

Candida ve Kandidoz: Epidemiyoloji, Tanı, Tedavi, Antifungal İlaç Direnci ve Konağın Genetik Yatkınlığında Güncel Durum

Seyedmojtaba SEYEDMOUSAVI*,**,***, Macit İLKİT****, Murat DURDU*****, Çağrı ERGİN*****, Süleyha HİLMİOĞLU-POLAT*****, Willem MELCHERS*, Paul VERWEIJ*

* Radboud Üniversitesi Tıp Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

** Erasmus Üniversitesi Tıp Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı

*** Mazenderan Tıp Bilimleri Üniversitesi, İnvaziv Mantar Araştırma Merkezi

**** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

***** Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Bölümü

***** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

***** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Candida türleri, ökaryot fırsatçı patojenler olup hastane enfeksiyonu etkenleri arasında dünyada ön sıralarda yer almaktadır. Amerika'da hastanelerde gelişen nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarının dördüncü sıklıktaki etkeni *Candida* türleridir. Avrupa'da kandidemi oranı ise her 100.000 kişide 1.2 ile 11 arasında değişmektedir. *Candida*'ların 200'den fazla türü bulunur, bunlar arasında dissemine kandidoz ile invazif olmayan deri ve mukoza kandidozlarının en sık nedeni *Candida albicans*'tır. Bununla birlikte, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. dubliniensis* ve *C. guilliermondii* gibi *albicans*-dışı *Candida* türlerine bağlı kandidoz insidansı artmaktadır. *Candida* enfeksiyonunun hangi klinik şekilde sonlanacağı primer olarak konak savunması tarafından belirlenir. Klinik tablolar, deri ve mukoza kandidozları ile derin yerleşimli enfeksiyonlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Deri ve mukoza enfeksiyonları içerisinde pamukçuk, *Candida* özefajiti, özefagus-dışı gastrointestinal kandidoz, *Candida* vajiniti ve deri kandidozu yer alır. Derin yerleşimli enfeksiyonlar; kronik dissemine kandidoz (hepatosplenik kandidoz), kandidemi ve çeşitli organların kandidozunu içerir. Mantar, invazif enfeksiyon oluşturmaya yardımcı olabilecek olan, proteinaz ve lipaz gibi enzimleri salgılaya yeteneğindedir. Ancak, bu enzimlerin klinik açıdan önemi henüz aydınlatılmamıştır. Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Derneğinin Mikoz Çalışma Grubu (IDSA) ve Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneğinin Mantar Çalışma Grubu (ESCMID), farklı hasta gruplarında invazif kandidozun tedavisini için pratik kılavuzlar yayınlamışlardır. Vurgulanması gerekli bir diğer hususta, tedavi için önemli ölçütlerden birisinin de antifungal ilaç direnci olduğudur. *Candida* türleri, ilaçların hücre içerisine birikimini azaltan dışa atım pompalarının salınımı ile, antifungal hedef proteinlerinin yoğunluğunu ve yapısını değiştirerek veya hücre zarındaki sterol bileşimini değiştirerek antifungal ilaçlara karşı direnç geliştirebilirler. Ayrıca, kandidozların gelişmesinde genel risk faktörlerinin (örnek: bağışıklık sisteminin baskılanması) rolü önemli olmasına rağmen, bu durum tüm *Candida* enfeksiyonlarının gelişimini açıklamak için yeterli değildir. Birçok araştırmada; genetik farklılıklar ile kandidoz riski artışı arasında bir ilişkinin olduğu, mukoza kandidozu ve sistemik kandidozu ayırt ettirici farklı genetik yapıların bulunduğu bildirilmiştir. Bu makalede, *Candida* cinsi maya mantarlarının neden olduğu enfeksiyonların epidemiyolojisi, tanısı, tedavisi, antifungal ilaç direnci ve konak genetik yatkınlıklarına ilişkin güncel bilgiler özetlenmektedir.

Anahtar kelimeler: *Candida* türleri, kandidoz, epidemiyoloji, antifungal ilaç direnci, genetik yatkınlık

SUMMARY

***Candida* and Candidosis: Updates on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, Antifungal Drug Resistance, and Host Genetic Susceptibility**

Candida species are eukaryotic fungal pathogens known to be aetiological agents of opportunistic and nosocomial infections in humans worldwide. *Candida* spp. are the fourth most common cause of nosocomial bloodstream infections acquired in hospitals in the United States. In Europe, candidemia rates vary between 1.2 and 11 per 100,000 population. There are over 200 species of *Candida* yeasts; among them, *Candida albicans* is the most common cause of disseminated and non-invasive mucocutaneous diseases. However, the incidence of candidosis due to non-*albicans* *Candida* spp. is increasing, including: *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. dubliniensis* and *C. guilliermondii*. The clinical outcome of *Candida* infections is primarily determined by the host's defense status and can be divided into mucocutaneous infections and deep-seated infections. Mucocutaneous infections include thrush, *Candida* esophagitis, nonesophageal gastrointestinal candidosis, *Candida* vaginitis, and cutaneous candidosis syndromes. Deep-seated infections include chronic disseminated candidosis (hepatosplenic candidosis), candidemia, and candidosis of various organ systems. The fungus is capable of secreting proteinases and lipases that can assist invasion, although the clinical importance of these enzymes is not clear.

Both the Mycoses Study Group of the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the Infectious Diseases Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) have published practice guidelines for the treatment of invasive candidosis in various patient populations. Of note, antifungal drug resistance was an important factor that needed to be considered for treatment. *Candida* spp. became resistant to antifungal agents due to the expression of efflux pumps that reduces drug accumulation, alteration of the structure or concentration of antifungal target proteins, and alteration of membrane sterol composition. Moreover, despite the important role played by general risk factors, i.e., an immunocompromised immune system, they did not explain all cases of infection. Several studies reported a link between genetic variation and an increased risk for *Candida* infections, with a different genetic pattern being discerned between mucosal and systemic candidosis. This article summarizes up-to-date information on the epidemiology, diagnosis, and treatment of infections caused by the genus *Candida*, as well as antifungal drug resistance and host genetic susceptibility in affected patients.

Key words: *Candida* spp., candidosis, epidemiology, antifungal drug resistance, host genetic susceptibility

Alındığı tarih: 02.09.2015

Kabul tarihi: 16.10.2015

Yazışma adresleri: Seyedmojtaba Seyedmousavi, Radboud Üniversitesi Tıp Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Nijmegen, Hollanda
e-posta: s.seyedmousavi@gmail.com
Macit Ilkit, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balcalı, Adana
e-posta: macitilkit@gmail.com

GİRİŞ

Candida cinsine ilişkin maya mantarları insanlarda deri ve gastrointestinal sistem, genitouriner sistem ve solunum sistemi mukozalarının normal florasında yer alır, ayrıca toprak ve besinlerde bulunabilir. *Candida*'ların 200'den fazla sayıda türü bulunmakla birlikte, bunlar arasında invazif olmayan deri ve mukoza kandidozuna en sık neden olan tür *Candida albicans*'tır. Bununla birlikte, kandidoz etkeni *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* ve *C. guilliermondii* gibi albicans-dışı *Candida* türlerinin insidansında %50'den fazla artış görülmüştür^(1,2).

EPİDEMİYOLOJİ

Yeni epidemiyolojik çalışmalar, kandidoz sıklığının 100.000'de 1.2 ile 25 arasında değiştiğini göstermiştir^(3,4). *Candida* cinsi maya mantarları, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) hastanelerinde kan dolaşımı enfeksiyonlarının dördüncü (%8) sıklıkta görülen etkenidir. İnvazif kandidoz ile ilişkili mortalite önemlidir. Fransa'da yapılan toplum temelli yeni bir çalışmada, kandidemi ile ilişkili ölüm oranı %40 olarak bulunmuştur⁽⁵⁾. İnvazif *Candida* enfeksiyonlarının %50'sinden fazlası albicans-dışı *Candida* türlerine bağlı gelişir^(1,2). İnvazif kandidozlu hastaları içeren bir prospektif sürveyans programında, 2004 ile 2008 yılları arasında 2.496 albicans-dışı *Candida* enfeksiyon atağı saptanmıştır. Bu ataklarda saptanan türler, sıklığa göre, *C. glabrata* (%46.4), *C. parapsilosis* (%24.7), *C. tropicalis* (%13.9), *C. krusei* (%5.5), *C. lusitaniae* (%1.6), *C. dubliniensis* (%1.5) ve *C. guilliermondii* (%0.4)'dir. Kandidozların %4.4'ünde iki veya daha fazla sayıda *Candida* türü belirlenmiştir⁽¹⁾. Bu çalışmaya bir veya daha fazla sayıda hasta ile katılan 24 merkezin 15 (%62.5)'inde invazif kandidoz olgularının %50'sinden fazlasında albicans-dışı *Candida* türlerinin etken olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, 16 randomize kontrollü çalış-

manın meta-analizi; kemik iliği nakli yapılmamış nötropenik hastalarda flukonazol profilaksisi uygulanmasının, *Candida* ile ilişkili mortalite oranını ve sistemik mantar enfeksiyonlarının ortaya çıkmasını azaltmadığını göstermiştir⁽⁶⁾. Ayrıca, kemik iliği kök hücre nakli yapılan erişkin hastalarda invazif kandidoza bağlı mortalite oranı (%48.9) invazif aspergilloza bağlı mortaliteden (%35.5) daha yüksek bulunmuştur^(7,8).

Candida'ların fırsatçı patojen olduğunu gösteren birçok örnek bilinmektedir. Das ve ark.⁽⁹⁾; *Candida*'ların etken olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarının %92'sinde, bu enfeksiyonların öncesinde, normal bakteri florasını baskılayan ve mukozanın mantar kolonizasyonunu önleyen doğal antagonistlerin etkisini ortadan kaldıran geniş etki alanlı antibiyotik kullanıldığını göstermişlerdir.

İntraabdominal büyük cerrahi girişimler de *Candida* enfeksiyonları için risk oluşturur. Bir kohort çalışmasında, kandidemili 107 hastanın %50'sinde kısa süre önce bir cerrahi girişimin bulunduğu vurgulanmıştır⁽⁹⁾. Ayrıca, glukokortikoid ve diğer immünoşüpresif ilaç tedavisi alan sistemik lupus eritematozus hastalarında, sıklıkla *Candida* türlerinin neden olduğu invazif mantar enfeksiyonlarının riski artmıştır⁽¹⁰⁾. Nötropeni saptanan AIDS ve onkoloji hastaları hemen daima orofaringeal ve özefageyal kandidoz geçirirler^(11,12).

PATOJENİTE

Kandidoza karşı konak savunmasının önemli bir özelliği, bütünlüğü bozulmamış deri bariyeridir. Bununla birlikte, dış dünyaya karşı korunmayı sağlayan bu bariyer zarar gördüğünde veya tıbbi aletler ya da cerrahi işlemler sonucu kırıldığında, *C. albicans* gibi patojenler için giriş kapısı oluşturur.

Candida türlerinin, epitel hücrelerine (özellikle *C. albicans*) veya damar içi ve üretra kateterleri (*C. tropicalis*) gibi plastik polimerlere yapışma yeteneklerinin virülans ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu mantarların, proteazlar ve invazyonu kolaylaştırabilen lipazları salgılayabilme yetenekleri de olmasına rağmen, bu enzimlerin klinik önemi bilinmemektedir⁽¹³⁾.

Hastalarda kandidoz gelişmeden önce, o etkenle hangi yoğunlukta kolonize oldukları da enfeksiyonun gelişmesinde önemli rol oynar. Kandidoz, tipik olarak uzun süre hastanede yatan hastaları etkiler. *Candida*'lara bağlı kan dolaşımı enfeksiyonlarının %51'i yoğun bakıma yatırılma ile ilişkilidir⁽⁹⁾. Patogeneze katkıda bulunan bir diğer etmen; santral venöz kateter, kontakt lens, rahim içi araç ve kalp pili gibi tıbbi aletlerde, biyofilm oluşturabilen *Candida* türlerinin bulunmasıdır^(14,15). Geniş etki alanlı antibiyofilm bileşeni olan toremifenin kullanımının, *Candida*'lar tarafından biyofilm oluşumunu azalttığı gösterilmiştir. Bu durum, özellikle katetere bağlı tekrarlayan enfeksiyon gelişen hastalarda, *Candida* ve diğer biyofilm oluşan bakteri enfeksiyonlarının önlenmesinde önemli bir gelişmedir⁽¹⁶⁾.

Enfeksiyonun hangi klinik tablo ile sonuçlanacağı, primer olarak konak savunmasının duruma göre belirlenir. Dermise veya kan dolaşımına invazyon sonrası ilk savunmayı nötrofiller oluştururken, bunu oksidatif ve non-oksidatif yollar ile *Candida* türlerini öldürebilen monositler ve eozinofiller izler. Özellikle nötropenik hastaların kandidoz gelişimi açısından risk altında olmaları *Candida*'lara karşı konak savunmasında nötrofillerin önemini vurgular.

KLİNİK BULGULAR

Candida enfeksiyonlarının klinik şekilleri, deri ve mukoza enfeksiyonları ve derin yerleşimli kandidozlar olmak üzere iki ayrı başlıkta incele-

nir. Deri ve mukoza enfeksiyonları; pamukçuk, *Candida* özefajiti, non-özefagiyal gastrointestinal kandidoz, *Candida* vaginitisi ve deri kandidozunu içerir. Derin yerleşimli enfeksiyonlar ise kronik dissemine kandidoz (hepatosplenik kandidoz), kandidemi ve çeşitli organların kandidozudur.

Son yıllarda kandidoza bağlı farklı klinik tablolar bildirilmiştir. Kronik mukokütanöz kandidoz; deri, mukozalar veya tırnakların *Candida* cinsi mantarlar ile kronik ve tedaviye dirençli enfeksiyonları ile özellenen, nadir ve kompleks bir hastalıktır. Chambô Filho ve ark.⁽¹⁷⁾ meme başında deri boynuzu şeklinde ortaya çıkan bir kronik mukokütanöz kandidoz olgusunu rapor etmişlerdir. Vaskülitli bir hastada ise *Candida albicans*'a bağlı penil miçetoma, ilk kez bildirilmiştir⁽¹⁸⁾.

Candida'ların deride follikülite de neden olduğu bilinmektedir. Son yıllarda havalandırma sistemlerine bağlı *Malassezia* folliküliti benzeri klinik bulgular gösteren *Candida* folliküliti epidemisi bildirilmiştir⁽¹⁹⁾. Kronik paronişi olgularında bakteriler ile birlikte mantarların da rol oynadığı bilinmektedir. Kronik paronişili 80 hastada yapılan bir çalışmada hastaların %47.6'sında *Candida* alerjenleri ile prick test pozitif olarak saptanmış ve kronik paronişinin gelişiminde *Candida* hipersensitivitesinin de rol oynadığı ileri sürülmüştür⁽²⁰⁾.

CANDIDA ENFEKSİYONLARINA GENETİK YATKINLIK

Bağışıklık sisteminin baskılanması gibi genel kolaylaştırıcı etmenlerin önemli rolünün olduğunun bilinmesine rağmen, bu durum tüm enfeksiyonların oluşmasını açıklamaz. *Candida* enfeksiyonlarına yatkınlığın belirlenmesinde genetik faktörlerin de önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Birçok araştırmada; genetik farklılıklar ve *Candida* enfeksiyonlarına ilişkin risk artışı arasında bir ilişkinin olduğu, mukoza kandidozu ile

sistemik kandidozu ayırt ettirici farklı genetik yapıların bulunduğu saptanmıştır^(21,22).

Bu duruma bir örnek, mukoza kandidozuna yakınlıkta dektin-1 polimorfizminin rolü olduğu. Avrupa'luların %8'inden fazlasında ve bazı sahra-altı Afrika topluluklarının %40'ından fazlasında bu polimorfizmin bulunması⁽²³⁾ ve hematolojik hastalığı olanlarda tedavi ile mukozaların *Candida* kolonizasyonu arasındaki ilişki önemlidir⁽²⁴⁾. *TLR1*, *TLR2* (*R753Q*) ve *TLR4* genlerinde tek nükleotid polimorfizminin kandidemiye yakınlığa neden olduğu gösterilmiştir⁽²⁵⁾. Bir diğer çalışmada ise *L12F TLR3* polimorfizminin deri kandidozu, oto-immünite ve CMV enfeksiyonunu artırdığı ileri sürülmüştür⁽²⁶⁾.

Ayrıca, çözülebilir PRR MBL'yi kodlayan *MBL2* ve *NLRP3* inflamazomunun reseptör subunitini kodlayan *NLRP3* genindeki polimorfizmler rekürren vulva-vagina kandidozu riskini artırabilir^(27,28). Pek çok sitokindeki genetik farklılıklar, bu sitokinlerin patojenleri tanımda ilk adımdaki görevleri yanısıra, kandidoz için risk artışını da ifade eder. *IL-4*'de -1089T/G, -589C/T ve -33C/T polimorfizminin kronik dissemine kandidoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir⁽²⁹⁾. Beta-defensin 1'i kodlayan *DEFB*'de -44C/G polimorfizminin *Candida* taşıyıcılığının artması ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür⁽³⁰⁾.

Diğer yandan, primer bağışık yetmezlikli hastalarda ciddi *Candida* enfeksiyonunun gelişiminden sorumlu pek çok mutasyon bulunmuştur. Glocker ve ark.⁽³¹⁾ dektin-1'in sinyalini azaltan bir protein kodlayan *CARD9* geninde, homozigot mutasyonun, hem mukoza hem de invazif *Candida* enfeksiyonuna yakınlığı artırdığını bildirmiştir. Son yıllarda, INF reseptör tip I ve tip II yanında *IL-23* ve *IL-12* reseptörlerinin (*STAT3* veya *STAT4* ile heterodimer olarak) azalmasını sağlayan bir molekül olan *STAT1*'in CC-bölgesinde mutasyon gelişmesinin, otozomal dominant mukokutanöz kandidozun ana

sebebi olduğu gösterilmiştir⁽³²⁾. Ayrıca, "Otozomal Resesif Otoimmün Poliendokrinopati" (APECED sendromu= ektodermal displazi) bulunan hastalarda yalnızca mukokutanöz kandidoz değil, ayrıca başka otoimmün sorunlar da görülebilmektedir⁽³³⁾. APECED sendromu, otoimmün düzenleyici gende mutasyon ile ilişkilendirilmiştir⁽³⁴⁾. Bu gen mutasyonu işlev kaybı ile sonuçlanarak *IL-17E*, *IL-17F* ve *IL-2* gibi antifungal özelliği olan önemli sitokinlere karşı nötralizan antikorlar üretilmesine neden olur⁽³⁵⁾. Sitokinler ve onların reseptörlerini kodlayan genlerdeki mutasyonun *Candida* enfeksiyonu ile ilişkili olduğu savunulmuştur. Örneğin, *IL-12Rb1* eksikliği mukokutanöz *Candida* enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiş, ayrıca bu hastaların invazif kandidozu yakınlığının arttığı bildirilmiştir^(21,22). Bir diğer çalışmada ise *IL-10* gen polimorfizmi olanlarda invazif kandidozu yakınlık saptanmıştır⁽³⁶⁾.

TANI

Candida türleri basit kültür ortamlarında aerop koşullarda, 25-37°C'de ve 24-72 saatte ürerler. Özel kültür ortamında, hif veya uzamış yalancı hif oluştururlar. *Candida* türleri rutin havalandırılmış kan kültürü şişelerinde ve agar plaklarında düz, kremi-beyaz maya kolonileri oluştururlar. Seçici kültür ortamında (CHROMagar *Candida*) *C. albicans* ile albicans-dışı *Candida* türlerinin kolaylıkla ayırt edilebileceği gösterilmiştir.

Dissemine hastalıkta, ticari kan kültür sistemleri kullanılarak olguların yaklaşık %80'inde etken üretilebilir, ancak bu oran sisteme, türe ve yöneme göre değişebilir. Eşlik eden bakteriyemiye saptamada, BacT/Alert sistemi ile karşılaştırıldığında, Bactec sisteminin performansının daha iyi olduğu belirlenmiştir⁽³⁷⁾. Kültür için arter kanı alındığında, kültürlerin inkübasyon süresinin uzatılması gerekir. İnkübasyon süresinin uzatılması, olağan inkübasyon süresinde üreme-

yebilen *C. glabrata* kökenlerinin de üretilme olasılığını artırır⁽³⁾. Bununla birlikte, bifazik kültür gibi yeni geliştirilmiş kültür sistemleri ve lizis-santrifüj yöntemi, tanı değerini büyük ölçüde artırır⁽³⁸⁾. Tek seferde alınması önerilen kan kültürü sayısı üç olmalıdır. Kültür için alınması gereken toplam kan miktarı yaşa göre değişmekle birlikte erişkinde 40-60 mL, 2 kilonun altındaki çocuklarda 2-4 mL, 2 ile 12 kilo arasındaki çocuklarda 6 mL, 12 ile 36 kg arasındaki çocuklarda ise 20 mL'dir. Kültür için alınacak kan; farklı bölgelerden ve uygun zamanda alınmalı, bu amaçla venöz kan tercih edilmelidir⁽³⁹⁾. Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) *Candida* türleri de dahil olmak üzere çeşitli maya mantarlarını büyük bir başarı ile tanımlamış ve rutin laboratuvar uygulamalarında kullanımını artırmıştır. MALDI-TOF MS'in klinik laboratuvarlarda mantar izolatlarını tanımlamada kullanılan klasik yöntemlere göre, çok kısa sürede ve doğru sonuç verdiği anlaşılmıştır⁽⁴⁰⁾. MALDI-TOF MS pozitif kan kültürü şişelerinde doğrudan kullanıldığında klasik kültür yöntemi ile yüksek oranda uyumlu bulunmuş, ancak MALDI-TOF MS ile 30 dakika içerisinde sonuç alınabildiğinden işlem süresi önemli miktarda kısalmıştır⁽⁴¹⁾.

Candida cinsi maya mantarlarını; mannan, mannan antikor ve (1,3)- β -D glucan (BG) gibi hücre duvarı bileşenleri ile belirleyen çeşitli biyolojik belirteçler ticari olarak sağlanabilmektedir⁽³⁹⁾. BG testi tüm mantar enfeksiyonları için bir tanı yöntemi olarak düşünülmüş ve 2008'de EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycosis Study Group) tarafından oluşturulan invazif mantar enfeksiyonlarının tanı ölçütleri içerisinde yer almıştır⁽³⁹⁾.

Doğrudan enfekte hastanın kanında mantar DNA'sını saptayabilmesi nedeniyle, polimeraz zincir reaksiyon (PCR) ile moleküler tanı umut

vericidir⁽³⁹⁾. Birçok araştırmada, çeşitli hasta gruplarında PCR'a dayalı moleküler tekniklerin güvenilirliği araştırılmış⁽⁴²⁻⁴⁸⁾ ve %85'in üzerinde duyarlılık ve özgüllük saptanmıştır⁽⁴⁹⁾.

DUYARLILIK TESTLERİ VE DİRENÇ SINIR DEĞERLERİ

Son yıllarda, antifungal duyarlılık testlerinde büyük gelişmeler olmuştur. Sağaltıma dirençli olguların izlemi ve hasta yönetimi için gerekli olduğundan, hem Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) hem de Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi-Antifungal Duyarlılık Testi Alt komitesi (EUCAST-AFST) maya mantarlarının minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK)'nin saptanması için güvenilir ve tekrarlanabilir standardize edilmiş fenotipik yöntemler geliştirmişlerdir⁽⁵⁰⁻⁵²⁾.

MİK, mantar üremesini tamamen durduran veya önemli miktarda azaltan en düşük ilaç konsantrasyonunu ifade eder. Antifungal ilaç direnci, MİK'nun saptanması ile kantitatif olarak belirlenir ve MİK sonuçlarının yorumlanması için o ilacın direnç sınır değerlerinin belirlenmiş olması gerekir.

Mantar kökenleri koleksiyonlarının antifungal ilaç duyarlılığı test edildiğinde, tipik olarak MİK'leri Gaussian dağılımı içinde bulunan kökenler 'vahşi tip' olarak kabul edilir. Dağılımın sağ tarafında yer alan kökenler; örneğin, ilacın yalnızca yüksek konsantrasyonları ile inhibe olan veya 'vahşi tip' izolatın sağ tarafında yer alan herhangi bir köken direnç mekanizmalarına sahip olabilir. Bu izolatlar 'vahşi olmayan tip' olarak değerlendirilirler⁽⁵³⁾. Bir türe ilişkin çok sayıda izolatın duyarlılığın incelenmesi, 'epidemiyolojik eşik değer'in belirlenmesine olanak sağlar. Epidemiyolojik eşik değer; mantar türlerinin %95'ini inhibe eden ilaç konsantrasyonudur. Bu sebeple, her bir kökenin MİK değerinin klinik açıdan ne anlama geldiğinin yorumunu

yapabilmek için ‘klinik direnç sınır değerleri’ gereklidir^(52,54-58). CLSI ve EUCAST yöntemlerinin ikisi de, klinisyene yararlı olacak duyarlılık bilgisini kısa sürede sağlayacak şekilde, 24 saatlik inkübasyondan sonra sonuçların değerlendirilmesini önerirler. Aynı yaklaşım izlenerek, invazif *Candida* enfeksiyonlarında önemli bir tedavi seçeneği haline gelen ekinokandinler için de direnç sınır değerleri belirlenmiştir. Başlangıçta; anidulafungin direnç sınır değerleri, en sık görülen dört *Candida* türü (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* ve *C. tropicalis*) için belirlenmiştir. Anidulafungin için belirlenen bu direnç sınır değerleri; kaspofungin ve mikafungine özgü direnç sınır değerleri geliştirilmeden önce, ekinokandinlere olası direncin belirlenmesine olanak sağlamıştır⁽⁵⁹⁾. Bununla birlikte; bazı özgül mutasyonların, anidulafungine ve kaspofungine duyarlılığın azalmasına neden olduğu, mikafungine duyarlılığın ise azalmadığı belirlenmiştir, bu durum, her bir ekinokandin için direnç sınır değerlerinin geliştirilmesini hızlandırmıştır⁽³⁾.

ANTİFUNGAL DİRENCİ

Antifungal direncinin mekanizması ya primer ya da sekonderdir. Direnç; bireysel faktörlerle ilişkili olabileceği gibi hastalık etkeni mantarların, ilaç ve/veya ilaç sınıfının antifungal etki mekanizmasını engellemesi veya ilaç düzeyinin düşük olmasından dolayı kazanılmış özellikte de olabilir⁽⁶⁰⁾. *Candida* cinsi maya mantarları; (i) ilaçların hücre içerisine birikimini azaltarak, (ii) antifungal hedef proteinlerinin yoğunluğunu ve yapısını değiştirerek veya (iii) hücre zarındaki sterol bileşimini değiştirerek antifungal ilaçlara direnç geliştirebilirler^(61,62). 5-flusitozine direnç ya ilacın hücre içerisine alınımının azaltılması ya da 5-flusitozinin 5-fluorourasile veya 5-fluorourasilin 5-fluoroüridin monofosfata dönüşümünü sağlayan enzimatik değişiklikler aracılığıyla oluşur⁽⁶³⁾. Azol direnci incelendiğinde, çeşitli mekanizmaların azol türevi ilaçlara

karşı *Candida* türlerinin direnç kazanmasına yol açabileceği anlaşılmıştır. En sık görülen mekanizmalar, *MDR* veya *CDR* genleri ile kodlanan atılım pompalarının aşırı işlemesi ve hedef enzimi (ERG11) kodlayan gende nokta mutasyonu gelişmesidir^(63,64). Duyarlı *Candida* türlerinde ekinokandin direnci daima tedavi sırasında kazanılır. Direnç oluşum mekanizması, ilacın enzime duyarlılığını azaltan, glukoz sentazın FKS alt ünitesinin HS1 ve HS2 bölgesinde aminoasit değişikliğidir. İlaça uyum, hücresel strese yanıt olarak dirençli FKS türlerinin oluşumunun artırılması ile gelişir^(65,66). *Candida* türleri içerisinde, azoller ve/veya ekinokandinlere primer direnç en sık *C. glabrata*’da görülür⁽⁶⁷⁻⁶⁹⁾.

HASTA YÖNETİMİ

Hem Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Derneği’nin Mantar Hastalıkları Çalışma Grubu (IDSA) hem de Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneğinin Mantar Çalışma Grubu (ESCMID) çeşitli hasta gruplarında invazif kandidozun tedavisi için pratik kılavuzlar yayınlamıştır^(39,70-75). Yeni Avrupa kılavuzuna göre, HIV enfeksiyonlu hastalarda, hem erişkin hem de çocuklarda orofaringeal kandidozun tedavisinde ilk basamakta önerilen tedavi 7-10 gün süre ile 100 mg/gün dozda flukonazoldür⁽⁷²⁾. Flukonazolün olası alternatifleri; mikonazol (7-14 gün süre ile 10 veya 50 mg/gün), itrakonazol oral solüsyon (14 gün süre ile 100 veya 200 mg/gün) ve/veya posakonazoldür (ilk gün 200 mg, daha sonraki günler 100 mg/gün)⁽⁷²⁾. Bununla birlikte, topikal ilaçlar (örneğin amfoterisin B pastilleri veya nistatin) iyi tolere edilememesi (acı tat, gastrointestinal yan etkiler, sık doz) ve etkinliğinin düşük olması nedeniyle önerilmez. Flukonazolle karşılaştırıldığında maliyetinin fazla olması ve parenteral şeklinin bulunması nedeniyle, triazolere duyarlı *Candida* türlerinin tedavisinde ekinokandinler tercih edilmemelidir. ESCMID kılavuzu nötroopenik olmayan erişkin kandidemi hastalarının tedavisinde

öncelikle ekinokandinleri (kaspofungin, anidulafungin ve mikafungin) önermektedir⁽⁷¹⁾. Ekinokandinler ile karşılaştırıldığında, lipozomal amfoterisin B ve vorikonazolün etki gücü benzer olmakla birlikte daha az sıklıkla önerilir, diğer yandan flukonazol marjinal güçte önerilir^(72,73).

Ayrımlı olarak, *C. parapsilosis*'e bağlı kan dolaşımı enfeksiyonlarında ilk tedavinin ekinokandinler ile yapılmasının, sonucu olumsuz yönde etkilemediği ortaya konulmuştur⁽⁷⁶⁾. Flukonazol için ESCMID önerileri IDSA'nın önerilerinden farklı olup IDSA'nın 2009 kılavuzu şu anda güncellenmektedir. Ayrıca, hem ESCMID hem de IDSA nötropenik hastalarda ekinokandinleri önermektedir.

Standart olarak kandideminin sonlandırılmasından sonra 14 gün süre ile tedaviye devam önerilir, eğer hasta stabil durumda ve ağız yolu ile tedavi alabiliyor ise bir alt aşamada 10 günlük intravenöz tedavi sonrasında flukonazol tedavisine geçilir⁽⁷¹⁻⁷³⁾. Kalıcı damar yolu kataterinin mutlaka çıkarılması önerilir. Eğer kateterin çıkarılması mümkün değil ise lipid bazlı amfoterisin B veya ekinokandinler tercih edilir.

Santral sinir sistemi kandidozunun tedavisi için önerilen flusitozini veya flusitozinsiz lipid formülasyonlu amfoterisin B (3-5 mg/kg)'dir. Flusitozin dozu serum düzeyi 40-60 µg/ml olacak şekilde ayarlanmalıdır. Bir önceki aşamada, 400-800 mg/gün yüksek doz flukonazol tedavisi kullanılabilir^(70,77). Ayrıca, amfoterisin B deoksikolat ve flukonazole dirençli *Candida* meninjitisi hastasında kaspofungin ile düzelleme bildirilmiş olmasına rağmen, ekinokandinlerin santral sinir sistemine geçişinin kötü olması, bu ilaçların santral sinir sistemi enfeksiyonlarında kullanımını sınırlar^(70,78).

Yüksek riskli yenidoğanlarda invazif kandidoz gelişimini önlemede kullanılacak uygun

seçenekler; flukonazol, nistatin veya alternatif olarak laktoferrin ± *Lactobacillus*'tur. Yenidoğan döneminde gelişen invazif kandidoz olgularında görülen komplikasyon büyük bir olasılıkla santral sinir sistemi enfeksiyonlarını da içeren dissemine hastalıktır. Tedavide amfoterisin B deoksikolat, lipozomal amfoterisin B, amfoterisin B lipid kompleksi, flukonazol, mikonazol ve kaspofungin kullanılabilir⁽⁷¹⁾.

Flukonazolün etkisi gösterilmesine rağmen, Avrupa'da HIV hastalarında orofaringeal ve özefagiyal kandidozu önlemek için primer antifungal profilaksi önerilmez⁽⁷²⁾. Primer profilaksinin dezavantajları yüksek aktif antiretroviral tedavi ile azoller arasında ilaç etkileşimlerinin olması, flukonazole ve/veya diğer azollere direnç gelişmesi, orofaringeal kandidoz için etkili tedavilerin olması, maliyet ve triazolollerin olası toksik etkileridir. Böylece, orofaringeal ve özefagiyal kandidozun en iyi profilaksisi uygun antiretroviral tedavi kullanımudur⁽⁷²⁾.

Lazer tedavisi son yıllarda dermatolojide birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle antifungal tedavi alamayan hastalarda Nd-YAG lazer tedavisinin alternatif olarak kullanılabilmesi rapor edilmiştir⁽⁷⁹⁾. *Candida*'ların farklı tedavilere direnç gösterebilmesi ve antifungal tedavilere bağlı bazı toksik etkilerin ortaya çıkması nedeniyle son yıllarda alternatif ilaç geliştirmek için çalışmalar yapılmaktadır. Asetik asit yanında formik asitin de *Candida* türlerinde apoptozise neden olduğu gösterilmiştir. Düşük maliyetli bir madde olan formik asitin yüksek dozlarda toksik olmakla birlikte düşük dozlarda tedavi amacıyla kullanılabilmesi bildirilmiştir⁽⁸⁰⁾.

KAYNAKLAR

1. Pfaller MA, Andes DR, Diekema DJ, et al. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-albicans species of *Candida* in 2,496 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH)

- registry 2004-2008. *PLoS One* 2014; 9:e101510. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0101510>
2. **Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, et al.** International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol* 2001; 39:3254-9. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.39.9.3254-3259.2001>
 3. **Arendrup MC.** Epidemiology of invasive candidiasis. *Curr Opin Crit Care* 2010; 16:445-52. <http://dx.doi.org/10.1097/MCC.0b013e32833e84d2>
 4. **Jarvis WR.** Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1995; 20:1526-30. <http://dx.doi.org/10.1093/clinids/20.6.1526>
 5. **Bitar D, Lortholary O, Le Strat Y, et al.** Population-based analysis of invasive fungal infections, France, 2001-2010. *Emerg Infect Dis* 2014; 20:1149-55. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2007.140087>
 6. **Marr KA, Seidel K, Slavin MA, et al.** Prolonged fluconazole prophylaxis is associated with persistent protection against candidiasis-related death in allogeneic marrow transplant recipients: long-term follow-up of a randomized, placebo-controlled trial. *Blood* 2000; 96:2055-61.
 7. **Kanda Y, Yamamoto R, Chizuka A, et al.** Prophylactic action of oral fluconazole against fungal infection in neutropenic patients. A meta-analysis of 16 randomized, controlled trials. *Cancer* 2000; 89:1611-25. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142\(20001001\)89:7<1611::AID-CNCR27>3.0.CO;2-B](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142(20001001)89:7<1611::AID-CNCR27>3.0.CO;2-B)
 8. **Neofytos D, Horn D, Anaissie E, et al.** Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis* 2009; 48:265-73. <http://dx.doi.org/10.1086/595846>
 9. **Das I, Nightingale P, Patel M, Jumaa P.** Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia: experience in a tertiary referral center in the UK. *Int J Infect Dis* 2011; 15:e759-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2011.06.006>
 10. **Fan YC, Li WG, Zheng MH, Gao W, Zhang YY, Song LJ.** Invasive fungal infection in patients with systemic lupus erythematosus: experience from a single institute of Northern China. *Gene* 2012; 506:184-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.06.059>
 11. **Grabar S, Lanoy E, Allavena C, et al.** Causes of the first AIDS-defining illness and subsequent survival before and after the advent of combined antiretroviral therapy. *HIV Med* 2008; 9:246-56. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-1293.2008.00554.x>
 12. **Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, et al.** Candidemia in cancer patients: A prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 1999; 28:1071-9. <http://dx.doi.org/10.1086/514731>
 13. **Matthews RC.** Pathogenicity determinants of *Candida albicans*: potential targets for immunotherapy? *Microbiology* 1994; 140(Pt7):1505-11. <http://dx.doi.org/10.1099/13500872-140-7-1505>
 14. **Glockner A.** Recurrent candidaemia and pacemaker wire infection with *Candida albicans*. *Mycoses* 2011; 54(Suppl 4):S20-3. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.2011.02139.x>
 15. **Donlan RM, Costerton JW.** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:167-93. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>
 16. **De Cremer K, Delattin N, De Brucker K, et al.** Oral administration of the broad-spectrum antibiofilm compound toremifene inhibits *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* biofilm formation in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:7606-10. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.03869-14>
 17. **Chambô Filho A, Souza Filho JB, Pignaton CC, Zon I, Fernandes AS, Cardoso LQ.** Chronic mucocutaneous candidiasis: a case with exuberant cutaneous horns in nipples. *An Bras Dermatol* 2014; 89:641-4. <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20143020>
 18. **Mastrolorenzo A, Giomi B, Cipollini EM, et al.** Mycetomatoid infection of the penis by *Candida albicans*. *Int J Dermatol* 2012; 51:1082-5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4632.2011.05386.x>
 19. **Jalalat S, Hunter L, Yamazaki M, Head E, Kelly B.** An outbreak of *Candida albicans* folliculitis masquerading as *Malassezia folliculitis* in a prison population. *J Correct Health Care* 2014; 20:154-62. <http://dx.doi.org/10.1177/1078345813518636>
 20. **Bahunuthula RK, Thappa DM, Kumari R, Singh R, Munisamy M, Parija SC.** Evaluation of role of *Candida* in patients with chronic paronychia. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2015; 81:485-90. <http://dx.doi.org/10.4103/0378-6323.158635>
 21. **Plantinga TS, Johnson MD, Scott WK, et al.** Human genetic susceptibility to *Candida* infections. *Med Mycol* 2012; 50:785-94. <http://dx.doi.org/10.3109/13693786.2012.690902>
 22. **Smeekens SP, van de Veerdonk FL, Kullberg BJ, Netea MG.** Genetic susceptibility to *Candida* infections. *EMBO Mol Med* 2013; 5:805-13. <http://dx.doi.org/10.1002/emmm.201201678>
 23. **Ferwerda B, Ferwerda G, Plantinga TS, et al.** Human dectin-1 deficiency and mucocutaneous fungal infections. *N Engl J Med* 2009; 361:1760-7. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0901053>
 24. **Plantinga TS, van der Velden WJ, Ferwerda B, et al.** Early stop polymorphism in human DECTIN-1 is associated with increased *candida* colonization in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2009; 49:724-32. <http://dx.doi.org/10.1086/604714>
 25. **Plantinga TS, Johnson MD, Scott WK, et al.** Toll-like receptor 1 polymorphisms increase susceptibility to candidemia. *J Infect Dis* 2012; 205:934-43. <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jir867>
 26. **Nahum A, Dadi H, Bates A, Roifman CM.** The L412F variant of Toll-like receptor 3 (TLR3) is associated with cutaneous candidiasis, increased susceptibility to cytomegalovirus, and autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127:528-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2010.09.031>
 27. **Babula O, Lazdane G, Kroica J, Ledger WJ, Witkin SS.** Relation between recurrent vulvovaginal candidiasis,

- vaginal concentrations of mannose-binding lectin, and a mannose-binding lectin gene polymorphism in Latvian women. *Clin Infect Dis* 2003; 37:733-7.
<http://dx.doi.org/10.1086/377234>
28. **Lev-Sagie A, Prus D, Linhares IM, Lavy Y, Ledger WJ, Witkin SS.** Polymorphism in a gene coding for the inflammasome component NALP3 and recurrent vulvovaginal candidiasis in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200:303.e1-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2008.10.039>
29. **Choi EH, Foster CB, Taylor JG, et al.** Association between chronic disseminated candidiasis in adult acute leukemia and common IL4 promoter haplotypes. *J Infect Dis* 2003; 187:1153-6.
<http://dx.doi.org/10.1086/368345>
30. **Jurevic RJ, Bai M, Chadwick RB, White TC, Dale BA.** Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human beta-defensin 1: high-throughput SNP assays and association with *Candida* carriage in type I diabetics and nondiabetic controls. *J Clin Microbiol* 2003; 41:90-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.1.90-96.2003>
31. **Glocker EO, Hennigs A, Nabavi M, et al.** A homozygous CARD9 mutation in a family with susceptibility to fungal infections. *N Engl J Med* 2009; 361:1727-35.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0810719>
32. **van de Veerdonk FL, Plantinga TS, Hoischen A, et al.** STAT1 mutations in autosomal dominant chronic mucocutaneous candidiasis. *N Engl J Med* 2011; 365:54-61.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1100102>
33. **Lilic D.** New perspectives on the immunology of chronic mucocutaneous candidiasis. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15:143-7.
<http://dx.doi.org/10.1097/00001432-200204000-00007>
34. **Björnses P, Aaltonen J, Horelli-Kuitunen N, Yaspo ML, Peltonen L.** Gene defect behind APECED: a new clue to autoimmunity. *Hum Mol Genet* 1998; 7:1547-53.
<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/7.10.1547>
35. **Puel A, Döffinger R, Natividad A, et al.** Autoantibodies against IL-17A, IL-17F, and IL-22 in patients with chronic mucocutaneous candidiasis and autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Exp Med* 2010; 207:291-7.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20091983>
36. **Sun RT, Tian WJ, Xing XW, Gao SH, Wang SB.** Association of cytokine gene polymorphisms with susceptibility to invasive candidiasis. *Genet Mol Res* 2015; 14:6859-64.
<http://dx.doi.org/10.4238/2015.June.18.29>
37. **Arendrup MC, Sulim S, Holm A, et al.** Diagnostic issues, clinical characteristics, and outcomes for patients with fungemia. *J Clin Microbiol* 2011; 49:3300-8.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00179-11>
38. **Meyer MH, Letscher-Bru V, Jaulhac B, Waller J, Candolfi E.** Comparison of Mycosis IC/F and plus Aerobic/F media for diagnosis of fungemia by the bactec 9240 system. *J Clin Microbiol* 2004; 42:773-7.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.2.773-777.2004>
39. **Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, et al.** ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(Suppl 7): S9-18.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12038>
40. **Dhiman N, Hall L, Wohlfiel SL, Buckwalter SP, Wengenack NL.** Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. *J Clin Microbiol* 2011; 49:1614-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02381-10>
41. **Spanu T, Posteraro B, Fiori B, et al.** Direct maldi-tof mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *J Clin Microbiol* 2012; 50:176-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.05742-11>
42. **Lamoth F, Jaton K, Prod'homme G, et al.** Multiplex blood PCR in combination with blood cultures for improvement of microbiological documentation of infection in febrile neutropenia. *J Clin Microbiol* 2010; 48:3510-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00147-10>
43. **Lucignano B, Ranno S, Liesenfeld O, et al.** Multiplex PCR allows rapid and accurate diagnosis of bloodstream infections in newborns and children with suspected sepsis. *J Clin Microbiol* 2011; 49:2252-8.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02460-10>
44. **Wallet F, Nseir S, Baumann L, et al.** Preliminary clinical study using a multiplex real-time PCR test for the detection of bacterial and fungal DNA directly in blood. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:774-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02940.x>
45. **Lau A, Chen S, Sorrell T, et al.** Development and clinical application of a panfungal PCR assay to detect and identify fungal DNA in tissue specimens. *J Clin Microbiol* 2007; 45:380-5.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01862-06>
46. **Lau A, Halliday C, Chen SC, Playford EG, Stanley K, Sorrell TC.** Comparison of whole blood, serum, and plasma for early detection of candidemia by multiplex-tandem PCR. *J Clin Microbiol* 2010; 48:811-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01650-09>
47. **McMullan R, Metwally L, Coyle PV, et al.** A prospective clinical trial of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of candidemia in nonneutropenic, critically ill adults. *Clin Infect Dis* 2008; 46:890-6.
<http://dx.doi.org/10.1086/528690>
48. **Wellinghausen N, Siegel D, Winter J, Gebert S.** Rapid diagnosis of candidaemia by real-time PCR detection of *Candida* DNA in blood samples. *J Med Microbiol* 2009; 58(Pt 8):1106-11.
<http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.007906-0>
49. **Avni T, Leibovici L, Paul M.** PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol* 2011; 49:665-70.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01602-10>
50. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative

- yeasts. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:398-405.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01935>.
51. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard. 3rd ed. CLSI Document M27-A3, CLSI, Wayne, PA, 2008.
 52. **Pfaller MA.** Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *Am J Med* 2012; 125(1 Suppl):S3-13.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2011.11.001>
 53. Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST definitions of clinical breakpoints and epidemiological cut-off values. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, AFST-EUCAST, 2013.
 54. **Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, et al.** EUCAST technical note on *Candida* and micafungin, anidulafungin and fluconazole. *Mycoses* 2014; 57: 377-9.
 55. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST-AFST). EUCAST Technical Note on fluconazole. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:193-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01899.x>
 56. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST-AFST). EUCAST Technical Note on voriconazole. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 985-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02087.x>
 57. **Pfaller MA, Diekema DJ, Sheehan DJ.** Interpretive breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19:435-47.
<http://dx.doi.org/10.1128/CMR.19.2.435-447.2006>
 58. **Rodríguez-Tudela JL, Almirante B, Rodríguez-Pardo D, et al.** Correlation of the MIC and dose/MIC ratio of fluconazole to the therapeutic response of patients with mucosal candidiasis and candidemia. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:3599-604.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00296-07>
 59. **Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope WW.** Breakpoints for antifungal agents: an update from EUCAST focussing on echinocandins against *Candida* spp. and triazoles against *Aspergillus* spp. *Drug Resist Updat* 2013; 16:81-95.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.drup.2014.01.001>
 60. **Cowen LE, Sanglard D, Howard SJ, Rogers PD, Perlin DS.** Mechanisms of antifungal drug resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014; 5:a019752.
<http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a019752>
 61. **Perlin DS, Shor E, Zhao Y.** Update on antifungal drug resistance. *Curr Clin Microbiol Rep* 2015; 2:84-95.
<http://dx.doi.org/10.1007/s40588-015-0015-1>
 62. **Sanglard D, Odds FC.** Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect Dis* 2002; 2:73-85.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(02\)00181-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(02)00181-0)
 63. **Cuenca-Estrella M.** Antifungal drug resistance mechanisms in pathogenic fungi: from bench to bedside. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 (Suppl 6):S54-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12495>
 64. **Kanafani ZA, Perfect JR.** Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis* 2008; 46:120-8.
<http://dx.doi.org/10.1086/524071>
 65. **Perlin DS.** Mechanisms of echinocandin antifungal drug resistance. *Ann N Y Acad Sci* 2015; 1354:1-11.
<http://dx.doi.org/10.1111/nyas.12831>
 66. **Perlin DS.** Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. *Drug Resist Updat* 2007; 10:121-30.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.drup.2007.04.002>
 67. **Wang E, Farmakiotis D, Yang D, et al.** The ever-evolving landscape of candidaemia in patients with acute leukaemia: non-susceptibility to caspofungin and multidrug resistance are associated with increased mortality. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70:2362-8.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkv087>
 68. **Farmakiotis D, Tarrand JJ, Kontoyiannis DP.** Drug-resistant *Candida glabrata* infection in cancer patients. *Emerg Infect Dis* 2014; 20:1833-40.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid2011.140685>
 69. **Alexander BD, Johnson MD, Pfeiffer CD, et al.** Increasing echinocandin resistance in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of FKS mutations and elevated minimum inhibitory concentrations. *Clin Infect Dis* 2013; 56:1724-32.
<http://dx.doi.org/10.1093/cid/cit136>
 70. **Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, et al.** ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(Suppl 7):S19-37.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12039>
 71. **Hope WW, Castagnola E, Groll AH, et al.** ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: prevention and management of invasive infections in neonates and children caused by *Candida* spp. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(Suppl 7):S38-52.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12040>
 72. **Lortholary O, Petrikos G, Akova M, et al.** ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: patients with HIV infection or AIDS. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(Suppl 7):S68-77.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12042>
 73. **Ullmann AJ, Akova M, Herbrecht R, et al.** ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: adults with haematological malignancies and after haematopoietic stem cell transplantation (HCT). *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(Suppl 7):S53-67.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12041>
 74. **Ullmann AJ, Cornely OA, Donnelly JP, et al.** ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: developing European guidelines in clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(Suppl 7):S1-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12037>
 75. **Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, et al.** Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 48:503-35.
<http://dx.doi.org/10.1086/596757>
 76. **Fernández-Ruiz M, Aguado JM, Almirante B, et al.** Initial use of echinocandins does not negatively influence outcome in *Candida parapsilosis* bloodstream infection: a propensity score analysis. *Clin Infect Dis* 2014; 58:1413-21.
<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciu158>

- 77. Chariyalertsak S, Sirisanthana T, Supparatpinyo K, Preparattanapan J, Nelson KE.** Case-control study of risk factors for *Penicillium marneffeii* infection in human immunodeficiency virus-infected patients in northern Thailand. *Clin Infect Dis* 1997; 24:1080-6. <http://dx.doi.org/10.1086/513649>
- 78. Sugar AM, Liu XP.** Combination antifungal therapy in treatment of murine pulmonary mucormycosis: roles of quinolones and azoles. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:2004-6.

- <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.44.7.2004-2006.2000>
- 79. Naouri M, Mazer JM.** Finger onychomycosis due to *Candida tropicalis*: short-pulsed Nd:YAG laser therapy. *Ann Dermatol Venereol* 2013; 140:610-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annder.2013.04.079>
- 80. Lastauskienė E, Zinkevičienė A, Girkontaitė I, Kaunietis A, Kvedarienė V.** Formic acid and acetic acid induced a programmed cell death in pathogenic *Candida* species. *Curr Microbiol* 2014; 69:303-10. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-014-0585-9>