

İNFEKSİYON ETKENİ OLARAK İZOLE EDİLEN CANDIDA ALBICANS VE NON-ALBICANS CANDIDA SUŞLARINDAKİ BAZI VİRULANS FAKTÖRLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF CERTAIN VIRULENCE FACTORS IN CANDIDA ALBICANS AND NON-ALBICANS CANDIDA STRAINS ISOLATED AS INFECTIOUS AGENT

Mevlüt YILDIRIM, İpek MUMCUOĞLU, Şenol KURŞUN, Kamer KOLDAŞ,
Vedat YETENER, Neriman BALABAN

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

İletişim / Correspondence:

İpek MUMCUOĞLU

GATA Lojmanları Serter Apt. Daire: 14 Basınevleri/ANKARA 06020

E-mail: ipekmumcuoglu@hotmail.com

* 2008 yılında yapılan 33. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (21-25 Ekim 2008, Bodrum) sunulmuştur.

ÖZET

Bu çalışmada yatan hastalardan izole edilen 92 *Candida albicans*, 40 non-albicans suşu fosfolipaz, esteraz, hemolitik aktivite ve slime üretimleri açısından değerlendirildi. Kontrol grubu olarak, sağlıklı bireylerin oral florasından izole edilen kandida suşları kullanılmıştır. Suşların fosfolipaz aktivitesinin saptanmasında yumurta sarılı agar yöntemi, esteraz aktivitelerinin belirlenmesi için de Tween 80 katkılı agar yöntemi, hemolitik aktivitelerinin tayini için, %5 koyun kanlı SDA besiyeri ve slime faktör varlığının incelenmesinde Kongo kırmızılı beyin-kalp infüzyon agar yöntemi kullanılmıştır. *C.albicans* suşlarında fosfolipaz, esteraz, β hemolitik aktivite ve slime üretimleri sırasıyla %91, %84, %87 ve %17 olarak, non-albicans suşlarında ise %73, %35, %70 ve %33 olarak tespit edilmiştir. Hasta grubunda izole edilen *C.albicans* ve non-albicans suşlarında fosfolipaz ve β hemolitik aktivitenin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Anahtar kelimeler: *Candida albicans*, non-albicans, virulans faktörleri

SUMMARY

In this study fosfolipase, esterase, haemolytic activity and slime production in 92 *Candida albicans* and 40 non-albicans strains which isolated from hospitalized patient was evaluated. Candida strains that isolated from oral cavity of healthy subjects was used as a control group. Yolk egg agar method was used for detection of fosfolipase activity, Tween 80 agar method was used for detection of esterase activity, 5% sheep blood SDA was used for detection of haemolytic activity and Congo red brain heart infusion agar method was used for detection of slime factor. Fosfolipase, esterase, β haemolytic activity and slime production was detected 91%, 84%, 87% and 17% in *C.albicans* strains and 73%, 35%, 70% and 33% in non-albicans strains respectively. Fosfolipase and β haemolytic activity were significantly higher in *C.albicans* and non-albicans strains from patient group than control group ($p<0.05$).

Key Words: *Candida albicans*, non-albicans, virulence factors

GİRİŞ

Son yıllarda tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere paralel olarak mantar infeksiyonlarında artışlar gözlenmektedir. Özellikle immün sistemi baskılanan hastalarda konak savunmasında oluşan önemli değişiklikler, infeksiyonlara duyarlılığı arttırırken, hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik invaziv tıbbi girişimler de nozokomiyal infeksiyonların gelişimini kolaylaştırmaktadır. İnsanlarda görülen fırsatçı mantar infeksiyonlarının en sık etkeni *kandida* türleridir. *Kandida* türlerinin epidemiyolojik, virulans ve antifungal duyarlılık özelliklerini belirlemeye yönelik yaygın araştırmalar devam etmektedir (1-4).

Kandida infeksiyonlarının patogenezi açıklamak ve yeni kandidoz tedavisini geliştirmek amacı ile yapılan çalışmalarda konak savunma sisteminin rolünün yanında kandidalara ait virulans faktörlerinin de önemi belirtilmektedir. Yapılan araştırmalar infeksiyonlarda tek bir virulans faktörünün rol oynamadığını göstermiştir. Özellikle adherans, germ tüp oluşturma, proteinaz, fosfolipaz majör virulans faktörleridir. Ayrıca toksinler, pleomorfizm, fenotip değişimi, hücre duvarı ve yüzey değişimi ile hidrofobisite gibi faktörler de virulansta ve patogenezi de rol oynamaktadır. Slime faktör, hemolizin, esteraz ve lipaz gibi faktör ve enzimler de virulansı belirleyen diğer faktörlerdendir (5-8).

Çalışmamızda, infeksiyon etkeni olarak izole edilen *C.albicans* ve non-*albicans* suşlarında fosfolipaz, esteraz, hemolitik aktivite ve slime üretimleri açısından bir fark olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta grubu. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 01.08.2005 ve 30.7.2007 tarihleri arasında yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 92 *C.albicans* ve 40 non-*albicans* kökeni olmak üzere toplam 132 suş çalışmaya alınmıştır.

Kontrol grubu. 1.10.2007 ve 30.11.2007 tarihleri arasında, sağlıklı bireylerin (hastanede çalışmayan, hastanede çalışan yakını olmayan) oral florasından izole edilen 27 *C.albicans* ve 12 non-*albicans* olmak üzere toplam 39 *kandida* suşu kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Materyaller Sabouraud-Dextroz Agar (SDA) ve kanlı agar besiyerlerine ekilmiştir. Bu besiyerlerinde, oda ısısında ve 37°C'de üreyen kolonilerden gram

boyama yapılmış ve maya görünümünde olan suşlara germ tüp testi uygulanmış, bu testte pozitif çıkan suşlar *C.albicans* olarak isimlendirilirken, negatif olanlar ID32C (bioMerieux, France) kiti ile adlandırılmıştır.

Fosfolipaz Deneyi. Suşların fosfolipaz aktivitesinin saptanmasında yumurta sarılı agar yöntemi kullanılmıştır (9). **Besiyerinin Hazırlanışı:** 13 g SDA (Difco), 11.7 g NaCl (Horasan Kimya), 0.111 g CaCl₂ . 6 H₂O (Merck), 184 ml distile su. Karışım otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilerek 50°C'lik su banyosuna konulmuştur. 80 g yumurta sarısı ağız kapalı bir tüp içerisine alınarak, 37°C'de 1 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda yumurta sarısı içeren tüp 2500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatant distile su ile ilk hacmine tamamlanmıştır. Besiyeri 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra yumurta sarısı son konsantrasyon 80g/L olacak şekilde besiyerine yavaş yavaş eklenmiş, sitrik asit/disodyum fosfat tamponu kullanılarak besiyeri pH'ı 4,3 olacak şekilde ayarlanmıştır. **Deneyin Yapılışı:** SDA'da 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası üreyen maya kolonilerinden steril serum fizyolojik kullanılarak McFarland 0.5 bulanıklığına göre süspansiyonlar hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlardan ölçülü özeyle (0.01ml) besiyeri yüzeyine değiştirilmek suretiyle her petriye 4 adet ekim yapılmış ve 37°C'de 2 gün inkübe edilmiştir. Fosfolipaz aktivitesi inkübasyon sonrasında koloni çapının, presipitasyon zonunun çapına oranı hesaplanarak değerlendirilmiştir. Bu hesaplama göre, Pz=1 değeri çalışılan kökenin fosfolipaz aktivitesinin negatif olduğunu gösterir. Presipitasyon zonunun çapı arttıkça hesaplanan Pz değeri küçülecek ve fosfolipaz aktivitesi artacaktır.

Slime Faktör. Slime faktör varlığı Kongo kırmızılı beyin-kalp infüzyon agar besiyerinde incelendi (10). **Besiyerinin Hazırlanışı:** 37 g BHI broth (Oxoid), 80 g glukoz (Merck), 0.8 g kongo kırmızısı (Merck), 10 g agar (Biolab). Besiyeri hazırlandıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiş ve 9 cm'lik petrilere 15-20 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. SDA'da üreyen 24 saatlik *kandida* suşlarından, hazırlanan besiyerlerine, her petride 4 suş olacak şekilde öze ile ekim yapılmıştır. Besiyerleri 35°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Koyu kırmızı- pembe renk koloniler slime pozitif, renksiz koloniler slime negatif olarak değerlendirilmiştir.

Hemolizin. Suşların hemolitik aktivitelerinin tayini için, %5 koyun kanlı SDA besiyeri kullanılmıştır

(11). Besiyeri için; 30 g glukoz (Merck), hazırlanan 1L'lik SDA (Difco) içine ilave edilmiş ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilerek pH'ı 5,5'e ayarlanmış ve besiyeri 40-45°C'ye kadar soğutulduktan sonra 50ml/L olacak şekilde koyun kanı eklenmiş ve 9 cm'lik petri kutularına 15'er ml dağıtılmıştır. SDA'da üreyen 24 saatlik kandida suşlarından %0,9'luk NaCl ile McFarland 2'ye göre bulanıklık ayarı yapılarak süspansiyonlar hazırlanmıştır. Her petri kutusuna 4 tane çapı 1 cm olacak şekilde inokülasyonlar yapılmıştır. Petri kutuları 37°C'de, %5'lik CO₂'li ortamda 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda α ve β hemoliz oluşumu incelenmiştir.

Esteraz. Esteraz aktivitesinin belirlenmesi için Tween 80 katkılı agar yöntemi kullanılmıştır (12). *Besiyerinin Hazırlanışı:* 10 g pepton (Biolab), 5 g NaCl (Horasan Kimya), 0.1 g CaCl₂ (Merck), 15 g agar (Biolab), 1000 ml distile su ile hazırlanan besiyeri 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon sonunda pH6,8'e ayarlanmış ve 50°C'ye kadar soğutulan besiyeri içerisine 5 ml steril Tween 80 eklenmiştir. SDA'da üreyen 24 saatlik kandida suşlarından öze ile alınarak besiyerine 1 cm çaplı daireler çizilmiştir. Besiyerleri 30°C'de 13 gün süre ile inkübe edilmiştir. Tween 80'li agarda ekim yapılan bölgenin etrafında ışığı geçiren halelerin varlığı esteraz pozitif olarak kabul edilmiştir. İnkübasyon süresi içinde ekim sahası etrafında Tween 80'in hidrolizi ile açığa çıkan yağ asidinin kalsiyum ile birleşerek opak kristaller halinde çökmesi; pozitif esteraz aktivitesi olarak değerlendirilmektedir.

İstatistiksel Analiz. Kökenlerin fosfolipaz, esteraz, slime üretimi ve hemolizin üretimi arasındaki

fark ki-kare testi ve Fisher's exact testi ile değerlendirildi, p<0.05 değerler anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmada, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 01.08.2005 ve 30.08.2007 tarihleri arasında gönderilen klinik örneklerden infeksiyon etkeni olarak izole edilen 92 *C.albicans*, 40 non-albicans olmak üzere toplam 132 suş değerlendirilmiştir. Kontrol grubu olarak sağlıklı bireylerden izole edilen 39 kandida suşu (27 *C.albicans*, 12 non-albicans) kullanılmıştır.

Hastalardan izole edilen kandida suşlarının 25'i (%18.93) dahiliye servislerinden, 37'si (%28.03) cerrahi servislerden ve 70'i (% 53.03) yoğun bakım ünitelerinden izole edilmiştir. Hastalardan izole edilen kandida suşlarının materyallere göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Fosfolipaz. İzole edilen 92 *C.albicans* suşunun 84'ünün (%91) ve 40 non-albicans suşunun 29'unun (%73) fosfolipaz enzimi ürettiği belirlenmiştir. Kontrol grubundaki 27 *C.albicans* suşununun 7'sinde (%26), 12 albicans dışı kandida suşunun 2'sinde (%17) fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır (Tablo 2). İki grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0.05).

Suşların fosfolipaz aktiviteleri izole edildikleri materyallere göre değerlendirilince, vajina salgısı örneklerinden izole edilen suşların %100'ü, hemokültür örneklerinden izole edilen suşların %82.4'ü,

Tablo 1. Suşların izole edildikleri materyallere göre dağılımı.

İzole edilen suşlar	idrar	hemokültür	balgam	yara	kateter	vajen	aspirat	mayi	abse	dren	sonda	Toplam
<i>C.albicans</i>	40	15	8	7	7	5	4	3	1	1	1	92
<i>C.parapsilosis</i>	2	9	-	-	5	-	-	-	-	-	-	16
<i>C.tropicalis</i>	6	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8
<i>C.glabrata</i>	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>C.famata</i>	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>C.sake</i>	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>C.krusei</i>	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>C.kefyr</i>	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Toplam	54	34	10	7	12	5	4	3	1	1	1	132

idrar örneklerinden izole edilen suşların %92.7'si, solunum yolu örneklerinden (balgam, aspirat) izole edilen suşlarda %85.7, kateterden izole edilen suşlarda %50, yaradan izole edilen suşlarda %83.3 ve diğer örneklerden izole edilen suşlarda (mayi, sonda gibi) %100 oranında fosfolipaz enzim aktivitesi saptanmıştır (Tablo 3).

Slime üretimi. Hastalardan izole edilen 92 *C.albicans* suşunun 16'sının (%17) ve 40 non-albicans suşunun 13'ünün (%33) slime faktör ürettiği tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki 27 *C.albicans* suşunun 1'inde (% 4), 12 non-albicans suşunun 6'sında (%50) slime üretimi saptanmıştır (Tablo 2). İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Slime faktör, vajina salgısı örneklerinden izole edilen suşlarda %40, idrardan izole edilen suşlarda %27.3, hemokültürden izole edilen suşlarda %17.6, solunum yolu örneklerinden (balgam, aspirat) izole edilen suşlarda %14.3, kateterden izole edilen suşlarda %25, diğer (mayi, sonda) örneklerden izole edilen suşlarda %16.7 iken yaradan izole edilen suşlarda slime faktör üretimine rastlanmamıştır (Tablo 3).

Hemolizin. Hasta grubundan izole edilen 92 *C.albicans* suşunun 80'inde (%87) β hemoliz; 12'sinde (%13) α hemoliz gözlenirken 40 non-albicans suşunun 28'inde (%70) β hemoliz; 12'sinde (%30) α hemoliz gözlenmiştir. Kontrol grubundaki 27 *C.albicans* suşunun 11'inde β hemoliz (%41), 16'sında (%59), α hemoliz aktivitesi saptanmıştır. 12 non-albicans suşunun 1'inde β hemoliz (%8), 11 suşta (%92) α hemoliz aktivitesi ise saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. *C. albicans* ve non-albicans suşlarında tespit edilen virulans faktörlerinin dağılımı.

	Türler	Suş sayısı	Fosfolipaz(+)	Esteraz(+)	Slime(+)	β Hemoliz(+)	α Hemoliz(+)
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Hasta grubu	<i>C.albicans</i>	92	84 (91)	77 (84)	16 (17)	80 (87)	12 (13)
	non-albicans	40	29 (73)	14 (35)	13 (33)	28 (70)	12 (30)
Kontrol grubu	<i>C.albicans</i>	27	7 (26)	19 (70)	1 (4)	11 (41)	16 (59)
	non-albicans	12	2 (17)	4 (33)	6 (50)	1 (8)	11 (92)

İki grup karşılaştırıldığında hasta grubunda β hemoliz varlığının, kontrol grubunda da α hemoliz varlığının anlamlı şekilde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Hemoliz tipleri izolasyon bölgesine göre değerlendirildiğinde β hemoliz solunum yolu ve vajina salgısı örneklerinden izole edilen suşların %100'ünde izlenmiştir. Kan örneklerinde %76.5, idrardan izole edilen suşlarda %81.8, kateterden izole edilen suşlarda %83.3, yaradan izole edilen suşlarda %66.7 ve diğer (mayi, sonda) bölgelerden izole edilen suşlarda ise %66.7' dir, α -hemoliz solunum yolu ve vajina salgısı örneklerinden izole edilen suşlarda görülmezken (%100 β hemoliz), yara ve diğer (mayi, sonda) bölgelerden izole edilen suşlarda %33.3, kan örneklerinde %23.5, idrar örneklerinde %18.2 ve kateter örneklerinde ise %16.7 oranında izlenmiştir (Tablo 3).

Esteraz. İzole edilen 92 *C.albicans* suşunun 77'sinin (%83.7) esteraz enzimi ürettiği saptanmıştır. 40 non-albicans suşunun 14'ünün (%35) esteraz enzimi ürettiği saptanmıştır. Kontrol grubundaki 27 *C.albicans* suşunun 19'unda (%70.4), 12 non-albicans suşunun 4'ünde (%33.3) esteraz aktivitesi saptanmıştır (Tablo 3). İki grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 3'de görüldüğü gibi diğer (mayi, sonda) örneklerden izole edilen suşlarda esteraz enzimi üretimi %100'dür. Vajina salgısı ve idrar örneklerinden izole edilen suşlarda bu oran %80'dir. Yaradan izole edilen suşlarda %83.3, solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda bu oran %78.6, kateterden izo-

Tablo 3. Virulans faktörlerinin izole edildikleri materyallere göre dağılımı.

Klinik örnekler	Fosfolipaz pozitif %	Slime faktör pozitifliği %	Esteraz pozitifliği %	β hemoliz %	α -hemoliz %
Solunum yolu örnekleri	85.7	14,3	78,6	100	0
Hemokültür	82.4	17,6	44,1	76,5	23,5
Vajina salgısı	100	40	80	100	0
İdrar	92.7	27,3	80	81,8	18,2
Kateter	50	25	50	83,3	16,7
Yara	83.3	0	83,3	66,7	33,3
Diğer	100	16,7	100	66,7	33,3

le edilenlerde %50 ve hemokültürden izole edilenlerde ise %44.1'dir.

TARTIŞMA

Kandida infeksiyonlarının patogenezi açıklamak ve yeni kandidoz tedavisini geliştirmek amacı ile yapılan çalışmalarda konak savunma sisteminin rolünün yanında kandidalara ait virulans faktörlerinin de önemi belirtilmektedir. Yapılan araştırmalar infeksiyonlarda tek bir virulans faktörünün rol oynamadığını göstermiştir. Özellikle adherans, germ tüp oluşturma, proteinaz, fosfolipaz majör virulans faktörleridir. Ayrıca toksinler, pleomorfizm, fenotip değişimi, hücre duvarı ve yüzey değişimi ile hidrofobisite gibi faktörler de virulansta ve patogenezi de rol oynamaktadır. Slime faktör, hemolizin, esteraz ve lipaz gibi faktör ve enzimler de virulansı belirleyen diğer faktörlerdendir (7,8).

Ekstrasellüler fosfolipazlar membran lipidlerinden fosfolipazları hidrolize ederek, konak hücre membranında hasara yol açabilmektedir. Bu durum mayanın bir taraftan çoğalmasını sağlarken, diğer yandan konak dokusuna invaze olmasını sağlamaktadır. Fosfolipaz aktivitesi en çok *C.albicans* kökenlerinde çalışılmış ve fosfolipaz üretiminin virulansta önemli olabileceği gösterilmiştir (13,14).

Fosfolipaz enzimini aynı hastanın farklı yerlerinden alınan *C.albicans* kökenleri kullanarak yapılan bir çalışmada, farklı infeksiyon bölgelerinden izole edilen *C.albicans* kökenlerini tanımlamak ve karşılaştırmak için Pz değerinin bir belirleyici olarak kullanılabilmesi öne sürülmüştür. Kandan ve diğer vücut bölgelerinden izole edilen kökenlerde aynı Pz değeri ve uyumlu klinik belirtilerin birlikteliğinin sistemik infeksiyonun varlığını kanıtlayacağı vurgulanmıştır (13).

Kandida izolatlarında fosfolipaz aktivitesinin belirlenmesinde, mikrobiyolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılabilir. Biyokimyasal yöntemlerin zaman alıcı olması ve stabil olmayan sonuçlar verebilmesi nedeniyle, güvenilir sonuçlar veren ve kolay bir yöntem olan Samaranayake ve arkadaşları tarafından modifiye edilen "plak yöntemi" önerilmiştir (9,15).

Yurtdışında yapılan çeşitli çalışmalarda hastalık etkeni olan *C.albicans* suşlarında fosfolipaz aktivitesi %71-79 arasında bulunurken non-albicans suşların-

da ise bu oranın %0-100 arasında değiştiği gösterilmiştir (9,13,16,17). Non-albicans suşlarındaki bu büyük farkın nedeni çalışmalarda suş sayısının azlığı olabilir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise *C.albicans* suşlarında fosfolipaz aktivitesi %55.5-94.4 arasında değiştiği görülürken non-albicans suşlarında bu oranın %0-56.4 arasında değişmektedir (14,18-20).

Yapılan çalışmalarda fosfolipaz aktivitesinin kandan izole edilen kandida suşlarında daha yüksek olduğu bildirilmiştir (16,17,19).

Bizim çalışmamızda hasta grubundaki *C.albicans* ve non-albicans suşların fosfolipaz aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Esteraz enzim aktivitesinin kandidoz patogeneziindeki rolü ile ilgili bilgiler sınırlı olduğundan, bu konu hakkında kesin bir kaniye varılamamıştır. Yapılan araştırmalar ekstrasellüler esterazın fungal üreme için koşul olmadığı ve esteraz aktivitesinin bir virulans faktör olarak görülmediğini düşündürmektedir. Bununla birlikte bir çok çalışmada kandidoz patogeneziinde esteraz aktivitesinin rolü araştırılmıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda hastalık etkeni Kandida suşlarında esteraz aktivitesi %27.1-91.6 oranında bulunurken bazı çalışmacılar buldukları değerleri istatistiksel olarak anlamlı bazıları ise anlamsız bulmuştur (12,21-24).

Slifkin (25), Tween 80 opasite testinin kandida türlerinde esteraz aktivitesinin saptanmasını yanı sıra *C.dublinskiensis* kökenlerinin *C.albicans'* tan ayrılmasında da kullanılabilmesini belirtmiş ve *C.dublinskiensis* türlerinin Tween 80 agarda inkübasyonunun üçüncü gününde, opasite açısından *C.albicans* suşlarından açıkça farklılık gösterdiğini bildirmiştir.

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Bu bilgilerin ışığında esteraz enziminin virulans ve patogeneziinde belirgin bir rolünün olmadığı düşünülmüş, ancak bu konudaki araştırmaların eksikliği nedeniyle kesin bir kaniye varılamayacağı düşünülmüştür.

Hemolizin enzimi konak eritrositlerindeki demir metabolizmasını engellemekte, hücrelerin parçalanmasına ve hemoglobinin dışarıya salınmasına neden olarak virulansta rol oynamaktadır. Kandida suşlarının hemolizin enzim aktivitesi birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir.

Luo ve arkadaşları çalışmalarında, klinik örneklerden izole ettikleri 77 kandida suşunun %93,4'ünün hemolizin enzim aktivitesine sahip olduğunu saptamışlardır (11). *C.parapsilosis* suşların tamamının hemoliz oluşturmadığını belirlerken, *C.guilliermondii* ve *C.famata* suşların tümünde α hemoliz tesbit etmişlerdir. Diğer tüm suşların β hemoliz yaptığı (*C.albicans*, *C.dubliniensis*, *C.kefyr*, *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.lusitaniae* ve *C.krusei*) saptanmıştır. Bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızda hasta grubundan izole edilen *C.albicans* suşlarında hem β hemoliz (%70) hem de α hemoliz (%30) görülmüştür. Non-*albicans* türlerinde α hemoliz, *C.famata*, *C.glabrata*, *C.kefyr*, *C.krusei* ve *C.tropicalis* suşlarında sırasıyla %50, %50, %50, %33, %75 oranlarında görülmüştür.

Susever ve arkadaşlarının (21) yaptığı bir diğer çalışmada lepralı hastalardan izole edilen *C.albicans* suşlarının tamamında (%100) hemolitik aktivite saptanmıştır. Yine Susever ve arkadaşlarının (22) lösemili hastaların 27 boğaz, 25 dışkı, 6 balgam, 1 kan ve 1 idrar örneğinden izole ettikleri 60 *C.albicans* suşunun tamamında (%100) hemolitik aktivite tesbit edilmiştir.

Bizim suşlarımızda, β hemoliz tipi hasta grubunda anlamlı şekilde yüksekken, α hemoliz kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur ($p>0.05$).

Slime faktör teikoik asit yapısında olup mikroorganizmayı konağın savunma mekanizmalarından korumaktadır. Slime maddesi, aglutinasyonu sağlayan polisakaritleri yapısına alarak biyofilm oluşumunu sağlar.

Cevahir ve arkadaşları (26) yaptıkları çalışmada 126 kandida suşunda slime üretimini üç farklı yöntem kullanarak araştırmıştır. Slime faktör yapımı Kongo kırmızılı agar ile %44.4, Glukozlu triptik soy buyyon ile %39.6 ve Glukozlu sıvı sabouraud besiyeri ile %33.3 oranında saptanmıştır. Yöntemler slime üretimi açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı halde en fazla Kongo kırmızılı agar yöntemiyle pozitiflik saptadığı görülmüştür. Bu nedenle çalışmamızda slime üretimini saptamak için pratik ve ekonomik olmasından dolayı Kongo kırmızılı beyin-kalp infüzyon agar yöntemi tercih edilmiştir.

Yurtdışında ve ülkemizde yapılan çalışmalarda kandida suşlarında slime üretimi anlamlı bir virulans faktörü olarak belirtilirken (10,27-30) bazı araştırmacılar da anlamlı bir fark bulmadıklarını belirtmişlerdir (31,32). Bizim çalışmamızda da slime üretimi açısından

kontrol grubu ile anlamlı bir fark bulunmamış ancak bunun nedeninin kullandığımız yöntemin duyarlılığı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda infeksiyon oluşumunda önemli rolleri olduğu düşünülen slime faktör, hemolitik aktivite, fosfolipaz ve esteraz enzimlerinin varlığı kontrol grubu ile kıyaslanıp bu virulans faktörleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Çalışma sonucunda hasta grubundaki *C.albicans* ve non-*albicans* suşlarının fosfolipaz ve β hemoliz üretiminin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Virulans faktörlerinin belirlenmesi *Candida* infeksiyonlarının patogenezinin açıklanmasına ve yeni antikandidal tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Anaissie E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: Experience at a cancer center and review. Clin Infect Dis 1992; 14(Supple 1): 43-53.
2. Kiraz N. *Candida* infeksiyonlarının epidemiyolojisi. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Özet Kitabı 1999; Antalya 69-71.
3. Tümbay E. *Candida* Türleri. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. (Ed: Ustaçelebi Ş.) Güneş Kitabevi 1999; 1081-1086.
4. Koneman EN, Allen SD, Janda WM, Schreckenberg PC. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed Philadelphia. JB Lippincott-Raven 1997. p:983-1069.
5. Cutler JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. Annu. Rev. Microbiol. 1991; 45: 187-218.
6. Kuştimur S. *Candida* patogenezinde rol oynayan faktörler. Mikrobiyoloji Bülteni 1994; 28: 175-81.
7. Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of Medical Importance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington: ASM Press, 2003;1693-1710.
8. Richardson MD, Warnack DW. Fungal Infection Diagnosis and Management. Third Edition. USA. Blackwell Publishing, 2003.
9. Samaranayake L.P., Raeside J.M., Macfarlane T.W.: Factors affecting the phospholipase activity of *Candida species* in vitro. Sabouraudia: J. Med. Vet Mycol., 22:201-207.1984.
10. Pfaller MA, Meser SA, Halis RJ. Variations in DNA subtype, antifungal susceptibility and slime production among clinical isolates of *Candida parapsilosis*. Diagn Microbiol Infect Dis. 1995;21(1):9-14.
11. Luo G, Samaranayake LP, Yau JYY. *Candida species* exhibit differential in vitro hemolytic activities. J Clin Microbiol, 2001;39(8):2971-74.
12. Yücesoy M, Karaman M. Oral kandidozlu ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *Candida albicans* suşlarında fosfolipaz ve esteraz aktivitesinin değerlendirilmesi. Türk J Inf. 2003;17(4):483-86.

13. Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. Clin Microbiol Rev, 2000;13(1):122-143.
14. Yücel A, Kantarcıoğlu A.S.; *Candida albicans* kökenlerinde bazı virulans faktörlerinin (Fosfolipaz, Proteaz, Çimlenme borusu ve Aderens) ve aralarındaki korelasyonun belirlenmesi. İnfeks Derg 15(4), 517-525, 2001.
15. Mudaliar Al. Phospholipase activity of candida isolates from patients with chronic lung disease. Lung India, 1998;7(3):125-6.
16. Borst A, Fluit AC. High levels of hydrolytic enzymes secreted by *Candida albicans* isolates involved in respiratory infections. J Med Mikrobiol. 2003 No;52:971-974.
17. Matsumoto FE, Gandra RF, Ruiz LS, Auler ME, Marques SA, Pire ME, Gambale W, Paula CR. Yeasts isolated from blood and catheter in children from a public hospital of Sao Paulo, Brazil. Mycopathologia. 2002;154(2):63-9.
18. Arıkan S, Sancak B, Haşçelik G, Günalp A. *Candida albicans* İzolatlarında Fosfolipaz Aktivitesinin Saptanması. Flora, 3:240-243,1998.
19. Yücesoy M, Yuluğ N. *Candida* türlerinde Fosfolipaz Aktivitesinin Araştırılması. İnfeks Derg 13(4):569-574,1999.
20. Birinci A, Çekiç Cihan Ç, Bilgin K, Acuner Ç, Durupınar B. Değişik Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida* Türlerinde Fosfolipaz Aktivitesinin Araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni., 39:205-209, 2005.
21. Susever S, Yeğenoğlu Y, Sütlaş M. Lepralı hastaların ağızlarından izole edilen *Candida*'ların esteraz ve hemolitik aktiviteleri. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. TMC Yayınları, No:46;362.
22. Susever S, Ağırbaşı H, Erturan Z, Yeğenoğlu Y. Lösemili çocuklardan soyutlanan *Candida albicans* suşlarında esteraz ve hemolitik aktivitenin araştırılması 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. TMC Yayınları, No:46;363, 2003
23. Keçeli SA, Budak F. *Candida* türlerinde esteraz aktivitesi. Mikrobiyoloji Bülteni 2002, 38:99-103.
24. Aktaş AE, Yiğit N, Ayyıldız A. Çeşitli *Candida* türlerinde esteraz aktivitesinin araştırılması. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi. TMC Yayınları, No:39:191, 2001.
25. Slikin M. Tween 80 opacity test responses of various *Candida* species. J. Clin Microbiol 2000;38:4626-8.
26. Cevahir N, Demir M, Mete E, Kaleli I. *Candida* suşlarında farklı yöntemlerle slime üretiminin araştırılması. İnfeks Derg. 2003;17(1):67-70.
27. Branchini ML, Pfaller MA, Chalberg JR, Frempong T, Isenberg HD. Genotyping variation slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. J Clin Microbiol, 1994;32(2):452-6.
28. Karaca N, Koç AN, Karagöz S. Kan ve vajan örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin slime aktiviteleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2001;31:224-26.
29. Yücesoy M, Karaman M, Yuluğ N. *Candida* türlerinde slime üretiminin incelenmesi. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi TMC Yayınları, No:36;279;1999.
30. Karagöz S, Koç AN, Çetinkaya F. Hastane infeksiyon etkeni olarak düşünülen maya izolatlarının slime ve proteinaz aktiviteleri. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi. TMC Yayınları, No:36;277,1999.
31. Özkan S, Kaynak F, Kalkancı A, Abbasoğlu U, Kuştimur S. The investigation of slime and proteinase activity of *Candida* species isolated from blood samples the comparison of these activities with MIC values of three antifungal agents. 3. Balkan Mikrobiyoloji Kongresi (İstanbul,2003). TMC Yayınları:379.
32. Orhon H, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Tünger Ö, Arısoy AS. İnfeksiyon etkeni olan *Candida albicans* suşlarında slime üretimi Antifungal Ajanlara Duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1998;28:103-6.