve *Candida* üremesi her zaman dikkate alınmalıdır. Bu durumlarda antifungal tedavinin hemen başlanması ve

vasküler kateterin çıkarılması gibi etyolojiyi önleyici girişimlerin uygulanması gerekmektedir (31–33).

2.2.4. Antifungal İlaçlar

Uzun yıllar boyunca amfoterisin B sistemik kullanımı olan tek etkili antifungal olarak kullanılmıştır. Ciddi enfeksiyonlarda oldukça etkili olmasıyla birlikte oldukça toksiktir. Son yıllarda fungal enfeksiyonların tedavisinde görece nontoksik azoller ve ekinokandinlerin kullanımı devrim yaratmıştır. Bu antifungaller daha az toksik ve daha çok hedefe yönelik tedavi imkanı sunmaktadır. Bununla birlikte mikotik enfeksiyon riski olan hastaların sayısının artması, azol ve ekinokandin dirençli organizmaların saptanmaya başlanması tedaviye yeni zorluklar getirmiştir (34).

2.2.4.1. Poliyen antifungaller

2.2.4.1.1. Amfoterisin B

Amfoterisin A ve B *Streptomyces nodosus* tarafından üretilen antifungallerdir. Amfoterisin A'nın klinik kullanımı yoktur (34). Amfoterisin B (ve lipid formulasyonu) antifungal aktivitesini en az iki mekanizmayla gerçekleştiririr. Primer mekanizma mantar hücre membranındaki başlıca sterol olan ergesterole bağlanmasıdır. Bu bağlanma hücre membranında iyon kanallarını açarak intraselüler içeriğin sızması ile osmotik dengenin bozulmasına ve hücre ölümüne sebep olur. Amfoterisin B aynı zamanda memeli hücre membranının ana sterolü olan kolesterole ergosterolden daha düşük bir afiniteyle bağlanır. Diğer bir mekanizma ise amfoterisin B'ye bağlı oksidatif reaksiyon ile direk membran hasarı yapmasıdır (11).

Amfoterisin B hala en geniş spektrumlu antifungaldir; ancak *Candida lusitaniae* ve *Pseudallescheria boydii* intrinsik dirence sahiptir. Kazanılmış direnç, ergosterol bağlanması bozulduğunda gözlenir. Bu ya membrandaki ergosterol konsantrasyonunun ya da hedef moleküle karşı ilacın afinitesinin azalması şeklinde gelişebilir (34).

2.2.4.1.2. Nistatin

Diğer bir poliyen antifungal ajan nistatindir. Sıklıkla topikal formu kullanılmakta olup sistemik kullanımı araştırılma aşamasındadır ve etki mekanizması amfoterisin B ile aynıdır (11).

2.2.4.2. Azoller

Azoller beşgen azol halkasındaki nitrojen atom sayısına göre imidazol ve triazol olarak sınıflandırılan sentetik birleşiklerdir. Etki mekanizması fungal sitokrom P450 enzimini inhibe ederek ergosterol sentezini önlemesidir. Fungal sitokrom P450'ye insanınkinden daha yüksek afiniteyle bağlanarak fungal hücre membranına selektif toksisite yapar. Profilaksi ve tedavide azolun daha sık kullanımının sonucu artan azol direnci bildirilmektedir (34). Fungistatik yapıları nedeniyle azollere karşı direnç daha belirgindir. Azollere karşı direnç farklı yollardan olabilmektedir. Bunlar;

a) Hedef enzim miktar ve yapısındaki değişiklikleri
    i. Lanosterol 14-α-demetilazı kodlayan gendeki (ERG11) nokta mutasyonları, azollere karşı afinitesi azalan değiştirilmiş bir hedefe yol açar.
    ii. ERG11'in aşırı ekspresyonu, hedef enzimin aşırı üretimiyle sonuçlanır, bu da tüm hedef enzim moleküllerini etkisiz hale getirmek için ilacın hücre içinde daha yüksek konsantrasyonlarını gerektirir (11,35).
b) Permeabilitede değişiklik; multidrug eflüks pompalarını kodlayan genlerin up-regülasyonu, antifungal ajanların hücre dışına aktif olarak atılmasına neden olur.
    i. Major fasilatör tipi akış pompası (MDR) kodlayan genlerin up-regülasyonu flukonazol direncine yol açar ve adenozin trifosfat (ATP) bağlayıcı kaset taşıyıcılarını (CDR) kodlayan genlerin up-regülasyonu birden fazla azole karşı dirence yol açar (11,35).

2.2.4.2.1. Ketokonazol

Ketokonazol, ergosterol biyosentezi için gerekli bir öncü olan lanosterol sentezini inhibe eder. Ergosterol, mantar zarının bütünlüğünü korumak için gereklidir. Ergosterol olmadan, zarın akışkanlığı artar, bu da mantar büyümesini önler (36).

2.2.4.2.2. Flukonazol

Triazol türevi antifungaldir. Flukonazol suda çözünür ve BOS'a geçişi mükemmeldir. Ketokonazol ve itrakonazolün aksine oral biyoyararlanımı yüksektir. Ayrıca hepatik mikrozomal enzimleri en az etkileyen azol olduğu için diğer ilaçlarla etkileşimi de daha az sıklıktadır. Hem karaciğer enzimlerini daha az etkilemesi hem de daha iyi gastrointestinal toleransı olduğu için en geniş spektrumlu azoldür ve farklı fungal enfeksiyonlarda daha yüksek dozlarda oral ve intravenöz olarak kullanılabilir (34). *Candida krusei* flukonazole karşı intrensek dirençli olup, *C. glabrata*'nın bazı izolatları da flukonazole karşı doza bağımlı duyarlılık (DBD) ya da direnç göstermektedir. Flukonazol *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., mucormycetes gibi fırsatçı küflere karşı etkili değildir (11).

2.2.4.2.3. İtrakonazol

Triazol türevi antifungaldir. Lipofilik olup kapsül veya solüsyon içinde oral ve intravenöz olarak kullanılır. *Candida* türleri, *C. neoformans, Aspergillus* türleri, dermatofitler, *P. boydii, S. schenckii* ve endemik dimorfik patojen mantarları içine alan geniş bir antifungal etkinliğe sahiptir. İtrakonazolün beyin omurilik sıvısına geçisi zayıftır ancak lipofilik yapısıyla pürülan eksudalara ve yağ dokusuna yüksek konsantrasyonda geçer. İlacın emilimi düşük gastrik pH ve yemekle birlikte alınarak arttırılabilir (11,34).

2.2.4.2.4. Vorikonazol

Vorikonazolün oral ve intravenöz formları vardır. Metabolizması büyük oranda karaciğerde gerçekleşir. Vorikonazolün etki spektrumu itrakonazole benzer, *Candida* spp. (*C. krusei* gibi flukanazole doğal dirençli türler dahil) ve dimorfik mantarlara karşı mükemmel etkinlik gösterir. Vorikonazol, amfoterisin B'ye göre

daha az toksiktir ve invazif aspergillosis ve bazı çevresel küflerde tercih edilen tedavidir (34).

2.2.4.2.5. Posakonazol

Posakonazolün yüksek yağ içeren gıdalarla alındığında emilimi artan oral sıvı formülasyonu vardır. Ayrıca intravenöz ve tablet formları da üretilmeye başlanmıştır. Posakonazol dokulara hızlıca dağılır ve kan seviyesine göre daha yüksek oranda dokularda bulunur. Posakonazol çoğu *Candida* ve *Aspergillus* türleri dahil birçok mantara etkili en geniş spektrumlu azoldür (34).

2.2.4.2.6. İsavukonazol (İsavukonazonyum Sülfat)

İsavukonazonyum sülfat en yeni triazol türevi ön ilaçtır. İsavukonazol antifungal spektrumu posakonazole benzerdir. İnvazif aspergillosis ve invazif mukormikozis tedavisinde kullanılabilir. Klinik çalışmalardan elde edilen ön kanıtlar vorikonazolden daha iyi tolere edildiğini göstermektedir (34).

2.2.4.3. Antimetabolitler

2.2.4.3.1. Flusitozin

Flusitozin kemoterapotik ajan olan 5-Fluorourasil (5-FU) analoğu olan suda çözünebilen bir primidin analoğudur (16). Etki mekanizmasını pirimidin metabolizmasını bozarak, fungal hücrelerdeki DNA, RNA ve protein sentezini engelleyerek gösterir. Flusitozin, sitozin permeaz enzimiyle fungal hücreye girer ve sitoplazmada deamine olarak 5-FU'ya çevrilir. 5-FU; 5-florodeoksiüridin'e dönüşür ve bu da fungal DNA sentezini ve nükleer bölünmeyi sağlayan timidilat sentetazı inhibe eder (11).

Flusitozine direncin alternatif metabolizma oluşturarak oluştuğu düşünülmektedir. Bu durum özellikle monoterapide hızla gelişebilir (34).

2.2.4.4. Alilaminler

2.2.4.4.1. Naftifin, terbinafin

Bu ilaçlar, skualen epoksidaz enzimini inhibe ederek mantar hücre zarı içinde ergosterolde bir azalmaya ve skualende bir artışa neden olurlar (11).

2.2.4.4.2. Griseofulvin

Griseofulvin bir mikrotübül inhibitörüdür. Özellikle dermatofit tedavisinde tercih edilir (37).

2.2.4.5. Ekinokandinler

Ekinokandinler, fungal hücre membranında protein yapıda bir makromolekül olan ve hücre duvarı yapısal bütünlüğünü sağlayan β-1,3-D glukan sentezini inhibe ederek duvar bütünlüğünü, hücre morfolojisini bozar ve fungusidal etki gösterir (38). Ekinokandinlerin moleküler hedefi β-(1-3)-D-glukan sentazın FKS1 alt ünitesidir. Kaspofungin direnci çoğunlukla FKS1 gen mutasyonuyla ilişkilidir (39).

2.2.5. Antifungal Duyarlılık Testleri

Savunma sistemi zayıf olan hasta sayısının artmasıyla birlikte invazif mantar enfeksiyonları artış göstermekte ve antifungallerin daha sık kullanımı gündeme gelmektedir. Tedavide dirençli türlerin ortaya çıkması ve alternatif ilaçların kullanıma girmesi nedeniyle bu hasta grubunda AFDT yöntemlerinin önemi artmıştır (7,40).

İlk kez 1982 yılında Amerika'da Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi (*National Committe for Clinical Laboratory Standards:* NCCLS*),* Antifungal Duyarlılık Deneyleri Alt Komitesi oluşturulmuş; yoğun çalışmalarla on yıl sonra *Candida* türleri ve *C. neoformans* için bazı antifungallere (amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve ketokonazol) karşı in vitro duyarlılığını ölçmeye yönelik standartlaştırılmış bir referans makrodilüsyon yöntemi (M27-P belgesi) geliştirilmiştir. Bu yöntem referans laboratuvarlar için kullanılabilir olmasına rağmen rutin laboratuvarlarda daha kolay uygulanabilen ve daha az zaman alıcı bir yöntem geliştirilmesi amacıyla referans mikrodilüsyon belgesi (M27-T) yayınlanmıştır. Bu raporu takiben, antifungal alt komite tarafından, duyarlılık testlerinin standartlaştırılması sürecine başlanmış ve M-27 dokümanı oluşturulmuştur. Ardından yeni antifungal ilaçların eklenmesiyle hazırlanan M27-A3 rehberi ve ek bilgi dokümanı 2008, M27-S4 2012 ve son olarak M-60 rehberi ise 2017 yılında güncellenerek yayınlanmıştır (41–44).

Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (The Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI) gibi, Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing: EUCAST) in vitro AFDT'nin teknik yönlerini standartlaştırmak ve sınır değerlerini geliştirmek için oluşturulmuştur. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) antifungal duyarlılık testi alt komitesi 1997'de oluşturulup, 2008 yılında hem mayalar hem de küfler için ilk standart duyarlılık testi yayınlanmış, en son 2020 yılında E.Def 10 dökümanı olarak güncellenmiştir (7,45).

2.2.5.1. Dilüsyon temeline dayalı yöntemler

İn vitro duyarlılık testleri, tedaviye in vivo yanıtın tahmin edilebilmesine yardımcı olmak amacı ile tasarlanmıştır. Bu yöntem ile en sık saptanan beş *Candida* türüne karşı ekinokandinler, flukonazol ve vorikonazol için sınır değerler belirlenmiştir. Mayalar için mevcut referans yöntemler; CLSI tarafından standardize edilen SMD (CLSI, M27-A3/M60) ve disk difüzyon yöntemi (CLSI M-44A) ile EUCAST tarafından geliştirilen SMD yöntemidir (EUCAST E Def. 10). Referans mikrodilüsyon yöntemlerinin; sonuç verme süresinin uzun olması ve azoller açısından bazı türler için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) sonuçlarının okunmasında zorluklar olması gibi dezavantajları vardır (45–47).

2.2.5.1.1. Sıvı makrodilüsyon yöntemi

NCCLS tarafından önerilen M27P'ye göre RPMI 1640 ortamı kullanılarak hazırlanıp MOPS ile pH 7.0'ye tamponlanarak 35°C'de 48 saat süreyle inkübasyon ardından görsel olarak değerlendirme yapılır. Bu yöntem zaman alıcı, pahalı ve teknik olarak uygulaması zor olan bir yöntem olup günümüzde kullanılmamaktadır (42,48).

2.2.5.1.2. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi (SMD)

Hem mayalar hem de küfler için SMD yöntemi, bir mantar izolatına karşı bir antifungal ilacın in vitro aktivitesini kantitatif olarak MİK değerlerini saptayan bir yöntemdir. Çeşitli konsantrasyonlarda antifungal ilaç içeren çok kuyucuklu mikrodilüsyon plakları, test organizmalarının standartlaştırılmış bir süspansiyonu ile

inokule edilir. Bu yöntemde mayalar için 35°C'de 24-48 saat, küfler için 48-96 saatlik inkübasyondan sonra MİK belirlenir (46).

2.2.5.1.3. Agar dilüsyon yöntemi

Agar besiyeri hazırlanırken farklı ilaç dilüsyonları ilave edilir. İlaçsız besiyeri üreme kontrolü için hazırlanır. Maya süspansiyonu 0.5 McFarland yoğunluğunda hazırlanır ve her bir besiyerine bu süspansiyondan 1- 3 µl ekim yapılır, 30°C'de 24 saatlik inkübasyon sonrası değerlendirme yapılır. Üremenin inhibe olduğu en düşük ilaç konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenir (49).

2.2.5.2. Difüzyon yöntemleri

2.2.5.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

CLSI M-44A rehberinde belirtildiği gibi *Candida* türlerinde flukonazol ve ekinokandinler için glukoz ve metilen mavisi içeren Mueller Hinton besiyeri kullanılarak yapılan agar bazlı disk difüzyon yöntemi olup, kalitatif sonuçlar 24-48 saat inkübasyondan sonra değerlendirilir. Disk difüzyon yöntemi kullanışlı ve ekonomik olmasına rağmen kullanım alanı sınırlıdır çünkü zon çapı sınır değerleri yalnızca kaspofungin, mikafungin, flukonazol ve vorikonazol için mevcuttur (50).

2.2.5.2.2. Gradiyent test yöntemi

Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi için bir diğer yöntem, ticari olarak temin edilebilen epsilometre testleridir (E-test). Gradyan bazlı şeritlerin kullanımı kolaydır ve glukoz takviye edilmiş RPMI besiyerinde uygulanması önerilmektedir (50).

2.2.5.3. Akımsitometri (Flowcytometry) temeline dayanan yöntemler

Mantar hücreleri, çeşitli konsantrasyonda sulandırılmış antifungal ilaçlara maruz bırakılır ve floresan boya ile boyanarak flow sitometre cihazı ile floresan ölçümü yapılır. Floresandaki değişiklik, antifungal kaynaklı hasarın göstergesi olarak hücre canlılığında değişikliğin sebebi olarak yorumlanır (50).

2.2.5.4. Ticari mikrodilüsyon yöntemleri

2.2.5.4.1. Sensititre YeastOne Colorimetric Plate (Thermo Scientific, USA)

Sensititre YeastOne kolorimetrik antifungal panel, SMD esasına dayalı olarak hazırlanmış ticari bir yöntemdir. YeastOne paneli antifungal ilaçların seri dilüsyonlarını içeren 96 kuyucuklu bir plaktan oluşur. Kuyucuklar kolorimetrik üreme göstergesi olarak alamar mavisi içerir, bu nedenle mantar üremesi ve MİK tayini, tanımlanmış bir üreme miktarından ziyade kuyucuklardaki renk değişikliği esasına dayanır. Plaklar kuru olarak üretilir, oda sıcaklığında yaklaşık 24 aylık bir raf ömrüne sahiptir ve ayrı ayrı paketlenir. Bu özellikleri nedeniyle duyarlılık testinin nadiren yapıldığı bir klinik laboratuvar dahil tüm laboratuvarlar için kullanımı idealdir. Sensititre YeastOne (Thermo Scientific, USA)'nın , CLSI'da belirtilen standart SMD referans yöntemi ile uyumu yüksektir ve *Candida* türlerinin duyarlılığının saptanmasında sıklıkla kullanılan ticari bir yöntemdir (7).

2.2.5.4.2. Vitek-2 yeast susceptibility test (Biomérieux, France)

Klinik olarak anlamlılığı olan *Candida* türleri için MİK değeri belirlemek üzere spektrofotometrik okumalar yapan tam otomatize bir sistemdir. Otomatize Vitek-2 AST YS08 (bioMérieux, France) sistemi sonuç alma zamanını kısaltır, maliyeti düşürür ve kullanımı kolaydır ancak dirençli suşlardaki performansı hakkındaki veriler kısıtlıdır (51). Kartlar, antifungal ilaçların kurutulmuş farklı konsantrasyonlarına sahip kuyucuklar içerir. İzolatlar salin içinde standart bir konsantrasyona ayarlandıktan sonra, ilaç kuyucuklarını rehidrate etmek için kullanılır ve kart bir Vitek-2 kart okuyucu/inkübatöre yerleştirilir. Her kuyucuk içindeki büyüme optik bir tarayıcı ile 36 saate kadar (ortalama 12 ila 14 sa) izlenir ve karttaki her antifungal için yorumlayıcı kategori ile birlikte MİK değeri içeren bir rapor oluşturulur. Bu testin sağladığı otomasyon, yüksek test hacmine sahip klinik mikrobiyoloji laboratuvarları için idealdir. Özel mikoloji eğitimi gerektirmez ve SMD ile karşılaştırılabilir doğru sonuçlar üreten hızlı bir AFDT yöntemidir (7,51).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza, 01.01.2018-31.12.2018 tarihleri arasında İstanbul Kamu Hizmetleri Başkanlığı 2. hizmet bölgesinde bulunan hastanelerin çeşitli kliniklerinden, mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen kan kültürlerinden izole edilen, 127 *Candida* suşu dahil edildi. Her hastaya ait tek bir suş çalışma kapsamına alındı. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi klinik araştırmalar etik kurulu tarafından HNEAH-KAEK/KK/83 karar numarasıyla 24.05.2019 tarihli olarak onaylanmıştır. Rutin koşullarda izolatların tanımlanması matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zaman kütle spektrometresi [MALDI TOF-MS (bio-Mérieux, France)], AFDT ise kolorimetrik mikrodilüsyon testi [Sensititre YeastOne (TREK Diagnostic Systems Inc., USA)] ile Merkez Laboratuvarımızda yapılmıştır. Ayrıca suşlar triptik soy buyyon besiyerine inokule edilerek çalışmanın ikinci aşamasına kadar -70 °C'de saklandı. Çalışma zamanında Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) besiyerine iki kez pasaj yapılarak canlandırılan izolatların SMD referans yöntemi ve Vitek-2 (bio-Mérieux, France) otomatize sistemi ile antifungal duyarlılıkları (AFD) çalışıldı. Bu şekilde üç farklı yöntem ile saptanan MİK değerleri CLSI M27 A3-S4 kriterleri doğrultusunda değerlendirilerek, testlerin hızlı sonuç verme süreleri, uygulanma kolaylığı ve güvenilirlikleri açısından karşılaştırılmaları amaçlanmıştır.

3.1. ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ

3.1.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi (SMD)

Suşların AFDT'leri CLSI M27-A3 kılavuzu önerilerine uygun olarak referans yöntem olan SMD testi ile yapıldı. Tüm suşların amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol, posakonazol, itrakonazol, isavukonazol, mikafungin ve anidulafungin için MİK değerleri belirlendi. Elde edilen MİK değerleri CLSI M27-S4 önerilerine göre değerlendirildi. Kontrol amacıyla *C. krusei* ATCC 6258 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 standart suşları kullanıldı (47).

Yöntemin uygulanması aşağıda belirtilmiştir.

3.1.1.1. RPMI 1640 besiyerinin hazırlanması

3.1.1.1.1. Malzemeler (1 litre RPMI 1640 için)

1. Besiyeri: 10,4 g RPMI 1640, bikarbonatsız, L-glutaminli, pH indikatörlü (Sigma Chemical Co, USA)
2. Tampon tuz: 34,53 g 0,165M MOPS (3-N-morpholino propanesulfonic acid) (Sigma Chemical Co, USA)
3. Distile su: 1000 mL
4. 1 M NaOH
5. pH metre
6. Filtrasyon için gerekli malzeme: 0,22 µm'lik enjektör filtre (Sartorius®, Almanya), 50 mL'lik enjektör, 100'er mL alabilecek steril kapaklı şişeler

3.1.1.1.2. İşlemler

1. Silindirik mezür içine 900 mL distile su konuldu.
2. 10,4 g toz halindeki RPMI 1640 eklendi ve çözülmesi sağlandı.
3. Daha sonra 34,53 g 0,165 M MOPS ile tamponlandı ve manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.
4. Homojen hale gelen besiyerinin pH'sı oda ısısında 1 M NaOH kullanılarak pH 7'ye ayarlandı.
5. Total hacim 1 L olacak şekilde distile su eklenip pH değeri ölçümü tekrarlandı
6. Filtre ile süzme işlemi yapıldı ve besiyeri steril şişelere dağıtıldı.
7. +4°C'de saklandı.

3.1.1.2. Antifungal stok solüsyonlarının hazırlanması

Antifungal etken madde olarak;

- Amfoterisin B (Sigma Chemical Co, USA)
- Flukonazol (Sigma Chemical Co, USA)
- Vorikonazol (Sigma Chemical Co, USA)
- İsavukonazol (TRC, KANADA)
- Mikafungin (TRC, KANADA)

- Anidulafungin (Sigma Chemical Co, USA)
- İtrakonazol (Sigma Chemical Co, USA)
- Posakonazol (Sigma Chemical Co, USA)

ilaçları kullanıldı.

3.1.1.2.1. İşlemler

1. Antifungal ilaç miktarları CLSI M27-A3 kılavuzu önerilerine uygun olarak **Ağırlık (mg)=[Hacim (ml) x Konsantrasyon (µg/ml)] / Potens (µg/mg)** formülüne göre hesaplandı (52).
2. İsavukonazol üretici firma önerileri doğrultusunda metanol ile çözdürülürken, diğer antifungal ilaçlar dimetil sülfoksid [DMSO (Merck, Almanya)] içinde çözdürüldü (CLSI M27-S4) (53).
3. Hazırlanan stok solüsyonlar, herbirinde 1 mL olacak şekilde steril eppendorf tüplere aktarılarak kullanım aşamasına kadar -70 °C'de saklandı.

3.1.1.3. Antifungal dilüsyonlarının ve test plaklarının hazırlanması

Çalışmaya başlamadan önce ilaç stok solüsyonları oda ısısına getirildi ve her biri RPMI besiyeri ile sulandırılarak her ilaç için final konsantrasyonların 2 katı olacak şekilde dilüsyonları hazırlandı. Sonuç olarak 10 farklı dilüsyon ile son konsantrasyon ; amfoterisin B ve itrakonazol için 16-0,03 µg-mL, flukonazol için 32-0,06 µg-mL, vorikonazol, posakonazol, anidulafungin ve mikafungin için 8-0,015 µg-mL, isavukonazol içinde 4-0,008 µg-mL olacak şekilde konsantrasyon aralıkları elde edildi.

Antifungal ilaçların RPMI içinde dilüsyonları 10 adet steril falkon tüpte hazırlandı. Sonra sırasıyla:

a. 1. tüpe amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol, isavukonazol ve mikafungin için 19 mL RPMI eklenirken, her bir stok antifungalden 1 mL eklendi.

b. 2. tüpe 5 mL RPMI ve 1. tüpten 5 mL eklendi.

c. 3. tüpe 15 mL RPMI ve 1. tüpten 5 mL konuldu.

d. 4. tüpe 5 mL RPMI ve 3. tüpten 5 mL ilave edildi.

e. 5. tüpe 7,5 mL RPMI ve 3. tüpten 2,5 mL konuldu.

f. 6. tüpe 17,5 mL RPMI ve 3. tüpten 2,5 mL eklendi.

g. 7. tüpe 5 mL RPMI ve 6. tüpten 5 mL konuldu.

h. 8. tüpe 7,5 mL RPMI ve 6. tüpten 2,5 mL ilave edildi.

i. 9. tüpte 17,5 mL RPMI ve 6. tüpten 2,5 mL konuldu.

j. 10. tüpte 5 mL RPMI ve 9. tüpten 5 mL eklendi.

Bu şekilde hazırlanan 10 adet antifungaldilüsyon, sırasıyla 1-10. kuyucuklara 50'şer µL dağıtıldı. Böylece en yüksek ilaç konsantrasyonu 1. kuyucukta, en düşük ilaç konsantrasyonu 10. kuyucukta oldu. Antifungal konulmayan 11. kuyucuk ile üreme kontrolü, 12. kuyucuk ile besiyeri sterilite kontrolü sağlandı. İnokülum eklenmeyecek mikroplaklar kapakları kapatılarak -70 °C'de saklandı. Çalışma öncesi oda sıcaklığında bekletilerek sıvı hale getirildi.

Çalışma için steril U tabanlı 96 kuyucuklu mikroplaklar kullanıldı. Her bir yatay sıraya en yüksek ilaç konsantrasyonu birinci kuyucukta, en düşük ilaç konsantrasyonu 10. kuyucukta olacak şekilde seri olarak antifungal ilaç dilüsyonlarından 50 µl dağıtıldı. Mikroplakların 11 ve 12. kuyucuğuna ise 100 µl sadece RPMI besiyeri konuldu. Böylece 11. kuyucuk antifungal solüsyonu eklenmeden test edilecek *Candida* türü eklenerek üreme kontrolü olarak kullanılırken, 12. kuyucuk ise sterilite kontrolü olarak kullanıldı. Eğer inokulumlar bu aşamada eklenmeyecek ise mikroplaklar -70°C'de saklanmak üzere kaldırıldı ve çalışma öncesi oda sıcaklığında bir süre bekletildi.

3.1.1.4. Test edilecek suşların hazırlanması

1. Test edilecek suş SDA'ya ekilerek bir gece inkübe edildi.
2. Her suş için bir adet 5 mL steril serum fizyolojik, bir adet 4,75 mL RPMI 1640 ve bir adet 4,90 mL RPMI 1640 içeren tüp hazırlandı.
3. Steril serum fizyolojik içeren tüpte 0,5 McFarland (yaklaşık $1\text{-}5x10^6$ CFU/mL) ile uyumlu maya süspansiyonu hazırlandı.
4. Hazırlanan 0,5 McFarland'a uygun süspansiyondan 250 µL alınıp, ilk olarak 4,75 mL RPMI içeren tüpe konularak 1/20 oranında seyreltildi.
5. Sonra seyreltilmiş karışımın bulunduğu tüpten 100 µL alınıp 4,9 mL RPMI içeren tüpe konularak 1/50 oranında daha seyreltildi.

Son maya süspansiyonu 1/1000 kez seyreltilmiş olup (1-5x10^3 CFU/mL) mikroplağa ekim için kullanıldı.

3.1.1.5. Testin uygulanması ve değerlendirilmesi

1. Dondurulmuş test plakları oda sıcaklığına alınıp eritildi. Plaktaki her sırada ilk 11 kuyucuğa çok kanallı pipet ile 100 µL maya süspansiyonu eklendi. Her suş için iki sıra kuyucuk kullanıldı.
2. 12. kuyucuğa ise maya süspansiyonu eklenmedi (besiyeri sterilite kontrolü).
3. Plakların kapakları kapatılarak 35°C'de inkübasyona alındı.

3.1.1.6. Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin saptanması

Kaspofungin ve mikafungin içeren plakların değerlendirilmesi 24 saat, diğer ilaçların ise 24 ve 48 saat sonra görsel olarak yapıldı. Flukonazol, vorikonazol, posakonazol, itrakonazol, isavukonazol, anidulafungin ve mikafungin için çıplak gözle değerlendirilmiş, kontrol kuyucuğuna göre üremenin %50, amfoterisin B için ise %100 inhibe edildiği kuyucuk minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri olarak belirlendi(7,47,54).

CLSI rehberinde çalışılan her antifungal için türe özgü klinik sınır değerleri (KSD) belirtilmediğinden, MİK değerlerinin yorumunda epidemiyolojik eşik değerlerden (EED) yararlanılmıştır. Bu şekilde suşların vahşi tip ile vahşi olmayan tip olarak ayırımı yapılmış ve tedaviye daha az yanıt verecek izolatların tanımlanması sağlanmıştır (43,53). Tablo 1'de antifungal ilaçların Candida türleri için belirlenmiş epidemiyolojik eşik ve klinik sınır değerleri verilmiştir.

3.1.2. Sensititre YeastOne(TREK Diagnostic Systems Inc., USA)

3.1.2.1. Testin yapılışı

Sensititre YeastOne (TREK Diagnostic Systems Inc., USA), mikrodilüsyon esasına göre antifungal ilaç duyarlılıklarının saptandığı kromojenik bir yöntemdir. Bu yöntemde bir plakta dokuz antifungal ilacın seri dilüsyonlarını liyofilize şekilde içeren 96 kuyucuktan oluşmaktadır. Çalışma üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmış olup, SDA besiyerinde üremiş Candida kolonilerinden alınarak, kit içerisindeki distile su içeren tüplerde 0.5 McFarland (1-5x10^6 hücre/ml)

Tablo 1: CLSI Önerilerine Göre Antifungal İlaçların *Candida* Türleri İçin Belirlenmiş Epidemiyolojik Eşik ve Klinik Direnç Sınır Değerleri

Organizma	Antifungal Ajan	EED[1](µg/ml)		KSD[1](µg/ml)			
		WT[1]	Non WT[1]	S[1]	SDD[1]	I[1]	R[1]
C.albicans	Amfoterisin B	≤2	>2				
	Flusitozin	≤0.5	>0.5				
	Flukonazol	≤0.5	>0.5	≤2	4		≥8
	İtrakonazol	≤0.12	>0.12	≤0.12	0.25-0.5		≥1
	Posakonazol	≤0.06	>0.06				
	Vorikonazol	≤0.03	>0.03	≤0.12		0.25-0.5	≥1
	Anidulafungin	≤0.12	>0.12	≤0.25		0.5	≥1
	Kaspofungin	≤0.12	>0.12	≤0.25		0.5	≥1
	Mikafungin	≤0.03	>0.03	≤0.25		0.5	≥1
C.parapsilosis	Amfoterisin B	≤2	>2				
	Flusitozin	≤0.5	>0.5				
	Flukonazol	≤2	>2	≤2	4		≥8
	İtrakonazol	≤0.5	>0.5				
	Posakonazol	≤0.12	>0.12				
	Vorikonazol	≤0.06	>0.06	≤0.12		0.25-0.5	≥1
	Anidulafungin	≤0.12	>0.12	≤2		4	≥8
	Kaspofungin	≤0.12	>0.12	≤2		4	≥8
	Mikafungin	≤0.12	>0.12	≤2		4	≥8
C.glabrata	Amfoterisin B	≤2	>2				
	Flusitozin	≤0.5	>0.5				
	Flukonazol	≤32	>32		≤32		≥64
	İtrakonazol	≤2	>2				
	Posakonazol	≤2	>2				
	Vorikonazol	≤0.5	>0.5				
	Anidulafungin	≤0.25	>0.25	≤0.12		0.25	≥0.5
	Kaspofungin	≤0.12	>0.12	≤0.12		0.25	≥0.5
	Mikafungin	≤0.03	>0.03	≤0.06		0.12	≥0.25
C.tropicalis	Amfoterisin B	≤2	>2				
	Flusitozin	≤0.5	>5				
	Flukonazol	≤2	>2	≤2	4		≥8
	İtrakonazol	≤0.5	>0.5				
	Posakonazol	≤0.12	>0.12				
	Vorikonazol	≤0.06	>0.06	≤0.12		0.25-0.5	≥1
	Anidulafungin	≤0.12	>0.12	≤0.25		0.5	≥1
	Kaspofungin	≤0.12	>0.12	≤0.25		0.5	≥1
	Mikafungin	≤0.12	>0.12	≤0.25		0.5	≥1
C.krusei	Amfoterisin B	≤2	>2				
	Flusitozin	≤32	>32				
	Flukonazol	≤64	>64				
	İtrakonazol	≤1	>1				
	Posakonazol	≤0.5	>0.5				
	Vorikonazol	≤0.5	>0.5	≤0.5		1	≥2
	Anidulafungin	≤0.12	>0.12	≤0.25		0.5	≥1
	Kaspofungin	≤0.25	>0.25	≤0.25		0.5	≥1
	Mikafungin	≤0.12	>0.12	≤0.25		0.5	≥1

[1] WT: Vahşi tip (Wild type), non WT: Vahşi tip olmayan, S: Duyarlı, SDD: Doza bağlı duyarlı, I: Orta dirençli, R: Dirençli, EED: Epidemiyolojik eşik değer, KSD: Klinik sınır değer

yoğunluğunda süspansiyon hazırlandıktan sonra vortekslenerek homojen hale getirilmiştir. Bu süspansiyondan 20 µl alınıp yine kit içerisinde bulunan 11 ml'lik YeastOne Broth'a aktarılarak ve homojen hale getirmek için vortekslenmiştir.

Liyofilize halde antifungal ilaçları içeren Sensititre YeastOne mikroplağının her bir kuyucuğuna 100 µl bu süspansiyondan eklenmiştir. Plağın üzeri buharlaşmayı engellemek amacıyla steril bantla kapatılarak 35ºC'de 24 saat inkübe edilmiştir.

3.1.2.2. Testin değerlendirilmesi

Kuyucuklar indikatör olarak alamar mavisi boyası içermekte olup, değerlendirme renk değişimine göre çıplak gözle yapıldı. Buna göre; pembe renk üreme, mor renk kısmi inhibisyon ve mavi renk varlığı üremenin olmadığı yönünde kabul edilmiştir. İnkübasyon sonunda pozitif kontrol kuyucuğunun renginde maviden pembeye dönüşüm olmuş ise mikroplak değerlendirilmeye alınmıştır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda üremenin olmadığı veya kısmi inhibisyonun gözlendiği ilk kuyucuk MİK olarak değerlendirildi [SensititreYeastOne (TREK Diagnostic Systems Inc.,USA)].

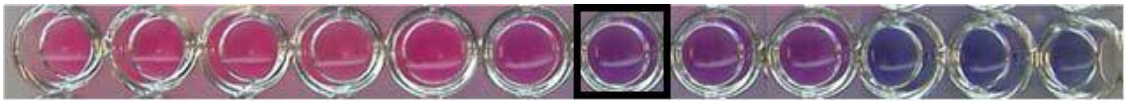
Antifungal ilaçlara göre MİK değerlendirilmesi farklılık göstermekte olup değerlendirme şu şekilde yapıldı.

Amfoterisin B ve ekinokandinler için; üreme kontrolüne göre belirgin renk değişikliğinin (mavi) olduğu ilk kuyucuk MİK olarak belirlenirken (Şekil 1), azollerde ise üreme kontrolüne göre daha az yoğun renk değişikliği (mor) gösteren ilk kuyucuk MİK değeri olarak kabul edildi (Şekil:2).

Şekil 1: Sensititre YeastOne Amfoterisin B ve Ekinokandinler için MİK Değerlendirmesi



Şekil 2 :Sensititre YeastOne Azol Grubu Antifungaller için MİK Değerlendirmesi



3.1.3. Vitek-2 Yeast Susceptibility Test (Biomérieux, France)

Vitek-2 maya duyarlılık testi (BioMérieux, France) olarak adlandırılan bu sistem, maya üremesini spektrofotometrik olarak değerlendirerek MİK belirleyen tam otomatize ticari bir sistemdir. Bu sistemde; amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol, flusitozin, mikafungin ve kaspofungin'den oluşan antifungal ilaçlar için mikrodilüsyon esasına dayanarak MİK değerleri belirlenmektedir. Değerlendirme optik okuyucu ile mayanın üreme oranına göre AFD sonucunun ölçülmesi ve software programı ile yapılır.

3.1.3.1. Testin yapılışı

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda 2.0 McFarland yoğunluğunda hazırlanan maya süspansiyonu, Vitek-2 maya duyarlılık kartlarına inoküle edilerek cihaza yerleştirilmiştir. Ortalama 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda MİK değerlendirilmesi cihaz tarafından otomatik olarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.4. Veri Analizi

Veri analizi, Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (ADT) için 2018 yılında güncelliğini koruduğu yayınlanan 2009 FDA klavuzuna göre yapılmıştır. Buna göre ADT'de, Esansiyel uyum (EU), kategorik uyum (KU), çok büyük hata (ÇBH), büyük hata (BH) ve küçük hata (KH) aşağıdaki formüller ve tanımlamalar kullanılarak hesaplanmıştır (55).

Kategori uyumunun belirlenmesinde, her yöntem için KSD olduğu zaman KSD'den, olmadığı zaman EED'lerinden (Tablo 1) yararlanılmıştır.

KU: Değerlendirilen yöntem ve CLSI SMD referans yönteminin duyarlı, orta duyarlı, dirençli kategorik sonuçları arasındaki uyum oranıdır.

$$\text{KU} = \frac{\text{Referans yöntemle kategorik uyumlu olanlar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \text{x}100$$

EU: Değerlendirilen yöntem ve CLSI SMD referans yönteme göre MİK değerlerinin ±2 dilüsyon aralığında bulunması

$$EU = \frac{\text{Referans yöntemle tam uyumlu ya da} \mp 2 \text{ dilüsyon içinde uyumlu olanlar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \text{x}100$$

BH: CLSI SMD referans yönteme göre kategorik sonucu duyarlı, test edilen yöntemin sonucu dirençli ise büyük hata denir.

$$\text{BH} = \frac{\text{Kategorik uyuma dayalı büyük hatalar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \text{x100}$$

KH: CLSI SMD referans kategorik sonucu dirençli veya duyarlı, test edilen yöntemin sonucu orta duyarlıysa veya tam tersi CLSI SMD referans kategorik sonucu orta duyarlı, yeni yöntem sonucu dirençli veya duyarlıysa küçük hatadır.

$$KH = \frac{\text{Kategorik uyuma dayalı küçük hatalar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \text{x100}$$

ÇBH: CLSI referans kategorik sonucu dirençli ve test edilen yöntem sonucu duyarlıysa çok büyük hatadır.

$$\text{ÇBH} = \frac{\text{Kategorik uyuma dayalıçok büyük hatalar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \text{x100}$$

Mod: Bir yöntem içinde en sık tekrarlayan MIC sonucudur.

Uyum ve hata oranları FDA kriterlerine göre değerlendirilmiş olup EU ve KU > %89.9 ve BH ve ÇBH <%3 olduğu zaman kabul edilebilir yöntem olarak değerlendirilmiştir (55).

Tüm yöntemlerin karşılaştırılmasında, 24 saatlik inkübasyon sonunda değerlendirme yapılırken, *Candida glabrata* izolatları için hem 24. saatte hem de 48. saatte yapılmıştır. YeastOne ve Vitek-2'nin MİK değerleri ise üreticinin önerileri doğrultusunda 18-24. saatte belirlenmiştir.

Antifungal ilaçlara karşı elde edilen MİK_{50}, MİK_{90} değerleri ve MİK aralıkları Tablo 2'de gösterilmiştir. Esansiyel uyum analizini kolaylaştırmak amacıyla, MİK değerlerinin belirlenebilmesi için büyük (>), ya da küçük (<) olarak saptadığımız MİK değerleri bir üst ya da bir alt kesin MİK değerine yuvarlanmıştır. Klinik sınır değerleri bilinen türlerde bu değerlere göre duyarlı (S), orta duyarlı (I), doza bağlı duyarlı (SDD) ve dirençli (R) olarak değerlendirme yapılırken; bu değerlerin belirlenmediği türlerde EED'ye göre vahşi tip ve vahşi olmayan tip olarak değerlendirme yapılmıştır. Tablo 1'de CLSI KSD ve EED değerleri verilmiştir.

İzolatların amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve mikafungine karşı duyarlılık profilleri YeastOne, Vitek-2 yöntemleri ve altın standart SMD yöntemi ile çalışılmış sonuçlar CLSI M27-A3/S4'e göre değerlendirilerek kıyaslanması yapılmıştır (47,53). İtrakonazol, posakonazol, anidulofungine karşı duyarlılık

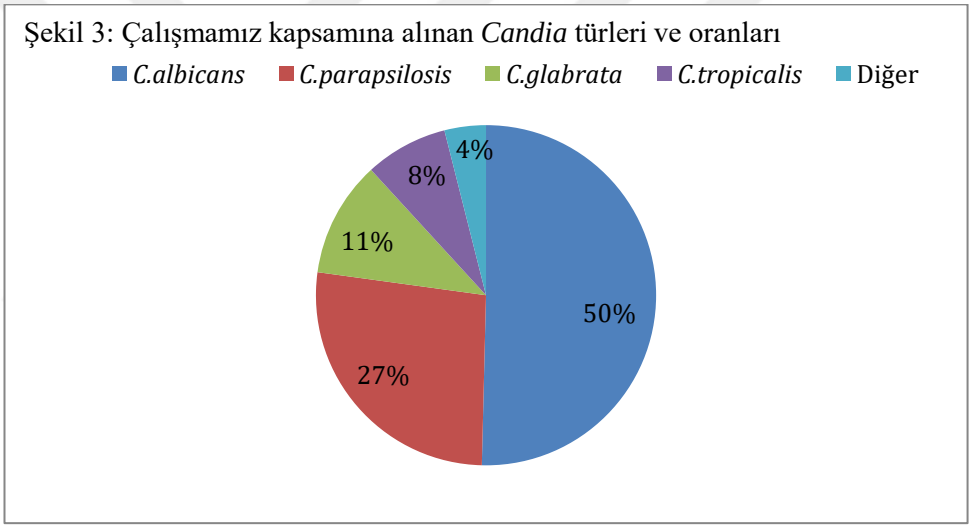
profilleri YeastOne ve SMD ile çalışılmış sonuçlar CLSI M 27-A3/S4'e göre değerlendirilerek kıyaslanması yapılmıştır. Kaspofungin ve flusitozine karşı duyarlılık profilleri ise YeastOne ve Vitek-2 sistemleri ile çalışılmış ve isavukonazole karşı duyarlılık sadece SMD yöntemi ile çalışılmış ve MİK değerleri saptanmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamızdaki izolatların 64'ü *C. albicans*, 34'ü *C. parapsilosis*, 14'ü *C. glabrata*, 10'u *C. tropicalis* ve beşi diğer türler (*C. dubliensis, C. kefyr* ve *C. lusitania)* olarak tanımlanmıştır. Üreyen mikroorganizmalar ve oranları şekil 3'te gösterilmiştir.

CLSI M27A3/S4 kriterlerine göre *Candida* türlerinin antifungallere karşı duyarlılık durumları oluşturulmuştur. Tablo 2 de MİK aralıkları $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri gösterilmiştir. Amfoterisin B için belirlenmiş KSD bulunmamakla birlikte çalışmamızda EED göz önünde bulundurulduğunda 125 izolatın tamamı (*Candida kefyr* için EED bulunmamaktadır) her üç yöntemle de vahşi tip olarak değerlendirilmiştir.

Şekil 3: Çalışmamız kapsamına alınan *Candia* türleri ve oranları



Her üç yöntemle flukonazol için biri intrensek dirençli *C. krusei* ve üçü *C. parapsilosis* olmak üzere toplam dört izolat dirençli, 14 *C. glabrata* suşunun tamamı doza bağlı duyarlı ve diğer izolatlar duyarlı olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda vorikonazol için yapılan değerlendirmede her üç yöntemle de üç tane *C. parapsilosis* izolatı orta duyarlı bulunmuştur, bununla birlikte bir tane *C. dubliniensis*, iki tane *C. kefyr* ve bir tane *C. lusitaniae* suşu Vitek-2 yöntemi ile vahşi olmayan tip olarak saptanmıştır.

İtrakonazol için sadece *C. albicans*'ta KSD belirlenmiştir. Diğer türlerde EED'ye göre değerlendirme yapılmıştır. Yapılan değerlendirmede *C. albicans* için bir izolatta 48. saat MİK değeri orta duyarlı olarak saptanmış olup bunun dışındaki

tüm suşlar duyarlı ya da vahşi tip olarak saptanmıştır. *Candida kefyr* için KSD ya da EED bulunmadığı için değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Kaspofungin SMD yöntemi ile çalışılmamıştır. Bununla birlikte YeastOne ve Vitek-2 sonuçları değerlendirildiğinde; YeastOne ile bir *C. kefyr* izolatı vahşi olmayan tip olarak saptanırken, Vitek-2 ile iki *C. kefyr* izolatı da vahşi olmayan tip olarak değerlendirilmiştir.

Anidulafungin için SMD ve YeastOne yöntemleri ile tüm suşlar duyarlı ya da vahşi tip olarak değerlendirildi. Mikafungin için her üç yöntemle de tüm izolatlar duyarlı ya da vahşi tip olarak değerlendirildi.

Tablo 2: Antifungal ilaçlara karşı üç farklı AFDT ile elde edilen $MİK_{50}$, $MİK_{90}$ değerleri ve MİK aralıkları

Türler	Antifungaller	Yöntemler	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	MİK Aralığı(µg/ml)
	Amfoterisin B	SMD 24	0.06	0.25	<0.03-0.5
		YeastOne	0.5	1	0.25-1
		Vitek 2	0.06	0.25	≤0.25-1
	Flusitozin	YeastOne	0.06	0.06	0.06
		Vitek 2	≤1	≤1	≤1
	Flukonazol	SMD 24	0.12	0.5	0.06-1
		YeastOne	0.25	0.5	0.12-2
		Vitek 2	≤0.5	≤0.5	≤0.5-1
C. albicans	İtrakonazol	SMD 24	0.03	0.06	0.03-0.06
n=64		YeastOne	0.015	0.03	0.015-0.06
	Posakonazol	SMD 24	0.015	0.03	0.015-0.06
		YeastOne	0.008	0.015	0.008-0.12
	Vorikonazol	SMD 24	0.015	0.03	0.015-0.12
		YeastOne	0.008	0.015	0.008-0.03
		Vitek 2	≤0.12	≤0.12	≤0.12
	İsavukonazol	SMD 24	0.008	0.015	0.008-0.12
	Anidulafungin	SMD 24	0.008	0.03	<0.008-0.12
		YeastOne	0.03	0.06	0.015-0.12
	Kaspofungin	YeastOne	0.03	0.06	0.03-0.12
		Vitek 2	0.12	0.25	0.12-0.25
	Mikafungin	SMD 24	0.015	0.015	0.015-0.06
		YeastOne	0.008	0.015	0.008-0.03
		Vitek 2	0.06	0.06	0.06-0.5
	Amfoterisin B	SMD 24	0.12	0.25	0.03-0.05
		YeastOne	0.25	0.5	0.12-1
		Vitek 2	0.5	0.5	0.25-2
	Flusitozin	YeastOne	0.06	0.06	0.06-0.25
		Vitek 2	1	1	1
	Flukonazol	SMD 24	0.5	1	0.12-8
		YeastOne	0.5	1	0.12-32
		Vitek 2	0.5	5	0.5-32
C.parapsilosis	İtrakonazol	SMD 24	0.03	0.12	0.03-0.25
n=34		YeastOne	0.015	0.06	0.015-0.12
	Posakonazol	SMD 24	0.015	0.03	0.015-0.06
		YeastOne	0.015	0.03	0.008-0.06
	Vorikonazol	SMD 24	0.03	0.12	0.015-0.25
		YeastOne	0.008	0.015	0.008-0.5
		Vitek 2	0.12	0.12	0.12-0.5
	İsavukonazol	SMD 24	0.008	0.12	0.008-0.25
	Anidulafungin	SMD 24	0.5	1	0.06-1
		YeastOne	1	1	0.03-2
	Kaspofungin	YeastOne	0.5	0.5	0.12-1
		Vitek 2	0.5	0.5	0.12-2
	Mikafungin	SMD 24	1	1	0.12-1
		YeastOne	0.5	1	0.25-1
		Vitek 2	0.5	1	0.12-1

Tablo 2: Antifungal ilaçlara karşı üç farklı AFDT ile elde edilen $MİK_{50}$, $MİK_{90}$ değerleri ve MİK aralıkları (Devamı)

Türler	Antifungaller	Yöntemler	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	MİK Aralığı (µg/ml)
	Amfoterisin B	SMD 24	0.12	0.5	0.06-0.5
		SMD 48	0.25	0.5	0.12-0.5
		YeastOne	0.5	1	0.25-1
		Vitek 2	0.5	0.5	0.25-1
	Flusitozin	YeastOne	0.06	0.06	0.06
		Vitek 2	≤1	≤1	≤1
	Flukonazol	SMD 24	0.5	2	0.25-2
		SMD 48	0.5	4	0.5-4
		YeastOne	4	8	1−8
		Vitek 2	4	8	≤1-16
	İtrakonazol	SMD 24	0.12	0.25	0.03-0.5
C.glabrata		SMD 48	0.12	0.25	0.06-0.5
n=14		YeastOne	0.25	0.5	0.06-0.5
	Posakonazol	SMD 24	0.06	0.5	0.015-1
		SMD 48	0.06	0.5	0.015-1
		YeastOne	0.25	0.5	0.008-1
	Vorikonazol	SMD 24	0.03	0.12	0.015-0.12
		SMD 48	0.06	0.12	0.015-0.12
		YeastOne	0.12	0.25	0.03-0.25
		Vitek 2	0.25	0.25	0.12-0.25
	İsavukonazol	SMD 24	0.008	0.03	0.008-0.03
		SMD 48	0.008	0.06	0.008-0.12
	Anidulafungin	SMD 24	0.015	0.03	<0.008-0.06
		YeastOne	0.03	0.03	0.015-0.03
	Kaspofungin	YeastOne	0.06	0.06	0.015-0.12
		Vitek 2	0.12	0.12	0.12
	Mikafungin	SMD 24	0.015	0.03	<0.015-0.06
		YeastOne	0.008	0.03	0.008-0.03
		Vitek 2	0.06	0.06	0.06
	Amfoterisin B	SMD 24	0.25	0.5	0.06-0.5
		YeastOne	0.5	1	0.12-1
		Vitek 2	0.25	0.5	0.25-0.5
	Flusitozin	YeastOne	0.06	0.06	0.06-0.12
		Vitek 2	1	1	1
	Flukonazol	SMD 24	0.5	1	0.25-2
		YeastOne	1	2	1−2
		Vitek 2	1	2	0.5-2
C.tropicalis	İtrakonazol	SMD 24	0.06	0.12	0.03-0.12
n=10		YeastOne	0.12	0.25	0.015-0.25
	Posakonazol	SMD 24	0.03	0.03	0.015-0.03
		YeastOne	0.25	0.25	0.008-0.25
	Vorikonazol	SMD 24	0.06	0.12	0.03-0.12
		YeastOne	0.06	0.12	0.008-0.12
		Vitek 2	0.12	0.12	0.12
	İsavukonazol	SMD 24	0.015	0.06	0.008-0.06
		SMD 48	0.03	0.06	0.015-0.06
	Anidulafungin	SMD 24	0.015	0.03	0.008-0.03
		YeastOne	0.03	0.12	0.015-0.12
	Kaspofungin	YeastOne	0.03	0.12	0.015-0.25
		Vitek 2	0.12	0.25	0.12-0.25
	Mikafungin	SMD 24	0.03	0.06	0.015-0.06
		YeastOne	0.015	0.03	0.015-0.03
		Vitek 2	0.06	0.06	0.06

Türler	Antifungaller	Yöntemler	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	MİK Aralığı (µg/ml)
	Amfoterisin B	SMD 24	0.12	0.25	<0.03-0.5
		YeastOne	0.5	1	0.12-1
		Vitek 2	0.5	1	≤0.25-2
	Flusitozin	YeastOne	0.06	0.06	0.06-8
		Vitek 2	≤1	≤1	≤1−8
	Flukonazol	SMD 24	0.25	1	0.06-8
		YeastOne	0.5	4	0.12-32
		Vitek 2	≤0.5	4	≤0.5-8
Toplam n=127	İtrakonazol	SMD 24	0.03	0.12	0.03-0.5
		YeastOne	0.015	0.25	0.015-0.5
	Posakonazol	SMD 24	0.015	0.03	0.015-1
		YeastOne	0.015	0.25	0.008-1
	Vorikonazol	SMD 24	0.015	0.06	0.015-0.25
		YeastOne	0.008	0.12	0.008-0.25
		Vitek 2	≤0.12	≤0.12	≤0.12-0.5
	İsavukonazol	SMD 24	0.008	0.03	0.008-0.25
	Anidulafungin	SMD 24	0.015	0.5	<0.008-1
		YeastOne	0.03	1	0.015-2
	Kaspofungin	YeastOne	0.03	0.5	0.008-1
		Vitek 2	≤0.12	0.5	≤0.12-2
	Mikafungin	SMD 24	0.015	1	0.015-1
		YeastOne	0.015	0.5	0.008-1
		Vitek 2	≤0.06	0.5	≤0.06-1

Tür bazında MİK aralıkları, mod hesaplaması, ±2 dilüsyon oranına göre EU ve KSD'ye göre bu değerler belirlenmemişse EED'ye göre saptanan KU tablo-3'te gösterilmiştir. Hata oranları FDA klavuzuna göre hesaplanmış olup tablo 4'te gösterilmiştir.

Kategorik uyum değerlendirilmesinde tüm antifungallerin tüm izolatlar için KU'su genelde %100 olarak saptanmıştır; ancak *C. tropicalis'*te posakonazol için %80 ve diğer az sayıda üreyen türleri de içeren toplam değerlendirmede KU posakonazol için %97.6 ve vorikonazol için %96.9 olarak saptanmıştır.

Posakonazol için EED'ye göre yapılan değerlendirmede bir *C.albicans* suşu ve iki *C. tropicalis* suşu YeastOne ile vahşi olmayan tip olarak değerlendirilirken, SMD yöntemiyle 24. saatte tüm izolatlar vahşi tip olarak değerlendirilmiştir. Kırk sekizinci saatte ise YeastOne yönteminde vahşi olmayan tip olarak saptanan *C. albicans*'tan farklı bir albicans vahşi olmayan tip olarak değerlendirilmiştir. Vorikonazol için yapılan değerlendirmede her üç yöntemle de üç tane *C.parapsilosis* izolatı orta duyarlı saptanmıştır, bununla birlikte bir tane *C.dubliniensis*, iki tane *C.kefyr* ve bir tane *C.lusitaniae* suşu Vitek-2 yöntemi ile vahşi olmayan tip olarak saptanmıştır.

Tablo 3: *Candida albicans'*ın Antifungal İlaçlara Karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Türler	Antifungal ilaçlar	Yöntem	MİK (µg/ml)		EU[4] (%)	Kategoriye göre izolat n (%)			
			Aralık	Mod		S/WT[1]	SDD/I[2]	R/non-WT[3]	KU[5] (%)
	Amfoterisin B	SMD 24	<0.03-0.5	0.03		64(100)			
		YeastOne	0.25-1	0.25	34	64(100)			100
		Vitek-2	≤0.25-1	0.5	23	64(100)			100
	Flusitozin	YeastOne	0.06	0.06		64(100)			
		Vitek-2	≤1	≤1				64(100)	
	Flukonazol	SMD 24	0.06-1	0.12		64(100)			
		YeastOne	0.12-2	0.25	96.8	64(100)			100
		Vitek-2	≤0.5-1	0.5	85.9	64(100)			100
C. albicans	İtrakonazol	SMD 24	0.03-0.06	0.03		64(100)			
n=64		YeastOne	0.015-0.06	0.015	100	64(100)			100
	Posakonazol	SMD 24	0.015-0.06	0.015		64(100)			
		YeastOne	0.008-0.12	0.008	98.4	63(98.4)		1(1.6)	98.4
	Vorikonazol	SMD 24	0.015-0.12	0.015		64(100)			
		YeastOne	0.008-0.03	0.008	98.4	64(100)			100
		Vitek-2	≤0.12	≤0.12	17.1	64(100)			100
	İsavukonazol	SMD 24	0.008-0.12	0.008					
		SMD 48	0.008-0.12	0.015					
	Anidulafungin	SMD 24	<0.008-0.12	0.008					
		YeastOne	0.015-0.12	0.015	95.3	64(100)			100
	Kaspofungin	YeastOne	0.08-0.12	0.03					
		Vitek-2	0.12-0.25	0.12					
	Mikafungin	SMD 24	0.015-0.06	0.015					
		YeastOne	0.008-0.03	0.008	100	64(100)			100
		Vitek-2	0.06-0.5	0.06	98.4	64(100)			100

[1]S: Duyarlı; WT: Vahşi tip (wild type) [2] SSD: Doza bağlı duyarlı; I: Orta dirençli (Intermediate) [3] R: Dirençli; non-WT: vahşi tip (wild type) olmayan
[4]EU: Esansiyel uyum; [5]KU: Kategorik uyum

Tablo 4: *Candida parapsilosis*'in Antifungal İlaçlara Karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Türler	**Antifungal ilaçlar**	**Yöntem**	**MİK (µg/ml)**		**EU[4] (%)**	**Kategoriye göre izolat n (%)**			
			Aralık	**Mod**		**S/WT[1]**	**SDD/I[2]**	**R/non-WT[3]**	**KU[5] (%)**
	Amfoterisin B	SMD 24	0.03-0.5	0.12		34(100)			
		YeastOne	0.12-1	0.25	73.5-97	34(100)			100
		Vitek-2	0.25-2	0.5	73.5-97	34(100)			100
	Flusitozin	YeastOne	0.06-0.25	0.06		34(100)			
		Vitek-2	1	1				34(100)	
	Flukonazol	SMD 24	0.12-8	0.5		31(91.2)		3(8.8)	
		YeastOne	0.12-32	0.5	100-100	31(91.2)		3(8.8)	100
		Vitek-2	0.5-32	0.5	97-97	31(91.2)		3(8.8)	100
C. parapsilosis **n=34**	İtrakonazol	SMD 24	0.03-0.25	0.03		34(100)			
		YeastOne	0.015-0.12	0.015	94.1-91.1	34(100)			100
	Posakonazol	SMD 24	0.015-0.06	0.015		34(100)			
		YeastOne	0.008-0.06	0.008	100-97	34(100)			100
	Vorikonazol	SMD 24	0.015-0.25	0.03		31(91.2)	3(8.8)		
		YeastOne	0.008-0.5	0.008	91-85.2	31(91.2)	3(8.8)		100
		Vitek-2	0.12-0.5	0.12	73.5-76.4	31(91.2)	3(8.8)		100
	İsavukonazol	SMD 24	0.008-0.25	0.008					
		SMD 48	0.008-0.25	0.015					
	Anidulafungin	SMD 24	0.06-1	0.5		34(100)			
		YeastOne	0.03-2	1	94.1	34(100)			100
	Kaspofungin	YeastOne	0.12-1	0.5		34(100)			
		Vitek-2	0.12-2	0.5		34(100)			
	Mikafungin	SMD 24	0.12-1	1		34(100)			
		YeastOne	0.25-1	0.5	92.8	34(100)			100
		Vitek-2	0.12-1	0.5	100	34(100)			100

[1]S: Duyarlı; WT: Vahşi tip (wild type) [2] SSD: Doza bağlı duyarlı; I: Orta dirençli (Intermediate) [3] R: Dirençli; non-WT: vahşi tip (wild type) olmayan
[4]EU: Esansiyel uyum; [5]KU: Kategorik uyum

Tablo 5: *Candida glabrata'*nın Antifungal İlaçlara Karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Türler	**Antifungal ilaçlar**	**Yöntem**	**MİK (µg/ml)**		**EU[4] (%)**	**Kategoriye göre izolat n (%)**			
			Aralık	**Mod**		**S/WT[1]**	**SDD/I[2]**	**R/non-WT[3]**	**KU[5] (%)**
	Amfoterisin B	SMD 24	0.06-0.5	0.12		14(100)			
		SMD 48	0.12-0.5	0.5		14(100)			
		YeastOne	0.25-1	0.5	64.2-100	14(100)			100
		Vitek-2	0.25-1	0.5	78.5-100	14(100)			100
	Flusitozin	YeastOne	0.06	0.06		14(100)			
		Vitek-2	≤1	≤1				14(100)	
	Flukonazol	SMD 24	0.25-2	0.5			14(100)		
		SMD 48	0.5-4	0.5			14(100)		
		YeastOne	1−8	4	50-57.1		14(100)		100
		Vitek-2	≤1-16	4	28.5-57.1		14(100)		100
	İtrakonazol	SMD 24	0.03-0.5	0.06		14(100)			
C.glabrata		SMD 48	0.06-0.5	0.12		14(100)			
n=14		YeastOne	0.06-0.5	0.25	92.8-100	14(100)			100
	Posakonazol	SMD 24	0.015-1	0.015		14(100)			
		SMD 48	0.015-1	0.06		14(100)			
		YeastOne	0.008-1	0.25	57.1-64.2	14(100)			100
	Vorikonazol	SMD 24	0.015-0.12	0.015		14(100)			
		SMD 48	0.015-012	0.06		14(100)			
		YeastOne	0.03-0.25	0.25	71.4-85.7	14(100)			100
		Vitek-2	0.12-0.25	0.25	57.1-85.7	14(100)			100
	İsavukonazol	SMD 24	0.008-0.03	0.008					
		SMD 48	0.008-0.12	0.015					
	Anidulafungin	SMD 24	0.008-0.06	0.015		14(100)			
		YeastOne	0.015-0.03	0.03	100	14(100)			100
	Kaspofungin	YeastOne	0.015-0.12	0.06		14(100)			
		Vitek-2	0.12	0.12		14(100)			
	Mikafungin	SMD 24	<0.015-0.06	0.015		14(100)			
		YeastOne	0.008-0.03	0.008	92.8	14(100)			100
		Vitek-2	0.06	0.06	100	14(100)			100

[1]S: Duyarlı; WT: Vahşi tip (wild type) [2] SSD: Doza bağlı duyarlı; I: Orta dirençli (Intermediate) [3] R: Dirençli; non-WT: vahşi tip (wild type) olmayan
[4]EU: Esansiyel uyum; [5]KU: Kategorik uyum

Tablo 6: *Candida tropicalis*'in Antifungal İlaçlara Karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Türler	**Antifungal ilaçlar**	**Yöntem**	**MİK (µg/ml)**			**Kategoriye göre izolat n (%)**			
			Aralık	**Mod**	**EU[4] (%)**	**S/WT[1]**	**SDD/I[2]**	**R/non-WT[3]**	**KU[5] (%)**
	Amfoterisin B	SMD 24	0.06-0.5	0.25		10(100)			
		YeastOne	0.12-1	0.5	90	10(100)			100
		Vitek-2	0.25-0.5	0.25	100	10(100)			100
	Flusitozin	YeastOne	0.06-00.12	0.06		10(100)			
		Vitek-2	1	1				10(100)	
	Flukonazol	SMD 24	0.25-2	0.5		10(100)			
		YeastOne	1−2	1	90	10(100)			100
		Vitek-2	0.5-2	1	90	10(100)			100
C.tropicalis	İtrakonazol	SMD 24	0.03-0.12	0.06		10(100)			
n=10		YeastOne	0.015-0.25	0.12	100	10(100)			100
	Posakonazol	SMD 24	0.015-0.03	0.03		10(100)			
		YeastOne	0.008-0.25	0.015	80	8(80)		2(20)	80
	Vorikonazol	SMD 24	0.03-0.12	0.12		10(100)			
		YeastOne	0.008-0.12	0.06	80	10(100)			100
		Vitek-2	0.12	0.12	100	10(100)			100
	İsavukonazol	SMD 24	0.008-0.06	0.015					
	Anidulafungin	SMD 24	0.08-0.03	0.015		10(100)			
		YeastOne	0.015-0.12	0.03	70	10(100)			100
	Kaspofungin	YeastOne	0.015-0.25	0.015		9(90)		1(10)	
		Vitek-2	0.12-0.25	0.12		7(70)		3(30)	
	Mikafungin	SMD 24	0.015-0.06	0.03		10(100)			
		YeastOne	0.015-0.03	0.015	100	10(100)			100
		Vitek-2	0.06	0.06	100	10(100)			100

[1]S: Duyarlı; WT: Vahşi tip (wild type) [2] SSD: Doza bağlı duyarlı; I: Orta dirençli (Intermediate) [3] R: Dirençli; non-WT: vahşi tip (wild type) olmayan
[4]EU: Esansiyel uyum; [5]KU: Kategorik uyum

Tablo 7: *Candida* spp.'ninAntifungal İlaçlara Karşı Her Üç Yöntemle Saptanan MİK Aralığı ve Mod Verileri ve SMD'ye göre Esansiyel ve Kategorik Uyumları

Türler	**Antifungal ilaçlar**	**Yöntem**	**MİK (µg/ml)**		**EU[4] (%)**	**Kategoriye göre izolat n (%)**			
			Aralık	**Mod**		**S/WT[1]**	**SDD/I[2]**	**R/non-WT[3]**	**KU[5] (%)**
	Amfoterisin B	SMD 24	<0.03-0.5	0.12		125(100)			
		YeastOne	0.12-1	0.5	55.5	125(100)			100
		Vitek-2	≤0.25-2	0.5	50.8	125(100)			100
	Flusitozin	YeastOne	0.06-8	0.06		124(99.2)		1(0.8)	
		Vitek-2	≤1-8	≤1		1(0.8)		124(99.2)	
	Flukonazol[1]	SMD 24	0.06-8	0.25		109(85.8)	14(11)	4(3.1)	
		YeastOne	0.12-32	0.25	92.2	109(85.8)	14(11)	4(3.1)	100
		Vitek-2	≤0.5-8	≤0.5	85.9	109(85.8)	14(11)	4(3.1)	100
Toplam n=127	İtrakonazol	SMD 24	0.03-0.5	0.03		125(100)			
		YeastOne	0.015-0.5	0.015	97.7	125(100)			100
	Posakonazol	SMD 24	0.015-1	0.015		127(100)			
		YeastOne	0.008-1	0.015	93	124(97.6)		3(2.4)	97.6
	Vorikonazol	SMD 24	0.015-0.25	0.015		124(97.6)	3(2.4)		
		YeastOne	0.008-0.25	0.008	92.2	124(97.6)	3(2.4)		100
		Vitek-2	≤0.12-0.5	≤0.12	45.3	120(94.5)	3(2.4)	4(3.1)	96.9
	İsavukonazol	SMD 24	0.008-0.25	0.008					
	Anidulafungin	SMD 24	<0.08-1	0.008		127(100)			
		YeastOne	0.015-2	0.015	93	127(100)			100
	Kaspofungin	YeastOne	0.008-1	0.03		126(99.2)		1(0.8)	
		Vitek-2	≤0.12-2	≤0.12		125(98.4)		2(1.6)	
	Mikafungin	SMD 24	0.015-1	0.015		127(100)			
		YeastOne	0.008-1	0.008	98.4	127(100)			100
		Vitek-2	≤0.06-1	≤0.06	99.2	127(100)			100

[1]S: Duyarlı; WT: Vahşi tip (wild type) [2] SSD: Doza bağlı duyarlı; I: Orta dirençli (Intermediate) [3] R: Dirençli; non-WT: vahşi tip (wild type) olmayan
[4]EU: Esansiyel uyum; [5]KU: Kategorik uyum

Tablo 8: *Candida* Türlerine Göre AFDT'lerinin CLSI SMD'ye Göre Uyum Yüzdeleri ve Hata Oranları

Türler	**Antifungaller**	**Yöntemler**	**KU[1] (%)**	**EU[2] (%)**	**ÇBH[3] n (%)**	**BH[4] n (%)**	**KH[5] n (%)**
	Amfoterisin B	YeastOne	100	34	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	23	0(0)	0(0)	0(0)
	Flukonazol	YeastOne	100	96.8	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	85.9	0(0)	0(0)	0(0)
C.albicans	İtrakonazol	YeastOne	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
n=64	Posakonazol	YeastOne	a	98.4	a	a	a
	Vorikonazol	YeastOne	100	98.4	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	17.1	0(0)	0(0)	0(0)
	Anidulafungin	YeastOne	100	95.3	0(0)	0(0)	0(0)
	Mikafungin	YeastOne	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	98.4	0(0)	0(0)	0(0)
	Amfoterisin B	YeastOne	a	73.5	a	a	a
		48saat	a	97	a	a	a
		Vitek 2	a	73.5	a	a	a
		48saat	a	97	a	a	a
	Flukonazol	YeastOne	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
		48saat	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	97	0(0)	0(0)	0(0)
		48saat	100	97	0(0)	0(0)	0(0)
C.parapsilosis	İtrakonazol	YeastOne	a	94.1	a	a	a
n=34		48saat	a	91.1	a	a	a
	Posakonazol	YeastOne	a	100	a	a	a
		48saat	a	97	a	a	a
	Vorikonazol	YeastOne	100	91	0(0)	0(0)	0(0)
		48saat	100	85.2	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	73.5	0(0)	0(0)	0(0)
		48saat	100	76.4	0(0)	0(0)	0(0)
	Anidulafungin	YeastOne	100	94.1	0(0)	0(0)	0(0)
	Mikafungin	YeastOne	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
	Amfoterisin B	YeastOne	a	64.2	a	a	a
		48saat	a	100	a	a	a
		Vitek 2	a	78.5	a	a	a
		48saat	a	100	a	a	a
	Flukonazol	YeastOne	100	50	0(0)	0(0)	0(0)
		48saat	100	57.1	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	28.5	0(0)	0(0)	0(0)
		48saat	100	57.1	0(0)	0(0)	0(0)
C.glabrata	İtrakonazol	YeastOne	a	92.8	a	a	a
n=14		48saat	a	100	a	a	a
	Posakonazol	YeastOne	a	57.1	a	a	a
		48saat	a	64.2	a	a	a
	Vorikonazol	YeastOne	a	71.4	a	a	a
		48saat	a	85.7	a	a	a
		Vitek 2	a	57.1	a	a	a
		48saat	a	85.7	a	a	a
	Anidulafungin	YeastOne	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
	Mikafungin	YeastOne	100	92.8	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	100	0(0)	0(0)	0(0)

[1] KU: Kategorik uyum; [2] EU: Esansiyel uyum; [3] ÇBH: Çok büyük hata; [4] BH: Büyük hata; [5] KH: Küçük hata; a: Bu antifungaller için sınır değerler belirlenmediğinden yalnızca dilusyon farklılıklarına dayalı uyum göz önünde bulundurulmuştur. Hata Oranları belirlenmemiştir

Tablo 8:*Candida* Türlerine Göre AFDT'lerinin CLSI SMD'ye Göre Uyum Yüzdeleri ve Hata Oranları (Devamı)

Türler	**Antifungaller**	**Yöntemler**	**KU[1] (%)**	**EU[2] (%)**	**ÇBH[3] n (%)**	**BH[4] n (%)**	**KH[5] n (%)**
	Amfoterisin B	YeastOne	a	90	a	a	a
		Vitek 2	a	100	a	a	a
	Flukonazol	YeastOne	100	90	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	90	0(0)	0(0)	0(0)
C.tropicalis	İtrakonazol	YeastOne	a	100	a	a	a
n=10	Posakonazol	YeastOne	a	80	a	a	a
	Vorikonazol	YeastOne	100	80	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
	Anidulafungin	YeastOne	a	70	a	a	a
	Mikafungin	YeastOne	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	100	0(0)	0(0)	0(0)
	Amfoterisin B	YeastOne	100	55.5	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	50.8	0(0)	0(0)	0(0)
	Flukonazol	YeastOne	100	92.2	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	85.9	0(0)	0(0)	0(0)
Toplam[6]	İtrakonazol	YeastOne	100	97.7	0(0)	0(0)	0(0)
n=127	Posakonazol	YeastOne	97.6	93	0(0)	3(2.3)	0(0)
	Vorikonazol	YeastOne	100	92.2	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	96.9	45.3	0(0)	4(3.1)	0(0)
	Anidulafungin	YeastOne	100	93	0(0)	0(0)	0(0)
	Mikafungin	YeastOne	100	98.4	0(0)	0(0)	0(0)
		Vitek 2	100	99.2	0(0)	0(0)	0(0)

[1] KU: Kategorik uyum; [2] EU: Esansiyel uyum; [3] ÇBH: Çok büyük hata; [4] BH: Büyük hata; [5] KH: Küçük hata; a: Bu antifungaller için sınır değerler belirlenmediğinden yalnızca dilusyon farklılıklarına dayalı uyum göz önünde bulundurulmuştur.Hata Oranları belirlenmemiştir

Esansiyel uyum ise %17-100 arasında değişmektedir. Buna göre *C. albicans* izolatlarının amfoterisin B ile EU'su hem YeastOne (%34) hem de Vitek-2 (%23) sistemi ile düşük saptanmıştır. *Candida albicans* izolatlarının vorikonazol için Vitek-2 (%17.1) yöntemi ile EU'su düşük saptanmıştır. *Candida glabrata* suşlarında özellikle azol grubunda 24. saat uyum oranları 48. saatlik uyum oranlarına göre daha düşük saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada *Candida* türleri için kullanılabilecek uygulanabilirliği ve tekrarlanabilirliği daha kolay olan iki farklı ticari AFDT yöntemi ve altın standart yöntem olan SMD yöntemi uygulanmış ve sonuçlar CLSI M27-A3/S4 kriterlerine göre değerlendirilmiştir (47,53). Çalışmamızda en sık izole edilen tür *C. albicans* olmakla birlikte non-*albicans Candida* türlerindeki artış dikkat çekmektedir. Çalışmamızdaki izolatların antifungallere karşı MİK aralıkları, $MİK_{50}$, $MİK_{90}$, EU, KU, mod değerleri, ÇBH, BH ve KH oranları açısından değerlendirme yapılmıştır.

Candida albicans için amfoterisin B'nin KSD'si belirlenmemiş olmakla birlikte EED'ye göre ≤2 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmektedir. *Candida albicans* izolatlarının tamamı için SMD yöntemi ile 24. saatte MİK değerleri <0.03-0.5 µg/ml aralığında ve duyarlı olarak yorumlanmıştır. Yapılan araştırmalarda *C. albicans* suşlarında genellikle çalışmamızla uyumlu olarak amfoterisin B direnci gözlenmemektedir (43,56–61). Bununla birlikte Ingroff ve ark.'ının (62) 0.5-8 µg/ml yaptıkları çalışmada ise dirençli suşları da içeren MİK aralığı saptanmıştır.

Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında amfoterisin B için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.06 / 0.25 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda ise bu değerleri çalışmamızdan bir miktar yüksek olmakla birlikte duyarlılık sınırları içinde elde etmişlerdir (57–59,61,62).

Candida albicans için yapılan değerlendirmelerde saptanan EU oranları YeastOne için %34 ve Vitek-2 için %23; KU oranları ise her iki yöntem için de %100 olarak saptanmıştır. Vitek 2 için EU'daki düşüklüğün sebebi Vitek-2 sisteminde en düşük MİK değeri ≤0.25 µg/ml iken SMD yönteminde 0.03 µg/ml olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. YeastOne ile yapılan çalışmalarda %96.6-100 aralığında çalışmamıza göre daha yüksek EU oranları elde edilmiştir (56,63,64). Vitek-2 ile yapılan çalışmalardan Pfaller ve ark.'ı (61) uyum oranını %100 olarak elde etmiş olup, çalışmamıza göre daha yüksek saptamışlardır. Kategorik uyum hesaplaması literatürle uyumlu olarak yüksek saptanmıştır (54,57,60). Çalışmamızdan farklı olarak Siqueira ve ark. (60) çalışmalarında bir izolatta (%6.25) BH saptamışlardır.

Candida albicans izolatlarının flukonazol için SMD yöntemi ile 24. saatte MİK aralıkları 0.06-1 µg/ml arasında ve duyarlı olarak saptanmıştır. Pfaller ve ark. (65) ve Siqueira ve ark.'ının (60) çalışmalarında da çalışmamıza benzer şekilde MİK aralıkları ≤0.125-1 µg/ml duyarlılık sınırları içinde saptanmıştır. Bununla birlikte literatürdeki birçok çalışmada dirençli suşları da içeren MİK aralıkları bildirilmiştir. Bu çalışmalarda kan kültürü dışındaki diğer örneklerden izole edilen suşların çalışmaya dahil edilmesi sonucu olarak azol dirençli suşların saptanmasına yol açabileceğini düşünmekteyiz (43,56,57,59,62,64,66–69). Çalışmamızda flukonazol için$MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.12 / 0.5 µg/ml olarak saptanmıştır. Verilerimiz literatürle uyumlu olmakla birlikte Ingroff ve ark. (62) 1 / >64 µg/ml, Pfaller ve ark.'ının (64) 0.5 / 64 araştırmaları gibi $MİK_{90}$ değeri yüksek olarak saptanan çalışmalar da vardır (57–59,62,65,67,69).

Candida albicans suşlarında flukonazol için EU açısından yapılan değerlendirmede; YeastOne için %96.8 ve Vitek-2 için %85.9 uyum oranları saptanmıştır. YeastOne ile yapılan çalışmalarda çalışmamıza benzer şekilde %90 üzerinde uyum saptanırken, Cretella ve ark. (68) %87 ile bir miktar düşük uyum saptamışlardır (56,60,62,64). Vitek-2 ile yapılan çalışmaların da uyum oranları %86-98.8 aralığında değişmekte olup bizim çalışmamızdan bir miktar daha yüksek bulunmuştur (66–69).

Kategorik uyum hesaplanmasında; çalışmamızda her iki yöntem için de uyum oranı %100 olarak saptanırken; sensititre ile yapılan çalışmalarda %93-100 aralığında çalışmamıza benzer oranlar saptanmıştır (56,60,68). Vitek-2 ile %90 üzerinde uyum oranı saptanan çalışmalar olmakla birlikte Siquiera ve ark. (60) %87.5 ve Cretella ve ark.'ının (68) %86 oranları ile çalışmamıza göre daha düşük oranların saptandığı çalışmalar da bildirilmiştir (57,66,67,69).

İtrakonazol açısından değerlendirildiğinde *C. albicans* izolatlarının tümünde SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları 0.03-0.06 µg/ml olarak saptanmış, hepsi duyarlılık sınırları içinde bulunmuştur. Diğer çalışmalarda ise araştırmacılar dirençli izolatları da içeren MİK aralıkları bildirmişlerdir (43,56,58,59). Çalışmamızda bu antifungal için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.03 / 0.06 µg/ml olarak saptanmıştır. Arıkan ve ark. (59) 0.06 / 0.125 µg/ml ve Posteraro ve ark. (58) 0.03 / 0.06 µg/ml değerlerini elde etmişler, çalışmamızla uyumlu sonuçlar bildirmişlerdir. Çalışmamızda

itrakonazol için EU ve KU açısından yapılan değerlendirmede; YeastOne ile uyum oranı Alexander ve ark. (50), Odabaşı ve ark.'ının (54) çalışmalarında olduğu gibi %100 olarak bulunmuştur.

Candida albicans türlerinde posakonazol için KSD belirlenmemiş olmakla birlikte çalışmamızda ≤0.06 µg/ml olarak bulunan değerler EED'ye göre duyarlı olarak kabul edilmiştir. Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları <0.015-0.06 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda çalışmamızdan farklı olarak dirençli suşları da içeren MİK aralıkları saptanmıştır. Ingroff ve ark. (62) 0.12 / 1 µg/ml, Peterson ve ark. (70) 0.12 / 0.25 µg/ml, Pfaller ve ark. (64) 0.12 / 0.5 µg/ml olarak bildirdikleri $MİK_{90}$ değerindeki yükseklik dikkat çekmektedir.

Candida albicans izolatlarında posakonazol için EU ve KU değerlendirmesinde; çalışmamızda YeastOne için %98.4 olarak bulunmuştur. Pfaller ve ark.(64) %89.3 ile çalışmamızdan bir miktar düşük Ingroff ve ark. (62) ise %95.6 ile sonuçlarımıza benzer EU oranları elde etmişlerdir.

Candida albicans izolatlarının vorikonazol için SMD yöntemi ile 24. saatte saptanan MİK aralıkları sadece duyarlı suşları içermekte olup 0.015-0.12 µg/ml'dir. Literatürde çalışmamıza benzer olarak sadece duyarlı suşlardan oluşan çalışmalar yanında dirençli suşları da içeren araştırmalar da bulunmaktadır (43,56,57,59,61,62,64,67).

Çalışmamızda vorikonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.03 µg/ml olarak saptanmıştır. Literatürde çalışmamıza benzer şekilde $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerlerinin duyarlı saptandığı çalışmalarla birlikte $MİK_{90}$ değerinin yüksek bulunduğu çalışmalar da bulunmaktadır (57,59,62,64,69)

Çalışmamızda *C. albicans* suşlarında vorikonazol için EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %98.4 ve Vitek-2 için %17.1 olarak saptanmıştır. YeastOne ile Ingroff ve ark. (62), Pfaller ve ark. (64) sırasıyla %99, %92 olarak çalışmamıza benzer, Alexander ve ark. (56) %82 ile çalışmamızdan düşük uyum oranları elde etmişlerdir. Pfaller ve ark. (61), Posteraro ve ark. (58), Bourgeois ve ark.'ı (67) da Vitek-2 ile yaptığı çalışmalarında uyumu %98, %94.4, %100 olarak çalışmamıza göre yüksek olarak saptamışlardır. Kategorik uyum hesaplanmasında; çalışmamızda her iki ticari yöntem için de uyum oranı %100

olarak saptanırken; YeastOne için yapılan diğer çalışmalarda Alexander ve ark. (56) ve Siquieira ve ark. (60) çalışmamıza benzer olarak KU %100 iken Vitek-2 sistemi ile yapılan araştırmalarda %97.2-100 aralığında değişmektedir (57,60,64,66,67). Bizim çalışmamızda hiç hata saptanmamışken Vitek-2 ile yapılan çalışmalarda Pfaller ve ark. (61) %0.5 oranında BH ve KH ; Posteraro ve ark. (58) %2.8 KH ve Bourgeois ve ark. (67) 84 *C. albicans* izolatından sadece birinde KH saptamışlardır.

Çalışmamızda isavukonazol için *C. albicans* izolatlarının tamamında SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıklarını 0.008-0.12 µg/ml olarak elde edilmiştir. En yeni antifungallerden biri olan isavukonazol için hiçbir türde klinik sınır değer ve epidemiyolojik eşik değer belirlenmemiş olduğundan duyarlı/dirençli yorumu yapılamamıştır. Pfaller ve ark.'ı (65) da bu değerleri 0.008-0.03 µg/ml olarak saptamışlardır. Aynı çalışmada araştırmacılar modu sonuçlarımıza benzer şekilde 0.008 µg/ml olarak elde etmişlerdir. Çalışmamızda $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.008 / 0.015 µg/ml olup, Pfaller ve ark. her ikisini de 0.008 µg/ml olarak saptamışlardır (65).

Anidulafungin için *C. albicans* izolatlarının SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları <0.008-0.12 µg/ml olarak literatürdeki çalışmalarla benzer şekilde duyarlılık sınırları içinde saptanmıştır (68,71). Bununla birlikte Cilo ve ark. (43) ≤0.015-0.5 µg/ml çalışmamızdan farklı olarak dirençli suşları da içeren MİK aralığı bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *C. albicans* anidulafungin için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.008 / 0.03 µg/ml olarak saptanmıştır. Pfaller ve ark.'ı yaptıkları üç merkezli çalışmalarında ise 0.03 / 0.06 ve 0.016 / 0.03 µg/ml değerlerini elde etmişlerdir (71).

Candida albicans suşlarında anidulafungin için EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %95.3 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan çalışmalarda araştırmacılar EU'yu %100 olarak çalışmamızla benzer saptamışlardır. Kategorik uyum açısından çalışmamızın yapılan değerlendirmesinde; YeastOne için uyum literatürle benzer olarak %100 oranında saptanmıştır (68,71,72).

Candida albicans izolatlarında mikafungin için SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.015-0.06 µg/ml'dır. Arıkan ve ark. (59), Cretella ve ark. (68), Pfaller ve ark.'ının (71) yaptıkları çalışmalarda MİK değerleri çalışmamıza

benzer şekilde duyarlılık sınırları içinde saptamışlardır. Çalışmamızdan farklı olarak Peterson ve ark. (70) ve Posteraro ve ark. (58) dirençli izolatları da saptayan MİK aralıkları elde etmişlerdir. Çalışmamızda mikafungin için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.015 µg/ml olarak saptanmıştır. Bu veriler çalışmalarda bildirilen değerler ile uyumlu bulunmuştur (59,70,71).

Candida albicans izolatlarında mikafungin için çalışmamızda hesaplanan EU; YeastOne için %100 ve Vitek-2 için %98.4 olarak bulunmuştur. YeastOne için Pfaller ve ark. (71) %100; Cretella ve ark. (68) %93, Vitek-2 sistemi için ise Peterson ve ark. (70) %99.4 uyum bildirmişler ve sonuçlarımızla uyumlu veriler elde etmişlerdir. Kategorik uyum YeastOne ile yapılan çalışmalarda araştırmamızla uyumlu olarak %100 bulunmuştur (68,72).

Çalışmamızda *C. albicans*'tan sonra en sık izole edilen tür *C. parapsilosis*'tir. *Candida parapsilosis*'te amfoterisin B için KSD belirlenmemiş olmakla birlikte EED'ye göre ≤2 olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmektedir. *Candida parapsilosis* izolatlarının SMD yöntemi ile 24. saatte elde edilen MİK değerleri 0.03-0.5 µg/ml'dir. Bu sonuçlar literatürdeki çalışmaların elde ettiği bulgular ile uyumlu bulunmuştur (43,56–62). Çalışmamızda amfoterisin B için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.5 / 1 µg/ml olarak yapılan çalışmalarla uyumlu duyarlı olarak saptanmıştır (57–59,61,62).

Candida parapsilosis amfoterisin B için EU açısından yapılan değerlendirmede; 24. ve 48. saatte uyum oranları her iki yöntemle de sırasıyla %73.5 ve %97 olarak saptanmıştır. Alexander ve ark. (56) ve Ingroff ve ark. (62) YeastOne ile yaptıkları Pfaller ve ark.'ı (61) da Vitek-2 ile yaptığı çalışmalarında uyumu %100 olarak çalışmamıza göre daha yüksek oranda saptamışlardır. Bu türe ait yapılan KU hesaplanmasında; çalışmamızda her iki ticari yöntem için de uyum oranı %100 bulunmuştur. Borghi ve ark. (57) ve Siqueira ve ark.'ının (60) yapmış oldukları çalışmalarında da kategorik uyumu %100 olarak saptamışlardır.

Çalışmamızda *C. parapsilosis* izolatlarının flukonazol için SMD yöntemi ile 24. saatte MİK aralıkları 0.12-8 µg/ml olarak diğer çalışmalara benzer şekilde dirençli izolatların bulunduğu MİK aralıkları saptanmıştır (43,56–59,61,63,64,66–68). Alexander ve ark.'ının (56) yaptıkları çalışmada ise sadece duyarlı 0.25-1 µg/ml sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda flukonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.5 /

1 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda ise $MİK_{50}$ değerleri benzer olmakla birlikte, $MİK_{90}$ değerlerindeki değişiklikler dikkat çekmektedir. Bu çalışmalarda Borghi ve ark. (57) 1 / 4 µg/ml, Ingroff ve ark. (62) 4 / 8 µg/ml, Pfaller ve ark.'ının (64,69) yapmış oldukları farklı zamanlarda iki ayrı çalışmada da $MİK_{90}$ değerlerinin yüksek olduğu 1 / 8, 0.5 / 8 µg/ml gibi değerler elde edilmiştir.

Esansiyel uyum açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %100 ve Vitek-2 için %97 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda Cretella ve ark. (68), Ingroff ve ark. (62), Pfaller ve ark. (64) %95.4-100 aralığında uyum oranları elde etmişlerdir. Bourgeois ve ark. (67), Cretella ve ark. (68), Pfaller ve ark.'ının (69) Vitek-2 ile yaptıkları çalışmalarında %90-99.1 aralığında çalışmamıza benzer uyum oranları saptanmıştır. Ancak Siqueira ve ark.'ının (60) çalışmalarında araştırmamızdan farklı olarak EU'yu YeastOne ile %43.75 ve Vitek-2 ile %0 olarak saptamışlardır. Kategorik uyum hesaplanmasında; çalışmamızda her iki yöntem için de uyum oranı %100 bulunmuş iken; YeastOne ile yapılan çalışmalarda uyum oranları %81.25-100 arasında bildirilmiş, Vitek-2'de ise %86-100 aralığında belirtilmiştir (56,57,60,62,64,67–69).

Çalışmamızda *C. parapsilosis* suşlarının flukonazole duyarlılıklarının saptanmasında her iki yöntemde de hataya rastlanmamıştır. Ancak YeastOne ile Siqueira ve ark. (60) bir BH (%6,25), iki KH (%12.5) tespit ederken, Vitek-2 ile Siqueira ve ark. (60) bir BH, bir KH (%6,25), Pfaller ve ark. (69) %1.8 ÇBH, %0.9 BH, %2.8 KH saptamışlardır.

*Candida parapsilosis'*te itrakonazol için KSD belirlenmemiş olmakla birlikte EED'ye göre ≤0.5 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmektedir. Bizim çalışmamızda da *C. parapsilosis* izolatlarının tamamında SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları 0.03-0.25 µg/ml olarak duyarlılık alanında saptanmıştır. Alexander ve ark. (56) Cilo ve ark. (43) <0.03-0.25 µg/ml ve Posteraro ve ark.'ının (58) ≤0.015-0.5 µg/ml buldukları MİK aralıkları çalışmamıza benzer şekilde duyarlılık sınırları içerisindedir. Bununla birlikte Arıkan ve ark.'ının (59) yaptıkları çalışmada dirençli (≤0.015–1 µg/ml) izolatlar olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda itrakonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri her ikisi için 0.03 µg/ml olarak literatürle uyumlu saptanmıştır (58,59).

Çalışmamızda EU YeastOne için %94.1 olarak saptanmışken Alexander ve ark. (56) %100 , Odabaşı ve ark. (54) ise %85 olarak bulmuşlardır. YeastOne için %100 olarak saptamış olduğumuz kategorik uyum, Alexander ve ark.'ının (56) çalışmasında ise oldukça düşük (%48) bulunmuştur.

Candida parapsilosis türlerinde posakonazol için KSD belirlenmemiş olmakla birlikte çalışmamızda yine EED'ye göre ≤0,06 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları 0.015-0.06 µg/ml olarak elde edilmiştir. Alexander ve ark.'ının (56) yaptıkları çalışmada da benzer şekilde tüm izolatlar duyarlılık sınırları içinde bulunmuştur. Ancak dirençli izolatları içeren çok sayıda çalışma bildirilmiştir (43,59,62,64,65). Çalışmamızda posakonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.03 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda ise bu değerleri Arıkan ve ark. (59) ≤0.03 / 0.25 µg/ml, Ingroff ve ark. (62) 0.12 / 0.25 µg/ml, Pfaller ve ark.'ının (64,65) iki ayrı zaman diliminde yaptıkları çalışmalarda 0.12 / 0.25 µg/ml ve 0.06 / 0.12 µg/ml olarak çalışmamızdan daha yüksek bildirmişlerdir.

Candida parapsilosis suşlarında posakonazol için EU ve KU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %100 olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda araştırmacılar EU'yu %98.3-100 aralığında olarak bildirmişlerdir(62,64).

Candida parapsilosis izolatlarının vorikonazol SMD yöntemi ile 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.015-0.25 µg/ml aralığında bulunmuştur. Çalışmamıza benzer şekilde duyarlı ve orta duyarlı suşları içeren yayınlar yanında çalışmamızdan farklı olarak dirençli suşları da içeren ve sadece duyarlı suşlardan oluşan yayınlar da mevcuttur (43,56,59–62,64,67).

Çalışmamızda vorikonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.03 / 0.12 µg/ml olarak saptanmıştır. Literatürde yapılan diğer çalışmalardaki $MİK_{90}$ değerleri çalışmamıza benzer olmakla birlikte bu değerin yüksek olarak saptandığı Ingroff ve ark.'ının (62) ve Pfaller ve ark.'ının (64) 0.06 / 0.25 µg/ml araştırmaları gibi örnek çalışmalar da bulunmaktadır (57,59,61,65,67).

Candida parapsilosis suşlarında vorikonazol için EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %91 ve Vitek-2 için %73.5 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan çalışmalarda %90-100 aralığında çalışmamıza

benzer, Siqueira ve ark. (60) çalışmasında olduğu gibi daha düşük (%56.2) uyum oranları bildirilmiştir (56,62,64). Bourgeois ve ark. (67), Pfaller ve ark. (61), Posteraro ve ark.'ı (58) da Vitek-2 ile yaptığı çalışmalarında uyumu %100 olarak çalışmamıza göre daha yüksek olarak saptamışlardır.

Kategorik uyum hesaplanmasında; çalışmamızda her iki yöntem için de uyum oranı %100 olarak saptanırken, YeastOne için Alexander ve ark. (56) ve Siqueira ve ark. (60) çalışmamıza benzer olarak %100 ve %93.7 olarak saptamışlardır. Vitek-2 sistemi için ise çalışmamıza benzer olarak %94.5-100 aralığında uyum oranları saptayan çalışmalar bulunmaktadır (57,60,61,67,69). Siqueira ve ark. (60) %81.2 KU ile daha düşük uyum oranı saptamışlar ve YeastOne ile sadece % 6.25 KH Vitek-2 ile ise %6.25 BH ve %12.5 KH bildirmişlerdir.

Candida parapsilosis izolatlarının isavukonazol için SMD yöntemi ile 24. ve 48. saatte saptanan MİK aralıkları 0.008-0.25 µg/ml olarak elde edilmiş olup, Pfaller ve ark.'ı da bu değerleri 0.008-0.5 µg/ml olarak saptamışlardır. Aynı çalışmada araştırmacılar araştırma sonucumuza benzer şekilde modu 0.008 µg/ml olarak elde etmişlerdir. Çalışmamızda $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.008 / 0.12 µg/ml olup, Pfaller ve ark. ise bu değerleri 0.008 / 0.03 µg/ml olarak bulmuşlardır (65).

Anidulafungin için *C. parapsilosis* izolatlarının SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.06-1 olarak bulunmuştur. Literatürdeki verilere göre Pfaller ve ark.'ının (71) çok merkezli olan çalışmalarının iki merkezi hariç çalışmamıza benzer şekilde duyarlılık sınırları içinde değerler bildirmişlerdir (43,68,71).

Çalışmamızda anidulafungin için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.5 / 1 µg/ml olarak saptanmıştır. Pfaller ve ark.'ı (71) yaptıkları çok merkezli çalışmalarında benzer değerleri elde etmişlerdir. Çalışmamızda EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %94.1 olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda da uyumu %100 olarak çalışmamıza benzer olarak bildirmişlerdir. Kategorik uyum açısından çalışmamızı değerlendirdiğimizde; YeastOne için uyum oranı %100 olarak saptanmıştır. Yine YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda araştırmacılar uyum oranlarını çalışmamıza benzer şekilde %96.7-100 olarak belirtmişlerdir (43,68,71,72). Çalışmamızdan farklı olarak Pfaller ve ark. (72) YeastOne ile %3.3 KH saptamışlardır.

Candida parapsilosis izolatlarında mikafungin için SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.12-1 µg/ml'dir. Posteraro ve ark.'ı (58) ve Pfaller ve ark.'ının (71) yaptıkları çok merkezli çalışmalarında araştırmamıza benzer şekilde duyarlılık sınırları içinde MİK aralıkları saptamışlardır. Çalışmamızdan farklı olarak Arıkan ve ark. (59) 0.125-4 µg/ml, Cretella ve ark. (68) 0.02-4 µg/ml, Peterson ve ark. (70) 0.03-8 µg/ml dirençli izolatları da saptayan MİK aralıkları elde etmişlerdir. Çalışmamızda bu antifungal için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri her ikisi de 1 µg/ml olarak literatürdeki çalışmalarla benzer duyarlı sonuçlar saptanmıştır (58,59,70,71).

Çalışmamızda hesaplanan EU ve KU; YeastOne ve Vitek-2 için %100 bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda da YeastOne için EU'yu Pfaller ve ark. (71) ve Cretella ve ark. (68) %100, Vitek-2 sistemi için ise Peterson ve ark. (70) %93.9 bildirmişler, bizim sonuçlarımızla uyumlu veriler elde etmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda YeastOne ile KU çalışmamızla uyumlu olarak %90-100 saptanmıştır (68,72). Vitek-2 ile KU'yu Peterson ve ark. (70) %84.2 bulmuş, %1.2 ÇBH, %14.6 KH bildirmişlerdir.

Candida glabrata'da amfoterisin B için EED'ye göre ≤2 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmektedir. *Candida glabrata* izolatlarının SMD yöntemi ile 24. saatte elde edilen MİK değerleri 0.06-0.5 µg/ml'dir. Bu sonuçlar yapılan çalışmalarda elde edilen değerler ile uyumlu bulunmuştur (43,56,57,59,60,62,66). Çalışmamızdan farklı olarak Pfaller ve ark. (61) 0.25-4 dirençli izolatları da saptayan MİK aralıkları bildirmişlerdir. Çalışmamızda amfoterisin B için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.06 / 0.5 µg/ml olarak literatürle uyumlu bulunmuştur (57–59,61,62).

Araştırmamızda EU açısından yapılan değerlendirmede; 24. / 48. saat uyum oranları YeastOne için %64.2 / 100 ve Vitek-2 için %78.5 / 100 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda 48.saat uyum oranları daha yüksek bulunmuştur bunun sebebi *C. glabrata* suşlarının daha yavaş üremesi olabileceği düşünülmüştür. YeastOne ile yapılan çalışmalarda 24. ve 48. saat uyum oranları arasında belirgin fark saptanmamıştır (56,60,62). Bununla birlikte Alexander ve ark. (56), Ingroff ve ark.'ının (62) saptadığı %100 uyum, çalışmamızın 48. saat değerlerimizle benzerken, Siqueira ve ark. (60) %87.5 ile bize göre daha düşük uyum oranları elde etmişlerdir. Pfaller ve ark.'ı (61) da Vitek-2 ile yaptığı çalışmalarında uyumu %100 olarak 48.

saat değerlerimizle uyumlu bildirmişlerdir. Bu türe ait KU hesaplanmasında; çalışmamızda her iki yöntem için de uyum oranı %100 olarak saptanırken, YeastOne ile Siqueira ve ark. (60) %93.75 ve Vitek-2 ile Borghi ve ark. (57) ve Siqueira ve ark.'ı da bu oranı çalışmamızla uyumlu %100 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak Siqueira ve ark. (60) YeastOne ile bir izolatta (%6,25) BH saptamışlardır (56,57,60–62).

Candida glabrata izolatlarının flukonazol için SMD yöntemi ile 24. saatte MİK aralıkları 0.25-2 µg/ml olarak saptanmıştır. Sonuçlarımızın hepsi doza bağlı duyarlı (SDD) olarak değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalardan Cilo ve ark. (43) 0.5-32 µg/ml, Cretella ve ark.'ının (68) 2-16 µg/ml araştırmalarında çalışmamıza benzer şekilde tamamı SDD olan izolatlardan oluşan MİK aralıkları bildirmişlerdir. Bununla birlikte birçok çalışmada dirençli izolatları da içeren MİK aralıkları elde edilmiştir (56–60,62,64,67,69).

Çalışmamızda flukonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.5 / 2 µg/ml olarak saptanmıştır. Literatürde çalışmamızla uyumlu olan araştırmaların yanı sıra $MİK_{90}$ değerinin yüksek bulunduğu çalışmalar dikkat çekmektedir (57–59,62,64,65,67,69). Borghi ve ark. (57), Ingroff ve ark. (62), Pfaller ve ark.'ının (64,69) yapmış oldukları farklı zamanlardaki iki ayrı çalışmada $MİK_{90}$ değerlerinin yüksek olduğu 64-128 µg/ml gibi değerler elde edilmiştir.

Esansiyel uyum açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları 24. / 48. saat için YeastOne ile %50 / 57.1 ve Vitek-2 ile %28.5 / 57.1 olarak saptanmıştır. Literatürde YeastOne ile yapılan çalışmalarda %66-100 aralığında genellikle çalışmamızdan yüksek oranlar saptamışlar, Siqueira ve ark. (60) ise %25 oranında çalışmamızdan daha düşük uyum oranları bildirmişlerdir (56,62,64,68). Vitek-2 ile yapılan uyum değerlendirmesinde ise %78.6-100 aralığında çalışmamızdan yüksek uyum oranları bulunmuştur (60,66–69). Kategorik uyum hesaplanmasında, çalışmamızda her iki yöntem için de 24. ve 48. saatte uyum oranı %100 olarak bulunmuştur. YeastOne ile yapılan çalışmalardan Cretella ve ark. (68) %100 olarak çalışmamıza benzer KU saptarken, Alexander ve ark. (56) ve Siqueira ve ark.(60) %34-87.5 olarak çalışmamızdan düşük oranlar saptamışlardır (56,60,68). Vitek-2 ile yapılan KU değerlendirmesinde Bourgeois ve ark. (67) tarafından çalışmamıza benzer olarak %96.4, diğer çalışmalarda ise bu oranlar %51.4-87.8 aralığında

çalışmamızdan daha düşük oranlar bildirilmiştir (57,60,66–69). Çalışmamızdan farklı olarak YeastOne ile Siquiera ve ark. (60) %12.5 KH saptarken; Vitek-2 ile Siquiera ve ark. %6.25 KH, Posteraro ve ark. (58) %3.6 KH, Bourgeois ve ark. (67) 1/56 BH ve 11/56 KH saptamışlardır.

İtrakonazol açısından yapılan değerlendirmede *C. glabrata* izolatlarının tamamı için SMD yöntemi ile 24. saat ve 48. saat MİK aralıkları 0.03-0.5 / 0.06-0.5 µg/ml olarak saptanmıştır. *Candida glabrata*'da bu antifungal için KSD belirlenmemiş olmakla birlikte EED'ye göre ≤2 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmektedir. Yapılan diğer çalışmalarda Alexander ve ark. (56) 0.125-16 µg/ml, Cilo ve ark. (43)0.06-1 / 0.06-16 µg/ml, Posteraro ve ark.'ının (58)≤0.015-≥16 µg/ml buldukları MİK aralıkları çalışmamızdan farklı olarak dirençli suşları da içermektedir. Çalışmamızda itrakonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.12 / 0.12 ve 0.25 / 0.25 µg/ml olarak literatürle uyumlu saptanmıştır (58,59).

Candida glabrata izolatlarının EU açısından yapılan değerlendirmesinde; çalışmamızda uyum oranları YeastOne için %92.8 / %100 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda Alexander ve ark. (56) %89, Odabaşı ve ark. (54) %85.7 olarak araştırmamızdan daha düşük oranlar elde etmişlerdir.Yapılan KU hesaplanmasında YeastOne için de uyum oranı %100 olarak saptanmıştır. Alexander ve ark.'ı (56) çalışmalarında %68 olarak araştırmamızdan daha düşük uyum oranı bildirmişlerdir .

Candida glabrata türlerinde posakonazol için EED'ye göre ≤2 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmiştir. *Candida glabrata* izolatlarında SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları 0.015-1 µg/ml olarak elde edilmiştir. Literatürdeki verilere göre, Arıkan ve ark. (59), Cilo ve ark.'ının (43) bulguları çalışmamızla uyumlu sonuçların yanında dirençli suşları da içeren çalışmalar da bildirilmiştir (56,62,64,65). Posakonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.06 / 0.5 µg/ml olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar genellikle yapılan araştırmalarla uyumlu iken Ingroff ve ark. (62) farklı olarak 2 / 4 µg/ml değerlerini saptamışlardır (59,62,64,65).

Candida glabrata suşlarında posakonazol için yapılan EU değerlendirmesinde de; YeastOne ile EU %57.1 / 64.2 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan çalışmalarda Ingroff ve ark. (62), Pfaller ve ark. (64) sırasıyla %97,%100 olarak çalışmamıza göre daha yüksek uyum oranları elde etmişlerdir. Bu türe ait

posakonazol için KSD belirtilmediğinden EED göz önünde bulundurularak yapılan KU hesaplanmasında; YeastOne için uyum oranı %100 olarak saptanmıştır.

Candida glabrata izolatlarının vorikonazol SMD yöntemi ile 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.015-0.12 µg/ml'dir. Bu türe ait vorikonazol için EED'ye göre ≤0,5 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmiştir. Diğer çalışmalarda Cilo ve ark. (43) ≤0.03-0.5 µg/ml, buldukları MİK aralıkları çalışmamıza benzer şekilde duyarlı suşları içermektedir. Bununla birlikte çalışmamızdan farklı olarak dirençli izolatları içeren MİK aralıkları saptayan çalışmalar da vardır (56,59–62,64,67). Çalışmamızda vorikonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.03 / 0.12 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan araştırmalarla $MİK_{50}$ değerimiz uyumlu olmakla birlikte, literatürdeki diğer çalışmalarda $MİK_{90}$ değerindeki yükseklik dikkat çekmektedir (57,59,61,62,64,67).

Candida glabrata izolatlarında vorikonazol için EU açısından yapılan değerlendirmede; 24./ 48. saatlik inkübasyon sonunda uyum oranları YeastOne için %71.4 / 85.7 ve Vitek-2 için %57.1 / 85.7 olarak saptanmıştır. Literatürde YeastOne ve Vitek-2 ile yapılan diğer çalışmalarda araştırmamıza benzer veya daha yüksek uyum oranları bildirilmiştir (56,61,62,64,66,67). Gerek diğer araştırmalar, gerekse çalışmamızda 48. saat uyum oranları daha yüksek saptanmıştır (61).

Candida glabrata vorikonazol için KU hesaplanmasında; her iki yöntem için de uyum oranı %100 olarak saptanmıştır.YeastOne için Alexander ve ark. (56)%87 uyum oranı ile Vitek-2 sistemi için Bourgeois ve ark. (67) %89.3, Pfaller ve ark. 24. saat (61) %88 uyum oranı ile çalışmamızdan daha düşük KU saptamışlardır. Vitek-2 sistemi için ise diğer çalışmalarda Pfaller ve ark.'ının(61) 48. saat değeri, Borghi ve ark. (57) ve Posteraro ve ark. (66) çalışmamıza benzer şekilde %90.5-97.6 aralığında uyum oranları bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *Candida glabrata* suşlarının vorikonazole duyarlılıklarının saptanmasında her iki yöntemde de hataya rastlanmamıştır. Vitek-2 ile yapılan çalışmalarda Bourgeois ve ark. (67) 24. ve 48. saatte 4/56 ve 5/56 oranında KH , Pfaller ve ark. (61) 24. saat için %4.8 KH ve 48. saat için %8.4 KH, Posteraro ve ark. (58) %2.4 KH saptamışlardır.

Candida glabrata izolatlarının isavukonazol için SMD yöntemi ile 24./48. saatte saptanan MİK aralıkları 0.008-0.03 / 0.008-0.12 µg/ml olarak elde edilmiş

olup, Pfaller ve ark.'ı da bu değerleri 0.008-8 µg/ml olarak saptamışlardır. Yine aynı çalışmada saptanan mod değeri araştırmamıza (0.03/0.06 µg/ml) benzer şekilde 0.06 µg/ml olarak elde etmişlerdir. Çalışmamızda $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.008 / 0.03 µg/ml ve 0.008 / 0.06 µg/ml olup, Pfaller ve ark. 0.08 / 1 µg/ml olarak bildirmişlerdir (65).

Anidulafungin için *C. glabrata* izolatlarının SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları <0.008-0.06 µg/ml olarak bulunmuştur. Literatürde çalışmamıza benzer sonuçların saptandığı araştırmalarla birlikte orta duyarlı ve dirençli izolatları içeren çalışmalar da bildirilmiştir (43,68,71). Bu antifungal için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.03 µg/ml olarak saptanmıştır. Pfaller ve ark.'ı (71) yaptıkları çok merkezli çalışmanın bir merkezinde $MİK_{90}$ değerini (0.25µg/ml) orta duyarlı olarak çalışmamızdan daha yüksek bildirmişlerdir.

Candida glabrata anidulafungin için EU ve KU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %100 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda da araştırmacılar EU'yu %95 ve %100 olarak çalışmamızla benzer olarak bildirmişlerdir. Yine YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda araştırmacılar KU oranlarını çalışmamıza benzer şekilde %93.1-100 olarak belirtmişlerdir (43,68,71,72).

Candida glabrata izolatlarında mikafungin için SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları <0.015-0.03 µg/ml'dir. Literatürde çalışmamıza benzer şekilde sadece duyarlı izolatları içeren çalışmalar ve dirençli suşları da içeren araştırmalar bulunmaktadır (58,59,68,70,71). Çalışmamızda bu antifungal için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.03 µg/ml olarak bulunmuş yapılan çalışmalarla uyumlu saptanmıştır (58,59,70,71).

Çalışmamızda hesaplanan EU; YeastOne için %92.8 ve Vitek-2 için %100 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda YeastOne için Pfaller ve ark. (71) ve Cretella ve ark. (68) %100 uyum ,Vitek-2 sistemi için ise Peterson ve ark. (70) %98.9 uyum bildirmişler, bizim sonuçlarımızla uyumlu veriler elde etmişlerdir. Kategorik uyum çalışmamızda bu antifungal için her iki yöntem ile %100 olup yapılan araştırmalarda da çalışmamızla uyumlu %98.9 -100 olarak saptanmıştır (68,70,72).

Candida tropicalis'te amfoterisin B için EED'ye göre ≤2 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmektedir. *Candida tropicalis* izolatlarının SMD yöntemi ile 24. saat MİK değerleri 0.06-0.5 µg/ml olup literatürdeki birçok çalışma ile uyumlu bulunmuştur (43,56–60). Çalışmamızdan farklı olarak Pfaller ve ark. (61) ve Ingroff ve ark. (62) 0.5-4 µg/ml olarak dirençli izolatları da içeren MİK aralıkları elde etmişlerdir. Çalışmamızda amfoterisin B için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.25 / 0.5 µg/ml olarak duyarlı saptanmış olup yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (43,56–62).

Candida tropicalis'te amfoterisin B için EU açısından yapılan değerlendirmede; 24. saatte uyum oranları YeastOne için %90 ve Vitek-2 için %100 olarak saptanmıştır. YeastOne ve Vitek-2 ile yapılan çalışmalarda %92.9-100 aralığında çalışmamıza benzer uyum oranları bildirilmiştir (56,60–62). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak her iki yöntem için de KU oranı %100 olarak saptanmıştır (57,60).

Candida tropicalis izolatlarının flukonazol için SMD yöntemi ile 24. saatte MİK aralıkları 0.25-2 µg/ml olarak saptanmıştır. Sonuçlarımızın hepsi duyarlılık sınırları içinde olmakla birlikte literatürde çalışmamıza benzer ve dirençli izolatları işaret eden MİK değerlerini içeren araştırmalar da bildirilmektedir (43,56,57,60,62,64,67–69). Çalışmamızda flukonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.5 / 1 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda ise $MİK_{50}$ değerleri benzer olmakla birlikte $MİK_{90}$ değerlerindeki yükseklik dikkat çekmektedir (57,62,64,69).

Candida tropicalis izolatlarının flukonazol EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne ve Vitek-2 için %90 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda Alexander ve ark. (56), Siqueira ve ark.(60), Cretella ve ark. (68) %18.75-85 EU ile çalışmamızdan daha düşük, Ingroff ve ark. (62), Pfaller ve ark. (64) %96-100 aralığında çalışmamıza benzer uyum oranları elde etmişlerdir. Vitek-2 ile yapılan çalışmalarda %94.4-100 aralığında çalışmamıza benzer uyum oranları saptanmıştır (57,66–69). Bu verilerin yanısıra Siqueira ve ark.'ının (60) araştırmalarında Vitek-2 ile EU düşük (%37.5) olarak saptanmıştır. Kategorik uyum hesaplanmasında, çalışmamızda her iki yöntem için de 24. saatte uyum oranı %100 olarak bulunmuştur. YeastOne ile yapılan çalışmalarda

çalışmamıza benzer uyum oranları %93-94 olarak saptanmıştır (56,68). Ancak Siqueira ve ark.'ının (60) (%56.25) çalışmalarında bu oran düşük olarak bildirilmiştir. Vitek-2 ile yapılan değerlendirmede yapılan çalışmalarda KU %90.6-100 aralığında çalışmamızla uyumlu sonuçlar bildirilmiş olmakla birlikte Cretella ve ark. (68) %86 olarak daha düşük uyum oranları saptamışlardır (57,67,69) .

Çalışmamızda *Candida tropicalis* suşlarının flukonazole duyarlılıklarının saptanmasında her iki yöntem için de hataya rastlanmamıştır. Literatürde ise YeastOne ile Siqueira ve ark. (60) %18.75 BH ve %25 KH saptarken, Vitek-2 ile Pfaller ve ark. (69) %4.7 BH ve %4.7 KH saptamışlardır .

İtrakonazol açısından değerlendirildiğinde *C.tropicalis* izolatlarının tamamı için SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları 0.03-0.12 µg/ml olarak saptanmıştır. *Candida tropicalis'*te EED'ye göre ≤0.5 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmektedir. Literatürde çalışmamıza benzer MİK aralıkları bulunmakla birlikte Alexander ve ark.'ının (56) çalışmaları dirençli <0.03-8 µg/ml izolatları da içermektedir (43,58,59). Çalışmamızda itrakonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.06 / 0.12 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda da Arıkan ve ark. 0.06 / 0.25 µg/ml ve Posteraro ve ark. (58) 0.12 / 0.25 µg/ml değerlerini elde etmişler, çalışmamızla uyumlu sonuçlar bildirmişlerdir.

Candida tropicalis için itrakonazol ile EU açısından yapılan değerlendirmemizde; uyum oranları YeastOne için %100 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda Odabaşı ve ark. (54) %100 olarak çalışmamıza benzer, Alexander ve ark. (56) %88 ile çalışmamızdan daha düşük oranlar bulmuşlardır. Bu türe ait itrakonazol için KSD belirtilmediğinden EED göz önünde bulundurularak yapılan KU hesaplanmasında; YeastOne için uyum oranı %100 olarak saptanmıştır. Alexander ve ark.'ının (56) çalışmalarında %32 olarak çalışmamızdan daha düşük uyum oranı bildirilmiştir.

Posakonazol için C. *tropicalis* türlerinde çalışmamızda EED'ye göre ≤0,06 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmiştir. *Candida tropicalis* izolatlarının tamamı için SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları 0.015-0.03 µg/ml olarak elde edilmiştir. Literatürdeki çalışmalar çalışmamızdan farklı olarak duyarlı suşların yanında dirençli suşları da içermektedir (43,56,59,62,64,65). Çalışmamızda posakonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.03 / 0.03 µg/ml olarak saptanmıştır.

Yapılan diğer çalışmalarda ise $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerlerinin dirençli olarak saptandığı veriler bildirilmiştir (59,62,64,65).

Çalışmamızda EU ve KU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %80 olarak saptanmıştır. Literatürde YeastOne ile yapılan çalışmalarda EU %98-100 olarak çalışmamıza göre daha yüksek uyum oranları bildirilmiştir (62,64).

Candida tropicalis izolatlarının vorikonazol SMD yöntemi ile 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.03-0.12 µg/ml olarak duyarlılık sınırları içindedir. Arıkan ve ark. (59) ≤0.015-0.06 µg/ml ve Bourgeois ve ark.'ının (67) <0.03-0.06 µg/ml buldukları MİK aralıkları da çalışmamıza benzer şekilde duyarlı suşları içermektedir. Bununla birlikte Alexander ve ark. (56), Borghi ve ark. (57), Cilo ve ark. (43), Ingroff ve ark. (62), Siqueira ve ark. (60), Pfaller ve ark.'ı (61,64,65) farklı zaman aralıklarında yaptıkları üç çalışmalarında da dirençli izolatları içeren MİK aralıkları saptamışlardır. Çalışmamızda vorikonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.06 / 0.12 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda bulunan $MİK_{50}$ değerleri çalışmamıza benzer olmakla birlikte $MİK_{90}$ değerinin orta duyarlı ya da dirençli olarak saptandığı araştırmalar bildirilmiştir (57,59,61,62,64,65,67).

Candida tropicalis izolatlarının vorikonazol ile EU oranları YeastOne için %80 ve Vitek-2 için %100 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan yayınlarda Alexander ve ark. (56) %76 EU ile çalışmamıza benzer, Ingroff ve ark. (62), Pfaller ve ark. (64) %100 uyum oranıyla çalışmamızdan yüksek uyum değerleri bildirmişlerdir. Bourgeois ve ark. (67), Pfaller ve ark. (61), Posteraro ve ark.'ı (66) da Vitek-2 ile yaptıkları çalışmalarında uyumu %100 olarak çalışmamızla aynı uyum oranını saptamışlardır. Siqueira ve ark. (60) çalışmamızdan ve literatürdeki diğer çalışmalardan farklı olarak YeastOne ile %18.75 oranında düşük uyum saptamışlardır.

Candida tropicalis izolatlarının vorikonazol ile yapılan KU hesaplanmasında; her iki yöntem için de uyum oranı çalışmamızda %100 olarak saptanmıştır. YeastOne için Alexander ve ark. (56) %97 uyum olarak çalışmamıza benzer; Siqueira ve ark. (60) %56.2 olarak çalışmamıza göre daha düşük uyum oranları saptamışlardır. Vitek-2 sistemi için ise %97.6-100 aralığında değişen ve çalışmamızla benzer uyum oranları bildirilmiştir (57,60,61,66,67). Çalışmamızda her

iki yöntemle de hataya rastlanmamışken, Siqueira ve ark. (60) vorikonazol için, YeastOne ile %18.7 BH ve %25 KH bildirmişlerdir.

Candida tropicalis izolatlarının isavukonazol için SMD yöntemi ile 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.008-0.06 µg/ml olarak elde edilmiş olup, Pfaller ve ark.'ı da bu değerleri 0.008-2 µg/ml olarak saptamışlardır. Aynı çalışmada araştırmacılar modu bizimle benzer şekilde 0.008 µg/ml olarak elde etmişlerdir. Çalışmamızda $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.015 / 0.06 µg/ml olup, Pfaller ve ark. 0.08 / 0.03 µg/ml olarak bulmuşlardır (65).

Anidulafungin için *C. tropicalis* izolatlarının SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.008-0.03 µg/ml olarak duyarlılık sınırları içinde bulunmuştur. Literatürdeki veriler çalışmamızla uyumlu olmakla birlikte Cilo ve ark.'ının (43) çalışmalarında orta duyarlı izolatları da içeren (≤0.015-0.5 µg/ml) MİK aralıkları bildirilmiştir (68,71). Çalışmamızda Anidulafungin için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.03 µg/ml olarak literatürle uyumlu olarak değerlendirilmiştir (71).

Çalışmamızda EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %70 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan çalışmalarda araştırmacılar EU'yu %100 olarak çalışmamızdan daha yüksek oranda saptamışlardır. Çalışmamızda KU YeastOne için %100 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda da araştırmacılar uyum oranlarını çalışmamıza benzer şekilde %100 olarak belirtmişlerdir (68,71,72).

Candida tropicalis izolatlarında mikafungin için SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.015-0.06 µg/ml'dır. Yapılan araştırmalar çalışmamıza benzer şekilde duyarlılık sınırları içinde saptanmıştır (58,59,68,70,71). Çalışmamızdan farklı olarak Pfaller ve ark. (71) yaptıkları çok merkezli çalışmalarındaki bir merkezinde ≤0.008-2 µg/ml dirençli izolatları da içeren MİK aralıkları bildirmişlerdir. Çalışmamızda bu antifungal için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.03 / 0.06 µg/ml olarak literatürle uyumlu olarak duyarlı saptanmıştır (59,66,70,71).

Çalışmamızda *Candida tropicalis* suşlarında mikafungin ile EU; YeastOne ve Vitek-2 için %100 olarak hesaplanmıştır. Yapılan çalışmalarda YeastOne için Pfaller ve ark. (71) ve Cretella ve ark.%100, Vitek-2 sistemi için ise Peterson ve ark. (70) bizim sonuçlarımızla benzer şekilde %100 uyum oranı bildirmişlerdir. Çalışmamızda

bu antifungal için KU %100 olup yapılan çalışmalarda çalışmamızla uyumlu olarak %100 uyum oranları bildirilmiştir (68,70,72).

Candida izolatlarının tümünde amfoterisin B için KSD belirlenmemiş olmakla birlikte genellikle EED'ye göre ≤2 µg/ml olarak bulunan değerler duyarlı olarak kabul edilmektedir. *Candida* izolatlarının tümünde SMD yöntemi ile 24. saatte MİK aralıkları <0.03-0.5 µg/ml olarak elde edilmiştir. Bu sonuçlar literatürdeki çoğu çalışma ile uyumlu olup duyarlılık sınırları içinde değerlendirilmiştir (56,57,63). Bununla birlikte Ingroff ve ark. (62) 0.5-8 µg/ml ve Pfaller ve ark. (61) 0.06-4 µg/ml yaptıkları çalışmalarında dirençli suşları da içeren MİK aralıkları bildirmişlerdir. Çalışmamızda amfoterisin B için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.12 / 0.25 µg/ml duyarlı olarak yorumlanmış, yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (57,61–63).

Çalışmamızdaki izolatların tamamıyla amfoterisin B ile EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %55.5 ve Vitek-2 için %50.8 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan çalışmalarda %92.2-100 aralığında, Vitek-2 ile yapılan çalışmalarda %99.1 oranında çalışmamıza göre daha yüksek EU'lar bildirilmiştir (56,61–63,73). Her iki yöntem için %100 bulduğumuz kategorik uyum, literatürde YeastOne için %72.6-88 ile çalışmamıza göre daha düşük, Vitek-2 için ise %99.5 olarak bildirilmiştir (56,57,61–63,74).

Candida izolatlarında flukonazol için SMD yöntemi ile 24. saatte MİK aralıkları 0.06-8 µg/ml olarak literatürle uyumlu dirençli suşları da içeren değerler saptanmıştır(56,57,62,63,69). Çalışmamızda bu antifungal için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.12 / 0.25 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda ise bu değerleri Bertaut ve ark. (63) ve Ingroff ve ark. (62)1 / >64 µg/ml, Pfaller ve ark. (69) ve Borghi ve ark. (57) 0.5 / 16 µg/ml olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %92.2 ve Vitek-2 için %85.9 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda Alexander ve ark. (56)ve Bertaut ve ark. (63) sırasıyla %82 / 70.6 olarak çalışmamızdan bir miktar düşük, Cretella ve ark. (68), Estrella ve ark. (74), Ingroff ve ark. (62), Pfaller ve ark. (64) %93-98 aralığında çalışmamıza benzer uyum oranları elde etmişlerdir. Cretella ve ark. (68), Esterella ve ark.'ının (74) Vitek-2 ile yaptığı çalışmalarında uyumu %92 ve %96.6 çalışmamıza göre daha yüksek olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda KU hesaplanmasında her iki yöntem için de uyum oranı %100 olarak saptanırken; araştırmacılar YeastOne ile yapılan çalışmalarda uyum oranlarını %83-87.3 aralığında çalışmamızdan daha düşük, Vitek-2 ile Borghi ve ark. (57) %92 olarak çalışmamıza benzer olarak saptamışlardır (56,63).

İtrakonazol açısından değerlendirildiğinde *Candida* izolatlarının tümünde SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları 0.03-0.5 µg/ml olarak saptanmıştır. Itrakonazol için sadece *C. albicans* için KSD belirlenmiştir, diğer türler için türe özgü EED'ye göre değerlendirme yapılmıştır. Çalışmamızdaki izolatların tümü duyarlılık sınırları içinde bulunmuştur. Diğer çalışmalarda ise araştırmacılar dirençli suşları da içeren daha geniş MİK aralıkları saptamışlardır (56,63). Çalışmamızda itrakonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.03 / 0.12 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda Bertout ve ark. (63) bu değerleri 0.06 / 0.5 µg/ml ve Alexander ve ark. (56) $MİK_{90}$ değerini 2 µg/ml olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *Candida* izolatlarının tümünde İtrakonazol ile EU ve KU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için sırasıyla %97 ve %100 olarak saptanmıştır. Esansiyel uyum açısından değerlendirildiğinde Alexander ve ark.'ı (56) EU'yu %97 oranında çalışmamıza benzer saptarken, yine aynı araştırıcılar KU'yu daha düşük %73 olarak saptamışlardır. Bir başka çalışmada ise Bertout ve ark. (63) her iki uyum açısından %83.3 EU ve %79.4 KU ile daha düşük uyum oranları bildirmişlerdir .

Candida türlerinde posakonazol için çalışmamızda EED'ye göre değerlendirme yapılmıştır. SMD yöntemi ile *Candida* izolatları için 24. saat MİK aralıkları <0.015-1 µg/ml olarak elde edilmiştir. Yapılan çalışmalarda <0.03->16 µg/ml aralığında araştırmacılar dirençli suşları da içeren MİK aralıkları saptamışlardır (56,62,63). Çalışmamızda posakonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.03 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda ise bu değerleri Bertout ve ark. (63) 0.06 / 2 µg/ml, Ingroff ve ark. (62) 0.25 / 2 µg/ml olarak elde etmişlerdir.

Candida türlerinde posakonazol ile EU açısından yapılan değerlendirmesinde; uyum oranları YeastOne için %93 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda Bertout ve ark. (63) %87.3 ile çalışmamızdan düşük, Ingroff ve ark. (62), Pfaller ve ark. (64) sırasıyla %96 ve

%92.3 olarak çalışmamızla benzer uyum oranları elde etmişlerdir. Posakonazol için yapılan KU hesaplanmasında; YeastOne için uyum oranı %97.6 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda iki *C. tropicalis* ve bir *C.albicans* izolatında olmak üzere 3 suşta %2.4 BH'ye rastlanmıştır.

Candida izolatlarının vorikonazol için SMD yöntemi ile 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.015-0.25 µg/ml olarak duyarlı ve orta duyarlı izolatları içermektedir. Diğer araştırmalarda ise çalışmamızdan farklı olarak dirençli suşların da bulunduğu MİK aralıklarını bildirilmiştir (56,57,61–63). Çalışmamızda vorikonazol için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.06 µg/ml olarak saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda Bertout ve ark. (63) 0.03 / 1, Borghi ve ark. (57) 0.5 / 16 µg/ml, Ingroff ve ark. (62) 0.12 / 2 µg/ml ve Pfaller ve ark. (61) ≤0.03 / 0.25 µg/ml değerlerini elde etmişlerdir.

Candida türlerinde vorikonazol ile çalışmamızda EU hesaplanmasında; uyum oranları YeastOne için %92.2 ve Vitek-2 için %45.3 olarak saptanmıştır. Literatürde YeastOne ile %95.3-98 arasında değişen çalışmamıza benzer uyum oranları elde edilen çalışmalarla birlikte, %80.4-85 EU saptayan Alexander ve ark. (56) ve Bertout ve ark.'nın (63) çalışmaları gibi daha düşük uyum oranları saptayan çalışmalar dikkat çekmektedir (56,62–64,74). Vitek-2 sistemi ile yapılan çalışmalarda ise çalışmamızdan farklı olarak %90'dan fazla EU oranları bildirilmiştir (57,61). Kategorik uyum hesaplanmasında; çalışmamızda YeastOne için %100 ve Vitek-2 için %96.9 uyum oranı saptanırken; YeastOne için bu oranı Alexander ve ark. (56) %97 ile benzer, Bertout ve ark. (63) %86.3 ile düşük olarak bildirmişlerdir. Vitek-2 sistemi için ise Borghi ve ark. (57)%98.2, Pfaller ve ark. (61) %98.6 ile çalışmamıza benzer şekilde çok yüksek uyumluluk oranları saptamışlardır.

Çalışmamızda vorikonazol için Vitek-2 ile saptadığımız hatalar nadir saptanan türlerden olan *C. dubliniensis, C. kefyr* ve *C. lusitaniae*'dan kaynaklanmaktadır. Bu izolatlar için KSD bulunmadığından EED kullanılarak uyum hesaplaması yapılmıştır; ancak Vitek-2 sisteminde en düşük MİK oranı olan ≤0.12 µg/ml bu suşlar için olan duyarlılık sınır değerinden yüksektir. Çalışmamızda Vitek-2 yöntemi ile %3.1 BH saptanırken, Pfaller ve ark. (61) %0.2 BH ve %1.2 KH bulmuşlardır. YeastOne ile çalışmamızda hata saptanmazken, literatürde Bertout ve ark. (63) %7.8 ÇBH, %2.9 BH, %2.9 KH Alexander ve ark. (56) %1 BH ve %2 KH

bildirmişlerdir. Estrella ve ark. 154 maya ile yaptıkları çalışmalarında Vitek-2 (beş izolat yavaş üreyen türler olduğu için Vitek ile MİK tayini yapılamamış) ile 2 ÇBH, 2 BH, 3 KH; YeastOne ile ise 2 BH 4 KH saptamışlardır (74).

İsavukonazol için klinik ve epidemiyolojik sınır değerler belirlenmemiştir. Çalışmamızda *Candida* izolatlarımızın tamamı için SMD yöntemi ile 24. saat MİK aralıkları 0.008-0.25 µg/ml olarak elde edilmiştir. Çalışmamızda $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri bu antifungal için 0.008 / 0.03 µg/ml olarak saptanmıştır.

Anidulafungin için *Candida* izolatlarının SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları <0.008-1 µg/ml olarak bulunmuştur. Çalışmamızda anidulafungin için $MİK_{50}$ / $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 0.5 µg/ml olarak saptanmıştır. Çalışmamızda EU açısından yapılan değerlendirmede; uyum oranları YeastOne için %93 olarak saptanmıştır. YeastOne ile yapılan iki çalışmada araştırmacılar EU'yu %96-98.7 olarak saptamışlardır. Bu oranlar sonuçlarımızdan yüksek olmakla birlikte çalışmamızla uyumludur. Kategorik uyum açısından yapılan değerlendirmede; YeastOne için uyum oranı %100 olarak saptanmıştır. Yine YeastOne ile yapılan diğer çalışmalarda da araştırmacılar uyum oranlarını çalışmamıza benzer şekilde %98.3-100 olarak belirtmişlerdir (43,68,71,72).

Mikafungin için tüm *Candida* suşlarında SMD yöntemiyle 24. saatte saptanan MİK aralıkları 0.015-1 µg/ml'dir. Peterson ve ark. (70) ≤0.015-8 µg/ml çalışmamızdan farklı olarak dirençli suşları da içereren MİK aralıkları elde etmişlerdir. Çalışmamızda $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 0.015 / 1 µg/ml saptanırken Peterson ve ark. (70) 0.06 / 1 µg/ml olarak çalışmamızla uyumlu sonuçlar bildirmişlerdir. Çalışmamızda hesaplanan EU; YeastOne için %98.4 ve Vitek-2 için %99.2 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda YeastOne için Pfaller ve ark. (71) çalışmalarında %100; Cretella ve ark. (68) %99 uyum, Vitek-2 sistemi için ise Peterson ve ark. (70) %98.6 uyum bildirmişler, bizim sonuçlarımızla uyumlu veriler elde etmişlerdir. Kategorik uyum çalışmamızda bu antifungal için %100 olup diğer çalışmalarda YeastOne ile KU %98-99.6 çalışmamızla uyumlu olarak bulunmuştur (68,70–72).

Ülkemizde flusitozinin kullanılan preparatı olmadığı için SMD yöntemi ile çalışılmamıştır. EED kullanılarak yapılan değerlendirmede; tüm izolatlarımız değerlendirildiğinde YeastOne için 124 (%99.2) suş vahşi tip olarak

değerlendirilirken, Vitek-2 için 124 (%99.2) suş vahşi olmayan tip olarak değerlendirilmiştir. *Candida kefyr* için EED bulunmadığı için değerlendirme dışında tutulmuştur. YeastOne ile bir *C. lusitaniae* suşu vahşi olmayan tip bulunurken, Vitek-2 ile bir *C. krusei* suşu vahşi tip olarak değerlendirmiştir.

Çalışmamızın eksik yönleri araştırmamızda kaspofungin ve flusitozin her iki ticari yöntemin de panelinde olmasına rağmen SMD yöntemi ile çalışılmamış olmasıdır. Ancak Vitek-2 ve YeastOne sonuçları tabloda verilmiştir. Çalışmamızın diğer bir kısıtlılığı ise bu ticari yöntemlerin direnci saptama yeteneği hakkındaki verilerimizin yetersizliğidir. Çalışmamızda sadece *C. parapsilosis* suşlarında ve *C. krusei* suşlarında flukonazole karşı direnç saptanmıştır. Daha doğru veriler elde edilmesi için çalışmaya daha fazla sayıda dirençli izolat eklenmelidir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Son yıllarda çeşitli sebeplerden dolayı artan immun süpresyonlu hasta sayısına paralel olarak kandidemi oranları artmıştır. Kandidemilerde erken ve etkili antifungal kullanımı hayati öneme sahiptir. Artan antifungal kullanımıyla birlikte özellikle azol grubu antifungallerde direnç gelişimi gözlenmeye başlanmıştır. Bu nedenle antifungal duyarlılık testi yapılması zorunludur. Referans yöntem olarak sıvı mikrodilüsyon testi önerilmektedir. Bununla birlikte SMD yöntemi emek yoğun ve 48 saate varan sonuç verme süresiyle rutin laboratuvar işleyişine entegrasyonu zor bir testtir. Tüm bu sebeplerden dolayı hızlı ve doğru sonuç veren alternatif yöntemler araştırılmak amacıyla çalışmamızda YeastOne ve Vitek-2 sistemi ile SMD yönteminin uyumu değerlendirilmiştir.

Kan kültürlerinden izole edilen 127 Candida suşu MALDI TOF-MS ile tanımlanmıştır. Bu tanımlamayla birlikte erken ampirik tedavi mümkün olmakla birlikte olası dirençler için mümkün olan en kısa sürede doğru antifungal sonuçları verilmeye çalışılmalıdır. Çalışmamızda özellikle *C. parapsilosis* suşlarındaki artan azol direnci dikkat çekmektedir.

Antifungal duyarlılık belirlenmesinde YeastOne yöntemi SMD yöntemi ile KU açısından yüksek oranda (≥%90) uyumlu bulunmuştur. EU değerlendirmesinde amfoterisin B ile *C. tropicalis* dışındaki diğer suşlarda düşük uyum oranları belirlenmiştir. Posakonazol ve vorikonazolün EU oranları özellikle *C. glabrata* ve *C. tropicalis* izolatlarındaki düşüklüğü dikkat çekmekle birlikte *C. glabrata* flukonazole karşı da düşük uyum oranları belirlenmiştir. Esansiyel uyumun düşük olduğu bu antifungal ve maya çiftleri dışında EU ve KU değerlerimiz kabul edilebilir değer olan %90 üzerinde saptanmış olup rutin laboratuvar işleyişinde klinisyene geniş seçenek sunan YeastOne sisteminin kullanılabileceği düşünülmüştür.

Antifungal duyarlılık belirlenmesinde diğer bir ticari yöntem olan Vitek-2 ile de KU oranları %100 olarak saptanmıştır. EU oranlarında ise amfoterisin B ile azol grubundan vorikonazol ve flukonazolle yapılan değerlendirmeler %90 altında uyum saptanmıştır. Vitek-2 sisteminin sadece beş dilüsyon ile sonuç veriyor olması bu durumun ortaya çıkmasına neden olabilir. Bununla birlikte saptanan mükemmel kategorik uyuma dayanarak bu sitemin rutin laboratuvarda kullanımının uygun

olacağı beklenmeyen MİK profilleri saptanması durumunda ise alternatif AFDT ile konfirmasyonu yapılabileceği düşünülmüştür.

En yeni antifungallerden biri olan isavukonazol artan flukanozol direnciyle birlikte kullanılabilecek güvenli bir alternatif olmakla birlikte bu antifungal için KSD ve EED değerleri henüz belirlenmemiştir. Çalışmamızın bu değerlerin belirlenmesinde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Sonuçlarımızdaki verilerin istanbul ilindeki klinisyenlere ampirik tedavi düzenlemelerinde yardımcı olabileceği düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Tümbay E. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ustaçelebi Ş, editor. Ankara: Öncü Basımevi-Güneş Kitabevi; 1999. 1081–1086 p.
2. Neppelenbroek KH, Urban VM, Jorge JH, Campanha NH, Grosso M, Grossa P, et al. Identification of Candida species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques. 2013;
3. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2016;62(4):e1–50.
4. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals : Analysis of 24 , 179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. 2004;0019(April 2003):309–17.
5. Cohen Y, Karoubi P, Adrie C, Marsepoil T, Zarka D. Early prediction of Candida glabrata fungemia in nonneutropenic critically ill patients. Crit Care Med. 2010;38(3):826–30.
6. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. 2007;20(1):133–63.
7. Berkow EL, Lockhart SR, Ostrosky-Zeichner L. Antifungal susceptibility testing: Current approaches. Clin Microbiol Rev. 2020;33(3):1–30.
8. Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A, Etiz P, Kibar F, et al. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida Türlerinin Dağiliminin Ve Antifungal Duyarliliklarinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2015;29(3):105–13.
9. Çerikçioğlu N. Candida Türleri. In: Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3th ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p. 2411–26.
10. Prokop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, et al. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 7th volume. China: Wolters Kluwer Health; 2017. 1322–1416 p.
11. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 8th ed. Philedalphia; 2016. 568–606 p.
12. Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Bille J, Donnelly JP, Jensen HE. ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012 : diagnostic procedures. Clin Microbiol Infect. 2012;18(suppl 7):9–18.
13. Jabeen K, Kumar H, Farooqi J, Mehboob R, Brandt ME, Zafar A. Agreement of direct antifungal susceptibility testing from positive blood culture bottles with the conventional method for Candida species. J Clin Microbiol. 2016;54(2):343–8.
14. Ener B. İn Vitro Antifungal Duyarlılık Testleri: Standardiasyon ve Klinik Önemi. 1996;30:419–25.
15. Alastruey-Izquierdo A, Melhem Msc, Bonfietti Lx, Rodriguez-Tudela Jl, Alastruey-Izquierdo

A, Melhem Msc, Et Al. Susceptibility Test For Fungi : Clinical And Laboratorial Correlations In Medical Mycology. Rev Inst Med Trop Sao Paulo [Internet]. 2015 Sep [cited 2020 Jul 11];57(1):57–64. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652015000800057&lng=en&tlng=en

16. Murray PR. Basic Medical Microbiology. 1st ed. Philedalphia; 2018. 184–220 p.
17. Çerikçioğlu N, Sancak B. mantarların genel özellikleri ve tanı yöntemleri. In: Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3th ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p. 2391–7.
18. Shiang NL, Hsien CC, Barton R, Bouchara JP, Tsung CC. Identification of medically important Candida and non-Candida yeast species by an oligonucleotide array. J Clin Microbiol. 2007;45(7):2220–9.
19. Koneman EW, Auren SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Wilm WC. Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philedalphia: Lippincott; 1997. 983–1069 p.
20. Koç AN. Tıbbi bakımdan önemi olan Candida türlerinin mikolojik özellikleri. In: Candida mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı. Eskişehir; 2002. p. 36–46.
21. Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. Clinical Mycology. 2nd ed. China: Churchill Livingstone; 2009. 15–28 p.
22. Gil ML, Lo L, Chaffin WLAJ, Wall CAC. Serologic Response to Cell Wall Mannoproteins and Proteins of Candida albicans. Clin Microbiol Rev. 1998;11(1):121–41.
23. Kiraz N. Klinik Örneklerden İzole Edilen Candida albicans Suşlarının Fenotiplendirilmesi ve Farklı Fenotiplerin Bazı Antifungal Maddelere Duyarlılıklarının Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi; 1996.
24. Howell SA, Hazen KC, Brandt ME, Brant ME. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW, editors. Washington DC: ASM Press; 2015. 1986–2014 p.
25. İnci R. Candida infeksiyonlarının patogenezinde konağın rolü. In: Candida mikrobiyolojisi ve infeksiyonları simpozyumu kitabı. Eskişehir; 2002. p. 71–85.
26. Kojic EM, Darouiche RO, Biofilms C. Candida Infections of Medical Devices. Clin Microbiol Rev. 2004;17(2):255–67.
27. Yücel A, KantarcıoğLu AS. Candida'ların patojenlik belirtgenleri. Cerrahpaşa Tıp Derg. 2000;30(3):72–86.
28. Kanbe T, Han Y, Redgrave B, Riesselman MH, Cutler JIME. Evidence that Mannans of Candida albicans Are Responsible for Adherence of Yeast Forms to Spleen and Lymph Node Tissue. Infect Immun. 1993;61(6):2578–84.
29. Lionakis MS, Edwards JE. Candida Species. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th ed. Philedalphia: Elsevier; 2020. p. 3087–102.
30. Hilmioğlu S. Candida infeksiyonlarının laboratuvar tanısı. In: Candida mikrobiyolojisi ve

infeksiyonları simpozyumu kitabı. Eskişehir; 2002. p. 125–31.
31. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. Clin Microbiol Rev. 2006;19(4):788–802.
32. Epelbaum O, Chasan R. Candidemia in the Intensive Care Unit. Clin Chest Med [Internet]. 2017;38(3):493–509. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ccm.2017.04.010
33. Wilke Topçu A, Çerikçioğlu N. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 4th ed. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2017. 2115–2129 p.
34. Katzung B. Basic Clinical Pharmacology. 14th ed. Katzung BC, editor. San Francisco: McGraw-Hill; 2018. 853–862 p.
35. Prasad R, Nair R, Banerjee A. Multidrug transporters of Candida species in clinical azole resistance. Fungal Genet Biol [Internet]. 2019;132(June):103252. Available from: https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.103252
36. Sinawe H, Casadesus D. Ketoconazole [Internet]. StatPearls [Internet]. 2020. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559221/
37. Olson JM, Syed SYB, Goyal A. Microtubule Assembly Inhibitors (Griseofulvin) [Internet]. StatPearls. Treasure Island (FL). 2020. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30726008/
38. Ernst EJ, Klepser ME, Pfaller MA. Postantifungal Effects of Echinocandin , Azole , and Polyene Antifungal Agents against Candida albicans and Cryptococcus neoformans. Antimikrobial Agents Chemother. 2000;44(4):1108–11.
39. Gregori C, Glaser W, Frohner IE, Reinoso-martín C, Rupp S, Kuchler K. Efg1 Controls Caspofungin-Induced Cell Aggregation of Candida albicans through the Adhesin Als1. Eucaryotic Cell. 2011;10(12):1694–704.
40. Nedret Koç A, Üniversitesi E, Fakültesi T, Mikrobiyoloji T, Dalı A. Antifungal Duyarlılık Testleri Ve Klinik Önemi. 2012;26(Ek 2):270–6.
41. KantarcıoğLu AS, Yücel A. Derin mikozların epidemiyolojisi; antifungal profilaksi ile ilgili görüşler ve antifungal duyarlılık deneyleri. CERRAHPAŞA TIP DERGİSİ. 2000;32(3):84–99.
42. National Committee for Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing for Yeasts; Proposed Standard. Document M27-P. National Commit- tee for Laboratory Standards. 1992;63.
43. Cilo BD, Topaç T, Ağca H, Sağlam S, Efe K, Ener B. Candida İzolatlarinin Antifungal Duyarliliğinin Belirlenmesinde Klinik Laboratuvar Standartlari Enstitüsü (CLSI) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlilik Testleri Komitesi (EUCAST) Sivi Mikrodilüsyon Yöntemlerinin Karşilaştirilmasi. Mikrobiyol Bul. 2018;52(1):35–48.
44. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. CLSI supplement M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 1st ed. 2017.
45. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for

interpretation of MICs for antifungal agents, version 10.0, 2020. http://www.eucast.org/astoffungi/clinicalbreakpointsforantifungals/. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_50_Breakpoint_Table_01.pdf [Internet]. 2020;0–77. Available from: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_5.0_Breakpoint_Table_01.pdf

46. Hazen KC, Howell SA. Mycology and Antifungal Susceptibility Testing. In: Leber AL, Hazen KC, Howell SA, editors. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 4th ed. Columbus, Ohio: ASM Press; 2016. p. volume 2 section 8.
47. CLSI. Reference Method for Broth Dilution. Clin Lab Stand Inst [Internet]. 2008;3(April). Available from: https://clsi.org/media/1461/m27a.pdf
48. WANGER A, MILLS K, NELSON PW, REX JH. Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for azole antifungal susceptibility testing. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39(11):2520–2.
49. Poyraz Ö. Fırsatçı Enfeksiyon Oluşturan Mantarlar. Genel ve Özel Tıbbi Mikoloji. 2006;101:53–6.
50. Knabl L, Lass-flörl C. Antifungal susceptibility testing in Candida species: current methods and promising new tools for shortening the turnaround time. Expert Rev Anti Infect Ther [Internet]. 2020; Available from: https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1760841
51. Wong KY, Gardam D, Boan P. Comparison of Vitek 2 YS08 with Sensititre YeastOne for Candida susceptibility testing. Pathology [Internet]. 2019;51(6):668–9. Available from: https://doi.org/10.1016/j.pathol.2019.05.005
52. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 3rd ed. CLSI document M27-A3. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
53. Clinical and Laboratory Standards Institute C. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Forth Informational Supplement - M27-S4. Clin Lab Standars Inst - NCCLS. 2012;
54. Odabaşı H. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida Türlerinin Tanimlanmasinda ve Antifungal Duyarliliğinin Araştirilmasinda Standart Yöntemler İle Yeni Yöntemlerin Karşilaştirilmasi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2016.
55. Guidance for Industry and FDA. Class II Special Controls Guidance Document : Antimicrobial Susceptibility Test Systems. 2009;1–42.
56. Alexander BD, Byrne TC, Smith KL, Hanson KE, Anstrom KJ, Perfect JR, et al. Comparative Evaluation of Etest and Sensititre YeastOne Panels against the Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 Reference Broth Microdilution Method for Testing Candida Susceptibility to Seven Antifungal Agents □. 2007;45(3):698–706.
57. Borghi E, Iatta R, Sciota R, Biassoni C, Cuna T, Montagna MT, et al. Comparative evaluation of the Vitek 2 yeast susceptibility test and CLSI broth microdilution reference method for

testing antifungal susceptibility of invasive fungal isolates in Italy: The GISIA3 study. J Clin Microbiol. 2010;48(9):3153–7.

58. Posteraro B, Spanu T, Fiori B, Maio F De, Carolis E De, Giaquinto A, et al. Antifungal Susceptibility Profiles of Bloodstream Yeast Isolates by Sensititre YeastOne over Nine Years at a Large Italian Teaching Hospital. 2015;59(7):3944–55.
59. Arikan-Akdagli S, Gülmez D, Doğan Ö, Çerikçioğlu N, Doluca Dereli M, Birinci A, et al. First multicentre report of in vitro resistance rates in candidaemia isolates in Turkey. J Glob Antimicrob Resist. 2019;18:230–4.
60. Siqueira RA, Doi AM, de Petrus Crossara PP, Koga PCM, Marques AG, Nunes FG, et al. Evaluation of two commercial methods for the susceptibility testing of Candida species: Vitek 2® and Sensititre YeastOne®. Rev Iberoam Micol [Internet]. 2018;35(2):83–7. Available from: https://doi.org/10.1016/j.riam.2017.11.001
61. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing amphotericin B, flucytosine, and voriconazole against Candida spp. J Clin Microbiol. 2007;45(11):3522–8.
62. Espinel-Ingroff A, Pfaller M, Messer SA, Knapp CC, Holliday N, Killian SB. Multicenter Comparison of the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Panel with the NCCLS M27-A2 Reference Method for Testing New Antifungal Agents against Clinical Isolates of Candida spp. J Clin Microbiol. 2004;42(2):718–21.
63. Bertout S, Dunyach C, Drakulovski P, Reynes J, Mallié M. Efficacité comparée du Sensititre YeastOne ® versus la microméthode de référence du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M27-A3 sur 102 souches de levures pour huit antifongiques. Pathol Biol. 2011;59(1):48–51.
64. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Jones RN. Clinical evaluation of the sensititre YeastOne colorimetric antifungal plate for antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posaconazole, and ravuconazole. J Clin Microbiol. 2004;42(10):4577–80.
65. Pfaller MA, Rhomberg PR, Wiederhold NP, Gibas C, Sanders C, Fan H, et al. In vitro activity of isavuconazole against opportunistic fungal pathogens from two mycology reference laboratories. Antimicrob Agents Chemother. 2018;62(10):1–14.
66. Posteraro B, Martucci R, La Sorda M, Fiori B, Sanglard D, De Carolis E, et al. Reliability of the vitek 2 yeast susceptibility test for detection of in vitro resistance to fluconazole and voriconazole in clinical isolates of Candida albicans and Candida glabrata. J Clin Microbiol. 2009;47(6):1927–30.
67. Bourgeois N, Dehandschoewercker L, Bertout S, Bousquet PJ, Rispail P, Lachaud L. Antifungal susceptibility of 205 Candida spp. isolated primarily during invasive Candidiasis and comparison of the Vitek 2 system with the CLSI broth microdilution and etest methods. J Clin Microbiol. 2010;48(1):154–61.
68. Cretella D, Barber KE, King ST, Stover KR. Comparison of susceptibility patterns using

commercially available susceptibility testing methods performed on prevalent Candida spp. J Med Microbiol. 2016;65(12):1445–51.

69. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Wiederholdc NP. Multicenter evaluation of the new vitek 2 yeast susceptibility test using new CLSI clinical breakpoints for fluconazole. J Clin Microbiol. 2014;52(6):2126–30.
70. Peterson JF, Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Riebe KM, Ledeboer NA. Multicenter comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing caspofungin, micafungin, and posaconazole against Candida spp. J Clin Microbiol. 2011;49(5):1765–71.
71. Pfaller MA, Chaturvedi V, Diekema DJ, Ghannoum MA, Holliday NM, Killian SB, et al. Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel for antifungal susceptibility testing of the echinocandins anidulafungin, caspofungin, and micafungin. J Clin Microbiol. 2008;46(7):2155–9.
72. Pfaller MA, Chaturvedi V, Diekema DJ, Ghannoum MA, Holliday NM, Killian SB, et al. Comparison of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel with CLSI microdilution for antifungal susceptibility testing of the echinocandins against Candida spp ., using new clinical breakpoints and epidemiological cutoff values ☆. Diagn Microbiol Infect Dis. 2012;73(4):365–8.
73. Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: Diagnostic procedures. Clin Microbiol Infect. 2012;18(SUPPL.7):9–18.
74. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Bernal-Martinez L, Cuesta I, Buitrago MJ, et al. Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) broth microdilution reference methods and with the Sensititre Ye. J Clin Microbiol. 2010;48(5):1782–6.