

Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida* Suşlarında Virulans Faktörlerinin ve Antifungal Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi
Evaluation Of Virulence Factors and Antifungal Susceptibility in *Candida* Strains Isolated From Blood Cultures

Umut Safiye Şay Coşkun¹, Neriman Aksu², Şenol Kurşun², İpek Mumcuoğlu²

¹ Tokat Gaziosmanpaşa
Üniveritesi Tıp
Fakültesi Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı

² Sağlık Bilimleri
Üniversitesi, Ankara
Numune Sağlık
Uygulama ve Araştırma
Hastanesi Tıbbi
Mikrobiyoloji Kliniği

Sorumlu Yazar:

**Umut Safiye Şay
Coşkun:**

Tel: 05055410856

E mail:

umut.saycoskun@gop.e
du.tr

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı kankültürlerinden izole edilen *Candida albicans* ve albicans dışı *Candida* suşlarında çeşitli virulans faktörlerinin değerlendirilmesi ve bu suşların antifungal duyarlılıkların saptanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada kan kültürlerinden izole edilen 34 *Candida* suşu fosfolipaz, esteraz, hemolitik aktivite, slime üretimleri ve antifungal duyarlılık açısından değerlendirilmiştir. Çalışmaya kontrol grubu olarak, sağlıklı bireylerin oral florasından izole edilen 39 *Candida* suşu dahil edilmiştir.

Bulgular: İzole edilen 34 kandida suşunun 15'i *Candida albicans*, 9'u *Candida parapsilosis*, 2'si *Candida tropicalis*, 3'ü *Candida glabrata*, 2'si *Candida famata*, 1'i *Candida sake*, 1'i *Candida krusei* ve 1' si *Candida kefir* olarak tespit edilmiştir. *C. albicans* suşlarında fosfolipaz, esteraz, β hemolitik aktivite ve slime üretimleri sırasıyla %93.3 %73.3 %93.3 ve %6.6, albicans dışı *Candida* suşlarında ise %73.6 ,%21, %68.4 ve %26.3 olarak tespit edilmiştir. Hasta grubunda izole edilen *C. albicans* ve albicans dışı *Candida* suşlarında fosfolipaz ve β hemolitik aktivitenin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Tüm *Candida* suşları amfoterisin B ve flusitazine duyarlı iken, bir *C. glabrata* suşunun sadece flukonazole dirençli, dört *C. albicans*, bir *C. tropicalis* ve bir *C. crusei* suşunun flukanazol ve itrakonazole dirençli, bir *C. famata* suşunun flukonazole dirençli ve itrakonazole orta duyarlı, bir *C. glabrata* suşunun itrakonazole dirençli olduğu görülmüştür.

Sonuç: Virulans faktörlerinin belirlenmesinin *Candida* infeksiyonlarının patogenezinin açıklanmasına ve yeni antikandidal tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir. *Candida* türlerinin tiplendirilmesinin ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılmasının tedaviye önemli katkı sağlayacaktır. İzole edilen tüm suşların amfoterisin B ve flusitazine duyarlı olmasından dolayı amfoterisin B ve flusitazinin ampirik tedavide kullanılabileceği kanaati oluşmuştur.

Anahtar kelimeler: *Candida*, kan kültürü, virulans faktörleri, antifungal duyarlılık.

Abstarct

Aim: The aim of this study was to evaluate various virulence factors in *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* strains isolated from blood cultures and to determine the antifungal susceptibilities of these strains.

Material and Methods: In this study, 34 *Candida* strains isolated from blood cultures were evaluated for phospholipase, esterase, hemolytic activity, slime production, and antifungal susceptibility.

A total of 39 *Candida* strains isolated from oral flora of healthy individuals were included in the study as a control group.

Results: The distribution of detected overall 34 *Candida* species was as follows: *Candida albicans* (n=15), *Candida parapsilosis* (n=9), *Candida glabrata* (n=3), *Candida tropicalis* (n=2), and *Candida famata* (n=2), *Candida sake* (n=1), *Candida krusei* (n=1) and *Candida kefyr* (n=1). Phospholipase, esterase, β hemolytic activity and slime production was detected 93.3%, 73.3%, 93.3% and 6.6% in *C.albicans* strains and 73.6%, 21%, 68.4% and 26.3% in non-*albicans* *Candida* strains respectively. Phospholipase and β hemolytic activity were significantly higher in the *C.albicans* and non-*albicans* *Candida* strains isolated in the patient group compared to the control group (p <0.05). While all *Candida* strains were susceptible to amphotericin B and flucytosine, one *C. glabrata* strain was resistant to fluconazole, four *C. albicans*, one *C.tropicalis* and one *C. crusei* strain were resistant to fluconazole and itraconazole, one *C. famata* strain was resistant to fluconazole and intermediately susceptible

to itraconazole and one *C. glabrata* was resistant to itraconazole.

Conclusion: In the study, it was determined that the production of phospholipase and β hemolysin in *C. albicans* and non-*albicans* *Candida* strains isolated from the patient group was higher than the control group. Determination of virulence factors may help explain the pathogenesis of *Candida* infections and develop new anticandidal treatments. Identification and anti fungal susceptibility testing are important for management of appropriate therapy. As all strains were susceptible to amphotericin B and flucytosine, it was concluded that it could be used in empirical treatment.

Key words: *Candida*, blood-cultures, virulence factors, antifungal susceptibility.

Giriş ve Amaç

Candida türleri doğada yaygın olarak bulunan, cansız yüzeylerde, birçok hayvan ve insanların deri ve mukozalarında yaşayan fırsatçı patojenlerdir (1). *Candida* enfeksiyonlarının sıklığı son yıllarda kanser, AIDS, organ transplantasyonu, kemoterapi ve radyoterapi gibi çeşitli nedenlere bağlı immün yetmezlikli hasta sayısının artması, invaziv girişimlerin yaygınlaşması, geniş spektrumlu ve birden fazla antibiyotik kullanımının artması ve klinik mikrobiyolojideki gelişmelere paralel olarak artış göstermektedir (1-3).

Özellik son 20-30 yılda *Candida* türlerinin neden olduğu nazokomiyal kandidemilerin sıklığı dramatik olarak artmıştır (3). Kandidemili hastalarda mortalite oranı üç kat daha fazla bulunmuştur. Ayrıca kandidemi;

hastahanedeki kalış süresinin uzamasına ve medikal bakım masraflarında artışa yol açmaktadır (4,5). Kandidemi sıklığının giderek artması ve antifungal kullanımı yaygınlaşması, dirençli mantar suşlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle uygun ve etkin antifungal tedavinin seçiminde in vitro antifungal duyarlılık testlerine gereksinim artmaktadır (6).

Candida enfeksiyonlarının patogenezi açıklamak ve yeni antikandidal tedavi geliştirmek amacıyla yapılan çalışmalarda konakçı savunma sisteminin rolünün yanısıra *Candida* türlerine ait virulans faktörlerinin de önemi belirtilmektedir. En iyi bilinen virulans faktörleri olarak; germ tüp oluşturma, slime, hemolizin, esteraz ve fosfolipaz aktivitesi üzerinde durulmaktadır (7,8). Bu çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen *C. albicans* ve *albicans* dışı *Candida* suşlarında fosfolipaz, esteraz, hemolitik aktivite ve slime faktör gibi virulans faktörlerinin değerlendirilmesi ve bu suşların antifungal duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

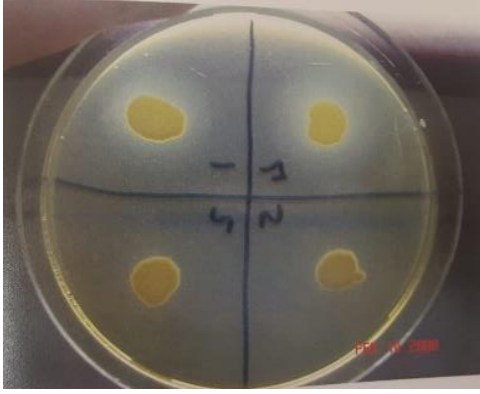
Gereç ve Yöntem

Bu çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Numune Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesinde Ağustos 2005- Temmuz 2007 tarihleri arasında yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 15 *C. albicans* ve 19 *albicans* dışı *Candida* olmak üzere toplam 34 kandida suşu dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak hastanede çalışmayan ve hastanede çalışan yakını olmayan sağlıklı bireylerin oral floralarından izole edilen 27 *C. albicans* ve 12 *albicans* dışı *Candida* olmak üzere

toplam 39 *Candida* suşu kullanılmıştır. Kültürlerden izole edilen *Candida* suşlarının tür düzeyinde tanımlanması için API ID 32C (Biomerieux, France), sistemi kullanılmıştır.

Fosfolipaz

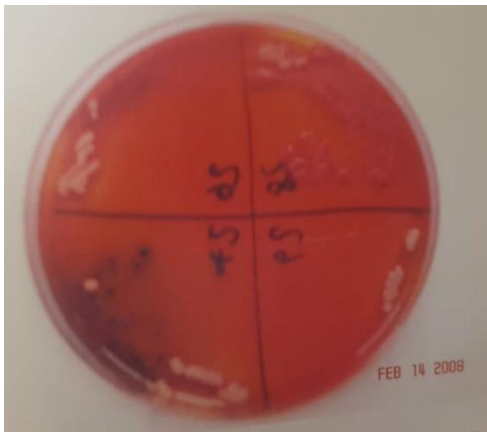
Fosfolipaz aktivitesi yumurta sarılı agar (YSA) plak yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ana besiyeri 13 gr Sabouraud-Dextroz Agar (SDA), 11.7 gr NaCl ve 184 ml distile su 121C°'de 15 dakika steril edilerek 50C°'lik su banyosuna konulmuştur. Steril şekilde hazırlanmış 80 gram yumurta sarısı ağzı kapalı bir tüp içerisinde 37C°'de 1 saat inkübe edildikten sonra 2500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Ana besiyeri 45-50C°'ye kadar soğutulduktan sonra yumurta sarısı besiyerine yavaş yavaş eklenmiş, 0.111gr CaCl₂H₂O ile ph 4.3 olacak şekilde ayarlanmıştır. SDA'da 37C°'de 18-24 saat inkübasyon sonrası üreyen maya kolonileri ile steril serum fizyolojik içinde 0.5 Mc Farland süspansiyon hazırlanmıştır. Ölçülü özeyle (0.01ml) besiyeri yüzeyine değdirilmek suretiyle ekim yapılmış ve 37C°'de 2 gün inkübe edilmiştir. Koloni çevresinde oluşan belirgin halka şeklindeki presipitasyon zonu (Pz) ölçülerek koloni çapının toplamına oranı hesaplanmış ve Pz=1 negatif, Pz<1 pozitif olarak değerlendirilmiştir (Resim I).



Resim I. Yumurta sarılı agar besiyerinde fosfolipaz aktivitesinin gösterilmesi

Slime faktör

Slime faktör varlığı Kongo kırmızılı brain-heart infüzyon agar (KKBKIA) besiyerinde “Kongo kırmızısı fenomeni” göre incelenmiştir. Besiyeri 80gr glukoz, 0.8 gr Kongo kırmızısı, 10 gr agar, 37 gr brain-heart infüzyon broth ve 1000 ml distile su ile hazırlanmış ve 121 C°’de 15 dakika steril edilerek plaklara dökülmüştür. Maya kolonilerinin ekimi yapıldıktan sonra 35C°’de 48 saat inkübe edilmiş slime üretimi açısından koyu kırmızı-pembe renkli koloniler pozitif, beyaz renk negatif olarak değerlendirilmiştir (ResimII).



Resim II. Kongo kırmızılı beyin-kalp infüzyon agarda slime faktör aktivitesinin gösterilmesi.

Hemolizin

Suşların hemolitik aktivitelerinin tespiti için %5 koyun kanlı SDA (Orbak Türkiye) besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri için 30 gr glukoz 1L’lik SDA içine ilave edilerek ph 5.5’e ayarlanmış ve besiyeri 40-45C°’ye soğutulduktan sonra 50ml/L olacak şekilde koyun kanı eklenmiştir. Daha önce hazırlanmış olan 0.5 Mc Farland’lık maya süspansiyonu çapı 1 cm olacak şekilde inokule edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinde sarı, şeffaf zon beta hemoliz, yeşil-kahverengi zon alfa hemoliz , renk değişikliği olmadığında ise hemoliz negatif (gama hemoliz) olarak değerlendirilmiştir (ResimIII).



Resim 3. % 5 koyun kanlı Sabouraud-Dextroz Agar besiyerinde hemolitik aktivitenin gösterilmesi.

Esteraz

Esteraz aktivitesinin belirlenmesi için Tween 80 katkılı agar kullanılmıştır. Besiyeri 10 gr pepton, 5 gr NaCl, 0.1 gr CaCl₂, 15 gr agar ve 1000 ml distile su ile hazırlanarak 121C°'de 15 dakika sterilize edilip ph 6.8'e ayarlanmıştır. Besiyeri 50C°'ye soğutulduktan sonra içerisine 5 ml steril tween eklenmiştir. Maya kolonileri öze ile alınarak besiyerinde 1 cm çaplı daireler çizilmiş ve öze kaldırılmadan işlem birkaç kez tekrarlanarak ekim yapılmıştır. Besiyerleri 30C°'de 13 gün inkübe edilmiştir. Ekim yapılan bölge etrafında ışığı geçiren halelerin varlığı esteraz pozitif olarak kabul edilmiştir (Resim IV).



Resim IV. Tween 80 katkılı agar besiyerinde esteraz aktivitesinin gösterilmesi.

Antifungal duyarlılık

Suşların antifungal duyarlılıkları, amfoterisin B, 5-flusitosin, flukonazol, ve itrakonazol için ATB Fungus 2 (bioMerieux, USA) duyarlılık testi kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmış ve Clinical and

Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre değerlendirilme yapılmıştır (9).

İstatistiksel analiz

Fosfolipaz, esteraz, slime ve hemolizin üretimi arasındaki fark kıkare ve Fischer's extract testi ile değerlendirilmiştir. P< 0.05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

İzole edilen 34 *Candida* suşunun 15'i *C. albicans*, 9'u *C. parapsilosis*, 3'ü *C. glabrata*, 2'si *C. tropicalis*, 2'si *C. famata*, 1'i *C. sake*, 1'i *C. krusei* ve 1' si *C. kefyr* olarak tespit edilmiştir. *C. albicans* suşlarında fosfolipaz, esteraz, β hemolitik aktivite ve slime üretimleri sırasıyla %93.3 %73.3 %93.3 ve %6.6, albicans dışı *Candida* suşlarında ise %73.6, %21, %68.4 ve %26.3 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubundan izole edilen *Candida* suşlarında fosfolipaz üretimi % 33.3, slime faktör üretimi %17.9, hemolizin üretimi %100 (Beta hemoliz % 69.2, alfa hemoliz % 30.8), esteraz üretimi %79.3 saptanmıştır.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında fosfolipaz aktivitesi açısından anlamlı bir fark bulunmuştur (p< 0.05). Ayrıca hasta grubunda beta hemoliz, kontrol grubunda da alfa hemoliz varlığının anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (p< 0.05). Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında slime faktör ve esteraz üretimi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (p> 0.05). Tüm suşların fosfolipaz, esteraz, slime faktör, ve

hemolizin üretim oranları Tablo I'de gösterilmiştir.

Hasta grundan izole edilen 34 suşun 25'inin (%73.5) tüm antifungallere duyarlı tespit edilmiştir. Suşların tamamı amfoterisin B ve flusitozine duyarlı iken, bir *C. glabrata* suşunun sadece flukonazole dirençli, dört *C. albicans*, bir *C. tropicalis* ve bir *C. crusei* suşunun flukanazol ve

itrakonazole dirençli, bir *C. famata* suşunun flukonazole dirençli ve itrakonazole orta duyarlı, bir *C. glabrata* suşunun itrakonazole dirençli olduğu görülmüştür. Antifungallere direnç tespit edilen suşlarda saptanan virulans faktörleri Tablo II'de gösterilmiştir. Antifungallere direnç oranının hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

Tablo I. Tüm suşların fosfolipaz, esteraz, slime faktör, ve hemolizin üretim oranları.

	Suşlar	Suş sayısı	Fosfolipaz	Esteraz	Slime	Beta hemoliz	Alfa hemoliz
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Hasta grubu	<i>C.albicans</i>	15	14 (93.3)	11 (73.3)	1 (6.6)	14 (93.3)	1 (6.6)
	Non albicans <i>Candida</i>	19	14 (73.6)	4 (21)	5 (26.3)	13 (68.4)	6 (31.5)
Kontrol grubu	<i>C.albicans</i>	27	7 (26)	19 (70)	1 (4)	11 (41)	16 (59)
	Non albicans <i>Candida</i>	12	2 (17)	4 (33)	6 (50)	1 (8)	11(92)

S: Duyarlı I: Orta duyarlı R: Dirençli

	Suşlar	Suş sayısı	Fosfolipaz	Esteraz	Slime	Beta hemoliz	Alfa hemoliz
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Hasta grubu	<i>C.albicans</i>	15	14 (93.3)	11 (73.3)	1 (66)	14 (93.3)	1 (6.6)
	Non albicans <i>Candida</i>	19	14 (73.6)	4 (21)	5 (26.3)	13 (68.4)	6 (31.5)
Kontrol grubu	<i>C.albicans</i>	27	7 (26)	19 (70)	1 (4)	11 (41)	16 (59)
	Non albicans <i>Candida</i>	12	2 (17)	4 (33)	6 (50)	1 (8)	11(92)

Tablo II. Çeşitli antifungallere dirençli tespit edilen 9 suşun virulans faktör üretim oranları ve antifungallere duyarlılık oranları.

Tartışma

Tüm dünyada kan dolaşımı enfeksiyonu etkenleri içerisinde *Candida* türleri dördüncü sırada yer almaktadır. Yapılan araştırmalarda, kan dolaşımındaki *Candida* enfeksiyonlarının % 50'den fazlasının *C. albicans* tarafından meydana getirildiği (1,2,10,11). Bununla birlikte albicans dışı *Candida* türleri arasında özellikle yeni doğan ve cerrahi yoğun bakım birimlerinde *C. parapsilosis* ve *C. glabrata*'nın artan sıklıkla izole edildiği belirtilmektedir (12). Son yıllarda *Candida* enfeksiyonlarının görülme sıklığındaki artışa paralel olarak yeni antifungal ajanlar kullanıma girmiş ve kullanımları yaygınlaşmıştır. Özellikle triazol grubu antifungalların sık kullanılması bu ajanlara karşı direnç oranlarının artmasına neden olmaktadır.

Çalışkan ve ark.'nın 58 kan kültürü örneğini dahil ettikleri çalışmada, izole edilen candidaların % 57'sinin *C. albicans*, % 14'ünün *C. parapsilosis*, % 14'ünün *C. tropicalis*, % 10'unun *C. glabrata*, % 5'inin *C. guilliermondii* olduğu saptanmıştır. Bu suşlar içerisinde amfoterisin B ve flukonazole dirençli bir *C. guilliermondii* suşu, amfoterisin B'ye orta duyarlı iki *C. albicans* suşu, flusitozin ve flukonazole orta derecede duyarlı bir *C. glabrata* suşu ve flukonazole orta duyarlı bir *C. tropicalis* suş bildirilmiştir (13). Etiz ve ark.'nın 2015 yılındaki çalışmasında ise *Candida* suşlarının (n=280) % 33.9'unun *C. parapsilosis*, 77'sinin (% 27.5) *C. albicans*, 45'inin (% 16) *C. tropicalis*, 27'sinin (% 9.6) *C. glabrata*, dokuz tanesinin (% 3.2) *C. kefyr* ve *C. lusitaniae*, %4.1'inin diğer *Candida* türler olduğu tespit edilmiştir. Bu suşlarda amfoterisin B'ye % 2, flusitozine %0.4, flukonazole

%6.6 direnç rapor edilmiştir (11). Yine 2015 yılında yapılmış başka bir çalışmada kan kültürlerinden izole edilen 175 *Candida* suşunun 68'i *C. albicans*, 67'si *C. parapsilosis*, 13'ü *C. glabrata*, sekizi *C. famata*, altısı *C. tropicalis*, beşi *C. crusei* (%3) ve üçer tanesi *C. lusitaniae* ve *C. kefyr*, ikisi *C. guilliermondii* olarak tanımlanmıştır. *C. albicans* suşlarının % 5.8'i amfoterisin B' ye, % 2.9'u flukonazol'e dirençli olarak bulunurken diğer antifungallere direnç saptanmamıştır. *C. albicans* dışı *Candida* suşlarının ise %8.4'ü amfoterisin B'ye, %1.8'i flusitazine, %7.4'ü flukonazole dirençli tespit edilmiştir (10) Bu çalışmada ise diğer çalışmalar ile uyumlu olarak en sık etkenin *C. albicans* olduğu görülmektedir. Tüm *Candida* suşları amfoterisin B ve flusitazine duyarlı iken, bir *C. glabrata* suşunun sadece flukonazole dirençli, dört *C. albicans*, bir *C. tropicalis* ve bir *C. crusei* suşunun flukonazol ve itrakonazole dirençli, bir *C. famata* suşunun flukonazole dirençli itrakonazole orta duyarlı , bir *C. glabrata* suşunun itrakonazole dirençli olduğu görülmüştür. Bu çalışmada da olduğu gibi amfoterisin B hem *C. albicans* hem de non *albicans Candida* suşlarının neden olduğu kan kültürü enfeksiyonlarında en etkili antibiyotik olarak görülmektedir.

Meksika'da 2016 yılında vulvovajinal kandidiazisli kadınların dahil

edildiği çalışmada bir çalışmada *C. albicans* suşlarında virulans genlerinin azol grubu antifungallere dirençli suşlarda virulans genlerinin daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir (14). *Candida* suşlarında önemli bir virulans faktörü olan extrasellüler fosfolipaz fosfogliseritleri hidrolize ederek konak hücre membranında hasara yol açar. Fosfolipaz aktivitesi en sık *C. albicans* suşlarında tespit edilmiştir(15) Borst ve Fuit kan kültürlerinden üreyen *Candida* suşlarında fosfolipaz aktivitesini %71 saptamış ve kuvvetli fosfolipaz üreten kökenlerin tüm kökenlerin %20'sini oluşturduğunu bildirmişlerdir (16). Dağdeviren ve ark. kan kültürlerinden izole edilen *C. parapsilosis* suşlarının %26.3'ünde fosfolipaz aktivitesi tespit etmiş ancak kan kültürü örnekleri dışındaki örneklerde *C. parapsilosis* suşlarında fosfolipaz aktivitesi saptamamışlardır (17). İbrahim ve ark. kan kültürlerinde izole edilen *Candida*larda sağlıklı bireylerin oral kavitelelerinden izole edilen kommensal *Candida*larda göre fosfolipaz aktivitesinin çok daha yüksek olduğunu bildirmiştir (18). Bu çalışmada 34 *Candida* suşunun 28'inin (%82.4) fosfolipaz enzimi salgıladığı tespit edilmiştir. *C. albicans* izolatlarında %93.3 (n=15), non *albicans Candida*larda %73.6 (n=19) fosfolipaz ürettiği görülmüştür. Bu çalışmada da kan kültürü örneklerinden izole edilen *Candida* suşlarında fosfolipaz üretilmekte ve

İbrahim ve ark. çalışması ile uyumlu olarak hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında fosfolipaz aktivitesi açısından anlamlı bir fark bulunmaktadır.

Esteraz aktivitesinin *Candida* enfeksiyonu patogeneziindeki rolü ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Slifkin'in çalışmasında *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* suşlarında esteraz aktivitesi saptanırken *C. dubliniensis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* ve *C. parapsilosis* suşlarının hiçbirinde esteraz aktivitesi bulunmamıştır (19). Yücesoy ve Marol ise *C. albicans* suşlarında %95, *C. tropicalis* suşlarında %93, *C. parapsilosis* suşlarında %57 ve *C. glabrata* suşlarında %10 saptamışlardır (20). Bu çalışmada esteraz üretimi %44.1 tespit edilmiş ancak hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında esteraz üretimi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Hemolizin enzimi konak eritrositlerindeki demir metabolizmasını engelleyerek hücrelerin parçalanmasına ve hemoglobinin dışarıya salınmasına neden olmaktadır. *C. albicans*'ın indüklediği komplemana bağlı hemoliz ilk olarak Manns ve ark. tarafından glukozla zenginleştirilmiş kanlı agar besiyerinde gösterilmiştir (21). Luo ve ark. çeşitli örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin hemolitik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. *Candida* türlerinde 24

saatlik sürede alfa hemoliz olduğu, 48 saat sonra ise *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. tropicalis*, ve *C. krusei* suşlarında beta hemoliz olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca *C. albicans* ve *C. dubliniensis* suşlarında hemolitik aktivitenin yüksek olduğunu bildirmişlerdir (22). Bu çalışmada da diğer çalışmalarla uyumlu olarak suşların tamamının hemolizin ürettiği tespit edilmiştir. Ayrıca hasta grubunda beta hemoliz, kontrol grubunda da alfa hemoliz varlığının anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$).

Kompleks polisakkarit yapıda biyolojik bir film tabakası olan slime maddesi, mikroorganizmanın konak hücre yüzeyine yapışmasında, kateter ve tüp gibi düz yüzeyli tıbbi aletlere tutunarak çoğalmasında önemli rol oynar (23). Pfaller ve ark. çeşitli örneklerden izole edilen *C. parapsilosis* suşunun %57'sinde ($n=184$) slime aktivitesi saptamışlardır (24). Yakupoğulları ve Aşçı Toraman ise çeşitli örneklerden izole edilen *Candida* suşlarında slime üretimini %12 saptamış ve oranları *C. albicans* suşlarında %8.3 non *albicans Candida* suşlarında ise %25 bildirmişlerdir (25). Bu çalışmada, hasta grubundan izole edilen *C. albicans* ve *albicans* dışı *Candida* suşlarındaki fosfolipaz ve β hemolizin üretiminin hasta

grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak virulans faktörlerinin belirlenmesi *Candida* infeksiyonlarının patogenezinin açıklanmasına ve yeni antikandidal tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir. *Candida* türlerinin tiplendirilmesinin ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılmasının tedaviye önemli katkı sağlayacaktır. İzole edilen tüm suşlar amfoterisin B ve flusitozine duyarlı olduğundan ampirik tedavide kullanımlarının uygun olduğu düşünülmüştür.

Kaynaklar

1. Ener B. Hastane İnfeksiyonu Etkeni Olarak Mantarlar. Ş. UstaÁelebi (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara. 1999:1123-8.
2. Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin Microbiol Rev. 1996;9(4):499-511.
3. Lewis RE, Klepser ME. The changing face of nosocomial candidemia: epidemiology, resistance, and drug therapy. Am J Health Syst Pharm. 1999;15;56(6):525-33.
4. Wright WL, Wenzel RP. Nosocomial *Candida*. Epidemiology, transmission, and prevention. Infect Dis Clin North Am. 1997;11(2):411-25.
5. Cheng MF, Yang YL, Yao TJ, Lin CY, Liu JS, Tang RB, Yu KW, Fan YH, Hsieh KS, Ho M, Lo HJ. Risk factors for fatal candidemia caused by *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species. BMC Infect. Dis. 2005;7(5):22.
6. Espinel-Ingroff A, White T, Pfaller MA. Antifungal agents and susceptibility test methods. In: Murray PR, Baron EJ, Tenover FC, Tenover RH, editors. Manual of Clinical Microbiology 2003. 8th ed. ASM Press; Washington, DC: pp. 1859–80.
7. Kuştimur S. *Candida* patogenezinde rol oynayan faktörler. Mikrobiyoloji Bülteni. 1994; 28: 175-81.
8. Cutler JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. Annu. Rev. Microbiol. 1991;45:187-218.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard. CLSI Document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA 2008.
10. Mutlu Sarıgüzel F, Koç AN, Karagöz S. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Maya Türlerinin Vitek 2 Sistemi ile Tanımlanması ve Antifungal Duyarlılıkları Harran Üniv. Tıp Fak Derg. 2015;12(2):261-8.

11. Etiz P, Kibar F, Ekenođlu Y, Yaman A. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılıminın ve antifungal duyarlılıklarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. ANKEM. 2015;29(3):105-113
12. Almirante B1, Rodrguez D, Cuenca-Estrella M, Almela M, Sanchez F, Ayats J, Alonso-Tarres C, Rodriguez-Tudela JL, Pahissa A. Epidemiology, risk factors, and prognosis of *Candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. J Clin Microbiol. 2006;44(5):1681-5.
13. alışkan E, Dede A, Biten Gven G. Kan kltrlerinde saptanan *Candida* türlerinin dağılıımı ve antifungal duyarlılıkları ANKEM Derg. 2013;27(1):25-30.
14. Monroy-Pérez E, Paniagua-Contreras GL, Rodríguez-Purata P, Vaca-Paniagua F, Vázquez-Villasenor M, Díaz-Velásquez C, Uribe-García A, Vaca S High Virulence and Antifungal Resistance in Clinical Strains of *Candida albicans*. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2016;2016:5930489. doi: 10.1155/2016/5930489. Epub 2016 Dec 12.
15. Dabiri S, Shams-Ghahfarokhi M, Razzaghi-Abyaneh M. Comparative analysis of proteinase, phospholipase, hydrophobicity and biofilm forming ability in *Candida* species isolated from clinical specimens. J Mycol Med. 2018;28(3):437-42.
16. Borst A, Fluit AC. High levels of hydrolytic enzymes secreted by *Candida albicans* isolates involved in respiratory infections. J Med Microbiol. 2003;52(Pt 11):971-4.
17. Dağdeviren M, erikiođlu N, Karavuş M. Hastanede yatan fungemili hastalardan izole edilen *Candida parapsilosiskkenlerinin* virlans faktörleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2003;33(4):315-22.
18. Ibrahim AS, Mirbod F, Filler SG, Banno Y, Cole GT, Kitajima Y, Edwards JE Jr, Nozawa Y, Ghannoum MA Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. Infect Immun. 1995;63(5):1993-8.
19. Slifkin M. Tween 80 opacity test responses of various *Candida* species. J Clin Microbiol. 2000;38(12):4626-8.
20. Ycesoy M, Marol S. *Candida* türlerinin esteraz aktivitesinin

- belirlenmesi. Mikrobiyol Bul. 2003;37:59-63.
21. Manns JM, Mosser DM, Buckley HR. Production of hemolytic factor by *Candida albicans*. Infection and Immunity. 1994;62(11):5154-6.
22. Luo G, Samaranayake LP, Yau JY. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. J Clin Microbiol. 2001;39(8):2971-4.
23. Alan MS, Caron A (eds): A Practical Guide to Medically Important Fungi and the Diseases They Cause. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers (1996).
24. Pfaller MA, Messer SA, Hollis 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.
25. Yakupoğulları Y, Aşçı Toraman Z. Çeşitli Klinik Örneklerden Soyutlanan *Candida* Kökenlerinde Slime Faktörü Üretiminin Araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2004;34:178-81.

