



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA*
TÜRLERİNİN VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Gülşen ÇETİN

Danışman
Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ

SAMSUN
2023

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA*
TÜRLERİNİN VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Gülşen ÇETİN

Danışman

Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.21.019 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Gülşen ÇETİN tarafından, Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ danışmanlığında hazırlanan “KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TÜRLERİNİN VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 10.3.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜR VURAL Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Ayşe Esin AKTAŞ Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒

Hayır ☐

06 / 01 / 2023
Gülşen ÇETİN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TURLERİNİN VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 06.01.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 11

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

06 / 01 / 2023
Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ

ÖZET

KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TÜRLERİNİN VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gülşen ÇETİN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Şubat/2023
Danışman: Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ

Candida türleri, deri ve mukoza florasının normal üyesi olan ancak cilt ve mukoza bütünlüğünün bozulmasıyla yüzeysel ve invaziv enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı fungal patojenlerdir. *Candida* türlerinin en önemli virülans faktörleri arasında hif oluşumu, dimorfizm, hidrolitik enzimler ve biyofilm oluşumu gibi faktörlerin olduğu görülmektedir. Çalışmamızda kan kültürü örneklerinden izole edilen *Candida* izolatlarının asit proteinaz, fosfolipaz, esteraz aktiviteleri ve biyofilm oluşumlarının araştırılması amaçlanmaktadır.

Çalışmaya çeşitli servislerden gönderilen kan kültürü örneklerinden izole edilen 90 *Candida* izolatı dâhil edilmiştir. İzolatların identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ve otomatize sistemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen izolatların asit proteinaz aktiviteleri %1'lik sığır serum albümin çözeltisi agar besiyeri, fosfolipaz aktiviteleri yumurta sarılı agar besiyeri, esteraz aktiviteleri Tween 80'li agar besiyeri kullanılarak plaka yöntemiyle çalışılmış ve her bir izolat pozitif standart suşu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. İzolatların biyofilm oluşturma yetenekleri ise mikrotitrasyon plak yöntemiyle çalışılmış ve elde edilen absorbans değerleri, standart suşların absorbans değerleri ile karşılaştırılarak kantitatif olarak derecelendirilmiştir.

Çalışılan izolatların 35 (%38,8)'i *C. albicans*, 29 (%32,2)'u *C. parapsilosis*, 17 (%18,9)'si *C. glabrata*, 6 (%6,7)'sı *C. krusei*, 3 (%3,4)'ü *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır.

Enzimatik aktivitesi araştırılan 35 *C. albicans* izolatının 35 (%100)'ünün proteinaz, 29 (%82,8)'ünün fosfolipaz, 33 (%94,2)'ünün esteraz aktivitesi olduğu gözlemlenmiştir. Non-*albicans* izolatlarının (n:55) ise 54 (%98)'ünün proteinaz, 8 (%14,5)'inin esteraz aktivitesinin olduğu, fosfolipaz aktivitesinin olmadığı belirlenmiştir.

Biyofilm oluşturma yetenekleri araştırılan 35 *C. albicans* izolatının 4 (%11,4)'ünün zayıf, 1 (%2,8)'inin orta derece biyofilm oluşturduğu gözlemlenmiştir. Non-*albicans* izolatlarının (n:55) ise 7 (%12,7)'sinin zayıf, 2 (%3,6)'sinin orta, 16 (%29)'sının güçlü derece biyofilm oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamıza dâhil ettiğimiz *C. albicans* izolatlarının fosfolipaz ve esteraz aktivitesinin non-*albicans*'lara oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Non-*albicans* izolatlarının ise *C. albicans*'lara göre yüksek derece biyofilm oluşturduğu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Candida* türleri, Proteinaz, Fosfolipaz, Esteraz, Biyofilm

ABSTRACT

INVESTIGATION OF VIRULANCE FACTORS OF *CANDIDA* SPECIES FROM THE BLOOD CULTURES

Gülşen ÇETİN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Microbiology

Master, February/2023

Supervisor: Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ

Candida species are opportunistic fungal pathogens that are normal members of the skin and mucosal flora, but can cause superficial and invasive infections with disruption of skin and mucosal integrity. It is seen that the most important virulence factors of *Candida* species are hyphae formation, dimorphism, hydrolytic enzymes and biofilm formation. In our study, it is aimed to investigate acid proteinase, phospholipase, esterase activities and biofilm formation of *Candida* isolates isolated from blood culture samples.

In the study were included 90 *Candida* isolates isolated from blood culture samples sent from various services. Identification of the isolates was carried out using conventional methods and automated systems. The acid proteinase groups of the isolates included in the study were studied using 1% bovine serum albumin thawed agar medium, phospholipase weights were studied on egg yolk agar medium, esterase operations were studied using the plate method using Tween 80 agar medium and each isolate was evaluated by comparing it with a positive standard strain. The biofilm forming abilities of the isolates were studied with the microtitration plate method and the absorbance values obtained were quantitatively graded by comparing the absorbance values of the standard strains.

Of the studied isolates, 35 (38.8%) were *C. albicans*, 29 (32.2%) were *C. parapsilosis*, 17 (18.9%) were *C. glabrata*, 6 (6.7%) were *C. krusei* and 3 (3.4%) were identified as *C. tropicalis*.

It was observed that 35 (100%) of the 35 *C. albicans* isolates whose enzymatic activities were investigated had proteinase activity, 29 (82.8%) had phospholipase activity, and 33 (94.2%) had esterase activity. It was determined that 54 (98%) of the non-*albicans* isolates (n:55) had proteinase activity, 8 (14.5%) had esterase activity and had no phospholipase activity.

It was observed that 4 (11.4%) of 35 *C. albicans* isolates, whose biofilm forming abilities were investigated, formed a weak biofilm and 1 (2.8%) formed a moderate biofilm. It was observed that 7 (12.7%) of the non-*albicans* isolates (n:55) formed weak biofilms, 2 (3.6%) moderate biofilms, and 16 (29%) strong biofilms.

As a result, it was observed that the phospholipase and esterase activities of *C. albicans* isolates included in our study were higher than non-*albicans*. It was determined that non-*albicans* isolates formed a higher degree of biofilm compared to *C. albicans*.

Keywords: *Candida* species, Proteinase, Phospholipase, Esterase, Biofilm

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi, tecrübe ve desteğini esirgemeyen, tez çalışmam süresince beni yönlendiren, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım saygıdeğer hocam Sn. Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ'ye en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Araştırmalarım boyunca her zaman bilgi, ilgi ve yardımseverliğiyle desteğini gördüğüm ve her zaman rehberliğine başvurduğum değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜR VURAL'a, bilimsel fikir ve düşünceleri ile bana her konuda yardımcı olan Doç. Dr. Kemal BİLGİN ve Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI'ya çok teşekkür ederim.

Eğitimim süresince her anımda yanımda olan ve varlıklarıyla beni motive eden başta Dr. Elif ATEŞ, Arş. Gör. Kübra HACIEMİNOĞLU ÜLKER, Arş. Gör. İlknur BIYIK, Dr. Sare KAYA DAŞTAN, Dr. M. S. Emre DAŞTAN olmak üzere Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistanlarına ve tüm laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatta attığım her adımda arkamda olan, maddi manevi desteklerini esirgemeyen, düşmekten korkmamayı ve her defasında tekrar ayağa kalkmayı öğreten annem Nuriye ÇETİN, babam İlhami ÇETİN, kardeşim Emre ÇETİN ve ablam Gülşah ÇETİN KANMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından PYO.TIP.1904.21.019 proje numarası ile desteklenmiştir.

Gülşen ÇETİN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1. <i>Candida</i> Türlerinin Genel Özellikleri	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. <i>Candida</i> Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	3
2.1.3. Biyokimyasal Özellikleri	4
2.1.4. Hücre yapısı	4
2.1.4.1. Hücre iskeleti	4
2.1.4.2. Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı	5
2.1.4.3. Hücre Membranı	5
2.2. Virülans Faktörleri	5
2.2.1. Konak Hücre Yüzeyine Adezyon	6
2.2.2. Maya-Hif Dimorfizmi	7
2.2.3. Fenotipik Değişim.....	7
2.2.4. Salgısal Asit Proteinazlar (SAP)	8
2.2.5. Fosfolipazlar	8
2.2.6. Esteraz.....	9
2.2.7. Biyofilm	10
2.3. <i>Candida</i> Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonlar	12
2.3.1. Yüzeyel <i>Candida</i> Enfeksiyonları	12
2.3.2. İnvaziv <i>Candida</i> Enfeksiyonları	12
2.4. Tedavide Kullanılan Antifungal İlaçlar	12
2.4.1. Poliyenler	13
2.4.2. Azoller.....	13
2.4.3. Ekinokandinler	14
2.4.4. Nükleozit analogları.....	14

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Çalışmaya Dâhil Edilen İzolatlar	15
3.1.2. Çalışmaya Dâhil Edilen Hazır Besiyerleri	15
3.1.3. Çalışmaya Dâhil Edilen Kimyasallar	15
3.1.4. Çalışmaya Dâhil Edilen Gereçler	16
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. İzolasyon ve İdentifikasyon	17
3.2.1.1. Primer İzolasyon	17
3.2.1.2. İdentifikasyon	17
3.2.2. Virülans Faktörlerinin Test Edilmesi.....	20
3.2.2.1. Asit Proteinaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	20
3.2.2.2. Fosfolipaz Aktivitesinin Belirlenmesi	21
3.2.2.3. Esteraz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	23
3.2.2.4. Biyofilm Aktivitesinin Belirlenmesi	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	25
4.1. <i>Candida</i> Türlerinin Tür ve Servis Dağılımı	25
4.2. <i>Candida</i> Türlerinin Virülans Faktörleri	27
4.2.1. <i>Candida</i> Türlerinin Asit Proteinaz Aktiviteleri.....	28
4.2.2. <i>Candida</i> Türlerinin Fosfolipaz Aktiviteleri	30
4.2.3. <i>Candida</i> Türlerinin Esteraz Aktiviteleri.....	32
4.2.4. <i>Candida</i> Türlerinin Biyofilm Aktiviteleri	34
5. SONUÇ	39
KAYNAKLAR	40
EKLER	44
Ek -1: Etik Kurul Onay Formu	44
ÖZ GEÇMİŞ.....	45

SİMGELER VE KISALTMALAR

SDA	: Sabouraud Dekstroz Agar
PDA	: Patates Dekstroz Agar
EMB	: Eosin Metilen-Blue Agar
YEPD	: Yeast Extract Peptone Dextrose
SB	: Sabouraud Broth
SAP	: Salgısal Asit Proteinaz
EPM	: Ekstrasellüler Polimerik Matriks
QS	: Quorum Sensing
Pz	: Presipitasyon Zonu
OD	: Optik Dansite
KOD	: Kontrol Optik Dansite
MBOD	: Mikroorganizma Biyofilmi Optik Dansitesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Candida albicans</i> germ tüp oluşumu.....	18
Şekil 3.2. Pirinç-Tween 80 agar'da <i>Candida</i> türlerinin morfolojik görüntüsü a: <i>C. albicans</i> , b: <i>C. albicans</i> klamidospor, c: <i>C. krusei</i> , d: <i>C. parapsilosis</i> , e: <i>C. tropicalis</i> , f: <i>C. glabrata</i>	19
Şekil 3.3. Kromojenik agar besiyerinde <i>Candida</i> türlerinin renk oluşumları a: <i>C. albicans</i> , b: <i>C. glabrata</i> , c: <i>C. krusei</i> d: <i>C. tropicalis</i> e: <i>C. parapsilosis</i>	20
Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen suşların tür dağılım grafiği.....	26
Şekil 4.2. Asit proteinaz aktivitesi pozitif ve negatif olan suşların sığır serum albümin çözültü besiyerindeki görüntüsü a: Negatif suş, b: Pozitif suş	30
Şekil 4.3. Fosfolipaz aktivitesi pozitif ve negatif olan suşların yumurta sarılı besiyerindeki görüntüsü a: Pozitif suş, b: Negatif suş, c: Negatif suş	32
Şekil 4.4. Esteraz aktivitesi pozitif ve negatif olan suşların Tween 80'li besiyerindeki görüntüsü a: Pozitif suş, b: Pozitif suş, c: Negatif suş.....	33
Şekil 4.5. Mikrotitrasyon plak görüntüsü a: Negatif kontrol b: Pozitif kontrol.....	36

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. <i>Candida</i> cinsinin taksonomisi.....	3
Tablo 2.2. Bazı <i>Candida</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri.....	4
Tablo 3.1. Biyofilm formasyon aktivitelerinin belirlenmesi.....	24
Tablo 4.1. Çalışmaya dahil edilen suşların servislere göre dağılımı.....	27
Tablo 4.2. <i>Candida</i> türlerinin asit proteinaz, fosfolipaz, esteraz aktivitelerinin oranları.....	34
Tablo 4.3. <i>Candida</i> türlerinin biyofilm oluşum oranları.....	36
Tablo 4.4. <i>Candida</i> türlerinin virülans faktörleri aktivite testlerinin sonuçları	37



1. GİRİŞ

Candida türleri, yüzeysel ve invaziv enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı fungal patojenlerdir. Bu organizmalar doğumdan kısa bir süre sonra yenidoğanın normal deri ve mukoza florasındaki yerlerini almaktadırlar (Pappas et al., 2018; Limon et al., 2017). Ayrıca su, toprak ve havada da yaygın olarak bulunmaktadırlar. Konak defansı zayıflamış risk altında olan kişiler *Candida* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara duyarlıdırlar. Yüksek risk altındaki gruplar; kan, kemik iliği ve solid organ transplantasyonu yapılan hastalar, büyük cerrahi işlem geçirenler, kazanılmış immün yetmezlik sendromu (AIDS) olanlar, antineoplastik kemoterapi gören hastalar, immün süpresif tedavi uygulananlar, ileri yaşta kişiler ve prematüre doğanlardır (Cui et al., 2013; Ustaçelebi, 1999).

Candida türleri deri, mukoz membranlar ve gastrointestinal sistemin normal mikrobik flora üyesi olarak bulunduklarından enfeksiyonlarının çoğu endojen kaynaklıdır. Genellikle enfeksiyondan önce kolonize olan organizma sayısı artış göstererek, kolonizasyonu enfeksiyon izlemektedir (Pappas et al., 2018; Limon et al., 2017).

Kandidiyazis, yüzeysel ve derin enfeksiyonlar şeklinde klinik olarak adlandırılmaktadır. Yüzeysel kandidiyaz olgularında organizma yalancı hiflerle deri ve mukozadan doku içine girerek blastokonidyumlar ile dokuya yayılır (Nobile and Johnson, 2015). Derin veya sistemik kandidiyazlarda ise genellikle gastrointestinal kolonizasyonun ardında mukozayı geçerek kana ulaşan organizma, fagositik etkinliği yetersiz olan konağın organ veya sistemlerinde yayılım göstermektedir (Strickland and Shi, 2021). Hematolojik kanserli hastalarda kronik yayılmış kandidiyaz ve kemikler, kaslar, eklemler gibi diğer organlar veya bölgelerde yayılım gösteren enfeksiyonların genellikle teşhis edilememiş veya teşhisi gecikmiş bir kan dolaşımı enfeksiyonundan kaynaklandığı vurgulanmaktadır (McCarty et al., 2021).

Kandidiyaz olgularında *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* ve *C. dubliniensis* en sık izole edilen türlerdendir (Limon et al., 2017; Sriphannam et al., 2019). Non-*albicans Candida* enfeksiyonlarının artışındaki en önemli sebep profilaktik tedavide antifungallerin sık kullanılması ve özellikle azol türevi ilaçların kullanımının yaygınlaşması olduğu belirtilmektedir. Tedavi sürecinde flukonazolün yaygın kullanılması *C. krusei* ve *C. lusitaniae* gibi dirençli suşların

ortaya çıktığı bildirilmektedir (Wingard, 1994). Epidemiyolojideki değişiklikler ve hem triazollere hem de ekinokandinlere karşı dirençli suşların görülmesi tedavi sürecinin zorlaşmasına neden olmaktadır (Kullberg and Arendrup, 2015; Pristov and Ghannoum, 2019). Son zamanlarda antifungal ilaç seçeneklerindeki artışa rağmen mortalite oranlarının %33-75 arasında olduğu belirtilmektedir (Uzun and Anaissie, 2000). Retrospektif olarak yapılan bir çalışmada, invaziv kandidiyazlı hastalarda erken tanı ve antifungal tedavinin mortalite azalmasında yardımcı olacağı ifade edilmektedir (McCarty et al., 2021; Kullberg and Arendrup, 2015).

Son zamanlarda fungal enfeksiyonlardan sık izole edilen *Candida* türlerinin patogenezi anlamak amacıyla, türlerin patojenitesinde rol oynadığı düşünülen virülans faktörlerinin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmuştur. Yapılan çalışmalar enfeksiyonlarda birçok virülans faktörünün rol oynadığını göstermektedir (Kullberg and Arendrup, 2015). *Candida* türlerinin virülansında dimorfizm göstermesi, adezin, toksin, hidrolitik enzimler salgılaması ayrıca biyofilm ve hif oluşturmaları gibi özellikler önemli rol oynamaktadır (Ramage et al., 2005; Atalay vd., 2015).

Çalışmamızda çeşitli servislerden gönderilen kan kültürü örneklerinden izole edilen *Candida* izolatlarının asit proteinaz, fosfolipaz, esteraz enzimatik aktiviteleri ve biyofilm oluşturma yeteneklerinin fenotipik olarak belirlenmesi, belirlenen virülans faktörlerinin tür düzeyinde istatistiksel olarak değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. *Candida* Türlerinin Genel Özellikleri

2.1.1. Tarihçe

Mantarlara ait ilk kayıtlar M.Ö.4. yüzyılda Hippocrates ve Gallen'e kadar uzanmaktadır. Bu dönemde ağızdaki pamukçuk lezyonlarının *Candida* türlerine bağlı geliştiği Hippocrates ve Gallen tarafından bilinmemektedir. 1839'da Bernhard Rudolph Conrad von Langenbeck tifo sebebiyle ölen hastanın ağız lezyonlarından izole edilen mantar hücrelerini parazit olarak tanımlayarak tifüs etkeni olduğunu düşünmüştür. 1841'de Emil Berg tarafından ağızdaki pamukçuk lezyonlarının mantar sebebiyle geliştiği tespit edilmiştir. Maya taksonomisi "Algler, Mantarlar ve Bitkiler için Uluslararası Adlandırma Kodu (International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plants-ICN)" kurallarına göre düzenlenmektedir. *Candida* cinsinin taksonomisi Tablo 2.1'de gösterilmektedir (Tümbay, 2021).

Tablo 2.1. *Candida* cinsinin taksonomisi

Alem: Fungi
Şube: Ascomycota
Sınıf: Hemiascomycetes
Takım: Saccharomycetales
Aile: Saccharomycetaceae
Cins: <i>Candida</i>

2.1.2. *Candida* Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Candida türleri yuvarlak veya oval, tomurcuklanarak (blastokonidiyum veya blastosporlar) çoğalan 2.0-7.0 x 3.0-8.5 µm boyutlarında maya formunda funguslardır.

Sabouraud Dekstroz Agar (SDA), Kanlı Agar, Eosin Metilen-Blue (EMB) agar, Patates Dekstroz Agar (PDA), Mueller-Hinton Agar gibi rutin besiyerlerinde (pH:6.9) 25-37°C'de, 24-48 saatte, genellikle krem rengi, yumuşak kıvamlı, mat veya parlak 2-3 mm çaplı koloniler oluşturmaktadırlar. Kültürlerinde bazı türler fenotipik değişime uğrar, yalancı hif (psödohif) ve/veya gerçek hiflerden oluşan tüylü görünümde farklı

morfotipler de sergileyebilirler (Silva et al., 2012; Jawetz et al., 2010). Mısır unu-Tween 80'li agarda 25°C'de 72 saat inkübasyonun ardından gözlenen blastokonidyumlarının özelliklerine ve dizilimlerine göre değişen morfolojileri, türlerin tanımlanmasında yardımcı olmaktadır (Ustaçelebi, 1999).

Candida türleri doğum sırasında veya doğumdan kısa süre sonra yenidoğanın deri ve mukoza florasında yerlerini almaktadırlar (Ustaçelebi, 1999; Silva et al., 2012). Sağlıklı bireylerde *Candida* türlerinin gastrointestinal sistemde, deride ve kadınlarda genitoüriner sistemde asemptomatik olarak kolonizasyonu görülmektedir. Patojen *Candida* türleri ağız, vajina gibi dokular ve diş protezleri, venöz kataterler, idrar sondaları gibi kalıcı inert yüzeylerde kolonize olmaktadır (Limon et al., 2017; Schofield et al., 2005; Murray et al., 2016).

2.1.3. Biyokimyasal Özellikleri

Candida türleri, aerob ortamda, pH: 2-8 ve 20-40°C'de ürerler. Yüksek CO₂'li ortamda zayıf üreme gösterirler. Bütün türler nitratı asimile etmez ve glukozu fermente ederler. Kültürlerinde laktik asit, propionik asit, pirüvik asit, asetik asit ve etanol gibi son ürünler oluştururlar (Ustaçelebi, 1999). Bazı *Candida* türlerinin biyokimyasal özellikleri Tablo 2.2'de gösterilmektedir (Ustaçelebi, 1999).

Tablo 2.2. Bazı *Candida* türlerinin biyokimyasal özellikleri

Türler	Glukoz	Maltoz	Sukroz	Trehaloz	Galaktoz	Sellobiyoz	Ksiloz	Rafinoz	Laktoz	Dulcitol	Melibiyoz	Üreaz	NO ₃ -NO ₂
<i>C.albicans</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>C.parapsilosis</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>C.glabrata</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
<i>C.tropicalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

2.1.4. Hücre yapısı

2.1.4.1. Hücre iskeleti

Hücre iskeleti, turgor basıncına karşı koymaktadır. İskelet yapısındaki aktin, sitoplazmik akışkanlığı; miyozin ise organellerin hareketini sağlamaktadır.

Hücre yapısındaki Ca, Mg ve H iyonlarının yoğunluğu ve hücre içine giriş çıkışları, organel hareketinde ve hif uzamasında önemlidir. Ayrıca iyonlar mayoz ve mitoz bölünmede, tomurcuklanmada, septum oluşumunda, bazı enzimlerin düzenlenmesinde de önemlidir (Willke Topçu vd., 2017).

2.1.4.2. Hücre Duvarı ve Antijenik Yapı

Hücre duvarının hücreye şekil vermesi, ozmotik basınca karşı hücreyi koruması, madde alışveriş kontrolünü sağlaması, farklı yüzeylere tutunmada (adezyon) doğrudan görev alması ve yapısındaki immünolojik determinantlar virülansı arttıran özelliklerdir. Hücre duvarı yapısını %90 karbonhidratlar, %5-15 protein ve %2-5 lipidler oluşturmaktadır. Karbonhidratlar ise %20-30 mannoprotein (şekere bağlı proteinler), %50-60 glukan (fibriler ağ oluşumu), %0.6-9 kitin (hücre duvarı sertliğinden görevli) yapısını oluşturmaktadır. *C. albicans*'ın glukan ve mannan içeriği benzer olan maya ve hif formlarında, kitin miktarının hifal hücrelerde üç kat fazla olduğu saptanmıştır (Willke Topçu vd., 2017).

2.1.4.3. Hücre Membranı

Hücre membranı, taşıdığı ozmoenzimler aracılığıyla moleküllerin iç ve dış ortama kontrollü bir şekilde geçişini sağlamaktadır. Hücre membranı yapısında bulunan kitin sentetaz gibi enzimler ise hücre duvarı komponentlerinin sentezinde görev almaktadır. Ayrıca *C. albicans*'ın maya-hif dimorfizmi ve hif oluşturma gibi morfolojik değişikliklerinde görev alan fosfolipaz C, adenilat siklaz, proteinaz gibi enzimler hücre membranında bulunmaktadır. Diğer mantarlarda olduğu gibi, *Candida* türlerinin hücre membranı yapısında da bulunan sterol, membran lipidlerinin %20'sini oluşturmaktadır. Sterol yapısının %95'ini oluşturan ergosterol ise antifungal ilaçlar için önemli bir hedef durumundadır. Membran yarısında bulunan fosfolipidler ise fosfatidil etanolamin, fosfatidil kolin, fosfatidil inozitol, fosfatidil serin'dir (Willke Topçu vd., 2017).

2.2. Virülans Faktörleri

Candida türlerinin patojenitesi, konak hücre yüzeyine tutunma, proteazlar, fosfolipazlar, esterazlar, hemolizin gibi dokuya zarar veren enzimlerin üretimi ve biyofilm oluşumu gibi virülans faktörlerine bağlıdır (Silva et al., 2011).

2.2.1. Konak Hücre Yüzeyine Adezyon

Mikroorganizma ile konak ilişkisinde ilk adım mikroorganizmanın adeziv özelliğiyle gerçekleşmektedir. Adeziv özelliği en yüksek tür *C. albicans* olup, aynı tür içinde adezyon yeteneği farklı olan kökenler de bulunmaktadır. Maya hücresinin konak hücre yüzeyine tutunmasında konağa ait olan immünolojik faktörler ve hormonal durumların yanında, mantar hücresinin morfolojik yapısı, yüzey özellikleri, ortam pH ve ısı da önemlidir (Willke Topçu vd., 2017).

Hücre yüzeyinin hidrofobik özelliği

Mikroorganizmalar insan hücreleri gibi negatif yüzey potansiyeline sahiptir. Aynı yüzey potansiyeline sahip olan iki hücrenin birbirini çekmeleri, hidrofobik moleküllerin aracılığıyla mümkündür. Böylelikle mikroorganizma yüzeyinde bulunan ligandlar, konak mukoza hücresi yüzeyinde bulunan reseptörlere geri dönüşümsüz olarak bağlanmaktadır. Örneğin, hidrofobik moleküller olan hidrokarbonlar ve polar olmayan fenilalanin, metiyonin gibi organik maddeler, adezinlerle hücre yüzeyine tutunmayı desteklemektedir. Ayrıca yüksek galaktoz konsantrasyonunda üreyen maya ve hifal formlar, 25°C’de üreyenlere kıyasla hidrofobik özellikleri daha fazladır (Willke Topçu vd., 2017).

Yüzey adezinleri

Yüzey adezinleri, mantarların hücre duvarı ile bağlantılı olup, konak epitel ve endotel hücrelerine tutunmada görevli moleküllerdir.

iC3b reseptörü: Maya hücre yüzeyinde bulunarak ve mayanın nötrofiller tarafından fagositozunu engellemektedir.

C3d reseptörü: Plastik yüzeylere tutunmada görevlidir.

Östrojen reseptörü: Vajinal kolonizasyonu kolaylaştırmaktadır.

Mannoprotein reseptörleri: Yüksek galaktoz konsantrasyonunda artış göstermekte olup, konak epitel hücre yüzeyindeki fukozil veya glukozamil glikozidler ile bağlantı kurmaktadır. Konak ağız ve vajen epiteline tutunarak sonraki evrelerde oral ve vajinal kandidiyazise sebep olmaktadır.

Laminin reseptörü: *C. albicans*’ın germ tüp ve hif yapısında saptanmıştır. Aortik ve mikrovasküler endotelial hücre ligandlarına tutunmaktadır.

Fibrinojen bağlayan proteinler: *C. albicans*'ın germ tüp ve hif yapısında saptanmıştır. Böbrek ve üretal epitellere tutunmaktadır.

ALS, HWP1 ve INT-1 proteinleri: Maya hücresinin ağız mukozasına tutunmasında rol almaktadırlar (Willke Topçu vd., 2017; Richardson et al., 2019; Soll, 2008).

2.2.2. Maya-Hif Dimorfizmi

Özellikle *C. albicans* kökenlerinde görülen maya-hif dönüşümü kromozomal değişiklikler sonucu ortaya çıkmaktadır. Maya-hif dönüşüm süreci CO₂, pH (7.5-8.0), ısı (37°C), amino asitler ve N-asetil glukoz gibi faktörlerden etkilenen maya hücresinin membran reseptörleri tarafından hücre çekirdeğine gönderilen sinyal iletilmesi aracılığıyla başlamaktadır. Hücre içindeki cAMP, cGMP gibi bazı iyonların değişimiyle oluşan iyon akımı sonucu hifal uzamayı gerçekleştirecek olan germ tüp oluşmaktadır. Sinyalizasyonun zayıf, ısı ve pH'nın düşük olduğu durumlarda ise septum yapımı gecikir, iyon akımı olmaz ve tomurcuklanma gerçekleşmektedir (Willke Topçu vd., 2017). Hif formunun maya formuna kıyasla dokuya daha fazla yapışması ve plastik yüzeylere tutunmada fibriler tabaka oluşturması patogeneze ve virülanstaki önemini göstermektedir (Richardson et al., 2019). Ayrıca hif yapılarının makrofajlar tarafından fagositozu zordur, ancak nötrofiller blastosporları germ tüp ve hif yapılarına göre daha iyi fagosit etmektedirler (Silva et al., 2012).

2.2.3. Fenotipik Değişim

Fenotipik değişim özellikle *C. albicans* kökenlerinde fizyolojik koşullarla koloni morfolojisinde gözlemlenen farklılıklardır. Fenotipik değişim sonucu beyaz-opak değişim olarak adlandırılan ve beyaz renkli yuvarlak kabarık koloniler veya yassı, daha koyu renkli, opak koloniler oluşmaktadır. Opak koloni oluşumu gösteren kökenlerin beyazlara göre deride kolonize olma kapasitelerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca fenotipik değişim sonucu düzgün yüzeyli kökenlerden, tüysü, düzensiz gibi farklı formlara da değişim olmaktadır. *In vivo* koşullarda gerçekleşen bu değişimin fizyolojik koşullara hızlı adaptasyonu, antifungal ilaçlara direnç gelişiminde etkili olabileceği ve virülansta önemli olabileceği düşünülmektedir (Murray et al., 2016; Willke Topçu vd., 2017).

2.2.4. Salgısal Asit Proteinazlar (SAP)

Virülansta önemli olduğu düşünülen ekstrasellüler enzimlerden olan asit proteinazların asit pH (2.5-4)'da aktive olmasıyla salgısal asit proteinaz (SAP), yapısındaki aspartik asit rezidüleri dolayısıyla aspartil proteinaz, pepstatin A varlığında inhibe olmasıyla karboksil proteinaz gibi farklı isimlendirmeleri bulunmaktadır (Abad-Zapatero et al., 1996).

Patojen *Candida* türleri tarafından salgılanan asit proteinazlar, konak dokunun immünoglobulinler, kompleman, laktoferrin, fibronektin, hemoglobin, albümin, kollajen, epidermal keratin gibi proteinlerini hidrolize etmektedirler. Böylelikle doku harabiyetine sebep olarak konak doku invazyonunu arttırmaktadırlar (Silva et al., 2012).

Yapılan çalışmalarda farklı pH değerlerinde SAP 1-10 genleri tarafından kodlanan, farklı molekül ağırlıklı asit proteinaz izoenzimleri eksprese edildiği saptanmıştır. SAP 1-8 genleri tarafından eksprese edilenler hücre dışına salgılananlar, SAP 9-10 genleri tarafından ise salgısal olmayan ve hücre yüzeyine bağlı olarak bulunan serin proteazlar olduğu gösterilmiştir (Sardi et al., 2013).

SAP enzim kontrolü maya formlarında SAP 1,2,3; hifal formlarında SAP 4,5,6 genleri tarafından yapılmaktadır. Mayadan hifal forma geçiş ve fenotipik değişim SAP gen ekspresyonu ile bağlantılıdır. Hifal hücreler tarafından eksprese edilen SAP 4-6, kolonizasyon ve doku invazyonunda rol almaktadır. SAP 8 ekspresyonu ise penetrasyonda görev almaktadır. SAP 9-10 genleri hem maya hem hif formundaki hücrelerde bulunmaktadır. Serin proteazların görevleri ise hücre duvarı bütünlüğünü korumak ve tomurcuklanmayla oluşan hücrelerin ana hücreden ayrılmasını sağlamaktır (Sardi et al., 2013). Serin proteazların ekspresyonunda görevli genler oral kandidiyazis olgularında saptanmış ve oral mukoza kolonizasyonunda görevli olabilecekleri düşünülmüştür (Portela et al., 2010).

2.2.5. Fosfolipazlar

İlk kez Costa (1968) tarafından *C. albicans*'ın fosfolipaz aktivitesi, yumurta sarısı ve lesitin içeren besiyerleri kullanılarak gösterilmiştir. Daha sonraki yıllarda bu enzimlerin tomurcuklanan hücrelerde hücre zarına yakın yerleşmiş olduğu, aktivitenin fosfolipaz A ve lizofosfolipaz enzimleriyle oluştuğu ve invazyondan sorumlu oldukları gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla fosfolipaz aktivitesinin non-

albicans Candida türlerinde de görüldüğü saptanmıştır. Ayrıca miçel formlarına göre maya formlarında ve kandan izole edilen *C. albicans* türlerinde fosfolipaz aktivitesinin yüksek olduğu görülmüştür (Silva et al., 2012; Willke Topçu vd., 2017; Barrett-Bee et al., 1985).

Hücre zarına bağlı veziküllerde bulunan fosfolipazlar konak hücre membranında bulunan gliserofosfolipidlerdeki bir veya daha fazla ester bağına hidrolize ederek membran bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır. Her enzim, hedefi olan spesifik ester bağına etkisine göre A, B, C, D olarak sınıflandırılmaktadır. Böylelikle fosfolipazlar, mikroorganizmanın konak hücre epitelyal hücrelerine adezyonunda ve invazyonunda görev alarak virülansa önemli katkı sağlamaktadırlar (Samaranayake et al., 2006).

2.2.6. Esteraz

İlk kez Rudek (1978) tarafından mayaların esteraz aktivitesi Tween 80 opasite testi ile saptanmıştır. Esteraz aktivitesinin fosfolipaz aktivitesinden farkı, karbon kaynağı olarak Tween 80 bulunan ortamdaki aktivitesiyle anlaşılmıştır (Yücesoy ve Marol, 2003).

Epidermisin stratum korneum tabakasındaki lipid yapısı yüksek miktarda monoaçilgliserol ve triaçilgliserollerden oluşturmaktadır. Triaçilgliserolden serbest yağ asitleri oluşturacak şekilde ester bağlarını hidrolize eden enzim ailesi lipazlar; uzun zincirli yağ asitlerine sahip ve suda eriyebilen monoesterler üzerinde hidrolitik etki gösteren enzim ailesi ise esterazlar olarak tanımlanmaktadır (Tsuboi et al., 1996). Esterazlar organik çözücü ortamda ester bağlarının oluşumunu, sulu ortamda ise bu bağların hidrolizini ve modifikasyonunu katalizleyen ekstrasellüler hidrolazlar olarak ifade edilmektedir. Patojenik mantarların lipolitik enzim salgılayabileceği düşüncesiyle yapılan araştırmalarda, farklı organizmalar için yapılan Tweens içeren ortamlarda *Candida albicans*'ın da hücre dışı esteraz salgıladığı görülmektedir (Tsuboi et al., 1996; Rudek et al., 1978; Calvo et al., 1991). Ekstrasellüler esteraz enziminin ısıya duyarlı ve maksimum aktivitesinin tek karbon kaynağı olan Tween içeren ortamda pH: 5.5'de olduğu belirtilmiştir (Rudek et al., 1978).

Tween opasite testinde *Candida* türleri tarafından salgılanan esteraz enzimi ile ortamdaki Tween'li substratların hidrolize edildiği ve yağ asitlerinin açığa çıktığı görülmektedir (Aktaş et al., 2002). Açığa çıkan yağ asitlerinin ortamdaki kalsiyum

tuzları ile birleşimi sonucu oluşan çözünmeyen kristaller, koloni çevresinde hale olarak gözlemlenmektedir. Esteraz aktivitesi sonucu açığa çıkan ve gözlemlenebilir hale oluşumuna neden olan opaklık için besiyerinde kalsiyum tuzlarına ihtiyaç olduğu belirtilmektedir (Slifkin, 2000). Farklı Tween bileşiklerinin kullanıldığı çalışmalar sonucunda Tween 85, 80 ve 60 içeren ortamlarda hücre büyümesi ve esteraz aktivitesinin daha belirgin olduğu sonucuna varılmıştır (Rudek et al., 1978).

Esteraz enziminin substratları arasında bulunan ve epidermisin stratum korneum tabakasında yer alan monoasilgliseroller, esteraz enzimi aktivitesi sonucu parçalanarak patojenin invazyonunu ve kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bununla birlikte patojenin üremesinde de görev aldığı belirtilmektedir (Slifkin, 2000).

2.2.7. Biyofilm

Tanımı ve yapısı

Biyofilm, biyotik veya abiyotik yüzeylere tutunan mikrobiyal hücrelerin kendi ürettikleri ekstrasellüler polimerik matriks (EPM) içinde gömülü ve birbirlerine de geri dönüşümsüz bağlanarak oluşturdukları kompleks yapılar olarak tanımlanabilir (Sardi et al., 2013). Biyofilm matriks bileşimi genel olarak yüksek miktarda su, karbonhidratlar, proteinler, fosfor, glikoz ve heksozaminlerden oluşmaktadır. Biyofilm yapısının ve matriks kompozisyonunun araştırıldığı çalışmalarda, matriks bileşiminin türler ve aynı tür içinde farklı izolatlar arasında farklılık gösterdiği görülmektedir.

Candida türlerinin yüzeyel ve sistemik enfeksiyonlarda biyofilm oluşturma yetenekleri önemli virülans faktörüdür. Biyofilm oluşumunun görüldüğü enfeksiyonlara neden olan en önemli türleri *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*'tir.

Biyofilm içindeki mikroorganizmalar planktonik olanlara kıyasla daha yavaş üreme ve daha farklı davranış şekli göstermektedir. Ayrıca farklı *Candida* türlerinin biyofilm oluşturma kapasiteleri de çeşitlilik göstermektedir (Pereira et al., 2021).

Biyofilm, mikroorganizmalar için koruyucu bir yapı olup, mikroorganizmanın antimikrobik ilaçlara ve opsonizasyon, fagositoz, kemotaksis gibi konak savunma mekanizmalarına karşı direnç geliştirmesine sebep olmaktadır (Pereira et al., 2021).

Candida türlerinde biyofilm gelişimini yumuşak biyolojik yüzeyler ve ortamdaki glukoz varlığı hızlandırmaktadır. Yüzeyin kimyasal yapısı da biyofilm

oluşum hızını etkilemektedir. Poliüretan, PVC gibi yüzeylere kıyasla lateks yüzeylerde daha fazla ve hızlı biyofilm oluşumu görülmektedir (Rupert and Rusche, 2022).

Biyofilm oluşum basamakları

Mikroorganizmanın yüzeye tutunması

Mikroorganizma ve yüzey arasında geri dönüşümlü olarak aderans başlangıcı hem özgün olmayan (hücre yüzey hidrofobikliği ve elektrostatik kuvvetler) hem de serum proteinleri gibi ligand-reseptör etkileşimi sonucu gerçekleşmektedir (Pereira et al., 2021).

Mikroorganizmanın geri dönüşümsüz tutunması

Konak proteinleri; fibrinojen, kollajen, fibronektin, laminin gibi makromoleküller tarafından oluşturulan film tabakası biyofilm oluşumunda blastosporların yabancı materyale aderansını arttırmaktadır (Qin et al., 2010). Yüzeye tutunan hücreler, *EAP1* üyeleri ve *ALS* gen ailesi tarafından kodlanan hücre yüzey proteinlerinin uyarılmasıyla ekzopolisakkarid ekspresyonunu başlatmaktadır (Silva et al., 2012). Ekzopolisakkaritler, geri dönüşümsüz olarak sıkı bir bağlanma gerçekleştirirler. Makromoleküllerin oluşturduğu katmanı kaplayan ekzopolisakkaritler slime tabakasını oluştururlar (Pereira et al., 2021).

Kolonizasyon ve olgun biyofilm oluşumu

Slime tabakası (glikokaliks) içinde bulunan mikroorganizmalar çoğalmaya ve ekstrasellüler matriks salgılamaya devam ederek biyofilm tabakasını oluşturmaktadırlar (Pereira et al., 2021). Ekstrasellüler matriks polimerlerinin %40'ı glukoz ve heksozamin, %5'i proteinler, düşük miktarda ise fosfat, üronik asitten oluşmaktadır (Sardi et al., 2013; Silva et al., 2009).

Biyofilm hücrelerinin dağılması

Biyofilm tabakasını oluşturan hücreler üst kısımlardan koparak farklı bölgelerde biyofilm oluşum sürecini başlatabilirler (Ramage et al., 2005; Silva et al., 2009).

Bakterilerde olduğu gibi mantarlarda da Quorum Sensing (QS), hücreler arası sinyalleşme aracılığıyla biyofilm oluşumu gibi topluluk etkileşimi sağlanmaktadır. Bu konuda daha çok maya ile hif dönüşüm sürecinin önemli olduğu, fırsatçı patojen ve dimorfik bir tür olan *C. albicans* ile çalışmalar yürütülmektedir. Hücre-hücre sinyal iletimi farnesol ve tirosol molekülleri tarafından sağlanmaktadır. Tirosol uygun koşullar sağlandığında germ tüp ve filament oluşumunu teşvik ederken, farnesol bu

durumu inhibe ederek biyofilm oluşumunda otoregülatör işlevi görmektedir (Pereira et al., 2021; Kruppa, 2009).

2.3. *Candida* Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonlar

2.3.1. Yüzeyel *Candida* Enfeksiyonları

- Oral kandidiyazis
- *Candida* özofajiti
- *Candida* vulvovajiniti ve balaniti
- Mukokutanöz kandidiyazis
- Onikomikoz (Murray et al., 2016; Murray et al., 2009)

2.3.2. İnvaziv *Candida* Enfeksiyonları

- Kandidemi
- Yaygın kandidiyazis (akut, kronik)
- Pulmoner kandidiyazis
- Gastrointestinal kandidiyazis
- MMS enfeksiyonları (menenjit, beyin apsesi, metastatik ensefalit)
- Kalp tutulumu (endokardit, perikardit)
- Trombofilebit
- Üriner sistem enfeksiyonları (renal kandidiyazis, alt üriner sistem enfeksiyonları)
- Osteomiyelit
- Göz tutulumu (endoftalmit, koryoretinit)
- Peritonit, intraabdominal apse (Murray et al., 2016; Murray et al., 2009)

2.4. Tedavide Kullanılan Antifungal İlaçlar

Mantarlar insan hücreleri gibi ökaryot yapıya sahip olduklarından fungal hücrelere uygun toksik etkili hedef bulmak zor olmaktadır. Konak hücrelerine zarar vermeden mantar hücrelerine selektif etki gösterecek antifungal ilaçlar geliştirilmiştir (Tümbay, 2021).

Antifungal ilaçlar dört başlık altında incelenmektedir. Bunlar; poliyenler, azoller, ekinokandinler, nükleozit analoglarıdır (Pereira et al., 2021).

2.4.1. Poliyenler

Streptomyces türlerinden izole edilerek elde edilen nistatin ve amfoterisin B, mantar hücresi membranındaki ergosterole bağlanarak, hücresel geçirgenliğin değişmesine neden olan porları oluşturmaktadırlar. Sonuç olarak sitozolik içeriğin dışarı sızmasıyla fungisidal etki göstermektedirler (Silva et al., 2012). Nistatin topikal tedavide, amfoterisin B ise sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır (Tümbay, 2021).

Bazı *C. lusitaniae* kökenlerinde intrinsek direnç görülmektedir. *C. lusitaniae*, *C. glabrata* ve *C. krusei* türlerinde ise amfoterisin B'ye sekonder dirençli kökenler saptanmıştır (Murray et al., 2009). Direnç gelişimi hücre membranı bileşeni olan ergosterolün sentezinde görevli ERG3 ve ERG6 genlerindeki mutasyonlar sonucunda gerçekleşmektedir. Böylelikle funguslar hücre membranındaki ergosterol içeriğini azatarak veya ergosterole bağlanma noktasını değiştirerek direnç geliştirmektedirler (Kanafani and Perfect, 2008).

2.4.2. Azoller

Azol ailesi, azol halkasındaki nitrojen içeriğine göre imidazoller (mikonazol, ekonazol, ketokonazol) ve triazoller (flukonazol, ikinci kuşak türevi olan vorikonazol, itrakonazol, hidroksillenmiş analogu olan posakonazol ve son zamanlarda geliştirilmiş olan isavukonazol, ravukonazol, albakonazol) olarak gruplandırılmışlardır. Azol grupları oral alınabildikleri ve daha az toksik oldukları için sistemik mantar enfeksiyonları tedavisinde tercih edilen amfoterisin B'nin yerini almaktadırlar. İmidazoller yüzeysel mikoz, triazoller ise sistemik mikoz tedavisinde tercih edilmektedir (Murray et al., 2009). Bu grup, mantar hücre membranı bileşeni olan ergosterol sentezinde görevli lanosterol 14- α demetilaz enzimini inhibe ederek etkili olmaktadır (Silva et al., 2012).

Flukonazol, birçok *Candida* türüne etki göstermektedir. Son yıllarda flukonazole karşı *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. auris*, *C. lusitaniae* gibi türlerde intrinsek direnç olguları artmaktadır. Ayrıca itrakonazol, katokonazol ve vorikonazole çapraz direnç de görülmektedir (Murray et al., 2016). Azol grupları için hedef olan 14- α -demetilaz enzimini kodlayan ERG11 geni nokta mutasyonları sonucu birçok direnç mekanizması ortaya çıkmaktadır. Bu gendeki mutasyonlar sonucu ilacın hedef bölgesinde afinite azalması ve azollerin MİK değerlerinde yükselme meydana gelmektedir. ERG11

geninin fazla ekspresyonu ise 14- α -demetilaz enziminin artışına ve ergosterol sentezinin devam etmesiyle ilacın etkisinin kaybolmasına sebep olmaktadır. Ayrıca ERG3 geni delesyonu sonucunda ERG3 geni tarafından kodlanan ergosterol sentezinde, 14- α -demetilaz enziminden önceki C5 sterol desaturaz enziminin inaktivasyonu sonucu ergosterol dışı sterollerin sentezlenmesiyle de azol direnci oluşabilmektedir (Kanafani and Perfect, 2008).

2.4.3. Ekinokandinler

Bu grupta kaspofungin, mikafungin ve anidulafungin lipopeptid antifulgaller bulunmaktadır. Ekinokandinler mantar hücre duvarı yapısında bulunan glukun sentezinde 1,3 β -D glukun (BDG) sentaz enzimini bloke etmesiyle mantar hücre duvar yapısı oluşumunu engelleyerek antifungal etki göstermektedir. Bu ilaçlar doğrudan mantar hücre duvarına etki etmesiyle hücrenin ozmotik lizisine neden olduğundan insan hücresine etkisi bulunmamaktadır (Silva et al., 2012).

Ekinokandinlerin hedefi olan 1,3 β -D glukun (BDG) sentaz enzimini kodlayan FKS1 ve 2 genlerindeki mutasyonlar sonucu enzim aminoasitlerinde değişiklikler oluşarak ekinokandinlere karşı sekonder direnç gelişmektedir (Kanafani and Perfect, 2008).

2.4.4. Nükleozit analogları

Pirimidin analogu olan flusitozin, sitozin permeazlar aracılığıyla mantar hücresine taşınmaktadır. Flusitozin; önce 5-florodeoksiüridine deamine, sonrasında ise 5-florodeoksiüridine fosforile olarak florlanmış nükleotid yapısıyla timidilat sentaz enziminin inhibisyonuyla DNA sentezini engellemektedir. Ayrıca tekrar fosforillenerek RNA yapısına katılmasıyla protein sentezi üzerinden de antifungal etkisini göstermektedir (Silva et al., 2012).

Flusitozine karşı sekonder direnç; sitozin permeazı kodlayan FCY2 genindeki, sitozin deaminazı kodlayan FCY1 genindeki veya urasil fosforibozil transferazı kodlayan FUR1 gen bölgesindeki nokta mutasyonları sonucu oluşmaktadır (Tümbay, 2021).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmaya Dâhil Edilen İzolatlar

Çalışmaya 2019-2020 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli servislerden gönderilen kan kültürü örneklerinden izole edilen ve *Candida* (n:90) türlerine ait olduğu saptanan izolatlar dâhil edilmiştir. Biyofilm aktivite testi için kontrol suşu *Candida albicans* ATCC 90028 kullanılmıştır. Asit proteinaz, fosfolipaz ve esteraz enzimatik aktivite testleri için kontrol suşu *Candida albicans* ATCC 10231 kullanılmıştır. Suşlar çalışılncaya kadar saklama besiyerinde -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Çalışmaya Dâhil Edilen Hazır Besiyerleri

- Pepton (TitanMedia)
- Yeast Extract (Merck)
- Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) (Neogen)
- Sabouraud Broth (SB) (Biolife)
- Agar (HiMedia)
- Kromojenik Agar (BES LAB)

3.1.3. Çalışmaya Dâhil Edilen Kimyasallar

- Sığır Serum Albumini Fraksiyon V (Sigma)
- Glikoz (Isolab)
- Kristal viyole (Sigma-Aldrich)
- Tween 80 (Merck)
- NaCl (Merck)
- CaCl₂ (Sigma-Aldrich)
- KH₂PO₄ (Merck)
- MgSO₄.7H₂O (Merck)
- CaCl₂.2H₂O (Sigma-Aldrich)
- C₆H₈O₇.H₂O (Merck)
- Na₂HPO₄.2H₂O (Merck)

3.1.4. Çalışmaya Dâhil Edilen Gereçler

- Buzdolabı
- Hassas Terazî
- Etüv
- Su banyosu
- Dondurucu
- Otoklav
- Pastör fırını
- ELISA reader optik okuyucu (Chromate Awareness Technology, ABD)
- VITEK-MS kütle spektrometrisi (bioMérieux, Fransa)
- Santrifüj
- McFarland Densitometre (Biosan)
- pH metre
- Vorteks karıştırıcı
- Işık Mikroskobu
- Tek kanallı otomatik pipet
- Çok kanallı otomatik pipet
- Cam tüpler
- Falkon tüp
- Plastik petri
- Cam petri
- Düz tabanlı polistren plak (96 kuyucuklu)
- Mezür
- Beher
- Cam balon
- Enjektör
- pH indikatör kağıdı
- Kâğıt diskler (Bioanalyse®)
- Eküvyon
- 0.2 µm'lik membran filtre

3.2. Yöntem

3.2.1. İzolasyon ve İdentifikasyon

3.2.1.1. Primer İzolasyon

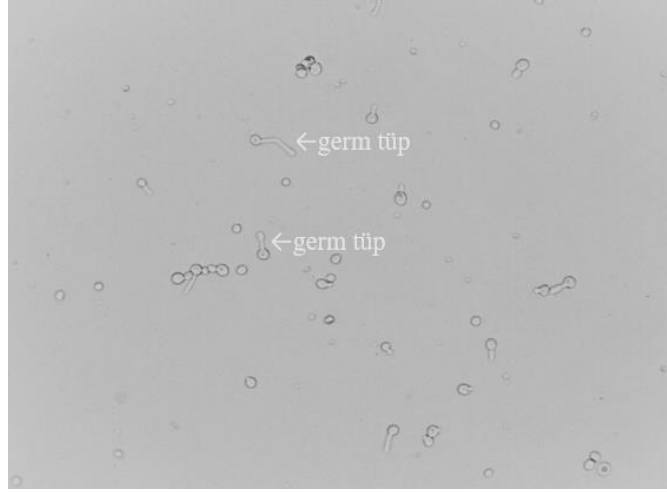
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2019-2020 yılları arasında çeşitli servislerden gönderilen kan kültür şişelerinden gram boyalı preparatlar hazırlanmıştır. Gram boyamada maya olarak tanımlanan örnekler (n:90) çalışmaya dâhil edilmiştir. Örnekler saflaştırılmak üzere SDA (Sabouraud Dekstroz Agar) besiyerine pasajı yapılarak 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Saf olduğu anlaşılan kültürlerin tür tanımlaması, makroskopik ve mikroskopik morfoloji incelemesi için germ tüp testi, kromojenik agar (BES LAB), Pirinç-Tween 80 agar ve VITEK-MS MALDI-TOF (bioMérieux, Fransa) sistemi kullanılmıştır.

3.2.1.2. İdentifikasyon

Germ Tüp Testi

SDA (Sabouraud Dekstroz Agar) besiyerinde üreyen her bir izolattan öze ile bir miktar maya kolonisi alınarak ayrı ayrı 0.5 ml insan serumu bulunan cam tüplerin içerisine süspanse edilmiştir. Maya kolonileri ile süspanse edilen serumlar 37°C'de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası süspanسیونlardan birer damla alınarak lam-lamel arasında ışık mikroskobu ile 40x objektifte incelenmiştir. Maya hücresinin eninin yarısı büyüklüğünde, boyunun 3-4 katı uzunluğunda, çıktığı noktada boğumlanma olmayan, septasız uzantılar germ tüp olarak değerlendirilmiştir. Germ tüp gözlemlenen maya hücrelerinin olduğu izolatlar *C. albicans*, germ tüp gözlemlenmeyen maya hücrelerinin olduğu izolatlar ise non-*albicans Candida* türleri olarak tanımlanmıştır (Ustaçelebi, 1999).

Şekil 3.1'de çalışmamızda ışık mikroskobu altında gözlemlediğimiz *C. albicans* türünün oluşturduğu germ tüp görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.1. *Candida albicans* germ tüp oluşumu

Pirinç-Tween 80 Besiyerinde Mikroskopik İnceleme

Pirinç-Tween 80 Besiyerinin Hazırlanışı

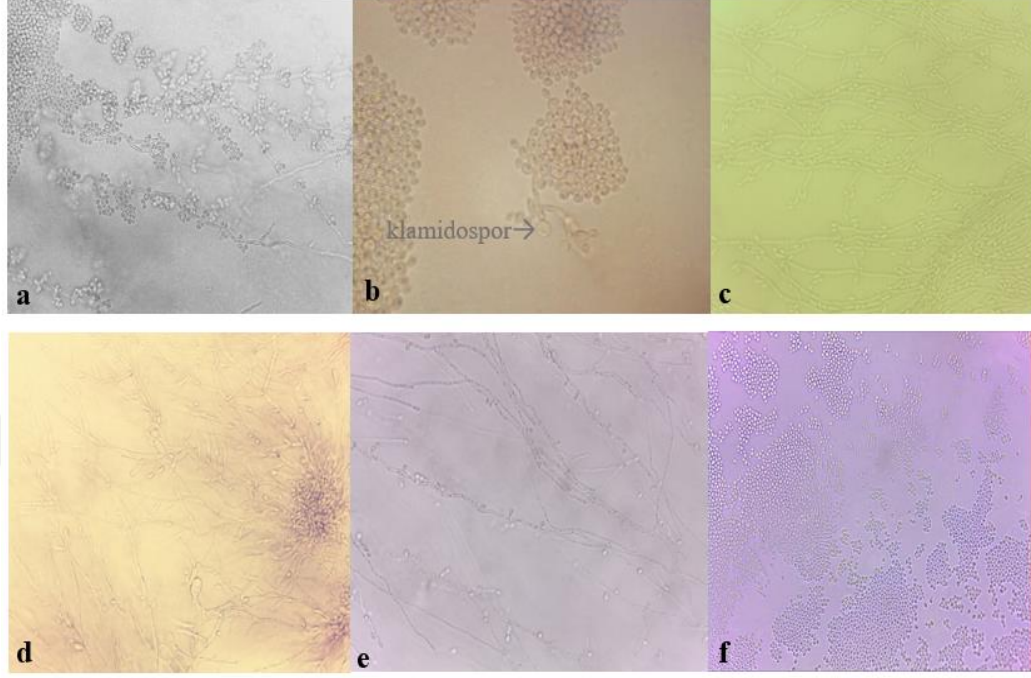
-Pirinç	25 gr
-Agar	10 gr
-Glikoz	10 gr
-Tween 80	5 ml
-Distile su	300 ml

Erlen içerisine alınan pirinç ve distile su karışımı kaynamaya bırakılmıştır. Kaynamanın başladığı andan itibaren pirincin distile suyu bulanıklaştırması gözleninceye kadar en az 2 dk kaynatılmıştır. Kaynama işlemi biten pirinçler steril gazlı bez yardımıyla süzölmüştür. Mezürde bulunan pirinç suyu, distile su ile 500 ml'ye tamamlanıp cam balona alınmıştır. Cam balon içerisine agar, glikoz, tween 80 eklenip 121°C'de 15 dakika sterilizasyonun ardından, hazırlanan Pirinç-Tween 80 besiyeri petrilere 20 ml hacminde dökölmüştür (Tümbay, 2021; Murray et al., 2009).

Deneyin Yapılışı

Hazırlanan Pirinç-Tween 80 agara, Dalmau tekniğı uygulanarak metal uçlu özeyle SDA'da üreyen maya kolonilerinden alınarak birbirine paralel üç çizgi şeklinde ekim yapılmıştır. Ekim çizgilerinin üzerine lamel kapatılarak 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası, Pirinç-Tween 80 agarda türler arasında morfolojik yapıları farklılık gösteren *Candida* türleri ışık mikroskobu ile 10x ve 40x objektifle gözlemlenmiştir (Tümbay, 2021).

Şekil 3.2’de çalışmamıza dâhil ettiğimiz *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve hif oluşumu gözlemlenmeyen *C. glabrata* türlerinin Pirinç-Tween 80 agar besiyerinde ışık mikroskobu altındaki görüntüsü verilmiştir.

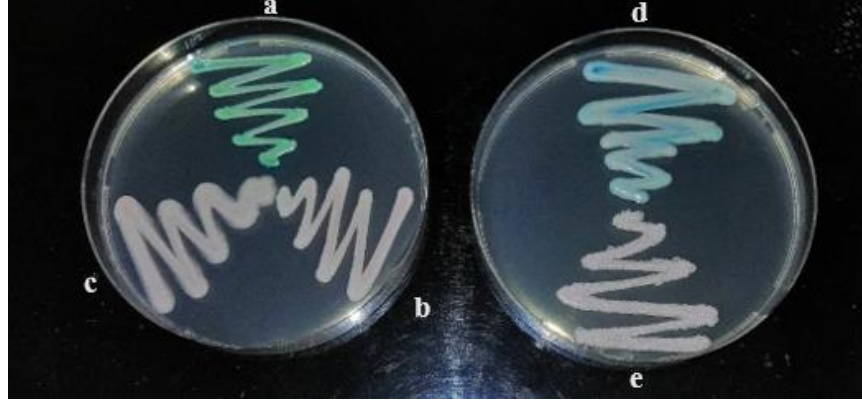


Şekil 3.2. Pirinç-Tween 80 agar'da *Candida* türlerinin morfolojik görüntüsü a: *C. albicans* b: *C. albicans* klamidospor c: *C. krusei* d: *C. parapsilosis* e: *C. tropicalis* f: *C. glabrata*

Kromojenik Besiyeri

Çalışmaya dâhil edilen izolatların tür tanımlanmasında bir başka yöntem olarak farklı renkli pigment oluşumlarının gözlemlendiği kromojenik besiyerleri kullanılmıştır. SDA’da üreyen maya kolonilerinden kromojenik agar besiyerine ekim yapılarak, 37°C’de 48-72 saat inkübasyon sonrası üreyen izolatların kromojenik agardaki renk değişimi, üretici firmanın tür tanımlama kriterlerine göre gözlemlenmiştir. Kromojenik agarda üretici firmanın önerileri doğrultusunda açık yeşil pigment veren koloniler *C. albicans*, bulanık ve eflatun pigment veren koloniler *C. krusei*, mavi pigment oluşturan koloniler ise *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır (Murray et al., 2016).

Şekil 3.3’te çalışmamıza dâhil ettiğimiz türlerin kromojenik agar besiyerindeki renk oluşumlarının görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.3. Kromojenik agar besiyerinde *Candida* türlerinin renk oluşumları a: *C. albicans* b: *C. glabrata* c: *C. krusei* d: *C. tropicalis* e: *C. parapsilosis*

Otomatize Sistem

SDA besiyerinde üremiş olan saf maya kolonilerinden alınarak tür düzeyinde tanımlama işlemi VITEK-MS MALDI-TOF (bioMérieux, Fransa) sistemi ile yapılmıştır.

3.2.2. Virülans Faktörlerinin Test Edilmesi

3.2.2.1. Asit Proteinaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Suşların salgısal asit proteinaz aktivitelerini belirlemek için sığır serum albüminli besiyeri hazırlanmış, modifiye plak yöntemi kullanılmıştır.

Sığır Serum Albüminli Besiyerinin Hazırlanışı

Temel besiyeri

-Glikoz	2 gr
-KH ₂ PO ₄	0.1 gr
-MgSO ₄ 7H ₂ O	0,05 gr
-Agar	2 gr
-Distile su	100 ml

Hazırlanan karışım otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilizasyonun ardından, pH’si 5 olacak şekilde ayarlanmıştır. 50°C’lik su banyosuna konulmuştur (Ray and Payne, 1990; Chakrabarti et al., 1991).

Sığır Serum Albümin Çözeltisi

-Sığır serum albümin fraksiyon V	1 gr
-Distile su	100 ml

Karışım cam balonda çözdürüldükten sonra 50°C'lik su banyosuna konulmuştur. 0.2 µm'lik membran filtre ile steril edilerek, temel besiyerine %20 oranında ilave edilmiştir.

Hazırlanan sığır serum albüminli besiyeri cam petrilere 20 ml hacminde dökülmüştür (Ray and Payne, 1990).

YEPD (Yeast Ekstrat Pepton Dekstroz) Buyyon

-Yeast ekstrat	1 gr
-Pepton	2 gr
-Dekstroz	2 gr
-Distile su	100 ml

Karışımın otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilizasyonu yapılmıştır (Chakrabarti et al., 1991).

Deneyin Yapılışı

SDA'da 37°C'de 24-48 saat inkübasyonun ardından üretilen maya kolonileri, cam tüplere alınan YEPD buyyonda 30°C'de 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası maya konsatrasyonu SF ile McFarland 0.5' e ayarlanarak 10 µl alınmış ve sığır serum albümin çözeltisi besiyerine yerleştirilmiş steril kağıt disklere damlatılmıştır. Hazırlanan petrilere 30°C'de inkübasyona bırakılarak besiyerindeki koloni çevresinde oluşan proteini parçaladığını gösteren erime zonları günlük gözlemlenmiştir (Chakrabarti et al., 1991).

Erime zonu oluşturan suşlar asit proteinaz aktivitesi yönünden pozitif (+); erime zonu oluşturmeyen suşlar asit proteinaz aktivitesi yönünden negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (Chakrabarti et al., 1991).

3.2.2.2. Fosfolipaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Suşların fosfolipaz aktivitelerini belirlemek için yumurta sarılı besiyeri hazırlanmış, modifiye plak yöntemi kullanılmıştır.

Yumurta Sarılı Besiyerinin Hazırlanışı

Temel besiyeri

-Pepton	1,08 gr
-Glukoz	2,17 gr
-Agar	2,17 gr
-NaCl	6,3 gr

-CaCl₂.2H₂O 0,12gr
-Distile su 100ml

Temel besiyeri otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilmiş ve 50°C’lik su banyosuna konulmuştur (Sierra et al., 1957; Gokce et al., 2007).

Sitrik asit-disodyum fosfat tampon çözeltisi

-C₆H₈O₇.H₂O 21.01 gr / 1000 ml distile su (0,1 M)
-Na₂HPO₄.2H₂O 35.6 gr / 1000 ml distile su (0,2 M)

Hazırlanan çözeltiler karıştırılarak pH 4.2 olan tampon çözeltisi hazırlanmış ve 50°C’lik su banyosuna konulmuştur.

Temel besiyeri (100 ml) ve sitrik asit-disodyum fosfat tampon çözeltisi (110ml) karıştırılmıştır (Sierra et al., 1957; Gokce et al., 2007).

Yumurta sarısı çözeltisinin hazırlanışı

Yumurtalar batikonlu steril gazlı bez yardımıyla silinmiştir. Daha sonra steril bir şekilde kırılmış ve steril olan içinde cam boncuklar bulunan cam balona yumurta sarıları ayrılmıştır. Yumurta sarılarının üzerine eşit hacimde steril serum fizyolojik eklenerek cam balonda karıştırılmış ve ardından 24 saat buzdolabında bekletildikten sonra steril falkon tüplere alınarak 2000 rpm’de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımdan alınan sıvı (10ml), hazırlanan temel besiyeri ve sitrik asit-disodyum fosfat tampon çözeltisi karışımına (50°C) eklenerek karıştırılmıştır. Hazırlanan yumurta sarılı besiyeri cam petrilere 20 ml hacminde dökülmüştür (Sierra et al., 1957; Gokce et al., 2007).

Deneyin Yapılışı

SDA’ da 37°C’de 24-48 saat inkübe edilerek maya kolonileri üretilmiştir. Üretilen maya kolonilerinden, steril cam tüplerde SF ile 0.5 McFarland’a karşılık gelen yoğunlukta süspansiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyondan 10 µl alınarak besiyerine ekimi yapılmıştır. Petriler 37°C’de inkübasyona bırakılarak, koloni çevresinde oluşan belirgin halka şeklindeki presipitasyon zonları (Pz) günlük gözlemlenmiştir.

Presipitasyon zonları (Pz) gözlemlenen izolatların enzimatik aktivitesinin derecelendirilmesi için üremenin olduğu günden itibaren 10. günün sonunda Pz değerleri hesaplanmıştır. İzolatların Pz değeri; maya kolonisi çapının, presipitasyon zonunun çapına oranı hesaplanarak belirlenmiştir. Hesaplanan Pz değerleri; Pz= 1

negatif (-), $P_z = 0,90-0,99$ aralığında zayıf (+), $P_z = 0,80-0,89$ aralığında orta (++) , $P_z = 0,70-0,79$ aralığında güçlü (+++), $P_z \leq 0,69$ çok güçlü (++++) pozitif olarak derecelendirilmiştir (Atalay vd., 2015).

3.2.2.3. Esteraz Aktivitesinin Belirlenmesi

Suşların esteraz aktivitelerini belirlemek için Tween 80’li besiyeri hazırlanmış, modifiye plak yöntemi kullanılmıştır.

Tween 80’li Besiyerinin Hazırlanışı

Temel besiyeri

-Pepton	1 gr
-NaCl	0.5 gr
-CaCl ₂	0,01 gr
-Agar	1,5 gr
-Distile su	100 ml

Karışım otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilerek, 50°C’lik su banyosuna konulmuştur. Aynı miktarda sitrik asit ve disodyum fosfat tampon çözeltisi kullanılarak pH 6.8 olacak şekilde ayarlanmıştır.

-Tween 80	0,5 ml
-----------	--------

Tween 80 otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilerek temel besiyerine ilave edilmiştir. Hazırlanan Tween 80’li besiyeri cam petrilere 20 ml hacminde dökülmüştür (Sriphannam et al., 2019; Slifkin, 2000).

Deneyin Yapılışı

SDA’da 37°C’de 24-48 saat inkübe edilerek üretilen maya kolonileri, öze yardımıyla alınarak, hazırlanmış besiyerine 10 mm çapında daire şeklinde inoküle edilmiştir. Hazırlanan petrilere 37°C’de inkübasyona bırakılarak günlük koloni çevresinde oluşan halenin varlığı arkadan ışık verilerek gözlemlenmiştir. Hale oluşturan suşlar esteraz aktivitesi yönünden pozitif (+); hale oluşturmeyen suşlar esteraz aktivitesi yönünden negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (Slifkin, 2000).

3.2.2.4. Biyofilm Aktivitesinin Belirlenmesi

Suşların biyofilm aktiviteleri mikrotitrasyon plak yöntemiyle incelenmiştir.

Mikrotitrasyon Plak Yöntemi

SDA'da 37°C'de 24-48 saat inkübasyonun ardından üretilen *Candida* kolonilerinden eküvyon dolusu alınarak, glukoz yoğunluğu %8 olan Sabouraud Broth (SB) içeren cam tüplere inoküle edildi. 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılan tüpler 5 sn vortekslenerek, SB ile 1/20 oranında dilüe edilmiştir. Hazırlanan süspansiyonlar 5 sn vortekslenip 96 kuyucuklu düz tabanlı polistren mikrotitrasyon plağının üç kuyucuğuna 200'er µl konulmuştur. Her plakta negatif kontrol olarak 6 kuyucuğa steril SB ve pozitif kontrol olarak 6 kuyucuğa *C. albicans* ATCC 90028 suşu konulmuştur. Plaklarda buharlaşmayı engellemek amacıyla kapak kullanılmıştır ve plaklar 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Atalay vd., 2015). İnkübasyon sonrası kuyucuklar otomatik pipetle dikkatli bir şekilde aspire edilerek 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrası %1'lik kristal viyole solüsyonundan 100'er µl tüm kuyuculara dağıtılarak, oda sıcaklığında 15 dk biyofilmlerin boyanması sağlanmıştır. Boyanma işlemi sonrası boya aspire edilerek, kuyucuklar 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Plaklar ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır. Boyanın çözünmesi amacıyla her kuyucuk için 200 µl etanol-aseton (40:10) karışımı konularak 10 dk bekletilmesi ardından optik dansiteler ELİSA reader optik okuyucu cihazında 492 nm dalga boyunda okutulmuştur (Atalay vd., 2015). Elde edilen her bir optik dansite (OD) değeri Tablo 3.1'e göre yorumlanmak üzere kaydedildi (Chusri et al., 2012).

Tablo 3.1. Biyofilm formasyon aktivitelerinin belirlenmesi

Optik Dansite	Yapışma	Skor
KOD > MBOD	Yapışma olmayan	0
KOD < MBOD < 2 KOD	Zayıf yapışma	1
2 KOD < MBOD < 4 KOD	Orta derece yapışma	2
4 KOD < MBOD	Güçlü derecede yapışma	3
KOD: Kontrol Optik Dansitesi MBOD: Mikroorganizma Biyofilmi Optik Dansitesi		

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

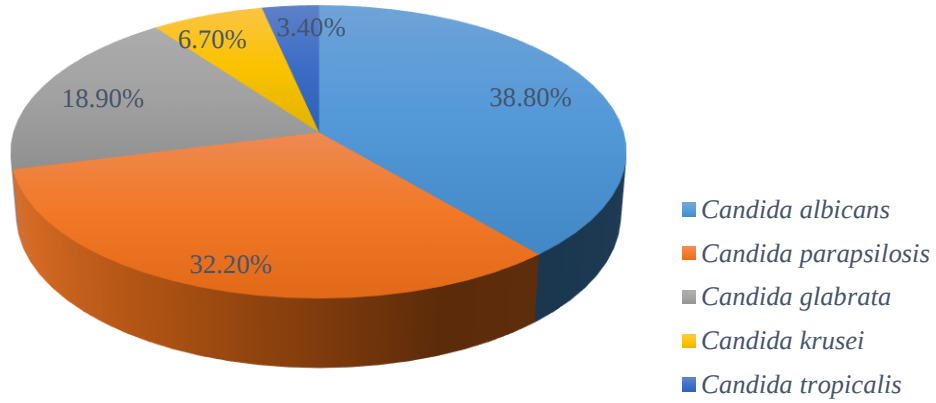
4.1. *Candida* Türlerinin Tür ve Servis Dağılımı

Normal flora üyesi olan *Candida* türleri, organ nakli ve malignite gibi sebeplerle immünsupresif ilaçların kullanımı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun dönem kullanımı sonucunda; yüzeyselden derine yerleşmiş enfeksiyonlara kadar çeşitli kandidiyaz olgularına neden olmaktadır (Orlandini et al., 2021; Leerahakan et al., 2022).

Son yıllarda özellikle hastanede yatan veya bağışıklığı zayıflamış hastalarda fırsatçı mantar enfeksiyonlarının arttığı bildirilmiştir (Lamoth et al., 2018). Yoğun bakım ünitelerinin invaziv fungal enfeksiyonlarında birinci sırada *Candida* türlerinin sorumlu olduğu bildirilmektedir (Ergüt Sezer ve Arman, 2010). *Candida* türlerinin sebep olduğu kandidemi vakalarında geciken ve uygun olmayan tanı ve tedaviler, ciddi oranda mortalite ve morbidite artışına neden olduğu vurgulanmaktadır (Mikulska et al., 2010).

Kandidemi olgularında en yaygın patojen tür *C. albicans* olmasına rağmen non-*albicans Candida* türlerinin prevalansında önemli derece artış olduğu görülmektedir (Owoicho et al., 2022; Battistolo et al., 2021). Japonya Nozokomiyal Enfeksiyonlar Sürveyans verilerinde 2010-2019 tarihleri arasında 55580 kandidemi tanısı alan hastadan 57001 *Candida* izolatının tanımlandığı bildirilmiştir. Tanımlanan izolatların %43,6'sının *C. albicans*, %19,5'inin *C. glabrata*, %18,8'inin *C.parapsilosis*, %6,7'sinin *C. tropicalis*, %1,4'ünün *C.krusei* ve %10'unun diğer türler olduğunu belirterek non-*albicans Candida* izolatlarının oranının yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* izolatlarında azol ve mikafungin direncinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Kajihara et al., 2022). Avrupa'da kandideminin genel yükü ve epidemiyolojisi hakkında yapılan çalışmaların karşılaştırılmasıyla, yakın zamandaki çalışmalarda geçmişteki çalışmalara nazaran non-*albicans Candida* türlerinin yüksek oranda görüldüğünü ve kandidemi olgularında yüksek riskli grubun ise yoğun bakım hastaları olduğunu belirtilmiştir (Koehler et al., 2019).

Bizim çalışmamıza 35 (%38,8) *Candida albicans*, 29 (%32,2) *Candida parapsilosis*, 17 (%18,9) *Candida glabrata*, 6 (%6,7) *Candida krusei*, 3 (%3,4) *Candida tropicalis* olmak üzere 90 *Candida* izolatı çalışmaya dâhil edilmiştir. İzolatların tür dağılımı Şekil 4.1'deki gibidir.



Şekil 4.1. Çalışmaya dâhil edilen suşların tür dağılım grafiği

İdentifikasyonu yapılan türlerin %22,3'ünün onkoloji, %17,7'sinin yoğun bakım, %11,1'inin dahiliye, %11,1'inin çocuk sağlığı ve hastalıkları, %6,6'sının nöroloji, %5,6'sının genel cerrahi, %5,6'sının gastroenteroloji, %4,5'inin kardiyoloji, %4,5'inin hematoloji, %3,3'ünün enfeksiyon hastalıkları, %2,2'sinin kalp damar cerrahisi, %2,2'sinin nefroloji, %2,2'sinin çocuk cerrahisi, %1,1'inin üroloji servisinden olduğu görülmüştür. İzolatların servislere göre tür dağılımı Tablo 4.1'deki gibidir.

Tanımlanan türlerin oranının onkoloji ve yoğun bakım servislerinde yüksek olduğu görülmüştür. Bu servislerde tedavi gören hastalarda immünsupresif ilaç ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının kandidemi olguları için predispozan faktörlerden olabileceği düşünülmüştür.

Tablo 4.1. Çalışmaya dâhil edilen suşların servislere göre dağılımı

Servisler	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. tropicalis</i>	Toplam (%)
Onkoloji	12	2	4	1	1	20 (22,3)
Yoğun Bakım	5	9	1	1	—	16 (17,7)
Dahiliye	6	2	1	1	—	10 (11,1)
Çocuk Sağl.ve Hast.	2	5	1	2	—	10 (11,1)
Nöroloji	2	2	1	—	1	6 (6,6)
Genel Cerrahi	1	—	4	—	—	5 (5,6)
Gastroenteroloji	3	—	2	—	—	5 (5,6)
Kardiyoloji	1	3	—	—	—	4 (4,5)
Hematoloji	—	3	—	—	1	4 (4,5)
Enfeksiyon Hast.	1	1	—	1	—	3 (3,3)
Kalp Damar Cerrahisi	1	—	1	—	—	2 (2,2)
Nefroloji	—	—	2	—	—	2 (2,2)
Çocuk Cerrahisi	1	1	—	—	—	2 (2,2)
Üroloji	—	1	—	—	—	1 (1,1)
Toplam (%)	35 (38,9)	29 (32,3)	17 (18,9)	6 (6,6)	3 (3,3)	90 (100)

4.2. *Candida* Türlerinin Virülans Faktörleri

Candida enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ilaç seçeneklerinin geliştirilmesine rağmen, mantarların ökaryotik hücre yapısında olmaları ve ciddi toksik etkileri dolayısıyla tedavide sorunlarla karşılaşılmaya devam edilmektedir (Ivanov et al., 2022). *Candida* türleri tarafından gelişen enfeksiyonların patogenezi anlamak ve tedaviye katkı sağlamak amacıyla birçok çalışmada izole edilen patojenlerin hif oluşumu, dimorfizm, adezinler, endotoksin benzeri maddeler, hidrolitik enzimler, biyofilm gibi birçok virülans faktörlerinin araştırıldığı görülmektedir. Hücre dışı hidrolitik enzimler, patojen *Candida* hücrelerinin adezyon ve doku penetrasyonunda görev alarak konak hücre istilasını kolaylaştırmaktadırlar (Mohan and Ballal, 2008). Adezinler ve hidrolitik enzimler patojenin kolonizasyonuna yardımcı olarak biyofilm oluşumunda ve özellikle sistemik enfeksiyonlara zemin hazırlayan mukokutanöz membran enfeksiyonlarının oluşumunda önemli virülans faktörleridir (Eggimann et al., 2003).

4.2.1. *Candida* Türlerinin Asit Proteinaz Aktiviteleri

Asit proteinazlar; albümin, hemoglobin, keratin, kollajen, müsin ve IgA gibi birçok proteini parçalayarak patojenin fagositoza direnç göstermesini sağlayan enzimlerdir. Mukozal savunmada önemli olan IgA'ların parçalanması kolonizasyonun erken dönemlerinde fungal adheransa yol açmaktadır. Ayrıca asit proteinaz sitopatik etki göstererek invazyona yardımcı olmaktadır (Ray and Payne, 1990; Yücesoy vd., 2001). *Candida albicans* izolatlarında non-*abicans* *Candida* izolatlarına kıyasla ekzoenzimler yüksek oranda üretilmektedir (Gokce et al., 2007; Mutlu Sariguzel et al., 2015). Çeşitli çalışmalarda *Candida* türlerinin izole edildiği örneklerde proteinaz aktivitesi incelenmiştir.

Rezvani vd. (2022), yaptıkları çalışmada gastroözofageal lezyonlardan ve idrar yolu enfeksiyonlarından izole ettikleri 97 *C. albicans* izolatının proteinaz aktivitesini araştırarak karşılaştırmışlardır. Çalışılan *C. albicans* izolatlarının %100'ünün proteinaz aktivitesinin olduğunu bildirmişlerdir (Rezvani et al., 2022).

Weerasekera vd. (2021), oral lökoplaki tanısı alan hastalardan izole edilen 35 *C.albicans* izolatının proteinaz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *C.albicans* izolatlarının %65,7'sinin proteinaz aktivitesinin olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada sigara içen\tembul çiğneyen hastalardan alınan tükürük örneklerinin daha asidik olduğunu, böylelikle proteinaz ve fosfolipaz aktivite oranlarının yüksek görüldüğünü belirtilmişlerdir (Weerasekera et al., 2021).

Erum vd. (2020), cerrahi yara enfeksiyonlu hastalardan izole ettikleri 54 *C. albicans*, 74 non-*albicans* olmak üzere 128 *Candida* izolatının proteinaz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda proteinaz aktivitesi gösteren izolatların oranının *C. albicans*'larda %90,74, non-*albicans*'larda ise %70,27 olduğunu bildirmişlerdir. Proteinaz aktivitesinin, non-*albicans* *Candida*'ların aksine *C.albicans*'larda daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada sağlıklı bireylerden izole edilen 20 *C. albicans* izolatı ile yara örneklerinden izole edilen 54 *C.albicans* izolatının enzimatik aktiviteleri karşılaştırılmış ve sağlıklı bireylerden izole edilen izolatlarda enzimatik aktivite oranının daha az tespit edildiğini bildirmişlerdir (Erum et al.,2020).

Dabiri vd. (2018), farklı klinik örneklerden izole ettikleri 37 *C. albicans*, 47 non-*albicans* olmak üzere 84 *Candida* izolatının proteinaz aktivitelerini araştırmışlardır.

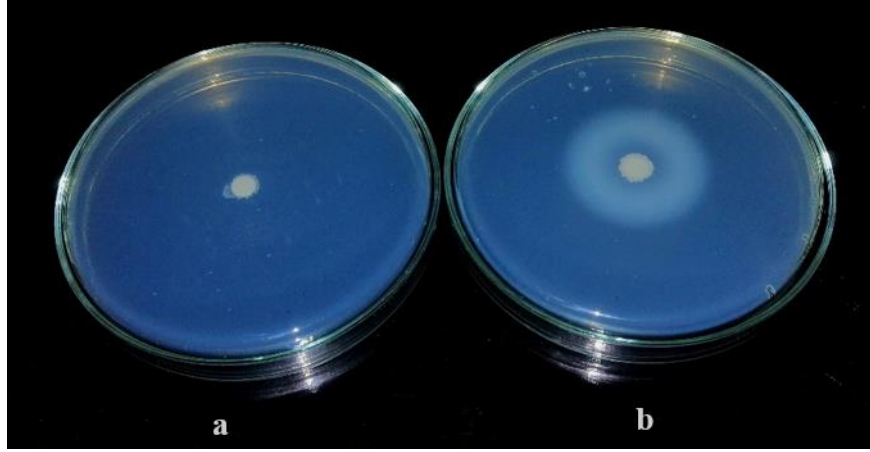
Bu çalışma sonucunda *C. albicans* izolatlarının %91,9'unun, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %48,9'unun proteinaz üretebildiğini bildirmişlerdir (Dabiri et al., 2018).

Pandey vd. (2018), yoğun bakım ünitesindeki hastaların kan kültürü örneklerinden izole ettikleri 16 *C. albicans*, 63 non-*albicans* olmak üzere 79 *Candida* türünün proteinaz aktivitesini araştırmışlardır. İzole edilen *Candida* türlerinin %84,72'sinin proteinaz aktivitesi olduğunu ve güçlü proteinaz aktivitesinin *C. albicans* (%93,75) izolatlarında görüldüğünü bildirmişlerdir. *C. albicans* izolatlarının %100'ünde, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %81'inde proteinaz aktivitesinin olduğu bildirilmiştir (Pandey et al., 2018).

Sriphannam vd. (2019), kan kültürlerinden izole ettikleri 37 *C. albicans*, 47 non-*albicans* olmak üzere 84 *Candida* izolatının proteinaz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda *C. albicans* izolatlarının %100'ünde, non-*albicans* izolatlarının ise %74,5'inde proteinaz aktivitesi görüldüğünü bildirmişlerdir (Sriphannam et al., 2019).

Nouraei vd. (2020), kan kültürü örneklerinden izole ettikleri 50 *C. albicans*, 50 non-*albicans* olmak üzere 100 *Candida* izolatının proteinaz aktivitelerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda *C. albicans* izolatlarının %98'inin, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %100'ünün proteinaz üretebildiğini bildirmişlerdir (Nouraei et al., 2020).

Bizim çalışmamızda çalışmaya dâhil edilen izolatların (n:90) %98,9 (n:89)'unun asit proteinaz aktivitesi pozitif, %1,1 (n:1)'inin ise negatif olduğu görülmüştür. Proteolitik aktivitesi negatif olan 1 non-*albicans* izolatının *C. parapsilosis* olduğu görülmüştür. Diğer çalışmalarla benzer olarak (Rezvani et al., 2022; Sriphannam et al., 2019; Pandey et al., 2018; Nouraei et al., 2020) *C. albicans* (n:35) izolatlarının %100 (n:35)'ünün, non-*albicans Candida* (n:55) izolatlarının %98 (n:54)'inin proteinaz aktivitesi pozitif olarak saptanmıştır. Çalışılan izolatlar arasında proteinaz aktivitesi yönünden ki-kare testi istatistiksel analizlerinde anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,712). Şekil 4.2'de asit proteinaz enzimatik aktivitesi pozitif ve negatif olan izolatların sığır serum albümin çözeltisi besiyerindeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.2. Asit proteinaz aktivitesi pozitif ve negatif olan suşların sığır serum albümin çözeltili besiyerindeki görüntüsü a: Negatif suş b: Pozitif suş

4.2.2. *Candida* Türlerinin Fosfolipaz Aktiviteleri

Proteinler ve fosfolipidler konak hücre zarının kimyasal bileşenlerindendir. Bu nedenle proteinaz ve fosfolipaz hidrolitik enzimlerinin, hücre membran kimyasal yapısını bozarak hücre lizisine neden olan virülans faktörleri arasında olduğu düşünülmektedir (Ghannoum, 2000).

Weerasekera vd. (2021), oral lökoplaki tanısı alan hastalardan izole edilen 35 *C.albicans* izolatının fosfolipaz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *C.albicans* izolatlarının %80'inin fosfolipaz aktivitesin olduğunu bildirmişlerdir (Weerasekera et al., 2021).

Erum vd. (2020), cerrahi yara enfeksiyonlu hastalardan izole ettikleri 54 *C. albicans*, 74 non-*albicans* olmak üzere 128 *Candida* izolatının fosfolipaz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda *C. albicans* izolatlarının %85,18'inde, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %27,02'sinde fosfolipaz aktivitesi görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada izolatların antifungal dirençleri de araştırılmış ve yüksek fosfolipaz üretiminin flukonazol direnci ile kolere olduğunu bildirmişlerdir (Erum et al.,2020).

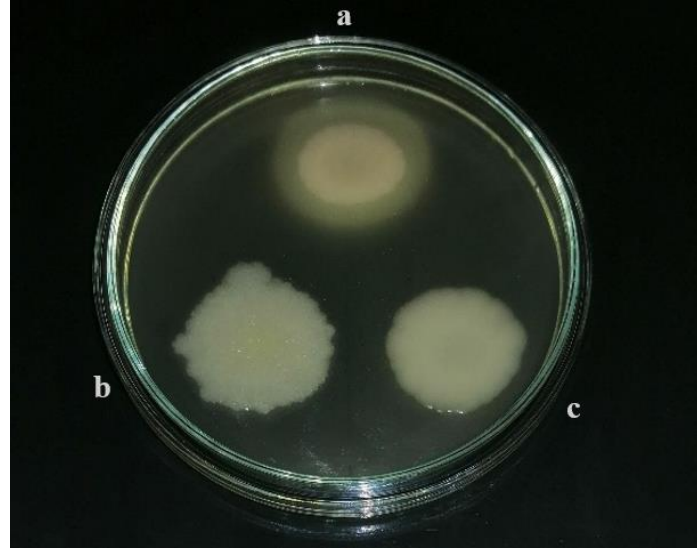
Dabiri vd. (2018), farklı klinik örneklerden izole ettikleri 37 *C. albicans*, 47 non-*albicans* olmak üzere 84 *Candida* izolatının fosfolipaz aktivitesini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda *C. albicans* izolatlarının %56,8'inin, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %25,5'inin fosfolipaz üretebildiğini bildirmişlerdir (Dabiri et al., 2018).

Pandey vd. (2018), yoğun bakım ünitesindeki hastaların kan kültürü örneklerinden izole ettikleri 16 *C. albicans*, 63 non-*albicans* olmak üzere 79 *Candida* türünün fosfolipaz aktivitesini araştırmışlardır. İzole edilen *Candida* türlerinin %55,69'unun fosfolipaz aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. *C. albicans* izolatlarının %7,5'inin, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %50,8'inin enzimatik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Pandey et al., 2018).

Sriphannam vd. (2019), kan kültürlerinden izole ettikleri 37 *C. albicans*, 47 non-*albicans* olmak üzere 84 *Candida* izolatının fosfolipaz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda *C. albicans* izolatlarının %97,3'ünde, non-*albicans* izolatlarının ise %8,5'inde fosfolipaz aktivitesi görüldüğünü bildirmişlerdir (Sriphannam et al., 2019).

Nouraei vd. (2020), kan kültürü örneklerinden izole ettikleri 50 *C. albicans*, 50 non-*albicans* olmak üzere 100 *Candida* izolatının fosfolipaz aktivitesini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda *C. albicans* izolatlarının %98'inin, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %46'sının fosfolipaz üretebildiğini bildirmişlerdir (Nouraei et al., 2020).

Bizim çalışmamızda çalışmaya dâhil ettiğimiz 90 *Candida* izolatının %32,2 (n:29)'sinin fosfolipaz aktivitesinin pozitif olduğu görülmüştür. *C. albicans* (n:35) izolatlarının %82,8 (n:29)'inin fosfolipaz aktivitesi pozitif ve bu izolatların %31,1 (n:9)'inin 4(+), %44,8 (n:13)'inin 3(+), %17,2 (n:5)'sinin 2(+), %6,9 (n:2)'unun 1(+) olduğu saptanmıştır. Non-*albicans Candida* (n:55) izolatlarında ise fosfolipaz aktivitesinin olmadığı görülmüştür. Çalışılan *C. albicans* ve non-*albicans* izolatları arasında fosfolipaz aktivitesi yönünden ki-kare testi istatistiksel analizlerinde anlamlı derecede farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Şekil 4.3'te fosfolipaz aktivitesi pozitif ve negatif olan izolatların yumurta sarılı besiyerindeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.3. Fosfolipaz aktivitesi pozitif ve negatif olan suşların yumurta sarılı besiyerindeki görüntüsü
a: Pozitif suş b: Negatif suş c: Negatif suş

4.2.3. *Candida* Türlerinin Esteraz Aktiviteleri

Candida türlerinin virülansı ile ilişkili olan lipolitik aktivite çalışmalarında, diğer bir hidrolitik enzim olan esteraz aktivitesi için Tween bileşikleri kullanılmıştır. Tween bileşikleri gibi suda çözünür bir substratın kullanıldığı bu çalışmalarda monoesterlere hidrolitik aktivite gösteren enzimin esteraz olduğu belirtilmiştir. Böylece *Candida* türleri tarafından üretilen esteraz, besiyerindeki Tween bileşiklerini hidrolize ederek yağ asitlerini açığa çıkarmakta ve kalsiyum ile bileşikler oluşturarak görünür hale meydana getirmektedir (Yücesoy ve Marol, 2003; Tsuboi et al., 1996; Rudek et al., 1978).

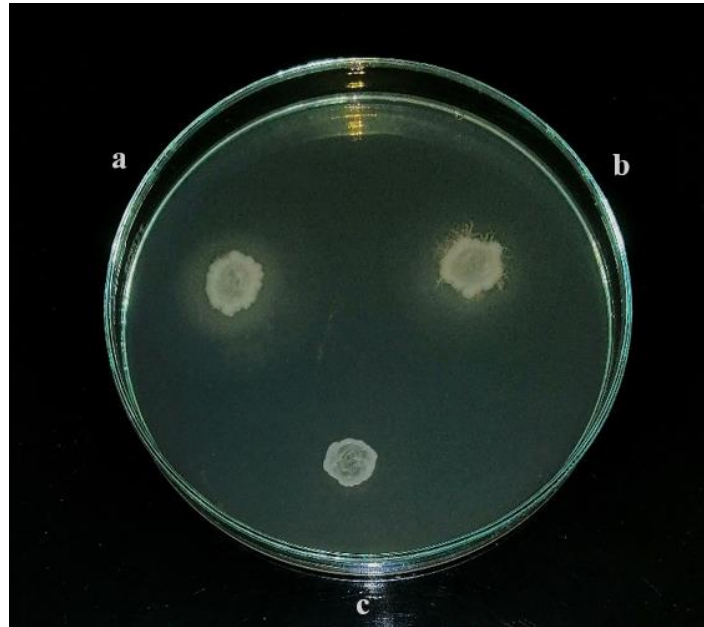
Weerasekera vd. (2021), oral lökoplaki tanısı alan hastalardan izole edilen 35 *C.albicans* izolatının esteraz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *C.albicans* izolatlarının %100'ünde enzimatik aktivitenin görüldüğünü bildirmişlerdir (Weerasekera et al., 2021).

Sriphannam vd. (2019), kan kültürlerinden izole ettikleri 37 *C. albicans*, 47 non-*albicans* olmak üzere 84 *Candida* izolatının esteraz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda *C. albicans* izolatlarının %100'ünde, non-*albicans* izolatlarının ise %72,3'ünde esteraz aktivitesi görüldüğünü bildirmişlerdir (Sriphannam et al., 2019).

Pandey vd. (2018), yoğun bakım ünitesindeki hastaların kan kültürü örneklerinden izole ettikleri 16 *C. albicans*, 63 non-*albicans* olmak üzere 79 *Candida*

türünün esteraz aktivitesini araştırmışlardır. İzole edilen *Candida* türlerinde esteraz aktivitesi gösteren izolatların oranının %37,97 olduğunu bildirmişlerdir. *C. albicans* izolatlarının %56,2'sinin, non-*albicans Candida* izolatlarının %33,4'ünün enzimatik aktivite gösterdiğini, *C. krusei* ve *C. glabrata* izolatlarının ise esteraz aktivitesi göstermediğini bildirmişlerdir (Pandey et al., 2018).

Bizim çalışmamızda çalışmaya dâhil edilen izolatların (n:90) %45,5 (n:41)'inin esteraz aktivitesi pozitif, %54,5 (n:49)'inin negatif olduğu görülmüştür. Esteraz aktivitesi; 35 *C. albicans* izolatının %94,2 (n:33)'sinde, 55 non-*albicans* izolatının ise %14,5 (n:8)'inde görülmüştür. Non-*albicans* izolatlarından; 29 *C. parapsilosis* izolatının %13,7 (n:4)'sinin, 17 *C. glabrata* izolatının %5,8 (n:1)'inin, 3 *C. tropicalis* izolatının %100 (n:3)'ünün esteraz aktivitesi gösterdiği, *C. krusei* izolatlarının ise %100 (n:6)'ünün Pandey vd. (2018)'nin çalışmalarıyla benzer olarak esteraz aktivitesi göstermediği gözlemlenmiştir (Pandey et al., 2018). Çalışılan *C. albicans* ve non-*albicans* izolatları arasında esteraz aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0,001$). Şekil 4.4'te esteraz enzimatik aktivitesi pozitif ve negatif olan izolatların Tween 80'li besiyerindeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.4. Esteraz aktivitesi pozitif ve negatif olan suşların Tween 80'li besiyerindeki görüntüsü
a:Pozitif suş b: Pozitif suş c: Negatif suş

Çalışılan izolatların enzimatik aktivitelerinin oranları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. *Candida* türlerinin asit proteinaz, fosfolipaz, esteraz aktivitelerinin oranları

Türler (n)	Proteinaz (%)	Fosfolipaz (%)				Esteraz (%)
		+	++	+++	++++	
<i>C.albicans</i> (35)	35 (100)	2 (5,7)	5 (14,2)	13 (37,1)	9 (25,7)	33 (94,2)
<i>C.parapsilosis</i> (29)	28 (96,5)	–	–	–	–	4 (13,7)
<i>C.glabrata</i> (17)	17 (100)	–	–	–	–	1 (5,8)
<i>C.krusei</i> (6)	6 (100)	–	–	–	–	–
<i>C.tropicalis</i> (3)	3 (100)	–	–	–	–	3 (100)
Toplam (90)	89 (98,9)		29 (32,2)			41 (45,5)

4.2.4. *Candida* Türlerinin Biyofilm Aktiviteleri

Biyofilm oluşumu mikroorganizmanın adezyonunu ve kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Ayrıca biyofilm, mikroorganizmanın etrafını sararak mikroorganizmayı konağın savunma mekanizmalarından ve antimikrobiyallerin etkisinden korumaktadır (Ramage et al., 2005).

Marak vd. (2018), yaptıkları çalışmada irin, idrar, kan, vücut sıvısı gibi çeşitli klinik örneklerden izole edilen 41 *C. albicans*, 49 non-*albicans* olmak üzere 90 *Candida* izolatının biyofilm oluşumlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada *C. albicans* izolatlarının %51,2'sinde, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %57,14'ünde biyofilm üretiminin görüldüğünü bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda biyofilm oluşumunun görüldüğü ve görülmeyen suşlar arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülemediğini ifade etmişlerdir (Marak and Dhanashree, 2018).

Agwan vd. (2015), çeşitli klinik örneklerden izole edilen 40 *C. albicans*, 78 non-*albicans* olmak üzere 118 *Candida* izolatının biyofilm oluşumunu araştırmışlardır. Bu çalışmada *C. albicans* izolatlarının %13,5'inin, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %33'ünün biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda biyofilm oluşumunun en fazla idrar örneği izolatlarında, ikinci olarak da kan örneği izolatlarında gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Agwan et al., 2015).

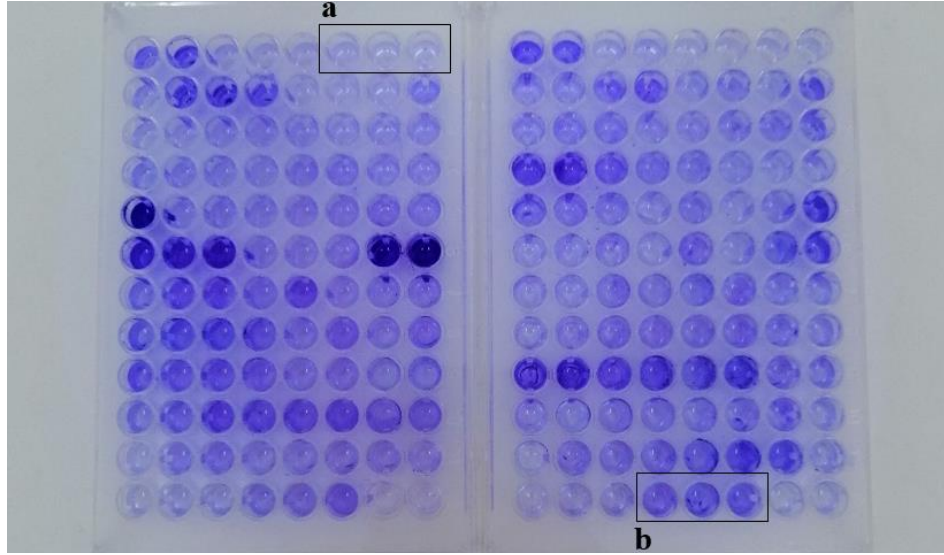
Tüzüner vd. (2017), çeşitli klinik örneklerden izole edilen 128 *C. albicans*, 88 non-*albicans* olmak üzere 216 *Candida* izolatının biyofilm oluşturma yeteneklerini araştırmışlardır. Bu çalışmada *C. albicans* izolatlarının %12,5'inin, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %29,5'inin biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda kandidemi ve katetere bağlı enfeksiyonlarda *Candida* türlerinin sık izole

edildiğini, biyofilm oluşumunun ise non-*albicans Candida* türlerinde daha fazla gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Tüzüner ve İnci, 2017).

Sriphannam vd. (2019), kan kültürlerinden izole ettikleri 37 *C. albicans*, 47 non-*albicans* olmak üzere 84 *Candida* izolatının biyofilm oluşumunu araştırmışlardır. Bu çalışmada *C. albicans* izolatlarının %45,9'unda, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %87,2'sinde biyofilm üretiminin görüldüğünü bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda non-*albicans*'ların *C. albicans*'lardan daha yüksek oranda biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir (Sriphannam et al., 2019).

Nouraei vd. (2020) kan kültürü örneklerinden izole ettikleri 50 *C. albicans*, 50 non-*albicans* olmak üzere 100 *Candida* izolatının biyofilm oluşum yeteneklerini araştırmışlardır. Bu çalışmada *C. albicans* izolatlarının %90'ında, non-*albicans Candida* izolatlarının ise %98'inde biyofilm üretiminin görüldüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca *C. albicans* ve non-*albicans Candida* izolatları arasında biyofilm oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğunu bildirmişlerdir ($p < 0.001$) (Nouraei et al., 2020).

Bizim çalışmamızda çalışmaya dâhil edilen izolatların (n:90) %33,3 (n:30)'ünün biyofilm oluşturduğu görülmüştür. Biyofilm oluşturduğu tespit edilen izolatların 11 %36,7 (n:11)'sinin 1. derece, %10 (n:3)'ünün 2. derece, %53,3 (n:16)'ünün 3. derece biyofilm aktivitesinin olduğu saptanmıştır. Çalışılan 35 *C. albicans* izolatının %14,3 (n:5)'ünün, 55 non-*albicans Candida* izolatının ise %45,4 (n:25)'ünün biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. Biyofilm oluşturan 5 *C. albicans* türünün %80 (n:4)'inin zayıf, %20 (n:1)'sinin orta; 11 *C. parapsilosis* türünün %36,3 (n:4)'ünün zayıf, %18,2 (n:2)'sinin orta, %45,5 (n:5)'inin güçlü; 5 *C. glabrata* türünün %60 (n:3)'ünün zayıf, %40 (n:2)'inin güçlü derecede biyofilm oluşturduğu görülmüştür. *C. krusei* (n:6) ve *C. tropicalis* (n:3) türlerinin ise %100'ünün güçlü biyofilm oluşturduğu görülmüştür. Çalışma sonucunda diğer çalışmalarla benzer olarak non-*albicans Candida* izolatlarının *C. albicans* izolatlarına oranla daha fazla ve daha güçlü biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. *C. albicans* ve non-*albicans Candida* izolatları arasında biyofilm oluşumu yönünden ki-kare testi istatistiksel analizlerinde anlamlı derecede farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$). İzolatların biyofilm aktivitesinin araştırıldığı mikrotitrasyon plaklarından ikisinin görüntüsü Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Mikrotitrasyon plak görüntüsü a: Negatif kontrol b: Pozitif kontrol

Çalışılan izolatların biyofilm oluşumlarının oranları Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.3. *Candida* türlerinin biyofilm oluşum oranları

Türler (n)	Biyofilm (%)			
	0	1	2	3
<i>C.albicans</i> (35)	30 (85,8)	4 (11,4)	1 (2,8)	–
<i>C.parapsilosis</i> (29)	18 (62,3)	4 (13,7)	2 (6,8)	5 (17,2)
<i>C.glabrata</i> (17)	12 (70,7)	3 (17,6)	–	2 (11,7)
<i>C.krusei</i> (6)	–	–	–	6 (100)
<i>C.tropicalis</i> (3)	–	–	–	3 (100)
Toplam (90)	60 (66,6)	11 (12,2)	3 (3,3)	16 (17,7)

Tablo 4.4’te çalışılan izolatların virülans faktörleri aktivite testi sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.4. *Candida* türlerinin virülans faktörleri aktivite testi sonuçları

Örnek No	Tür Adı	Virülans Faktörleri			
		Proteinaz	Fosfolipaz	Esteraz	Biyofilm
1	<i>Candida albicans</i>	+	—	+	0
2	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
3	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
4	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
5	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
6	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
7	<i>Candida albicans</i>	+	—	—	0
8	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
9	<i>Candida albicans</i>	+	—	—	0
10	<i>Candida albicans</i>	+	—	+	0
11	<i>Candida albicans</i>	+	—	+	0
12	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
13	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
14	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
15	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
16	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
17	<i>Candida albicans</i>	+	—	+	0
18	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
19	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	2
20	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
21	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
22	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
23	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
24	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
25	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
26	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	1
27	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
28	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	1
29	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
30	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
31	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
32	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
33	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	0
34	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	1
35	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	1
36	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
37	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
38	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	1
39	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
40	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
41	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
42	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
43	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	1

Tablo 4.4 Devamı

44	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
45	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
46	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
47	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
48	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	1
49	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
50	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	3
51	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
52	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
53	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	+	0
54	<i>Candida parapsilosis</i>	—	—	—	0
55	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	1
56	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	3
57	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	2
58	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	+	2
59	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
60	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	+	3
61	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
62	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	0
63	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	—	3
64	<i>Candida parapsilosis</i>	+	—	+	3
65	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
66	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	1
67	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	3
68	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
69	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
70	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
71	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	1
72	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
73	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
74	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
75	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	3
76	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	1
77	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
78	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
79	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
80	<i>Candida glabrata</i>	+	—	+	0
81	<i>Candida glabrata</i>	+	—	—	0
82	<i>Candida krusei</i>	+	—	—	3
83	<i>Candida krusei</i>	+	—	—	3
84	<i>Candida krusei</i>	+	—	—	3
85	<i>Candida krusei</i>	+	—	—	3
86	<i>Candida krusei</i>	+	—	—	3
87	<i>Candida krusei</i>	+	—	—	3
88	<i>Candida tropicalis</i>	+	—	+	3
89	<i>Candida tropicalis</i>	+	—	+	3
90	<i>Candida tropicalis</i>	+	—	+	3

5. SONUÇ

• Çalışmaya dâhil edilen ve kan kültürü örneklerinden izole edilen 90 *Candida* izolatının %38,8 (n:35)'inin *C. albicans*, %32,2 (n:29)'sinin *C. parapsilosis*, %18,9 (n:17)'unun *C. glabrata*, %6,7 (n:6)'sinin *C. krusei*, %3,4 (n:3)'ünün *C. tropicalis* olduğu belirlenmiştir.

• İzolatların *C. albicans*'lardan %100 (n:35)'ü, non-*albicans*'lardan %98 (n:54)'i olmak üzere %98,9 (n:89)'unun proteinaz aktivitesinin pozitif olduğu gözlemlenmiştir. Proteinaz aktivitesi negatif olan izolatın *C. parapsilosis* olduğu tespit edilmiştir.

• İzolatların %82,8 (n:29)'inin fosfolipaz aktivitesinin pozitif olduğu gözlemlenmiştir. Fosfolipaz aktivitesi pozitif olan izolatların *C. albicans* olduğu tespit edilmiştir. Non-*albicans Candida* izolatlarında fosfolipaz aktivitesi gözlemlenmemiştir.

• İzolatların *C. albicans*'lardan %94,2 (n:33)'si, non-*albicans*'lardan %14,5 (n:8)'i olmak üzere %45,5 (n:41)'inin esteraz aktivitesinin pozitif olduğu gözlemlenmiştir.

• Çalışılan *C. albicans* ve non-*albicans* izolatları arasında fosfolipaz ve esteraz aktivitesi yönünden farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

• İzolatların *C. albicans*'lardan %14,2 (n:5)'si, non-*albicans*'lardan %45,4 (n:25)'ü olmak üzere %33,3 (n:30)'ünde biyofilm oluşumu görülmüştür.

• Güçlü biyofilm oluşturan türlerin non-*albicans Candida* türleri olduğu görülmüştür.

• Çalışılan *C. albicans* ve non-*albicans* izolatları arasında biyofilm oluşumu açısından farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

• Çalışmamız sonucunda, kan kültürü örneklerinden izole edilen *Candida albicans* türlerinde enzim üretimi oranının yüksek ve non-*albicans Candida* türlerinde ise biyofilm oluşturma yeteneğinin fazla olduğu görülmüştür. Bu virülans faktörleri hakkında daha fazla çalışmanın yapılması, tedavi sürecinin yönetilmesine faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abad-Zapatero, C., Goldman, R., Muchmore S. W., Hutchins, C., Stewart K., Navaza J., Payne, C. D., Ray, T. L. (1996). Structure of a secreted aspartic protease from *C.albicans* complexed with a potent inhibitor: Implications for the design of antifungal agents. *Protein Science*, 5, 640-652.
- Agwan, V., Butola, R., Madan, M. (2015). Comparison of biofilm formation in clinical isolates of *Candida* species in a tertiary care center, North India. *Pathology & Microbiology*, 58(4), 475-478.
- Aktaş, E., Yiğit, N., Ayyıldız, A. (2002). Esterase Activity in Various *Candida* Species. *International Medical Research*, 30, 322-324.
- Atalay, M.A., Koç, A. N., Demir, G., Sav, H. (2015). Investigation of possible virulence factors in *Candida* strains isolated from blood cultures. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 18(1), 52-55.
- Barrett-Bee, K., Hayes, Y., Wilson, R. G., Ryley, J. F. (1985). A Comparison of Phospholipase Activity, Cellular Adherence and Pathogenicity of Yeasts. *Microbiology*, 131(5), 1217-1221.
- Battistolo, J., Glampedakis, E., Damonti, L., Poissy, J., Grandbastien, B., Kalbermatter, L., Pagani, J. L., Eggimann, P., Bochud, P. Y., Calandra, T., Marchetti, O., Lamothe, F. (2021). Increasing morbidity and mortality of candidemia over one decade in a Swiss university hospital. *Mycoses*, 64(12), 1512-1520.
- Calvo, R. M., Calvo, M. A., Larrondo, J. (1991). Enzyme activities in *Chrysosporium* strains. *Mycopathologia*, 116, 177-179.
- Chakrabarti, A., Nayak, N., Talwar, P. (1991). In vitro proteinase production by *Candida* species. *Mycopathologia*, 114(3), 163-168.
- Chusri, S., Phatthalung, P. N., Voravuthikunchai, S. P. (2012). Anti-biofilm activity of *Quercus infectoria* G. Olivier against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, 54(6), 511-517.
- Cui, L., Morris, A., Ghedin, E. (2013). The human mycobiome in health and disease. *Genome Medicine*, 5(7), 63.
- Dabiri, S., Shams-Ghahfarokhi, M., Razzaghi-Abyaneh, M. (2018). Comparative analysis of proteinase, phospholipase, hydrophobicity and biofilm forming ability in *Candida* species isolated from clinical specimens. *Mycologie Medicale*, 28(3), 437-442.
- Erum, R., Samad, F., Khan, A., Kazmi, S. U. (2020). A comparative study on production of extracellular hydrolytic enzymes of *Candida* species isolated from patients with surgical site infection and from healthy individuals and their co-relation with antifungal drug resistance. *BMC Microbiology*, 20(1).
- Ghannoum, M. A. (2000). Potential Role of Phospholipases in Virulence and Fungal Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(1), 122-143.
- Gokce, G., Cerikcioglu, N., Yagci, A. (2007). Acid proteinase, phospholipase, and biofilm production of *Candida* species isolated from blood cultures. *Mycopathologia*, 164(6), 265-269.
- Ivanov, M., Ćirić, A., Stojković, D. (2022). Emerging Antifungal Targets and Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2756.
- Jawetz, Melnick and Adelberg (2010). *Tıbbi Mikrobiyoloji*. Osman Şadi Yenen (çev.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.

- Kajihara, T., Yahara, K., Nagi, M., Kitamura, N., Hirabayashi, A., Hosaka, Y., Abe, M., Miyazaki, Y., Sugai, M. (2022). Distribution, trends, and antifungal susceptibility of *Candida* species causing candidemia in Japan, 2010–2019: A retrospective observational study based on national surveillance data. *Medical Mycology*, 60(9).
- Kanafani, Z. A., Perfect, J. R. (2008). Resistance to Antifungal Agents: Mechanisms and Clinical Impact. *Clinical Infectious Diseases*, 46(1), 120-128.
- Koehler, P., Stecher, M., Cornely, O. A., Koehler, D., Vehreschild, M. J. G. T., Bohlius, J., Wisplinghoff, H., Vehreschild, J. J. (2019). Morbidity and mortality of candidaemia in Europe: an epidemiologic meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(10), 1200-1212.
- Kruppa, M. (2009). Quorum sensing and *Candida albicans*. *Mycoses*, 52(1), 1-10.
- Kullberg, B. J., Arendrup, M. C. (2015). Invasive Candidiasis. *New England Journal of Medicine*, 373(15), 1445-1456.
- Lamoth, F., Lockhart S. R., Berkow, E. L., Calandra, T. (2018). Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. *Antimicrobial Chemotherapy*, 73, i4-i13.
- Leerahakan, P., Matangkasombut, O., Tarapan, S., Lam-ubol, A. (2022). Biofilm formation of *Candida* isolates from xerostomic post-radiotherapy head and neck cancer patients. *Archives of Oral Biology*, 142.
- Limon, J. J., Skalski, J. H., Underhill, D. M. (2017). Commensal Fungi in Health and Disease. *Cell Host & Microbe*, 22(2), 156-165.
- Marak, M. B., Dhanashree, B. (2018). Antifungal Susceptibility and Biofilm Production of *Candida* spp. Isolated from Clinical Samples. *International Journal of Microbiology*, 2018, 1-5.
- McCarty, T. P., White, C. M., Pappas, P. G. (2021). Candidemia and Invasive Candidiasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 35(2), 389-413.
- Mohan, V., Ballal, M. (2008). Proteinase and phospholipase activity as virulence factors in *Candida* species isolated from blood. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 25, 208-210.
- Murray, P. R., Baron, E., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. and Pfaller, M. A. (2009). *Klinik Mikrobiyoloji*. Ahmet Başustaoğlu (çev.), Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. and Pfaller, M.A. (2016). *Tıbbi Mikrobiyoloji*. Dürdal Us, Ahmet Başustaoğlu (çev.), Ankara: Pelikan Kitabevi.
- Mutlu Sariguzel, F., Berk, E., Koc, A. N., Sav, H., Demir, G. (2015). Investigation of the relationship between virulence factors and genotype of *Candida* spp. isolated from blood cultures. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(08), 857-864.
- Nobile, C. J., Johnson, A. D. (2015). *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annual Review of Microbiology*, 69(1), 71-92.
- Nouraei, H., Pakshir, K., ZareShahrabadi, Z., Zomorodian, K. (2020). High detection of virulence factors by *Candida* species isolated from bloodstream of patients with candidemia. *Microbial Pathogenesis*, 149.
- Orlandini, R. K., Rocha, A. C. S. D., Silva, G. A., Watanabe, E., Motta, A. C. F., Silva-Lovato, C. A., Oliveira, V. C., Bollela, V. R., Lourenço, A. G. (2021). Increased diversity, fungal burden, and virulence of oral *Candida* spp. in patients undergoing anti-tuberculosis treatment. *Microbial Pathogenesis*, 161(105280).

- Owoicho, O., Olwal, C. O., Tettevi, E. J., Atu B. O., Durugbo, E. U. (2022). Loop-mediated isothermal amplification for *Candida* species surveillance in under-resourced setting: a review of evidence. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 22(6), 643-653.
- Pandey, N., Gupta, M. K., Tilak, R. (2018). Extracellular hydrolytic enzyme activities of the different *Candida* spp. isolated from the blood of the Intensive Care Unit-admitted patients. *Journal of Laboratory Physicians*, 10(04), 392-396.
- Pappas, P. G., Lionakis, M. S., Arendrup, M. C., Ostrosky-Zeichner, L., Kullberg, B. J. (2018). Invasive candidiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 18026.
- Pereira, R., Santos Fontenelle, R. O., Brito, E. H. S., Morais, S. M. (2021). Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 131(1), 11-22.
- Portela, M. B., Souza, I. P. R., Abreu, C. M., Bertolini, M., Holandino, C., Alviano, C. S., Santos, A. L. S., Soares, R. M. A. (2010). Effect of serine-type protease of *Candida* spp. isolated from linear gingival erythema of HIV-positive children: critical factors in the colonization. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 39(10), 753-760.
- Pristov, K. E., Ghannoum, M. A. (2019). Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(7), 792-798.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D. R., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., . . . Wang, J. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59-65.
- Ramage, G., Saville, S. P., Thomas, D. P., López-Ribot, J. L. (2005). *Candida* Biofilms: an Update. *ASM Journals*, 4(4).
- Ray, T. L., Payne, C. D. (1990). Comparative Production and Rapid Purification of *Candida* Acid Proteinase from Protein-Supplemented Cultures. *Infection and Immunity*, 58(2), 508-514.
- Rezvani, F., Maheronnaghsh, M., Mohammadi, R. (2022). Comparison of proteinase activity, hemolysin production, and adherence ability of *Candida albicans* isolates obtained from gastroesophageal lesions and urinary tract infections. *Research in Medical Sciences*, 27(58).
- Richardson, J. P., Moyes, D. L., Ho, J., Naglik J. R. (2019). *Candida* innate immunity at the mucosa. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 89, 58-70.
- Rudek, W. (1978). Esterase activity in *Candida* species. *American Society for Microbiology*, 8(6), 756-759.
- Rupert, C. B., Rusche, L. N. (2022). The Pathogenic Yeast *Candida parapsilosis* Forms Pseudohyphae through Different Signaling Pathways Depending on the Available Carbon Source. *mSphere*, 7(3).
- Samaranayake, Y. H., Dassanayake, R. S., Cheung, B. P. K., Jayatilake, J. A. M. S., Yeung, K. W. S., Yau, J. Y. Y., Samaranayake, L. P. (2006). Differential phospholipase gene expression by *Candida albicans* in artificial media and cultured human oral epithelium. *APMIS*, 114(12), 857-866.
- Sardi, J. C. O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A. M., Mendes Giannini, M. J. S. (2013). *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, 62(1), 10-24.
- Schofield, D. A., Westwater, C., Warner, T., Balish, E. (2005). Differential *Candida albicans* lipase gene expression during alimentary tract colonization and infection. *FEMS Microbiology Letters*, 244(2), 359-365.

- Sierra, G. (1957). A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie van Leeuwenhoek*, 23(1), 15-22.
- Silva, S., Henriques, M., Martins, A., Oliveira, R., Williams, D., Azeredo, J. (2009). Biofilms of non-*Candida albicans* *Candida* species: quantification, structure and matrix composition. *Medical Mycology*, 47(7), 681-689.
- Silva, S., Negri, M., Henriques M., Oliveira, R., Williams, D. W., Azeredo, J. (2012). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(2), 288-305.
- Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. W., Azeredo, J. (2011). Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. *Trends in Microbiology*, 19(5), 241-247.
- Slifkin, M. (2000). Tween 80 Opacity Test Responses of Various *Candida* Species. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(12), 4626-4628.
- Soll, D. R. (2008). *Candida* Biofilms: Is Adhesion Sexy?. *Current Biology*, 18(16), R717-R720.
- Sriphannam, C., Nuanmuang, N., Saengsawang, K., Amornthipayawong, D., Kummasook, A. (2019). Anti-fungal susceptibility and virulence factors of *Candida* spp. isolated from blood cultures. *J Mycol Med*, 29(4), 325-330.
- Strickland, A. B., Shi, M. (2021). Mechanisms of fungal dissemination. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 78(7), 3219-3238.
- Tsuboi, R., Komatsuzaki, H., Ogawa, H. (1996). Induction of an extracellular esterase from *Candida albicans* and some of its properties. *American Society for Microbiology*, 64(8), 2936-2940.
- Tümbay, E. (2021). *Tıbbi Mikoloji*. İzmir: Tıbbi Mikoloji Derneği.
- Tüzüner, U., İnci, R. (2017). *Candida* türlerinde biyofilm oluşumunun modifiye mikropalak ve modifiye XTT redüksiyon yöntemleri ile saptanması. *Ege Journal of Medicine*, 56(4), 178-182.
- Ustaçelebi, Ş. (1999). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti.
- Uzun, O., Anaissie, E. J. (2000). Predictors of outcome in cancer patients with candidemia. *Annals of Oncology*, 11(12), 1517-1521.
- Weerasekera, M. M., Wijesinghe, G. K., Sampath, A., Dilhari, A., Madhumal, T., Dilrukshi, R., Willaddara, R., Karunathilaka, S., Gunasekara, C., Fernando, N., Samaranayake L. (2021). The genotypes and virulence attributes of *C. albicans* isolates from oral leukoplakia. *Oral Medicine Pathology*, 26(6), 786-794.
- Willke Topçu A., Söyletir, G. ve Doğanay, M. (2017). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* (1 Cilt). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti.
- Wingard, J. R. (1994). Infections due to resistant *Candida* species in patients with cancer who are receiving chemotherapy. *Clinical Infectious Diseases*, 19(1), 49-53.
- Yücesoy, M., Karaman, M., Yuluğ, N. (2001). Sağlıklı bireylerden ve oral kandidiazisli olgulardan izole edilen *Candida albicans* türlerinde proteinaz aktivitesinin incelenmesi. *Mikrobiyol Bült*, 35(3), 443-450.
- Yücesoy, M., Marol, S. (2003). *Candida* türlerinin esteraz aktivitesinin belirlenmesi. *Mikrobiyol Bült*, 37(1), 59-63.

EKLER

Ek -1: Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/422

25.06.2021

Sayın Prof.Dr.Asuman BİRİNCİ

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida Türlerinin Virülans Faktörlerinin Araştırılması başlıklı OMÜ KAEK 2021/325 Karar nolu Mikrobiyoloji çalışması nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik kurulu yönergesine göre 24.06.2021 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanamadığından projeye bütçe desteği sağlanıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra başlanmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof.Dr/Ramış ÇOLAK
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ÖZ GEÇMİŞ

Gülşen ÇETİN, Yeni Samsun Lisesi'ni bitirdikten sonra Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji bölümünden 28.08.2014 tarihinde mezun oldu. 2019 yılında başlamış olduğu OMÜ LEE Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programı ve 2020 yılında başlamış olduğu AÜ AF İş Sağlığı ve Güvenliği bölümünde eğitimini devam ettirmektedir.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : <https://orcid.org/0000-0002-2682-1582>

Yayınlar:

1. Gülşen Çetin, Asuman Birinci, Demet Gür Vural, Yeliz Tanrıverdi Çaycı. Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida* Türlerinin Anti-fungal Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi. KLİMUD 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi. Bildiri Referans No: 1191. Bildiri Numarası: PS-047