



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SAĞLIKLI BİREYLERDE VE PROTEZ STOMATİTLİ
HASTALARDA ORAL *CANDIDA DUBLINIENSIS*'İN SIKLIĞI**

DERYA KAZANCI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMEL TIP BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Tanju KADİR

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans

Anabilim Dalı : Temel Tıp Bilimleri

Tez Sahibi : Derya Kazancı

Tez Başlığı : Sağlıklı Bireylerde ve Protez stomatitli Hastalarda Oral *Candida dubliniensis*'in Sıklığı

Sınav Yeri : M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı

Sınav Tarihi : 24.06.2009

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof.Dr. Tanju KADİR

Kurumu

İmza

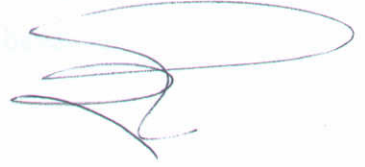


Sınav Jüri Üyeleri (Unvan,

Adı, Soyadı)

Prof.Dr. Tanju KADİR

M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi,
Temel Tıp Bilimleri Anabilim
Dalı, Mikrobiyoloji Birimi



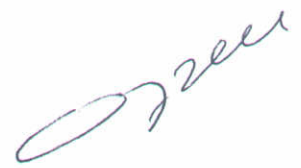
Prof.Dr. Meltem UZUN

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp
Fakültesi, Mikrobiyoloji ve
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı



Prof.Dr. Ayşen YARAT

M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi,
Temel Tıp Bilimleri Anabilim
Dalı, ~~Mikrobiyoloji~~ Birimi
Biyo kimya



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 30.06.2009 tarih ve 15 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr. Nimet GENÇOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

26.06.2009

Tarih

Ad Soyadı(İmza)

Deryo KAZANCI



I. TEŞEKKÜR SAYFASI

Çalışmalarım sırasında bana her konuda destek olan ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Tanju KADİR'e, deneylerime her aşamada yardımcı olan Arş.Gör. Korkut ULUCAN'a, bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi Mikoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yıldız YEĞENOĞLU'na ve deneylerimde benden yardımlarını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi Mikoloji Bilim dalında görevli Dr. Serdar SUSEVER'e emeklerinden ötürü teşekkürü bir borç bilirim.

Öğrenciliğim sırasında bilgilerinden faydalandığım, üzerimde emeği olan tüm değerli bölüm hocalarıma ayrıca çalışmalarım sırasında bana yardım eden İsmet ÇETİN, Kamil ÇALIŞKAN ve Muazzez TACER'e çok teşekkür ederim.

Son olarak da her zaman her konuda maddi ve manevi olarak yanımda olduklarını hissettiğim benden yakın ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, değerli dostlarımdan Sevcan EZER, Ebru BAŞEL, Kerime ULUSOY, Zülfiye KAÇAR, Ezgi KILIÇ, Leyla KOÇ ÖZTÜRK, Şehkâr OKTAY, Esin AK, Ebru Işık ALTURFAN ve Banu CAN'a, Semiha ÇIBIK, Esra BALCIOĞLU, Özlem SARIÖZ, Seda GÜR, Bartu ERKAN, Türkmen ÖZDEMİR, bana bilimsel çalışmalarını sevdiren ailemden biri olan değerli hocam Uzm. Bio. Med. Dr. Barlas DİNGİLYAN'a, değerli aileme ve şu anda hatırlayamadığım fakat yardımını gördüğüm herkese minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

II. İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
KISALTMALAR.....	VI
RESİM VE TABLOLARIN LİSTESİ.....	VII
i. Tabloların Listesi.....	VII
ii. Resimlerin Listesi.....	VIII
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	5
4.1. Mantarların Genel Özellikleri.....	5
4.2. <i>Candida</i>	6
4.2.1. <i>Candida</i> tarihçesi.....	7
4.2.2. <i>Candida</i> morfolojisi.....	8
4.2.3. <i>Candida</i> 'nın kültür ve biyokimyasal özellikleri.....	9
4.2.4. <i>Candida</i> infeksiyonlarına neden olan konak ve virülans faktörleri.....	12
4.2.5. <i>Candida</i> türlerinin neden olduğu infeksiyonlar.....	17
4.2.6. <i>Candida</i> türlerinin tanısı.....	18
4.2.7. Antimikotik ilaçlar.....	22
4.3. Oral <i>Candida</i> Taşıyıcılığı.....	23
4.4. Oral Kandidiyaz.....	23
5. GEREÇ ve YÖNTEM.....	26
5.1. Gereç Listesi.....	26
5.1.1. Germ tüp ve klamidospor pozitif suşlar.....	26
5.1.2. Referans (Standart) suşlar.....	26
5.1.3. Besiyerleri.....	26
5.1.4. PCR malzemeleri.....	26

5.2. Yöntemler.....	27
5.2.1. <i>Candida</i> suşları.....	27
5.2.2. Geleneksel yöntemler.....	28
5.2.3. Moleküler (Genotipik) yöntemler	29
6. BULGULAR.....	32
6.1. Germ Tüp Testi.....	34
6.2. Klamidospor Oluşumu.....	34
6.3. Farklı Isı Derecelerinde Üreme.....	35
6.4. CHROMagarCandida Besiyerinde Üreme.....	35
6.5. Protez Stomatitis’li Hastalar ve Sağlıklı Bireylerde <i>Candida dubliniensis</i> Sıklığı.....	36
7. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	37
8. KAYNAKLAR.....	43
9. ÖZGEÇMİŞ.....	54

III. KISALTMALAR

AIDS	: Acquired Immunodeficiency Syndrome (Edinsel immun yetmezlik sendromu)
bp (bç)	: base pair (baz çifti)
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
<i>C. dubliniensis</i>	: <i>Candida dubliniensis</i>
CBS	: Central Bureau voor Schimmelcultures
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: deoksiriboNükleotit Three Phosphate
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HWP1	: Hyphal Wall Protein 1
KMK	: Kronik Mukokutanöz Kandidiaz
PBS	: Phosphat Buffer Saline
PCR	: Polimerase Chain Reaction
RFLP	: Restriktion Fragment Length Polymorphism
SDA	: Sabouraud Dekstroz Agar
YEPD	: Yeast Peptone Dekstroz Agar

IV. TABLO ve RESİMLERİN LİSTESİ

i. Tabloların Listesi

Tablo 1. *C.albicans* ve *C. dubliniensis*'in benzeyen biyokimyasal ve kültür özellikleri

Tablo 2. 81 adet *C. albicans* suşunun fenotipik ve genotipik özellikleri

ii. Resimlerin Listesi

Resim 1. Germ tüp oluşumu

Resim 2. Klamidospor görüntüsü

Resim 3. *C.albicans*'in PCR-1180 bç, *C.dubliniensis*'in PCR-980 bç,
C. albicans'in PCR/RFLP 793 ve 387 bç ve *C. dubliniensis*'in PCR/ RFLP 980
bç'lik bant profilleri

1. ÖZET

İlk kez 1995 yılında Dublin’de *Candida albicans* ile fenotipik özellikleri çok benzerlik gösteren *Candida dubliniensis* tanımlanmış, sıklıkla Human immunodeficiency virus (HIV) ile infekte hastaların ağız boşluğundan izole edilmekle beraber diğer vücut bölgelerinden de soyutlandığı bildirilmiştir. Bu çalışmada, 1997 – 2003 tarihlerinde Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen sağlıklı bireylerin ve protez stomatitli hastaların ağız örneklerinden üretilmiş (sırasıyla 45 ve 36) *C. albicans* suşları arasında *C. dubliniensis* olup olmadığı araştırılmıştır.

C. albicans olarak izole edilmiş 81 suşun retrospektif olarak değerlendirilmesi germ tüp ve klamidospore oluşturma, CHROMagar *Candida* besiyerinde koloni rengi, 37°C, 42°C ve 45°C de Sabouraud dextroz agar besiyerinde üreme durumlarına göre yapılmıştır. Kesin tanı sağlamak amacıyla moleküler yöntemler de uygulanmıştır.

Literatür ve bulgularımızın değerlendirilmesi sonucunda; geleneksel fenotipik yöntemlerle *C. dubliniensis* tanımlanmasının genotipik yöntemle tam olarak uyum sağlamadığı görülmüştür. Sağlıklı bireylerden izole edilip *C. albicans* olarak tanımlanmış 45 suşun genotipik olarak değerlendirilmesinde 4’ünün *C. dubliniensis* olduğu, protez stomatitli hastalardan izole edilen 36 suşta ise saptanmadığı belirlenmiştir. Protez stomatiti patogenezinde *C. dubliniensis*’in etkin olmadığı, daha fazla epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç duyulduğu anlaşılmıştır.

Anahtar sözcükler: *C. dubliniensis*, *C.albicans*, protez stomatiti, retrospektif çalışma, PCR.

2. SUMMARY

Prevalence of *Candida dubliniensis* among healthy individuals and patients with denture stomatitis

Candida dubliniensis, which is phenotypically closely related to *Candida albicans*, was first described in 1995 in Dublin. It has been frequently isolated from oral samples of patients infected with Human Immunodeficiency Virus (HIV), and other body sides. In this study, it has been investigated whether *C. dubliniensis* existed among *C. albicans* strains isolated from the oral samples 45 healthy and 36 patients with denture stomatitis in the Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Marmara University between the period of 1997 – 2003 from oral samples of healthy individuals and patients with denture stomatitis.

81 strains isolated as *C. albicans* was performed retrospectively for *C. dubliniensis* according to the germ tube and chlamydo spor formation, colony morphology on CHROMagar Candida, and growth profiles obtained by Sabouraud dextrose agar at 37 °C, 42 °C and 47 °C.

Molecular methods have been performed for identification, as well. When literature and our findings are evaluated, it has been concluded that results of the identification of *C. dubliniensis* via genotypic method is not convenient with results obtained by phenotypic methods. In genotypic evaluation, it has been found that 4 of 45 strains that were isolated from healthy people, have been identified as *C. dubliniensis*. None of the 36 strains that were isolated from patients with denture stomatitis have been identified as *C. dubliniensis*. It has been concluded that *C. dubliniensis* is not effective in the pathogenesis of denture stomatitis, and furthermore epidemiological studies are needed.

Key words: *C. dubliniensis*, *C. albicans*, protez stomatitis, retrospective study, PCR.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Candida'lar sağlıklı bireylerde ağız başta olmak üzere gastrointestinal ve genital sistemin florasında bulunurlar. Bu mantarlar bazı lokal (kötü ağız hijyeni, hareketli protez, inhale kortikosterid kullanımı veya tükürük salgısının azalması) ve sistemik faktörlerin (uzun süreli antibiyotik veya kortikosteroid tedavisi, diabet, HIV enfeksiyonu, lösemi ve vücut direncinin zayıflaması) etkisi ile ciddi olmayan fakat rahatsız edici oral kandidiyaz bulgusuna neden olabilir. *Candida albicans* kandida türleri içinde en sık izole edilen türdür. Ancak artan ilaç kullanımı, edinsel immün yetmezlik sendromu (AIDS) vb. durumlara bağlı olarak diğer türlerin de patojen olabileceği düşünülmektedir. Özellikle AIDS'li hastaların ağız ortamından izole edilenler arasında *Candida dubliniensis* dikkat çekmektedir (54, 66).

C.dubliniensis ilk defa 1995 yılında Dublin'de Sullivan ve ark. (112) tarafından fenotipik üreme ve görünüm özellikleri açısından *C.albicans*'a çok benzeyen fakat genetik düzeyde ondan farklı olan yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. Yeni tanımlanan bu suşun şu ana kadar bilinen en eski örneği ise Hollanda'da Meis ve ark. (81) 1952'den beri topladıkları bir maya koleksiyonunda bulunmuştur.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ağız içi *C.dubliniensis* taşıyıcılığının immün sistemi baskılanmış bireylerden başka, sağlıklılarda da görüldüğü bildirilmiştir (20, 39, 52). Literatür taramasında ağız içi *C.dubliniensis* sıklığı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır fakat toplumlar arasında ve çeşitli klinik örneklerdeki oranlarında büyük farklılıklar gözlenmektedir (20, 102, 108). *C.dubliniensis* sıklığı ile ilgili ülkemizdeki çalışmalar daha çok bireylerin kan, idrar, vajinal sürüntü, bronkoalveolar lavaj, trakeal aspirat, plevral sıvı...vs'den alınan örnekler üzerinde yoğunlaşmıştır. Ağız içi sıklığı ile ilgili çalışmalar az sayıdadır sadece şeker, kanser ve HIV pozitif hastalardan alınan örneklerle çalışılmıştır (117, 118, 119). Yurtdışında ise fazla sayıda ve ayrıntılı çalışmalar olmasına karşın kandida kaynaklı protez stomatiti olgularının sıklığı hakkında çok az çalışma vardır.

Protez stomatiti, tam ve bölümlü hareketli protezlerin altında, genellikle palatinal mukozada ortaya çıkan kronik doku inflamasyonudur. Etyolojisinde birçok faktörün rol oynamasına karşın hastalığın başlamasında ve gelişmesinde kandidaların da rolü

olduğu bildirilmektedir. Ağızlarında protez stomatiti klinik belirtileri bulunan hastalardan izole edilen mayaların %70 – 80 kadarını *C. albicans* oluşturmaktadır (13). Bu durum, akla geçmişte yapılan çalışmalarda sadece fenotipik yöntemlerle *C. albicans* olarak tanımlanıp stoklanan izolatların kaçının *C.dublınıensis* türü olduğu sorusunu getiriyor. Bu sorunun cevabı aynı zamanda protez stomatitli hastaların ağız içi *C.dublınıensis* sıklığının ne olduğu sorusunun da cevabı olacaktır.

Bu nedenle çalışmamızın amacı, retrospektif olarak Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakóltesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen sağlıklı bireyler ile protez stomatitli hastaların ağız içinden soyutlanmış, sadece fenotipik yöntemlerle tanımlanıp stoklanmış *C. albicans* suşlarının fenotipik ve moleküler yöntemlerle yeniden incelemek ve kaçının *C. dublınıensis* olup olmadığını saptamaktır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Mantarların Genel Özellikleri

Mantarlar genel özelliklerine ve oluşturdıkları klinik infeksiyon tiplerine göre farklı başlıklar altında incelenebilen, geniş bir infeksiyon yelpazesine sahip mikroorganizmalardır. Doğada 250000 kadar mantar türü bulunur, ancak bunlardan sadece 150-200 kadarının gerçek ya da fırsatçı patojen olarak insanda infeksiyon yapma özelliği vardır. Mantarların yaptıkları infeksiyonlara mikoz adı verilir. Mantar infeksiyonu ile ilgili ilk bilgilere Hindu Kutsal Yazıtları'nda (MÖ 2000-1000) rastlanılmaktadır (3).

Ökaryotik hücre tipine sahip olan mantarların bir ve çok hücreli formları vardır. Mikrobiyoloji bunlardan küf ve maya şeklinde olanları inceler. Maya mantarları (3 - 10µm) boyut olarak bakterilerden daha büyüktürler. Küflerin boyutu ise morfolojilerinden dolayı kesin olarak bilinmemekle beraber mayalardan daha büyüktürler. Mantar hücrelerinde nukleuslar zarla çevrilidir, birden fazla kromozom ve nukleolus vardır. Sitoplazmalarında mitokondri, endoplazmik retikulum, golgi ve 80S ribozom organelleri bulunur. Hücre duvarlarında bol miktarda glukana, mannan, kitin ve kitoz bulunur iken hücre zarları sterol içermektedir. Klorofil veya kloroplast içermezler (63).

Heterotrofturlar, beslenme şekillerine göre saprofitik ya da parazit olarak yaşarlar. Ototrof formları yoktur. Solunum şekillerine göre aerob veya fakültatif anaerob özellikte olup anaerob türleri yoktur. Çoğu mantar % 95 – 100 nemli ortamlarda iyi ürer. Besiyerindeki nemin azalması mantar sporlarının oluşmasına neden olur. Patojen mantarların sporları kuruluğa çok dirençlidir ve spor formunda yıllarca yaşamlarını sürdürebilirler. Mantarlar, en iyi üreyebildikleri sıcaklık derecelerine göre psikrofilik (0 – 20 °C), mezofilik (20 – 45 °C) ve termofilik (45 – 60 °C) olmak üzere üç gruba ayrılır. Çoğu düşük ısıya dirençlidir ve 0 °C'e kadar fizyolojik fonksiyonları devam eder. Üreyebildikleri optimum pH 6 - 6,5 arasındadır (134).

Mantarlarda üreme, mantar türü ve ortam şartlarına bağlı olarak değişerek eşeyli veya eşeysiz olarak gerçekleşir. Üreme sporlar aracılığı ile meydana gelir. Oluşum şekillerine göre eşeyli ve eşeysiz haploid sayıda kromozom taşıyan spor çeşitleri vardır. Bu sporlar havada kolaylıkla yayılır ve çevrenin zorlu koşullarına dayanır (23, 134).

Tıbbi mikrobiyoloji açısından önem taşıyan mantarlar küf ya da maya şeklindedir. Ancak bazıları dimorfizm (çift biçimlilik) özelliği taşır, çevre koşullarına göre her iki şekilde doğada bulunabilirler. Bu tezde yer alan *Candida albicans* ve *Candida dubliniensis* türleri dimorfizm özelliği olan mantarlardır (82, 123).

Çok hücreli iplikçikler oluşturarak gelişen mantarlara “küf”, tek tek hücreler şeklinde üreme gösteren mantarlara ise “maya” denir. Küflerin vejetatif biçimlerinin temel elementi hiflerdir. Ortalama 2 – 10 mm eninde olan bu hiflerin bazıları bölmeli (septumlu) bazıları ise bölmesizdir (22, 60, 63) .

Tek hücreli olan mayalar yuvarlak, oval veya silindir şeklindedirler. Boyutları 2-8 x 3-15 µm arasında değişir. Gram pozitif boyanma özelliğinde olan mayaların hücre duvarlarında mannoz, glikoz, az miktarda lipit, protein ve kitin bulunur. Tomurcuklanarak çoğalırlar. Ana hücreden tomurcuklanarak oluşan yavru hücreye blastokonidya denir. Bu hücre ana hücre büyüklüğüne eriştiğinde ana hücreden koparak yeni bir maya hücresi halini alır. Fakat bazen bu kopma olayı tam olarak gerçekleşemez ve yeni oluşan hücreler bir arada kalarak zincir şeklini alırlar. Bu yapıya yalancı hif, yalancı hiflerden oluşmuş misellere de yalancı misel denir (60, 63 113).

4.2. *Candida*

Candida cinsi mantarlar Deuteromycota bölümünün Blastomycetes sınıfının Cryptococcales takımının Cryptococcaceae ailesinde sınıflandırılan yuvarlağımsı veya oval yapıda, tomurcuklanarak üreyen, 2-5 µm büyüklüğünde, türüne ve koşullara bağlı olarak gerçek veya yalancı hif oluşturan mayalardır (47, 115).

Bugün tespit edilen 200 kadar *Candida* türü vardır. Bunlardan 10’u; *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*,

Candida krusei, *Candida kefyr*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae*, *Candida stellatoidea* ağız içinde bulunan önemli *Candida* türlerinden başlıcalarıdır. Bunları sistematize etmek için gruplayacak olursak germ tüp pozitif ve germ tüp negatif *Candida*'lar olarak iki sınıfa ayırabiliriz. *C. albicans* ve *C.dubliniensis* germ tüp pozitif kandidaları oluştururken diğer türler germ tüp negatif kandidaları oluştururlar (25).

4.2.1. *Candida* tarihçesi

M.Ö. dördüncü yüzyılda Hippocrates ve Galen, ağızda oluşan pamukçuğu bir oral lezyon olarak tanımlamıştır (26)

1771'de Rosen von Rosenstein, ağızdaki pamukçuğun akciğerlerde invazif olarak yerleşebildiğini bildirmiştir (26).

1839'da Bernard Rudolph Conrad von Langenbeck, tifo nedeniyle ölmüş bir hastanın özafagal mukozasından izole ettiği günümüzde mantar olduğu düşünülen/bilinen organizmayı tifo ile ilişkili bir parazit olarak düşünmüş ve onu "Typhus-Leichen" (tifus cisimcikleri) olarak tanımlamıştır (68, 124).

1841'de Emil Berg, sağlıklı bebeklere "aftöz memran materyal" inokule etmiş sonrasında sağlıklı bebeklerde pamukçuk oluşumunu gözlemlemiş buna bağlı olarak da pamukçuğun mantara bağlı geliştiğini ortaya koymuştur (26).

1842'de Gruby ilk kez bugünkü adıyla *Candida albicans* olan mantarın bir "Sporotrichum" türü olduğunu bildirmiştir (68, 124)

1843'de Charles Robin bu organizmaya *Oidium albicans* olarak ilk ismini vermiştir (68, 124).

1888'de Hansen tarafından monilya olarak tanımlanmış olan bu mantar, ardından 1890'da Zoph tarafından *Monilia albicans* olarak isimlendirilmiştir.

1843'den beri bu mantar için çok fazla sinonim kullanılmış, en son olarak 1923'de Roth Berkhout pamukçuk etkeni olan mikroorganizmanın bir *Monilia* türü olmadığını bildirmiş ve cins ismi olarak *Candida*'yı önermiştir. Günümüzün mantar sistematğinde de halen bu ismiyle anılmaktadır (68, 124).

Germ tüp oluşturma ve klamidospore üretme gibi fenotipik özelliklerin benzerliklerinden dolayı fenotipik tanımlama yöntemiyle *C. albicans* olarak tanımlanan ve A serotipine dahil olan bazı kökenlerin bu mantardan farklı özellikler taşıdığı anlaşılmış, 1995 yılında yeni bir tür olan *C.dubliniensis* ortaya çıkarılmıştır. Bu tarihe kadar *C .dubliniensis* ve *C. albicans*'ın birbirinden ayırt edilememesi bilinmeyen bu türün yanlış tanımlanmasına sebep oluyordu (140).

Sullivan ve ark. (112) bu atipik *C. albicans* kökenlerini ilk kez İrlanda'da HIV pozitif bir hastanın ağız boşluğundan izole etmişlerdir. *C.dubliniensis*'in yeni bir tür olarak ayrıldığı o günden beri, geçmişte yapılan yanlış tanımlamaları belirlemek amacıyla retrospektif (geçmişe yönelik) çalışmalar yapılmıştır. Sağlıklı veya hasta, çocuk veya yetişkin bireylerden alınıp saklanmış çeşitli klinik örnekler değerlendirilmiş ve % 0,8'lerden % 16,5'lara kadar değişen oranlarda yanlış identifikasyon yapıldığına dair sonuçlar literatüre geçmiştir (30, 66, 67, 83 140).

4.2.2. *Candida* morfolojisi

Candida'lar maya ve hif formu olmak üzere iki temel yapısal form sergilerler. Bazı kandidalar her iki formu da hayat devrelerinde farklı zamanlarda gösterebilirler. Bu özelliğe dimorfizm denilir. *C. albicans* dimorfik bir mantar örneğidir . Maya ve hif formları arasındaki bu morfolojik değişim çevre şartları, beslenme durumu gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Dimorfizm gösteren mantarlar doğada ve laboratuvarlardaki in vitro kültürlerinde genelde küf şeklinde ürerken dokularda maya şeklinde bulunurlar.

Candida cinsi mantarlar ökaryotik hücre tipine sahiptir. Bütün üyeleri maya formundadır. Bununla birlikte *C. albicans* ve *C. dubliniensis* tomurcuklanmış blastospor şeklinden gerçek hif şekline kadar değişen morfolojileriyle dimorfizm özelliği gösterirler. Tomurcuklanma ile meydana gelen yavru hücrelere blastospor denir. Bu hücreler daha küçüktür, yuvarlak veya oval biçimlidir (60).

Blastospor yüzeğinin özel bir bölgesinden yeni bir hücre materyelinin oluşması sonucu gelişen tomurcuk uygun büyüklüğe ulaştığında hücrede çekirdek bölünmesi gerçekleşir, bölünen hücreler arasında septum meydana gelir. Bu septumlar porlu bir yapıya sahiptirler, aralarında sitoplazma ve içeriğindeki organellerin geçişi

sağlanmaktadır. Septumlarla bölünme sonucu oluşan çok sayıda hücre birimi içeren mikroskopik ince borulara hif adı verilir. Blastospor şeklinden hif şekline geçiş sürecinin ara gelişim basamağındaki yapıya çimlenme borusu adı verilir. Bu yapı blastosporun uç kısmından başlayarak devamlı olarak gelişir. Böylece birinden diğerine septum ile ayrılma göstermeden doğrusal bir uzama ile şekillenen yalancı hif oluşur. Hifler küflerin dolayısı ile de kandidaların temel yapı üniteleridir. Bir araya gelerek oluşturduğu yapılara misel (miselyum) denir ki bu yapıyı küf kolonisi olarak da değerlendirmek mümkündür (60, 63).

Mısır-unlu agarda *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'in dört şekil oluşturduğu görülür; yalancı hif, blastosporlar, klamidosporeler ve çok seyrek olarak gerçek hif. Besince fakir bir ortam olan mısır-unlu agar, maya hücrelerinin iyi yedek besin depolayan klamidosporeler oluşturmaya yol açar. Bunlar oluşurken hifin veya yalancı hifin bir yerinde, sitoplazma yoğunlaşarak hifin çapından daha geniş ve daha fazla şişerek duvarı kalınlaşır. Hiflerin içinde, kenarında veya uçlarında gelişebilen klamidosporeler, büyük (8 – 12µm), yuvarlak ve kalın duvarlı oluşumlardır. Bunlar açlığa ve diğer değişik şartlara karşı canlılığını koruyarak bir uyum sağlarlar (136).

Koloniden alınan örnek Gram pozitif boyanma özelliği gösterir. Sıvı besiyerinde 3 günlük inkübasyonu gerçekleşmiş olan kültürden hazırlanan preparatlarda 4-6 x 6-10 µm boyutlarında ovoid maya hücreleri görülür (15, 136).

4.2.3. *Candida*'nın kültürü ve biyokimyasal özellikleri

Bu mikroorganizmaların izolasyonu sorunsuzdur. İçerisinde antifungal bulunmayan neredeyse tüm besiyerlerinde üreyebilirler. Sabouraud dextrose agar ve Patetes dextrose agar, kandidaların laboratuvar kültürlerinde kullanılan en yaygın besiyerleridir. Bunlar mantarlar için özel besiyerleridir ve içeriğindeki yüksek şeker konsantrasyonu (% 3 dextrose ya da sükröz) ile asidik pH'sı (pH 4.0) birçok bakterinin üremesi için uygun değildir. Ayrıca bu besiyerlerine çeşitli antibiyotiklerin eklenmesi ile mayalar için seçicilik dereceleri arttırılabilir. *Candida*'lar aerobik solunum yaparlar; ancak ilk izolasyonun % 10 CO₂'li atmosferde yapılması önerilir (15, 82, 123).

Aerop koşullarda, 2,5-7,5 pH değerindeki besiyerlerinde, 20 – 38 °C’de mayamsı kokulu, krem renkli, yumuşak, S tipi koloniler oluştururlar. Yalnızca *Candida krusei*’nin kolonileri mat, sarı-beyaz renkli, yüzeyi pütürlü ve dağınıktır. Klinik örneklerden yapılan kültürler için 48 – 72 saat inkübasyon süresi gerekir iken pasaj kültürleri daha hızlı gelişim gösterir. İnkübasyon süresini birkaç haftaya çıkarınca dev koloniler gözlenir ve eskidikçe buruşur (15).

Son on yılda klinik örneklerden maya mantarlarının ve özellikle de birden çok türün eşzamanlı soyutlanması için laboratuvar tanısında hızlı bir değişim ve gelişme olmuştur. Bu yöntemlerden birisi de, hem izolasyon hem de kandida kolonilerinin renk ve şekillerine göre tür düzeyinde tanınması amacı ile kromojenik besiyerlerinin kullanılmasıdır. Kromojenik substrat içeren CHROMagar Candida özellikle *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* türlerinin olası identifikasyonunda kullanılmaktadır. Bu besiyerinde 37 °C’de 48 – 72 saat inkübasyon sonucunda *C. albicans* türleri açık yeşil, *C. tropicalis* koyu mavi-lacivert, *C. krusei* kolonileri de pembe renkli pütürlü koloniler oluşturmaktadır. *C. dubliniensis* kolonileri ise koyu mat yeşil renkte görülürler. Ancak *C. dubliniensis*’in kesin tanımı için koloni renginin tek başına yeterli olmadığı, çünkü *C. albicans*’ın açık, orta ve koyu yeşil kolonileri bulunduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan, -70°C de saklanan bazı *C. dubliniensis* tiplerinin açık yeşil renkte koloniler geliştirdikleri de rapor edilmiştir (70, 111).

Tüm *Candida* türleri glikozu fermente eder, hiçbirisi nitratı asimile edemez; kültüre edildiklerinde etanol, aseton ve organik asitlerden (asetik asit, formik asit, laktik asit, propionik asit, pürivik asit vb) zengin metabolik son ürünler oluşur. (121). *Candida*’lardan sadece *C. krusei* laktozu ve *C. guilliermondii* dulsitol’ü asimile eder. Bazı *C. krusei* izolatları hariç *Candida* türleri genellikle üreaz üretmez (60).

C. albicans glikoz, galaktoz ve maltozu fermente eder. Laktoz, mellibioz, rafinoz, melisitoz ve inülini fermente etmez. Glikoz, galaktoz, maltoz, sükroz, trehaloz, D-ksiloz ve D-mannit’i asimile eder; laktozu, rafinozu ve sellobiozu asimile etmez. Sikloheksidine duyarlıdır. Sükrozdan gaz üretmez (15)

C. dubliniensis galaktoz, glikoz, maltoz, sükroz, mannitol, sorbitol, 2-keto-glukonat ve glukozamini asimile ederken; arabinoz, ksiloz, riboz, sorboz, ramnoz, α -metil-D-glukozid, sellobioz, laktoz, mellibioz, melezitoz, rafinoz, gliserol, eritritol, glukronat, DL-laktat, levülinat, glukonat ve potasyum nitratı asimile edememektedir (115)

C. albicans ve *C. dubliniensis*'in genel biyokimyasal profilleri birbirine benzer iken bazı reaksiyonlarda farklılık göstermektedir. Buna örnek olarak *C. dubliniensis*'in, *C. albicans*'dan farklı olarak α -metil-D-glukozid ve ksilozu asimile edememesini (5) ve intraselüler β -glukozidaz aktivitesinin negatif olmasını (18) verebiliriz. Tablo 1'de *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'in benzeyen biyokimyasal profilleri ve kültür özellikleri gösterilmiştir.

Tablo 1. *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'in benzeyen biyokimyasal ve kültür özellikleri (60).

Biyokimyasal-kültür özellikleri	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida dubliniensis</i>
37 C'de üreme	+	+
Buyyonda zar oluşumu	+	+
Yalancı hif oluşumu	+	+
Gerçek hif oluşumu	+	+
Klamidospor üretme	+	+
Germ tüp oluşturma	+	+
Kapsül varlığı	-	-
Glikoz asimilasyonu	+	+
Maltoz asimilasyonu	+	+
Sükroz asimilasyonu	+	+
Laktoz asimilasyonu	-	-
Galaktoz asimilasyonu	+	+
Mellobioz asimilasyonu	-	-
Sellobioz asimilasyonu	-	-
İnoзитol asimilasyonu	-	-
Ksiloz asimilasyonu	+	+
Rafinoz asimilasyonu	-	-
Trehaloz asimilasyonu	+	+
Dulsitol asimilasyonu	-	-
Glukoz fermantasyonu	+	+
Maltoz fermantasyonu	+	+
Sükroz fermantasyonu	-	-
Laktoz fermantasyonu	-	-
Galaktoz fermantasyonu	+	+
Trehaloz fermantasyonu	+	+
Üre hidrolizi	-	-
Potasyum nitrat kullanımı	-	-
Fenol oksidaz üretimi	-	-
Askospor oluşumu	-	-

4.2.4. *Candida* infeksiyonlarına neden olan konak ve virulans faktörleri

Candida türleri çoğunlukla immun sistemi zayıflamış bireylerde infeksiyona sebep olur. İnfeksiyon oluşum sürecinde konak faktörleri ile *Candida*'nın virulans faktörleri etkin rol oynar.

A. Candida infeksiyonlarına zemin hazırlayan konak faktörleri

- İmmün sistemin baskılanması
- Deri ve mukoza bütünlüğünün bozulması
- Uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
- Hücre sel immün yetmezlik
- AIDS
- Diyabet
- Derin yanıklar
- Endokronolojik ve hematolojik hastalıklar
- Normal floranın baskılanması
- İntravenöz ilaç kullanımı
- Travma
- İnfüzyonlar için kullanılan kateterler
- Parenteral beslenme
- Maligniteler
- Mekanik ventilasyonlar
- Renal transplantasyon
- Kortikosteroid ve immün baskılayıcı sağaltımlar
- Peptik ülser
- Cerrahi girişimler
- Metal veya plastik protez kapaklarının kullanımı şeklinde sıranabilirler.

B. Candida türlerine karşı konak direnç faktörleri

Candida infeksiyonlarında, mikroorganizmanın patojenitesi ile konağın savunma mekanizmaları arasında kompleks bir etkileşim bulunmaktadır. Konak tarafından oluşturulan direnç faktörleri özetle aşağıda sıralanmıştır.

- Deri ve mukoza bütünlüğünün bozulması kandida invazyonuna yol açabilir (121, 127).
- Konağın mikrobiyal florası besinler ve epitelyal yapışma yüzeyleri için kandidalar ile yarışır, diğer taraftan toksik ürünler oluşturur. Geniş spektrumlu antibiyotik

kullanılması flora üyelerinin baskılanmasına ve *Candida* kolonizasyonunun artmasına neden olur (121, 127).

- Derinin dermis tabakasını geçip sistemik dolaşıma katılan kandidaların fagositozu önce polimorf nüveli lökositler (PNL) ve daha sonra monositler tarafından gerçekleştirilir. PNL sayısında azalma ya da fonksiyonlarında defektler meydana gelmesi durumunda *Candida* infeksiyonlarına karşı duyarlılık artmaktadır. Örneğin, kronik granülomatoz ve Chediak-Higashi sendromlu hastalarda kandidiyaz bulgusuna daha sık rastlandığı bildirilmiştir (62, 68).
- Monositler, myeloperoksidaz bağımlı ya da bağımsız oksidatif mekanizmalarla kandidalara karşı savunma yaparlar (94).
- Dokuya geçmiş makrofajların hem *Candida* blastokonidyelerini öldürme hem de yalancı hif formlarını fagosit etme özellikleri bulunur. PNL ve makrofajlarda hücre içi ölüm oksidatif ya da oksidatif olmayan mekanizmalarla gerçekleşmektedir (94).
- Doğal öldürücü hücreler fagositik olmayan bol ve büyük azurofil granüller içeren lenfositler olup, yalnızca bazı *Candida* türlerine sitotoksik etki göstermektedir (68).
- Ağız ortamında tükürüğün mekanik yıkayıcı özelliği bakterilerin ve mantarların mukoza yüzeyinden temizlenmesinde etkin bir rol oynamaktadır. Ayrıca tükürükte bulunan immunoglobulinler, prolinden zengin glikoproteinler, müsinler, sistatinler, laktoferrin ve lizozim gibi proteinler birçok mikroorganizma üzerine engelleyici etki göstermektedir. Başka bir deyişle, tükürük, kandidaların üremesi için uygun bir ortam değildir. Tükürük akış hızının az olması mikrop popülasyonlarının özellikle *C. albicans*'ın artmasına sebep olur. Örneğin, ağız kuruluğu ile karakterize Sjögren's sendromlu hastaların kandida infeksiyonlarına karşı daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (1, 7).
- *Candida* infeksiyonlarına karşı korunmadan sorumlu direnç mekanizmaları hem hücresel hem de hümmoral cevabı içerir. Kandidiyaz bulgusunun oluşmasına sebep olan immun yetmezliği çoğunlukla T lenfosit sayısının azalması ile ilişkilidir. Ancak B lenfosit sayısının azalması sonucu oluşan antikor eksikliği sendromlu hastalarda asla ortaya çıkmamaktadır. Yardımcı T (Th1) lenfositler interferon γ (IFN- γ) ve tümör nekroz faktör α (TNF- α) salgılayarak maya infeksiyonlarına karşı hücresel bağışıklığı aktive ederler (104).

- Serumda bulunan demir bağlayan proteinlerin, *Candida* büyüme faktörü olduğu düşünülen demiri bağlayarak *Candida*'nın üremesini inhibe ettiği belirtilmiştir. (68)

***C. Candida*'ların patogeneze ve virülans faktörleri**

Mantarlar, virülans faktörleri sayesinde konak dokusunun bütünlüğünün bozulmasına neden olur ve konak dokularına invazyon yapar. *Candida*'nın türüne ve kökenine bağlı olan virülans faktörleri konağın direncini yenmek için birlikte rol oynarlar. Konak dokusu yüzeyine yapışma, biyofilm oluşturma, fenotipik değişim, hücre duvarı yapısı, maya hif dimorfizmi ve enzim üretimi *Candida*'ların virülansından sorumlu faktörlerdir. Patogenlik kriterleri denilen bu faktörler *C. albicans* ve diğer *Candida* türlerinin virülansını belirler (68, 74, 121, 133).

• Yapışma (Aderans)

Yapışma konak ile mikroorganizma arasındaki özgün bağlantının gerçekleştirilmesidir. *Candida*'ların mukoza epitel ve endotel hücrelerine yapışması kolonizasyon ve infeksiyon oluşum sürecinde ilk basamaktır. *C. albicans*'ı bu cins içerisinde en sık karşılaşılan tür olarak öne çıkaran özelliklerin başında mukoza yüzeylerine yapışma yeteneği gelir. Aderans, mikroorganizmanın yüzeyindeki adezinler ile konak epitel-endotel hücre yüzeyindeki reseptörlerin birbirleri ile etkileşimi sonucu oluşur (133).

• Biyofilm

Biyofilm, canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri ekstrasellüler polimerik yapıda jelse bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir (133). Bazı *Candida* türleri slime benzeri yapılar oluşturarak kalın bir film tabakasına yol açarlar. Bu sayede tıbbi gereçlerin yüzeyine tutunarak sürekli bir infeksiyon odağı haline gelen kolonizasyon oluşturabilirler. *Candida* türleri arasında slime üretimi en sık *C. albicans*'da görülmektedir (80, 133).

Tıbbi gereçlerde ortaya çıkan biyofilmelerde hem kandida hem de konağa ait faktörler rol almaktadır. Yapışma ve kolonizasyon için mantarın slime faktörü, konağın da fibrin ve fibronektinlerinin gerekli olduğu ileri sürülmüştür. Ancak, son yıllarda yapılan araştırmalarda mucin, fibronektin ve mannan bağlayan tükürük veya serum proteinlerinin *Candida* biyofilmi oluşmasını kolaylaştırmadığı hatta akrilik yüzeylerde *Candida* biyofilmi oluşmasının karmaşık bir olay olduğu bildirilmiştir (41).

• Enzimler

Candida'lar konağın hücre zarlarını bozarak dokuda ilerlemelerine (invazyona) yardımcı olan proteinaz ve fosfolipaz gibi enzimler oluşturma yeteneğine sahiptirler. Zarlar lipid ve proteinlerden yapılmış olduklarından *Candida* tarafından salgılanan bu enzimlerin hedefini oluştururlar (89, 133).

Patojen *Candida*'lar tarafından salgılanan proteinaz enzimi, mayanın yayılmasını, mukozalarda devamlı kalmasını ve mayayı konağın savunma sistemine karşı korumasını sağlamaktadır. Proteinaz enziminin yalnızca *C. albicans* tarafından salgılandığı ancak *C. tropicalis* ve *C. kefyr*'de de bulunduğu gösterilmiştir (90, 109).

C. albicans'ın diğer önemli virulans faktörlerinden biri olan fosfolipaz enzimi, konak hücresinin parçalanmasına neden olmaktadır. Ortaya çıkan bu etkisi nedeni ile fosfolipaz enzimi enfeksiyonun patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (109).

• Morfolojik dimorfizm (Morfolojik değişim)

Candida türleri maya ve hif formları arasında geri dönüşümlü bir geçiş yeteneğine sahiptir. Morfolojik değişim bu form dönüşümünü ifade eder. Bazı mantarlar çeşitli koşullara bağlı olarak yalancı veya gerçek hif oluşturabilirler. Yalancı hifin maya hücreleri ile gerçek hif arasında bir ara form olduğu düşünülür. *C. glabrata* dışında bütün *Candida* türleri yalancı hif oluşturmaktadır. Gerçek hif formu ise sadece *C. albicans* ve *C. dubliniensis* türlerinde bulunmaktadır (11, 80).

Morfolojik değişim, *Candida*'ların yaşamlarını devam ettirebilmesi için değil farklı ortam koşullarında çoğalabilmesi için geliştirdiği bir mekanizmadır. Hif formunun dokuya maya hücresinden daha kolay invaze olabilmesi, fagositler tarafından sindirilmesinin daha zor olması, aktif semptomlu infeksiyonlarla ilişkili olması ve plastik yüzeylere yapışmayı sağlayan fibril yapısında yüzey oluşturabilmesi *Candida*'nın virulans faktörleri arasında yer aldığı bildirilmiştir. Ancak maya hücresi virulansının daha fazla olduğunu belirten görüşler de vardır. Bazı yazarlar ise infeksiyon oluşturma bakımından iki form arasında fark gösterememişlerdir (11, 55).

4.2.5. *Candida* türlerinin neden olduğu infeksiyonlar

Son 20 yılda önemli patojenler haline gelen *Candida* türleri, hem yüzeysel hem de yaşamı tehdit edici sistemik infeksiyonlara neden olabilirler. Yüzeysel infeksiyonlar daha çok toplumda görülürken, derin sistemik infeksiyonlar hastane kaynaklıdır (nozokomiyal). *Candida*'lar genellikle fırsatçı mikroorganizmalardır. Çeşitli risk faktörleri olan kişilerde *Candida* infeksiyonu görülür ve risk faktörlerinin derecesi ile orantılı olarak infeksiyon şiddeti artar. *Candida* infeksiyonlarının klinik yansıması I- kutanöz ve mukozal, II- kronik mukokutanöz ve III- sistemik kandidiazis olmak üzere üçe ayrılır (62, 82).

I- Mukozal ve kutanöz kandidiyaz

Kutanöz *Candida* infeksiyonları genellikle doğal olarak oluşmaktadır. Travma, diabet, AIDS, gebelik, yaşın çok küçük veya ilerlemiş olması, doğum kontrol hapları, uzun süre antibiyotik ya da kortikosteroid ile sağaltım, immün yetmezlik, hormonal bozukluk ve derinin uzun süre nemli kalması gibi faktörler bu tür *Candida* infeksiyonunun oluşmasına neden olabilirler. Oluştuğu bölgeye göre değişik isimler alan mukozal ve kutanöz kandidiyaz çeşitleri mevcuttur (68, 82, 131). Bunlar:

- Oral kandidiyaz
- Özafagus kandidiyaz (*Candida* özafajiti)
- Özafagus dışı gastrointestinal kandidiyaz

- Vajinal kandidiyaz (vulvovajinit)
- Deri kandidiyazı (örnek: onikomikoz ve paronişya) şeklinde sıralanabilir.

II- Kronik mukokutanöz kandidiyaz (KMK)

KMK, genellikle lökosit fonksiyon bozukluğu veya endokrin sistem ile ilgili defektler sonucunda deri ve mukoza membranlarında oluşan kronik yüzeysel bir enfeksiyondur (82, 86, 94, 131).

III- Sistemik kandidiyaz

Sistemik kandidiyaz, *Candida* türlerinin kan dolaşımına girmesinden kaynaklanır ve vücudun herhangi bir doku veya organı ile ilişkili olabilir.(121, 123)

Kalp (perikardit, miyokardit, endokardit), meninksler (menenjit), idrar yolu (üretit ve sistit), deri, göz, karaciğer ve dalak enfeksiyonun en sık gerçekleştiği bölgelerdir (121, 123)

Sistemik kandidiyaz kandidemiye izler. Konak savunmasının normal olduğu durumlarda, kandidemi geçici olup, vücut, mantarı kısa sürede uzaklaştırır. Fakat immün yetmezlik durumunda *Candida* kandan uzaklaştırılmaz ve kanda çoğalarak herhangi bir organ veya sisteme yerleşip enfeksiyon odakları meydana getirir (121)

4.2.6. *Candida* türlerinin tanısı

Candida türlerinin tanısında geleneksel ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Ekim yapılan besiyerinde üreme görülmesi sonucu mayanın hif veya yalancı hif oluşturup oluşturmadığı, klamidospore varlığı, karbonhidrat asimilasyonu, nitrat asimilasyonu, şeker fermentasyonu, enzimsel ve diğer metabolik aktivitelerinin araştırılması tanıda geleneksel yöntemleri oluşturmaktadır. Sinyal ve nükleik asit amplifikasyonu ise moleküler yöntemler olarak kullanılmaktadır (42).

I- Geleneksel yöntemlerle tanı

Candida türlerini üretmek zor değildir ve türe göre 24 – 72 saat sonra koloniler oluşur. Kültürde oluşan maya kolonilerinin tanısında uygulanacak ilk basamak **germ tüp** testidir. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* hücreleri insan veya tavşan serumu içinde 37 °C’de iki saat inkübe edildiğinde çimlenme borusu (germ tüp) ve bunu takiben gerçek hif oluştururlar (35). Çimlenme borusunun saptanması etkenin *C. albicans* ya da *C. dubliniensis* olduğunu, saptanamaması büyük olasılıkla *C. albicans* ya da *C. dubliniensis* dışı bir tür olabileceğini düşündürür. Kesinlik ifade edilememesinin sebebi ise *C. albicans*’ların yaklaşık % 5’inde çimlenme borusu testinin negatif çıkmasındandır (35, 60, 131). Bu durum uzun inkübasyon ve yoğun maya inokulumu kullanılması nedeniyle ortaya çıkabileceği gibi antifungal sağaltım uygulanması sonucunda da görülebilir (60, 131). Bu test uygulanırken dikkat edilmesi gereken bir nokta da göz yanılmalarıdır. Örneğin, *C. tropicalis* çimlenme borusu ile karıştırılabilecek hif başlangıcı benzeri yapılar oluşturur, ancak hifin ana hücreden çıkış yerinde darlık mevcuttur ve blastokonidyaları *C. albicans*’inkilerden daha geniştir (51, 60, 131)

C. albicans ve *C. dubliniensis* türleri %1 Tween 80 içeren mısır-unlu agar gibi besin açısından fakir besiyerlerinde **klamidospor** oluştururlar. Klamidosporlar *C. albicans* ve *C. dubliniensis*’in en belirgin özelliğidir ve başka bir *Candida* türü tarafından nadiren üretilir (131).

C. albicans genellikle gerçek veya yalancı hiflerin ucunda tek tek klamidosporlar üretir. Buna karşın *C. dubliniensis*’e ait klamidosporlar çok daha bol ve çoğunlukla çiftler halinde veya üçlü bazende kümeler oluşturularak olağandışı düzen gösterirler (6, 75, 131).

Üreaz testi *Candida*-dışı mayalar ile *Candida*’ların birbirinden ayrımında önemlidir. *C. lipolitica* ve *C. krusei*’nin bazı suşları haricinde hemen hemen tüm *Candida* türleri üreaz negatiftir. Bu test ile üreaz enzimi üretimi saptanır. Bu enzim üreyi parçalayarak amonyak açığa çıkartır. Oluşan amonyak, besiyeri pH’sını arttırarak fenol kırmızısı indikatörünün sarı renkten pembe renge dönüşmesini sağlar (51)

Hızlı **trehaloz testi**, *C. glabrata*'nın tanısında kullanılan ve 3 saat gibi kısa bir sürede sonuç veren bir yöntemdir. Trehalozu kısa sürede hızlı bir şekilde hidrolize eden *C. glabrata*, birçok maya tarafından hidrolize edilen maltoza etki göstermemektedir (53, 87, 129).

Hızlı *Candida* tanısı amacıyla birçok kromojenik besiyeri geliştirilmiştir. Türe özgü kromojenik maddeler içeren bu besiyerlerinde *Candida*'lar, ürettikleri enzimler ile reaksiyona girerek çeşitli renkte koloniler oluşturmaktadırlar. Bu şekilde oluşan farklı renk ve morfolojiye sahip koloniler tür düzeyine kadar tanımlanabilirler. CHROMagar *Candida* besiyerinde *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* gibi *Candida* türlerinin sırasıyla oluşturdıkları yeşil, çelik mavi ve toz pembe renkte kolonileri sayesinde ön tanısı yapılabilmektedir (17, 137).

CHROMagar *Candida* besiyerinden başka, Albicans ID Agar, *Candida*ID, Candiselect medium, BiGGY agar, Fluoroplate *Candida*, Fongiscreen 4H, Murex *Candida albicans* gibi çok sayıda kromojenik besiyeri bulunmaktadır (46, 60). Ancak, bu besiyerlerinde yapılan kültür çalışmalarında, CHROMagar *Candida* besiyerinin daha güvenilir olduğu bildirilmiştir.

Candida türlerinin **karbonhidratları asimile** (glukoz, galaktoz, maltoz, sükroz, trehaloz, nişasta, D-ksiloz) etme özelliklerini belirleyen çeşitli ticari kitler geliştirilmiştir. Bu kitlerde mayaların oksijenli ortamda karbonhidratları kullanabilme özellikleri ve buna bağlı olarak enzim varlıkları belirlenir. Ortaya çıkan biyokimyasal profil tanı koydurucudur (60).

Bacti-Card *Candida*, Murex *C. albicans*-50, Albicans-sure, API 20C AUX, API *Candida*, Uni-Yeast-Tek, Microsan Yeast Identification Panel ve Vitek Yeast Biochemical Card System gibi ticari karbonhidrat asimilasyon kitleri mevcuttur (46). Bunlardan en yaygın olanı API 20C AUX'tur. Sonuçları mısırunu-tween 80 ile beraber değerlendirildiğinde birden fazla türün tanımı yapılabilmektedir (46, 51).

Candida türlerinin tanısında koloni oluşumunu takiben aynı gün içinde sonuç veren enzim temeline dayalı hızlı tanı testleri bulunmaktadır. Bu sistemler maya türlerine özgün ekzo-enzimleri saptayarak iki veya üç muhtemel tür arasındaki karışıklığın ortadan kaldırılmasında yararlı olabilmektedir. *Candida albicans* screen, Albistrip ve BactiCard *Candida* test kitleri *C. albicans* tanısında kullanılmaktadır. Üç sistemde de β -galaktozaminidaz ve prolin aminopeptidaz enzimlerinin üretimi

değerlendirilmektedir. Albicans-dışı *Candida* türleri ikisini de üretememekte ya da sadece birini üretirken *C. albicans* her iki enzimi de üretmektedir (28).

II- Moleküler yöntemlerle tanı

Candida'ların tanısında geleneksel yöntemlerin yanı sıra moleküler yöntemler de kullanılmaktadır. Moleküler yöntemler arasında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), geleneksel yöntemlerden daha duyarlıdır. 1980 yılında Kary Mullis tarafından tanımlanan PCR tekniği, moleküler araştırmaların yapılmasında büyük kolaylıklar sağlamış ve günümüz PCR çalışmalarının temelini oluşturmuştur. Kary Mullis'in *Thermus aquaticus* bakterisinden elde ettiği termostabil Taq DNA polimeraz enzimi sayesinde in vitro şartlarda spesifik DNA dizilerinin çoğaltılması mümkün hale gelmiştir (42).

Candida'ların cins veya tür düzeyinde tanımlanmasında, epidemiyolojik tiplendirme, virülans faktörlerinin belirlenmesi, antifungal direnç genlerinin araştırılması, mutasyon incelemeleri, sınıflandırma ve filogenetik analizlerde PCR gibi moleküler yöntemler kullanılmaktadır (10, 32). Fenotipik olarak *C. albicans*'a çok benzeyen *C. dubliniensis*'in kesin tanısı moleküler yöntemlerle sağlanmaktadır (37, 76, 116).

Restriksiyon enzimleri DNA' yı spesifik bölgelerden kesen ve bakterilerde yabancı DNA' lara karşı savunma yapan bakteriyal enzimlerdir. DNA üzerinde 4 – 8 nükleotit uzunluğundaki özel bölgeleri tanıyarak bu bölgelerde fosfodiester bağlarını hidrolize eder ve DNA' nın kesilmesini sağlarlar. Her Restriksiyon enziminin kendisine özgü tanıma bölgeleri vardır (42).

Ticari olarak satılabilen restriksiyon enzimleri DNA bölgelerini fragmanlara ayırmaktadır. Bu fragmanların jelde yürütülmesi ve uzunluklarına göre genotiplenmesi yapılabilmektedir.

Bacillus amyloliquefaciens bakterisinden elde edilen BamHI enziminin tanıma bölgesi :

5'...GGATCC...3'

3'...CCTAG G...5' dir.

C. albicans'a ait HWP1 geni *BamHI* restriksiyon enzimine özgü baz dizisini içerir, *C.dubliniensis* HWP1 geninde bu enzime özgü gen dizisi bulunmamaktadır. Bu nedenle *BamHI* restriksiyon enzimi *C. albicans*'ın PCR ürünü olan 1180 nükleotit uzunluğundaki (bç) HWP1 genini iki parçaya (793 ve 387 bç) ayırır. *C. dubliniensis*'in 930 bç'lik HWP1 geni enzimden etkilenmez tek parça halinde kalır (105).

4.2.7. Antimikotik ilaçlar

Eğer bir birey *Candida* ile infekte olmuş ise lokal veya genel bir immun probleminden şüphe edilebilir. Böyle bir durumda kan şekeri kontrol altına alınmalı, varsa kullandığı kortizol veya geniş spektrumlu antibiyotikler kesilmeli, immun yetmezlik oluşturabilecek her türlü sebep sorgulanmalı ve mümkünse giderilmelidir. İmmün problem bulunamadığında veya düzeltilemediğinde anti-kandidal tedavi uygulanır(15).

Flukonazol gibi azol türevleri özellikle oral kandidiyaz tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer mukoza ve deri infeksiyonlarında çoğunlukla nistatin, kristal viole, ketokonazol, flukonazol, itrakonazol veya mikonazol tedavisi uygulanmaktadır. (82, 123)

Kronik mukokutanöz kandidiyaz'lı hastalar ketokonazol ve diğer azollere olumlu yanıt vermektedir. Ancak bu hastalarda genetik bir defekt söz konusu olduğundan tedavi yaşam boyu sürmektedir (82, 123). İnvazif sistemik kandidiyaz tedavisinde ise amfoterisin B ile bazen oral flusitozin, flukonazol veya kaspofungin bileşimi kullanılmaktadır (82).

Maya hücrelerinde antifungal ilaçlara karşı direnç gelişimi kandidiyaz tedavisinde önemli bir problemdir. Oral kandidiyaz belirtisi gösteren HIV ile infekte hastaların ağız içinden izole edilen *C. dubliniensis* türlerinin flukonazole karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir (96). Nyugen (92), gelişen flukonazol direncinin uzun süre ilaç kullanımından kaynaklandığını savunmuştur.

4.3. Oral *Candida* Taşıyıcılığı

İnsan ağızı, vücudun en kompleks ve değişken mikrop florasını oluşturur. Uygun ısı, nemi, pH'sı, çeşitli besinler içermesi ve değişik bölgelerinde farklı oksijen basıncının bulunması birçok mikroorganizma türünün kolonize olmasını sağlamaktadır. Bunların arasında birçok maya türü bulunabilmektedir. Çeşitli çalışmalara bakıldığında, *C. albicans* en sık izole edilen maya olmakla birlikte ağız içinde *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* ve *C. parapsilosis* gibi diğer *Candida* türleride yer almaktadır. Sağlıklı bireyler için bildirilen taşıyıcılık oranı, % 25 – 75 arasındadır (84). Bu oran örnek alınan popülasyona, yaşa göre ve örnek alma tekniğinin hassasiyetine bağlı olarak değişmektedir (93). Yapılan çalışmalarda *C. albicans* en fazla dil dorsumundan izole edilirken bunu sırasıyla damak ve yanak mukozası takip etmektedir (4, 36, 79, 126).

Ağız içinde, başta *C. albicans* olmak üzere *Candida* türlerinin varlığı bir kandidiyaz belirtisi olduğunu göstermez, çünkü bu mikroorganizmalar sağlıklı bireylerin ağızında komensal olarak yaşarlar. Ancak bazı oral ve sistemik faktörlerin etkisi altında kommensal durumdan virulan duruma geçerek farklı tipte oral kandidiyaz'a sebep olurlar (27, 107).

4.4. Oral Kandidiyaz

Oral mukozada en sık rastlanan mantar enfeksiyonudur. *C. albicans* bu enfeksiyonla ilişkili tür olmakla beraber, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* ve *C. krusei* gibi *albicans* olmayan diğer mantar türlerinde patojenik olduğu bildirilmiştir. *C. dubliniensis* ise, yakın zaman önce ilk kez HIV ile enfekte kişilerin oral lezyonlarından izole edilmiş ve daha sonra diğer sistemik enfeksiyonların lezyonlarında da bulunmuştur. Oral kandidiyaz'ın görülme sıklığının yüksek olması, normal florada bulunan kandidanın hastalık etkeni olmasını kolaylaştıran faktörlerin artmasına bağlıdır (57, 112).

Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, uzun süren kanser tedavisi, immun sistem yetmezliği, HIV, diyabet ve şiddetli beslenme bozuklukları oral kandidiyaz'ın ortaya çıkmasına neden olur. Oral risk faktörleri olarak hareketli protez kullanımı,

tükürük bezi fonksiyonunun azalması, inhale kortikosteroid kullanımı, oral kanserler ve kötü ağız hijyeni sayılabilir (50, 124).

Oral kandidiyaz psödomembranöz, eritematöz ve hiperplastik olmak üzere üç ayrı tipe ayrılır. Hiperplastik tip genellikle kronik diğerleri ise akut lezyonlar şeklinde oluşur (106, 38). Bu iyi tanımlanmış kandidiyaz tiplerine ek olarak çok faktörlü kandida-bağılantılı başka bir hastalık grubu da bulunmaktadır. Bunların başında protez kullananların üçte ikisinde görülen protez stomatiti gelir (9, 24).

Psödomembranöz kandidiyaz (Pamukçuk)

Oral kandidiyaz'ın en yaygın şeklidir. Klasik olarak akut bir enfeksiyondur fakat astım tedavisi için nefes (inhalasyon) yoluyla kortikosteroid alan ve immun yetmezliği olan kişilerde aylar, hatta yıllar içinde tekrarlayabilir. Genellikle yeni doğanlarda, immun sistemi baskılanmış kişilerde, uzun süre antibiyotik tedavisi görmüş kimselerde ve HIV ile enfekte hastalarda ortaya çıkar. Lösemi ve diğer maligniteli hastalarda da sık görülür (4, 36, 88, 106).

Klinik olarak dil üzerinde, diş etlerinde ve bukkal mukozada beyazımtırak plaklar tarzında ağrısız lezyonlar görülür. Plaklar alttaki mukozaya yapışık, kazındığında alttan eritematöz zemin ortaya çıkar ve bu hiperplastik kandidiyaz (oral lökoplaki) ile ayırıcı tanıda önemlidir. Enfeksiyon boğaza yayılabilir ve ciddi disfajiye yol açabilir (4, 36, 106).

Eritematöz (Atrofik) kandidiyaz

Uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, kortikosteroid kullanımı ve HIV enfeksiyonu ile ilişkilidir. Daha çok protez altındaki sert damak bölgesinde görülmesine rağmen papillaların kaybıyla beraber dilin dorsumunda ve diğer mukozal yüzeylerde de oluşabilir. Bu bölgelerde düz eritemli ve parlak lezyonlar görülür. Hastalar yanma hissinden şikayetçi olabilirler (4, 106, 127).

Hiperplastik kandidiyaz (Oral lökoplaki)

Nedeni tam olarak bilinmeyen, immun sistem yetmezliği ile ilişkili olabileceği düşünülen seyrek rastlanan oral kandidiyaz şeklidir. Genelde yanak mukozasının anterior kısmında veya dilde, silindiğinde uzaklaşmayan bulunduğu yüzeye sıkıca yapışmış beyaz plaklar şeklinde ortaya çıkar. Bu beyaz plakların görünümü küçük, az yoğun ve şeffaf formlardan büyük, yoğun ve opak formlara kadar çeşitlilik gösterir. Bazı kaynaklar, hiperplastik kandidiyaz'ın kanser gelişimine katkıda bulunduğu, malign transformasyon taşıyabildiği görüşünü içerir (4, 36, 106).

Candida ile ilişkili protez stomatiti

Candida ile ilişkili protez stomatiti tam veya bölümlü hareketli protezlerin altındaki bölgede ortaya çıkan kronik eritem ve doku ödemidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflandırmasında "denture stomatitis" (protez stomatiti) olarak geçmektedir. İleri yaşlarda protez kullananların yaklaşık üçte ikisinde *C.albicans*, *C.glabrata* ve *C.tropicalis* gibi türler soyutlanmıştır. Lezyonlarından en sık izole edilenler arasında *C. albicans* (yaklaşık olarak %70 - 80) gelmektedir (4, 13, 40).

Protez stomatiti eritemli bölge her zaman protez sınırları içerisinde kalır, olgular büyük çoğunlukla üst çenede gözlemlenir. Alt protezler vakum yapmadıklarından dolayı mukozayı sıkıca örtmezler, bu sayede protezle mukoza arasına giren tükürük hem bölgeyi temizler hem de dış etkenlerin seyreltilmesini sağlar. Bu nedenle alt çenede protez stomatiti çok nadir izlenir (4, 127).

Protez stomatiti asemptomatiktir yani yanma, yara hissi, tat değişikliği gibi subjektif semptomlar ya hiç yoktur ya da çok azdır. Hastalar genelde oluşan değişikliğin farkına varamazlar (36).

Kandidiyaz tedavisinde ilk yapılması gereken *Candida*'nın deri ve mukozalarda kolonize olmasını sağlayan faktörleri ortadan kaldırmak ya da tedavi etmektir. Komplike olmayan oral kandidiyaz olgularında oral hijyen ve topikal tedavi olarak imidazole türevleri genellikle yeterli olmaktadır. Ağır olgularda veya immun yetmezliği olan kişilerde 1 – 2 hafta süre ile oral flukonazol tedavisi gerekir (15, 135).

5. GEREÇ ve YÖNTEMLER

5.1. Gereç Listesi

5.1.1. Germ tüp ve klamidospor pozitif suşlar

5.1.2. Referans (standart) suşlar

a) *Candida albicans* CBS 6431

b) *Candida dubliniensis* CBS 7987

Her iki standart da Central Bureau voor Schimmelcultures, Baarn, Hollanda kaynaklıdır.

5.1.3. Besiyerleri

- Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)
- Yeast Extract Peptone Dextrose Broth (YPD)
- CHROMagar Candida
- Mısır Unlu Tween 80 Agar

5.1.4. PCR malzemeleri

- 100 bp Ladder DNA (Fermentas)
- 1X TAE Buffer (Tris, Asetik asit, EDTA)
- 5 U/µl Taq DNA polimeraz (Fermentas)
- 6X Loading Dye (Fermentas)
- dNTP (Fermentas)
- MgCl₂ (Fermentas)
- 10X Taq buffer (Fermentas)
- 1 µl/ U BamH1 restriksiyon enzimi
- 10X BamH1 Buffer
- CRR-r ve CRR-f primerleri (IDT)

- 1,5 ml ve 0,5 ml'lik ependorflar (Axygen)
- Mavi, sarı, beyaz pipet uçları (Finntip)
- Agaroz (Basica Le)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Eldiven (Lady)
- Parafilm
- High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche)

5.1.5. Kullanılan araçlar ve aygıtlar

- Terazî
- Etüv
- Otoklav
- Pastör fırını
- Buzdolabı (+4 °C)
- Dondurucu (-20 °C)
- Santrifüj
- Vorteks karıştırıcı
- Işık mikroskobu
- Tek kanallı otomatik pipetler
- Termal döngü cihazı
- Elektroforez tankı ve cihazı
- Mikrodalga fırın
- UV görüntüleyici

5.2. Yöntemler

5.2.1 *Candida* suşları

Bu çalışmaya, 1997 – 2003 tarihlerinde Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı Laboratuvarına gönderilen damak ve dil üstü sürüntü örneklerden izole edilmiş 150 maya suşundan tanımlanan 81 *C. albicans* suşu alınmıştır. Suşların 36'sı protez stomatiti bulgusu gösteren 40 – 70 yaş arası

protez kullanan hastalardan, 45'i ise 0 – 60 yaş arası protez kullanmayan sağlıklı bireylerden elde edilmiştir. Çalışmamızda kalite kontrol suşu olarak *C. albicans* CBS 6431 ve *C. dubliniensis* CBS 7987 kullanılmıştır.

Çalışma başlangıcında stok suşların Sabouraud dextrose agar besiyeri plaklarına pasajları yapılmış ve 37°C de 48 saat inkübe edilmiştir. *C. dubliniensis* tanımlanması için; germ tüp, klamidospor oluşturma ve farklı ısı derecelerinde üretme gibi geleneksel ayırıcı tanı yöntemleri uygulanmış, moleküler yöntemlerle karşılaştırılmıştır.

5.2.2 Geleneksel yöntemler

Germ tüp testi

Saf kültürden bir öze dolusu koloni materyali, 1 ml steril insan serumu içerisinde süspanse edilmiş ve 37°C de etüvde 2 – 3 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda süspansiyondan öze dolusu örnek alınmış ve temiz bir lamın yüzeyine konmuştur. Üzeri lamel ile kapatılmış, ışık mikroskopunda 40x lik büyütmede incelenerek germ tüp oluşumu araştırılmıştır (15).

Mısır unlu-Tween 80 Agar besiyerinde klamidospor oluşumu

Sabouraud dekstroza agar (SDA)'da üremiş 24 saatlik pasajdan iğne öze ile koloniden alınmış maya örneği %1 tween 80 içeren mısır unlu agar üzerine çizgi ekimi yapılmıştır. Ekim çizgilerin üzeri steril edilmiş lamel ile kapatılmıştır. Petriler oda sıcaklığında (20 – 24 °C de) 48 – 72 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda ışık mikroskobu altında incelenmiş suşların tekli, ikili, grup veya zincir şeklinde ya da hif ucunda küme halinde klamidospor oluşturma özelliğine bakılmıştır. Mısır unlu agar besiyerinde *C. dubliniensis* bol miktarda ikili, üçlü, grup veya zincir halinde, *C. albicans* ise tekli ya da nadiren ikili klamidospor oluşturmuştur (12, 33).

Farklı ısı derecelerinde üretme

SDA besiyerinde üretilmiş *C. albicans* suşlarından fosfat tamponlu ortamda süspansiyonlar hazırlanmış ve bulanıklık 0.5 Mc-Farland' a göre ayarlanmıştır . Her süspansiyondan sabouraud dextrose agar plaklarına üç ayrı ekim yapılmıştır. Birinci plaklar 37°C de, ikinci plaklar 42°C de, üçüncü plaklar 45°C de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda her suşun üç plaktaki üreme durumları karşılaştırılmıştır (112).

CHROMagar Candida besiyerinde kültür

SDA besiyerinde üremiş tüm *Candida* suşlarından CHROMagar *Candida* besiyerine azaltma yöntemi ile ekim yapılmış ve 37°C de 48 saat inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda besiyerinde üreyen maya kolonileri renk oluşturmalarına göre değerlendirilmiştir. Açık yeşil tonları *C. albicans*, koyu yeşil ve mat tonları ise *C. dubliniensis* olarak tanımlanmıştır (112, 128).

5.2.3 Moleküler (Genotipik) yöntemler

DNA izolasyonu

Çalışma kapsamına alınan 81 stok *C. albicans* suşu yeast extract peptone dextrose (YPD) sıvı besiyerine ekilmiş, 37 °C de 18 – 24 saat inkübe edilmiştir. DNA izolasyonları küçük modifikasyonla “High Pure PCR Template Preparation” ticari kit'in protokolüne uyularak sağlanmıştır. Kit ile yapılan DNA izolasyonun ilk basamağında fosfat tampon'lu su (PBS) içinde süspanse edilmiş maya hücreleri litikaz enzimi ile birlikte 37°C de 24 saat bekletilmiştir.

PCR karışımının hazırlanması ve gen amplifikasyonu

Guiseppe Criseo ve ark. (105) *C. dubliniensis* ve *C. albicans* türlerini tanımlamak için uyguladıkları yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır.

HWP1 gen bölgesini çoğaltmak için 50 µl'lik PCR karışımı aşağıda belirtilen ölçülere göre eppendorf tüplerinde hazırlanmıştır;

- 10 µl kalıp DNA (5 ng/ µl),
- 5 µl Taq DNA polimeraz tamponu (10X), [100 mM Tris HCl (pH 8.8), 500 mM KCl, % 0.8 Nonidet P40]
- 0.5'er µl CRR-f (10 pmol/µl) ve CRR-r (10 pmol/µl) primerleri,
- 1 µl dNTP (40 mM) karışımı,
- 3 µl MgCl₂ (25 mM),
- 1 µl Taq polimeraz enzimi (5 U/µl), tercihen 3 µl de kullanılabilir,
- 27-29 µl Steril saf su

Parantez içerisinde stok malzeme konsantrasyonları belirtilmiştir.

CRR-r primerinin baz sekansı: 5'- ACA GTT GTA TCA TGT TCA GT -3'

CRR-f primerinin baz sekansı: 5'- GTT TTT GCA ACT TCT CTT TGT A -3'

Hazırlanan PCR karışımları ısı döngü cihazına konmuş, aşağıda belirtilen program uygulanmıştır.

95 °C'de 5 dakika	ön denatürasyon	} 34 döngü
94 °C'de 45 saniye.....	(denatürasyon)	
55 °C'de 60 saniye.....	(eşleşme)	
72 °C'de 90 saniye.....	(sentez)	
72°C' de 10 dakika	son uzatma olarak uygulanmıştır .	

HWP1 gen ampliconlarının restriksiyon enzim analizi (REA)

Çalışmamızda, restriksiyon analizi için aşağıda belirtilen ölçümlere göre 25 µl'lik reaksiyon karışımı hazırlanmış, 37 °C'de 3 saat bekletilmiştir.

- 10 µl PCR örneği
- 2.5 µl BamH1 Tamponu (10X),
- 1 µl Bam H1 Restriksiyon Enzimi (1 U/ µl),
- Distile Su

Parantez içerisinde stok malzeme konsantrasyonları belirtilmiştir.

Agaroz jelelektroforezinde DNA fragmanlarının görüntülenmesi

PCR ve RFLP yöntemleri ile elde edilen DNA fragmanları hazırlanan %1.3'lük agaroz jelde (ml'de 0.25µg etidium bromür içerir) 90V/45mA' de yürütülmüş ve UV ışık altında görüntülenmiştir. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* fragman uzunlukları aynı jele yüklenmiş 100 bç'lik markır ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. *C.albicans*'ın HWP1 gen amplikonu 1180 baz çiftiyken, *C.dubliniensis*'in HWP1 gen amplikonu 930 baz çiftidir. HWP1 geninin BamH1 restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu *C. albicans*'a ait gen amplikonu 793 ve 387 baz çiftlik iki bölgeye ayrılırken *C. dubliniensis*'e ait gen amplikonu enzimden etkilenmeyerek tek parça (930 bç) halinde kalır.

6. BULGULAR

Çalışmamızda geleneksel ve moleküler yöntemler kullanılarak 81 *C. albicans* suşu yeniden değerlendirilmiş, elde edilen sonuçlar Tablo 2 gösterilmiştir.

Tablo 2. 81 adet *C. albicans* suşunun fenotipik ve genotipik özellikleri

Örnek no	germ tüp	tekli klamidospore	çoklu klamidospore	açık yeşil koloni	koyu yeşil koloni	37°C'de üreme	42°C'de üreme	45°C'de üreme	HWP1 1180bç	HWP1 930bç	RFLP tek bant	RFLP çift bant
*S1	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-
S2	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-
S3	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-
S4	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-
S5	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
S6	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
S7	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
S8	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
S9	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
S10	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
S11	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
S12	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
S13	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
S14	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
S15	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
S16	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
S17	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
S18	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S19	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S20	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S21	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S22	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S23	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S24	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S25	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S26	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S27	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S28	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S29	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S30	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S31	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S32	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S33	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S34	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S35	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S36	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S37	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S38	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S39	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S40	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S41	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S42	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S43	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S44	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
S45	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+

*S: Sağlıklı bireylerden izole edilmiş suş

Tablo 2. 81 adet *C. albicans* suşunun fenotipik ve genotipik özellikleri

Örnek no	germ tüp	tekli klamidospore	çoklu klamidospore	açık yeşil koloni	koyu yeşil koloni	37°C'de üreme	42°C'de üreme	45°C'de üreme	HWP1 1180bç	HWP1 930bç	RFLP tek bant	RFLP çift bant
*P1	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+
P2	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+
P3	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+
P4	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+
P5	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P6	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P7	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P8	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P9	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P10	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P11	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P12	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P13	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P14	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P15	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P16	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P17	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P18	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
P19	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P20	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P21	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P22	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P23	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P24	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P25	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P26	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P27	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P28	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P29	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P30	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P31	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P32	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P33	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P34	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P35	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
P36	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+

*P: Protez stomatitli hastadan izole edilmiş suş

HWP1-1180 bç: *C. albicans*

HWP1-930 bç: *C. dubliniensis*

HWP1 geninin BAH1 enzimi ile kesimi sonucu tek bant oluşması: *C. dubliniensis*

HWP1 geninin BAH1 enzimi ile kesimi sonucu çift bant oluşması: *C. albicans*

6.1. Germ Tüp Testi

Germ tüp testi yapılan incelemede tüm suşların çimlenme borusu oluşturduğu gözlenmiş ve aralarında belirgin bir fark saptanmamıştır (Resim 1).

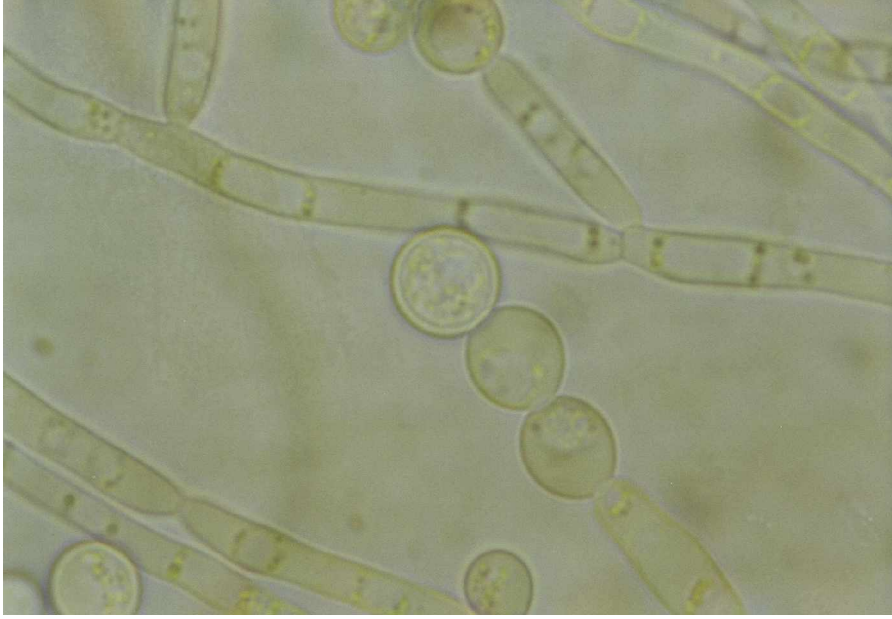
Resim 1. Germ tüp oluşumu



6.2. Klamidospor Oluşumu

Tween-80 içeren mısır unlu agarda psödohiflerin ucunda veya yakınında, kalın duvarlı, çoklu kümeler halinde klamidospor oluşturan 5 adet suş muhtemel *C. dubliniensis* olarak tanımlanmıştır. Diğer suşlar ise, hiflerin kenarında veya ucunda tek tek klamidosporlar oluşturmuştur (Resim 2). PCR yöntemi ile incelenen 5 suşun 3'ü *C. dubliniensis* olarak tanımlanmıştır.

resim 2. Klamidospor görüntüsü



6.3. Farklı Isı Derecelerinde Üreme

SDA besiyerine pasajı yapılan tüm suşlar 37°C üremiş ve koloni morfolojileri arasında bir fark görülmemiştir. 42°C de inkübe edilen besiyerlerinde zayıf üreme gösteren 15, üremeyen 7 adet suş ve 45°C de üreme göstermeyen 35 adet suş muhtemel *C. dubliniensis* olarak tanımlanmıştır. 45°C de üreme göstermeyen suş sayısı beklenenin çok üstünde olmuş, PCR yöntemi ile yapılan incelemede 35 suştan sadece 4'ünün *C. dubliniensis* olduğu belirlenmiştir.

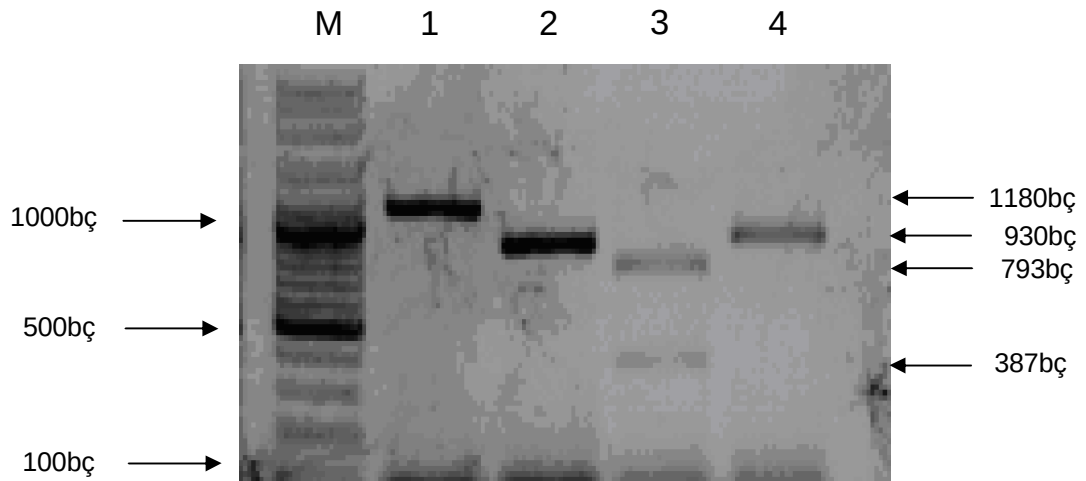
6.4. CHROMagar Candida Besiyerinde Üreme

C. albicans tanımlamasına uyan açık parlak yeşil renkli koloni morfolojisinde 77 adet suş, *C. dubliniensis* tanımlamasına uyan mat koyu yeşil renkli koloni morfolojisinde 4 adet suş saptanmıştır. Ancak bu 4 suşun PCR-RFLP ile yapılan incelemede aslında *C. albicans* olduğu anlaşılmıştır. Bu şekilde CHROMagar Candida besiyerinde saptanan olası 4 *C.dubliniensis* suşu % 100 oranında yalancı pozitif sonuç vermiştir. PCR-RFLP yöntemi ile tanımlanan 4 *C. dubliniensis* suşunun ise CHROMagar Candida besiyerinde açık yeşil renkte koloni oluşturduğu anlaşılmıştır.

6.5. Protez Stomatitis’li Hastalar ve Sağlıklı Bireylerde *C. dubliniensis* Sıklığı

Protez stomatitli hastalardan elde edilen ve sadece klasik fenotipik yöntemlerle *C. albicans* olarak tanımlanan 36 suş, hem fenotipik hem de PCR yöntemleri ile yeniden değerlendirilmiş, tamamının *C. albicans* olduğu doğrulanmıştır. Ancak, sağlıklı bireylerden elde edilen 45 *C. albicans* suşun 4’ünün *C. dubliniensis* olduğu saptanmıştır (Resim 3). Bu suşların 4’ü de 8 yaş altı sağlıklı çocuklarda görülmüştür.

Resim 3. *C.albicans* ve *C.dubliniensis* ‘ in agaroz jel profilleri. M: 100bç’ lik markır, 1: *C. albicans* HWP1 gen amplikonu (1180 bç), 2: *C. dupliniensis* HWP1 gen amplikonu (930 bç), 3: *C. albicans* RFLP sonuçları (793 ve 387 bç), 4: *C. dupliniensis* RFLP sonucu (930 bç),



7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Son 20 yılda uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, HIV ile infekte hasta sayısında artış ve immunsupresif ilaç kullanımına bağlı immun yetmezlik durumlarındaki artışa paralel olarak fırsatçı mantar infeksiyonlarının insidansında artış olmuştur (29, 43). *Candida* kaynaklı oral kandidiyazın mantar infeksiyonları arasında en sık rastlanan bulgu olduğu bildirilmiştir (73). Bugün izole edilen 200 kadar *Candida* türü vardır (77). Yapılan tüm çalışmalarda, *C. albicans*'ın oral kandidiyaz ile ilişkili başlıca tür olduğu ve patojenik *Candida* türleri arasında ilk sırada yer aldığı bildirilmiştir. Bununla beraber, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* ve *C. krusei* gibi *albicans* olmayan başka *Candida* türlerinin de patojenlikte rol oynayabilecekleri gösterilmiştir (73, 77).

1995 yılında Dublin'de çimlenme borusu, klamidospore oluşturma ve birçok özelliği sayesinde fenotipik olarak *C. albicans*'a çok benzeyen ancak genetik yönden farklılık gösteren *C. dubliniensis* suşu tanımlanmıştır (115). Yeni tanımlanan bu suş ilk olarak kandidiyaz bulgusu bulunduran HIV ile infekte hastaların ağız florasından izole edilmiş ve bu hastalarda oral kandidiyaz etkeni olduğu bildirilmiştir (31, 113, 115). İlerleyen çalışmalar *C. dubliniensis*'in *C. albicans*'a benzer normal flora elemanı olarak bulunabildiğini ve immun sistem bozuklarına bağlı olarak potansiyel patojen hale geçebildiğini göstermiştir (114, 124). Ayrıca *C. albicans*'tan farklı olarak flukonazol gibi antifungal ajanlara karşı hızla direnç geliştirmesi nedeni ile tanısının yapılmasının gerekliliği vurgulanmıştır (31).

İki tür arasında büyük benzerlikler nedeni ile *C. dubliniensis*'in laboratuvar tanısında sorunlar yaşanmıştır. Bu amaçla iki türü birbirinden ayırmak için farklı yöntemler geliştirilmiştir (100, 110, 120). Örneğin, tanıda farklı ısı derecelerinde (37°C, 42° ve 45° de) üreme, CHROMagar *Candida* besiyerinde koloni rengine göre ayırma, mısırunlu Tween-80 agarda tekli veya çoklu klamidospore oluşumu ve karbonhidrat asimilasyonu gibi çeşitli fenotipik yöntemler kullanılmış ve ayırmadaki başarı oranları denenmiştir. Kesin tanımlamanın ancak moleküler yöntemlerle yapılabildiği bildirilmiştir (45, 87, 91, 122). Bu yöntemlerin rutin mikoloji laboratuvarlarında uygulama zorlukları olsa da en güvenilir altın standard oldukları

bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızın ilk amacı *C. albicans* olarak izole ettiğimiz 81 suşun retrospektif olarak yukarıda belirtilen fenotipik yöntemlerle değerlendirilmesi ve PCR-RFLP yöntemiyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırmak olmuştur.

C. dubliniensis türünün *C. albicans*'tan fenotipik farkı bol klamidospore üretmesi ve 45°C'de üreyememesidir (93, 115). Tinteln ve ark. (120) yapmış oldukları çalışmada, *C. albicans* olarak tanımlanan 170 suşun 53'ünde çoklu klamidospore oluşumu saptamış ve bunlar *C. dubliniensis* olarak tanımlanmıştır. Çetinkaya ve ark. (34) *C. albicans* olarak tanımlanan 140 suşu tekrar incelemişler, germ tüp ve klamidospore oluşumlarının çokluğu veya azlığı yönünde belirgin bir fark saptamamışlar, iki türün germ tüp ve klamidospore oluşum çokluğuna göre tanımlanmasının göreceli bir tanımlama olacağı kanısına varmışlardır. Yücel ve Kantarcıoğlu da (136) germ tüp ve klamidospore oluşumlarının incelenmesinin iki tür arasında ayırım yapmada yeterli olmadığını bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda 81 *C. albicans* suşunun germ tüp ve klamidospore oluşumları incelenmiştir. Germ tüp oluşumlarının yapısında belirgin bir fark gözlenmez iken 5 suşta bol klamidospore oluşumu saptanmıştır. PCR yöntemi ile yapılan incelemede 5 suştan 3'ü *C. dubliniensis* olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlar Yücel ve Kantarcıoğlu'nun (136) belirtmiş olduğu görüşü desteklemektedir.

C. albicans suşlarının 37°C, 42°C ve 45°C'lerde iyi ürediği; ancak *C. dubliniensis* suşlarının 37°C'de iyi üremelerine rağmen 42°C ve 45°C'de üremelerinin çok zayıf olduğu ya da hiç üremedikleri bildirilmiştir. Pinjon ve ark. (100), 120 *C. dubliniensis* ve 98 *C. albicans* suşu SDA besiyerinde 37°C, 42°C ve 45°C olmak üzere üç farklı ısıda incelemiş; *C. dubliniensis* – *C. albicans* ayırımında en uygun ısının 45°C olduğunu belirtmişlerdir. Çetinkaya ve ark. (34), *C. albicans* olarak tanımlanıp stoklanan 140 suşu üç farklı ısıda inkübe etmişler, 42°C'de zayıf üreme gösteren 8 suşun ve 45°C'de üreme yapmayan 6 suşun muhtemel *C. dubliniensis* olduğunu bildirmişlerdir. Esen ve ark. (49), *C. albicans* olarak tanımlanıp stoklanan 195 suşu aynı yöntemle incelemişler, *C. dubliniensis* oranının beklenenin çok üstünde olduğunu (%85.6) belirtmişlerdir. Ancak her iki çalışmada moleküler yöntemlerle doğrulama yapılmamıştır.

Bizim çalışmada Sabouraud dextrose agar besiyerinde pasajlanıp 45°C de 48 saat inkübe edilen 81 suşun 35'i (%43.2) üreme göstermemiş ve muhtemel *C. dubliniensis* olarak tanımlanmıştır. Bu oran beklenenin çok üstünde olmuştur. Çünkü, PCR yöntemi ile yapılan incelemede sadece 4'ünün kesin *C. dubliniensis* olduğu anlaşılmıştır.

Geleneksel katı besiyerlerinde *C. albicans* ve *C. dubliniensis* kolonileri arasında ayırım yapmanın imkansız olmasına rağmen kromojenik substrat içeren CHROMagar Candida besiyerinde iki tür arasında ayırımın yapılabileceği bildirilmiştir (93, 115). Bu besiyerinde 37°C 48 saat inkübasyondan sonra *C. albicans*'ın açık mavi-yeşil, *C. dubliniensis*'in koyu yeşil mat renkte koloniler oluşturduğu, ancak koloniler arasındaki farklılığın klinik örneklerden yapılan ilk kültür sonucunda saptanacağı vurgulanmıştır. Polacheck ve ark. (102), HIV taşımayan bireylerden elde edilen 5 *C. dubliniensis* suşunun tamamının CHROMagar Candida besiyerinde koyu yeşil koloni oluşturduklarını belirtmişlerdir. Jabra-Rizk ve ark. (64), 1251 suştan *C. dubliniensis* olarak tanımladıkları 15 suşun tamamının CHROMagar Candida besiyerindeki koloni görünümünün koyu yeşil renkte olduğunu saptamışlardır. Buna karşın, Pineda ve ark. (98), kromojenik besiyerinde koloni renkleri bakımından iki tür arasında ayırım yapmanın zor olduğunu belirtmişlerdir. Eraso ve ark. (48), 100 *C. albicans* ve 100 *C. dubliniensis* izolatını CHROMagar Candida besiyerinde üretmişler, farklı tonlarda yeşil renk koloni oluşturma esasına dayalı iki tür arasında net bir ayırım yapamamışlardır.

Bizim çalışmada 81 *C. albicans* suşunun tamamı retrospektif olarak CHROMagar Candida besiyerindeki koloni renk görünümüne göre incelenmiştir. Koyu yeşil görünümlü 4 suş muhtemel *C. dubliniensis*, açık yeşil koloni görünümlü 77 suş muhtemel *C. albicans* olarak tanımlanmıştır. CHROMagar Candida besiyerinde koyu yeşil renkte koloni oluşturan 4 suşun PCR yöntemiyle incelenmesi sonucunda *C. dubliniensis* olmadıkları anlaşılmıştır.

Geriye dönük çalışmalarda CHROMagar Candida yöntemiyle *C. dubliniensis* tanımının yapılamamasının sebebi tam olarak bilinmemekle beraber, *C. dubliniensis* suşlarının sıkça pasajlarının yapılması veya saklanması koyu yeşil renkte koloni oluşturma yeteneklerinin kaybolmasına neden olabileceği düşüncesi ileri sürülmüştür (93, 115).

Temmuz 1995 de Dublinde tanımlanan *C. dubliniensis*'in ilk izolasyonları HIV taşıyan bireylerde tekrarlayan ağız kandidiyaz lezyonlarından yapılmıştır (31, 115). İlerleyen çalışmalarda ağızlarında kandidiyaz klinik belirtileri bulunan AIDS'li hastaların %32'sinden ve asimptomatik AIDS'li hastaların %25'inden *C. dubliniensis* kökenleri elde edilmiştir (31). Retrospektif olarak yapılan çalışmalarda diğer infeksiyonlardan da sorumlu olduğu fark edilmiş ve kültür koleksiyonlarında yanlış tanımlanmış kökenler bulunduğu bildirilmiştir. *C. dubliniensis* olarak bilinen en eski stok *Candida* suşu 1957 yılında İngiltere'de ölen bir hastanın postmortem akciğer örneğinden elde edilmiştir. Türkiye' de ilk izolasyonlar 1998'de Hilmioglu ve ark. (61) ile 1999' da Yücel ve ark. (136) tarafından yapılmıştır. İlerleyen çalışmalarda vajen, akciğer, bağırsak, deri ve derin organ infeksiyonlarında etken olduğu belirtilmiştir (8, 61).

C. dubliniensis ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda bu suşun sağlıklı bireylerin ağzından da izole edilebildiği (85), diyabet ve kistik fibroz şikayeti olan hastalarda nisbeten daha yüksek oranlarda bulunabileceği belirtilmiştir (95, 100, 130). Sullivan ve ark. (114) örnek alma ve tanıda kullanılan yöntemlerin yeterli olmaması nedeni ile sağlıklı bireylerde *C. dubliniensis* prevalansının tam olarak belirlenemediğini bildirmişlerdir.

C. dubliniensis'in sebep olduğu kandidiyaz hastalığının sıklıkla eritemöz şeklinde olduğu tanımlanmıştır (97). *Candida* kaynaklı protez stomatitnin klinik bulguları da aynı şekilde ortaya çıkmakta ve bu lezyonlardan izole edilen mayaların %70 - %80 kadarını *C. albicans* kökenleri oluşturmaktadır. Bu durum akla geçmişte yapılan çalışmalarda *C. albicans* olarak tanımlanmış izolatların kaçının *C. dubliniensis* olduğu sorusunu getiriyor. Bu nedenle çalışmamızın ikinci amacı, geçmişte sağlıklı bireyler ve *Candida* kaynaklı protez stomatiti şikayeti olan hastalardan izole ettiğimiz *C. albicans* suşlarının, yeniden değerlendirilmesinde ne kadarının *C. dubliniensis* olduğunu araştırmak olmuştur.

Literatüre bakıldığında protez stomatitli hastalarda *C. dubliniensis* prevalansı hakkında az sayıda çalışma bulunmaktadır. Mosca ve ark. (85), ortopedik oral protez kullanan 13 – 19 yaş arası 12 ergenin protez ile temas eden üst damak bölgesinden sürüntü örnekleri almışlar, *C. dubliniensis* varlığını araştırmışlardır. Çeşitli fenotipik

ve PCR yöntemleriyle yapmış oldukları incelemede 1 hastada *C.dubliniensis* genotip-1 kökeni izole etmişlerdir.

Son yapılan bir çalışmada (78) protez stomatiti tanısı konmuş 40 – 87 yaş arası 45 hastanın kullandığı protez materyelinden ve altındaki mukozadan ağız sürüntü örnekleri alınmış; *Candida* türleri incelenmiştir. Hem geleneksel mikolojik hem de genotipik yöntemlerin kullanıldığı çalışmada 69 yaşındaki bir hastanın mukoza sürüntü örneğinden yapılan kültürde yoğun olarak *C. dubliniensis* ürediği, protez materyalinden alınan örnekte ise üreme olmadığı belirtilmiştir. Elde edilen sonuca göre *C. dubliniensis*'in protez stomatitli yaşlı hastalardan izole edilebileceği bildirilmiştir.

Pinto ve ark. (101), hareketli protez kullanan 140 bireyde *Candida* türlerinin prevelansını ve virulans faktörlerini incelemişlerdir. Protez stomatiti belirtileri bulunan 70 hasta ve normal mukozaya sahip 70 bireyin üst damağından almış oldukları sürüntü örneklerinde *C. dubliniensis*'e rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmada da 1997 – 2003 tarihlerinde protez stomatiti şikayeti olan 40 – 60 yaş arası hastalardan izole edilip *C. albicans* olarak tanımlanan 36 suş yeniden incelenmiş, *C. dubliniensis* kökeni saptanmamıştır. Ancak 0 – 60 yaş arası sağlıklı bireylerden izole edilen 45 *C. albicans* suşu arasından 4'ünün *C. dubliniensis* olduğu, bunların 3 – 8 yaş arası çocuklarda görüldüğü anlaşılmıştır. Daha ilginç olanı Jabra-Rizk ve ark. (65) çalışmasında gözlenmiştir. HIV taşıyan 30 çocuğun 3'ünde ve HIV taşımayan sağlıklı 30 çocuğun 4'ünde oral *C. dubliniensis* taşıyıcılığı saptanmıştır. Bilgnaut (19) HIV taşıyan çocuklarda *C. dubliniensis* prevelansının HIV taşıyan erişkinlere oranla daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Literatür bilgileri ve elde ettiğimiz bulguların ışığı altında görüşlerimizi şu şekilde sıralayabiliriz:

- *C. albicans* olarak tanımlanıp stoklanan suşlar arasında *C. dubliniensis* kökenlerinin varlığını araştırmak için kullanılan geleneksel yöntemlerin yetersiz kaldığı, ancak iki türün klinik örneklerin ilk izolasyonunda etkili olduğu,
- Geriye dönük çalışmalarda fenotipik yöntemlerle tanımlanan *C. dubliniensis* kökenlerinin pahalı ve uygulama zorlukları olmasına rağmen moleküler yöntemlerle doğrulanması,

- Protez stomatiti tanısı konmuş hastalarda *C. albicans*'ın patojenik bir maya türü olarak hala etkinliğini koruduğu; *C. dubliniensis* prevalansının çok düşük yada hiç olmadığı; bu konunun aydınlanması için daha fazla epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç duyulduğu,
- *C. dubliniensis* prevalansının sağlıklı erişkin bireylerde düşük, sağlıklı çocuklarda ise daha yüksek olabileceği düşüncesindeyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Abraham CM, al-Hashimi I, Haghighat N. (1998). Evalution of the levels of oral *Candida* in patients with Sjögren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Radiol Endod*, 86: 65-68.
2. Aguirre JM, Verdugo F, Zamacona JM, Qindos G, Ponton J. (1996). Cytological changes in oral mucosa in denture stomatitis. *Gerodontology*, 13:63-67
3. Ainsworth GC. (1986). *Introduction to the History of Medical and Veterinary Mycology*. Cambridge University .
4. Akpan A, Morgan R. (2002). Oral Candidiasis. *Postgrad Med J*, 78: 455-459.
5. Alves SH, Horta JA, Milan EP, Scheid LA, Vainstein MH, Santurio JM, Colombo AL. (2005). Carbohydrate assimilation profiles of Brazilian *Candida dubliniensis* isolates based on ID 32C system. *Rev Inst Med Trop S Paulo*, 47 (2): 109- 111.
6. Alves HS, Milan P, Sant'Ana PL, Oliveria LO, Santurio JM, Colombo AL. (2002). Hypertonic sabouraud broth as a simple and powerful test for *Candida dubliniensis* screening. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 43: 85-86.
7. Almstahl A, Kroneld U, Tarowski A, Wikström M. (1999) Oral microbial flora in Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*, 26: 110-114.
8. Al-Sweih N, Ahmad S, Khan ZU, Khan S, Chandy R. (2005). Prevalence of *Candida dubliniensis* among germ tube-positive *Candida* isolates in a maternity hospital in Kuwait. *Mycoses*, 48(5): 347-51.
9. Arendorf TM, Walker DM. (1979). Oral candidal populations in health and disease. *Br Dent J*, 147: 267-272.
10. Arı S. (2004). DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılması. İçinde Temizkan G, Arda N, editörler. *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. İstanbul Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Arastırma ve Uygulama Merkezi (BİOGEM), yayın no:2, s.101-120.
11. Arıkan S. Mantarlarda Pleomorfizm. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27- 30 Mayıs 2003) Kitabı, s. 77- 86.
12. Arıkan S, Darka Ö, Haşçelik G, Günalp A. (2003). *Candida dubliniensis* suslarının sıcaklık tolerans testi, morfolojik özellikler ve moleküler yöntemlerle tanımlanması, Mikrobiyoloji Bülteni, 37: 49- 57.
13. Arias CM, Vicenta JL, Sahand IH, Eguia A, De-Juan A, Madariaga L, Aguirre JM, Eraso E, Qindos G. (2008). Isolation of *Candida dubliniensis* in denture stomatitis.

Archives of Oral Biology, 54: 127-131.

14. Axéll T, Samarayanake LP, Reichart PA, Olsen I. (1997). A proposal for reclassification of oral candidosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod*, 84: 111-112.
15. Aydın M. (1999). *Candida* cinsi mantarlar (*Candida albicans*). Mısırlıgil C, Aydın M eds. *Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. Güneş Y ayınevi, Ankara, s. 1109-1118.
16. Bagg J, MacFarlane, Poxton IR, Smith AJ. (2006). *Essentials Of Microbiology for Dental Students*. Second edition, Oxford University Press, New York.
17. Baixench MT, Taillandier A, Paugam A. (2006). Clinical and experimental *Dental Students*. Second edition, Oxford University Press, New York.
18. Bikandi J, Millan R, San, Moragues MD, Cebas G, Clarke M, Coleman DC, Sullivan DJ., Quindos G, Ponton J. (1998). Rapid identification of *Candida dubliniensis* by indirect immunofluorescence based on differential localization of antigens on *Candida dubliniensis* blastospores and *Candida albicans* germ tubes. *J Clin Microbiol*, 36: 2428-2433.
19. Blignaut E. (2007). Oral candidiasis and oral yeast carriage among institutionalised South African paediatric HIV/ AIDS patients. *Mycopathologia* 163 (2): 63-67.
20. Blignaut E, Pujol C, Joly S, Soll DR. (2003). Racial distribution of *Candida dubliniensis* colonization among South Africans. *J Clin Microbiol*, 41: 1838- 1842.
21. Binolfi A, Biasoli MS, Luque AG, Tosello ME, Magaro HM. (2005). High prevalence of oral colonization by *Candida dubliniensis* in HIV-positive patients in Argentina. *Medical Mycology*, 43: 431-437
22. Boyd RF. (1995). *Basic Medical Microbiology*. Fifth edition, Little, Brown and Company, USA, p.485-487.
23. Brandt ME, Warnock DW. (2003). Laboratory aspects of medical mycology. İçinde Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, editors. *Clinical mycology*. Oxford University press, p.3-22.
24. Budtz-Jorgensen E, Stenderup A, Grabowski M. An epidemiologic study of yeasts in elderly denture wearers. *Commun Dent Oral Epidemiol*, 3: 115-119.
25. Calderone RA. (2002). Taxonomy and biology of *Candida*. In: *Candida and Candidiasis*. Calderone RA ed. First edition. Washington DC: American Society for Microbiology Pres, p. 15-27.
26. Calderone RA. (2002). Introduction and Historical Perspectives. In: *Candida and Candidiasis*. Calderone Ra, ed.. First edition. Washinton DC, American Society for

- Microbiology Press, p. 3-13.
27. Cannon RD, Chaffin WL. (1999). Oral colonization by *Candida albicans*. *Crit Rev Oral Biol Med*, 10: 359-383.
 28. Carrillo-Munoz AJ, Quindos G, Cardenes CD, Alonso-Vargas R, et al. (2003). Performance of BactocardTM Candida compared with the germ tube test for the presumptive identification of *Candida albicans*. *Mycoses*, 46: 467- 470.
 29. Chang A, Neofytos D, Horn D. (2008). Candidemia in the 21st century. *Future Microbiol*, 3: 463-472.
 30. Chavasco JK, Paula CR, Hirata MH, Aleva NA, Gambale W, Ruiz LS, Franco MC. (2006). Molecular identification of *Candida dubliniensis* isolates from oral lesions of HIV-positive and HIV-negative patients in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop*, 48: 21-26.
 31. Coleman, D. C., D. J. Sullivan, D. E. Bennett, G. P. Moran, H. J. Barry, and D. B. Shanley. (1997). Candidiasis: the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. *AIDS*, 11: 557-567.
 32. Çerikçioğlu N. (2003). Yeni identifikasyon yöntemleri. İçinde Yegenoglu Y, Erturan Z. Editörler. 3. Ulusal mantar hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, Tutanaklar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayınları No:46; Çatı grafik, İstanbul, s.182-90.
 - 33- Çetinkaya Z, Altındis M, Aktepe OC, Karabıçak N. (2003). Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin tanımlanmasında farklı yöntemlerin karşılaştırılması, *Mikrobiyoloji Büteni*, 37: 269- 276.
 34. Çetinkaya Z, Kurutepe S, Özbakkaloğlu B, Değerli K, Sürücüoğlu S. (2005). İzole ettiğimiz *Candida albicans* suşlarının yeniden değerlendirilmesinde ne kadarı *Candida dubliniensis* olarak belirlendi. *Selçuk Tıp Derg*, 21: 35-40.
 - 35- Dealer FS. (1991). *Candida albicans* Colony Identification in 5 Minutes in a General Microbiology Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 29 (5): 1081- 1082.
 36. de Almeida OP, Scully C. (2002). Fungal infections of the mouth. *Braz J Oral Sci*, 1: 19-26.
 37. Differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* Using a Single- Enzyme PCR- RFLP Method. (2005). *Jpn J Infect Dis*, 58: 235- 237.
 38. Dreizen S. (1984). Oral Candidiasis. *Am J Med*, 77: 133-146.
 39. Donnelly SM, Sullivan DJ, Shanley BD, Coleman DC. (1999). Phylogenetic analysis and rapid identification of *Candida dubliniensis* based on analysis of ACT1 intron and exon sequences. *Microbiology*, 145: 1871-1882.
 40. Dorko E, Jenča A, Pilipčinec E, Danko J, Švický E, Tkáčiková L. (2001). *Candida-*

- associated denture stomatitis. *Folia Microbiol*, 46: 443-446.
41. Douglas LJ. (2003). *Candida* biofilm and their role in infection. In: *Microbiology*, 11:30-36.
42. Durmaz R. (2001). Polimeraz zincir reaksiyonunun tipleri. İçinde: *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*. Durmaz R editör..Kozen ofset, Ankara, s. 35-43.
43. Edwards JE. (2000). *Candida* species. In: *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. 5th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, p. 2656-2674
44. Ekşi F, Bayram A, Karslıgil T, Balcı İ. (2007). Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida*'ların tür dağılımı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 37: 26-30.
45. Ellepola AN, Hurst SF, Elie CM, Morrison CJ. (2003). Rapid and unequivocal differentiation of *Candida dubliniensis* from other *Candida* species using species-species DNA probs: comparison with phenotypic identification methods. *Oral Microbial Immunol*, 18 (6): 379-88.
46. Ellepola NB, Morrison CJ. (2005). Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *J Microbiol*, 43: 65-84.
47. Ener B. (2008). *Candida* infeksiyonlarında epidemiyoloji ve laboratuvar tanı. *Ankem Derg*, 22: 264-269.
48. Eraso E, Sahand IH, Villar-Vidal M, Marcos C, Dolores Moragues M, Madariaga L, Ponton J, Quindos G. (2006). Usefulness of *Candida* ID2 agar for the presumptive identification of *Candida dubliniensis*. *Med Mycol*, 44 (7): 611–615.
49. Esen N, Şengönül A, Nuran Y. (2004). Rutin laboratuvarda *Candida albicans* tanısı almış izolatlarda üç farklı yöntemle *Candida dubliniensis* araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 34: 46-50.
50. Fairchild KD, Tomkoria S, Sharp EC, Mena FV. (2002). Neonatal *Candida glabrata* sepsis: clinical and laboratory features compared with other *Candida* species. *Pediatr Infect Dis J*, 21: 39-43.
51. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. (2007). Laboratory Methods. In *Basic Mycology*. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Twelfth Edition. Mosby Inc, p. 629- 716.
52. Fotedar R, Hedayati SSAI. (2003). *Candida dubliniensis* at a university in Saudi Arabia. *J Clin Microbiol*, 41: 3423-3426.
53. Freydiere AM, Robert R, Ploton C, Marot-Leblond A, et al. (2003). Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, GLABRATA RTT. *J Clin Microbiol*, 41: 3861- 3863.

54. Giamanco GM, Pizzo G, Pecorella S, Distafano S, Pecoraro V, Milici ME. (2002). Identification of *Candida dubliniensis* among oral yeast isolates from an Italian population of human immunodeficiency virus infected (HIV+) subjects. *Archives of Oral Biology*, 47: 189-194.
55. Gow NA, Brown AJ, Odds FC. (2002). Fungal morphogenesis and host invasion. *Curr Opin Microbiol*, 5: 366- 371.
56. Gow NAR, Gooday GW. (1984). A model for germ tube formation and mycelial growth form of *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 22: 137-144.
57. Gutiérrez J, Morales P, Gonzáles MA, Qindós G. (2002). *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. *J Basic Microbiol*, 42: 207-227.
58. Hannula J, Saarela M, Doğan B, Paatsama J, Koukila-Kahköla P, Pirien S, Alakomi HL, Perheentupa J, Asikainen S. (2000). Comparison of virulence factors of oral *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* isolates in healthy people and patients with chronic candidosis. *Oral Microbiol Immunol*, 15: 238-244.
59. Hazen KC, Howell SA. (2003). Fungi - *Candida*, *Cryptococcus* and other yeast of medical importance. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Murray PR, Jorgensen JH, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover BC eds. Eighth edition. American society for Microbiology Press. Washington, p. 1693- 1711.
60. Hazen KC, Howell SA. (2007). *Candida*, *Cryptococcus* and Other Yeasts of Medical Importance. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. Ninth edition. American Society for Microbiology Press. Washington, p. 1762- 1788.
61. Hilmioğlu S, Aydemir Ş, İnci R. Gürel SÖ, Tümbay E. (1998). Türkiye’de ilk kez izole edilen *Candida dubliniensis* kökeni. *İnfeksiyon Derg*, 12(4): 545-8.
62. Hoepelman AIM. (2004). Opportunistic Fungi. In: *Infectious Diseases*. Cohen J, Powderly WG, ed. Second Edition. Mosby, Elsevier, p. 2341-2348.
63. İnci R. (1999). Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflandırılması. İçinde: *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* Ustaçelebi S, editör. Güneş kitabevi, s.1015-21.
64. Jabra-Rizk MA, Baqui AA, Kelley JI, Falkler WA Jr, Merz WG, Meiller TF. (1999). Identification of *Candida dubliniensis* in a prospective study of patients in the United States. *J Clin Microbiol*, 37(2): 321-6.
65. Jabra-Rizk MA, Fakler WA, Enwonwu CO, Onwujekwe DI, Merz WG, Meiller TF. (2001). Prevalance of yeast among children in Nigeria and the United States. *Oral Microbiol Immunol*, 16 (6): 383-385.

66. Jabra-Rizk MA, Ferreira SMS, Sabet M, Falkler WA, Merz WG, Baqui AAMA, Kelley JI, Meiller TF. (2000). Retrospective identification and characterization of *Candida dubliniensis* isolates from human immunodeficiency virus (HIV) infected and non-infected individuals. *J Clin Microbiol*, 38: 2426-2000.
67. Jabra-Rizk MA, Ferreira SMS, Sabet M, Falkler WA, Merz WG, Meiller TF. (2001). Recover of *Candida dubliniensis* and other yeasts from human immunodeficiency virus-associated periodontal lesions. *J Clin Microbiol*, 39: 4520-4522.
68. John E, Edward JR. (2000). *Candida* species. In: *Mandell, Douglas, and Bennet's Principles and Practise of Infective of Infectious Diseases*. Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Fifth edition. Churchill Livingstone, Pennsylvania, p. 2656-2674.
69. Jones JM. (1990). Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Microbiol Rev*, 3: 32-45.
70. Jordan JA. (1994). PCR identification of four medically important *Candida* species using a single primer pair. *J Clin Microbiol* 1994;32:2962-2967.
71. Kim JO, Garofalo L, Blecker-Shelley D, Mc Gowan KL. (2003). *Candida dubliniensis* infections in a pedistric population: Retrospective identification from clinical laboratory isolates of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol*, 3354-3357
72. Knight L, Fletcher J. (1971). Growth of *Candida albicans* in saliva: Stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroides, and diabetes mellitus. *J Infect Dis*, 123: 371-377.
73. Kurnatowska AJ. (2001). Search for correlation between symptoms and sings of changes in the oral mucosa and presence of fungi. *Mycoses*, 44:379-382.
74. Kuştimur S. (1999). *Candida*'da Virulans Faktörleri. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı, İzmir, p. 145-150.
75. Larone DH. (2002). Yeast and yeast like organisms. In: *Medically Important Fungi A guide to identification*. Fourth edition. Washington DC, American Society for Microbiology Press, p. 109- 143.
76. Loeffler J, Hebart H, Magga S, Schmidt D, Klingspor L, Tollemar J, Schumacher U, Einsele H. (2000). İdentification of rare *Candida* species and other yeasts by polymerase chain reaction and slot blot hybridization. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 38: 207-212.
77. Maenza RJ, Merz WG. (1998). *Candida albicans* and Related Species. In:

- Infectious Diseases* Gorbach SL., Bartlett NR, Blacklow NR, eds.. 2th Ed, p. 213-221.
78. Marcos-Arias C, Vicente JL, Sahand IH, Eguia A, De-Juan A, Madariaga L, Aguirre JM, Eraso E, Quindós G. (2009). Isolation of *Candida dubliniensis* in denture stomatitis. *Arch Oral Biol*, 54 (2): 127- 131.
 79. Marsh P, Martin M. (1999). Oral Fungal Infections. In: *Oral Microbiology*. Wright, Oxford, s. 153-162.
 80. Mavor AL, Thewes S, Hube B. (2005). Epidemiology, Infection Process and Virulence Attributes. In: *Systemic fungal infections caused by Candida species. Current Drug Targets*, 6: 863-874.
 81. Meis JFGM, Lunel FMV, Verweij PE, Voss A. (2000). One year prevalence of *Candida dubliniensis* in Dutch University Hospital. *J Clin Microbiol*, 38: 3139-3140.
 82. Mitchell, TG. (2004). Medical Mycology. In: *Medical Microbiology*. Brooks GF, Butel JS, Morse SA, eds. Twenty third edition. McGraw-Hill Companies, Singapore, p.623-659.
 83. Moran G, Stokes C, Thewes S, Hube B, Coleman DC, Sullivan DJ. (2004). Comparative genomics using *Candida albicans* DNA microarrays reveals absence and divergence of virulence-associated genes in *Candida dubliniensis*. *Microbiology*, 150: 3363-3383.
 84. Moris DV, Mehlem SC, Martins MA, Mendes RP. (2008). Oral *Candida* spp. Colonization in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 14 (2): 224-257.
 85. Mosca CO, Moragunes MD, Brena S, Rosa AC, Ponton J. (2005). Isolation of *Candida dubliniensis* in a teenager with denture stomatitis. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal*, 10: 28–35.
 86. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. (2002). *Medical Microbiology*. Fourth edition. Mosby-Year Book, USA, p. 664-667.
 87. Murray MP, Zinchuk R, Larone DH. (2005). CHROMagar *Candida* as the sole primary medium for isolation of yeasts and as a source medium for the rapid assimilation of trehalose test. *J Clin Microbiol*, 43: 1210- 1212.
 88. Muzyka BC. (2005). Oral fungal infections. *Dent Clin North Am*, 49: 49-65.
 89. Naglik J, Albrecht A, bader O, Hube B. (2004). *Candida albicans* proteinases and host/ pathogen interactions. *Cell Microbiol*, 6: 915-926.
 90. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. (2003). *Candida albicans* Secreted Aspartyl

- Proteinases in Virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*, 69: 405-412.
91. Neppelenbroek KH, Campanha NH, Spolidorio DM, Spolidorio LC, Seó RS, Pavarina AC. (2006). Molecular fingerprinting methods for the discrimination between *C. albicans* and *C. dubliniensis*. *Oral Dis*, 12(3): 242-53.
 92. Nyugen MH, Peacock JE, Morris AJ. (1996). The changing face of candidemia: emergence of non- *Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med*, 100: 617-623.
 93. Odds FC, Nuffel LV, Dams G. (1998). Prevalence of *Candida dubliniensis* Isolates in a Yeast Stock Collection. *J. Clin Microbiol*, p. 2869–2873.
 94. Pabuçoğlu HU. (1999). Mikozlar – Patogenez ve Patoloji. İzmir, Güven&Nobel Tıp Kiatbevi, p. 63-75.
 95. Peltroche H, Dohmen H, Haase G. (2002). Recovery of *Candida dubliniensis* from sputum of cystic fibrosis patients. *Mycosis*, 45: 15-18.
 96. Perea S., Lopez- Ribot J. L., Wickes B. L, Kirkpatrick W. R., Dib O. P. (2002). Molecular Mechanism of Fluconazole Resisance in *Candida dubliniensis* Isolates from Human Immunodeficiency Virus- Infected Patients with Oropharyngeal Candidiasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, p. 1695- 1703.
 97. Perezous LF, Stefenson GC, Flaitz GM, Goldschmidt ME, Engelmeier RL, Nichpls CM. (2006). The effect of complete dentures with a metal palate on *Candida* species growth in HIV-infected patients. *J Prosthodont*, 15: 306 – 315
 98. Pineda G, Scollo K, Santiso G, Lehmann E, Arechavala A. (2008). Isolation of *Candida dubliniensis* in different clinical samples. Analysis of phenotipical methods to differentiated from *Candida albicans*. *Rev Argent Microbiol*, 40 (4): 211–217.
 99. Pinjon E, Moran GP, Coleman DC, Sullivan DJ. (2005). Azol susceptibility and resistance in *Candida dubliniensis*. *Biochem Soc Trans*, 33: 1210–1214.
 100. Pinjon, E., D. Sullivan, I. Salkin, D. Shanley, and D. Coleman. (1998). Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol*, 36: 2093–2095.
 101. Pinto E, Riberio IC, Ferreira NJ, Fortes CE, Fonseca PA, Figuerial MH. (2008). Correlatiom between enzyme production, germ tube formation and susceptibility to fluconazole in *Candida* species isolated from patients with denture related stomatitis and control individuals. *J Oral Pathol Med*, 37 (10): 587-592.
 102. Polacheck I, Strahilevitz J, Sullivan D, Donnelly S, Salkin IF, Coleman DC. (2000). Recovery *Candida dubliniensis* from non-humanimmunodeficiency

- virus-infected patients in Israel. *J Clin Microbiol*, 38: 170-174.
103. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. (1999). *Microbiology*. Forth edition. McGraw-Hill Companies, Singapore, p. 2656-2674.
 104. Romani L. (2002). Immunology of invasive candidiasis. In: *Candida and Candidiasis*. Calderone RA ed. First Edition. American Society for Microbiology Press, Washington, p. 223-241.
 105. Romeo O, Racco C, Criseo G. (2006). Amplification of hyphal wall protein 1 gene to distinguish *Candida albicans* from *Candida dubliniensis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 44: 2590-2592.
 106. Samaranayake L. (2006). *Microbiology for Dentistry*. Samaranayake L ed. Churchill Livingstone Elsevier press, p. 293-305.
 107. Samaranayake LP, McCourtie TW. (1990). *Oral Candidosis*. Butterworth Ltd, London.
 108. Sanchez-Vargas LO, Ortiz-López NG, Villar M Moragues MO, Aguire JM, Cashat-Cruz M, Lopez-Ribot JL, Gaitan-Cepeda LA, Quindos G. (2005). Oral *Candida* isolates colonization or infection human immunodeficiency virus infected and healthy persons in Mexico. *J Clin Microbiol*, 43: 4159-4162.
 109. Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B. (2005). Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*, 48: 365-377.
 110. Schoofs, A., F. C. Odds, R. Colebunders, M. Ieven, and H. Goossens. (1997). Recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV patients: use of specialized isolation media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 16: 296–300.
 111. Shin JH, Nolte FS, Morrison CJ. (1997). Rapid identification of *Candida* species in blood cultures by a clinically useful PCR method. *J Clin Microbiol*, 35:1454-1459.
 112. Sullivan D, Coleman D. (1997). *Candida dubliniensis*: an emerging opportunistic pathogen. *Curr Top Med Mycol*, 8:15–25.
 113. Sullivan D, Coleman D. (1998). *Candida dubliniensis*: Characteristics and identification. *J Clin Microbiol*, 36: 329-334.
 114. Sullivan DJ, Moran GP, Coleman DC. (2005). *Candida dubliniensis*: ten years on. *FEMS Microbiol Lett*. 253: 9– 17.
 115. Sullivan, DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC. (1995). *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a

- novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology*, 141:1507–1521.
116. Tamura M, Watanabe K, Mikami Y, Yazawa K, Nishimura K. (2001). Molecular Characterization of New Clinical Isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* with Group I Intron. *Journal of Clinical Microbiology*, 39: 4309-4315.
 117. Tekeli A, Dolapçı I, Cesur S, Tekeli E, İçli F. (2002). *Candida dubliniensis* studies and isolation of candida types in oropharyngeal specimens from oncologic patients. (2002). *Microbiol Bul*, 36: 57-63.
 118. Tekeli A, Dolapçı I, Emral R, Cesur S. (2004). *Candida* carriage and *Candida dubliniensis* in oropharyngeal samples of type-1 diabetes mellitus patients. *Med Mycoses*, 47: 315-318.
 119. Tekeli A, Koyuncu E, Dolapçı I, Güven GS, Şahin GO, Uzun O. (2002). Detection of *Candida dubliniensis* in oropharyngeal of Turkish HIV-positive patients. *Med Mycoses*, 48: 197-201.
 120. Tinteln K, Haase G, Seibold M, Bergmann F, Staemmler M, Franz T, et al. (2000). Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol*, 38(4): 1599-608.
 121. Topçu AW, Çerikoğlu N. (2002). *Candida* türleri. In: *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, eds. Nobel Matbaacılık, İstanbul, p. 1797-1808.
 122. Toraman ZA, Bulut Y, Yılmaz M, Ozdarendeli A. (2005). Molecular identification of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* strains isolated from clinical samples. *Mikrobiyol Bul*, 39(2):199-204.
 123. Tümbay E. (1999). *Candida* türleri. İçinde: *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö ed. Öncü Basımevi, Ankara, s. 1081-1086.
 124. Vasquez JA, Sobel JD. (2003). Candidiasis. In: *Clinical Mycology*. Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD ed.. First edition. Oxford University Press, p. 141-219.
 125. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW. (1998). *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: A review Part 1. Factors influencing distribution of *Candida* species in the oral cavity. *Aust Dent J*, 43: 45-50.
 126. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. (1998).

- Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: A review. Part 2. Oral diseases caused by *Candida* species. *Aust Dent J*, 43: 160-166.
127. Whiteway M, Bachewich C. (2007). Morphogenesis in *Candida albicans*. *Annu Rev Microbiol*, 61: 529-553.
128. Williams DW, Lewis MA. (2000). Isolation and identification of candida from the oral cavity. *Oral Cavity*, 6: 3-11.
129. Willinger B, Wein S, Hirschl AM, Rotter ML, et al. (2005). Comparison of a new commercial test, GLABRATA RTT, with a dipstick test for rapid identification of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol*, 43: 499- 501.
130. Willis AM, Coulter WA, Sullivan DJ, Coleman DG, Hayes JR, Bell PM ve arkadaşları. (2000). Isolation of *Candida dubliniensis* from insulin-using diabetes mellitus patients. *J Oral Pathol Med*, 29: 86– 90.
131. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. (2006). Mycology. In: *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Sixth edition. Lippincott Co, Philadelphia, p. 1151-1242.
132. Yang CW, Barkham TMS, Chan FY, Wang Y. (2003). Prevalance of *Candida* species, including *Candida dubliniensis*, in Singapore. *J Clin Microbiol*, 41: 472-474.
133. Yang YL. (2003). Virulence factors of *Candida* species. *L Microbiol Immunol Infect*, 36: 223-228.
134. Yegenoglu Y. (2002). Mantarlar. İçinde: *Tıbbi Mikrobiyoloji-1*. Bozkaya E, ed. Nobel tıp kitabevi, s.181-192.
135. Yücel A, Kantarcıoğlu S. (1999). *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler. *Cerrahpaşa J Med*, 30: 236-246.
136. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. (1996). *Candida albicans* kökenlerinin kaç tanesi *Candida dubliniensis*? 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi Kitabı; 4-6 Mayıs, İzmir, Türkiye, s. 263-264.
137. Yücesoy M, Oztek AO, Marol S. (2005). Comparison of three differential media for the presumptive identification of yeasts. *Clin Microbiol Infect*, 11: 245- 247.

EK 5

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Derya	Soyadı	Kazancı
Doğum Yeri	Soltau/ ALMANYA	Doğum Tarihi	07.02.1982
Uyruğu	T.C .	Tel	0506 769 14 07
E-mail	derya.kazanci@hotmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	M.Ü. Dişhekimliği Fak. Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı	2009
Lisans	M.Ü. Biyoloji Öğretmenliği	2006
Lise	Üsküdar Halide Edip Adıvar Lisesi	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	iyi	orta	orta

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
64	70							

Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES mayıs 2009 Puanı	70	71	70
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	iyi
Power point	iyi
excel	orta

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin