

# Hastanede Yatan Fungemili Hastalardan İzole Edilen *Candida parapsilosis* Kökenlerinin Virülans Faktörleri

Meltem DAĞDEVİREN(\*), Nilgün ÇERİKÇİOĞLU(\*), Melda KARAVUŞ(\*\*)

(\* Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

(\*\* Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İstanbul

## ÖZET

Bu çalışmada 19 'u hastanede yatan fungemili hastaların kan kültürlerinden (çalışma grubu 1), 14 'ü kan dışı klinik materyalden (çalışma grubu 2) izole edilen toplam 33 *Candida parapsilosis* kökeninde aderens ve asit proteinaz, fosfolipaz üretimi olmak üzere 3 virülans faktörünün varlığı ve mevcut virülans faktörlerinden hangisinin ya da hangilerinin fungemi gelişiminde rol oynadığı araştırılmıştır. Ondokuz kan izolatının adezyon değerleri ortalaması 52.63, 14 kan dışı klinik materyalden izole edilen kökenlerin adezyon değerleri ortalaması 57.96 olarak bulunmuştur. Aderens yeteneği açısından, iki grup arasında anlamlı bir fark yoktur ( $p>0.05$ ). Kan dışı materyalden izole edilen çalışma grubu 2 'deki 9 köken (%64.29) ve çalışma grubu 1 'deki 5 kan izolatı (%26.31) asit proteinaz pozitif olarak bulunmuştur; iki grup arasındaki bu fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ( $p<0.05$ ). Ondokuz kan izolatının 5 (%26.31)'inde fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. Kan dışı klinik materyalden izole edilen 14 kökenin hiçbirinde fosfolipaz aktivitesi gözlenmemiştir, iki grup arasındaki bu fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ( $p<0.05$ ). Çalışmamızda ayrıca, kökenlerin adezyon-fosfolipaz, adezyon-asit proteinaz özellikleri arasında bağlantı olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, *Candida parapsilosis*'e bağlı hematogen infeksiyonlarda fosfolipaz üretiminin önemli bir virülans faktörü olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Candida parapsilosis*, aderens, asit proteinaz, fosfolipaz

## SUMMARY

Virulence Factors of *Candida parapsilosis* Strains Isolated from Hospitalized Fungemic Patients

In this study, we investigated the presence of the virulence factors including adherence, acid proteinase and phospholipase production capabilities of 33 *Candida parapsilosis* strains of which 19 were isolated from blood cultures of hospitalized fungemic patients (study group 1) and 14 were isolated from non-blood clinical materials (study group 2). We also investigated the importance of present factor or factors in the development of fungemia. The mean of adherence values of 19 blood isolates and 14 non-blood isolates were found to be 52.63 and 57.96, respectively. For adherence capability, there was no significant difference between the two groups ( $p>0.05$ ). Nine non-blood strains (64.29%) of study group 2 and five blood strains (26.31%) of study group 1 were found to be positive for acid proteinase production; this difference was statistically significant ( $p<0.05$ ). Phospholipase production was found in five strains (26.31%) of 19 blood isolates. None of 14 non-blood strains exhibited phospholipase activity; this difference between the two groups was statistically significant ( $p<0.05$ ). In this study, correlation between adherence-phospholipase, adherence-acid proteinase properties of strains was detected as well.

In the present study, it has been suggested that phospholipase production can be an important virulence factor in bloodstream infections caused by *Candida parapsilosis*.

Key Words: *Candida parapsilosis*, adherence, acid proteinase, phospholipase

## GİRİŞ

Son 20 yılda, başta nozokomiyal fungemiler olmak üzere, *Candida* türlerine bağlı ciddi infeksiyonlarda önemli bir artış gözlenmiştir (1). *Candida albicans* başlıca etken olarak izole edilmekle birlikte, fungemilerin %30'undan fazlasının başta *C. parapsilosis* olmak üzere, *albicans* dışı türlere bağlı olduğu bildirilmiştir (1-3).

*Candida parapsilosis*'in neden olduğu fungemi sıklığı 1987-1990 arasında %8'den %30'a yükselmiştir. Bu artış 1991-1994 arasında da sürmüştü ve tüm kandidemi olgularının 1/3'ünün *C. parapsilosis*'e bağlı olduğu saptanmıştır (2).

Ülkeler bazındaki bazı çalışmalara göre, 1981-1993'de Taiwan'da *C. parapsilosis* fungemilerinin 4-6 kat arttığı; Brezilya'daki bir çocuk hastanesinde

kandidemi olgularının %37.5'inin *C. albicans*; %24.3'ünün *C. parapsilosis*'e bağlı olarak geliştiği ve diğer türlerin bunları izlediği bildirilmiştir (4,5).

Araştırmacılar, *C. parapsilosis* fungemilerinin artışı- nı, bu organizmanın kateter ve benzeri plastik yüzey- lere yüksek afiniteyle adere olma (tutunma) yetene- ğiyle açıklamaktadırlar (1). Ek olarak, bu organiz- manın bazı hidrolitik enzimleri üretme yeteneğinin de patojenitesiyle ilişkili olabileceğine dair çalışma- lar vardır (6,7).

Bu çalışmada, fungemili olgulardan izole edilen *C. parapsilosis* kökenlerinde asit proteinaz, fosfolipaz ve aderens özelliklerinin bir arada araştırılması ve fungemi gelişiminde hangi faktör ya da faktörlerin rol alabileceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

#### GEREÇ ve YÖNTEM

**Kökenler:** Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde ya- tan ve fungemi gelişen olguların kan kültürlerinden izole edilen 14 maya, Tween-80'li mısır unlu agarda- ki görünüm ve ID-32-C (bio Merieux-France) siste- mindeki asimilasyon reaksiyonlarına göre *C. parap- silosis* olarak tanımlanmıştır; ek olarak beş adet kan izolatu Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi Mik- robiyoloji Laboratuvarı'ndan sağlanmıştır. (çalışma grubu 1: Ç.G.1).

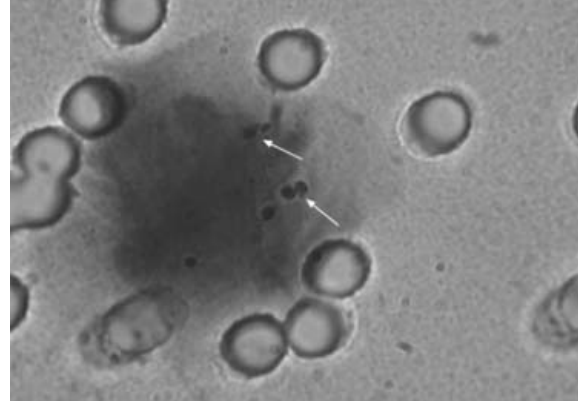
**Kan dışı klinik materyalden izole edilen 14 adet (al- tısı idrardan, sekizi diğer materyallerden) *C. parap- silosis* kökeni, kıyaslama amacıyla kullanılmıştır (çalışma grubu 2: Ç.G.2).**

**Adezyon Deneyi:** PBS (pH: 7.2) ile sulandırılarak ve Thoma lamında sayılarak ayarlanan  $1 \times 10^7$  ma- ya/ml ve  $1 \times 10^5$  yanak epitel/ml içeren süspansiyon- lardan 0.1'er ml alınarak elde edilen karışım 1 saat,  $37^\circ\text{C}$ 'de, dakikada 40 devir yapan çalkalayıcıda in- kübe edilmiştir. Takiben, karışım 12 mm çapında porları olan şeffaf polikarbonat filtreden (Millipore) süzülümü; filtre serbest mayaların uzaklaştırılması amacıyla yıkanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuş- tur. Gram yöntemiyle boyanan filtre, lamelle kapatı- lıp, 40x objektif ile incelenmiştir. Her filtrede 100 epitel hücresi ve bunlara tutunan mayalar sayılmıştır; deney iki kez tekrarlanmış ve ortalama değer belirlenmiştir (8-11) (Resim 1).

Deneyin güvenilirliği, 500 mM galaktozlu ortamda

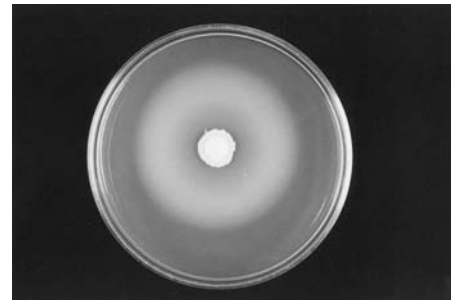
üretildiğinde 100 epitele 700-1600 maya hücresinin tutunduğu standard *C. albicans* GL 2346 kökeni kul- lanılarak değerlendirilmiştir.

Resim 1. Epitel hücresine yapışmış maya hücreleri (Gram, x1000)



**Asit Proteinaz Deneyi:** YEPD (maya özütü, pepton, dekstroz) buyyonda  $30^\circ\text{C}$ 'de 4 saat inkübasyonu takib- en, 0.5 McFarland bulanıklık ayarı yapılan maya süspansiyonundan 10 ml alınarak, sığır serum albumi- ni içeren agar (pH: 5.0) yüzeyine konulmuş olan ster- ril kağıt diske damlatılmıştır. Her bir köken için bu iş- lemin yapıldığı besiyerleri  $30^\circ\text{C}$ 'de altı gün inkübe edilmiştir. Hafif opak olan besiyerinde, üremeyle bir- likte disk çevresinde artan opaklığın gözlenmesi ve sonradan, aynı disk çevresinde oluşan şeffaf zonun milimetrik ölçümünün yapılması ile sonuçlar değeri- lendirilmiştir. Lizis zonlarının oluşmaması (-); diskin 1-2 mm açıklığına kadar lizis zonu ılımlı (1+); diskin 3- 5 mm açıklığına kadar genişlemiş lizis zonu ise kuvvet- li (2+) asit proteinaz aktivitesi olarak belirlenmiştir (12) (Resim 2).Deneyde *C. albicans* CBS 2730 kontrol amaçlı standard köken olarak kullanılmıştır.

Resim 2. Sığır serum albuminli agarda (++) asit proteinaz ak- tivitesi



**Fosfolipaz Deneyi:** Serum fizyolojik ile, 0.5 McFarland bulanıklık ayarı yapılan maya süspansiyonundan alınan 10 mlitre örnek, yumurta sarısı içeren agar (pH: 4.3) yüzeyine değdirilerek ekilmiş ve besiyerleri 37°C’de 4 gün inkübe edilmiştir (11). Pozitif kontrol olarak *C. albicans* SC 5314 standard kökeni kullanılmıştır. Kökenlerin fosfolipaz aktivitesi, koloni çevresinde halka şeklindeki presipitasyon zonu (Pz) oluşumu ile değerlendirilmiştir (Resim 3). Koloni çapının, koloni ile birlikte presipitasyon zonunun toplam çapına oranı hesaplanarak, Pz: 1.0 (-); Pz: 0.9-1.0 (+); 0.89-0.8 (2+); 0.79-0.7 (3+); ve £0.69 (4+) olarak belirlenmiştir (13).

Resim 3. Yumurta sarısı içeren agarda (+++) fosfolipaz aktivitesi



**İstatistiksel Analizler:** Gruplar arası adezyon yeteneği arası farkın belirlenmesi için “Tek Yönlü Varyans Çözümlemesi”; fosfolipaz üretimi açısından farkın belirlenmesi için “Fisher Kesin Olasılık Testi”; asit proteinaz açısından farkın belirlenmesi için “X<sup>2</sup> testi” uygulanmıştır; p <0.05 değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Araştırılan üç virülans faktörün birbirlerine etkisi ise “Mann-Whitney U Testi” ile değerlendirilmiştir (14).

## BULGULAR

*Candida parapsilosis* kökenlerinin klinik materyallere göre dağılımı Tablo 1’de gösterilmiştir.

*C. parapsilosis* kökenlerinin adezyon etkinlikleri,

Tablo 1. *C. parapsilosis* izolatlarının klinik materyallere göre dağılımı

| Klinik Materyal           | C.parapsilosis (n) | İzolatların Dağılımı (%) |
|---------------------------|--------------------|--------------------------|
| Kan (çalışma grubu1)      | 19                 | 57.58                    |
| Kan dışı (çalışma grubu2) | 14                 | 42.42                    |
| İdrar                     | 6                  | 42.86                    |
| Periton                   | 1                  | 7.14                     |
| B.O.S                     | 2                  | 14.28                    |
| E.TA                      | 1                  | 7.14                     |
| Yara                      | 1                  | 7.14                     |
| Tırnak                    | 3                  | 21.43                    |
| Genel Toplam              | 33                 | 100.00                   |

asit proteinaz ve fosfolipaz oluşturma düzeyleri Tablo 2’de özetlenmiştir (Tablo 2).

### Kökenlerin Aderens Aktivitesi

Toplam 33 *C. parapsilosis* kökeninin ortalama adezyon değeri 54.89; kan izolatlarının (Ç.G.1) ortalama değeri 52.63, kan dışı materyalin (Ç.G.2) değeri ise 57.96 olarak saptanmıştır; iki grup arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir (p>0.05).

Ç.G. 2’de yer alan idrar izolatlarının ortalama adezyon değeri 92.69 olmakla beraber, sayı azlığı nedeniyle istatistiksel analiz yapılamamıştır.

### Kökenlerin Asit Proteinaz Aktivitesi

Toplam 33 *C. parapsilosis* kökeninin 14’ü (%42.42) asit proteinaz aktivitesi göstermiştir; bunların 11’i (%79) kuvvetli (++), 3’ü (%21) ılımlı (+) proteolitik olarak saptanmıştır.

Asit proteinaz, Ç.G.1’in 5’inde (%26.31); Ç.G.2’nin ise 9’unda (%64.29) mevcut olup, iki grup arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Ç.G. 2’de yer alan 6 idrar izolatının 5’inde kuvvetli (++) olmak üzere, hepsinde enzim aktivitesi saptanmıştır.

### Kökenlerin Fosfolipaz Aktivitesi

Toplam 33 kökenden yalnızca Ç.G.1’de yer alan 5 kökende (%26.31) fosfolipaz aktivitesi saptanmış olup, Ç.G.2 ile arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0.05).

Kökenlerin klinik materyale göre adezyon ortalamaları ve asit proteinaz ve fosfolipaz düzeyleri Tablo

Tablo 2. C. parapsilosis izolatlarının adezyon, asit proteinaz ve fosfolipaz düzeyleri

| İzolat No. | İzolatın Kaynağı | Adezyon Ortalama – SD | Fosfolipaz     | Asit Proteinaz |
|------------|------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| 1          | Kan              | 32.37 ± 8.83          | (-)            | (-)            |
| 2          | Kan              | 53.37 ± 15.15         | (-)            | (-)            |
| 3          | Kan              | 30.25 ± 6.38          | (-)            | (-)            |
| 4          | Kan              | 21.25 ± 7.9           | (-)            | (-)            |
| 5          | Kan              | 20.75 ± 4.34          | (-)            | (-)            |
| 6          | Kan              | 116 ± 33.32           | 0.68 cm (++++) | 0.5 cm (++)    |
| 7          | Kan              | 17.66 ± 2.07          | (-)            | (-)            |
| 8          | Kan              | 75.33 ± 19.11         | (-)            | (-)            |
| 9          | Kan              | 30 ± 10.88            | (-)            | (-)            |
| 10         | Kan              | 50.44 ± 13.64         | (-)            | (-)            |
| 11         | Kan              | 15.5 ± 4.2            | (-)            | (-)            |
| 12         | Kan              | 21.5 ± 7.73           | (-)            | (-)            |
| 13         | Kan              | 110.5 ± 49.1          | 0.59 cm (++++) | 0.5 cm (++)    |
| 14         | Kan              | 25.75 ± 4.34          | (-)            | (-)            |
| 15         | Kan              | 108 ± 14.43           | 0.6 cm (++++)  | 0.55 cm (++)   |
| 16         | Kan              | 15.75 ± 3.86          | (-)            | 0.5 cm (++)    |
| 17         | Kan              | 18.25 ± 4.66          | (-)            | 0.5 cm (++)    |
| 18         | Kan              | 89.1 ± 27.63          | 0.86 cm (++)   | (-)            |
| 19         | Kan              | 146.2 ± 14.72         | 0.55 cm (++++) | (-)            |
| 20         | İdrar            | 116.4 ± 31.59         | (-)            | 0.2 cm (+)     |
| 21         | İdrar            | 113 ± 46.94           | (-)            | 0.3 cm (++)    |
| 22         | İdrar            | 72.75 ± 15.88         | (-)            | 0.3 cm (++)    |
| 23         | İdrar            | 49 ± 4                | (-)            | 0.4 cm (++)    |
| 24         | İdrar            | 98.75 ± 17.86         | (-)            | 0.3 cm (++)    |
| 25         | İdrar            | 106.25 ± 3.98         | (-)            | 0.4 cm (++)    |
| 26         | Periton          | 45 ± 3.02             | (-)            | (-)            |
| 27         | BOS              | 16.25 ± 2.13          | (-)            | (-)            |
| 28         | BOS              | 21.75 ± 3.39          | (-)            | (-)            |
| 29         | ETA              | 21.71 ± 8.09          | (-)            | (-)            |
| 30         | Yara             | 35 ± 10.98            | (-)            | 0.25 cm (+)    |
| 31         | Tırnak           | 43.8 ± 9.82           | (-)            | 0.4 cm (++)    |
| 32         | Tırnak           | 53 ± 17.58            | (-)            | 0.2 cm (+)     |
| 33         | Tırnak           | 18.87 ± 5.2           | (-)            | (-)            |

Candida albicans CBS 2730 ..... 0.7 cm (++)

Candida albicans GL 2346 ..... 956 ± 49.23

Candida albicans SC 5314..... 0.52 cm (++++)

3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Fosfolipaz ve asit proteinaz üreten Candida parapsilosis kökenlerin sayısı ve izolatların materyale göre adezyon ortalamaları

### Üç Virülans Faktörünün Birbiri Üzerine Etkileri

| Uygulanan Deney | Kan (n=19)    | İdrar (n=6) | Diğer Materyal (n=8) |
|-----------------|---------------|-------------|----------------------|
| Adezyon (ort.)  | 52.63         | 92.69       | 31.92                |
| Fosfolipaz      | n=5 (% 26.31) | -           | -                    |
| Asit proteinaz  | n=5 (% 26.31) | n=6 (%100)  | n=3 (%37.5)          |

Toplam 33 izolatın adezyon-asit proteinaz ve adezyon-fosfolipaz üretimi arasında bağlantı bulunurken; asit proteinaz-fosfolipaz arasında bağlantı bulunmamıştır.

Ancak, istatistiksel analiz Ç.G.1 ve 2'ye ayrı ayrı uygulandığında 19 kan kökeninin hiçbirinde adezyon-asit proteinaz ve 14 kan dışı materyalin hiçbirinde adezyon-fosfolipaz bağlantısı saptanmamıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Klinik materyale göre C. parapsilosis kökenlerinin virülans faktörleri arası ilişki\*

### Enzim Düzeylerinin Aderens Değeri Üzerine Etkisi

| Materyal | Adezyon - asit proteinaz              | Adezyon-fosfolipaz                    | Fosfolipaz-asit proteinaz             |
|----------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Kan      | Yok (U <sub>D</sub> <U <sub>T</sub> ) | Var (U <sub>D</sub> >U <sub>T</sub> ) | Yok (U <sub>D</sub> <U <sub>T</sub> ) |
| Kan Dışı | Var (U <sub>D</sub> >U <sub>T</sub> ) | Yok (U <sub>D</sub> <U <sub>T</sub> ) | Var (U <sub>D</sub> >U <sub>T</sub> ) |

\* Mann-Whitney U Testi

UD: Çalışmada saptanan değer UT: Tablo değeri

Fosfolipaz (4+) olan 4 kan izolatının adezyon değerleri 116, 110.5, 108, 146.2 yani genel ortalamanın üzerinde iken; (2+) olan bir kökenin adezyon değeri 89.1'dir; örnek sayısının azlığı nedeniyle anlamlı gözükken bu bulgular, istatistiksel açıdan değerlendirilememiştir. Üretilen asit proteinaz düzeyinin ise adezyon değeri etkilemediği saptanmıştır.

### TARTIŞMA

Candida parapsilosis'in virülans faktörlerini irdeleyen pek çok çalışmanın varlığına karşın, hidrolitik enzimleri ve aderens özelliğini bir arada irdeleyen çalışmalar çok kısıtlıdır. Bu çalışmada aderens, asit proteinaz ve fosfolipaz özellikleri bir arada değerlendirilmiştir.

Candida parapsilosis kökenlerinin aderens yeteneğini araştıran bir çalışmada, 24 izolatın ortalama adezyon değeri 52.12 olarak saptanmıştır (10). Fernando ve ark. (9) 14 izolatın aderens ortalamasını 52.0 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki 33 kökenin ortalama değeri 54.89 olup, iki çalışmanın sonuçları ile uyumludur. Ancak kökenlerimizde, 15.5-146.2 arasında değişen tür içi adezyon değişiklikleri de dikkat çekici olup, yukarıda belirtilen iki çalışmada da benzer bulgular mevcuttur. İzolatlar klinik materyal açısından değerlendirildiğinde, Panagoda (10), Fernando ve ark. (9) ve de Bernardis ve ark. (15) çalışmalarında sistemik ve yüzeysel kökenler arasında aderens farkı bulunmadığı belirtilmiştir. Çalışmamızda da, Ç.G.2'de yer alan kan dışı izolatların adezyon ortalaması, Ç.G.1'e göre yüksek olmakla birlikte; bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (p>0.05). İdrar izolatlarımız aderens açısından 92.69 gibi yüksek bir değer sergilemiştir ancak, sayının yetersizliği nedeniyle istatistiksel analiz yapılamamıştır. Bir kan izolatımız ise, ağırlıklı olarak yalancı hif oluşturmuş olup, adezyon değeri 146.2 ile en yüksek değeri vermiştir. Literatürde de, hifal formların daha fazla adezif olduğu bildirilmiştir (16).

Asit proteinaz üretimi değerlendirildiğinde, Ç.G.1'de %26.31 ve Ç.G.2'de %64.29 oranında saptanan aktivite, iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık sergilemiştir (p<0.05). Bernardis ve ark. (15) yaptıkları kıyaslamalı çalışmada C. parapsilosis'in deri izolatlarının kan izolatlarına göre daha yüksek düzeyde asit proteinaz ürettiğini saptamışlardır. Cassone ve ark. (17) çalışmalarında, C. parapsilosis'in vajinal izolatlarının, kan izolatlarına göre daha fazla asit proteinaz ürettiğini gözlenmiştir. Çalışmamızda, asit proteinaz üreten Ç.G.1 izolatlarının hepsi kuvvetli (++) proteolitik iken, Ç.G.2'deki enzim üreten kökenlerin 6'sı kuvvetli (++) , 3'ü ılımlı (+) proteolitik olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda 33 C. parapsilosis izolatının fosfolipaz üretimleri de değerlendirilmiş ve kökenlerin %15.15'inde saptanmıştır. Uzun bir dönem başlıca C. albicans'la ilişkilendirilen bu enzim, çok kısıtlı

sayıdaki çalışmada *C. parapsilosis* kökenlerinde de gösterilmiştir. Ghannoum'un (18) fosfolipid kaynağı olarak yumurta sarısı içeren besiyeriyle yaptığı çalışmasında *albicans* dışı diğer *Candida* türlerinin yanı sıra, *C. parapsilosis* kökenlerinin %51'inde fosfolipaz saptandığı bildirilmiştir. Schmizu ve ark. (19) ve Kantarcıoğlu (20) ise yumurta sarılı besiyeri kullandıkları çalışmalarında *C. parapsilosis* kökenlerinde fosfolipaz aktivitesi gözlemediklerini belirtmişlerdir. Çalışmalar arasındaki sonuç farklılıkları, kökenler arası farklılığa ya da besiyerinin hazırlanmasındaki değişikliklere bağlı olabilir. *Candida albicans* izolatları ile yapılan bazı çalışmalarda, fosfolipaz üretiminin infeksiyon bölgesi ile bağlantılı olduğu, kan izolatlarının, yara, ağız sürüntüsü, idrar gibi materyallerden izole edilenlere oranla daha yüksek oranda ve düzeyde enzim ürettikleri bildirilmiştir (21,22). Çalışmamızda da, Ç.G.2'de yer alan kan dışı materyallerden izole edilen 14 kökende fosfolipaz saptanmamıştır. Ç.G.1'de yer alan 19 kan izolatının ise yalnızca 5'inde (%26) kuvvetli fosfolipaz aktivitesi gözlenmiştir (Tablo 2,3). Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0.05$ ). Bu bulgu, sayıca yüksek olmakla birlikte, kandan izole edilen *C. parapsilosis* kökenlerinde de, *C. albicans* kökenlerinde olduğu gibi fosfolipaz üretiminin önemli bir virülans faktörü olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda, *C. parapsilosis* kökenleri tarafından salgılanan iki hidrolitik enzimin, mantarın epitel yüzeyine aderensi üzerine etkileri olup olmadığı da araştırılmıştır. Barrett-Bee ve ark. (6) ve Ülger (11) *C. albicans* ile yaptıkları çalışmalarda adezyon ve fosfolipaz arasında bağlantı olduğunu bildirmişlerdir. Ancak Yücel ve ark. (13) ve İbrahim ve ark. (22) ise, böyle bir bağlantı göstermemişlerdir; araştırmacılar sonuçlarındaki farklılığın, epitel yerine endotel hücrelerinin kullanılmasıyla açıklanabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda toplam 33 *C. parapsilosis* kökeninde fosfolipaz üretiminin aderensi artırdığı ancak istatistiksel analiz sonucu, bunun sadece Ç.G.1'de yer alan kan izolatlarıyla sınırlı kaldığı; kan dışı materyalden izole edilen 14 kökende (Ç.G.2) ise bu bağlantının olmadığı saptanmıştır (Tablo 4). Bar-

rett-Bee ve ark. (7) sadece enzim aktivitesinin değil, bu aktivitenin düzeyinin de aderensi etkilediğini göstermişlerdir. Çalışmamızda fosfolipaz aktivitesi (4+) olan 4 kökenin adezyon değerleri de diğerlerine göre oldukça yüksek (116,110.5,108,146.2) olarak saptanmıştır. Örnek sayısının azlığı nedeniyle, bu konuda istatistiksel analiz uygulanamamıştır.

Asit proteinazın aderens üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada enzim üreten *C. albicans* kökenlerinin, epitel yüzeyine de yüksek derecede tutunduğu belirtilmiştir (23). Benzer bağlantı Ghannoum ve Elteen (24) tarafından ortaya konmuş ve dahası, araştırmacılar, yüksek düzeyde enzim üretiminin, aderensin gücünü de artırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda toplam 33 *C. parapsilosis* kökeninde asit proteinaz ve aderens arasında bağlantı bulunmuştur; ancak istatistiksel analizlere göre, bu bağlantı Ç.G.2'deki kan dışı izolatlar ile sınırlı kalmıştır (Tablo 4).

Literatürde kan ya da kan dışı materyalden izole edilen *C. parapsilosis* kökenlerinde asit proteinaz ya da fosfolipaz üretimi ve düzeyinin aderens ile bağlantısını belirleyen verilere rastlanmamıştır.

Çalışmamızda asit proteinaz ve fosfolipaz üretiminin birbirlerine karşı olumlu ya da olumsuz etkilerinin irdelenmesi sonucu, bu iki faktör arasında bağlantı olmadığı belirlenmiştir (Tablo 4). Benzer olarak, Ülger'de (11) *C. albicans* kökenleriyle yaptığı çalışmada iki enzim arasında bağlantı göstermemiştir.

Çalışmamız, fungemili olguların kan kültürlerinden izole edilen *C. parapsilosis* kökenlerinde özellikle fosfolipaz üretiminin, daha önceden *C. albicans* kökenlerinde gösterildiği gibi önemli bir virülans faktörü olabileceğine deneysel destek vermektedir. Ayrıca çalışmamızda fosfolipaz üretimi-adezyon arasında bağlantı da saptanmıştır. Durumu kritik olan hastaların değişik klinik materyallerinden izole edilen *C. parapsilosis* kökenlerinde, yumurta sarısı içeren agarda fosfolipaz aktivitesinin saptanması, kökenin adezyon gücü hakkında da bilgilendirici olabilir. Bu da, olası bir fungemi açısından klinisyeni uyarmada yardımcı bir uygulama olabi-

lir, görüşündeyiz.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 2002 yılında tez projesi olarak desteklenmiştir.

Çalışmamızdaki katkılarından dolayı Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Beyza Ener'e, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından köken sağlayan Prof. Dr. Deniz Gür'e teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Branchini ML, Pfaller MA, Rhine-Chalberg J, Frempong T, Isenberg HD: Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol* 32:452 (1994).
2. Girmenia C, Martino P, Bernardis F, Gentile G, Bocanera M, Monaco M, Antonucci G, Cassone A: Rising incidence of *C. parapsilosis* fungemia in patients with hematologic malignancies: clinical aspects, predisposing factors, and differential pathogenicity of the causative strains. *Clin Infect Dis* 23:506 (1996).
3. Weems JJ: *Candida parapsilosis*: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility. *Clin Infect Dis* 14:756 (1992).
4. Chen Y, Chang S, Sun C, Yang L, Hsieh W, Luh K: Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections at a teaching hospital in Taiwan, 1981 to 1993. *Infect Cont Hosp Ep* 18:369 (1997).
5. Yeğenoğlu Y: *Candida* infeksiyonlarının epidemiyolojisi. "Kiraz N, Kiremitçi A, Akgün Y (Ed): *Candida* Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu", s 55, Eskişehir (2002).
6. Barette-Bee K, Hayes Y, Wilson RG, Ryles JF: A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeasts. *J Gen Microbiol* 131:1217 (1995).
7. Borg M, Rüchel R: Expression of extracellular acid proteinase by proteolytic *Candida* spp. during experimental infection of oral mucosa. *Infect Immun* 56:626 (1988).

8. Ener B: *Candida albicans* suşlarında epitel hücrelerine bağlanma ve bununla yüzey hidrofobik özellikleri arasındaki ilişkinin araştırılması, M.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.B. Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul (1991).
9. Fernando P, Panagoda GJ, Samaranyake LP: The relationship between the acid and alkaline phosphatase activity and the adherence of clinical isolates of *C. parapsilosis* to human buccal epithelial cells. *APMIS* 107:1034 (1999).
10. Panagoda GJ, Ellepola ANB, Samaranyake LP: Adhesion of *C. parapsilosis* to epithelial and acrylic surfaces correlates with cell surface hydrophobicity, *Mycoses* 44:29 (2001).
11. Ülger NT: *Candida albicans*'ın virülans faktörleri arasındaki ilişki ve bu faktörlerin kolonizasyon ve enfeksiyon ayırımındaki rolleri, M.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.B. Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul (1995).
12. Çerikçioğlu N: Klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarında asit proteaz enzimi varlığının ve bunun virülans ile ilişkisinin araştırılması. H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara (1993).
13. Yücel A, Kantarcıoğlu AS: *Candida albicans* kökenlerinin bazı virülans faktörlerinin (fosfolipaz, proteaz, çimlenme borusu ve aderens) ve aralarındaki korelasyonun belirlenmesi. *İnfek Derg* 15:517 (2001).
14. Şenocak M: Bioistatistik 2. Baskı, İstanbul Üniversitesi Basımevi, İstanbul (1998).
15. Bernardis F, Mondello F, Millan RS, Ponton J, Cassone A: Biotyping and virulence properties of skin isolates of *C. parapsilosis*. *J Clin Microbiol* 37:3481 (1999).
16. Hostetter MK: Adhesins and ligands involved in the interaction of *Candida* spp. with epithelial and endothelial surfaces. *Clin Microbiol Rev* 7:29 (1994).
17. Cassone A: Biotype diversity of *C. parapsilosis* and its relationship to the clinical source and experimental pathogenicity. *J Infect Dis* 171:967 (1995).
18. Ghannoum MA: Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 13:122 (2000).
19. Shimizu MT, Almeida NQ, Fantinato V, Unterkircher CS: Studies on hyaluronidase, chondroitin sulphatase, proteinase and phospholipase secreted by *Candida* species. *Mycoses* 39:161 (1996).
20. Kantarcıoğlu AS: Detection of phospholipase and proteinase production in clinical isolates of *Candida* species, Abstract, 9th European Congress of Clinical Microbio-

logy and Infectious Diseases, p 340, 21-24 Mart, Berlin (1999).

21. Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO: Plate method for detection of phospholipase activity in *C. albicans*. *Sa-bouraudia* 20:7 (1982).

22. İbrahim AS, Mirbod F, Filler SG, Banno Y, Cole GT, Kitajima Y, Edwards JE, Nozawa Y, Ghannoum MA: Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *C. albicans*. *Infect Immun* 63:1993 (1995).

23. Ray TL, Payne CD, Morrow BJ: *Candida albicans* acid proteinase: characterization and role in candidiasis. *Adv Exp Med Biol* 306:173 (1991).

24. Ghannoum MA, Elteen KA: Correlative relationship between proteinase production, adherence and pathogenicity of various strains of *C. albicans*. *J Med Vet Mycol* 24:407 (1986).