



**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DOĞAL VE CERRAHİ MENOPOZ SONRASI KANDIDA
VAJİNİTLERİNDEN İZOLE EDİLEN KÖKENLERİN BAZI
VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DR. ERTAN ÖZYURT
UZMANLIK TEZİ**

İSTANBUL 2009



**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DOĞAL VE CERRAHİ MENOPOZ SONRASI KANDIDA
VAJİNİTLERİNDEN İZOLE EDİLEN KÖKENLERİN BAZI
VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DR. ERTAN ÖZYURT
UZMANLIK TEZİ**

Danışman: DOÇ. DR. NİLGÜN ÇERİKÇİOĞLU

İSTANBUL 2009

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİL VE RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Candida Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	3
2.2. Candida Türlerinin Virulans Faktörleri	6
2.2.1. Adezyon	6
2.2.2. Dimorfizm	7
2.2.3. Yüzey Hidrofobisitesi	7
2.2.4. Hücre Duvarı	8
2.2.5. Fenotipik Değişim	8
2.2.6. Toksinler	9
2.2.7. Hemolizin Enzimi	10
2.2.8. Salgısal Asit Proteinaz Enzimi (SAP)	10
2.2.9. Fosfolipaz Enzimi	13
2.2.10.Esteraz Enzimi	15
2.2.11. Sıvıslık Örtü (Slime Faktör)	15
2.3.Fungal Patogenez	17
2.4 Vulvovajinal Kandidoz (VVK)	18
2.5. Menopoz	26
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	27
3.1. Gereçler	27
3.1.1. Standart Kökenler	27
3.1.2. Besiyerleri	27
3.1.3. Şekerler	27
3.1.4. Kimyasal Maddeler	27
3.1.5.Tamponlar ve Çözeltiler	28
3.1.6. Boyalar	28
3.1.7. Filtreler	28
3.1.8. Kullanılan Araçlar ve Aygıtlar	29
3.2. Yöntemler	30
3.2.1. Olgu Grupları	30
3.2.2 Mikrobiyolojik çalışmalar	30
3.2.3. Mısır unlu - tween 80'li Agar Besiyerinde Morfolojik Özelliklerin Belirlenmesi	31
3.2.3.1. Besiyerinin Hazırlanması	31
3.2.3.2. Deneyin Yapılışı	31
3.2.4. Asit Proteinaz Deneyi	32
3.2.4.1. Besiyerinin Hazırlanışı	32
3.2.4.2. Deneyin Yapılışı	33
3.2.5. Fosfolipaz Deneyi	35

3.2.5.1. Besiyerinin Hazırlanışı.....	35
3.2.5.2. Yumurta Sarısının Hazırlanışı	36
3.2.5.3. Deneyin Yapılışı	36
3.2.6. Sıvışik Örtü (Slime) Üretiminin Araştırılması.....	38
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Doğal ve Cerrahi Menopozlu Olgulardan VVK Etkeni Olarak İzole Edilen <i>Candida</i> Kökenlerinin Dağılımı.....	40
4.2. Doğal ve Cerrahi Menopozlu Kadınlardan VVK Etkeni Olarak İzole Edilen <i>Candida</i> Kökenlerinin Virulans Faktörlerinin Değerlendirilmesi.....	41
4.2.1. <i>Candida</i> İzolatlarında Salgısal Asit Proteinaz (SAP) Aktivitesinin Değerlendirilmesi	43
4.2.2. <i>Candida</i> İzolatlarında Fosfolipaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi	44
4.2.3. <i>Candida</i> İzolatlarında Sıvışik Örtü (Slime) Üretiminin Değerlendirilmesi	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	46
6. KAYNAKLAR	53

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sırasında engin bir sabırla bilgi, tecrübe ve zamanını bana cömertçe harcayan Atatürk'e gönülden bağlı, ı ışık saçan Cumhuriyet Aydın'ı değerli danışman hocam Doç. Dr. Nilgün Çerikçioğlu'na;

Tıp, mikrobiyoloji ve yaşam konusunda bana sundukları tecrübe, bilgi ve öğütler için, Prof. Dr. Güner Söyletir ve Prof. Dr. Funda Babacan'a;

Tezim için klinik örnekleri sağlayan İstanbul Kartal Lütfü Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği Şefi Doç. Dr. Cem Turan ve Jin. Op. Dr. Esra Esim'e,

Tezimin laboratuvar aşamasında her türlü desteği gösteren Dr. Burak Aksu ve Biolog Naziye Metin Gül'e,

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen değerli hocalarıma, eş zamanlı sıkıntı ve sevinç yaşadığım tüm asistan ve çalışma arkadaşlarıma, sınırsız destekleri, sevgileri ve hoşgörülerini için eşim ve ailemin her bireyine sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Ertan ÖZYURT

ÖZET

Kadın genital enfeksiyonları arasında en sık rastlanılan vulvovajinal kandidozdur (VVK). Menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda VVK sıklığı östrojen azalmasına bağlı olarak, üreme çağındaki kadınlara oranla görece olarak daha az ama önemli bir oranda görülmektedir.

Candida türleri vajinada kolonize olabilmek ve VVK'ya yol açmak için çok sayıda virulans faktörüne sahiptir. Bunlardan proteinaz, fosfolipaz üretimi ve sıvıışık örtü oluşturma özelliği en önde gelen virulans faktörleridir. Ancak bu virulans faktörlerinin menopoz sonrası dönemde VVK'daki rolü araştırılmamıştır.

Çalışmamızda doğal ve cerrahi menopoz sonrası dönemde kadınlarda VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin virulans faktörleri (asit proteinaz, fosfolipaz ve sıvıışık örtü) yönünden araştırılması, bu faktörlerin her iki grup arasında farklılık gösterip göstermediğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda VVK ön tanısı alan doğal (n:30) ve cerrahi (n:30) menopozlu kadınlardan izole edilen toplam 60 *Candida* kökeni kullanılmıştır. Doğal menopozlu olgulardan VVK etkeni olarak 28 (%93.3) *Candida albicans*, 2 (%6.7) *Candida glabrata*; cerrahi menopozlu gruptan ise 23 (%76.6) *Candida albicans*, 3 (% 10) *Candida tropicalis*, 2 (%6.7) *Candida glabrata*, 2 (%6.7) *Candida parapsilosis* izole edilmiştir.

Çalışma kapsamına aldığımız toplam 60 *Candida* izolatının, % 38,3'ünde düşük (+), % 43,4'de yüksek (++) asit proteinaz, % 1,7'sinde zayıf (+), % 28,3'ünde orta (++) , % 5'inde kuvvetli (+++), % 5'inde çok kuvvetli (++++) fosfolipaz, % 11.7'de zayıf (+), %3,3'de orta (++) ve %1.7'de oranında kuvvetli (+++) sıvıışık örtü üretimi saptanmıştır.

Doğal ve cerrahi menopozlu kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin asit proteinaz ve sıvıışık örtü üretiminde her iki grup arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır (p>0.05).

Doğal menopozlu grupta yer alan izolatlarda fosfolipaz aktivitesi % 30 pozitif saptanırken, cerrahi menopozlu grupta bu oran %50 olarak saptanmıştır. Cerrahi menopozlu gruptan izole edilen kökenlerde; fosfolipaz üreten kökenlerin sayısı ve üretim düzeyleri, doğal menopozlu gruptan izole edilen kökenlere oranla daha yüksek saptanmış olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Sonuç olarak; cerrahi menopozlu grupta tekrarlayan VVK sıklığının nedenlerini daha iyi anlayabilmek için konak faktörlerinin yanı sıra, *Candida* kökenlerinin fenotipik dönüşüm gibi diğer virulans faktörlerinin de araştırılmasını önerebiliriz.

Anahtar kelimeler: Vulvovajinal kandidoz, menopoz, virulans faktörler.

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is the most common female genital tract infection. VVC in post-menopausal female is due to estrogen-deprivation and although less common when compared to patients at the reproductive age, it is still frequently seen in post-menopausal females.

Candida species have many virulence factors to colonize and to cause VVC in the vagina. Proteinase, phospholipase production and slime activity are the leading virulence factors however the role of these factors in VVC cases at the post menopausal age have not been investigated.

In our study, *Candida* strains (n:60) isolated from both hysterectomised (n=30) and non-hysterectomised (n:30) post-menopausal patients with symptoms of VVC were investigated and compared for production of three virulence factors (proteinase, phospholipase and slime).

Candida albicans was the major species to cause VVC in the non-hysterectomized post-menopausal patients (n=28,93.3%), followed by *Candida glabrata* (n=2,6.7%); in the hysterectomized post-menopausal patients *Candida albicans* was also the dominant species (n=23, 76.6%), followed by *Candida glabrata* (n=3,10%), *Candida tropicalis* (n=2 6.7%) and *Candida parapsilosis* (n=2, 6.7%).

Among all the *Candida species* (n:60) isolated from post-menopausal patients we detected low (+) (38.3%) and high (++) (43.4%) proteinase activity, 1,7 % weak (+), 28,3% moderate (++) , 5 % strong (++++) and 5 % very strong (+++++) phospholipase activity and weak (+) (11.7%), moderate (++) (3,3%) and strong (+++) (1.7%) slime production.

There was no statistical difference between the production of virulence factors such as proteinase and slime in the hysterectomized and non-hysterectomized post-menopausal patients (p>0.05).

Phospholipase activity of *Candida* isolates in the non-hysterectomized and hysterectomized groups were %30 and %50, respectively. The number of phospholipase producing isolates and the levels of this enzyme was higher in the hysterectomized post-menopausal group than in the non-

hysterectomized post-menopausal group. The difference between these groups was statistically significant ($p<0.05$).

In conclusion; in order to make a clear understanding on the causes of the high frequency of recurrent VVC in the hysterectomized post-menopausal group, we would suggest the investigation of other virulence factors such as phenotypic switching in the *Candida* isolates, additionally to host factors.

Key words: Vulvovaginal candidiasis, menopause, virulence factors.

SİMGELER VE KISALTMALAR

A-SDA	:Antimikrobik sabouraud dekstroze agar
SDA	:Sabouraud dekstroze agar
SB	:Sabouraud buyyon
YEPD	:Yeast extract peptone dextrose
SGB	:Sabouraud glukoz buyyon
SGA	:Sabouraud glukoz agar
Ig	:İmmünoglobulin
SAP	:Salgısal asit proteinaz
SÖ	:Sıvıışık örtü
F	:Fosfolipaz
PMNL	:Polimorf nüveli lökosit
Pr	:Proteinaz
SÖ	:Sıvıışık örtü
VVK	:Vulvovajinal kandidoz
WHO	:Dünya sağılık örgütü
ATCC	:American Type Culture Collection
Pz	:Presipitasyon zonu
UV	:Ultraviyole
u	:Ünite
µl	:Mikrolitre
nm	:Nanometre
n	:Sayı
rpm	:Dakikadaki devir sayısı

ŞEKİL VE RESİMLER DİZİNİ

Şekillerin Listesi

Şekil 1: Fosfolipaz aktivitesi için Pz değerinin hesaplanması.

Resimlerin Listesi

Resim 1: Mısır unlu-Tween 80 agarda *C.albicans*'ın oluşturduğu yalancı hif ve klamidospor yapıları (40 x).

Resim 2: Asit proteinaz üretmeyen negatif (-) *C. albicans* kökeni (disk çevresinde lizis zonu yok).

Resim 3: *Candida albicans* CBS 2730, yüksek (++) salgısal asit proteinaz üreten köken (disk çevresindeki lizis zonu 3 mm).

Resim 4: a: Fosfolipaz pozitif *C. albicans* SC 5314 kökeni, b: negatif *C. parapsilosis* kökenin yumurtalı agarda oluşturdukları görüntü.

Resim 5: Modifiye tüp aderens yöntemi ile sıvıışık örtü üretimi: (+++) ATCC 35984 *Staphylococcus epidermidis* kökeni; (++), c: (+), d: (-) *C. albicans* kökenleri.

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: VVK gelişmiş doğal ve cerrahi menopozlu hastalardan izole edilen *Candida* kökenlerinin türlere göre dağılımı

Tablo 2: *Candida* kökenlerinde virulans faktörlerinin düzeylerine göre dağılımı

Tablo 3: *Candida* kökenlerinde salgısal asit proteinaz (SAP) aktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 4: *Candida* kökenlerinde fosfolipaz aktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 5: *Candida* kökenlerinde sıvı şık örtü (slime) aktivitesinin değerlendirilmesi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kadın genital enfeksiyonları arasında en sık rastlanılan vulvovajinal kandidozdur (VVK). Kadınların 2/3'ü hayatları boyunca en az bir kez, yaklaşık % 50'si ise bir kereden fazla olmak üzere VVK geçirir (1). VVK'nın en sık saptanan etkeni *C. albicans*'tır (2). Moreira ve arkadaşlarının (3) 130 VVK'lı hastada yaptığı çalışmada etkenlerin dağılımı % 90 *C. albicans*, % 6 *C. glabrata*, % 2 *C. parapsilosis* ve % 2 *C. tropicalis* olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada 1316 vajinal sürüntü örneğinde PCR ile % 80.2 *C. albicans*, % 14.3 *C. glabrata*, % 5.9 *C. parapsilosis* ve % 8 *C. tropicalis* saptanmıştır (4). Vajinit tablosunun ortaya çıkışında konağa ait faktörlerin yanında mantarlara ait virulans faktörleri de önemli rol oynamaktadır (5).

Patojen mantarlar, virulanslarında önemli rol oynayan bazı enzimler salgılamaktadır ve bunlar enfeksiyon patogenezi etkilemektedir. Genel olarak bu enzimler; peptid bağlarını parçalayan proteinazlar ve fosfolipidleri hidrolize eden fosfolipazlar olarak iki grupta toplanmakla beraber, lipolitik aktivite gösteren başka enzimlerin de varlığı saptanmıştır (6 - 9).

Konak hücreye invazyon, öncelikle penetrasyonu ve hücre membranının harabiyetini gerektirir. Bu geçiş süreci, büyük olasılıkla fiziksel veya enzimatik yoldan ya da ikisinin kombinasyonu aracılığıyla gerçekleşir. Fosfolipitler ve proteinler, konak hücre membranının başlıca kimyasal bileşenleridir. Bu kimyasal bileşenleri hidrolize etme yeteneğinde olan fosfolipaz, proteinaz ve esteraz gibi enzimlerin büyük olasılıkla konak hücre invazyonu sırasında oluşan membran hasarı sürecinde yer aldıkları düşünülmektedir (10).

Menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda östrojen azalmasına bağlı olarak, üreme çağındaki kadınlara oranla vajinal kandidoz sıklığı azalmakla birlikte bu grup hastaların 1/3'ünde tanımlanmaktadır (11). IgA vajinada maya hücrelerine bağlanarak mayaların vajinada kolonizasyonunu, dolayısıyla VVK'ı önler. Uterus, doğal menopoz sonrası dönemde de mayaların vajinada kolonizasyonuna karşı salgıladığı IgA ile vajinayı semptomatik enfeksiyondan korur (12). Menopoz sonrası dönemdeki histerektomi geçirmiş hastalardan izole edilen *Candida* kökenleri, histerektomi olmayanlardan elde edilenlere

oranla tedaviye daha dirençli olarak belirlenmiştir; bu durum histerektomili hastalardaki VVK'nın yüksek oranda tekrarlaması ile paraleldir (13). Literatürde cerrahi menopoşlu kadınlarda histerektominin VVK gelişimi ile bağlantısını gösteren veriler bulunmakla birlikte; etken mayalarda virulans faktörlerinin üretiminin değerlendirildiği bir çalışma yoktur.

Çalışmamızda amacımız doğal ve cerrahi menopoş sonrası dönemde kadınlarda vajinal kandidoz etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenleri'nin virulans faktörleri (asit proteinaz, fosfolipaz ve sıvı sıkı örtü) yönünden araştırılması ve bu faktörlerin cerrahi menopoşlu grupta daha yüksek orandaki VVK sıklığını etkileyecek düzeyde olup olmadığının gösterilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Candida* Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Kandidalar deri, mukoza ve gastrointestinal sistemin normal florasında bulunur. Doğumdan hemen sonra mukozalarda kolonize olurlar ve endojen enfeksiyon için risk yaratırlar.

Kandidalar, tek hücreli, hareketsiz, gram olumlu özellik gösteren, hücre duvarında kitin ve/veya sellüloz içeren ökaryot hücre yapısına sahip kemoheterotrof mikroorganizmalardır.

Kandidalar 3-5 µm çapında, yuvarlak veya oval, tomurcuklanarak (blastosporla) çoğalan maya şeklinde mantarlardır. Mantar elemanlarının incelenmesinde %20'lik KOH, Gram boyası ve kalkoflor beyazı kullanılır. Maya hücre duvarındaki kitin ve sellüloza nonspesifik olarak bağlanan kalkoflor beyazı floresan mikroskopla yapılan incelemede yeşilden maviye değişen renklerde floresan verir. Mısır unlu-tween 80 katkılı agarda üreyen mayaların morfolojik görünüşleri tanımlamada önemlidir. Bu besiyerinde mayaların blastospor, hif, klamidospore ve artrospore yapıları incelenir (14,15).

Birkaç istisna dışında, *Candida* cinsi içindeki mayaların makroskopik ve mikroskopik özellikleri farklılık göstermez. Hepsi, 25°C ya da 37°C'de 2-3 günde Sabouraud dekstrozu agarda (SDA) 2-3 mm çapında, beyaz veya krem renginde, düzgün veya göbekli ve uzayan inkübasyonla birlikte buruşuk hale gelen, mat ya da parlak koloniler oluştururlar (14,15).

Mayaların üreyebilmesi için besiyeri ortamında glukoz, amonyum tuzu, fosfat, biotin ve serbest metallerin (Fe, Zn, Ca gibi) bulunması, ortam pH'sının 2-8 arasında olması yeterlidir (14,15). *Candida* türleri kemoheterotrofturlar, organik bir azot ve karbon kaynağına gereksinimleri vardır. Çevreden besin maddelerinin alımı sıklıkla aktif transport yoluyla olur. Metabolize ettikleri karbonhidratlardan laktat, piruvat, süksinat, asetat, formik asit, etanol oluştururlar (16,17). *Candida* türleri oksijen varlığında spesifik karbonhidratları tek karbon kaynağı olarak kullanabilirler ve fermentasyon sonucu kolonize oldukları bölgede CO₂ ve alkol açığa çıkartırlar (16). Ökaryot

olduklarından membranla çevrili bir çekirdek içerirler. Çekirdek içinde bir çekirdekçik ve lineer kromozomlar bulunur. Sitoplazmada mitokondri, golgi aygıtı, vakuoller, çeşitli veziküller ve 80S ribozomlar yer alır. Hücre sitoplazmasında var olan hücre iskeleti komponentleri mantarın yaşamında önemli yer tutarlar (14,18).

Mikrotübüller, aktin ve miyozinden oluşan hücre iskeleti, turgor basıncına karşı koyan, dinamik bir yapıdır, hücre duvarı ve hücre membranı ile ilişkidir. Hücre membran proteinleri moleküllerin membrandan transferini sağlayan ozmoenzimler membranda bulunurlar. Duvar sentezinde rolü olan kitin sentetaz ve sinyal transdüksiyonunda rol alan fosfolipaz C, adenilat siklaz, proteaz gibi enzimler de membranda bulunurlar (16 -18).

Membran fosfolipidleri, fosfatidilkolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin ve fosfatidil inositoldür. Bazı toksik ürünler, özellikle fosfatidil kolin sentezini inhibe ederek membran bütünlüğünü bozarlar (16 -18).

Membran sterolleri, membran lipidlerinin %22'sini oluşturur. Zimo ve ergosterol formunda bulunur. Ergosterol %95 oranında olup ana steroldür ve membrana dinamizm sağlar. Nistatin, amfoterisin B ve imidazoller, ergosterolün farklı sentez basamaklarına etkili olan antifungal ilaçlardır (14).

Hücre duvarı sert bir yapıdadır. Hücreye şeklini verir, osmotik basınca karşı koyar, moleküllerin hücre içine ve dışına geçişinde rol alır. Kandidalarda hücre duvarı; antijenik reseptörleri taşır ve mantar hücresinin konak hücrelere tutunmasını sağlar. Duvarın yapısındaki kitin, gluklan ve bunların sentezinde rolü olan enzimler yeni geliştirilmekte olan antifungal ilaçlar için hedef olarak belirlenmiştir. Kandida hücre duvarının en temel komponentleri karbonhidratlar (%80-90), proteinler (%5-15) ve lipidlerdir (%2-5)(14-19).

Karbonhidratların %20-30'u mannoproteinlerden (mannan), %50-60'ı beta-glukanlardan ve %0.6 - 3.9'u kitinden oluşur. *Candida türleri*'nin hif formundaki kitin miktarı, maya formuna oranla 3 katı fazladır. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) çalışmalarına göre hücre duvarında yer alan en az 5 farklı katman; maya-hif dönüşümü sırasında sayı ve kalınlık açısından değişime uğramaktadır. Ayrıca besinsiz ortamda mannan içeren yapıların yok

olduğu ya da yüksek glukoz-galaktoz varlığında en dıştaki mannoprotein katmanının kalınlaştığı ve fibriller tabakada artış olduğu gösterilmiştir (16-18).

Beta-glukanlar, hücre duvarının bütünlüğünden sorumludurlar. Maya ve hif formunda, asitte çözünebilen (3 -1,6)ve (3 -1,3) glukan fraksiyonları birlikte bulunurlar. Germ tüp 3 -1,3'ten zengindir; bu komponentin sentezinde rol alan, glukan sentetaz enzimi, ekinokandin ve benzeri antifungal ilaçlar tarafından inaktive edilir (16,19).

Kitin, tomurcuk skarlarında bulunmakla birlikte hif formunda daha yüksek oranda bulunur ve N-asetil-glukozamin polimerlerinden oluşur. Bu madde glukan mikrofibrilleri ile sıkı bağlantılar yaparak duvar sertliğini sağlar. Kitin, plazma membranında bulunan kitin sentetaz tarafından sentezlenir (16).

Protein elektroforezi çalışmalarına göre 12 bant halinde gözlenen duvar proteinlerinin en önemlileri; N-asetil-glukoz aminidaz, asit fosfataz, glukonaz, proteinaz ve bazı reseptörlerdir (16-19).

Lipidler %1-5 oranında bulunurlar. Bunlar trigliseridler, fosfolipidler, sterol ve esterlerdir (16 -19).

Candida lipolytica ve bazı *C. krusei* kökenleri haricinde diğer *Candida türleri*’nde üreaz enzimi yoktur (15).

2.2. *Candida* Türlerinin Virulans Faktörleri

Patojen bir organizmanın vücuda girmesi enfeksiyonun oluşumunda ilk aşamadır ancak enfeksiyonun meydana gelmesi için yeterli değildir. Konak hücre membranının yapısında bulunan lipid ve protein yapısındaki moleküller, patojen organizmaların, bu bileşikleri substrat olarak kullanan fosfolipaz ve esteraz gibi hidrolitik enzimler salgılamasına neden olmakta ve bu enzimlerin aktivitesi sonucunda invazyon oluşmaktadır. Bu faktörlerin dışında hücre duvarında mannan, sıvı sıkı örtü üretim yeteneği ve hidrofobisite gibi diğer özellikler kandidaların aderansını ve kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Patojen mantarların oluşturduğu derin enfeksiyonlar incelendiğinde, epidermis ve mukozaların üst tabakalarında kolonizasyonla başlayarak daha derinlere doğru ilerlediği görülmüştür (20 - 22).

Kandidaların etken olduğu enfeksiyonların patogenezi açıklamak ve kandidoz tedavisini geliştirmek amacı ile yapılan çalışmalarda konak savunma sisteminin rolünün yanında kandidalara ait virulans faktörlerinin de önemi belirtilmektedir. Yapılan araştırmalar yüzeysel enfeksiyondan yaygın kandidoza kadar değişen yelpazede tek bir virulans faktörünün rol oynamadığını göstermiştir.

2.2.1. Adezyon

Kandidaların mukozal epitel hücrelerine veya endotel hücrelerine bağlanması kolonizasyonun ilk aşamasıdır ve kandidozun ortaya çıkmasında önemli bir adımdır (14,20). Adezyon karmaşık bir işlem olup birden fazla adezinin ve birden fazla bağlanma mekanizmasının etkisi ile gerçekleşir. Candida adezinleri lektin benzeri hücre yüzey proteinleri ve konak epitel hücre glikoproteinlerini tanıırken kandidaların yüzey proteinleri ise epitel ve endotel hücrelerindeki protein veya peptid bağlarını tanırlar. Protein-protein ilişkisinde fibronektin, fibrinojen, kompleman reseptörleri, integrin benzeri moleküller rol oynamaktadırlar. Fibrinojene bağlanan yüzey proteinleri maya hücrelerinde gösterilmiştir. Bağlanma oranının hişlerde mayalardan 12 kat, germ tüpünde

ise 7- 8 kat fazla olduğu belirlenmiştir. Kompleman C3 dönüşüm ürünleri olan C3d ve iC3b reseptörleri ile bağlanan proteinler hem maya hem hiflerde gösterilmiştir (23).

Bir araştırmada VVK 'lı hastalardan izole edilen 41 *C.albicans* kökeninin asemptomatik taşıyıcılardan izole edilen 36 kökenden daha fazla vajen epitel hücrelerine bağlanma yeteneği gösterdikleri gözlemlenmiştir (24).

2.2.2. Dimorfizm

Dimorfizm, maya – germ tüp (hif) dönüşümünü belirleyen bir süreç olup, önemli bir virulans faktörüdür (14,20). Dimorfizmin ısı, pH ve besinlerle düzenlendiği bildirilmektedir (14). Optimum şartlar olan 33 - 42°C ve pH 6-8 aralığında germ tüpü oluşmaktadır. *Candida türleri*'ne ait hifler gelişirken ortamdaki topografik değişikliklere bağlı olarak yön değiştirebilmektedir ve bu olaya tigmotropizm adı verilmektedir. Yapay membranlar üzerinde minör bir açılma veya por oluşumu gerçekleştiğinde *C.albicans*'a ait hiflerin geliştiği yönü değiştirerek bu porlara doğru hareket ettiği gösterilmiştir (25).

2.2.3. Yüzey Hidrofobisitesi

Candida türleri ile yapılan araştırmalarda hücre yüzey hidrofobluğu, organizmaların adezyonunda rol alan önemli bir mekanizma olarak bildirilmektedir (26 -28).

Hidrofobik moleküller, alkol ve eter gibi polar olmayan çözücülerde çözünebilen fakat suda çözünemeyen moleküllerdir. *Candida albicans* ile yapılan araştırmalarda yüzey hidrofobisitesinin hücre duvar yapısıyla doğrudan ilişkili olduğu belirtilmektedir. *Candida albicans*'ın hücre duvarında bulunan mannoprotein içeren fibrillerin yapısında meydana gelen farklılaşmalar hücre yüzey hidrofobluğuunda değişikliğe neden olmaktadır. Hidrofobisitenin, mayanın üreme safhası ve üreme koşullarına bağlı olarak da değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (28).

Candida albicans kökenlerinde hidrofobisitedeki artış ile kökenlerin patojenitesi arasında paralellik saptanmıştır. Hidrofobik maya hücrelerinin, hidrofilik hücreler ile kıyaslandığında ekstrasellüler matriks proteinlerine, endotel ve epitel hücrelerine, musin gibi konak substratlarına daha kuvvetle tutundukları ve de nötrofiller tarafından fagositoza karşı daha dirençli oldukları görülmüştür (26,28).

2.2.4.Hücre Duvarı

Kandidaların virulansında hücre duvar komponentlerinden olan mannoprotein önemli rol oynamakta ve antijen olarak konağa sunulmaktadır. Mannan hücresel ve humoral yanıtı arttırmakta veya baskılamakta ve enfeksiyonun sürekliliğine neden olmaktadır (14,29).

Konak hücre zarındaki glikozid reseptörleriyle, protein bağları aracılığıyla bağlantı kuran mannoprotein fibrillerinin üretimine bağlı olarak, yapışmada artışın gözlemlendiği bildirilmiştir. Fibrillerin üretimi ile mayanın fagositler tarafından hücre içine alınarak sindirilmesi önlenmekte, böylece mayanın kolonizasyonu kolaylaşmakta ve enfeksiyon potansiyeli artmaktadır (29).

2.2.5. Fenotipik Değişim

İn vitro ve in vivo koşullarda kandidaların fenotiplerinde değişim olduğu gösterilmiştir. Bu özellik etkenin, ortama uyum sağlamasını kolaylaştırmakta, oluşan antijenik değişim sayesinde etken immün sistemden kaçabilmekte ve antifungallere karşı duyarlılıkta değişiklik meydana gelebilmektedir (6,14,25).

Fenotipik değişim, kandida kökenlerinde spontan olarak sıklıkla gözlenen geri dönüşümlü bir olaydır ve görülme sıklığı 10^{-2} - 10^{-4} tür. Fenotipik değişimin sonucunda düzgün (smooth), tüylü (fuzzy), düzensiz (irregular), yıldız (star), halka (ring), noktalı (stippled) ve şapka (hat) olmak üzere yedi fenotip oluşmaktadır. Bunun dışında bazı kökenlerde fenotipik değişim sonucu varyant koloni morfolojileri de ortaya çıkmaktadır. Bunun en tipik örneği

C.albicans WO-1 kökeninde gözlenmiştir ve bu kökende yuvarlak tomurcuklanan hücrelerden oluşan beyaz, kubbeli koloni; büyük, uzun, asimetric tomurcuklanan hücrelerden oluşan, gri, düz koloniye dönüşmektedir. Bu dönüşüm sırasında sadece koloni fenotipinde değil hücre fenotipinde de değişiklik olmaktadır. Düşük doz UV ve sıcaklık değişimi gibi bazı dış faktörlerin beyaz-opak dönüşümünü indüklediği bildirilmektedir (6,25). Beyaz fenotipten, opak fenotipe geçişe daha yüksek oranda rastlanırken; opaktan beyaza değişim oranı daha düşüktür. *Candida* kökenlerinin büyük kısmı beyaz fenotiptedir (25).

Fenotipik değişim, klinik açıdan önem taşımaktadır. Çünkü bu değişim antifungal ilaçlara duyarlılığı, konak hücreye adezyonu, antijenik yapıyı, aspartik proteinaz aktivitesinin düzeyini, nötrofil ve oksidanlara duyarlılığı ve hayvan deneyleri verilerine göre virulansını etkileyebilmektedir (6,14).

Beyaz-opak koloni dönüşümünde bu iki fazın her biri için özgül olan genlerin ifadesi rol oynamaktadır. Bunlardan SAP1 (PEP1), SAP₃, OP4 ve CANIKI genleri opak faza; VVH11 ve PGM1 genleri beyaz faza özgül genlerdir. Bunun dışında "ABC transporter" gen ailesinden olan CDR₃ geninin ekspresyonunun da beyaz-opak dönüşümünde rol oynadığı saptanmıştır. Bunlardan CDR₃'ün ilaç direncinde rol oynayan, CANIKI'nın ise intrasellüler ve çevresel değişikliklerin algılanmasında fonksiyon gören genlerden olması, fenotipik değişim ile virulans, direnç ve patogeneiz arasında önemli bir bağlantı olabileceğini düşündürmektedir (6,14,25).

2.2.6. Toksinler

Candida albicans'da endotoksine benzer bir toksin bulunduğu gösterilmiş ve bu toksinler yüksek molekül ağırlıklı ve düşük molekül ağırlıklı olmak üzere iki grupta toplanmıştır (5). Yüksek molekül ağırlıklı toksinler, glikoprotein toksinler ve kandidotoksindir. Glikoprotein toksinler, sağlam hücrelerin duvar yapılarında bulunur. Glikoprotein molekülünün hem protein hem de şekerlerinin toksik etki için gerekli olduğu, bu etkide başlıca rolü mannanın oynadığı ve proteininin de yardımcı olduğu öne sürülmüştür. Kandidotoksin de

C.albicans kökenlerinden izole edilmiştir. Farelere intravenöz uygulandığında öldürücüdür. Sitotoksik etkisi, farmakolojik ve immünolojik özellikleriyle enfeksiyonu arttırıcı yeteneği de gösterilmiştir (5,30).

2.2.7.Hemolizin Enzimi

Demir (Fe) metabolizmasında, Fe; eritrositlerde hemin ve hemoglobin, diğer hücrelerde ise ferritin şeklinde bulunmaktadır. Kandidaların sahip olduğu hemolizin enzimi eritrositleri parçalar, hemoglobin denatüre olur, hemin yapısını bozarak, Fe'in açığa çıkmasını sağlar ve kendi metabolik faaliyetlerinde kullanır (31).

Kandidaların hif formlarının hemolitik aktivitesi, maya formlarının hemolitik aktivitesinden 2-3 kat fazladır. Yapılan çalışmalarda, dissemine kandidoza neden olan *C.albicans* kökenlerinin tamamına yakınının yüksek hemolitik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (31).

2.2.8. Salgısal Asit Proteinaz Enzimi (SAP)

Patojen mantarlar konağın hücre zarlarında işlev bozukluğuna sebep olan ve dokuda ilerlemelerine yardımcı olan hidrolitik enzimler salgırlar. Bu enzimlerden biri olan asit proteinazlar peptid bağlarını hidrolize eden önemli hidrolitik bir enzim ailesidir (5,20,32).

Candida albicans ve diğer bazı kandidaların üremek için tek nitrojen kaynağı olarak protein içeren besiyerlerinde proteinaz salgıladıkları gösterilmiştir (5,20). Salgısal asit proteinaz (SAP) ilk kez 1965 yılında Staib adlı araştırmacı tarafından tanımlanmıştır. Salgısal asit proteinazın asidik ortamda etkinleşmesi ve pepstatin A tarafından inhibe edilmesi özelliklerine dayanarak karboksil proteinaz olarak da ifade edilmektedir (33).

Salgısal asit proteinaz enzimi glikoprotein yapısında olup, amino (N) ucunda triptofan, karboksil (C) ucunda lösin bulunan ve çok miktarda aspartik asit rezidüleri içeren bir polipeptid zincire sahiptir (33). Molekül ağırlığı

yaklaşık 45.000 daltonudur. Asit proteinaz en iyi aktiviteyi pH: 2.5 - 4 aralığında göstermekte olup, nötral pH'da aktivitesi kaybolmakta ve pH: 7.5 ile üzeri değerlerde denatüre olmaktadır (7). Asit proteinaz çok geniş bir substrat özgüllüğüne sahiptir, substratları arasında albumin, C₃ protein, laktoperoksidaz, α -2 makroglobülin, fibronektin, kollajen, hemoglobin, kazein, Ig A, tırnak ve deri kökenli epidermal keratin gibi azot kaynağı olan proteinler bulunmaktadır (6,7,33).

Candida türleri tarafından salgılanan asit proteinaz, IgA₁ ve IgA₂ antikorlarının ağır zincirlerini parçalamaktadır. Böylece IgA'nın immünolojik bariyer oluşturduğu mukoz membranlar ve gastrointestinal kanalda mikroorganizmanın kolonizasyonunu kolaylaştırarak enfeksiyonun yayılmasına zemin hazırlamaktadır. Ayrıca salgısal asit proteinaz derideki keratini parçalayarak kolonizasyonda ve epitel doku invazyonunda önemli rol oynamaktadır (33).

Literatür taramalarında, SAP'ın bir virulans faktörü olarak rolünün araştırıldığı çalışmaların büyük bir çoğunluğunda, *C. albicans* üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir (34). Moleküler çalışmalar doğrultusunda *C. albicans*'ta SAP'ın üretiminden sorumlu farklı SAP genlerinin (SAP₁-SAP₁₀) mevcut olduğu bulunmuştur. Bu genlerin ürünü olan SAP izoenzimlerinin, in-vivo ortamda farklı fonksiyonlar gösterdiği ve de enfeksiyonun farklı safhalarında rol aldıkları bildirilmiştir (7,25,32,35). Salgısal asit proteinazın diğer kandidalarda üretimi söz konusu olduğunda SAP gen ailesinin sadece en patojen *Candida türleri*'ne özgü olduğu belirtilmiş ve *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*'de bu genin varlığı gösterilmiştir. Klinik olarak daha az izole edilen *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*'nin proteolitik olmaması ve de patojen olmayan *Saccharomyces cerevisiae*'da SAP geninin bulunmaması SAP'ın virulansla ilişkili olduğunu destekler niteliktedir (32).

İlk olarak 1965'de *C.albicans*' ta tanımlanan hücre dışı salgısal asit proteinaz 1993'te *American Society for Microbiology* tarafından salgısal aspartik proteinaz adı ile kabul edilmiştir.1991'den itibaren *C.albicans*'ın aspartik proteinaz ailesini kodlayan birçok gen (SAP) saptanmıştır. SAP gen ekspresyonu organizmanın maya fazından hif fazına geçişi ve fenotipik

değişimi ile ilişkilidir. SAP₁, SAP₂, SAP₃ genleri sadece maya hücrelerinde, SAP₄, SAP₅, SAP₆ ise hif hücrelerinde eksprese olur. Aspartik proteinazın özel tiplerinin salgılanması sadece üreme dönemi ve morfolojiye değil, aynı zamanda ortamın içeriğine de bağlıdır. SAP₁, *C.albicans*'ın opak fenotipinde, SAP₂ ve SAP₃ ise hem opak hem beyaz fenotipte eksprese edilir. SAP₄, SAP₅, SAP₆'nın nötral pH'da aktive olduğu ve bu genler tarafından kodlanan proteinazların, tükürük pH'ının nötral olması nedeniyle, oral kandidoz patogeneğinde önemli oldukları belirtilmektedir (36).

Orofaringeal kandidozu bulunan HIV (+) hastalardan izole edilen *C. albicans* kökenlerinin proteolitik aktivitelerinin, HIV (-) asemptomatik oral taşıyıcı ya da HIV (-) oral kandidozu bulunan bireylerden izole edilen kökenlerinkine göre daha kuvvetli olduğu bildirilmiştir (37). Benzer bir biçimde HIV (+) vajinitli bireylerden izole edilen *C. albicans* kökenlerinin proteolitik aktivitesi, HIV (+) asemptomatik ya da HIV (-) ancak vajiniti olan bireylerden izole edilen kökenlerinkine göre daha kuvvetli bulunmuştur (38).

Candida parapsilosis kökenlerinde SAP üretimi ile ilgili ilk çalışmalardan birisi olarak, Bernardis ve arkadaşları (39), VVK 'lı kadınlardan izole edilen *C. parapsilosis* kökenlerinde yüksek düzeyde enzim aktivitesi saptamışlardır. Bu kökenlerle sıçanlarda oluşturdukları vajinal enfeksiyonlarda, vajinopatik *C. albicans* kökenleri ile benzer şekilde epitellere yüksek düzeyde aderens ve kolonizasyona yol açtıklarını gözlemlemişlerdir. Buradan yola çıkarak SAP üretebilen *C. parapsilosis* kökenlerinin de kadınlarda vajinit etkeni olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Klinik ve deneysel bulgular proteinazın kandidaya bağlı vajinit patogeneğinde önemli bir virulans faktörü olduğunu desteklemektedir. Vajina ortamı aspartik proteinazın indüksiyonu ve ekspresyonu için çok uygundur. Enzim izoformlarının nötral pH'da da aktif olması, salgılanması için mutlak asidik ortam gerektiği fikrini çürütmüştür. Enzim vajinada özgül antikorlar tarafından inhibe edilememektedir (40).

Kandida proteinazının özgül olmayan mukoza savunmasında rol oynayan laktoferrin, laktoperoksidaz ve müsin gibi bazı proteinleri parçaladığı invitro olarak gösterilmiştir. Ayrıca normal tükürükte bulunan IgA, IgM, IgG aspartik

proteinazın normal substratlarıdır. Müköz membranlardaki asit pH nedeniyle immünglobulinlerin parçalanması ve mayanın varlığını sürdürmesi kolaylaşmaktadır. Enzim, immünglobulinlerin ağır zincirinin parçalamakta, yalnızca IgM'de hafif zincir de parçalanmaktadır (41,42).

Asit proteinaz enzimi, zedelenmiş dokularda, kaslarda egzersiz sonrası pH 6.4'e ulaştığında aktif hale gelmektedir. Bu nedenle, sistemik kandidozda görülen kas hassasiyetinin, bu enzimin zedeleyici etkisinin bir sonucu olabileceği belirtilmiştir (42). Asit proteinaz enziminin tripsinojen aktivitesine bağlı olarak, kan pıhtılaşmasında rolü olan zimojenlerin de fungal proteinaz hedefi olabildikleri gösterilmiştir. Muhtemelen proteinaz prokoagülan madde olarak işlev göstermekte ve faktör X, bu enzimin aktivitesine karşı duyarlı hale gelmektedir (42).

Yapılan çalışmalar enzimin insan stratum korneumunu çok kolay parçaladığını ancak, insan tırnağını daha az oranda parçaladığını, insan saçını ise parçalayamadığını göstermiştir. Enzimin, fibröz proteinleri küçük molekül ağırlıklı polipeptidlere parçaladığı ve proteolitik enzimlere karşı en dayanıklı kısım olan keratinin membranöz fraksiyonlarını da parçalayabildiği belirtilmektedir (43).

2.2.9. Fosfolipaz Enzimi

Patojen mikroorganizmalar konak dokuda yayılım göstererek, enfeksiyonlara yol açabilmek için birçok stratejiler izlemektedir. Bunlardan birisi de fosfolipaz enziminin salgılanmasıdır (10,44).

Ghannoum'un (10) çalışmasında belirtildiği gibi, ilk kez 1960 yılında A. Costa adlı araştırmacı, kandidaların fosfolipaz salgıladığını, yumurta sarısı içeren katı besiyeri kullanarak yaptığı araştırma ile ortaya koymuştur.

Son yıllarda *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* gibi patojen mantarlarda fosfolipaz enziminin önemini gösteren çalışmalarda artış vardır (25,44).

Fosfolipazlar birçok patojen mikroorganizma tarafından salgılanan, hücre membranındaki gliserofosfolipitlerde bulunan ester bağlarından birini ya da

daha fazlasını hidrolize eden heterojen bir enzim grubudur. Fosfolipazlar substrat olarak fosfolipitleri kullanmasının yanı sıra hidrolize ettikleri ester bağları açısından farklılık göstermektedir. Buna bağlı olarak fosfolipazlar A, B, C, D olarak gruplandırılmaktadır (25,45). Bunların tümü de *C.albicans* kökenlerinde tanımlanmış ve klonlanmıştır. Fosfolipaz enzimleri kandida genomunda PLA, PLB1, PB2, PLC, PLD genlerinin ekspresyonu sonucu üretilmektedir.

Fosfolipaz A sitokimyasal yerleşimi incelendiğinde, hızlı gelişen kültürlerde enzim etkinliğinin tomurcuk oluşturma ile ilgili olduğu belirlenmiştir. Hiflerin yaşlı kısımlarında fosfolipaz etkinliği hücre içine yöneliktir ve otolize neden olduğu belirtilmiştir (46).

Fosfolipaz B salgılayan *C.albicans* ile bu enzimi salgılayamayan mutant köken fare modelinde karşılaştırılmıştır. Fosfolipaz üreten ana kökenlerin virulan, enzim eksikliği olan mutant kökenlerin ise avirulan olduğu saptanmıştır. Fosfolipaz B'nin kandida virulansında temel rol üstlendiği belirtilmektedir (10).

Hücre dışı fosfolipaz enziminin *C. albicans*'ın virulans ve patogenezinde önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir. Ekstrasellüler fosfolipazlar fosfolipitleri parçalayarak, konak hücre membranında hasara yol açabilmektedir (10,45).

İbrahim ve arkadaşları (45), fosfolipazın virulans ile olan ilişkisini göstermek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, kan kültürlerinden ve sağlıklı bireylerin ağız boşluklarından izole edilen *C. albicans* kökenlerini incelemişler ve kan izolatlarında yüksek düzeyde enzim aktivitesi saptamışlardır. Araştırmacılar fosfolipaz üreten kökenlerle oluşturdukları deneysel fare enfeksiyonlarındaki mortalitenin, fosfolipaz üretmeyen kökenlere bağlı olarak gelişen enfeksiyonlardakine göre daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

2.2.10.Esteraz Enzimi

Bazı *Candida türleri*'nin, fosfolipazın yanı sıra esteraz gibi enzimleri salgılayarak, lipolitik aktivite gösterdiği belirtilmiştir (47). Ekstrasellüler esterazın fosfolipazdan farklı bir enzim olduğu, sadece karbon kaynağı olarak tween 80 içeren bir ortamda aktive olmasıyla anlaşılmıştır. Ancak, indüklenebilir ekstrasellüler esterazın in vitro koşullarda fungal üreme için mutlak gerekli olmadığı saptanmıştır (48).

İlk kez 1978 yılında Walter Rudek (47) adlı araştırmacı *Candida türleri* 'nde esteraz aktivitesini, tween içeren katı besiyerinde (pH 5.5) opasite testi ile göstermiştir. Esteraz enziminin substratları arasında yer alan ve insan derisinin stratum korneum tabakasında yüksek oranda bulunan triaçilgliserol ve monoaçilgliserol substratları, lipolitik enzimlerin aktivitesi sonucunda parçalanmakta ve bunun neticesinde mikroorganizmanın invazyonu ve kolonizasyonu kolaylaşmaktadır. Kandidaların esteraz üretimleri incelendiğinde, türler arasında bu özellik açısından değişkenliklerin olduğu saptanmıştır. Bu enzimin aynı zamanda üreme sürecinde de rol aldığı gösterilmiştir (8).

2.2.11. Sıvışik Örtü (Slime Faktör)

İlk kez 1982'de Christensen ve arkadaşları tarafından *Staphylococcus epidermidis* için tanımlanan sıvışik örtü (slime faktör) protein, heksoaminler, nötral şekerler ve fosforlu bileşikler gibi birçok maddenin oluşturduğu karışık bir yapıdır. Amorf kapsül yapısında glikokaliks materyali olup %40 karbonhidrat ve %60 proteinden oluşmaktadır. Bu yapışkan madde kültür tüplerinin duvarlarına, kateter yüzeylerine, ortopedik malzemelerin yüzeylerine ve diğer medikal biyomateryallere yapışabilir özelliktedir (49,50). Ekzopolisakkarit, sıvışik örtünün matriks kısmını oluşturmaktadır. Bu matriks, iyon değişimi için bir ortam oluşturmaktadır; aynı zamanda hem dış ortamdan koruyucu bir kalkan hem de organizmanın üreyebilmesi için gerekli koşulları sağlayan önemli bir ara maddedir. *Candida albicans*'ın polimer matriksi

incelendiğinde karbohidrat, protein, fosfor, heksozamin, galaktoz ve glukoz içerdiği belirtilmiştir. Slime maddesi aglütinasyonu sağlayan polisakkaritleri bünyesine alarak biyofilm oluşumuna neden olmaktadır (51). Biyofilm organik bir matriks içerisinde gömülü ve hareketsiz olarak birbirine veya bir ara yüzeye tutunmuş halde yaşayan mikroorganizmalar topluluğu şeklinde tanımlanmaktadır.

Biyofilm yapısal olarak incelendiğinde iki tabakalı bir yapı olarak görülmektedir. Alt tabakada maya hücrelerinin, üst tabakada ise hif yapılarının bulunduğu; bu yapının ekstrasellüler polimer bir matriks içerisinde gömülü olup, su kanallarına benzer kanallar vasıtasıyla sürekli bir sıvı akımının sağlandığı belirtilmiştir (51).

Biyofilm viskoz, ekstrasellüler bir maddedir ve mayalar bu madde içine gömülerek ve birbirleriyle küme oluşturmaktadır. Bu faktörün plastik yüzeylere yapışmada rol oynadığı ve prostetik materyallerde kolonizasyona neden olduğu belirlenmiştir. Kandidaların yol açtığı sistemik enfeksiyonların çoğunun hemen hemen değişmez bir biçimde vücuda yerleştirilen intravasküler ya da üriner kateterler, endotrakeal tüpler, yapay kalp kapakçıkları, kalp atışlarını düzenleyen aygıtlar gibi medikal biyomateriyallerin üzerlerinde gelişen biyofilm ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yapılan araştırmalarda kateter ve diğer prostetik aygıtların yüzeylerini kaplayan fibrin, fibronektin, fibrinojen ve albumin gibi konağa ait proteinlerin mantarların adezyonunu ve sıvı sıkı örtü üretimlerini tetikledikleri belirlenmiştir (51).

Kandidalarda sıvı sıkı örtü yalnızca biyomedikal aygıtlarla ilişkili enfeksiyonlarda tanımlanmakla kalmamıştır. Örneğin kandida endokarditinde elektron mikroskobu ile yapılan taramalarda doğal kalp kapakçıkları üzerinde sıvı sıkı örtü varlığı ve de bunun sonucunda vasküler endotel hücrelerinde hasar oluşumu gösterilmiştir.

Sıvı sıkı örtü üretim yeteneği, aderens ve kolonizasyonu kolaylaştıran, mantarın etrafını sararak konağın savunma mekanizmasından kaçmasına yardımcı olan, *Candida türleri*’ne ve kökenlere göre üretimi farklılık gösteren bir virulans faktörü olarak tanımlanmıştır (51).

Bakteriyel sıvı sık örtülerin en önemli özelliklerinden bir diğeri antimikrobiyal ajanlara karşı direnç sağlamasıdır. Kandidalar ile yapılan araştırmalarda da sıvı sık örtü üretimi ile belirli antifungal ajanlara karşı daha az duyarlılık gözlemlenmiştir. Araştırmacılar; sıvı sık örtünün direnç oluşumundaki etkisini, ekstrasellüler polimerik matriksin antimikrobiyal ajanın geçişini engellemesi, ayrıca üreme hızında azalma gibi bazı fenotipik değişikliklerin oluşumuna bağlamaktadırlar (51).

2.3.Fungal Patogenez

Patojen bir organizmanın vücuda girmesi enfeksiyonun oluşumunda ilk aşamadır ancak enfeksiyonun meydana gelmesi için yeterli değildir. Patojen mantarlar konak bağışıklığını yenmek ve üreyebilmek için fosfolipaz, proteinaz, esteraz gibi hidrolitik enzimlere ve aderensi kolaylaştıran hidrofobisite ile sıvı sık örtü üretimi gibi bazı virulans özelliklerine sahip olmalıdır (5).

Konak hücre membranının yapısında bulunan lipid ve protein yapısındaki moleküller, patojen organizmaların, bu bileşikler substrat olarak kullanan fosfolipaz ve esteraz gibi hidrolitik enzimler salgılamasına neden olmakta ve bu enzimlerin aktivitesi sonucunda invazyon oluşmaktadır. Bu faktörlerin dışında çeşitli yüzeylere tutunma, sıvı sık örtü üretim yeteneği ve hidrofobisite gibi diğer özellikler kandidaların aderensini ve kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır. İnsanlarda sıradan bir kommensal olarak bulunan kandidaların konağın savunması zedelendiğinde dokulara yayılarak hastalık oluşturur (52).

Mantarın türüne ve kökenine bağlı olan bir kısım faktörler konağın bağışıklığını yenmek için birlikte rol oynarlar. Patojenlik özellikleri denilen bu faktörler *C.albicans* ve diğer *Candida türleri* 'nin virulansını belirler. Bugünkü yaklaşım, artan ilaç kullanımı, cerrahi girişimler, organ nakilleri ve AIDS gibi bireyin bağışıklık sistemini zayıflatan çeşitli sebeplerle tüm *Candida türleri* 'nin potansiyel patojen olabileceği yönündedir.

Birkaç mantar tam anlamıyla patojen olduğu halde büyük bir kısmı kommensaldir. Mantar enfeksiyonlarının oluşması konağın bağışıklık durumuna, enfeksiyonun tipine, şiddetine ve etkenin virulans faktörlerine bağlıdır (14,16).

Etken-Konak İlişkisi

Candida albicans konakta kommensal olarak bulunan, enfeksiyon sırasında konak hasarına neden olan fırsatçı bir maya mantarıdır. *C. albicans* insanların deri/mukoza yüzeylerinde normal floranın bir üyesi olarak, albicans dışı kandidalar ise geçici olarak bulunabilirler. İnsanların çoğunda yaşam boyunca kandidoza karşı bir "doğal direnç" oluşmaktadır. Kandidaya karşı ortaya koyulan direnç konağın doğal savunması ve kazanılmış özgül immüitenin birlikteliği ile sağlanmaktadır (52).

Candida albicans normal immün cevabı olan bireylerde ender, zayıflamış immün cevabı olan kişilerde ise daha sık konak hasarına yer açar. Konak hasarını kandidaların virulans faktörleri ve mantara karşı savunma mekanizmaları aracılığı ile verilen konak immün cevabı belirler. Genel olarak kandida enfeksiyonlarının patogeneğinde konağın rolunu belirleyen, savunma mekanizmalarında yer alan hücreler, faktörler, yapılar ve bunların işlevlerindeki defektlerdir.

Bağışıklık

Sağlıklı bireylerde kandida enfeksiyonlarına karşı güçlü bir doğal direnç bulunur. Mikroorganizma kommensal olarak vücutta yaşar ve konağın bağışıklık sisteminde bir değişim ya da predispozan faktörler olmadıkça genellikle hastalık oluşturmaz. Sağlıklı bireylerde hastalık oluşturmaksızın bulunmasının yanında kandidaların oluşturduğu enfeksiyonların çeşitliliği ve çok farklı organ veya dokuyu tutabilmesi, bu organizmaya karşı konakta meydana gelen bağışık yanıtın değişimiyle ilişkilidir. Mantar hücre duvarının

kompleks polisakkarit yapısına sahip olması, polimorfizm gösteren kandidaların değişik ortamlarda hif veya maya şeklinde bulunması; antijenik uyarının düzensiz olmasına, sonucunda heterojen bir bağışık yanıtın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (19).

Antifungal tedaviye yanıtta rol oynayan immün sistemin majör hücreleri, fagositozdan sorumlu olan monosit, makrofaj, dendritik hücreler ve nötrofillerdir. Kandidoz gelişmesinde ve enfeksiyonun ilerlemesinde en önemli risk faktörleri nötropeni ve polimorf nüveli lökosit (PMNL) disfonksiyonu olarak bildirilmektedir.

Yapılan çalışmalarda *C.albicans*'a karşı efektif fagositoz ve öldürme mekanizmasında nötrofillerdeki CD64, CD89'un önemli rol oynadığı ortaya konmuştur. Mantara ait antijenlerin ortaya çıkması sonucu indüklenen IL-2 ve IFN- γ , TNF- α , G-CSF ve GM-CSF ile fagositlerin antifungal aktiviteleri artmaktadır (53).

Nötrofillerdeki niteliksel ve niceliksel defektler invazif hastalık için predispozan faktördür. Nötrofiller mantarın blastospor ve hif yapılarına karşı önemli savunma hücreleridir. Genel olarak nötrofillerin öldürücü etkisi daha önceden aktive edici sitokinler tarafından aktive edilirse artmaktadır. Nötrofiller tarafından *C.albicans* blastosporlarının fagositozu ve öldürülmesi germ tüpü ve uzun hiflere göre daha kolaydır. Mantarın optimal olarak hücre içinde öldürülmesi için opsonin gerekli iken, nötrofillerin *C.albicans* blastosporunu fagosit etmesi opsonin yokluğunda olur. Ancak nötrofillerin *C.albicans*'ı öldürme yetisi hücre içine alınmış yapıların germ tüpü oluşturması, fagolizozomların içeriğinin salınımındaki defektler, mantar yapılarının nötrofil degranülasyonuna inhibitör etkisi gibi durumlarda sınırlanabilir. Nötrofiller aynı zamanda endotel üzerinde tomurcuklanan kandidaların temizlenmesinde de çok etkin rol oynarlar (19,53).

Mononükleer fagosit hücreleri tarafından mantarın bağlanması ve hücre içine alınması CR1, CR4, FcR ve CD14 reseptörleri aracılığı ile gerçekleşir. Makrofajlar mantarların dokulara yayılmasını önleyen bir ortam oluştururlar. Kandida blastosporlarının makrofajlarla ilişkisini ve fagositozunu CR3, vitronektin gibi bazı faktörler etkiler. Makrofajların *C.albicans*'ı fagosit etmesi

ve öldürmesi mannoz reseptörleri ile orantılıdır. En yüksek öldürme aktivitesi opsonize edilen mayalara karşı gözlenmiştir (19,54).

Makrofajların anti-kandidal aktivitesi mantarın yapısı yani maya ya da hif formunda oluşu ve bulunduğu anatomik yerleşim alanı ile de ilgilidir. Örneğin, insandaki monosit ve alveolar makrofajlar, periton makrofajlarına oranla daha üstün fungisidal aktiviteye sahiptir. Kandidalar hem maya hem hif formunda enfekte dokuların hücre içi ve hücre dışı alanlarında bulunurlar (54).

Kandidalar yüzeysel ve sistemik enfeksiyonlara yol açarlar. Konumuz itibariyle, vulvovajinal kandidoz üzerinde durulacaktır.

2.4 Vulvovajinal Kandidoz (VVK)

Candida türleri asemptomatik, sağlıklı ve doğurganlık çağındaki kadınların genital sisteminden % 20 oranında izole edilebilir (55). Vajen mukozası pek çok endojen flora elemanı ile kolonize durumdadır. Vajinal enfeksiyon etkeninin bu flora elemanlarından ayrılması gerekmektedir. Kadınlarda genital bölgede kolonize olan bakteriler: Laktobasiller, (primer olarak *L.crispotus* ve *L.jensanii*), *Corynebacterium türleri*, *Gardnerella vaginalis*, koagülaz negatif stafilokoklar, *S.aureus*, *S. agalactiae*, enterokok türleri, *E. coli*, anaerob bakteriler ve mayalardır. Vajinal flora değişken, dinamik bir ekosistemdir ve normal şartlarda birçok bakteri vajinal sekresyondan üretilir. Puberte öncesi kadınlarda difteroid çomaklar ve koagülaz negatif stafilokoklar çoğunlukta iken, doğurganlık döneminde laktobasiller baskındır. Menopoz dönemindeki kadınlarda az miktarda laktobasil bulunmakla birlikte *Enterobacteriaceae türleri* daha fazladır (56). Vajina epitel çok katlı, yassı epitel olup, normalde çok az keratinizasyon gösterir, glikojen yönünden zengindir. Östrojenik uyarı ile epitel hücrelerinde bol miktarda glikojen sentezlenir ve depolanır. Vajina lumenine dökülen epitel hücrelerindeki glikojen vajinada bulunan flora bakterileri tarafından metabolize edilerek asit oluşur ve sonuçta vajina pH'si 3.8 – 4.4 arasında asidik seviyede tutulur. Vajina epitel hormonal etki altında değişiklik gösterir (57).

Yenidoğan vajinasında birkaç hafta süre ile aerobik laktobasiller mevcut olup, pH'sı asit özelliktedir. Daha sonraki puberte dönemine kadar vajina epiteli ince ve glikojen yönünden fakir olduğu için pH nötrdür. Puberteden sonra vajina hormonal etki ile kalınlaşır, glikojen yönünden zenginleşir ve östrojenin etkisi ile vajinanın yüzeysel hücrelerinde keratinizasyon gelişir, floraya çok sayıda bakterinin eklenmesi ile pH asitleşir (57,58).

Normal vajinal sekresyonun kompleks bir yapısı vardır. Bu sekresyon servikal mukus ve üst genital organların sekresyonları, sebace bezler, ter bezleri, Bartholin bezi ve Skene bezleri gibi bezlerin sekresyonları, vajenin duvarından dökülen yassı epitel hücreleri ve mukus bezleri içermeyen vajenden transüstasyon ile oluşan sekresyonlardan oluşur. Vajinal sekresyonun yapısı ve miktarı; yaş, siklus dönemi, seksüel aktivite, oral kontraseptif kullanımı, gebelik, vajinal temizlik şekli, hormonal durum, kullanılan ilaçlar ve ruhsal durum ile yakın ilişki içerisinde çok değişkendir. Normal vajinal sekresyon kokusuz, berrak veya beyaz renkli, viskoz ve homojen yapıda olur, polimorfonükleer lökosit (PMNL) içermez ve spekulum muayenesinde göllenme oluşturmaz. Erişkinlerde vajinal epitel hücrelerinde biriken glikojenin yıkılması sonucu oluşan laktik asit etkisiyle normal vajinal pH asidiktir; 3.8 - 4.2 arasında değişen bu düşük pH vajinal sekresyonun her mm³'ünde 10⁸-10⁹ asidofilik laktobasil oluşmasına imkan tanır. Epitelial hücrelerdeki glikojen miktarı östrojen bağımlıdır. Bu nedenle prepubertal kızlarda ve postmenopozal kadınlarda nispeten daha alkali bir vajen pH' ı oluşmaktadır (59,60).

Vulvovajinal kandida enfeksiyonları o kadar yaygındır ki tüm kadınların %75'inin hayatlarının bir döneminde bu enfeksiyonu geçirdikleri saptanmıştır (1). Hastaların %45'i ise birden fazla kandidal vajinit atağı geçirmektedir (61). Hastaların büyük bir kısmı uygun tedaviyle iyileşir, bir daha bu enfeksiyona yakalanmamaktadırlar. Ancak %5 oranında bir hasta grubunda enfeksiyon kronik bir hal alır ve rekürrent vajinit atakları görülür. Bu durum tekrarlayan VVK olarak adlandırılır ve son bir yıl içerisinde en az 4 kez mikolojik olarak ispatlanmış kandidal vajinit tablosunun görülmesi şeklinde tanımlanır. Bu hastaların tedavisi oldukça problemlidir (3,4,59).

Etiyoloji:

VVK olgularının %80 -%95'inde etken olarak *C. albicans* izole edilmektedir. Diğer etkenler ise *C. glabrata* (%5- 10), *C. tropicalis* (%3-5), *C. parapsilosis* (%3-5) *C. krusei* (%1-3), *C. kefyr* ve *C. guilliermondii* şeklinde sıralanabilir (59). Bunların, blastospor formları asemptomatik vajinal kolonizasyondan ve bulaşmadan sorumlu formlardır (62).

Epidemiyoloji ve patogenezi:

Kandida daha çok doğurganlık çağındaki kadınlardan izole edilmektedir. Sağlıklı erişkin kadınların %10-55'inde asemptomatik vajinal kolonizasyon olduğu bildirilmektedir (60). 1980 -1990 yılları arasında ABD'de kandidal vajinit insidansı yaklaşık iki kat artmıştır. Bu artış özellikle *C.albicans* dışı kandidalar ile olan enfeksiyonlar lehinedir (61). Ancak bu artış İskandinav ülkelerinde yapılan çalışmalarda gösterilememiştir ve bu ülkelerde son 5 yıl içerisindeki insidansın %28 - 30 dolayında sabit kaldığı bildirilmiştir (61).

Tekrarlayan VVK orta yaşlardaki kadınlarda daha fazla görülür, hastaların eğitim düzeyleri nispeten yüksektir (63). Bu durumun ortaya çıkışıyla ilgili olarak birçok endojen ve ekzojen risk faktörü ileri sürülmüş ve bildirilmiştir. Bunlar arasında en çok bilinenleri gebelik, kontrol altına alınmamış diabetes mellitus, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, oral kontraseptif kullanımı, steroid ilaç kullanımı, AIDS, sıkı ve naylondan üretilmiş iç çamaşırı kullanılması, genital temizlik amacıyla kullanılan bazı preparatlar ve cinsel ilişki ile ilgili alışkanlıklar şeklinde sıralanabilir (64).

Gebelik döneminde vajinal mantar taşıyıcılık oranı belirgin şekilde artar (64). Her ne kadar oral kontraseptiflerin tekrarlayan VVK oluşmasında etkili bir faktör olduğu bildirilse de, özellikle son yıllarda daha düşük doz östrojen içeren doğum kontrol haplarının kullanılmaya başlanmasıyla bu fikir tartışmalı bir hal almıştır. Ancak yine de oral kontraseptiflerin en azından tekrarlayan atakların etyolojisinde araştırılması uygun olur (63). Geniş spektrumlu antibiyotikler laktobasiller gibi koruyucu etkisi olan vajinal bakterilerin baskılanmasına yol açarak tekrarlayan VVK'a yol açabilirler. Özellikle ampicilin, tetrasiklin ve sefalosporinler bu konuda suçlanan antibiyotiklerdir (63,64).

Kontrol altına alınmamış diabetes mellitus ve buna eşlik eden glikozüri, vajinal sekresyonlardaki glikoz konsantrasyonunun artmasına ve ciddi semptomatik VVK'a neden olabilir. Perinedeki yerel ısı artışı ve ventilasyonun iyi olmaması vajinal kandida kolonizasyonunu artıran önemli bir faktördür. Bu nedenle çok sıkı kıyafetler giyen, iç çamaşırını naylondan yapılmış olarak seçen kadınlarda tekrarlayan VVK görülebilir. Aynı şekilde lokal temizlik amacıyla kullanılan bazı antiseptik solüsyonlar, banyo materyalleri, çeşitli sabunlar, deodorantlar, yüzme havuzlarında kullanılan dezenfektan maddeler, tuvalet kağıtları, vajinal duş olarak kullanılan bazı solüsyonlar, hijyenik petler ve vajinal tamponlar vajinal mukozada irritasyon oluşturarak kandida kolonizasyon dolayısıyla da tekrarlayan VVK'ya yol açabilir (63,64).

Lokal veya sistemik allerjik reaksiyona sebep olan bazı maddelerin prostaglandin E_2 'nin üzerinden etkili bir mekanizma ile kandida kolonizasyonu artırdığı bildirilmektedir (65). Burada herhangi bir allerjik reaksiyon nedeniyle histamin deşarjı olduğu, açığa çıkan histaminin *C. albicans* ile sinerjik bir etki yaparak fazla miktarda prostaglandin E_2 salınımına yol açtığı, bunun da yerel hücrel immün cevabı baskıladığı ve doğrudan kandida proliferasyonu artırarak tekrarlayan VVK enfeksiyonlarına yol açtığı gösterilmiştir (65).

Çinko eksikliğinin bazı hücrel immünite basamaklarını bozduğu bilinmektedir. Bir çalışmada tekrarlayan VVK atakları olan hastalarda ortalama plazma çinko düzeylerinin normal kadınlara nazaran daha düşük olduğu saptanmıştır (66).

Tüm bu risk faktörlerine ilaveten hipotiroidizm, stres, cinsel ilişki sıklığı ve tekniği gibi faktörler de tekrarlayan VVK için risk faktörü olarak saptanmıştır (60). Cinsel ilişki sıklığı ve eş sayısının artması, ayrıca son 6 ay içerisinde yeni bir eşle birlikte olmak, tekrarlayan VVK'yı artırmaktadır (63).

Tekrarlayan VVK patogenezinde bir diğer teori tedavinin yetersiz olması ve vajinadan kandidaların tamamen uzaklaştırılamamasıdır. Bu teoriyi destekleyen iki önemli faktör vardır. Bunlardan birincisi kültür negatif olan kadınların antibiyotik tedavisi esnasında hızla kültür pozitif hale gelmeleri, ikincisi ise başarılı bir lokal antimikotik tedavisinden 30 gün gibi kısa bir süre

sonra %20-25 oranında kültür pozitif olguların saptanmasıdır (60). Burada olay tedaviyle vajinadaki canlı mantar sayısının çok azalması, ancak konvansiyonel kültür yöntemleri ile saptanamayacak kadar az sayıda mikroorganizmanın yine de vajinal lümende kalmasıyla açıklanmaktadır (59).

Sonuçta bazı kadınlarda tekrarlayan vajinal *Candida* kolonizasyonu olmaktadır. Burada kaynak ne olursa olsun, hastanın sistemik veya bölgesel vajinal savunma mekanizmaları ile mikroorganizmanın virulansı ve tedaviye direnci de önemli etkenlerdir. Bazı *Candida türleri* VVK oluşumunda önemli bir virulans faktörü olabilecek asit proteinaz sekrete ederler. Bu enzim tekrarlayan vulvovajinal kandida enfeksiyonu olan kadınların vajinal sıvılarında daha fazla saptanmıştır ve patogenezi izah etmek için kullanılabilir (67).

Tanı:

VVK'da en sık görülen semptom kaşıntıdır. Genellikle kokusuz koyu kıvamlı, beyaz renkli ve "peynir kesiği" görünümünde akıntı tipik muayene bulgusudur. Vajina hiperemik, vulva eritematöz görülür, serviks genelde normaldir. Vajinal hassasiyet, irritasyon, cinsel ilişki esnasında ağrı, vulvar bölgede kızarıklık ve yanma hissi, özellikle idrar yaparken yanma diğer semptomlardır. Tekrarlayan VVK'da ise kaşıntının yerini daha çok vajinada yanma hissi alır. Her ne kadar muayene bulguları ve semptomlara bakarak tanı konulabilse de laboratuvar ve kültür ile desteklemeden tedaviye gitmek yanıltıcı olabilir. Sadece semptomlara bakılarak VVK tanısı konulan hastaların %25'inde uygulanan ilk tedavi başarılı olmamaktadır (68). Bazı hastalarda tek bulgu hafif kaşıntı ve akıntı olabilir. Bu hastalarda mutlaka %10'luk KOH ile mikroskopik inceleme yapılmalı ve sonuç negatif olsa bile hastanın şikayetleri devam ediyorsa kültür yapılmalıdır. *Candida türleri* için en uygun kültür ortamı SDA (Saboraud Dextrose Agar) besiyeridir. Bazen servikovajinal sürüntü preparatı da tanıda yardımcı olabilir. Kültür pozitif hastaların preparatlarında %80 oranında kandida enfeksiyonunu düşündüren bulgu saptanabilmektedir (68). Tüm bu tanı yöntemlerine rağmen tekrarlayan VVK tanısı almış hastaların oldukça büyük bir kısmında tanı hatası olduğu ve yanlış tedavi nedeniyle sonuç alınamadığı bilinen bir gerçektir. Bu nedenle

hastalar mutlaka kesin tanı konulduktan sonra uygun tedavi ajanları ile tedavi edilmeli, sadece muayene bulgularına bakılarak ampirik tedaviden kaçınılmalıdır (68).

Tedavi:

CDC'nin 1993 yılında yayınladığı VVK tedavi rehberinde azollerin kullanımı yer almaktadır (88). Sistemik kullanılan azoller; imidazoller (mikonazol ve ketakonazol) ve triazoller (itrakonazol ve flukonazol) olarak iki ana grup altında incelenirler. Bu ilaçlar topikal veya oral kullanılabilirler. Bu ilaçlar mantar hücrelerinin membranlarındaki ana sterol olan ergosterol sentezini inhibe ederek etkilerini gösterirler. VVK tedavisinde kullanılan topikal ilaçlar ise vajinal supozituar veya krem şeklinde piyasada bulunmaktadır.

Tekrarlayan VVK tedavisinde ilk basamak altta yatan herhangi bir predispozan faktörün olup olmadığının saptanması ve varsa ortadan kaldırılmasıdır. Eğer mümkünse immunosupressif ilaçların ve hormonların kullanımı kesilmelidir. Bu hastalarda düşük doz oral kontraseptiflerin kesilmesi tartışmalıdır. Yine premenopozal hastalarda oral glukoz tolerans testi yapılması çok anlamlı değildir ve nadiren diabetes mellitus saptanır (59). Bu hastalara daha rahat ve sentetik olmayan, pamuklu iç çamaşırı giymeleri, çok sıkı kıyafetlerden kaçınmaları, perineyi mümkün olduğunca kuru tutmaları, vajinal temizlik amacıyla hiçbir kimyasal madde ve sabun kullanmamaları, tuvalet sonrası temizliklerini önden arkaya doğru yapmaları önerilmelidir. Her ne kadar cinsel eş tedavisi tartışmalı olsa da gerektiğinde eşin antimikotik ilaçlarla tedavi edilmesi ve tedavi tamamlanana kadar kondom kullanılması uygun görülmektedir. Yine reenfeksiyonu önlemek için iç çamaşırları kaynatılmalıdır. Bu hastaların yeterli ve uygun beslenmeleri, egzersiz yapmaları, sigarayı bırakmaları ve vitamin takviyesi yapmaları immün sistemlerini güçlendireceğinden tedavide faydalı olacaktır. Özellikle adet öncesi bir haftalık dönem enfeksiyon açısından riskli dönemdir, bu dönemde daha dikkatli olunmalıdır (59).

2.5. Menopoz

Menopoz Dünya Sağlık örgütünün (WHO) önerdiği ve yaygın olarak kabul görerek kullanılan tanıma göre “ovaryum aktivitesinin yitilmesi” sonucunda mensturasyonun kalıcı olarak sonlanmasıdır. Menopoz deyimi fizyolojik bir dönemi belirlemekle birlikte cerrahi girişim sonucunda (histerektomi ve ooferektomi), radyoterapi ve kemoterapi etkisiyle iatrojenik olarak da oluşan fonksiyon kaybı için de kullanılmaktadır. Doğal menopoz belirli bir arada gerçekleşmekle birlikte bu olaya kadar oluşan çeşitli değişiklikler yıllarca öncesinden başlamaktadır. Menopoz aslında retrospektif olarak tanımlanan bir kavramı vurgular. Eğer bu dönemdeki kadın bir yıl süreyle adet görmemişse, gördüğü son adete menopoz denir ve kadın için “menopoza girmiş” söylemi kullanılır. Ortalama menopoz yaşı (48 -55) 53.1’dir (58).

Östrojen reseptörleri bakımından en zengin dokulardan biri olan vajina mukozası menopozda hormonal yetersizlik nedeni ile inceler, epitelyum katları parabasal tabakaya kadar kaybolur. Vajina ruguları düzleşir, esnekliğini kaybeder, daralır ve kısalır. Senil atrofik vajina olarak tanımlanan bu tabloda epitelyumun glikojen depolama yeteneği azaldığından laktobasiller sayıca azalır, laktik asit sentezi yavaşlar. Reprodüktif dönemde 4 - 4,5 olan pH alkaliye doğru yükselerek 6-8’e ulaşır ve flora değişir.

Menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda VVK sıklığı östrojen azalmasına bağlı, üreme çağındaki kadınlara oranla görece olarak daha az ama önemli bir oranda görülmektedir (13). Literatürde doğal ve cerrahi menopoz dönemdeki kadınlarda vajinal flora ile ilgili bilgi bulunmamakla birlikte, menopoz sonrası dönemdeki histerektomi olmuş hastalardan izole edilen *Candida* kökenleri, antifungal tedaviye daha dirençli olarak belirlenmiştir; bu durum histerektomili hastalardaki VVK’nın yüksek oranda tekrarlaması ile paraleldir (13). Ancak bu sürecin gelişmesinde, bu grup hastalarda kolonize olan kandidaların virulans faktörlerinin olası etkisini inceleyen çalışmalar yapılmamıştır.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

3.1.1. Standart Kökenler

a) *Candida albicans* CBS 2730, salgısal asit proteinaz üreten köken (Reinhard Röchell, Almanya)

b) *Candida albicans* SC 5314, fosfolipaz üreten köken (Ghannoum M., ABD)

c) *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 (RP62A) sıvı şık örtü üreten köken

3.1.2. Besiyerleri

Sabouraud dekstroş Agar (BD)

Sabouraud glukoz Agar (Fluka)

Mısır unlu Agar (Difco)

Maya özütü (BD)

Sabouraud buyyon (BD)

Pepton (Oxoid)

Agar (BD)

3.1.3. Şekerler

Dekstroş (Merck)

Glukoz (Merck)

3.1.4. Kimyasal Maddeler

Sığır serum albumini fraksiyon V (BSA)(Sigma)

NaCl (Merck)

Na₂HPO₄ (Merck)
CaCl₂ (Horasan Kimya)
K₂HPO₄ (Merck)
C₆H₈O₇H₂O (Lachema)
Na₂HPO₄2H₂O (Merck)
MgSO₄7H₂O (Merck)
Tween 80 (Merck)

3.1.5. Tamponlar ve Çözeltiler

Sitrik asit-disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisi

a) C ₆ H ₈ O ₇ H ₂ O	21.01 gr / 1000 ml distile su	(0,1 M)
b) Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O	35.6 gr / 1000 ml distile su	(0,2 M)

a ve b çözeltileri uygun miktarda karıştırılarak pH 4.2 olan tampon çözelti hazırlandı.

3.1.6. Boyalar

Safranin-O (Merck)

%1'lik Safranin-O boyasının hazırlanışı:

Safranin-O :	1 gr
Distile su :	100 ml

3.1.7. Filtreler

0.45 µm 'lik membran filtre (M&N)

0.2 µm 'lik membran filtre (M&N)

3.1.8. Kullanılan Araçlar ve Aygıtlar

Terazi (Scaltec SPB 54 kaba terazi; 0.1 gr)

Etüv (Dedeoğlu – Heraeus)

Çalkalayıcı etüv (Lab-Line)

Su banyosu (Elektro-Mag ve Memmert)

Dondurucu (- 20 °C) (Uğur)

Pastör fırını (Elektro-Mag)

Otoklav (HV-85 Hirayama)

Dondurucu (- 45 °C) (Fiocchetti)

Çeker ocak (Tessan)

Buzdolabı (Arçelik)

Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)

Manyetik karıştırıcı (Elektro-Mag)

Vorteks karıştırıcı (Elektro-Mag)

pH metre cihazı (Hana instruments)

Işık mikroskobu (Nikon)

Tek kanallı otomatik pipetler (Pipetmen, Thermo, Biohit–Exelpette)

Cam pipetler 1, 2, 5, 10 ml

Enjektör 5, 10 ml

Kağıt diskler (6 mm, Aldrich)

Eküvyon

Kurutma kağıdı

Petri kapları, balonlar, tüpler, mezur, sarı ve mavi pipet uçları, sporlar

3.2. Yöntemler

3.2.1. Olgu Grupları

Bu çalışma prospektif olarak yapıldı. Araştırma için İstanbul Lütfü Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Birimi'ne Temmuz 2007- Nisan 2008 arasında olmak üzere doğal (n=30) ve cerrahi (n=30) menopozlu kadınlardan vajinal örnekler toplandı. Son bir hafta içinde antifungal tedavi alan hastalar çalışmaya alınmadı. Çalışmaya menopoz kliniğine VVK ile uyumlu en az iki şikayeti (kaşıntı, yanma, peynir kesiği şeklinde akıntı, vulvar kızarıklık) ile başvuran menopoz sonrası dönemdeki hastalar dahil edildi. Çalışmaya katılan hastalar bilgilendirilip sözel ve yazılı olarak onayları alındıktan sonra, jinekolojik muayenelerini takiben pH kağıdı ile vajinal pH'ları ölçüldü ve vajinal arka ve yan fornixten mikrobiyolojik inceleme için iki adet sürüntü örneği alındı. Araştırmamız Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından (1477 sayı, 30.11.2007 tarihli) onaylanmıştır.

3.2.2 Mikrobiyolojik çalışmalar

Hastalardan alınan vajinal sürüntü örneklerinden birisi ile mikroskopik inceleme yapmak üzere Gram boyalı preparat hazırlandı. Preparatlarda yalancı hif oluşturmuş tomurcuklanan mayaların ve lökositlerin varlığı araştırıldı. İkinci sürüntü materyal ise Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) ve antimikrobik (sikloheksimit ve kloramfenikol) içeren Sabouraud Dekstroz Agar (A-SDA) besiyerlerine ekim için kullanıldı. Ekim plakları 37° C de 7 gün inkübe edildi.

Agar besiyerinde üreyen maya kolonilerinin identifikasyonu için germ tüp testi yapıldı ve mısır unlu-tween 80 agar besiyerindeki morfolojik özellikleri incelendi. Germ tüp oluşumunun ve mısır unlu-tween 80 agar besiyerinde *C. albicans*'a özgü yalancı hif, blastospor ve ikili klamidosporelerin

görülmesi ile köken *Candida albicans* olarak tanımlandı(15). *Candida albicans* dışı kökenlerin tanımlaması için asimilasyon prensibine dayalı maya tanımlama ticari kiti ID 32 C (bio-Merieux, France) kullanıldı. Tanımlanması tamamlanan kökenler -20 °C'de saklandı, virulans faktörü olarak salgısal asit proteinaz (SAP), fosfolipaz ve sıvıışık örtü (slime) üretimine bakıldı.

3.2.3. Mısır unlu - Tween 80'li Agar Besiyerinde Morfolojik Özelliklerin Belirlenmesi

3.2.3.1. Besiyerinin Hazırlanması

Mısır unlu-tween 80 besiyeri için mısır unlu agar hazır besiyeri (Difco) kullanıldı. Besiyeri içerisine belirli oranda Tween 80 eklenerek otoklavda 121 °C'de 15 dakika süre ile steril edildi ve ardından 90 mm çapındaki petrilere 20-25 ml miktarda döküldü (15).

Mısır unu agar (Difco)	17 gr
Tween 80	10 ml
Distile su	1000 ml

3.2.3.2. Deneyin Yapılışı

Candida kökenlerinin her biri SDA'ya pasajlanarak 37 °C'de 24 - 48 saat inkübe edildi. Besiyerinde üreyen koloniler iğne öze yardımıyla alınıp, mısır unlu-tween 80 agar üzerine birbirine paralel 3 çizgi şeklinde ekim yapıldı ve ekim bölgesinin üzeri lamel ile kapatıldı. 25 °C'de 72 saatlik inkübasyondan sonra, yalancı hiflerin ve *C. albicans*'a özgü ikili klamidosporların oluşumu (15) gözlemlendi (Resim 1).



Resim 1: Mısır unlu-tween 80 agarda *C.albicans*'ın oluşturduğu yalancı hif ve klamidospor yapıları (40 x).

3.2.4. Asit Proteinaz Deneyi

Candida kökenlerinin salgısal asit proteinaz aktivitelerini belirlemek amacıyla içerisinde %1'lik sığır serum albumini bulunan, pH: 5.0 olarak ayarlanmış katı besiyeri kullanıldı (69 -71).

3.2.4.1. Besiyerinin Hazırlanışı

Yeast extract peptone dextrose (YEPD) Buyyon:

Maya özütü	1 gr
Pepton	2 gr
Dekstroz	2 gr
Distile su	100 ml

Karışım otoklavda 121 ° C'de 15 dakika steril edilerek 5'er ml steril tüplere döküldü.

Temel Besiyeri:

Dekstroz	2 gr
KH ₂ PO ₄	0.1 gr
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.05 gr
Agar	2 gr
Distile su	100 ml

Besiyeri karışımı otoklavda 110 °C'de 15 dakika steril edildikten sonra, sitrik asit tamponu ile pH 5.0'e ayarlandı ve besiyeri içerisindeki agarın donmaması için 50 °C'lik su banyosuna konuldu.

Temel Besiyerine Eklenen Protein Çözeltisi:

Sığır serum albumin (Fraksiyon V)	1 gr
Distile su	100 ml

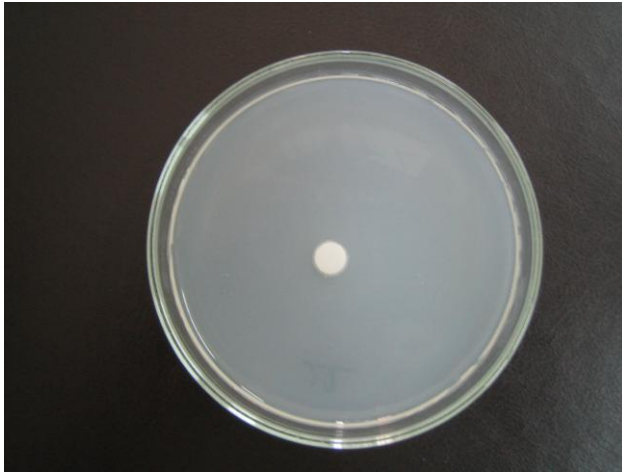
Sığır serum albumini manyetik karıştırıcı yardımıyla distile su içerisinde çözündükten sonra 0.2 µm'lik membran filtreden süzülerek steril edildi. Sığır serum albumin çözeltisinden temel besiyerine % 20 oranında eklenerek, 70 mm çaplı petri kaplarına 10'ar ml döküldü.

3.2.4.2. Deneyin Yapılışı

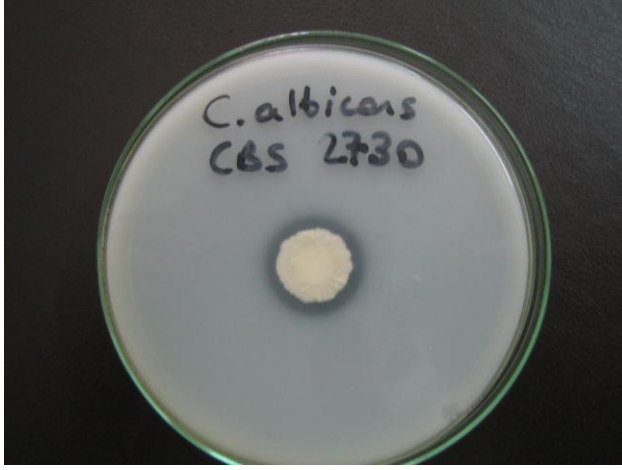
Salgisal asit proteinaz aktivitesi belirlenecek kökenler SDA'ya pasajlanarak, 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Üreyen kolonilerden YEPD buyyon besiyerine inoküle edilerek, 30 °C'de 4 saat inkübasyona bırakılıp, Mc Farland 0.5'e göre süspansiyonlar hazırlandı. Bu işlemlerden sonra 6 mm çapında steril

kağıt diskler proteinli agar besiyerinin ortasına gelecek biçimde yerleştirilerek, üzerlerine 10 µl maya süspansiyonundan damlatıldı ve 30⁰C'de 6 gün süreyle inkübe edildi.

Üreme sürecinde besiyerinde opaklaşma meydana geldi. Proteinaz aktivitesi sonucunda disk çevresinde bulunan proteinlerin yıkımına bağlı olarak, bu bölgelerde şeffaf bir lizis zonu oluştu. Testin değerlendirilmesinde, bu lizis zonunun mm cinsinden genişliği ölçülerek proteinaz aktivitesinin düzeyi belirlendi. Eğer disk çevresinde lizis zon oluşumu yok ise negatif (-) (Resim 2), disk çevresindeki lizis zonu 1-2 mm ise düşük derece pozitif (+), 3-5 mm ise yüksek derece pozitif (++) olarak değerlendirildi (Resim 3) (69 - 71). Pozitif kontrol olarak, salgısal asit proteinaz üreten standart *C. albicans* CBS 2730 kökeni kullanıldı ve deney her bir köken için 3 kez tekrar edildi.



Resim 2: Asit proteinaz üretmeyen negatif (-) *C. albicans* kökeni (disk çevresinde lizis zonu yok).



Resim 3: *Candida albicans* CBS 2730, yüksek (++) salgısal asit proteinaz üreten köken (disk çevresindeki lizis zonu 3 mm).

3.2.5. Fosfolipaz Deneyi

Candida kökenleri 'nin fosfolipaz aktivitelerini belirlemek amacıyla içerisinde yumurta sarısı bulunan, pH: 4,2 olarak ayarlanmış katı besiyeri kullanıldı (72).

3.2.5.1. Besiyerinin Hazırlanışı

Temel Besiyeri:

Pepton	1.25 gr
Glukoz	2.5 gr
Agar	2.5 gr
NaCl	7.3 gr
CaCl ₂ 6H ₂ O	0.14 gr
Distile su	115 ml

Besiyeri karışımı otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilerek, besiyeri içerisindeki agarın donmaması amacıyla 50 °C'lik su banyosuna konuldu.

3.2.5.2. Yumurta Sarısının Hazırlanışı

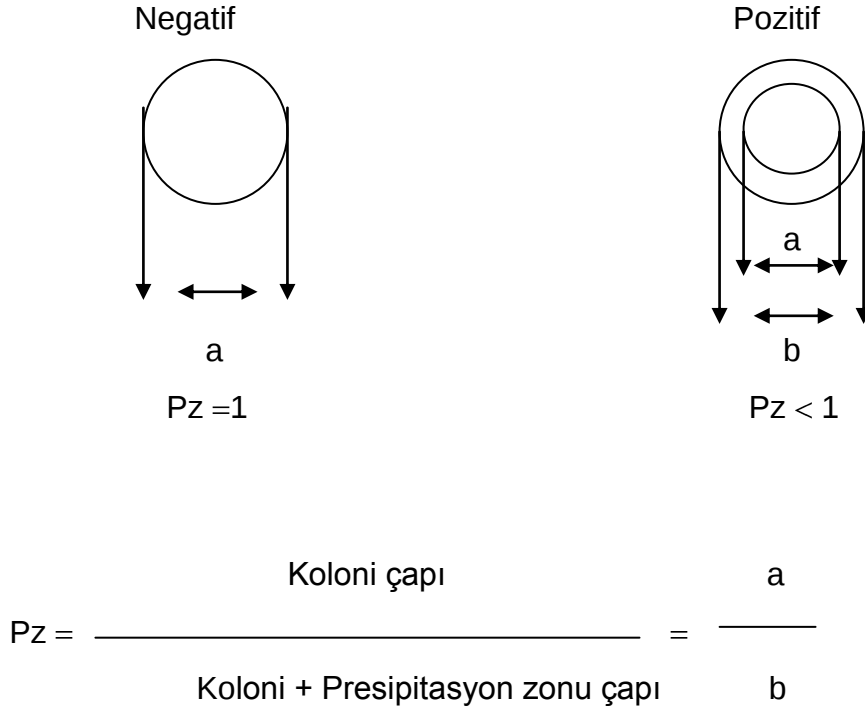
Temel besiyerinde kullanılacak yumurtalar öncelikle sulandırılmış çamaşır suyunda 1 dakika bekletildikten sonra steril gazlı bezle kurulandı. Yumurtalar daha sonra kırılarak sarısı, steril edilmiş bir mezûre aktarıldı. Üzerine eşit hacimde serum fizyolojik eklendi ve ardından içinde steril cam boncuklar bulunan bir balon içinde iyice karıştırıldı. Buzdolabında 24 saat bekletildikten sonra steril bir tüpe alınarak 2000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi.

Santrifüj işleminden sonra yumurtalı süspansiyonun üst kısımdan 10 ml sıvı alınarak 125 ml sitrik asit disodyum fosfat tamponu ile temel besiyerine eklendi ve 70 mm çaplı petrilere 10'ar ml döküldü (72).

3.2.5.3. Deneyin Yapılışı

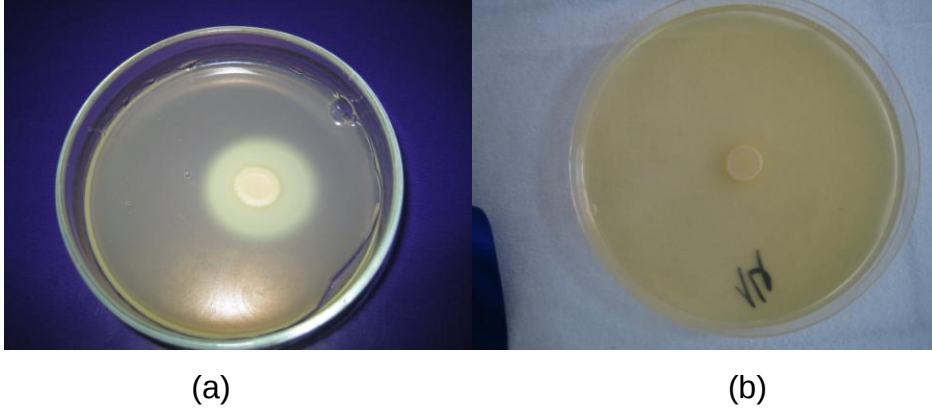
Fosfolipaz aktivitesi saptanacak kökenlerin SDA'da 37 °C'de 18 - 24 saatlik inkübasyonu sonrası üreyen koloniden steril serum fizyolojik kullanılarak Mc Farland 0.5'e göre süspansiyonlar hazırlandı. Her bir petriye maya süspansiyonlarından, ölçülü özeyle (0.01 ml) besiyeri yüzeyine değdirilmek suretiyle ekim yapıldı ve 37 °C'de 4 gün inkübe edildi (72). Pozitif kontrol olarak *C. albicans* SC 5314 kökeni kullanıldı. Deney her köken için üç kez tekrarlandı.

Fosfolipaz aktivitesi, koloni çapının, koloni ile birlikte presipitasyon zonunun toplam çapına oranı olarak hesaplandı (Şekil 1). Bu sistemde Pz değeri küçüldükçe fosfolipaz aktivitesi artmakta, Pz= 1.00 değeri, denenen kökenin fosfolipaz aktivitesinin negatif olduğunu göstermektedir. Bu durumda, Pz değeri 0.9 -1.00 olanlar (+) zayıf pozitif; 0.89 - 0.8 olanlar (++) orta pozitif; 0.79 – 0.7 olanlar kuvvetli (+++) pozitif; < 0.69 olanlar çok kuvvetli (++++ pozitif grubu oluşturmaktadır (72).



Şekil 1: Fosfolipaz aktivitesi için P_z değerin hesaplanması.

Fosfolipaz aktivitesinin ölçülmesinde ve hesaplanmasında, koloninin etrafında oluşan belirgin halka şeklindeki presipitasyon zonu (P_z) dikkate alındı (Resim 4).



Resim 4: a: Fosfolipaz pozitif *C. albicans* SC 5314 kökeni, b: Fosfolipaz negatif *C. parapsilosis* kökenin yumurtalı agarda oluşturdukları görüntü.

3.2.6. Sıvışık Örtü (Slime) Üretiminin Araştırılması

Sıvışık örtü (Slime) üretimini saptamak amacıyla modifiye tüp aderens yöntemi kullanıldı. Test edilecek kökenler SDA'ya pasajlanarak 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Besiyerinde üreyen kökenlerden bir öze dolusu alınarak, son glukoz yoğunluğu % 8 olacak şekilde hazırlanan Sabouraud buyyondan (SB)10 ml içeren polistiren falkon tüplerine inoküle edildi ve 35 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu işlemler sonrasında tüplerde bulunan sıvı dikkatlice aspire edilerek tüpler iki kez distile su ile yıkandı ve % 1'lik safranin boyası ile boyandı. Bir süre bekletilerek kurutulan tüplerin iç çeperinde oluşan kırmızı renk koyuluğuna göre sıvışık örtü yoğunluğu yarı kantitatif olarak belirlendi. Oluşan tabakanın kalınlığına göre sonuçlar; zayıf pozitif (+), orta pozitif (++), kuvvetli pozitif (+++) olarak değerlendirildi. Besiyerinin hava ile temas ettiği bölgelerdeki renk değişimleri değerlendirilmeye alınmadı (22,73). Pozitif kontrol olarak *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 kökeni kullanıldı (Resim 5). Deney her köken için üç kez tekrarlandı.



a b c d

Resim 5: Modifiye tüp aderens yöntemi ile sıvı şık örtü üretimi: a: (+++) ATCC 35984 *Staphylococcus epidermidis* kökeni; b: (++) , c: (+) , d: (-) *C. albicans* kökenleri

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın veri analizinde *Statistical Package for Social Science* (SPSS 11.0) istatistiksel yazılım programı kullanıldı. Doğal ve cerrahi menopoz gruplarında virülans faktörleri bağımsız gruplarda ki-kare anlamlılık testi ile, pH ve yaş ortalamaları arasındaki fark ise student t-testi ile, doğal ve cerrahi menopoz gruplarında virülans faktörlerinin birbirleriyle ve vajinal pH ve yaş ile olan ilişkilerinin değerlendirilmesinde ise non parametrik Mann-Whitney U (pearson korelasyon) testi uygulandı. Tüm değerlendirmelerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı, $p > 0.05$ değeri ise istatistiksel olarak anlamsız kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan olguların (n:60) yaş ortalamaları $58,33 \pm 4,54$ 'dir. En düşük yaş 45, en büyük yaş 71'dir. Doğal menopoza giren grupta (n:30) yaş ortalamaları $59,23 \pm 3,24$ 'dir. En düşük yaş 55, en büyük yaş 70'dir. Cerrahi menopoza giren grupta (n:30) yaş ortalamaları $57,43 \pm 5,45$ 'dir. En düşük yaş 41, en büyük yaş 71'dir. Doğal menopoza giren grupta (n:30) vajen pH ölçümlerinin ortalamaları $5,51 \pm 0,20$ 'dir; en düşük pH 5,0, en büyük pH 6,0'dır. Cerrahi menopoza giren grupta (n:30) vajen pH ortalamaları $5,55 \pm 0,20$ 'dir; en düşük pH 5,0, en büyük pH 6,0'dır. VVK gelişmiş doğal ve cerrahi menopoza giren olguların yaşları ve vajen pH'ları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Ek olarak VVK gelişmiş doğal ve cerrahi menopoza giren hastalardan izole edilen *Candida* kökenlerinin araştırılan virulans faktörleri (asit proteinaz, fosfolipaz ve sıvı sıkıltı) üretimleri ile olguların yaşları ve vajen pH'ları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($r_{\text{pearson}} = -0.06$, $p>0.05$). Çalışmaya alınan hastaların preparatlarının tamamının Gram incelemesinde yabancı hücre oluşturmuş tomurcuklanan mayaların ve lökositlerin varlığı gözlemlendi.

4.1. Doğal ve Cerrahi Menopoza Giren Olgulardan VVK Etkeni Olarak İzole Edilen *Candida* Kökenlerinin Dağılımı

Çalışmada, doğal (n:30) ve cerrahi (n:30) menopoza giren olup, klinik olarak VVK ön tanısı konulan 60 hastadan izole edilen *Candida* kökenlerinin türlere göre dağılımları Tablo 1'de gösterildi. Doğal menopoza giren olgulardan VVK etkeni olarak 28 (%93.3) adet *C. albicans*, 2 (%6.7) adet *C. glabrata* izole edildi. Cerrahi menopoza giren olgulardan VVK etkeni olarak 23 (%76.6) adet *C. albicans*, 3 (%10) adet *C. tropicalis*, 2 (%6.7) adet *C. glabrata*, 2 adet (%6.7) *C. parapsilosis* izole edildi (Tablo 1).

Tablo 1: VVK gelişmiş doğal ve cerrahi menopozlu hastalardan izole edilen *Candida* kökenlerinin türlere göre dağılımı

<i>Candida</i> türleri	Doğal Menopoz		Cerrahi Menopoz		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
<i>C.albicans</i>	28	93,3	23	76,6	51	85
<i>C.glabrata</i>	2	6,7	2	6,7	4	6,7
<i>C.parapsilosis</i>	0	0,0	2	6,7	2	3,3
<i>C.tropicalis</i>	0	0,0	3	10,0	3	5
Toplam	30	100	30	100	60	100

4.2. Doğal ve Cerrahi Menopozlu Kadınlardan VVK Etkeni Olarak İzole Edilen *Candida* Kökenlerinin Virulans Faktörlerinin Değerlendirilmesi

Klinik olarak VVK ön tanısı konulan 60 hastadan izole edilen *Candida* kökenlerinin 53 (%88,4) tanesinde araştırdığımız virulans faktörlerinden en az bir tanesi saptandı. Çalışmamızdaki toplam 60 izolatın 7(%11,6) tanesinde ise, SAP, fosfolipaz ve sıvışik örtü virulans faktörleri saptanmadı (Tablo 2).

Tablo 2: *Candida* kökenlerinde virulans faktörlerinin düzeylerine göre dağılımı

DOĞAL MENOPOZ					CERRAHİ MENOPOZ				
	<i>Candida türleri</i>	Virulans Faktörleri				<i>Candida türleri</i>	Virulans Faktörleri		
		SAP	F	SÖ			SAP	F	SÖ
1	<i>C.albicans</i>	+	-	-	1	<i>C.albicans</i>	++	++	-
2	<i>C.albicans</i>	++	-	-	2	<i>C.albicans</i>	++	++	-
3	<i>C.albicans</i>	+	++++	-	3	<i>C.albicans</i>	+	++	-
4	<i>C.albicans</i>	++	+++	-	4	<i>C.albicans</i>	++	-	-
5	<i>C.albicans</i>	-	-	-	5	<i>C.albicans</i>	++	-	-
6	<i>C.albicans</i>	+	++++	-	6	<i>C.albicans</i>	++	-	-
7	<i>C.albicans</i>	++	-	-	7	<i>C.albicans</i>	++	++	-
8	<i>C.albicans</i>	++	-	-	8	<i>C.albicans</i>	++	-	-
9	<i>C.albicans</i>	++	-	-	9	<i>C.albicans</i>	-	-	+
10	<i>C.albicans</i>	++	-	-	10	<i>C.albicans</i>	++	++	+
11	<i>C.albicans</i>	+	++	-	11	<i>C.albicans</i>	+	-	-
12	<i>C.albicans</i>	+	++++	-	12	<i>C.albicans</i>	++	+	-
13	<i>C.albicans</i>	+	-	-	13	<i>C.albicans</i>	+	-	-
14	<i>C.albicans</i>	+	+++	-	14	<i>C.albicans</i>	++	+++	-
15	<i>C.albicans</i>	+	-	++	15	<i>C.albicans</i>	+	++	-
16	<i>C.albicans</i>	++	-	-	16	<i>C.albicans</i>	+	++	+
17	<i>C.albicans</i>	+	-	-	17	<i>C.albicans</i>	+	++	-
18	<i>C.albicans</i>	+	-	-	18	<i>C.albicans</i>	-	++	-
19	<i>C.albicans</i>	+	-	+	19	<i>C.albicans</i>	-	-	-
20	<i>C.albicans</i>	+	-	-	20	<i>C.albicans</i>	++	++	-
21	<i>C.albicans</i>	-	-	-	21	<i>C.albicans</i>	+	++	-
22	<i>C.albicans</i>	-	-	-	22	<i>C.albicans</i>	+	++	-
23	<i>C.albicans</i>	++	-	-	23	<i>C.albicans</i>	++	++	-
24	<i>C.albicans</i>	++	-	-	24	<i>C.tropicalis</i>	++	-	-
25	<i>C.albicans</i>	++	-	-	25	<i>C.glabrata</i>	+	-	+
26	<i>C.albicans</i>	++	-	+	26	<i>C.parapsilosis</i>	-	-	-
27	<i>C.albicans</i>	++	++	+	27	<i>C.glabrata</i>	-	-	-
28	<i>C.albicans</i>	++	++	-	28	<i>C.tropicalis</i>	-	-	++
29	<i>C.glabrata</i>	+	++	-	29	<i>C.parapsilosis</i>	+	-	-
30	<i>C.glabrata</i>	-	-	-	30	<i>C.tropicalis</i>	-	-	+++

SAP: Salgısal asit proteinaz, F: Fosfolipaz, SÖ: Sıvışik Örtü

4.2.1. *Candida* İzolatlarında Salgısal Asit Proteinaz (SAP) Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Çalışmada doğal menopozdaki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin 4'ünde (% 13,3) proteinaz aktivitesi saptanmadı. Diğer kökenlerin etkinlik düzeyi 13 tanesinde (% 43,3) düşük (+) iken, geri kalan 13 tanesinde (% 43,3) yüksek (++) olarak bulundu. Cerrahi menopozlu kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin 7 tanesinde (% 23,3) proteinaz aktivitesi saptanmazken, diğer kökenlerin etkinlik düzeyleri 10 tanesinde (% 33,3) düşük (+), 13 tanesinde ise (% 43,3) yüksek (++) olarak belirlendi. (Tablo 3).

Tablo 3: *Candida* kökenlerinde salgısal asit proteinaz (SAP) aktivitesinin değerlendirilmesi

ASİT PROTEİNAZ DÜZEYİ	DOĞAL MENOPOZ n (%)	CERRAHİ MENOPOZ n (%)	TOPLAM n (%)
NEGATİF(-)	4 (13,4)	7 (23,4)	11 (18,4)
DÜŞÜK (+)	13 (43,3)	10 (33,3)	23 (38,3)
YÜKSEK (++)	13 (43,3)	13 (43,3)	26 (43,3)
TOPLAM	30 (100)	30 (100)	60 (100)

VVK gelişmiş doğal ve cerrahi menopozlu hastalardan izole edilen *Candida* kökenlerinin salgısal asit proteinaz (SAP) üretimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

4.2.2. *Candida* İzolatlarında Fosfolipaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Çalışmada doğal menopozdaki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin 21'inde (% 70) fosfolipaz aktivitesi saptanmadı. Diğer kökenlerin etkinlik düzeyi 4 tanesinde (% 13,3) orta (++) iken, 2 tanesinde (% 6,7) kuvvetli (+++), 3 tanesinde (% 10) çok kuvvetli (++++) olarak bulundu. Cerrahi menopozlu kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin 15 tanesinde (% 50) fosfolipaz aktivitesi saptanmazken, diğer kökenlerin etkinlik düzeyleri ise 1 tanesinde (% 3,3) zayıf (+) , 13 tanesinde (% 43,3) orta (++) , 1 tanesinde (% 3,3) kuvvetli (+++), olarak bulundu (Tablo 4).

Tablo 4: *Candida* kökenlerinde fosfolipaz aktivitesinin değerlendirilmesi

FOSFOLİPAZ DÜZEYİ	DOĞAL MENOPOZ n (%)	CERRAHİ MENOPOZ n (%)	TOPLAM n (%)
NEGATİF (-)	21 (70,0)	15 (50,0)	36 (60,0)
ZAYIF (+)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
ORTA (++)	4 (13,3)	13 (43,3)	17 (28,3)
KUVVETLİ (+++)	2 (6,7)	1 (3,3)	3 (5,0)
ÇOK KUVVETLİ (++++)	3 (10,0)	0 (0,0)	3 (5,0)
TOPLAM	30 (100)	30 (100)	60(100)

Cerrahi menopozlu gruptan izole edilen kökenlerde; fosfolipaz üreten kökenlerin sayısı ve fosfolipaz üretim düzeyleri doğal menopozlu gruptan izole edilen kökenlere oranla daha yüksek saptandı; aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0.05$).

4.2.3 *Candida* İzolatlarında Sıvıışık Örtü Üretiminin Değerlendirilmesi

Çalışmada doğal menopozdaki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin 26 tanesinde (% 86,7) sıvıışık örtü üretimi saptanmadı. Diğer kökenlerin 3 tanesinde (% 10) zayıf (+) pozitiflik, 1 tanesinde (% 3,3) orta kuvvette (++) pozitiflik saptandı. Cerrahi menopozlu kadınlardan VVK

etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin 24 tanesinde (% 80) üretim gözlenmezken, 4 tanesinde (% 13,3) zayıf (+), 1 tanesinde (% 3,3) orta (++) düzeyde, 1 tanesinde (% 3,3) kuvvetli (+++) düzeyde sıvıışık örtü üretimi saptandı (Tablo 5).

Tablo 5: *Candida* kökenlerinde sıvıışık örtü aktivitesinin değlerlendirilmesi

SIVIŞIK ÖRTÜ DÜZEYİ	DOĞAL MENOPOZ n (%)	CERRAHİ MENOPOZ n (%)	TOPLAM n (%)
NEGATİF (-)	26 (86,7)	24 (80,0)	50 (83,3)
ZAYIF (+)	3 (10,0)	4 (13,3)	7 (11,7)
ORTA (++)	1 (3,3)	1 (3,3)	2 (3,3)
KUVVETLİ (+++)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
TOPLAM	30 (100)	30 (100)	60(100)

VVK gelişmiş doğal ve cerrahi menopoşlu hastalardan izole edilen *Candida* kökenlerinde sıvıışık örtü üretimi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Çalışmada doğal menopoşlu kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin salgısal asit proteinaz (SAP) ve fosfolipaz üretimi arasında bir ilişki bulunmadı ($r_{\text{pearson}} = -0.02$, $p>0.05$). Aynı şekilde cerrahi menopoşdaki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin salgısal asit proteinaz (SAP) ve fosfolipaz üretimi arasında da bir ilişki bulunamadı ($r_{\text{pearson}} = 0.04$, $p>0.05$). Sıvıışık örtü üretimi tespit edilen kökenler her iki grupta çok düşük sayıda olduğu için sıvıışık örtü üretimi ile salgısal asit proteinaz (SAP) ve/veya fosfolipaz üretimi arasında ilişkiyi belirleyebilecek bir istatistiksel irdeleme yapılamadı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Kadın genital enfeksiyonları arasında en sık rastlanılan vulvovajinal kandidozdur (VVK). Tüm kadınların %75'inin hayatlarının bir döneminde bu enfeksiyonu geçirdikleri belirlenmiştir. Yaklaşık % 50'si ise bir kereden fazla olmak üzere VVK geçirir (1). Hastaların büyük bir kısmı uygun tedaviyle tamamen iyileşir. Ancak % 5 oranında bir hasta grubunda enfeksiyon kronik bir hal alır. Bu grupta, yılda en az dört kez olmak üzere ve mikrobiyolojik olarak kanıtlanmış "tekrarlayan VVK" epizodlarına rastlanır (3,4,60).

Candida türleri vajinada kolonize olabilmek için çok sayıda virulans faktörüne sahiptir. Bunlardan proteinaz, fosfolipaz gibi hücre dışı enzimler ve konak vajinal epitellerine adezyon ve penetrasyon için sıvışık örtü üretimi en önde gelen virülans faktörleridir.

Menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda östrojen azalmasına bağlı olarak, üreme çağındaki kadınlara oranla vajinal kandidoz sıklığı azalmakla birlikte bu grup hastaların 1/3'ünde tanımlanmaktadır (11). IgA vajinada maya hücrelerine bağlanarak mayaların vajinada kolonizasyonunu, dolayısıyla VVK'ı önler. Uterus, doğal menopoz sonrası dönemde de mayaların vajinada kolonizasyonuna karşı salgıladığı IgA ile vajinayı semptomatik enfeksiyondan korur (12). Menopoz sonrası dönemdeki histerektomi geçirmiş hastalardan izole edilen *Candida* kökenleri, histerektomi olmayanlardan elde edilenlere oranla tedaviye daha dirençli olarak belirlenmiştir; bu durum histerektomili hastalardaki VVK'nın yüksek oranda tekrarlaması ile paraleldir (13). Literatürde menopoz sonrası dönemdeki histerektominin VVK gelişimi ile bağlantısını gösteren veriler bulunmakla birlikte; etken mayalarda virulans faktörlerinin üretiminin değerlendirildiği bir çalışma yoktur.

Çalışmamızda amacımız doğal ve cerrahi menopoz sonrası dönemde kadınlarda VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin virulans faktörleri (salgisal asit proteinaz (SAP), fosfolipaz ve sıvışık örtü) yönünden araştırılması ve bu faktörlerin cerrahi menopozlu grupta daha yüksek orandaki VVK sıklığını etkileyecek düzeyde olup olmadığının gösterilmesidir.

Çalışmamızda VVK ön tanısı alan doğal ve cerrahi menopozlu (her iki gruptan 30 hasta) kadınlardan izole edilen *Candida* kökenleri kullanılmıştır. Doğal menopozlu olgulardan VVK etkeni olarak 28 (%93.3) adet *C. albicans*, 2 (%6.7) adet *C. glabrata* izole edilmiştir. Cerrahi menopozlu olgulardan VVK etkeni olarak 23 (%76.6) adet *C. albicans*, 3 (% 10) adet *C. tropicalis*, 2 (%6.7) adet *C. glabrata*, 2 adet (%6.7) *C. parapsilosis* izole edilmiştir. Tüm menopozlu olgulardan VVK etkeni olarak 51 (%85) adet *C. albicans*, 4 (%6.7) adet *C. glabrata*, 3 (% 5) adet *C. tropicalis*, 2 adet (%3.3) *C. parapsilosis* izole edilmiştir. Literatür verilerinde VVK etkeni *Candida türleri*'nin dağılımı *C. albicans* (%80-%95), *C. glabrata* (%5- 10), *C. tropicalis* (%3-5), *C. parapsilosis* (%3-5) olarak belirtilmektedir (3,4,60). Her ne kadar bu veriler doğurganlık çağındaki kadınlarda VVK etkenlerinin dağılımını yansıtsa da çalışmamızdaki menopozlu olgulardan izole edilen VVK etkenleri de yaklaşık olarak bu çalışmalardakine benzer sonuçlar vermiştir.

Candida türleri'nde asit proteinaz varlığı ilk defa 1965 yılında Staib tarafından saptanmıştır ve üç yıl sonra Remold ve Fasold proteinaz enzimini saflaştırarak tiplendirmişlerdir. Patojen *Candida türleri*'nin salgıladığı hücre dışı proteinazların doku harabiyetine bağlı olarak olarak, mayanın yayılımını desteklediği, mukozalarda devamlı kalmasını sağladığı ve organizmanın savunma sistemine karşı koruduğu belirtilmektedir (5).

Fındık ve ark.(74), yaptıkları araştırmada, 40 *C. albicans* vajinal izolatının 25 (%62.5) tanesinde düşük (+) proteolitik aktivite gözlerken, 15 tanesinde proteolitik aktivite saptamamışlardır. Özcan ve ark.(75) çalışmasında ise 28 vajinal izolatın (21 *C. albicans*, 4 *C. glabrata*, 2 *C. tropicalis*, 1 *C. krusei*), 3 (%10.7) tanesinde düşük (+) ve 18 (%64.3) tanesinde yüksek asit proteinaz (++) üretimi gözlemişlerdir; 7 (%26) adet izolatda proteolitik aktivite saptamamışlardır. Erdeniz ve Gürler (76) *C. albicans*'ın etken olduğu VVK'lı hastalardan izole edilen 31 kökenin tümünde; 7'si düşük (+), 24'ü güçlü (++) asit proteinaz aktivitesi saptanmıştır. Al-Hedaihty'nin çalışmasında ise Suudi Arabistan'lı kadınlarda VVK etkeni 298 adet *C. albicans*'ın tümünde [90'ı düşük (+), 208'i yüksek (++)], 20 adet *C. tropicalis*'in 19'unda düşük (+) ve 3

C. parapsilosis'in hepsinde düşük (+) asit proteinaz aktivitesi saptanmıştır (77) .

Çalışma kapsamına aldığımız toplam 60 *Candida* izolatının, (n=23)% 38.3'ünde düşük (+), (n=26)% 43,4'de yüksek (++) ve (n=11) % 18,3'de negatif SAP aktivite saptanmıştır. Doğal menopozdaki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen 30 *Candida* kökeninin proteinaz aktivitesi düzeyi, 13 tanesinde (% 43,3) düşük (+) , 13 tanesinde (% 43,3) yüksek (++) olarak bulunmuştur. Geriye kalan 4 izolatta (% 13,3) proteinaz aktivitesi saptanmamıştır. Cerrahi menopozlu kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen 30 adet *Candida* kökeninin 7 tanesinde (% 23,3) proteinaz aktivitesi saptanmazken, diğer kökenlerin etkinlik düzeyleri 10 tanesinde (% 33,3) düşük (+) iken, 13 tanesinde (% 43,3) yüksek (++) olarak bulunmuştur. Çalışmamızda menopozlu olgulardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida türleri* 'nin SAP aktivitesini ancak doğurganlık dönemindeki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida türleri'nin* SAP aktivitesi ile karşılaştırabildik. Bu bulgularımız Fındık (74) ve Özcan'ın (75) bildirdikleri sonuçlar ile karşılaştırınca daha yüksek; fakat Erdeniz ve Gürler'in (76) sonuçlarına göre ise daha düşük bir orandadır. Doğurganlık dönemindeki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida türleri'nin* SAP aktivitesinin %62.5 ile %100 arasında değiştiğini bildiren çalışmaların ışığı altında çalışmamızda menopozlu olgulardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida türleri'nin* SAP aktivitesininin, bu çalışmalarla uyumlu olduğunu söyleyebiliriz. Bu bulgu, menopozlu grupta gelişen VVK'da SAP'ın olağan dışı önem taşımadığını ortaya koymuştur. Literatürde menopozlu olgulardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida türleri'nin* SAP aktivitesininin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlamadık.

Çalışmamızda yer alan iki grubun *Candida türleri* SAP aktivitesi yönünden kıyaslandığında doğal menopozlu grupta 13 adet *C.albicans*, 1 adet *C. glabrata*'da, cerrahi menopozlu grupta 9 adet *C.albicans*, 1 adet *C. glabrata*, 1 adet *C. parapsilosis*'te düşük SAP aktivitesi saptanmıştır. Yüksek SAP aktivitesi gösteren izolatların türlere göre dağılımı ise doğal menopozlu

grupta 12 adet *C.albicans* bulunurken, cerrahi menopozlu grupta 11 adet *C.albicans* ve 1 adet *C. tropicalis* şeklindedir.

Doğal ve cerrahi menopozlu kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin SAP aktivitelerini kıyasladığımızda SAP üretiminde her iki grup arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Başta *C. albicans* olmak üzere *Candida türleri*'nin ürettiği bir diğer virülans faktörü olan fosfolipaz konak hücrelerini lizize uğratmakta veya hücrenin yüzey özelliklerini değiştirmektedir (10). Virülansta fosfolipaz enziminin varlığı kadar üretilen enzim miktarı da önem taşımaktadır.

Arıkan ve ark.(78) vajinal akıntı örneklerinden izole edilen *C.albicans* (n=40) izolatlarında fosfolipaz aktivitesini %82.5, Yücesoy ve Yuluğ (44) ise yine (n=11) *C.albicans* izolatlarında % 72.7 oranında bulmuştur. Fındık ve ark.(74), yaptıkları araştırmada, 40 *C.albicans* vajinal izolatının % 80'inde fosfolipaz aktivitesi saptamışlardır.

Çalışmamızda her iki gruptan izole edilen 60 adet *Candida* kökeni fosfolipaz aktivitesi yönünden tür bazında kıyaslandığında; doğal menopozlu grupta 8 adet *C.albicans*, 1 adet *C. glabrata*'da, cerrahi menopozlu grupta ise 15 adet *C.albicans*'da fosfolipaz üretimi gösterilmiştir. *Candida albicans* dışı *Candida türleri* incelendiğinde yalnızca doğal menopozlu grupta 1 adet *C. glabrata*'da orta (++) düzeyde fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. Bu tek izolat dışında her iki grupta izole edilen *C.albicans* dışı *Candida türleri*'nin hiçbirinde fosfolipaz aktivitesi bulunmamıştır.

Doğal menopozlu grupta yer alan (n=30) izolatlarda fosfolipaz aktivitesi % 30 pozitif saptanırken, cerrahi menopozlu (n=30) grupta bu oran %50 olarak saptanmıştır. Çalışma kapsamına aldığımız tüm *Candida* izolatları (n=60) dikkate alındığında fosfolipaz aktivitesi ise (n=24) % 40 düzeyinde kalmıştır. Bu bulgularımız Arıkan (78), Fındık (74) ve Yücesoy, Yuluğ'un (44) bildirdikleri sonuçlar ile karşılaştırınca daha düşük bir orandadır. Bu veriler ışığı altında çalışmamızda menopozlu olgulardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida türleri*'nin fosfolipaz aktivitesininin, doğurganlık çağındaki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida türleri*'ne kıyaslandığında daha düşük bulunduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda yer alan doğal ve cerrahi menopozlu hastalardan izole edilen VVK etkeni *Candida* kökenlerinin fosfolipaz üretimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Cerrahi menopozlu gruptan izole edilen kökenlerde; fosfolipaz üreten kökenlerin sayısı ve fosfolipaz üretim düzeyleri, doğal menopozlu gruptan izole edilen kökenlere oranla daha yüksek saptanmıştır. Bu farklılık orta (++) düzeyde fosfolipaz aktivitesi gösteren izolatların cerrahi menopozlu grupta fazla olmasından kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda virulans faktörlerinin birbirlerinin üretimini artırıcı yada eksiltici yönde ilişkileri olup olmadığını belirlemek üzere yapılan istatistiksel değerlendirmede SAP ve fosfolipaz üretim düzeyleri arasında bağlantı bulunmamıştır (doğal $r_{\text{pearson}} = -0.02$, $p>0.05$), (cerrahi $r_{\text{pearson}} = 0.04$, $p>0.05$). Fındık ve ark.(74) *C. albicans* izolatlarıyla yaptıkları çalışmada, benzer şekilde bu ilişkiyi irdemişler ve iki enzim üretimi arasında bir bağlantı gösterememişlerdir.

Candida türleri'nin VVK enfeksiyon oluşturabilmeleri için hidrolitik enzimler gibi virulans faktörleri dışında aderens yeteneği ve kolonizasyon için ortam oluşturan sıvışik örtü üretiminin de gerekli olduğu belirtilmektedir. Orhan ve ark.(79) vajinal sürüntü örneklerinden izole ettikleri *C.albicans* izolatlarında tüp aderens testi ile sıvışik örtü üretimini % 10, Karaca ve ark. (80) 16 vajina izolatında (11 *C.albicans*, 4 *C.glabrata*, 1 *C.parapsilosis*) aynı faktörü % 75 ve Fındık ve ark. (74) ise vajinal sürüntü örneklerinden izole ettikleri 40 adet *C. albicans* izolatında sıvışik örtü üretimini % 48 oranında bulmuşlardır.

Çalışma kapsamına aldığımız 60 *Candida* izolatının % 83.3'ünde sıvışik örtü üretimi saptanmamıştır. Geriye kalan ($n=10$) izolatta sıvışik örtü üretimi % 11.7 oranında zayıf (+), % 3,3 oranında orta (++) ve %1.7 oranında kuvvetli (+++) bulunmuştur. Çalışmada doğal menopozdaki kadınlardan VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin ($n=30$) 26 tanesi (% 86,7) sıvışik örtü üretimi açısından olumsuz bulunmuştur. Diğer kökenler arasında 3 *C.albicans* (% 10) zayıf (+), 1 *C.albicans'da* (% 3,3) orta (++) düzeyde etkinlik saptanmıştır. Çalışmada cerrahi menopozlu kadınlardan

VVK etkeni olarak izole edilen *Candida* kökenlerinin (n=30) 24 tanesinde (% 80) üretim gözlenmezken, 6 kökende sıvışik örtü üretimi saptanmıştır. Bunların dağılımı: 4 tanesinde (3 *C.albicans*, 1 *C. glabrata*) (% 13,3) zayıf (+), 1 tanesinde *C.tropicalis* (% 3,3) orta (++) düzeyde, 1 tanesinde *C.tropicalis* (% 3,3) kuvvetli (+++) düzeyde üretim olarak belirlenmiştir. Tür bazında karşılaştırıldığında yalnız 1 adet *C.tropicalis* izolatında kuvvetli (+++) sıvışik örtü üretimi saptanmış fakat hiçbir *C. albicans* izolatında kuvvetli (+++) sıvışik örtü üretimi gözlenmemiştir.

Çalışmamıza alınan menopoz sonrası gruplardan elde edilen izolatların sıvışik örtü üretimi pozitif köken sayısı ve üretim düzeyleri açısından doğurganlık çağı grupları içeren diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında; izolatlarımızda bu virulans faktörünün üretiminin daha düşük oranda olduğu görülmektedir. Sıvışik örtü üretimi gösteren izolatlarımızın sayıca düşük olması nedeniyle, bu virülans faktörünün SAP ve fosfolipaz üretimleri ile ilişkisi istatistiksel açıdan analiz edilememiştir.

VVK gelişmiş doğal ve cerrahi menopozlu hastalardan izole edilen *Candida* kökenlerinin sıvışik örtü üretimi açısından incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışmamızdaki toplam 60 izolatın 7 (%11.6) tanesinde, SAP, fosfolipaz ve sıvışik örtü virulans faktörleri saptanmamıştır. Bu gözlem VVK gelişiminde bu üç virülans faktörünün dışındaki diğer virulans faktörlerinin de rol alabileceğini düşündürmüştür. Literatürde menopoz döneminde ortaya çıkan VVK'ların patogenizinde, etken mayaların virulans faktörlerinin rolünü araştıran çalışmalara rastlamamış olmamız bir kıyaslama yapmamızı olanaksız kılmıştır.

Sonuç olarak cerrahi menopozlu grupta tekrarlayan VVK sıklığının nedenlerini daha iyi anlayabilmek için konak faktörlerinin yanı sıra, etken *Candida* kökenlerinde ilk olarak çalışmamızda araştırılan virulans faktörleri ile birlikte, fenotipik dönüşüm gibi diğer virulans faktörlerinin de araştırılmasını önerebiliriz.

6. KAYNAKLAR

1. McCormack WM, Zinner SH, McCormack WM. The incidence of genitourinary infections in a cohort of healthy women. Sex Transm Dis. 1994; 21: 63 - 64.
2. Richter SS, Galask R, Messer SA, Hollis RJ, Diekema D, Pfaller MA. Antifungal susceptibilities of *Candida species* causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbiol. 2005; 43: 2155 - 62.
3. Moreira D, Paula CR. Vulvovaginal candidiasis. Int J Gynecol Obstet. 2006; 92: 266 -67.
4. Trama JP, Adelson ME, Raphaelli I, Stemmer SM, Mordechai E. Detection of *Candida species* in vaginal samples in a clinical laboratory setting. Infect Dis Obstet Gynecol 2005; 13: 63 -7.
5. Ghannoum MA, Abu Elteen KH. Pathogenicity determinants of *Candida*. Mycoses 1990; 33: 265 – 82.
6. Cutler JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. Annu Rev Microbiol. 1991; 45:187 - 218.
7. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. Trends Microbiol. 2001; 9: 327-35.
8. Tsuboi R, Komatsuzaki H, Ogawa H. Induction of an extracellular esterase from *Candida albicans* and some of its properties. Infect Immun. 1996; 64: 2936 - 40.
9. Monod M, Borg-von Zepelin M. Secreted proteinases and other virulence mechanisms of *Candida albicans*. Chem Immun. 2002; 81: 114 -28.
10. Ghannoum MA. Potential Role of Phospholipases in Virulence and Fungal Pathogenesis. Clin Microbiol Rev. 2000; 13: 122-143.
11. Spimillo A, Bernurzi AM, Cevini C, Gulminetti R, Luzi S. The relationship of bacterial vaginosis *Candida* and *Trichomonas* infection to symptomatic vaginitis in post menopausal women attending a vaginitis clinic. Maturitas. 1997; 27: 253 - 60.
12. Mendling W, Koldovsky U. Immunological investigations in vaginal mycoses. Mycoses 1996; 39: 177 - 83.

13. Ventolini G, Baggish MS. Post-menopausal recurrent vaginal candidiasis; effect of hysterectomy on response to treatment, type of colonization and recurrence rates post-treatment. J Euro Menopause. 2005; 51:294 – 8.
14. Çerikçioğlu N. *Candida Türleri*. Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). “İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Cilt 2” kitabında s.2411 - 27, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2008.
15. Tümbay E. Mayalar, Pratik Tıp Mikolojisi. pp. 45 -61, Bilgehan Basımevi, İzmir, 1983.
16. Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M. Introduction Mycology. pp 55 - 62 Fourth Edition. John Wiley and Sons Inc. New York 1996.
17. Crissey JT, Lang H. Parish LC. *Candia spp.* Manual of Medical Mycology. pp 32 - 45 First ed. USA. Blackwell Science, 1995.
18. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, eds. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. ; Part 5 (Mycology): pp.629 -718 12th ed. St. Louis: Mosby Press, 2007.
19. Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of Medical Importance. pp.1693 -1710 in: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover JC, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington: ASM Press, 2003.
20. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. *Candida*’ların Patojenlik Belirtgenleri. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 2000; 31: 172 - 86.
21. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. *Candida albicans* kökenlerinde bazı virulans faktörlerinin (fosfolipaz, çimleme borusu ve aderens) ve aralarındaki korelasyonun belirlenmesi. İnfek Derg. 2001; 15: 517-25.
22. Dolapçı İ, Tekeli A. Çeşitli *Candida türlerinde* slime faktörü yapımının araştırılması. Mikrobiyol Bül 2002; 36: 323-28.
23. Hostetter MK. Adhesins and ligands involved in the interaction of *Candida spp.* with epithelial and endothelial surfaces. Clin Microbiol Rev. 1994; 7:29 -37.
24. Segal E, Soroka A, Schechter A. Correlative relationship between adherence of *Candida albicans* to human vaginal epithelial cells in vitro and candidal vaginitis. Sabouradia. 1984; 22: 191 -200.

25. Yang YL. Virulence factors of *Candida species*. J Microbiol Immun Infect. 2003; 36: 223 - 28.
26. Hazen KC. Relationship between expression of cell surface hydrophobicity protein 1 (CSH1p) and surface hydrophobicity properties of *Candida dubliniensis*. Curr Microbiol. 2004; 48: 447 - 51.
27. Hazen K. C: Participation of yeast cell surface hydrophobicity in adherence of *Candida albicans* to human epithelial cells. Infect Immun. 1989; 57: 1894 -1900.
28. Masuoka J, Hazen K. C. Cell wall mannan and cell surface hydrophobicity in *Candida albicans* serotype A and b strains. Infect Immun. 2004, 72: 6230-36.
29. Heath IB. The Cytoskeleton. In: Gow NAR, Gadd GM.(Eds).The Growing Fungus. pp 95 - 96, London Chapman and Hall.1995.
30. Ghannoum MA. Mechanism potentiating the *Candida* infection. Mycoses. 1988; 31: 543 - 557.
31. Luo G, Samaranayake LP, Yau JY. *Candida species* exhibit differential in vitro hemolytic activities. J Clin Microbiol. 2001; 39: 2971 -74.
32. Mardegan R., Foglio M. A., Gonçalves R. B., Hofling J. F.: *Candida albicans* proteinases. Braz. J. Oral Sci. 2006; 5 : 944 -52.
33. Ray TL, Payne CD. Comparative Production and Rapid Purification of *Candida* acid proteinase from protein-supplemented cultures. Infect Immun. 1990, 58 : 508 -14.
34. Schaller M, Borelli C, Korting H, Hube B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. Mycoses 2005, 48: 365 -77.
35. Haynes K. Virulence in *Candida* species. Trends Microbiol. 2001; 9 : 591-96.
36. Naglik JR, Chalacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase in virulence and pathogenesis. Microbiol Rev.2003;67: 400 – 428.

37. Skrbec VL, Birman EG, Cury AE, Paula CR. Yeasts from the oral activity of children with AIDS: exoenzyme production and antifungal resistance. *Peçui Odontol Bras.* 2003; 17:217-22.
38. Agatensi L, Franchi F, Mondello F, Bevilacqua RL, Ceddia T, Bernardis F, Cassone A. Vaginopathic and proteolytic *Candida species* in outpatients attending a gynecology clinic. *J Clin Pathol.* 1991; 44: 826 -30.
39. Bernardis F, Lorenzini R, Verrichio R, Agatensi L, Cassone A. Isolation acid proteinase secretion and experimental pathogenicity of *Candida parapsilosis* from outpatients with vaginitis. *J Clin Microbiol.* 1989; 27: 2598 -03.
40. Bernardis F, Sullivan PA, Cassone A. Aspartyl proteinases of *Candida albicans* and their role in pathogenicity. *Med Mycol.* 2001;39:303 -13.
41. Dostal J, Hamal P, Pavlickova L, Soucek M, Rumi T, Pichova I, Hruskova O. Simple method for screening *Candida species* isolates for the presence of secreted proteinases: a tool for the predication of successful inhibitory treatment. *J Clin Microbiol.* 2003;41:712-16.
42. Hube B, Naglik J. *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. *Microbiology.* 2001;147:1997- 2005.
43. Hogan LH, Klein BS, Levitz SM. Virulence factors of medically Important fungi. *Clin Microbiol Rev.* 1996; 9: 469 – 88.
44. Yücesoy M, Yuluğ N. *Candida* türlerinde fosfolipaz aktivitesinin araştırılması. *İnfek Derg.* 1999; 13: 569 - 74.
45. Ibrahim 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 *Candida albicans*. *Infect Immun.* 1995; 63: 1993 - 98.
46. Monod M, Capoccia B, Lechenne B, Zaugg C, Holdom N. Secreted proteases from pathogenic fungi. *Int J Med Microbiol.* 2002; 292: 405 -19.
47. Rudek W. : Esterase activity in *Candida species*. *J Clin Microbiol.* 1978, 8: 756 -59.

48. Stehr F, Felk A, Kretschmar M, Schaller M, Schafer W, Hube B. Extracellular hydrolytic enzymes and their relevance during *Candida albicans* infections. *Mycoses*. 2000; 43:17- 21.
49. Açıkgöz ZC. Biyofilmler. *Mikrobiyol Bült*. 1997, 31: 299 -310.
50. Hilmioğlu S, İlkit M, Çavuşoğlu C, Aydemir Ş. *Candida türleri* 'nde slime üretiminin saptanması için modifiye bir yöntem. TMC Yayınları, No:36, sf:2811. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi İzmir,1999.
51. Hawser SP, Douglas J. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infect Immun*. 1994, 62: 915 -21.
52. Paul L, Sobel JD. Host defense against vaginal candidiasis. Ed: Calderone RA, *Candida and Candidiasis*. pp.193 - 211, ASM Press, Washington DC,2002.
53. Nomanbhoy F, Steele C, Yano J, Fidel PL. Vaginal and oral epithelial cell: Anti-*Candida* activity. *Infect Immun*. 2002;70: 7081-88.
54. Naglik JR, Rodgers CA, Shirlaw PJ, Dobbie JL, Naglik LF, Greenspan D, Agabian N, Challacombe SJ. Differential expression of *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase and phospholipase B genes in humans correlates with active oral and vaginal infections. *J Infect Dis*. 2003;188: 469 -79.
55. Usluer G. Vajinal Enfeksiyonlar Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). "İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Cilt 1" kitabında s.1519 -1522, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2008.
56. York MK, Hillier SL. Genital Cultures. In: Isenberg HD. (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd Ed. Section 3.9.1, 2004.
57. Bochmann GA, Burd ID, Ebert GA. Menopausal sexuality. pp.1214-36 in RA Lobo, J Kelsey, R Morcus (eds), *Menopause, Biology and Pathobiology* Academic Press, San Diego, 2000.
58. McKinlay SM. The normal menopause transition. *Maturitas*. 1992 14:103 - 06.
59. Sobel JD. Pathogenesis and treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Infect Dis*. 1992;14:148 -53.

60. Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. Am J Obstet Gynecol. 1985; 152: 924 -35.
61. Kent HL. Epidemiology of vaginitis. Am J Obstet Gynecol. 1991;165: 1168 -76
62. McCue JD. Evaluation and management of vaginitis. Arch Intern Med. 1989; 149: 565 - 8.
63. Spimillo A, Pizzoli G, Colonna L, Nicola S. Epidemiologic characteristics of women with idiopathic recurrent vulvovaginal candidiasis. Obstet Gynecol. 1993; 81:721 -27.
64. Morton RS, Rashid S. Candidal vaginitis: Natural history, predisposing factors and prevention. Proc R Soc Med. 1977; 70 : 3 - 6.
65. Witkin SS, Jeremias J, Ledger WJ. Vaginal eosinophils and IgE antibodies to *Candida albicans* in women with recurrent vaginitis. J Med Vet Mycol. 1989; 27: 67-8.
66. Edman J, Sobel JD, Taylor ML. Zinc status in women with recurrent vulvovaginal candidiasis. Am J Obstet Gynecol. 1986; 155: 1082 - 5.
67. Bernardis FD, Agatensi L, Ross Ian K, Emerson G. Evidence for a role for secreted aspartate proteinase of *Candida albicans* in vulvovaginal candidiasis. J Infect Dis. 1990; 161: 1276 – 83.
68. Kaufman RH. Establishing a correct diagnosis of vulvovaginal infection. Am J Obstet Gynecol. 1988; 158: 986 -88.
69. Ruchel R, Tegeler R, Trost M. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. Sabouraudia. 1982; 20:233-44.
70. Cassone A, Bernardis F, Mondello F. Evidence for a correlation between proteinase secretion and vulvovaginal candidiosis. J Infect Dis. 1987;156:777-83.
71. Çerikçioğlu N, Alaçam R. *Kandida* suşlarında salgısal asit proteinaz enzim varlığının proteinli agar besiyerlerinde gösterilmesi. Mikrobiyol Bült. 1993; 27: 344 -51.
72. Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO. Plate detection method for detection of phospholipases activity in *Candida albicans*. Sabouraudia.1982; 20:7-14.

- 73.Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. Infect Immun. 1982;37:318 - 321.
- 74.Fındık D, Arslan S.Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. İnfek Derg. 2003;17(4):471- 81.
- 75.Ozcan SK, Budak F, Yucesoy G, Susever S, Willke A. Prevalance, susceptibility profile and proteinase production of yeasts causing vulvovaginitis in Turkish women. APMIS. 2006; 114:139 - 45.
- 76.Erdeniz H, Gürler B. *Candida albicans* suşlarının proteinaz aktivitesi ile vulvovajinal kandidoz arasındaki ilişkinin araştırılması. İnfek Derg. 1998; 12: 389-92.
- 77.Al-Hedaihty SS. Spectrum and proteinase production of yeasts causing vaginitis in Saudi Arabian women. Med Sci Monit. 2002; 8: 498 - 501.
- 78.Arıkan S, Sancak B, Haşçelik G, Günalp A. *Candida albicans* izolatlarında fosfolipaz aktivitesinin saptanması. Flora. 1998; 3: 240 - 3.
- 79.Orhan H, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Tünger Ö, Sivrel Arısoy A. Enfeksiyon etkeni olan *Candida albicans* suşlarında slime üretimi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1998; 28:103 -106.
- 80.Karaca N, Koç AN, Karagöz S. Kan ve vajen örneklerinden izole edilen *Candida* türleri'nin Slime aktiviteleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2001; 31: 224 - 6.