

Çeşitli Klinik Örneklerden Soyutlanan Candida Kökenlerinde Slime Faktörü Üretiminin Araştırılması

Yusuf YAKUPOĞULLARI (*), Zülal AŞÇI TORAMAN (*)

(*) Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.

ÖZET

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden soyutlanan Candida kökenlerinde slime faktörü varlığı araştırılmıştır. Toplam 100 adet Candida kökeni incelenmiş, bunlardan 49'u vajinadan, 25'i idrardan, 13'ü balgamdan, altısı boğazdan, üçü kandan, ikisi periton sıvısı ve ikisi yara kültüründen soyutlanmıştır. İncelenen kökenlerin 72'si (%72) Candida albicans, dokuzu (%9) Candida tropicalis, yedisi (%7) Candida kefir, altısı (%6) Candida krusei, ikisi (%2) Candida parapsilosis, ikisi (%2) Candida pseudotropicalis ve ikisi (%2) Candida dubliniensis olarak tanımlanmıştır. Bu kökenlerde slime faktör oluşumu modifiye tüp adherens metodu ile araştırılmış ve 12 köken (%12) slime faktör olumlu olarak saptanmıştır. Slime faktör oluşturan kökenlerin altısı (% 8.3) Candida albicans, ikisi (% 22.2) Candida tropicalis, ikisi (%28.6) Candida kefir, biri (%16.7) Candida krusei ve biri (%50) Candida dubliniensis olarak tanımlanmıştır. Candida albicans kökenlerinin slime oluşturma sıklığı %8.3 olarak saptanmış, non-albicans kökenlerinin slime oluşturma sıklığı %25 olarak bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Candida albicans, non-albicans Candida, slime faktör.

SUMMARY

Investigation of Slime Factor Production in Candida Strains Isolated from Various Clinical Samples

In this study, we aimed to investigate the presence of slime factor in Candida strains isolated from various clinical samples. Total 100 strains of Candida, 49 from vaginal cultures, 25 from urinary specimens, 13 from sputum, six from nasopharynx, three from blood, two from peritoneal aspirations and two from wound infections were investigated. Of total 100 Candida strains, 72 were identified as Candida albicans (72%), and nine Candida tropicalis (9%), seven Candida kefir (7%), six Candida krusei (6%), two Candida parapsilosis (2%), two Candida pseudotropicalis (2%) and two Candida dubliniensis (2%). Slime production was performed by modified tube adherence test and 12 strains found as slime factor producer (12%). Of the slime factor positive strains, six were Candida albicans (8.3%), two Candida tropicalis (22.2%), two Candida kefir (28.6%), one Candida krusei (16.7%), and one Candida dubliniensis (50%). It was determined that slime production was positive in 8.3% of Candida albicans strains, and in 25% of non-albicans strains.

Key Words: Candida albicans, non-albicans candida, slime factor.

GİRİŞ

Kandidalar, sağlıklı kişilerin çeşitli vücut florasında kommensal olarak bulunan maya türleridir. Ancak, özellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde, enfeksiyon oluşumu için uygun ortam bularak, patojen olabilirler ve klinik olarak ciddi veya hayatı tehdit edici enfeksiyonlara yol açabilirler. Tanı ve tedaviye yönelik yapılan invaziv girişimlerin artışı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, organ nakilleri veya başka nedenlerle sık başvuru olan güçlü immün süpresif tedavilerin yaygınlaşması, malign hastalık-

lar nedeni ile verilen anti-kanser ilaçların neden olduğu kemik iliği baskılanması ve nötropeni gibi faktörler, ciddi fungal enfeksiyonların sıklığını artırmaktadır (1-3).

Kompleks polisakkarit yapıda biyolojik bir film tabakası olan slime maddesi, mikroorganizmanın konak hücre yüzeyine yapışmasında, kateter ve tüp gibi düz yüzeyli tıbbi aletlere tutunarak buralarda çoğalmasında önemli rol oynar. Diğer taraftan opsonizasyon, fagositoz ve kemotaksis gibi immün mekanizmalara karşı mikroorganizmayı koruyan slime

faktörünün , lökosit ve lenfosit etkinliğinde de azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (4,5).

Slime faktörünün, özellikle *Staphylococcus epidermidis*'in neden olduğu kateter infeksiyonlarında, patogeneze önemli rol oynadığı bilinmekte , Candida kökenlerinin de aynı mekanizma ile ciddi infeksiyonlara yol açtığı son yıllardaki bazı yayınlarda tartışılmaktadır (3,4,5).

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden soyutlanan Candida kökenlerinde slime üretimi araştırılmış ve bu faktörün Candida türlerinde dağılımının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Candida kökenlerinin tür düzeyinde tanımlanması : Yaklaşık 18 aylık bir süreçte laboratuvarımızda soyutlanan toplam 100 Candida kökeni incelenmiştir. Sabouraud Dextrose Agar'da (SDA) (Oxoid) üretilen mayaların tür düzeyinde tanımları, direkt mikroskopik muayene, germ tüp testi, mısır unlu Tween-80 agarda üreyen kökenlerinin mikroskopik morfolojilerinin incelenmesi ve API ID 32 °C (Bio-Mérieux,France) sistem ticari kitleri ile yapılmıştır.

Slime üretiminin saptanması : SDA besiyerinde üremiş olan maya kolonilerinden bir öze dolusu alarak glikoz (%8) içeren Sabouraud broth (Oxoid) besiyerine ekim yapılmış, 35 °C'de 24 saat inkübasyonu takiben tüp içeriği boşaltılarak tüpler önce distile su ile iki kez , sonra tüplerin iç yüzeyi %1'lik safranin ile yıkanmış, tüp ters çevrilerek süzdürülmüştür.

Tüplerin iç yan yüzeyinin kırmızı pembe renkli film tabakası oluşması slime pozitif; tüp duvarında herhangi bir film tabakası oluşmaması veya tüpte yalnızca hava sıvı seviyesinin olduğu yerde halka şeklinde bir boya tutulumu negatif olarak değerlendirilmiştir (6).

BULGULAR

49'u vagen, 25'i idrar, 13'ü balgam, altısı boğaz, üçü kan, ikisi periton sıvısı ve ikisi yara kültürlerinden izole edilmiş olan toplam 100 Candida kökeninden % 72'si *Candida albicans*, % 9'u *Candida tropicalis*, %7'si *Candida kefir*, %6'sı *Candida krusei*, %2' si *Candida parapsilosis*, %2' si *Candida pseudotropicalis* ve %2'si *Candida dubliniensis* olarak tanımlanmıştır.

Slime yönünden incelenen 100 Candida kökeninin %12'si slime pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Türlere göre dağılımı incelendiğinde *C. albicans* suşlarının %8.3 'ü, *C. tropicalis* suşlarının %22.2'si, *C. kefir* suşlarının %28.6 'sı, *C. krusei* suşlarının %16.7'si ve *C. dubliniensis* suşlarının %50 'si slime pozitif olarak saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Slime pozitifliğinin Candida türlerine göre dağılımı.

Candida Türü (n)	Slime (+)	
	n	%
<i>C. albicans</i> (72)	6	8.3
<i>C. tropicalis</i> (9)	2	22.2
<i>C. kefir</i> (7)	2	28.6
<i>C. krusei</i> (6)	1	16.7
<i>C. parapsilosis</i> (2)	-	-
<i>C. pseudotropicalis</i> (2)	-	-
<i>C. dubliniensis</i> (2)	1	50
Toplam (n:100)	12	-

TARTIŞMA

Kandidalar, insanları etkileyen en yaygın fungal patojenlerdir. Bu organizmalar, invazif olmayan yüzeysel infeksiyonlardan derin dokuları tutan infeksiyonlara kadar geniş hastalık spektrumuna sahiptir. Özellikle geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, intravasküler aletler ve bağışıklığı baskılanmış hastaların artması, hem toplum kökenli hem de nozokomiyal kandida infeksiyonlarının sıklığında artışa yol açmıştır (7).

Son yıllarda, Candida infeksiyonlarına bağlı morbidite ve mortalite oranlarında yükseliş görülmesi, çalışmalarının Candida'larının virülans faktörleri üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Candida infeksiyonlarının patogenezinde en iyi bilinen virülans faktörleri proteolitik enzimler, toksinler, fosfolipazlar ve dimorfizmdir. Ancak son yıllarda, slime üretiminin de önemli bir virülans faktörü olabileceği üzerinde durulmaktadır (8). Slime tabakasının mikroorganizmanın konak hücreye ve yapay yüzeylere adazyonunu sağlayarak etkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle Candida'ların biyomateriyallere, plastik araçlara ve düz yüzeylere yapışmasından büyük ölçüde sorumlu tutulmaktadır. Aynı zamanda bu madde, mikroorganizmayı kaplayarak onu konağın savunma mekanizmalarından da korur. Slime faktörünün kemotaktik etkisinin de olduğu, ancak slime tarafından uyarılan polimorf nüveli lökosit-

lerden miyeloperaksidaz salınımının yetersiz olduğu gösterilmiştir (9).

Intravasküler, üriner yada endotrakeal gibi farklı kateter türleri, mikrobiyolojik olarak incelendiğinde kateter yüzeyinde oluşan fibrin, fibronektin ve slime faktörünün birlikte oluşturduğu biyofilm tabakası içinde *C. albicans*'ın varlığı gösterilmiştir. Buna bağlı olarak bu tür girişimlerin uygulandığı hastalarda Candida'lara bağlı septisemi, üriner infeksiyon veya nozokomiyal pnömoni gelişiminin kolaylaştığı bildirilmiştir (10,11).

C. albicans dışındaki Candida kökenlerinin de slime faktörü oluşturabildiği bilinmektedir. *C. parapsilosis* ile yapılan çalışmalarda slime üretimi albicans kökenlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak, *C. albicans* ve *C. parapsilosis* dışındaki kandida türlerinde slime üretimi hakkında yeterince araştırma bulunmamaktadır. Branchini ve ark. (12), kan kültürü ve kateter örneklerinden izole edilen 31 *C. parapsilosis* kökeninde %80 oranında slime üretimi saptamışlardır. Çalışmamızdaki üç kan kültürü izolatuvarı olan *Candida* kökeninin üçünde de (iki albicans ve bir dubliniensis) (%100) slime üretimi gözlenmiştir.

Yücesoy ve ark. (13), kateter infeksiyon etkenleri arasında Candida türünün önemli bir yer tutması nedeni ile yaptıkları bir çalışmada slime üretiminin rolünü incelemişlerdir. Bu amaçla çeşitli klinik örneklerden soyutlanan toplam 148 Candida kökeninde modifiye tüp adherens testi ile slime üretimi araştırılmış ve kökenlerin 11'inin (%7.43) kuvvetli ve 14'ünün (%9.46) ise zayıf slime oluşturduğunu saptamışlardır. Çalışmanın sonucunda özellikle albicans dışı kandida türleri açısından slime üretiminin önemli bir virülans faktörü olduğunu ve bu faktörün soyutlanan kökenlerde diğer patojenite testleri yanında incelenmesinin yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Güdücüoğlu ve ark. (14), 0-12 aylık bebekler ve erişkinlerin ağız florasında bulunan kandida türlerinin belirlenmesi ile bu mantar türlerinin konak hücreye adherens ve kolonizasyonunda rol oynayan bir patojenite faktörü olan slime üretimlerinin gösterilmesine yönelik bir çalışma yapmışlar ve slime faktörünün bu konuda önemli rolü olduğunu saptamışlardır.

Yücesoy ve ark (15) tarafından yapılan bir çalışmada, çeşitli Candida kökenlerinin biyofilm üretimi ve

antifungal duyarlılıkları toplam 156 Candida kökeni içinde araştırılmış, tüp adherens testi ile izolatların 43'ünün (%27.6), mikropak yöntemi ile ise 26'sının (%16.7) slime ürettiğini belirlenmiş ve iki yöntem arasında %65 tutarlılık saptanmıştır. Çalışmanın sonucunda, Candida'lar içinde antifungal duyarlılık oranlarında önemli bir farklılık gözlenmemesine rağmen, biyofilm üretiminin potansiyel bir virülans faktörü olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamızda incelenen 100 Candida kökeni içinde genel olarak slime üretim sıklığı %12 olarak bulunmuştur. Candida türleri içindeki slime üretim paterne bakıldığında non-albicans kandida kökenlerinde (%25) slime üretiminin albicans kökenlere (%8.3) göre belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. Candida kökenlerinin slime pozitifliğinin örneklerle göre dağılımları incelendiğinde ise, vajende %8.2, idrarda %4, balgamda %15.4, kanda %100 periton sıvısında %50 ve yarada %50 pozitiflik bulunmuştur.

C. albicans suşlarına göre non-albicans Candida kökenlerinin antifungallere karşı genellikle daha fazla dirençli olduğu bildirilmektedir (16). Dolayısı ile, antifungal dirençle birlikte yüksek slime üretiminin, bu kökenlerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlara neden olacağı açıktır.

KAYNAKLAR

1. John E, Edwards JR: Candida species. "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and Practise of Infectious Diseases" p:2289 4th ed. Churchill Livingstone. New York (1995).
2. Levitz SM: Overview of host defences in fungal infections. Clin Infect Dis 14:37 (1992).
3. Anaissie E: Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. Clin Infect Dis 14 :43 (1992).
4. Jhonson GM, Lee DA, Reyelmoon WE, Gray Ed, Peters G, Quine PG: Interference with granulocyte function by Staphylococcus epidermitis slime. Infect Immun 54:131 (1981).
5. Alan MS, Caron A (eds): A Practical Guide to Medically Important Fungi and The Diseases They Cause. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers (1996).
6. Hilmioğlu S: Candida infeksiyonlarının laboratuvar ta-

nısı. Klasik Tanıda izlenecek yol ne olmalı? *Candida* Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar, s.125, Eskişehir (2002).

7. Koç N: Tıbbi bakımından önemi alan *Candida* türlerinin mikolojik özellikleri. *Candida* Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar , s.37, Eskişehir (2002).

8. Khatib R, Clark JA, Brish LE, Wilson FM: Relevance of culturing candida species from intravascular catheters. *J Clin Microbiol* 1635:37 (1995).

9. Orhan H, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Tünger S, Arısoy A: İnfeksiyon etkeni olan *Candida albicans* suşlarında slime üretimi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 28:103 (1998).

10. Gorman S, Adair C: Influence of selective decontamination of the digestive tract on microbial bio-film formation on endotracheal tubes from artificially ventilated patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12:9 (1993).

11. Yüce A: Detection of slime production among isolates of *Candida albicans*. *İnfeks Derg* 12:267 (1993).

12. Branchini MC, Pfaller MA, Rhine-Chalberg J, Frempong T, Issenberg HD: Genotyping variation and slime production among blood and catheter isolates of

Candida parapsilosis. *J Clin Microbiol* 32:452 (1994).

13. Yücesoy M, Karman M, Yuluğ N: *Candida* türlerinde 'slime' üretiminin incelenmesi. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi Kitabı , s.279 (1999).

14. Güdücüoğlu H, Berktaş M, Bozkurt H, Bayram Y, Dalkılıç A.E: Çocuk ve erişkinlerin ağız florasında izole edilen *Candida* ların tiplendirilmesi ve slime üretimlerinin gösterilmesi. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik mikoloji Kongresi Kitabı ,s 241 (2001).

15. Yücesoy M, Karaman: *Candida* türlerinin bio-film üretimi ve antifungal duyarlılık paternleri. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi. Kitabı, s. 360 (2003)

16. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, et al: National surveillance of nosocomial blood stream infection due to species of candida other than *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE program. SCOPE Participant Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 30:121 (1998).

GİRİŞ

C.neoformans Basidiomycetes sınıfından kapsüllü