T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANDİDALARDA SAP (1-10) GENLERİNİN VE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN SAPTANMASI: SAĞLIK BAKIMI İLE İLİŞKİLİ ENFEKSİYONLARDA KANDAN VE DİĞER ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLENLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Ahmed Moustapha NSANGOU

DOKTORA TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Duygu FINDIK

KONYA-2021

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANDİDALARDA SAP (1-10) GENLERİNİNİN VE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN SAPTANMASI: SAĞLIK BAKIMI İLE İLİŞKİLİ ENFEKSİYONLARDA KANDAN VE DİĞER ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLENLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Ahmed Moustapha NSANGOU

DOKTORA TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Duygu FINDIK

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 19202060 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2021

ÖNSÖZ

Doktoramı yaptığım Selçuk Üniversitesi Tıp Fakultesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında hem eğitim sürem boyunca, hem de tez projemin her aşamasında bilimsel bilgi ve görüşleriyle benden yardımlarını esirgemeyen, manevi ve psikolojik destekçim olan çok değerli ve saygıdeğer danışman hocam ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Duygu FINDIK hocama sonsuz saygı ve teşekkürlerimi bildiririm. Ayrıca mikrobiyoloji laboratuvarındaki hem pratik hem de teorik eğitimim boyunca bana öğrettikleri ve kattıkları her şey için Sayın Prof. Dr. Uğur ARSLAN'a, Sayın Prof. Dr. Recep KEŞLİ'ye ve Sayın Doç.Dr. Hatice TÜRK DAĞI'na, Sayın Doç. Dr. Salih MAÇİN'e teşekkür ederim.

Tez projemin pratik aşamasında yardımcı olan Sayın Doç. Dr. İbrahim Halil YILDIRIM'a teşekkür ederim. Pandemi nedeni ile moleküler tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarında çok fazla sayıda SARS COV 2 tanısı yapılması gerektiğinden projemin bir kısım deneysel çalışmaları Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi moleküler araştırma laboratvurında yapılmıştır bu aşamada tez projemin deneysel çalışmalarımın yapılmasının yanı sıra kişisel deneyimlerini de benimle paylaşdıkları için Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Merve AYDIN'a ve Arş. Gor. Tuğçe DURAN'a çok teşekkür ederim.

Hem doktora hayatımının her döneminde hem de tez projemin, yapılmasından yazılmasına kadar benden desteyini esirgemeyen sevgili doktora arkadaşım Ruqıyya SAMADZADE'ye çok teşekkür ederim. Ayrıca yardımları ve destekleri için diğer tüm yüksek lisans ve doktora arkadaşlarıma da teşekkür ederim. Sayın Nurullah ÇİFTÇİ başta olmakla bölümümüzün tüm asistanlarına yardımları ve destekleri için teşekkür ederim. Laboratuvardaki pratik eğitimimde her zaman yardımcım olan sevgili Mikrobiyoloji labarotuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Bana her zaman manevi destek olan ve beni bu büyük hayelimin gerçekleşmesi için harekete geçiren sevgili, manevi kızım Leila Nashda NSANGOU'ya sonsuz teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca her zaman verdikleri sonsuz destek için tüm aileme içtenlikle teşekkür ederim. Son olarak fiziken kendileri yanımda olamasalar da sevgilerini her zaman kalbimin en derinliklerinde hissettiğim ANNEM'e ve BABAM'a sonsuz özlem ve sevgilerimle...

Ahmed Moustapha NSANGOU

Konya-2021

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **vi**

ÖZET ..... **x**

SUMMARY ..... **xii**

ŞEKİL VE ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xiv**

1. GİRİŞ **1**

1.1 Genel bilgiler 1

1.2 Mantarların genel bilgileri 5

1.2.1 Tarihçe 5

1.2.2 Mantar üst sınıflaması 5

1.2.3 Mantar hücresinin genel bileşimi: Organeller 7

1.2.4 Maya hücre duvarının moleküleri (*Candida*) 13

1.3 Candida Cinsinin Özellikleri 15

1.3.1 Taksonomi ve morfoloji 15

1.3.2 Morfolojik formlar 18

1.3.3 Mayaların morfolojik geçiş formu - filamentli formlar 21

1.3.4 Patojenite ve mekanizma 22

1.4 Virulans faktörleri 23

1.4.1 Yapışma 25

1.4.2 Adezinler 25

1.4.3 Reseptörler 26

1.4.4 Salgılanmış litik enzimler 27

1.4.5 Dimorfizm (iki şekillilik) 31

1.4.6 Quorum sensing 32

1.4.7 Biyofilm oluşumu 33

1.4.8 Biyofilm enfeksiyonları 41

1.5 Insidans 42
1.6 Kandidiyazis predispozan faktörleri 42
1.7 Klinik 43
1.7.1 Yüzeysel kandidiyazis 43
1.7.2 Derin kandidiyazis 44
1.8 Kandidiyazis epidemiyolojisi ve etiyolojisi 46
1.9 Candida türleri 46
1.9.1 *Candida albicans* 46
1.9.2 *Candida glabrata* 47
1.9.3 *Candida tropicalis* 48
1.9.4 *Candida parapsilosis* 49
1.9.5 *Candida kefyr* 50
1.9.6 *Candida dubliniensis* 51
1.9.7 *Candida lusitaniae* 51
1.9.8 *Candida krusei* 52
1.9.9 *Candida guilliermondii* 53
1.10 *Candida* tanısı 54
1.10.1 *Candida*'nın tanısı; genel bilgiler 54
1.10.2 Örnek alınması 55
1.10.3 Direkt inceleme 56
1.10.4 Kültür 57
1.10.5 Seroloji: antikor ve antijen tespiti 59
1.11 Antifungal ilaçlar ve etki mekanizmaları 60
2. GEREÇ ve YÖNTEM 62
3. BULGULAR 76
4. TARTIŞMA 109
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 119

6. KAYNAKLAR 121

7. EKLER 135

7.A ETİL KURUL KARARI 135

7.B YETERLİK SINAV SONUCU 136

7.C TEZ İZLEME KOMİTESİ RAPORLARI 139

7.D TURNİTİN RAPORU 143

8. ÖZGEÇMİŞ 144

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C: santigrat derece

µm: mikrometre

5FC: 5-fluorourasile.

AC: antikor

AFM: atomik kuvvet mikroskobu

Ag: antijen

AIDS: acquired immune deficiency Syndrom

Als: agglutinin-like sequence

AMFB: amphothericin B

ATP: adenozin trifosfat

BAL: bronchoalveolar lavage

BOS: beyin omurilik sıvısı

bp: base pair

C: compleks

Ca^{2+}: kalsiyum iyonlarinin

cAMP: siklik adenozin monofosfat

CHS: kitin Sentetaz

CO2: karbondioksit

CoA: koenzim A

COES: coellektrosentez

CR2: komplemom reseptörü (2;3)

CVC: santral venoz kateter

DAG: diasilgliserol

DNA: deoksiribonükleik asit

dNTP: deoksiribonukleosit trifosfat

ECM: hücre dişi matris

EDTA: etilen diamin tetra asetik

EIA: enzyme immuno assay

ELISA: enzim bagli immunosorban testi

EPS: extracellular polymeric substance (hücre dışı polimerik moleküler)

ER: endoplazmik reticulum

ERG: ergosterol

ES: elektrosentez

ETS: elektron tasima sistemi

FF: serbest yag asitleri (free fatty acids)

FKI: fenol-kloroform-izoamil alkol

FKS: genler isimleri

g: gram

GB: güçlü biyofilm

GlcNAc: N.asetil-D glukozamin

GLS: glukan sentaz

GPI: glucosil fosfotidil inositol

HIV: İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü (human immunodeficiency virus)

IC: inhibitör konsantrasyonun

iC3b: kompleman.

IELP: immünoelektroforez

IFA: immünofloresan antikor

IHA: indirekt hemaglutinasyon

ITS : internal transcripe sequences.

KI: kloroform-izoamil

KOH: potasyum hidroksid

LCF: sıvı kültür fermantasyonu

LDL: low density lipoproteins. (düsük yoğunluklu lipoprotein)

LPL: liyo- fosfolipit

LPT:

MAPK: mitgenle aktive edilen protein kinaz

MDR: multi drug resistant

mg: miligram

$MgCl_2$: magnezyum klorür

MIC: ortalama inhibitör konsantrasyon

mL : mililitre

mM: millimole

MÖ: milletten önce

MOPS: morpholino propane sulfonic acid

NAAT: nükleik asit amplifikasyonu testi

NaCl: sodyum klorür

ng: nano gram

OD: optik dansite

OGB: orta güçlü biyofilm

OH: oksijen ve hidroksil

PA: fosfatidik asit

PBS : Phosphate buffered saline

PCR: polymerase chain reaction

pH: hidrojen potansiyeli

PL: fosfolipaz

PLA: fosfolipaz (A, B, C, D)

PLM: fas foleman

PVC: polivinil klorür.

PZR: polimeraz zincir reaksiyonu

QS: asgari miktari

RNA: ribonükleik asit

RPMİ: Roswell Park Memorial Institute

SAP: secreted aspartyl proteinases.

SDA: sabouraud dextrose agar

SDS: sodyum dodesil sulfat

TAE: Tris- acetate – EDTA

TBE : tris-borik asit-EDTA

TE: tris EDTA

TRIS: hydroxymethyl aninonethane)

TRIS-HCl: tris-hydrochloride

tRNA: taşıyan ribonükleik asit

UDP: fosfat üridilil transferaz

UV: ultra viyole

YBÜ: yoğun bakım ürünler

ZB: zayıf biyofilm

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kandidalarda Sap (1-10) Genlerinin ve Biyofilm Oluşumunun Saptanması: Sağlık Bakımı ile İlişkili Enfeksiyonlarda Kandan ve Diğer Örneklerden İzole Edilenlerin Karşılaştırılması

Ahmed Moustapha NSANGOU

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2021

Candida türleri, mantar enfeksiyonlarından sorumlu önemli bir patojendir ve çoğu invazif mantar enfeksiyonlarında etken olarak tespit edilir. *Candida'lara* morfogenez, adezyon, biyofilm oluşumu, fenotipik değişim, hidrolitik enzimlerin üretimi gibi birçok önemli virülans faktörü birçok anatomik bölgeyi işgal etmede etkilidir. Bunlardan aspartik proteazların üretimi ve salınımı artı biyofilm oluşumunun, kandida türleri için virülansın anahtar belirleyicisi olduğuna inanılmaktadır. Bu çalışmada, Çeşitli sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonu olan hasta örneklerinden izole edilen ve Vitek 2 Compact sistemi ile tiplendirilmiş ve antifungal duyarlılıkları belirlenmiş olan *Candida* türlerinin moleküler yöntemlerle doğrulanması, Kandan ve diğer örneklerden izole edilen *C.albicans* suşlarının biyofilm oluşturma yeteneklerinin ve SAP1-10 genlerini taşıma özelliklerinin araştırılması ve bu virulans faktörleri arasındaki bağlantı, kandan ve diğer örneklerden izole edilenler arasında virulans faktörleri açısından farkların incelenmesi amaçlanmıştır.

Şubat 2019 - Şubat 2020 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi mikrobiyoloji laboratuvarının çeşitli klinik örneklerinden *Candida* türleri izole edilmiştir. Sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon etkeni olarak tanımlanmış 87 *Candida* spp suşu bu çalışmaya dahil edilmiştir. Başlangıçta kandida suşları Vitek 2 Compact yöntemiyle ve ardından moleküler yöntem olan multipleks PCR ile tanımlanmıştır. VITEK ve Multipleks PZR sonuçları uyumsuz olan örneklere tür tanımının

doğrulanması amacıyla DNA dizi analizi yapıldı. ITS 1 ve ITS 2 gen bölgesinin amplifikasyonu için UNI 1 ve UNI 2 evrensel primerler kullanılmıştır. *C.albicans* olarak tanımlanan 31 adet suşta biyofilm oluşturma yeteneği düz tabanlı mikroplaklarda ve SAP1-10 genlerinin varlığı PCR ile araştırılmıştır. Antifungal duyarlılıkları Vitek 2 Compact sisteminde çalışılmıştır.

Vitek 2 Compact yöntemiyle ve mültipleks PCR ie çelişkişi çıkan 14 suş sekansa yollanmş ve Vitek 2 Compact yönteminin hepsini yanlış tanımladığı görülmüştür (%16.1).

Sekans sonuçlarına göre değerlendirmeye alınan 31 *C.albicans* suşu değerlendirildiğinde 18 hastanın kan örneğinden izole edilen *C.albicans* suşlarının hepsi biyofilm yapmıştı, 2'sinde Sap 1-10 genlerinden hiçbiri saptanmadı ve sadece 6 no'lu örnekte Sap 5 negatifti, 2 örnek CFP, 2 örnek 5-FC, 2 örnek FCZ dirençli olarak saptandı. Kan dışı örneklerin ise hepsi biyofilm yapmıştı 1 plevra örneğinde sadece Sap 4 negatifken yine diğerlerinde Sap-10 genleri saptandı, 1 örnek AMB, 2 örnek VCZ, 1 örnek CPF, 1 örnek 5-FC, 4 örnek FCZ dirençli bulundu bir örnek hem 5-FC hem de FCZ dirençli iken 1 örnek de VCZ ve FCZ birlikte dirençliydi. Sonuç olarak araştırmalarda tiplendirmede seçilecek yöntemim mutlaka moleküler yöntemler olması gerektiği, hasta bakımı ilişkili enfeksiyonlardan izole edilen *C. albicans* önemli bir virulans faktörü olan tüm SAP genlerini taşıdığı, biyofilm oluşturduğu ve önemli ölçüde antifungallere direnç geliştirdikleri saptanmıştır. Sınırlı sayıda antifungal bulunması Sap genlerinin baskılanmasına yönelik çalışmaların gelecekte önem kaznacağını düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: antifungal direnç; biyofilm; *Candida* türler; *SAP*

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY

SELCUK UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Ahmed Moustapha NSANGOU

Deparment of Medical Microbiology

Expression of SAP Genes (1-10) and Biofilm Formation in *Candida Spp*: Comparison of Health Care Associated Infection Isolates From Bloodstream with Isolates From Other Sources.

DOCTORAL THESIS / Konya-2021

Candida spp. are an important pathogen responsible for fungal infections and are detected as causative agents in most invasive fungal infections. Many important virulence factors such as morphogenesis, adhesion, biofilm formation, phenotypic change, production of hydrolytic enzymes are effective in occupying many anatomical regions. The production and release of aspartic proteases, plus biofilm formation, are believed to be the key determinants of virulence for candida species. In this study, the verification of *Candida species* isolated from patient samples with various healthcare-associated infections and typed with the Vitek 2 Compact system and determined antifungal sensitivities by molecular methods, it was aimed to investigate the properties and the link between these virulence factors, and to examine the differences in virulence factors between those isolated from blood and other samples. *Candida spp* were isolated from various clinical samples of Selcuk University Faculty of Medicine microbiology laboratory between February 2019 and February 2020. 87 Candida spp strains identified as healthcare-associated infectious agents were included in this study. Initially, candida strains were identified by the Vitek 2 Compact method and then by the molecular method, multiplex PCR. DNA sequence analysis was performed to

verify the species identification of the samples whose VITEK and Multiplex PCR results were incompatible. UNI 1 and UNI 2 universal primers were used for the amplification of ITS 1 and ITS 2 gene regions. The ability to create biofilms in 31 strains identified as *C.albicans* in flat bottom microplates and presence of SAP (1-10) genes were investigated by PCR. Antifungal sensitivities were studied in the Vitek 2 Compact system. 14 strains giving different results with the Vitek 2 Compact method and the multiplex PCR were sent for sequencing and it was observed that the Vitek 2 Compact method incorrectly identified all these strains (16.1%). When the 31 *C. albicans* strains evaluated according to the sequence results were evaluated, all of the *C. albicans* strains isolated from the blood samples of 18 patients had biofilm, none of the Sap (1-10) genes were detected in 2, and Sap (1-10) genes were not detected in only 6 and Sap 5 was negative, 2 samples CFP, 2 samples 5-FC, 2 samples FCZ resistant. All non-blood samples made biofilms. Only Sap 4 was negative in 1 pleural sample and Sap (1-10) genes were detected in the others, 1 sample AMB, 2 samples VCZ, 1 sample CPF, 1 sample 5-FC, 4 samples FCZ resistant one sample While both 5-FC and FCZ were resistant, 1 sample was both VCZ and FCZ resistant. As a recommendation, the method to be chosen in the further studies should be molecular methods, *C. albicans* isolated from patient care-associated infections carried all. It has been determined that they carry the SAP genes, form biofilms and significantly develop resistance to antifungals. The limited number of antifungals suggested that studies for suppression of Sap genes will gain importance in the future.

Keywords: antifungal resistance; biofilm; *Candida species*; *SAP*

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1: İnvaziv kandidiyazın farklı klinik formları (HAS 2017)..... 43
Çizelge 2: İnvaziv kandidiyazın risk faktörleri (HAS 2017)..... 45
Çizelge 3: Klinik kullanımda olan başlıca antifungal ilaçların kimyasal yapılarına göre etki mekanizmaları (Selim ve ark 2015) 61
Çizelge 4: Çalışmada kullanılan primerlerin listesi..... 68
Çizelge 5: Biyofilmin Oluşumunun Değerlendirilmesi..... 71
Çizelge 6: Çalışmada kullanılan *C. albicans*'a özgü primerlerin listesi..... 72
Çizelge 7 : PZR için optimize edilmiş reaksiyon koşulları..... 73
Çizelge 8: PZR için optimize edilmiş reaksiyon koşulları 74
Çizelge 9: Candida suşlarının izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımı..... 76
Çizelge 10: *Candida* suşlarının izole edildikleri kliniklere göre dağılımı..... 77
Çizelge 11: Çalışmaya dahil edilen örneklerin yaş, cinsiyet, örnek ve altta yatan hastalık dağılımı..... 78
Çizelge 12: VITEK 2 ile tanımlanan *Candida* türleri ve örneklere göre dağılımı 83
Çizelge 13: Suşların PZR öncesi DNA Miktarları 84
Çizelge 14: VITEK 2 ile Multipleks PZR Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması . 91
Çizelge 15: VITEK ve Multipleks PZR Sonuçları Uyumsuz Olan Örneklerin DNA dizi analizi sonuçları 93
Çizelge 16: VITEK-2 Compact Sisteme göre *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık profilleri..... 95
Çizelge 17: *C. albicans* suşlarının, mikroplak yöntemi ile biyofilm aktivitesi sonuçları 98
Çizelge 18: *C. albicans*'a özgü SAP 1-10 primerleri ile yapılan PZR sonuçları 100
Çizelge 19: SAP (1-10) genlerinin biyofilm oluşumuna göre dağılımı..... 102
Çizelge 20: *Candida albicans* suşlarının biyofilm, sap genleri ve direnç oranlarının değerlendirilmesi..... 102

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Mantar hücresi 9
Şekil 2 : Mantar hücre duvar yapısı 12
Şekil 3: Kandida morfolojisi 18
Şekil 4: Hif ve yalancı hif 20
Şekil 5: Klamidospor 21
Şekil 6: Maya morfolojik geçiş - filamentli formu 22
Şekil 7: Aspartik proteinaz 28
Şekil 8: Dimorfizm 32
Şekil 9: Biyofilm oluşumu 35
Şekil 10: Biyofilm yapısı 37
Şekil 11: Antifungal ilaçların etki mekanizmaları 60
Şekil 12: *Candida spp* suşunun Spektrofotometre ile DNA miktarı Ölçümü 86
Şekil 13: Multipleks PZR sonrası jel elektroforez, *C.* (*krusei, dubliniensis, guilliermondii, lusitaniae*). 86
Şekil 14: Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** *C. parapsilosis*. 87
Şekil 15: Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** *C. tropicalis*..... 87
Şekil 16: Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, *C.* (*glabrata, parapsilosis, tropicalis*). 88
Şekil 17: Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, *C.* (*albicans, tropicalis, parapsilosis*). 88
Şekil 18: Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, *C.* (*albicans, kefyr*; *tropicalis, parapsilosis*) 89
Şekil 19: Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, *C.* (*albicans, kefyr, guilliermondii*). 89
Şekil 20 : UNI 1 ve UNI 2 evrensel primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü 92
Şekil 21: SAP 1 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü 104
Şekil 22: SAP 2 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü 104
Şekil 23: SAP 3 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü 105
Şekil 24: SAP 4 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü 105
Şekil 25: SAP 5 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü 106
Şekil 26: SAP 6 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü 106

Şekil 27: SAP 7 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü..... 107
Şekil 28: SAP 8 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü..... 107
Şekil 29: SAP 9 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü..... 108
Şekil 30: SAP 10 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü.... 108

1. GİRİŞ

1.1 Genel bilgiler

Candida türleri doğada yaygın olarak bulunan ve hem yüzeyel hem de derin enfeksiyonlara neden olabilen maya mantarlarıdır (Yüksekkaya ve ark 2011). *Candida* türleri cilt ve insan mukozasında sık görülen mantarlardır, doğada yaygındırlar ve patojen olarak sıklıkla rapor edilmişlerdir (Dagi ve ark 2016). *Candida* türleri, mukoza zarlarını ve cildi etkileyen yüzeysel enfeksiyonlara ve visseral enfeksiyonlara neden olabilir: bu enfeksiyonklar bir organla sınırlı olabileceği gibi tüm vücuda da yayılabilir. *Candida*'ların neden olduğu mukoza zarlarının veya derin dokuların ve derinin enfeksiyonları kandidiyazis adını alır (Quindós ve ark 2018). Candida türleri içinde *Candida albicans*, mukozal ve sistemik mantar enfeksiyonlarında en iyi bilinen patojendir (Benzaid ve ark 2019).

Bilinen 200 *Candida* türünden sadece 20 tanesi insan enfeksiyonlarından sorumludur. Pamukçuktan artrit, endoftalmit, menenjit veya fungemi gibi istilacı hastalıklara kadar birçok hastalığa neden olabilir. Sistemik kandidiyazis için bir çok risk faktörü vardır. Bu risk faktörleri arasında uzun süreli nötropeni, kemik iliği nakli, kortikosteroid kullanımı, antibiyotik tedavisi, ağır sindirim cerrahisi, resüsitasyon, prematürite, geniş yanıklar, intravenöz eroin bağımlılığı sayılabilir. *Candida*'lar mayaları sistemik sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonlarndan da sorumludur. Sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonlar intravasküler kateterli (infüzyon ürünleri, transmisyon manüportu) hastalarda sık sık sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon kontaminasyonun "eksojen" sonucu olabilirler. Ayrıca, endojen kaynaklı enfeksiyonlar, immün sistemi baskılanmış, yoğun bakımlarda yatan hastalarda ve nötropenik hastalarda görülmektedir (Poissy 2015).

Bakterilerin ve mantarların doğal ortamlarında incelenmesi ve araştırma teknolojisindeki son gelişmeler, vahşi ortamda yaşayan mikroorganizmaların (bakteri, mantar vb.) % 95'inden fazlasının virülansları için biyofilm kullandığını göstermektedir (Marak ve Dhanashree 2018). *Candida* cinsi mantarlar da virülansları için biyofilm kullanmaktadır.

Doğada ve florada bulunan, fırsatçı patojen *Candida* türleri biyolojik (ağız boşluğunun mukozaları) veya sentetik (kateter tüpleri için kullanılan biyomalzemeler, implant veya diş protezlerinin üretimi için biyomalzemeler) ve farklı yüzeylere yapışma yeteneğine sahiptir ve bu yüzeylerde "biyofilm" oluştururlar (Seghir ve ark 2017).

Yapışma mekanizmaları yüzeyin doğasına göre değişir: biyolojik yüzeylere yapışma ligand /reseptör bağlanmasına bağlıdır, inert yüzeylere yapışma hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin kontrolü altındadır (Espinasse ve ark 2010, Seghir ve ark 2015). Biyofilmlerdeki *Candida* agregatları, antifungal tedavilere daha dayanıklıdır (Chandra ve ark 2001). *Candida*, bazen tomurcuklanan hücreler (blastoconidia), bazen filamentli hücreler (hifae veya pseudohifae) formundaki polimorf bir mayadır (Roselletti ve ark 2019). Biyofilmler dahil morfolojisini doğaya uyarlama yeteneği, çeşitli ortamlarda mayanın hayatta kalma ve virülansını modüle eden bir mekanizmadır. *C. albicans*'ın çoğalması ve bir formdan diğerine geçişi farnesol, tirosol ve gibi moleküller tarafından kontrol edilir (Kruppa 2009).

C. albicans, ağız boşluğunun ve sindirim kanalının mukozalarında bulunan bir mayadır (Cannon ve Chaffin 1999). Mukoza zarlarının patojenik istilasına, tomurcuklanan formdan filamentli forma geçiş eşlik eder. Ağız boşluğunda, mayanın çoğalması ve parazitizme geçişi, lizozim, peroksidazlar, histatinler ve defensinler gibi antimikrobiyal faktörleri içeren tükürük ekzokrin salgılarının kontrolü altındadır (Salvatori ve ark 2016). Virulansa bulunan faktörlerin yoğunluğu ve çevresel etkiler enfeksiyonun klinik seyrinde belirleyici olacaktır. Klinik spektrum lokalize formlardan (kolonizasyonlar veya sıklıkla kronik evrimin enfeksiyonları), çok ciddi ana enfeksiyonlara kadar uzanır.

Son on yılda, yeni fırsatçı mantarların ortaya çıktığı ve antifungal tedavilere direnç de bir artış olduğu görüldü. Günümüzde insan, yeni tedavi teknikleri sayesinde ömründe pozitif bir artış görülmektedir, ancak yaşla birlikte bağışıklık sistemleri zayıflamaktadır. Kanser veya HIV enfeksiyonu gibi hastalıklar ve kortikosteroidler veya antibiyotikler gibi birçok ilaçlarla vücudun bağışıklık sisteminin baskılanması, altta yatan koşulların ciddiyeti, süresi, invaziv tekniklerin kullanımı ve büyük cerrahi prosedürler, son yirmi yılda mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığının artmasına neden olmuştur.

Candida enfeksiyonunu destekleyen tüm bu faktörlere ek olarak, bazı virülans faktörleri örneğin salgılanmış aspartil proteinazlar (Sap) Sap1 ila Sap10 mukozal enfeksiyonlara ve sistemik enfeksiyonlara katkıda bulunur. Yapışma, doku hasarı ve immün yanıtlardan kaçışta rol oynarlar. Sap2 proteini, protein içeren ortamlarda *C. albicans*'ın büyümesi için esastır. Aspartil proteinazlar Sap1 ve Sap3 morfolojik değişim sırasında ifade edilirken, Sap4, Sap5 ve Sap6 proteinleri hifal oluşumu sırasında eksprese edilir. Sap1 ila Sap6'nın yanı sıra Sap9 ve Sap10, konakçı hücre yapışma mekanizmasında rol oynar (Hamid ve ark 2018). Fakat Sap9 genleri en sık tespit edildi ve ayrıca bu Sap9 genlerini ifade eden suşların fenotipik testlerde daha virülan olduğu bulunmuştur (Sadik ve ark 2019). Öte yandan, biyofilmlerdeki *C. albicans* türleri planktonik süspansiyondan daha fazla Sap üretmektedir. Özet olarak, kandidiyaz insidansı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır (Uppuluri ve ark 2018). Bu nedenle kandidiyazın epidemiyolojisini ve patofizyolojisini daha iyi anlamak ve sonuçta bu enfeksiyonların insidansını ve sonucunu azaltmak için yeni terapötik hedeflerin tanımlanması gerekir.

Çalışmanın önemi

Son verilere göre Kandida türleri sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonlarnda başlıca etken olarak kabul edilmektedir. Kandida'nın majör etken olmasına katkıda bulunan en önemli faktörlerden biri, “biyofilm" olarak bilinen yüzeye bağlı mikrobiyal topluluklar oluşturma yeteneğidir. Biyofilm içindeki hücreler konak immün savunmalarına dayanabilmektedir. Kandida biyofilmleri antifungal tedaviye karşı artan dirençte de önemlidir. Aspartik proteinazlar, antifungal dirençde anahtar olduğu düşünülen önemli hücre dışı hidrolitik enzimler olarak kabul edilmektedir. Sap’lar, *C. albicans* en önemli virülans faktörlerinden biridir. Enfeksiyon sırasında Sap’lar; proteolitik aktiviteleri sayesinde, mukozada konakçı proteinlerini parçalayarak doku istilasına neden olmaktadır. Sap izoenzimlerinin *C. albicans* virülansındaki rolü sap üretiminin bir dizi başka virülans faktörü ile (yapışma, hifal oluşumu, pleomorfizma, fenotipik anahtarlama) ilişkili olduğu gerçeğiyle desteklenmiştir. Bununla birlikte Sap’ların insanlarda enfektif süreç sırasında rolleri ve işlevleri tam olarak saptanamamıştır. Bu nedenle fonksiyonel çalışmaların yapılması gerekmektedir. Sap’ların salgılanmasını engelleyerek virulansın azaltılması ile ilgili çalışmalar devam

etmektedir. İmmünitesi baskılanmış kişilerde virulansın azaltılması endojen kaynaklı enfeksiyonlara engel olmaktadır.

Çalışmanın amacı

Candida türlerinin saptanmasında rutinde otomatize sistemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada önce Vitek 2 Compact sisteminin tanımlama sonuçlarının moleküler yöntemlerle doğrulanması amaçlanmıştır.

Candida türleri fungal enfeksiyonlardan sorumlu önemli bir patojendir ve invaziv mantar enfeksiyonlarının %70-80'inde etken olarak saptanır. Konakçı da pek çok anatomik bölgeyi invazyonunda morfogenez, adezyon, biyofilm formasyonu, fenotipik değişim, hidrolitik enzimlerin üretilmesi gibi birçok önemli virulans faktörü etkindir. Bunlardan aspartik proteazların üretilmesi ve salınımı kandida türleri için anahtar virülans determinantı olarak kabul edilmektedir. Kandidalar, salgılanan aspartik proteazları (Sap) şifreleyen on gen ailesine sahiptir; (Sap1, Sap2, Sap3, Sap4, Sap5, Sap6, Sap7, Sap8, Sap9 ve Sap10). Görevleri mukoza zarına, cilde yapışma ve istila işleminde ve ayrıca penetrasyonun erken aşamalarında yapışmayı ve istilayı kolaylaştırmak için konak hücre zarlarında doku hasarının uyarılmasıdır. Sap ve biyofilm oluşumu kandidaların patojenitesini arttırır. Sap1-10 genlerinin ekspresyonu enfeksiyonun yerine ve kandida türüne göre değişmektedir. Aspartik proteaz üretimini engelleyecek antifungaller üzerinde çalışılmaktadır. Kandilarda biyofilm oluşturma yeteneği, özellikle biyomateryaller ile ilişkili enfeksiyonlarda önemli bir virülans faktörüdür. Biyofilm varlığında antifungal ilaç etkinliğinin bilinmesi, bu enfeksiyonların tedavisinde önemlidir. Türkiyede Sap'lar ve biyofilm oluşumu arasındaki bağlantının Türkiye'deki klinik araştırmaları çok sınırlıdır. Bu çalışmada sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyon etkeni olup kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türleri ile yine sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyon etkeni olup değişik örneklerden izole edilen *C.albicans* türlerinde Sap genlerinin ve biyofilm oluşumunun saptanması antifungal duyarlılık testler ile birlikte değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

1.2 Mantarların genel bilgileri

1.2.1 Tarihçe

1969 yılına kadar Wittaker, canlıları beş taksonomik sistemde incelemektedir. Protistler (protozoa, mycetozoan, kahverengi, kırmızı ve yeşil alg ve oomycetes), mantarlar (maya, flamentous mantarı), monomerler (bakteri, mikobakteri, aktinomisetler ve mavi ve yeşil algler), bitkiler ve hayvanlar.

Candida enfeksiyonları muhtemelen çok uzun zamandan beri varlığını sürdürmektedir. Milattan önce (M.Ö) 4. yüzyılda pamukçukları anlatan yazı izleri bulunmaktadır. Yine bu yazılarda lezyonların akciğerleri de etkilebileceği belirtilmiştir. Bununla birlikte, 19. yüzyılın başında tıbbi mikoloji tanımı ortaya çıkmıştır ve 1839 yılında Bernhard Rudolph Conrad von Langenbeck, Almanya Man'daki zambakları hastalındıran bir mantarı tarif etmiştir (Yarar 2014, Caraës 2016).

1841'de Emil Berg tarafından mantarların pamuk tohumundan kaynaklandığı gösterilmiştir. Gruby, Langenbeck bir yıl sonra Sporotrichum türününü tanımlamıştır. Mantarlarla deneysel bir ağız ülseri modeli oluşturarak, bilimsel çalışmalarda ilk ve en önemli adım atılmıştır. 1847'de Robin, ağızdaki bu mantarlara Oidium *albicans* adını vermiştir, daha sonra Frank ve Wilkinson, ağızda aynı lezyonların üreme organlarında da bulunabileceğini gösterdi. 1888'de Hansen bu mantarı Monilia adı altında sınıflandırmıştır. Zopf, iki yıl sonra *Monilia albicans* adını vermiştir. 1920'lerin başında Roth Berkhout bu mikroorganizmayı vurgulayarak bazı morfolojik özellikleri ile bir *Monilia* türü olmadığını ve *Candida* ismini genel bir isim olarak kullanılmasını önermiştir. 1940'lı yıllardan beri yaygın olarak kullanılan antibiyotik kullanımı ile *Candida* enfeksiyonlarının görülme sıklığı artmış ve bu konudaki birçok araştırma araştırmacılar için büyük önem arz etmektedir (Muradiye 2014, Caraës 2016).

1.2.2 Mantar üst sınıflaması

Mantar alemi ökaryotik, heterotrofik, tek hücreli veya çok hücreli mikroorganizmalardan oluşur. Her mantar hücresi, çok çeşitli organelleri içerir ve kitin, glukan ve / veya selüloz içeren sert bir hücre duvarı ile bağlanır (Reiss 2012). Mantarlar doğada her yerde bulunmaktadır. Havada, toprakta, bitkilerde ve

okyanuslarda da dahil olmak üzere suda, kayalarda yetişen likenlerde bile bulunurlar. Mantarların bulunmadığı topraklarımızın neredeyse hiçbir kısmı yoktur. Bazı mantar türleri insanlarda orantılı olarak yaşamaya adapte edilmiştir, ancak çoğu mantar patojenleri için insanlar yanlışlıkla konakçıdır. Patojenik mantarların çoğu fırsatçıdır, bazıları ise sağlam bağışıklık ve endokrin sistemleri olan sağlıklı insanlarda hastalığa neden olabilir. Mantar aleminin daha yüksek sınıflandırma çalışmaları revize edilmiştir ve bu revizyonlarda fungal fonksiyonel yaklaşımların analizi dikkate alınmaktadır (Zanne ve ark 2019). İnsanlar için en önemli patojenik mantar kategorisi iki filadan oluşan Dikarya alt alanıdır: *Ascomycota* ve *Basidiomycota*. Bilinen filum Zygomycota, monofizik olmadığı için geçerli bir takson sayılmaz. Daha önce Zygomycota'da sınıflandırılan fungal patojenler şimdi filum Glomeromikota, subfilik Mukozotekina ve subfilyum Entomoftoromikotin'de bulunur (Bonfante ve Lanfranco 2019). Özet olarak, phyla ve subphyla, kladistik analiz ve cinsel üreme temelinde yapılandırılmıştır: Mukozobakin, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* (Şekil). Eskiden *Zygomycota* ile sınıflandırılmış olan *Entomophthoromycotina* şimdi ayrı ayrı görülmektedir (Bonfante ve Lanfranco 2019, Burdett 2019). *Ascomycota* ayrıca kalıplar ve blastoconidia tarafından üretilen conidia veya mayada tomurcuklanma yoluyla aseksüel olarak üremektedir. *Ascomycota* içinde farklı cinsler ve türler klinik laboratuvarda conidiogenesis yöntemi ile veya yavaş büyürlerse veya sporüle edilemiyorlarsa genetik tanımlama ile tanımlanır. *Ascomycota* phylum'un güncel güncellemesi elektronik olarak yayınlanmaktadır (Lücking ve ark 2017). İnsanlar ve hayvanlar için Ascomycota patojenleri içeren subfila mantarları şunları içerir:

 Taphrinamycotina. *Pneumocystis jirovecii* olarak akciğerde yaşayan fırsatçı mantarı içeren pnömististomisit sınıfından oluşan bir bazal Ascomycota hattı.

 Saccharomycotina. Saccharomycetes veya "True Mayalar" sınıfı tek bir büyük düzen olan Saccharomycetales'ten oluşur. Patojenik mayalar üç grupta bulunur (Brandt ve Warnock 2015):

• Grup 1. *Candida albicans, C. dubliniensis, C. tropicalis, C. viswanathii, C. parapsilosis,*

C. orthopsilosis, C. metapsilosis.

• Grup 2. *Candida guilliermondii* ve teleomorph Pichia *guilliermondii*, Clavispora *(Candida) lusitaniae*, *Candida zeylanoides*, *(Candida) norvegensis*.

• Grup 3. *Candida glabrata* ve *Issatchenkia orientalis* (anamorf: *Candida krusei*).

1.2.3 Mantar hücresinin genel bileşimi: Organeller

Mantar hücreleri bakteri hücrelerinden farklıdır (Akhavan ve ark 2018). Çekirdeği olmayan hücrelere prokaryot, çekirdeği olan hücrelere ökaryot denir (örneğin bakteri) adı verilir (Thajuddin 2018). Mantarlar basit ökaryotlardır, bitki ve hayvanlar yüksek ökaryottur. Mantarlar bitki değildir, çünkü klorofil eksikliği vardır ve bu nedenle fotosentez yapamazlar. Mantarların çoğu çok hücreli olsa da, bazıları tek hücrelidir; Mayalar. Mantar hücreleri, kromozom içeren ve hücrenin çalışmasını sağlayan tam bir hücre içi organel dizisi içeren bir çekirdeğe sahiptir (Şekil 1). Böylece, bir hücrenin genel teorisi üç noktada özetlenir:

• Tüm canlı organizmalar en az bir hücreden oluşur.

• Hücre organizmanın temel yapı ve fonksiyon birimidir.

• Tüm hücreler diğer canlı hücrelerden gelir (Thajuddin 2018).

Bir hücrede, farklı roller ve işlevler oynayan özel yapılar vardır, bu yapılara organel denir. Organeller hücresel faaliyetlerden sorumludur (Carrol ve ark 2016). Günümüze kadar üzerinde çalışılan tüm tıbbi açıdan önemli mantarlarda bulunan üç ana duvar bileşeni, β-glukan (glikoz polimerleri), kitin (N-asetilglikozamin polimeri) ve mannan'lardır. Bu üç bileşen hücre duvarı boyunca iç içe yerleşse de esas olarak kitin ve β-glukan hücre zarına yakın, mannanlar ise hücre duvarının dışına doğru baskın olarak bulunma eğilimindedir. Kimyasal olarak β-1,3-glukan ile kitinin çapraz bağlantısı hücre duvarının temel yapısal iskeletini oluşturmaktadır. Glukan-kitin kompleksi patojene özgü olarak diğer polisakkaritlere de değişen oranlarda bağlanabilirler (Selim ve ark 2015).

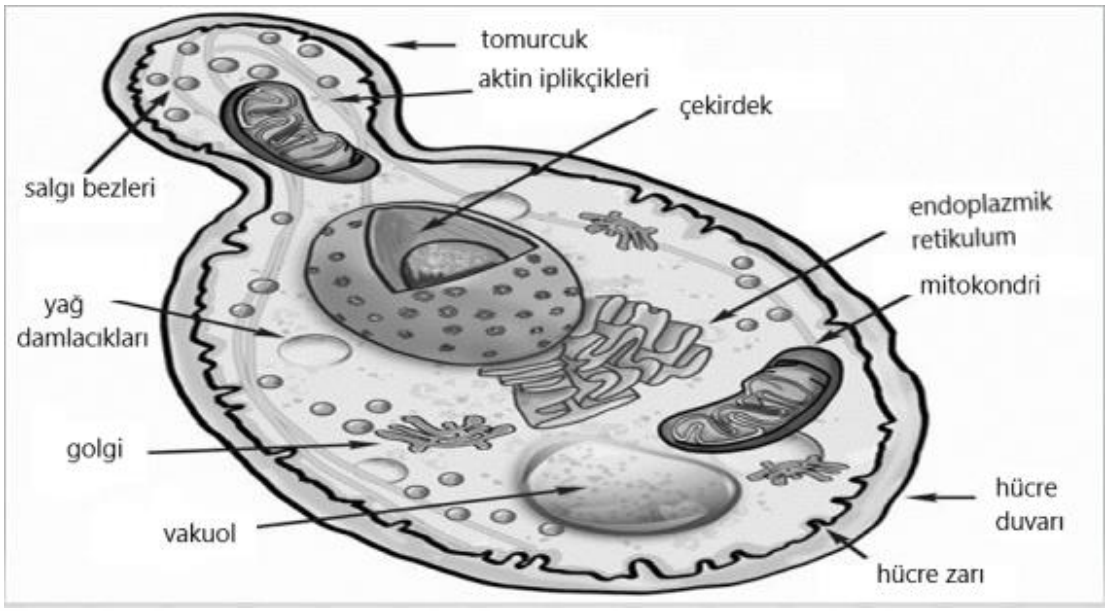
Sitoplazma

Sitoplazma % 70 su ve% 30 karbonhidratlardan (şekerler), yağlardan (yağlar) ve proteinlerden oluşmaktadır. Organellere destek verir. Neredeyse tüm hücreyi kaplayan sitozol adı verilen jelatinimsi sıvı olarak bilinmektedir.

Çekirdek

Çekirdek, hücrenin genomunu içerir. Değişken kalınlıkta bir boşlukla ayrılmış bir çift üniter membrandan oluşan bir membran ile sınırlandırılmıştır. İç zar genellikle basittir, ancak en dıştaki zar, birçok yerde endoplazmik reticulum (ER) ile devam eder. Nükleer membran, işlevi çekirdek dışına madde ithal eden ve ihraç eden birkaç protein kompleksinden oluşan gözenekler nedeniyle seçici bir geçirgenliğe sahiptir. Ökaryotik hücrelerin kromozomları, çift sarmalda düzenlenmiş doğrusal deoksiribonükleik asit (DNA) makromoleküllerini içerir.

Bunlar yalnızca hücre bölündüğünde ve DNA oldukça yoğun bir biçimde olduğunda optik bir mikroskop altında görülebilir. Ökaryotik DNA makromolekülleri, iyonik etkileşimler yoluyla DNA'ya bağlanan histon denilen temel proteinlerle ilişkilidir. Nükleolus, ribozomal RNA'nın yeri olan ribonükleik asit (RNA) açısından zengin bir alan olan çekirdeğinde sıklıkla görülen bir yapıdır (Graham ve Burridge 2016). Sitoplazmada sentezlenen ribozomal proteinler nükleol içine taşınır ve küçük ve büyük ökaryotik ribozom alt birimlerini oluşturmak için ribozomal RNA ile birleştirilir. Bunlar daha sonra protein sentezinde işlev görebilecek sağlam bir ribozom oluşturmak için birleştiği sitoplazmaya ihraç edilir. Çekirdek kısaca bir hücrenin "müdürü" dür. Hücrenin tüm faaliyetlerini ve fonksiyonlarını kontrol eder. Ayrıca, DNA genetik bilgisini içerir ve korur (Carrol ve ark 2016, Graham ve Burridge 2016).



Şekil 1: Mantar hücresi (https://images.app.goo.gl/RGTjDJJnnq4FjYFa7)

Kromatin

Kromatin, oluşturdukları madde, kromozomlar tarafından daha iyi bilinir. Yani, kromatinin küçük oğlu kromozomları oluşturur. Bu malzeme DNA ve proteinlerden oluşur. DNA'nın, hücrenin fonksiyonlarını kontrol eden talimatları içerdiğini bilmek önemlidir. DNA'ya fiziksel erişim, hücresel kimliğin oluşturulmasında ve korunmasında önemli bir rol oynayan kromatinin oldukça dinamik bir özelliğidir (Klemm ve ark 2019).

Endoplazmik retikulum (ER)

Bu, çekirdeğe bağlı tüp ve kanallardır. Hücre içindeki madde ve maddelerin taşınmasını ve dolaşımını sağlar. Aynı zamanda hücrede meydana gelen kimyasal reaksiyonların bölgesidir. ER kısaca, zar bileşenlerinin ve proteinlerin çoğunun ribozomlar (polibozomlar) üzerinde sentezlendiği sitoplazma içindeki bir tübüller ve veziküller sistemidir. ER ayrıca, sinyal kaskadları tarafından indüklendiğinde sitozole salınması için kalsiyum iyonlarının (Ca^{2+}) saklama alanıdır (Reiss 2012).

Ribozomlar

Ribozomlar endoplazmik retikulum üzerinde küre şeklindedir veya protein üretiminde sitoplazmada serbesttir. Hücrelerin üremesi ve büyümesi için gereklidirler. Bu hücre organelleri, ribozomal RNA ve ribozomal proteinlerden oluşur. Mesajı

protein sentezine çevirmek için mesajcı RNA ve taşıyan RNA (tRNA) ile birleşirler; 40S ve 60S ribozomal alt birimleri 80S ribozomunu oluşturur (Carroll ve ark 2013).

Golgi aygıtı

Proteinleri ve diğer molekülleri toplar ve vücutta kullanım için onları hücre dışına salgılar. Golgi aygıtı, hücre dışına veya başka bir yere vermeden önce endoplazmik retikulumda oluşan molekülleri sık sık alan ve modifiye eden eşmerkezli olarak düzenlenmiş bir çift membran serisidir. Salgıların, salgılama ürünlerinin ve zar proteinlerinin hücre yüzeyine salınmasının ya da boşluklardan geçişin merkezi yoludur (Reiss 2012).

Mitokondri

Mitokondri hücresel solunum yerleridir. Hücrenin faaliyetlerini kolaylaştırmak için glikoz enerjisini serbest bırakırlar. Glikoz + Oksijen = Enerji + Karbon Dioksit + su. Mitokondri, mantar patojenleri dahil olmak üzere çoğu mikroorganizmanın enerji üreten ana organelleridir. Hücresel süreçlerde mitokondrinin rolü, stres koşulları altında hem büyümeleri hem de hayatta kalmaları için esastır. *Candida spp.* 'de mitokondrinin görevi bu hücresel süreçler arasında yaşam öyküsü, filamantasyon, hücre duvarı sentezi, apoptoz önleme, membran sentezi ve virülansı içerir (Presterl ve ark 2019). Peroksizomların ve mitokondri'nin asetil- Koenzim A (CoA)'yı tersine çevrimli bir şekilde taşıdığı bilinmektedir ve asetil-CoA transferazlarının gen silmeleri virülansın azalmasına neden olmaktadır. Mitokondriyal enerji üretimi, dört kompleks (C) CI-CIV ve CI, CIII ve CIV reaksiyonları yoluyla adenozin trifosfat (ATP) üreten CV'lerden oluşan elektron taşıma sistemi (ETS) ile ilişkilidir. Çeşitli ökaryotlarda CI kompleksi bildirilmiştir. Mitokondri, karmaşık alt ünite I (CI) proteinlerinin sayısı ve özgüllüğü, memelilerin ve mantarların mitokondriyal solunum yollarının sayısına göre değişir. CI alt birimlerinin en az iki proteini mantarlara özgüdür ve antifungal ilaçların üretiminde elverişlidir (Bromley ve ark 2016). Candida türlerinin model maya olan *Saccharomyces cerevisiae*'ye alternatif olarak hizmet etmesinin birkaç nedeni vardır. *Candida* türleri, mitokondri çalışmaları, *C. albicans, C. parapsilose* ve *C. tropicalis*'tir. Ayrıca, klasik solunum çoklu alt ünite kompleksi (CI), S. cerevisiae'de yoktur, oysa henüz bahsettiğimiz *Candida* türlerinde tam olarak gelişmiştir. Yukarıda belirtilen mantarlara özgü olan IC'nin mitokondriyal proteinleri vardır. Örneğin CI'deki genlerin

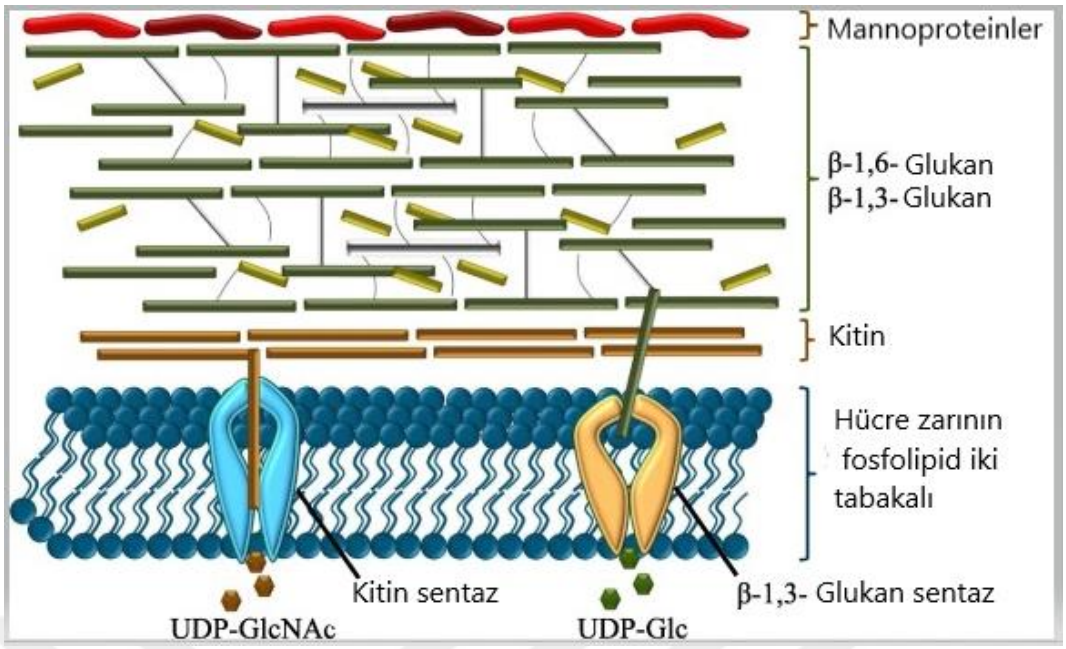
inaktivasyon suşları, hücresel fonksiyonların derin bir şekilde kaybedilmesine neden olur (Reiss 2012).

Vakuoller

Vakuoller taşınması ve saklanması için glikoz, su ya da atık doldur ve sitoplazmada bulunur. Bir hayvan hücresinde, birkaç küçük vakuol varken, bir bitki hücresinde, genellikle, 1- 2 büyük hücre arası boşluk vardır. Bu memeli hücrelerinin lızozomlara benzer şekilde intramembranöz sisteminin bir parçasıdır. Vakuoller protein sindirimi için gerekli olanlar dahil hidrolitik enzimler içerir: endopeptidazlar aminopeptidazlar ve karboksipeptidazlar (Kawano-Kawada ve ark 2018). Burada, temel amino asitler, polifosfatlar ve bazı metal iyonları saklanır. Vakuol iyonları hücre içi ozmotik basıncın sitoplazmik konsantrasyonlarını düzenler. Diğer küçük membrana bağlı veziküller mantarların sitoplazmasında bulunur ve hücrelerin içindeki materyallerin taşınması ile ilgili çeşitli görevleri yerine getirir (Luna-Tapia ve ark 2015).

Kitin

Kitin, mantar hücrelerine özel bir organeldir. β-1,4 bağlarla (kitin) bağlanmış 2.000'den fazla N-asetil-D-glukozamin (GlcNAc) tortusu içeren doğrusal polimerlerden oluşan duvarın en derin tabakasıdır (şekil 2). GlcNAc zincirleri, bon-glukanlar ile kompleksler oluşturarak duvarın sertliğine katılan bir mikrofibriller ağı oluşturmak için hidrojen bağlarıyla anti-paralel olarak birleştirilir (Preechasuth ve ark 2015). Mayalarda, tomurcuklanma sürecine ve özellikle de ana hücre ve yavru hücrenin ayrılması için daralma halkası oluşumuna katılır. Kitin ayrıca septa misellerinin şeklinin oluşumunda da rol oynar. Ana rolüne rağmen membranın küçük bir bileşenidir. Dağılımı parietal iskelet içinde heterojendir ve hücre döngüsü sırasında ve çevresel koşulların bir fonksiyonu olarak değişir (Lee ve ark 2012). Kitin, hücrenin yaşayabilirliği için esastır ve halen yeni antifungal moleküllerin gelişimi için tercih edilen bir hedeftir. Mayaların, hücre çeperinin farklı bölgelerindeki kitin sentezini hücre döngüsünün bir fonksiyonu olarak koordine eden birkaç kitin sentetatı vardır (Preechasuth ve ark 2015). *C. albicans*'ta, kitinin biyosentezi (CHS), CHS1, CHS2, CHS3 ve CHS8 genleri tarafından kodlanan dört kitin sentetazının kontrolü altındadır (Lenardon ve ark 2007).



Şekil 2 : Mantar hücre duvar yapısı
(https://images.app.goo.gl/ZHbgLSgpNq1dnJSp7)

Kitin sentetazları

- Kitin sentetaz sınıfı I (Chs2p ve Chs8p), hifal büyümede rol alan kitin sentetaz aktivitesine sahiptir. Chs2p, hücre zarı bakımından zengin preparatlarda ölçülen kitin sentetaz aktivitesinin çoğunu oluşturur (Lenardon ve ark 2007). Chs8p in vitro olarak ölçülmüş olan kitin sentetaz aktivitesine hafifçe katkıda bulunur.

- CHS1 geni tarafından kodlanan, Sınıf II kitin sentetaz (Chs1p), septa oluşumunun ilk aşamasında kitin sentezi için gereklidir; etkinliği duvarın bütünlüğünü sağlamaya yardımcı olur. Ayrıca, Chs1p mayanın büyümesi için şartttır (Gigou-Cornet 2006)

- Sınıf IV kitin sentetaz (Chs3p) *blastoconidia* ve çimlenme formlarında parietal kitinin yaklaşık% 80'ini üretir (Merzendorfer 2011). Kitin sentazlarının, maya hücresi evresinin bir fonksiyonu olarak farklı ekspresyonu, bir veya daha fazla kitin sentetaz geninde eksik olan izogenik mutantların kullanımıyla açıkça tanımlanmaktadır. Üstelik, uzun mikrofiberlerin kitin (septa içinde) yerleşiminin, CHS8'e bağlı olduğu, duvarda ve septada bulunan kısa zincirlerin varlığına bağlı olduğu gösterilmiştir (Lenardon ve ark 2007). Hifanın oluşumu ve duvarın plastisitesinin miselyumun büyüme bölgeleri seviyesinde düzenlenmesi, kitinaz tarafından sağlanır. *C. albicans*'ta bu enzimler 4 farklı gen CHT1, CHT2, CHT3 ve CHT4 tarafından kodlanır. CHT2 ve

CHT3 tercihen blastokonidya şeklinde görülür. CHT1 ve CHT4'ün aktiviteleri tam olarak tanımlanmamıştır. Kitin-sentetaz ve kitinaz aktiviteleri birbirinden bağımsız olarak düzenlenir (Damiens 2012).

1.2.4 Maya hücre duvarının moleküleri (*Candida*)

Candida duvar hücresinin dış yüzey katmanı, ana yüzey antijeni "mannan" olan mannoprotein içerir. Hücre duvarının fibril polisakaritleri, β- (1 → 6) -d-glukan (yüzeysel katman), β-(1→ 3) -d-glukan (derin katman) ve en içteki katmandır (şekil 2). Polo- (1 → 4) -N-asetilglukosamin, mikrokristalin kitinin kabuğudur ve antifungallerin direncinde önemli bir rol oynar (El Kirat 2010). Proteinler, kovalent olmayan bir şekilde hücre duvarına entegre edilir veya fibrillerle hücreye bağlanır.

Duvarlardaki polisakkaritler ß- (1 → 6) -d-glukanda, kitin içinde ß- (1 → 6) -d-glukanın kısa zincirleri yoluyla veya doğrudan kitin içinde bulunur. Proteinler ve glukanlar ve kitin arasındaki bağ türleri şunlardır:

1. Fosfodiester proteinlerine ("GPI" bağlanma motifi) bağlı glikosil fosfatidil nositol.

2. Chitobiose ve protein fragmanının asparagini arasında N-glikozidik bağlar (alkali stabil). Bu, "iç çekirdek" mannan ile proteine olan ana bağlantıdır.

3. disülfür bağları ile bir indirgeyici ajan ile ekstrakte edilebilen bağlı proteinler, sırayla treonine veya serin'e O-glikozit bağları ile β- (1 → 3) -d-glukan ile bağlanır. Bunlar diğer proteinler, glukanlar ve kitin arasındaki diğer bağlantı türleri. Hücre duvarından 2-merkaptoetanol gibi sülfhidril reaktifleri ile birkaç protein ekstrakte edilebilir. Bu, disülfit köprüleri tarafından hücre duvarına kovalent olarak bağlandıklarından veya disülfit köprüleri azaltılarak hücre duvarı yapısı gevşetildiğinde oluşabilir (Reiss 2012).

a) Mannan

Mannoproteinler, hücre duvarı kütlesinin % 38 ila 40'ını oluşturur. Mannoproteinin en büyük bileşeni olan mannan, *C. albicans*'ın antijenik zarfıdır. *Candida* türleri arasında mannanda antijenik varyasyonlar vardır (Kollár ve ark 1997). Mannan, *Candida*'nın ana yüzey antijeni olduğu için önemlidir ve kandidemi ve derin

kandidiyazis sırasında serumda tespit edilmesi için testler geliştirilmiştir. Mannan bir iç çekirdek ve bir dış antijenik zincirden oluşur. İç çekirdek, 12-17 mannoz tortusu ile ikame edilmiş bir a- (1 → 6) -mannan lineer omurgasından ve N-glikosidik bağlar vasıtasıyla N-glikosidik bağlantılar vasıtasıyla bağlanan protein fragmanının asparagininden oluşur **Mannan şekili.** Dış zincirin iki alanda a- (1 → 6) -mannan doğrusal omurgası boyunca düzenlenmiştir. A'ya bağlanan bir alan, α- (1 → 2) ve α- (1 → 3) arasında bağlanmış 6 veya 7 birimin oligomannosidlerinden oluşmuştur (şekil 2). Bunlar antijenik epitoplardır. Dış zincirin ayrı bir domeni, 2 ila 6 arasında bir polimerizasyon derecesine sahip β- (1 → 2)-bağlı oligomannosidlerden oluşur. B-manan, asit labil fosfodiester bağları vasıtasıyla omurgaya eklenir, fosfonomannan A ve ß linked. Mannoz oligosakarit epitopları, Candida hücre duvarının antijenik mozaikine katkıda bulunur. Mannanın tespit edilmesi için yapılan testler a ve oligomannoz epitoplarına karşı antikorlar içermelidir. A ve β-mannan alanlarının patojenite üzerindeki göreceli önemi sorusu tartışılmaktadır (Chen ve Seviour 2007). MNN4 geni, mannosil fosfat transferi için gereklidir, böylece Mnn4 mutantının β-mannan alanı yoktur. Boş mutant, büyümesinde, şekil gelişmesinde, farelerde virülansta, yapışma ve makrofajların emiliminde etkilenmemiştir. Bununla birlikte, diğer çalışmalarda ß - (1 →2) -oligomannosidleri murin gastrointestinal kolonizasyonunda incelenmiştir (Masuoka 2004). Enfeksiyon sırasında, mannan duvar hücresinden atılır ve plazmada dolaşır.

b) Fosfoleman (PLM)

PLM, *C. albicans*, konak hücrelerle temas ettiğinde, hücreden türetilen eşsiz bir glikolipittir. PLM sekresyonu makrofajlardaki albicans ile bağlantılıdır. Ve bu salgı, apoptozun teşviki için makrofajlarda gerçekleşir. PLM, mannoz-inositol-fosfoseramit ailesinin bir üyesidir (Mille ve ark 2008). PLM'in yapısı: PLM, poliole fosfatidilinositol'e β- (1 → 2) glikosidik bağ ile bağlanmış uzun bir doğrusal β- (1 → 2) -mannoz zincirinden (ortalama polimerizasyon derecesi 14) oluşur. Fosfatidil inositol daha sonra fosfodiester ile seramid bağlarına bağlanır. (Tanım: Seramid - bir amid bağıyla bir yağ asidine bağlanan sfingosinden oluşan bir lipid. Phinozin, doymamış hidrokarbon zincirine sahip 18-karbonlu bir amino alkoldür) (Reiss 2012).

c) β- (1 → 3) -D-glukan, β- (1 → 6) -D-glukan

Tıbbi mantarların biyolojik aktiviteleri, mantarların ve bazı bitkilerin hücre duvarında bulunan β- (1→3), (1 → 6) glukanlara bağlanır. Antitümör, immünomodülatör, antimikrobiyal, antinosisepsiyon, antienflamatuvar, prebiyotik, antioksidan ve antidiyabetik, β- (1 → 3), (1 → 6) glukanlar için tarif edilen farklı özelliklerden bazılarıdır. Bu biyolojik etkileri açıklığa kavuşturmak için Dectin-1, kompleman (CR3) gibi spesifik β-glukan reseptörleri dahil immün aktivasyon sistemleri tanımlanmıştır. B- (1 → 3) -glukanlar, bir katalitik birime sahip bir glikosiltransferaz grubuna ait bir enzim olan β- (1 → 3) -glukan sentaz (GLS) ile sentezlenir (Bzducha-Wróbel ve ark 2019). (1 → 3) -glukan zincirlerinin indirgeyici olmayan uçlarına β- (1 → 6) dallarını ekleme mekanizmaları şu ana kadar açık değildir. B- (1 → 3), (1 → 6) -glukanın biyolojik önemi nedeniyle, hem biyoaktif bileşiklerin üretimini optimize etmek amacıyla hem de sentezinin biyokimyasal prensiplerini ve moleküler mekanizmalarını anlamak gerekir (Dalonso ve ark 2015).

1.3 Candida Cinsinin Özellikleri

Candida, insanlarda mukoza zarlarında ve ciltte kommensal olarak bulunur. Saprofit durumundan patojenik duruma kadar, mayaların kolonileşme gücü tek gösterge olarak kalır. Benzer şekilde, bağışıklık sistemi savunması ve virülans faktörlerinin etkileri bu mikroorganizmanın patojenitesini karakterize eder. Ek olarak, doğal bağışıklık için fiziksel engeller olan cilt, mukozalar, makrofaj fagositler ve nötrofil granülositleri, mantar enfeksiyonlarına karşı ana savunma hattını oluştururlar (Carrol ve ark 2016).

1.3.1 Taksonomi ve morfoloji

Mukorales familyası mantarları her türlü ıslak organik maddeüzerinde yaşar ve insan florasının kalıcı bir bölümünü oluşturur. Bazı taksonlar, esas olarak immün sistemi baskılanmış hastalarda, yaşamı tehdit edici enfeksiyonlara neden olmaktadır. Mukorales takımı şimdi filum Mucoromycota içine alınmıştır ve 55 cinse ait 261 tür içermektedir. Bu kabul edilen türlerin 38'inin insanlarda akut mikozis olarak bilinen klinik enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Moleküler filogenetik çalışmalar ile son yıllarda taksonomi yeniden düzenlenmektedir (Bzducha-Wróbel ve ark 2019).

Bölüm: Mantar

Phylum: Ascomycota

Sınıf: Hemiascomycetes

Takım: Saccharomycetales

Aile: Candidaceae

Cins: Candida (Tedersoo ve ark 2018)

Candida cinsi, yalancı hif ve hatta gerçek hif üretebilen türleri barındıran pigmentsiz, çok formlu tomurcuklanan bir mayadır. Çoklu tomurcuklanma, yalancı hiflerin dallanmasından kaynaklanır. Klorofil içermeyen ve absorpsiyon ile beslenen ökaryotik bir mikroorganizmadır. Mantarlar bazen oval veya yuvarlaktır. Kandida duvarı selüloz ve kitine sahiptir. Tomurcuklanarak ürer ve tohumlar mayoz ile ayrılır (Koneman ve ark 1997). *Candida* cinsi, lateral tomurcuklanma (blastospor) ile aseksüel olarak gelişen, yaklaşık 1-3 x 4-6 µm ölçüsünde ince, gram-pozitif duvarlara sahip, kapsüllenmemiş, oval, fakültatif aerob mayalardır. Maya formunun yanı sıra, kültürlerde ve dokularda gerçek hifalar veya yanlancı hifalar gösterebilirler. Tomurcuklanma sırasında yalancı hifa ana hücreyi terk darkenn arada oluşan uzun bağdır.

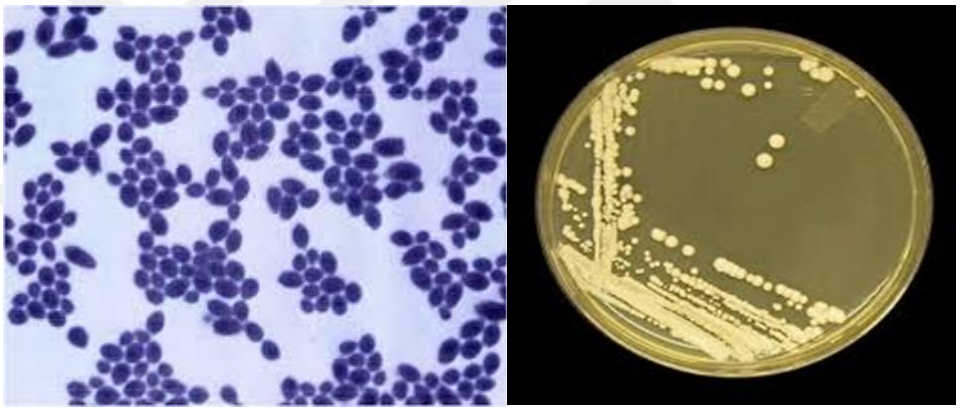
Bazı türler yalancı hifa oluşturur. *Candida albicans* ve *Candida dubliniensis* ve *Candida norvegensis* gibi türler gerçek hifa oluşturma gücüne sahiptir (Gladieux ve ark 2015). Candida dubliniensis ve Candida albicans da gerçek bir hif görülür. Septa, organellerin ve sitoplazmanın hücre içi geçişini sağlayan gözeneklerdir. Ascomycota'da gözenekler, örneğin Woronin cisimleri olan küresel yapılar tarafından kapatılır (Gladieux ve ark 2015). Genetik olarak Candida cinsi, belirli türler için cinsel olarak çoğaltılabilen diploid veya haploid mayalara bölünür. Bu monofilament grup, genetik kodun sistematik bir varyasyonu ile karakterizedir. Candida, diğer birçok mantar hücresi gibi, fagositler tarafından tanınan ilk mantar elementi olan bir duvarla çevrilidir. Bu duvar çevrenin fiziksel ve kimyasal saldırılarına karşı koruyucu bir rol oynar ve ozmotik basınçtaki tüm değişikliklere karşı direnci arttırır. Doğada 150'den fazla Candida türü vardır ancak bunların yaklaşık % 65'i 37 ° C'de çoğalma gücüne sahip değildir. Bu nedenle, çok az Candida insanlarda yaşar ve sadece ortam uygun

olduğunda enfeksiyona neden olabilir. En sık izole tür *Candida albicans*'tır, ancak *Candida glabrata, Candida krusei, Candida lucitaniae, Candida guilliermondii, Candida parapsilosis, Candida dubliniensis Candida kefyr* ve *Candida tropicalis* de yaygın türlerdir. En az izole edilenler *Candida famata, Candida inconspicua, Candida viswanathi, Candida haemulonii, Candida utilis, Candida catenulata, Candida lipolytica, Candida lambica norvegensis, Candida intermedia, Candida zeylanoides* ve *Candida rugosa*'dır (Gladieux ve ark 2015). *Candida,* Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ve Kanlı Agar agar gibi ortamlarda oda sıcaklığında (22-26 ° C) ve ayrıca 37 ° C'de ürer. Kültür örnekleri 26 ° C ve 37 ° C'de inkübe edildiğinde, ürememe 37 ° C'de saprofitisite gösteren bir özelliktir. Patojen Candida türlerinin çoğu, hem 26 dreceded sıcaklıkta hem de 37 derecede ürer. Üremeleri için ortamın nemli (% 30 ila 40) olması gerekir. *Candida* ayrıca başlıca hidrojen potansiyeli (pH) 4.5 ve 5 de olmak üzere pH 3 ila 7.5 arasında üreyebilir. Çapı 1 ila 2 mm arasında olan, pürüzsüz, kremsi bir yüzey oluşturur, maya kokusu vardır, oda sıcaklığında ve özellikle SDA ortamında 24 ila 48 saatte S tipi koloniler yapar. *Candida* kolonileri kendiliğinden S-formundan R-formuna mutasyona uğrayabilirler. Ayrıca kanlı agar plakalarının kenarlarında uzantıları olan koloniler oluşturabilirler (Hovijitra ve ark 2016).

Candida, membrana bağlı bir çekirdek, ribozom, mitokondri, hücre duvarı, sitoplazmik membran, sitoplazma, 80S yapısı, endoplazmik retikulum ve aygıtlarına sahip ökaryot bir hücredir. *Candida* türleri, hücre duvarı açısından, % 80-90 karbonhidrat, % 5-15 protein ve (% 2-5) lipitlerden oluşur. Ayrıca, bu karbonhidratlar % 20 ila 35 oranında mannoprotein, % 50 ila 65 oranında ß glukan ve % 0.6 ila 10 oranında kitinden oluşmuştur. Konakçı hücreye yapışma en dıştaki protein tabaka tarafından sağlanır. Bir içteki katman asit fosfataz ve N-asetil glukosaminidaz gibi enzimler içerir. Candida türlerini ayırmak için, manoproteinlerde farklılıklar değerlendirilir. Hücre zarı hücrenin çevresi ile kimyasal değişimine yardımcı olur. *Candida* türlerinin hücre duvarında bulunan lipitler, sterol (zymosterol), fosfolipitler ve trigliseritlerin serbest sterol (ergosterol) esterleridir (Ruiz-Herrera 2016). Hücre yapısının mitokondrileri diğer ökaryotik hücrelere benzer olmasına rağmen, hücre başına mitokondri miktarı solunum aktivitesine göre değişir. Candida türlerinin sitoplazmasında, hidrolitik enzimler içeren vakollerin iyonları ve metabolitleri mevcuttur (Hovijitra ve ark 2016, Ruiz-Herrera 2016).

1.3.2 Morfolojik formlar

Maya (blastospore), hifa, yalancı hifa, cinsel projeksiyon, klamidospor ve hiperpolarize tomurcuk gibi çeşitli morfolojik formlar, bu mayaların üremesi için temel ve önemli özelliklerinden biridir. Bu, konakçıda büyümesini ve yayılmasını sağlar, bu morfolojik çeşitliliğin bir hayatta kalma stratejisi olduğu kabul edilir. En sık karşılaşılan formlar yalancı hifa, hif ve blastosporlardır. Genellikle enfeksiyon odaklarında ve vejetatif kültürlerde bir arada bulunurlar. Ancak laboratuvarda, kültür koşulları *C. albicans*'ın çoğunlukla tek bir morfolojik formda gelişmesine izin verir. Ayrıca bu patojen yalancı hifa, hif ve blastospor şekilleri arasında, dış sinyallere tepki olarak, çok hızlı bir şekilde değişme kapasitesine sahiptir ve dönüşüm ve geri dönüşlüdür (Trevijano-Contador ve ark 2016). Blastosporlar (mayalar) çok taraflı tomurcuklanma ile çoğalır ve yaklaşık 3 ila 5 um ölçülür ve oval hücrelerdir (Şekil). Sıcaklık tomurcuklanan alanların seçiminin bir göstergesidir.



Şekil 3: Kandida morfolojisi (https://images.app.goo.gl/apTD4cL6GEkFAN5dA)

Bir yeni hücreyi doğurmak için, ana hücre daha sonra ayrılacak olan bir tomurcuk (blastoconidia) üretir. Hücre henüz ana hücrenin boyutuna ulaşmadığında, hücreler sitokinezden sonra ayrılır. Ana hücre ve tomurcuğun oluşması için çekirdek bölünmelidir. Dolayısıyla, izotropik üremesi ve polarizasyon arasında bir hücrenin değişimi vardır. Tomurcuk ucundaki protein kompleksi, polarizom boyunca polarize ürümesiyi tanımlar (Trevijano-Contador ve ark 2016). İn vitro ortamda blastosporlar şeklinde oluşmasını destekleyen faktörler pH 6.5 - 7.0, 35 ° C'nin altında inkübasyon sıcaklığı ve 106 hücre / mL'den daha büyük inokülum ve tek bir kaynak olarak glukozun varlığıdır (Jackson ve Moura 2016). Katı substrat yöntemlerinin aksine, sıvı kültür fermantasyonu (LCF) daha az çalışma gerektirir ve daha kısa fermantasyon

süreleri ve daha düşük kontaminasyon riski olan büyük ölçekli koloniler üretebilir. Sıvı kültürde fermantasyonun ek avantajları arasında tutarlılık ve farklı türleri üretme yeteneği yer alır. Bu fermantasyon ayrıca mantar virülansını artırabilen ikincil metabolitler ve enzimler üretir (Morales-Reyes ve ark 2018).

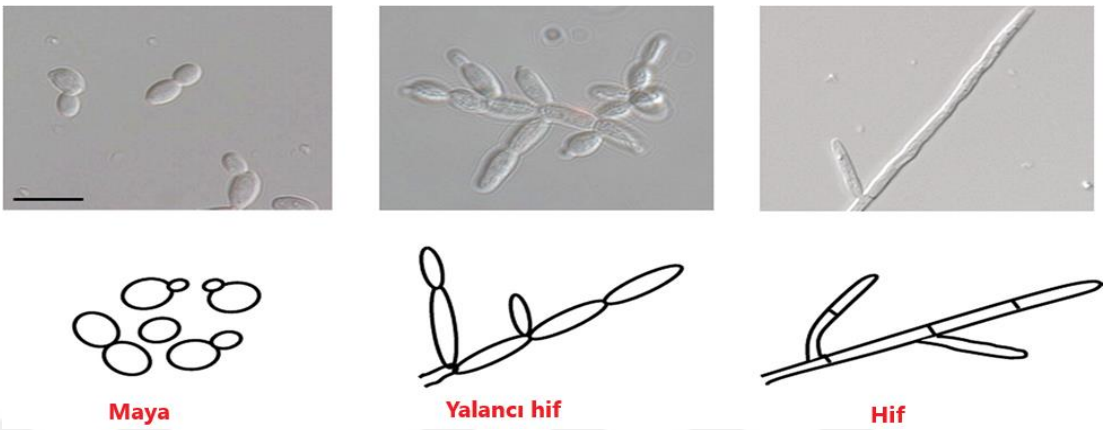
a) Hif

Hif ince ve uzun, yaklaşık 2 μm çapında, septa ile bölünmüş ve birkaç hücre birimi içeren mikroskobik tüplerdir (Şekil). Ayrılma bölgesinde nispeten görünür bir daralma olmadan iyi paralel duvarlara sahiptirler. Bunların oluşumu çimlenme tüplerinin gelişimi ile başlatılır; çimlenme, bu işlemin tipik adıdır. Çekirdek, septumun göründüğü uzamış germ tüpüne ayrılır. İkinci çekirdek filizlenme borusuna ilerler ve daha sonra başka bir çekirdek ana hücreye göç ederek geri döner. Hifae, blastosporlardan farklı olarak daha yüksek bir polarizasyon seviyesi gösterir. Çimlenme tüpünün ucunda bulunan iki hücre, yalnızca polarizom ve Spitzenkörper tarafından tanımlanan apikal bir polarize büyümeye sahiptir. Spitzenkörper, özellikle, polarizom ile birlikte çalışan, hifae organelisidir (Walker ve White 2017). Hifae, hücre duvarı bileşimine göre blastosporlardan en az üç kat daha fazla kitin içerir. Hifalar, yanal tomurcuklanan yeni hifale veya blastosporları doğurabilir. Miselyum, hifae, dalları ve lateral tomurcukları içeren hücre agregatıdır (Walker ve White 2017). Bu patojenik mayayı tanımlamak için bir teknik olarak, 37 ° C'de serum varlığında filatasyon uzun süre başka bir yerde kullanılmıştır. Sonuç olarak, yeni ve daha spesifik tanımlama yöntemleri geliştirilmiştir (Thajuddin 2018).

b) Yalancı hif:

Daha önce blastosporlar ve hifler arasında bir ara form olarak görülürken, tamamen farklı bir form oldukları anlaşılmıştır. Yalancı hif hücre döngüsü seviyesinde blastosporlara benzemektedir, tek fark sitokinez, tek kutuplu tomurcuklanma ve daha uzun hücre formundan (≥2,8 μm çapında) sonra hücre bağlanmasıdır (Şekil 4). Ebeveyn hücresinden uzakta olmayan bu yapı, besin aramasını kolaylaştırır. Yalancı hif tomurcukları bir blastospore'dan veya hifden gelir. Tomurcuklar, morfolojik olarak hifere benzeyecek kadar uzayabilirler, ancak onlardan septum üzerindeki tomurcuklar arasındaki tortuların varlığı ile ayırt edilirler (Carrol ve ark 2016, Walker ve White 2017). Yalancı hif ve hif, bu güçlü benzerlik nedeniyle sıklıkla *C. albicans*'ın

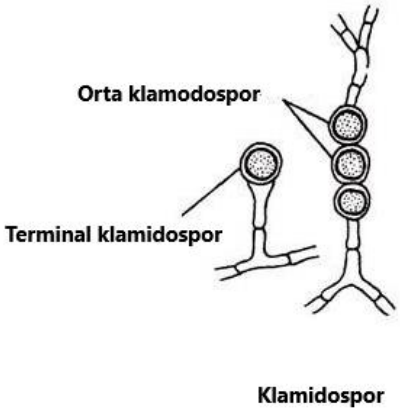
filamentli formunda bulunur. Azot eksikliği veya yüksek fosfat konsantrasyonu, 35°C'lik bir inkübasyon sıcaklığı ve pH'ın 6.0 olması, yalancı hif şeklinde büyümeyi destekleyen şartlardır (Wedge ve ark 2016).



Şekil 4: Hif ve Yalancı hif (Thompson ve ark 2011)

c) Klamidosporlar

Aslında 8 ila 12 µm büyüklüğünde, küresel bir hücre duvarı olan hücrelerdir (Şekil 5). Olumsuz, uzun ömürlü kültür koşulları altında in vitro şartlarda görülürler ve in vivo olarak çok nadir görülür. Biyolojik fonksiyonları hala çok iyi bilinmemektedir. Ampulliform hücrelerinin sonunda (süspansiyonlu hücreler - filamentli formların bir dalını oluşturan bir amfora biçimindeki uzun yapılar), klamidosporların oluştuğu hifal veya yalancı hifler üzerinde tomurcuklanan yapılardır (Böttcher ve ark 2016). Ampulliform hücrede çekirdeği böler, bir çekirdek ampulliform hücresinde kalır ve ikincisi daha sonra iki hücreyi ayıran septumdan klamidosporun içine geçer. Olgun klamidospor, iyi gelişmiş bir septin bazlı yapıya sahiptir. Fakat C. albicans'ın diğer morfolojik formlarına karşı, klamidosporhücre duvarı az miktarda kitin içerir ve ampulliform hücrelerinin duvarı ile temas halindedir (Whiteway ve Bachewich 2007). *C. albicans* ve *C. dubliniensis* gibi birbiriyle yakından ilişkili iki patojenik tür, klamidospor üreten kandidalardır. (Böttcher ve ark 2016). Klamidosporların gelişmesi için, düşük oksijen konsantrasyonu, düşük inokulum, besin eksikliği, 25-30 ° C inkübasyon sıcaklığı, ışık yokluğu gibi koşullar gereklidir (Staib ve Morschhäuser 2007, Noble ve ark 2017).

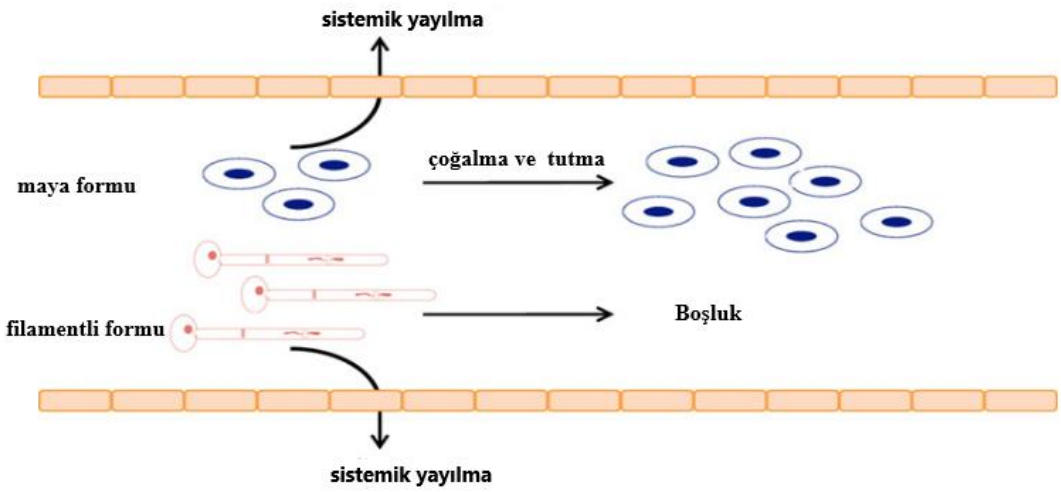


Şekil 5: Klamidospor (https://images.app.goo.gl/coSamRcG9qobHUMp7)

1.3.3 Mayaların morfolojik geçiş formu - filamentli formlar

Candida, çevresel koşullara adaptasyon için karmaşık mekanizmalar geliştirmek zorunda kalır. Böylece maya, fizyoloji, morfoloji ve hücre adezyonunda koordineli değişikliklerle sonuçlanan gelişimsel bir yol izler (Biswas ve ark 2007, Enczi ve ark 2007). Patojen, filamentli formlardan (hif ve yalancı hif) maya ve tam tersine geçme kabiliyetine sahiptir. pH, oksijen konsantrasyonu, beslenme yetersizlikleri (örneğin karbon, azot), hücre yoğunluğu, N-asetil-D-glukozamin (GlcNAc), morfojenler (örneğin serum, bazı insan hormonları), çekirdek algılama ve fiziksel ortam (örn. agar matrisi) bu morfolojik geçişi indükleyen çeşitli çevresel ve kimyasal etkenlerdir. Bu uyaranların çoğu, ek olarak hifae gelişimini gerçekten etkinleştirmek için 35°C'den daha yüksek bir büyüme sıcaklığı gerektirir (Kim ve ark 2015). Bu koşullar, etkinliği transkripsiyonel düzenleyiciler tarafından koordine edilen karmaşık bir sinyal iletim yolu ağı aracılığıyla morfolojik değişimlere neden olur (Biswas ve ark 2007) (Şekil 6). Birkaç sinyal yolu, mayadan hif formuna geçişi düzenler. Suşlar arasında çevresel etkenlere cevap verme ve böylece hif oluşturma yeteneklerinde büyük farklılıklar vardır. Bazı klinik izolatlar güçlü hifal büyüme gösterir ve özellikle uyaranlara duyarlıdır. Bununla birlikte, diğer suşlar doğal olarak daha az hif oluşturur (Cogo ve ark 2018). Suşlar arasındaki bu farklılıklar, *C. albicans*'ın morfolojik geçişine yol açan morfogenetik yolaklardaki değişikliklerle veya hücre döngüsündeki ve yapısal organizasyonundaki değişikliklerle açıklanabilir. Son yıllarda ilerleme kaydedilmesine rağmen, morfogenetik dönüşümleri yöneten moleküler mekanizmalar

henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Şimdiye kadar, en iyi açıklanlar Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinazları (MAPK'lar) ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) yolaklarının birkaç sinyal yoludur (Biswas ve ark 2007).



Şekil 6: Maya morfolojik geçiş - filamentli formu (https://images.app.goo.gl/zHiwGcFqzGyEM7UVA)

1.3.4 Patojenite ve mekanizma

Konakçı organizmaya bağlı olan risk faktörleri candida enfeksiyonlarının oluşumunu etkiler. Bu faktörler sistemik veya bölgesel olabilir. Örneğin, immünosupresyondan sonra, kutanöz, mukozal veya solunum yolu bariyerlerin zayıflamasından dolay *Candida spp* vücuda girebilir ve uzak organlarda apselere neden olabilir (Mavor ve ark 2005).

Kandidemi eksojen veya endojen olabilir. Genotipleme kullanan birçok çalışma gösterdiği gibi, çoğu hastanın taşıdığı endojen suşlardan gelişmektedir (Riddell IV ve ark 2011). Mantarın vücuda yerleşmesinin ilk aşaması, mayanın konak hücreye adezinler yoluyla yapışmasıdır (Develoux ve Bretagne 2005). Dokuları istilası için proteazların ve fosfolipazların salgılanması ve morfogenetik geçişin sağlanması gerektirir (Enczi ve ark 2007). *Candida*'nın bu gibi çeşitli konakçı dokularını enfekte etme kabiliyeti, çok çeşitli virülans faktörleri ve adaptasyon özellikleri ile desteklenir. Mayalar ve hifal formlar arasında morfolojik geçiş, hücre yüzeylerinde adezin ve invazin ekspresyonu, biyofilm oluşumu, fenotipik değişimi ve hidrolitik enzimlerin salgılanması dahil olmak üzere bir dizi özellik virülans faktörleri olarak kabul edilir.

Bunlara ek olarak, fiziksel uygunluk, çevresel pH dalgalanmalarına hızlı adaptasyon, metabolik esneklik, güçlü besin kazanma sistemleri ve sağlam stres tepki mekanizmaları da önemlidir (Mayer ve ark 2013). Tüm bu faktörler normal konağın savunmasını yenemiyor gibi görünüyor, fakat patojenin mukoza zarını kolonize etmesini kolaylaştırmaktadır. Öte yandan, immün sistemi baskılanmış hastalarda, konak savunma mekanizmaları ile maya arasındaki dinamik denge, özellikle bu faktörlerin varlığından dolayı *Candida* lehine döner (Cristina 2010). Bağırsakları kolonize eden *Candida* türleri, laparotomi sonrası translokasyon veya anastomoz kaçağı derin lokal enfeksiyonlara (örneğin peritonit) veya kandidemiye neden olur. Kalıcı intravasküler kateterleri olan hastalarda, bağırsak veya deriden gelen *Candida*'lar kateterin kolonizasyonuna ve üzerinde biyofilm oluşumuna yol açarlar (Jabra-Rizk ve ark 2016). Mantarlar daha sonra biyofilmden salınır ve kalıcı kandidemiye neden olur. Kandida kolonize bir intravasküler kateterden kana geçen mantarlar yayılabilir, akciğerlerde, karaciğerde ve dalakta ikincil metastatik enfeksiyonlara neden olur, böbreklerde, kemiklerde veya gözlerde derin enfeksiyonlar lokalize kalabilir veya sekonder kandidiyaza yol açabilir. Kandidemia sırasında kan dolaşımındaki mantarlar idrarın geçerek kandidüriye neden olmaktadır. Daha az sıklıkla, derin kandidiyazis artan piyelonefritin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Kullberg ve Arendrup 2015).

1.4 Virulans faktörleri

Diğer patojenler gibi, bir enfeksiyon oluşturmak için patojenlerin bağışıklık sisteminden kaçması, hayatta kalması, konakçı çevrede bölünmesi ve yeni dokulara yayılması gerekir. *C. albicans*, patogeneze katkıda bulunan birçok virülans faktörünü barındırır. Bu faktörler arasında morfojenez (tek hücreli maya hücreleri ve filamentli büyüme formları arasında tersinir geçiş), hidrolitik enzim üretimi, yapışma (konak tanıma biyomoleküllerinin üretimi) ve fenotipik değişimi gibi virulans faktörü vardır (Canela ve ark 2018). Patojen mantarlar diğer patojen mikroorganizmalar gibi, memeli komaklarda ve bitkilerde hastalık oluşturabilmeleri için, konak savunma sistemlerinden korunmalarını sağlayan virülans faktörlerine sahiptirler. Bu virülans faktörlerinden morfolojik değişim (dimorfizm, polimorfizm), hücre boyutları ve hücre şeklinin değişimi, fenotip (koloni morfolojisi) değişimi patogenezde gerekli olan özelliklerdir. Hücre boyutu veya şeklindeki değişiklik çevreye uyumu sağlayan bir

özellik olup patojen mantarın konak ile karşılaşmasında avantaj sağlamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar morfolojik değişiklik ve virülansın koordinasyonunda korunmuş sinyal yolakları ve düzenleyici genlerin önemli rolleri olduğunu ortaya koymuştur. Sinyal yolakları özellikle çevrenin ve konağın uyarılarını algılama olarak olaya katılır. Mantar aleminde bulunan bu korunmuş yolaklar arasında, çok mantar türünün memelileri enfekte etmesi için majör bariyerdir. Tüm patojen mantarlar için 37^0 C' de üreme yeteneği önemli bir virülans faktörü olarak kabul edilmiştir. Isı bariyeri; mantar hastalıklarının bitkilerde, insektlerde, amfibilerdeve hatta kış uykusundaki yarasalarda sık, insanlarda nadir görülmesini açıklayabilir (Selim ve ark 2015). *C. albicans*, bir konakçıda kolonizasyon primer patojenlerin aksine, konakçı için olumsuz koşullar altında patojen olma kabiliyeti nedeniyle çok yönlü bir yaşam sürer. *C. albicans*'ın virülans faktörlerinin birçoğu, litik enzimlerin salgılanması, morfolojideki değişme ve konukçu hücrelere yapışma dahil, fırsatçı doğasına atfedilir. Candidemia, *Candida spp.*'nin neden olduğu kan enfeksiyonudur. Kandidemi, *Candida spp.*'nin neden olduğu kan enfeksiyonudur, Hastanede varlığı son yıllarda önemli ölçüde artmış ve sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon mantar enfeksiyonlarının yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır (Melo ve ark 2019). Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve sitotoksik kemoterapi gibi kalıcı risk faktörleri, kalıcı bir santral venöz kateter ve parenteral beslenme kullanımı gibi invaziv Candida enfeksiyonunun oluşumuna katkıda bulunur. Ek olarak, mukozal ve kutanöz kolonizasyon, invaziv kandidiazisin patogenezi için temel basamaklardır (Melo ve ark 2019). Patojen dimorfik mantarlarda çevresel kaynaklardan kazanılan filamentöz form genellikle patojen değildir. Yine de hif veya sporlardaki adezinler ve diğer moleküller konak ile patojen arasındaki ilk bağlantıyı sağlarlar. Mantar konağa kolonize olunca, enfeksiyonun oluşması ve sistemik olarak yayılması için hif veya spora özgül moleküllerin baskılanıp mayaya özgül moleküllerin artırılması gereklidir (Selim ve ark 2015). Mantarların algılama, morfolojik değişim ve virülans özelliklerinde, insanda bulunmayan iki-bileşenli sinyal yolaklarının, birçok küçük moleküllerin rol oynaması, Sln1 homologlarının inhibitörlerini veya onun sinyal yolak bileşenlerini ve küçük molekülleri yeni antifungal ilaçların gelişmesi için cazip hedefler haline getirmektedir. Nitekim, Nemecek ve arkadaşları da drk1 mutant suşların dimorfik patojen mantarlara karşı aşı geliştirilmesinde kullanılabileceği hipotezini iireli sürmüşlerdir. İnsanlarda mantar patogenezi, hastalık oluşturan istilacı patojen mantarlarla alıcı konak

arasındaki karmaşık etkileşimleri içeren, çok faktörlü bir fenomendir (Selim ve ark 2015)

1.4.1 Yapışma

İlk yapışma işlemi, hücreler birbirine ve sert olabilen (protez bir cihazın veya protez yüzeyinin bir parçası olan biyomalzemeler gibi) veya yumuşak yüzeylere (ağız boşluğunda mukozal epitel tabakası veya vajen mukozası) bağlandığında başlar (Gulati ve Nobile 2016). *Candida* türlerinin en önemli virülans faktörlerinden biri, mayanın bir alanda kolonizasyonuna ve biyofilm oluşumu sürecini oluşturmasını sağlayan çeşitli mekanizmalar kullanarak yapışma yetenekleridir (Silva-Dias ve ark 2015). *Candida* türleri, konakçı hücrelerinin yüzeyine olduğu kadar yapay malzeme yüzeylerine de yapışabilir ve biyofilmler oluşturabilir; bu, antifungallere karşı dirençte bir artışa neden olur. Mantarın maya formunun epitel hücrelere yapışması, protein-protein, protein-karbonhidrat ve karbonhidrat-karbonhidrat etkileşimleri dahil olmak üzere birkaç tipte adezin-reseptör etkileşimini içerir. *C. albicans* ve diğer türler sadece insan epitelyal yüzeyleriyle değil aynı zamanda insan kan proteinleri ve iç doku reseptörleri ile de bağlanır ve etkileşime girer. Konak/maya etkileşimini başlatmak ve sürdürmek için, konak dokulara yapışması esastır. *C. albicans*'ın konakçı hücrelere veya ligandlara yapışmasını başlatan biyomoleküller, adezinler olarak tanımlanabilir. Yüzey molekülleri olan polisakaritler, glikoproteinler ve lipitler, *C. albicans*'ın konakçı dokularına penetrasyonunu teşvik etme fonksiyonuna sahiptir. agglutinin-like sequence (Als1) (Ala ve Filler 2011) de dahil olmak üzere Ala1, Als dahil olmak üzere birçok adezin tanımlanmıştır (Silva-Dias ve ark 2015).

1.4.2 Adezinler

Vücudun konakçı tanıma ve adezyonu destekleyen bileşenlere genellikle adezinler denir. *C. albicans*'ın adezinler genellikle polisakaritler veya glikoproteinlerdir (Calderone ve Gow 2002). *Candida albicans* birden fazla adezine sahiptir ve birden fazla ligand veya konak hücre adezini olabilir (Cannon ve Chaffin 1999). Birçok in vitro çalışma, şeker, demir ve sıcaklık dahil olmak üzere *Candida* adezinlerinin ekspresyonunu düzenleyen bazı çevresel etkenlerin varlığını göstermiştir. *C. albicans*, hücre yüzeyinde glikosile edilmiş proteinleri kodlayan en az dokuz ALS (aglütinin benzeri sekans) gen ailesine sahiptir. Bu proteinler, üreme

sırasında hücre tanınması için gerekli olan S. cerevisiae α - agglutinin proteini ile homolojiye sahiptir (Liu ve Filler 2011). *C. albicans* ve diğer ilgili türlerde, bu proteinlerin konakçı yüzeylere yapışmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Calderone ve Gow 2002). *C. albicans*'taki Als1p ve Als5p, insan oral epitel hücreleri ve fibronektin üzerine yapışma özelliğine sahiptir. Als1p'nin, enfeksiyonun erken aşamalarında vücudun oral mukozaya yapışmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Günümüzde, mayaların yapışma kapasitesi ile izolasyon yeri arasında bir ilişki olup olmadığını anlamak için, her bir türün suşları izolasyon yerine göre değerlendirilmelidir. Böylece yapışma kapasitesi ile izolasyon yeri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir (Zhao ve ark 2006, Silva-Dias ve ark 2015). Adezinlerin, atomik kuvvet mikroskobu (AFM) haritalama deneyleri sırasında hücre yüzeylerinde toplandığı görülmüştür (Lipke ve ark 2018). Patojen funguslarda hücre duvarı proteinleri konak hücreler ile konak primer ilişkiyi düzenler. Bu adezinler sosyal ve antisosyal olmak üzere iki çeşit etkileşime aracılık eder. Birincisi, ‘’mating’’ ve değişimdeki ilişki ile biyofilm ve koloni oluşumu için çeşitli subratlara adezyon, ikincisi ise patojenin konak organizmaya bağlandığı antisosyal etkileşimdir. Birinci grup için *S. Cerevisiae* aglütininleri örnek verilebilir (Selim ve ark 2015).

1.4.3 Reseptörler

Fibronektin, *C.albicans* reseptörü olarak tanınan ilk moleküllerden biridir (Skerl ve ark 1984). Fibronektin, çeşitli mikroorganizmaların hücre dışı bir matris glikoproteindir (Pendrak ve Klotz 1995). *C.albicans*'ta bir fibronektin bağlayıcı albumin mannoproteininin indüklenmesi, hücreler %0.1 hemoglobin içeren ortamda kültürlendiği zaman gösterilmiştir. Kandidiyazisde fibronektin yapışması, mikroorganizmanın endotel hücreleri veya subendotelyal hücre dışı matriks gibi intravasküler yapılara yapışmasından sorumludur (Pendrak ve Klotz 1995, Nett ve ark 2016). *C. tropicalis*'in epitele bağlanmasında bir hedef protein olarak adsorbe edilen fibronektinin varlığı da doğrulanmıştır. iC3b kompleman fragmanı, epitelyal ve endotelyal hücrelerin adezyonu ile bağlantılı bir ligand olarak gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda, bazı mikroorganizma türlerinin, insan kompleman reseptörü 2 (CR2) ve insan kompleman 3'e (CR3) benzer şekilde çalışan bağlantılı kompleman reseptörlerine sahip olduğu açıktır (Kozik ve ark 2015). Dahası, *C.albicans* yalancı hif ekstraktlarında C3'ün C3d fragmanına bağlanan yaklaşık 62 ve 70 kDa'lık iki protein

tanımlanmıştır. Sadece en patojen *Candida* türleri üzerinde C3 reseptörlerinin keşfi, patolojik süreçlere dahil olduklarını düşündürmüştür (Luo ve ark 2018). Laktosilseramid, insan glioma beyin hücrelerinde majör bir glikosfingolipittir ve mayaların bağlandığı tek lipittir. Laktosilseramid epitel dokularda yaygın olarak bulunduğu için, bu glikosfingolipid insanlarda maya kolonizasyonu ve yaygın hastalık için bir reseptördür (Luo ve ark 2018). Yapışma deneylerinin sonuçları plazmanın *C. albicans*'ın plastiğe yapışmasını yaklaşık 2 kat arttırdığını göstermiştir (Nett ve ark 2016).

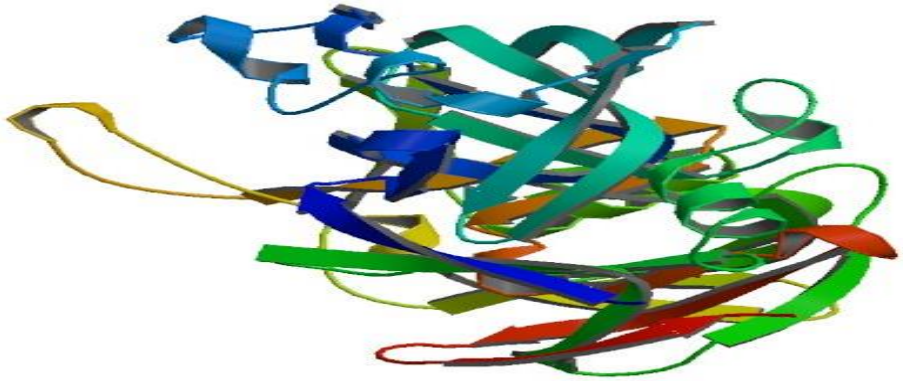
1.4.4 Salgılanmış litik enzimler

Salgılanmış aspartil proteinazlar (SAP'ler) ve fosfolipazlar (PL'ler), virülans ile ilişkili salgılanan litik enzimlerin iki ana ailesidir. Bu salgılanan hidrolitik enzimler, konak hücre zarlarını sindirerek veya deforme ederek, yapışmayı arttırmak için konak yüzey moleküllerini parçalayarak veya bağışıklık sisteminin hücrelerini ve moleküllerini sindirerek konakçı dokuya yerleşmeye katkıda bulunmaktadır. Bu enzimler ayrıca konakçıda antimikrobiyal direnci kolaylaştırır (Calderone ve Gow 2002). Hücre dışı hidrolizle salgılanan aspartil proteinazlar, protein yıkımı ve biyofilm oluşumu sırasında yapışmada *Candida* türlerinin patogenezinde ana ajanlar olarak kabul edilir (Hamid ve ark 2018). SAP1'den SAP10'a kadar on SAP ailesinin üyeleri, insan proteinlerinin fragmantasyonu, yapışma optimizasyonu ile kandidadaki virülansı arttırır (Monod ve ark 1998).

a) Aspartik Proteinazlar (SAP)

Salgılanan aspartik proteinazlar, birçok insan proteininin yapısını bozar; bu proteinler albümin, hemoglobin, keratin ve immünoglobulin A salgılarını içerir. Bugüne kadar *C. albicans*'ta 10 farklı SAP geni (SAP1-10) tanımlanmıştır (Dong ve ark 2018). SAP üretimi sadece *C. albicans* ile sınırlı değildir ve bunların varlığı *C.tropicalis, C. parapsilosis, C. dubliniensis* ve *C. guilliermondii*'de de gösterilmiştir. İn vitro çalışmalar, SAP1, 2 ve 3 genlerinin sadece maya hücreleri tarafından eksprese edildiğini göstermiştir, oysa SAP4, 5 ve 6'nın ifadesi hifal formuyla sınırlıdır (Yang 2003). SAP7'nin ifadesi, laboratuvarda hiçbir büyüme koşulunda hiç gözlenmemiştir. SAP8 transkripsiyonu, tanımlanmış bir büyüme ortamında yani 25°C'de kültürlenen

maya hücrelerinde tespit edilmiş ve SAP9 daha sonraki büyüme fazlarında eksprese edilmiştir (Yang 2003).



Şekil 7: Aspartik proteinaz (https://images.app.goo.gl/qgMr9zhnCNqoGRMN8)

i. Aspartik Proteinazların Özellikleri

Aspartik proteinazlar molekülün aktif merkezinde iki karboksil grubunun varlığını ifade eden optimal asit pH'larını yansıtan "asit proteinazlar" veya "karboksil proteazlar" olarak da adlandırılır. Aspartik proteinazlar genellikle büyük benzerlik gösteren iki alandan oluşan monomerik enzimlerdir. İstisnalardan biri, dimerik retroviral proteazlardır. Monomerik aspartik proteinazların iki loblu yapısı muhtemelen gen replikasyonunun sonucudur. Bu iki alanın büyük benzerliği, proteinazın mevcut büyüklüğünün yaklaşık yarısını oluşturan aynı atadan kalma proteinin her iki soyunun da olduğunu gösterir. İki lob daha sonra bağımsız bir şekilde gelişir ve iki alt üniteden farklı bir dimer veya molekül oluşur (Vinterová 2015). 1836'da, ilk karakterize edilen aspartik proteaz, Theodor Schwann tarafından keşfedilen bir enzim olan domuz pepsinojen A dır. Bu enzim, bütün aile için örnek bir proteinaz haline gelmiştir. Domuz pepsinojen A, proteolitik olarak aktif bir enzim olan pepsinin aktif olmayan bir öncüsüdür. Aspartik proteinazlar, genel olarak hidrofobik amino asitleri tercih eden (özellikle protein bozunması ile bağlantılı proteinazlar için) geniş bir substrat spesifikliği ile karakterize edilir. Bununla birlikte, aspartik proteinazların bazıları, renin veya β sekretaz gibi seçici substrat spesifikliğine sahip enzimleridir (Huse ve ark 2002). Aspartik proteinazların en önemli ve iyi çalışılmış diğer üyeleri HIV-1 viral proteaz, insan renin, gastrik enzim, pepsin, katepsindir.

ii. *Candida spp.*'den salgılanan aspartik proteinazlar

Salgılanan aspartik proteinazlar (Saps), *Candida* spp'nin potansiyel virülans faktörleridir. Sap'ların, mayaların patojenitesindeki rolüne ait *C. albicans*'ta ve klinik önemi olan diğer *Candida* spp'ler üzerinde birçok çalışılma yapılmıştır. Bununla birlikte, Sap'ların birçok enfeksiyon türü için ana virülans faktörü olarak rolü son zamanlarda saptanmıştır. Candida spp genomunda bulunan Sap genlerinin sayısı farklıdır. *C. albicans*'ın genomu SAP1-10 adı verilen Sap'ları şifreleyen on gen içerir (Gogol ve ark 2017). Sap'lar kabaca Sap1-Sap8 ve Sap9-Sap10 olarak iki gruba ayrılır. Sap1-Sap8 proteinazları, kesin yeri bilinmeyen Sap7 hariç, hücre dışı olarak salgılanır. Glikosile edilmiş proteinazlar olan Sap9 ve Sap10, aspartik proteinazlara daha çok benzeyen GPI bağlantılı proteinlerdir. Sap1-Sap3 proteinazların optimum pH'ı 3-5'tir ve esas olarak mukozal enfeksiyonlarla ilişkilidir (Schaller ve ark 1999). 5 ila 7 arasında optimum pH'a sahip Sap4-Sap6 proteinazları sistemik enfeksiyonlarla ilişkilidir (Felk ve ark 2002). Sap7 ve Sap8 konusunda fazla bilgi yoktur. İlginc bir şekilde Candida spp. nanomolar konsantrasyonlarda sadece spesifik olarak pepstatin A tarafından inhibe edilir, yakın tarihli bir yayın, Sap7'nin, pepstatin A inhibitörüne karşı duyarlı olmadığını göstermiştir. Tüm Sap'ların, yüksek substrat özgüllükleriyle karakterize olduğu, ancak özellikle hidrofobik artıklar arasındaki bağları hidrolize ettiği gösterilmiştir. Sap9 ve Sap10'un plazma zarına bağlanma veya GPI sabitlemesi gibi fonksiyonlarsa aralarında bir fark yoktur (Vinterová 2015)

iii. SAP ifadesinin (ekspresyonunun) düzenlenmesi

SAP gen ailesinin ekspresyonu, pH, sıcaklık veya besin kaynakları gibi çeşitli çevresel özelliklerle düzenlenmektedir (Hruskova-Heidingsfeldova 2008). SAP'ların ekspresyonu ayrıca morfolojik değişikliklerle gore de (hücre fenotipleri arasındaki geçiş) düzenlenmektedir.Yapılan çalışmalarda SAP'nin indüklenebilir bir promotörle de *(C. albicans* Sap2 proteinazı) düzenlenebileceği saptanmıştır. (Gogol ve ark 2017). *Candida albicans*'ın salgılayıcı aspartil proteinazlarının (Sap), bu mantarın patojenitesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. SAP gen ailesi her biri yakın homoloji ve fizyolojik alaka düzeyi ile karakterize edilen, alt grupları (Sap1-3 ve Sap4-6 vb.) olan en az 10 grupluk bir aileden oluşur. Çeşitli kanıtlar, sap ifadesinin,

mantarın, konakçı dokularına yapışmasına veya istila etmesine, dokulara zarar vermesine neden olduğu gösterrmiştir (Pericolini ve ark 2015). *C. albicans* enfeksiyonlarının SAP gen ekspresyon çalışmaları çelişkili sonuçlar vermesine rağmen, bunların mukozal enfeksiyonlardaki patolojik önemi tutarlı kanıtlara dayanmaktadır (Correia ve ark 2010). Her ne kadar *C. albicans*'ın aspartik proteazları salgı olarak kabul edilse de, sadece Sap1-Sap8 çözülebilir enzimler olarak salgılanmaktadır. Sap9 ve Sap10, mantar hücre duvarına veya hücre zarına bir glikosil fosfatidil inositol (GPI) ile bağlanmıştır (Gogol ve ark 2017). Bu enzimler yapısal olarak Yapsins'e (aspartil proteazların bir türü) ve *Saccharomyces cerevisiae*'da hücre duvarının bütünlüğünün korunmasında yer alan proteazlara benzerdir. *C. albicans*'ın Sap ailesinde, amino asit dizilerinin benzerlik derecesine göre üç farklı grup ayırt edilebilir. Bunlar arasında Sap4 - Sap6 ve Sap1 - Sap3 en yüksek benzerlik derecesini göstermektedir. Bu proteazların ekspresyonu, mayanın spesifik morfolojik formuna bağlıdır, çünkü Sap1-Sap3, temel olarak maya benzeri formlarla ifade edilirken, Sap4-Sap6, hifal form karakteristiktir (Gogol ve ark 2017).

b) Fosfolipazlar ve lipazlar

Fosfolipazlar, fosfolipidleri hidrolize eden çok sayıda enzimlerdir. Substrat fosfolipidlerinde ester bağının bölünme yerine göre, fosfolipazlar dört ana tipte; fosfolipaz A (PLA), fosfolipaz B (PLB), fosfolipaz C (PLC) ve fosfolipaz D (PLD) olarak sınıflandırılır. PLD, ayrıca çeşitli alt tiplerle de sınıflandırılır. Fosfolipazlar, fosfolipidleri, fosfatidik asit (PA), diasilgliserol (DAG), serbest yağ asitleri (FFA) ve liyo-fosfolipitler (LPL) dahil olmak üzere çeşitli ürünlerine hidrolize eder (Barman ve ark 2018). Bu ürünler, hücre iskeleti dinamiği, büyüme, homeostaz, zarın yeniden şekillenmesi, besin kazanımı, sekresyon, sinyal iletimi, stres toleransı, gelişim gibi birçok işlemi düzenler. Bu önemli hücresel roller nedeniyle, fosfolipazlar ayrıca tanısal ve terapötik uygulamalarda ümit verici hedeflerdir. Yapılan bir derlemede, mantarlardaki farklı fosfolipaz sınıflarının hücresel rolleri hakkındaki güncel bilgiler tartışılmıştır (Barman ve ark 2018).

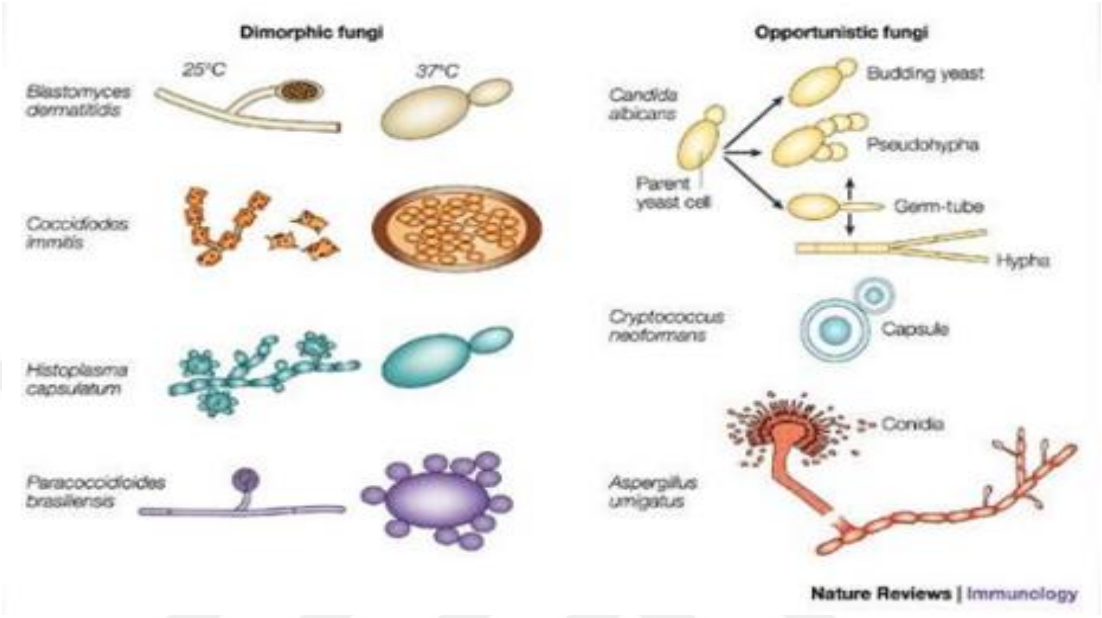
Lipitler, canlı hücrelerin temel bileşenleridir. Fosfolipidler adı verilen karmaşık bir lipit sınıfı, lipit çift tabakasını oluşturarak hücre şeklini ve bütünlüğünü koruyarak hemen hemen tüm hücre zarları için yapı taşları görevini görür (Bollag 2016). Fosfolipitler ayrıca hücre gelişimi, metabolizması ve sinyalleşmesinde birçok rol

oynayan önemli hücresel ara maddelerdir. Fosfolipidlerin bileşimi ve içeriği, membranlar arasında değişiklik gösterir.Genellikle gelişim sırasında ve farklı stres indeksleri nedeniyle değişir (Hong ve ark 2016). Çoğu ökaryot gibi, mantarlar da fosfolipid bazlı bir plazma membranına ve hücre içi organellere sahiptir. Mantarlarda en çok bulunan fosfolipid sınıfları; fosfatidilkolin (PC) ve fosfatidiletanolamin (PE) olduğu bulunmuştur. PC ve PE türevleri fosfolipazların sentezi sırasında sadece küçük miktarlarda bulunur (Dembitskii ve Pechenkina, 1991). Fosfolipitlerin fosfolipaz enzimi ile hidrolizi sonucunda; yağ asitleri ve diasilgliserol (DAG), serbest yağ asitleri (FFA), fosfatidik asit (PA) ve liyofosfolipidler (FFA) gibi bir dizi lipofilik moleküler oluşur (Hong ve ark 2016). Yapılan araştırmalarda fosfolipaz aktivitesi birçok mantarlarda saptanmıştır.

1.4.5 Dimorfizm (iki şekillilik)

Patojenik mantarlarda yaşam döngülerinin farklı periodlarında morfolojik olarak değişim yapabilme kabiliyeti iyi gelişmiştir. Mantar dimorfizmi; maya ve küf arasında geçiş yapılabildiği anlamına gelir. Küf ve maya arasındaki morfolojik değişim, dimorfik mantarların patogenezi, virülansı ve yaşam döngüsü için kritiktir.Toprakta (22-25°C), termal olarak dimorfik mantarlar, enfeksiyöz konidia (yani sporlar) üreten bir miçelyum formunda gelişir. Toprakdaki gelişimden sonra, aerosol haline gelmiş konidiaların solunum yolu ile alınması hastalıklara neden olur akciğerlerde (37°C) mantar maya formunda ürer. Ana uyarıcı unsur sıcaklık olmasına ragmen; CO2, sistein ve östradiol gibi diğer faktörler de 37°C'de dönüşümü ve büyümeyi etkiler (Gauthier ve Klein 2008). Estradiolün hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanması, küresel *Coccidioides*'in büyümesini hızlandırır ve *Paracoccidioides brasiliensis*'in 37°C'de faz geçişini engeller. Mantarlarda maya veya maya benzeri büyümeye geçiş, hücre duvarının bileşiminde bir değişime sebep olur. Ayrıca immün savunma veya toksinlerden kaçmak için gerekli proteinlerin üretilmesine neden olur. Termotolerans ile birleştiğinde maya şeklinde büyüme, memelilerin fagositik hücrelerinde yayılmaya neden olan replikasyonu sağlar. Miçelyum büyümesi, konidia yoluyla yeni konakçılara geçişi teşvik eder ve termal olarak dimorfik mantarlar için uzun mesafeli coğrafi dağılıma katkıda bulunur. Eşeyli üreme, çoğu dimorfik mantar için miçel fazında meydana gelir, termal olarak dimorfik olmayan mantarlar için miçel büyümesi, istilacı hastalıklar için çok önemlidir (Gauthier 2015). Dimorfik mantar patojenleri insanlarda

ciddi mantar enfeksiyonları yapar ve çoğu mantar patojenin aksine, immünokompetan konakçıları etkiler (Muñoz ve ark 2018). Faz geçişini yöneten birkaç gen bilinmesine rağmen, bu genlerin daha geniş ve regüle edilmiş gen ağına nasıl entegre oldukları tam tanımlanamamıştır.



Şekil 8: Dimorfizm (https://images.app.goo.gl/oejTXyFVePb75iTb6)

1.4.6 Quorum sensing

Mikroorganizmalardaki hücreler arasındaki sinyalleşme veya iletişim olgusu çekirdek algılama olarak adlandırılır. Bu mekanizma, çevredeki hücreler, dış çevre, üretici ve diğer mikroorganizmalar arasındaki etkileşimi sağlamak için moleküler sinyaller kullanır. Çekirdek algılamanın varlığı esas olarak prokaryotlarda incelenmiştir, ancak yapılan bazı çalışmalar bu mekanizmanın ökaryotik modeli olan *C. albicans*'ı tanımlamıştır. Çekirdeklenmeyi algılayan moleküllerin (QSM'ler), filamentlenmeyi bloke ederek, hücreler arasındaki sinyalleşmeyi uyardığı gösterilmiştir (Hazen ve Cutler 1983). Çekirdek tespiti ve devre dışı bırakma, mikroorganizmaların genlerini düzenlemek için kullandığı kimyasal sinyalleşme bileşenleridir. Bu bileşenler, hücre dışı enzimlerin üretimini düzenler ve daha sonra mikrobiyal verime aracılık edebilir (McBride ve Strickland 2019). Mikrobiyal hücrelerin yoğunluğuna bağlı bir sinyalleşme mekanizması olan asgari miktar tespiti (QS), oto-indükleyiciler adı verilen düşük moleküler ağırlıklı sinyalleşme bileşiklerinin değişimini ve saptanmasını içerir. Artan popülasyon yoğunluğu ile, oto-

indükleyiciler hücre dışı ortamda birikir ve konsantrasyonları bir eşiğe ulaştığında, birçok gen eksprese edilir veya baskılanır. Bu hücre yoğunluğa bağlı sinyal mekanizması, tek tek hücrelerin çok hücreli organizmalar gibi davranmasını sağlar. Böylece morfogenez, patogenez, yetkinlik, biyofilm oluşumu, biyolüminesans vb. farklı mikrobiyal davranışları düzenlerler. Bu davranışlar çevresel sinyaller tarafından yönlendirilir (Padder ve ark 2018). Başlangıçta, QS belirli bakterilere özel bir sistem olarak kabul edilmiştir. Farnesol tarafından patojenik polimorfik mantar olan *Candida albicans*'ta filaman kontrolünün keşfedilmesi ile beraber mantarlarda da QS fenomenini ortaya çıkarmıştır. Patojenik mikroorganizmalar temel olarak QS sistemleri kullanılarak virülans genlerinin ekspresyonunu düzenler. QS'nin mikrobiyal patojenlerde çoklu ilaç direncinin (MDR) ortaya çıkmasındaki dolaylı rolü, QS'yi hedefleyen ve inhibe eden alternatif antimikrobiyal tedavilerin keşfedilmesini gerektirir (Padder ve ark 2018).

1.4.7 Biyofilm oluşumu

1.4.7.1 Tanım

Mikroorganizmalar, reprodüksiyonlarının hücre dışı polimerik moleküller (EPS) ile substrata entegre edilmesini ve katı yüzeylerde çoğaltılmasını sağlayan bir yapı oluşturur. Bu yapı aynı zamanda bir mikroorganizma koalisyonu olarak da tanımlanabilir, ancak günümüzde ortak adı biyofilmdir (Mantzorou ve ark 2018, Çeçen 2019). Hücre dışı matriste (ECM) birbiriyle bağlantılı bir grup mikroorganizmanın varlığına dikkat çekilerek biyofilmden söz edilimektedir. Biyofilm, endüstride, su sistemleri gibi farklı ortamlarda, tıbbi cihazların yüzeyinde olduğu gibi canlı dokularda da üretilir (Monds ve O'Toole 2009, Calvillo- Medina ve ark 2019). Bu polimerik malzemenin tabanı, bir polisakarit yapısı ve biyofilm üretimine bağlı olarak korozyon partikülleri, mineral kristalleri gibi çeşitli bileşenlerden oluşur. Vahşi doğada biyofilm, yaygın bir mikrobiyal varoluş faktörüdür (Córdova-Alcántara ve ark 2019). Bu nedenle, biyofilmin mikroorganizmaların potansiyel olarak yayılma kaynağını temsil edebileceğini göstermektedir (Ramage ve ark 2014). Biyofilm, üretebildikleri oksopolisakkarit yapısının matrisinde hareketsiz halde olan mikroorganizmalar tarafından oluşturulan bir yapıdır. Kendilerini canlı ya da cansız yüzeye ekleyebilirler. Çok zor çevresel durumlarda biyofilm oluşturan mikroorganizmalar, biyofilm üretemeyenlerden daha dirençlidir. Kateterler, protezler,

kalp pilleri, intrauterin cihazlar ve diğerleri gibi implante tıbbi cihazlar, biyofilm ile ilişkili enfeksiyonları arttırır (Williams ve Ramage 2015).

1.4.7.2 Biyofilm tarihçesi

Birkaç bilim adamı ilk kez bakteri üzerindeki biyofilmleri incelemiştir. 17. yüzyılda, bilim dünyası mikroskobun keşfi ile aydınlanmıştır. İlk örnekler, 1683- 1708 tarihleri arasında Hollanda'da Delft'in Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723) tarafından kendi ağızlarında topladıkları mikroorganizmalarda gördüğü materyallerle ilgili mektuplarda yayınlanan mikroskobik gözlemlerden ibaret olmuştur. Diş yüzeyinde ve dilinden aldığı örneklerde 'küçük hayvancıkları ve çeşitli türleri ajanları gördüm' ifadesi ile Antonie van Leewenhoek mikroskobun altında ilk kez bakterileri keşfetmiştir (Høiby 2014). Biyofilm gelişiminde ise bugüne kadar araştırmalarda bulunan önemli bir nokta, mikroorganizmaların sabitlendikleri ortamlarda daha hızlı çoğaldıklarıdır. Elektron mikroskoplarının keşf edilmesile biyofilmler ile ilgili daha ayrıntılı çalışmalar yapılmıştır. Jones ve diğer araştırmacılar, atık su arıtma tesisindeki filtrelerin yüzeyinde elektron mikroskobu ile farklı mikroorganizmaların bulunabileceğini ve ayrıca onu çevreleyen matrisin polisakkarit olduğunu gözlemlemiştir. Mitchell ve ark mikroorganizmaların yüzeye nasıl yapışabileceğini ve biyofilmin faydasını araştırmış, biyofilmleri cansız veya canlı bir yüzey elde etmeye yardımcı olan bir polimer matrisi olarak tanımlamıştır (Mitchell ve ark 2015). Bu çalışmalar "biyofilm nedir" sorusuna yol açmıştır. Böylece biyofilm teorisi ortaya çıkmıştır. Elektron mikroskobu ile yapılan detaylı çalışmalarda, biyofilmin yapısı ve oluşum aşamaları tanımlanmıştır (Zarnowski ve ark 2014).

1.4.7.3 Biyofilm oluşumu

Günlük hayatımızda mikrobiyal tipte biyofilmler çok yaygındır. Bu biyofilmlere genellikle endüstriyel tesislerde bakım kanallarının üst kısımlarında oluşan kirlenme neden olmaktadır (Agarwalla ve ark 2019, Calvillo- Medina ve ark 2019). Uygun dezenfektanlarla bile çıkarılması zor olan bu kirlenme, biyofilmin sonucunda oluşmuştur. İnsan vücudunda biyofilm oluşumu, örneğin diş yüzeyinde plak oluşumu ile gösterilebilir. Bu plak oluşumu günlük hayatımızı etkileyen biyofilmlerin oluşmasına neden olan önemli bir problemdir. Biyofilmler tarafından oluşturulan bu enfeksiyonlar çok yaygındır. Sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonlarnın yarısından

çoğunun kataterlerde oluşan biyofilm yoluyla oluştuğu saptanmıştır (Shrief ve ark 2019). Bu nedenle antimikrobiyal veya antifungal tedavi beklenilen sonuçu vermediği için morbidite ve mortalite oranları yükselmektedir. Bununla birlikte, kaliteli arıtma için biyofilm oluşumunun farklı aşamalarını çok iyi öğrenmek gerekmektedir. Dolayısıyla, bakteriyel kökenli biyofilm oluşumuna giren bu aşamalar aşağıdakılardır (Calvillo - Medina ve ark 2019).

1-Yüzey film tabakasının oluşumu

2-Mikroorganizmanın yüzeye yapışması

3-Biyofilm tabakasının kalınlaşması

4-Biyofilmden mikroorganizmanın düşmesi

Bakteriyel biyofilm oluşum aşamaları yukarıda açıklandığı gibidir. Bakterilerden farklı morfolojik yapıları nedeniyle, mantarlardan üretilen biyofilmlerin aşamaları biraz daha karmaşıktır (Calvillo - Medina ve ark 2019).



Şekil 9: Biyofilm oluşumu (Douglas 2003)

1.4.7.4 Biyofilm evrimi

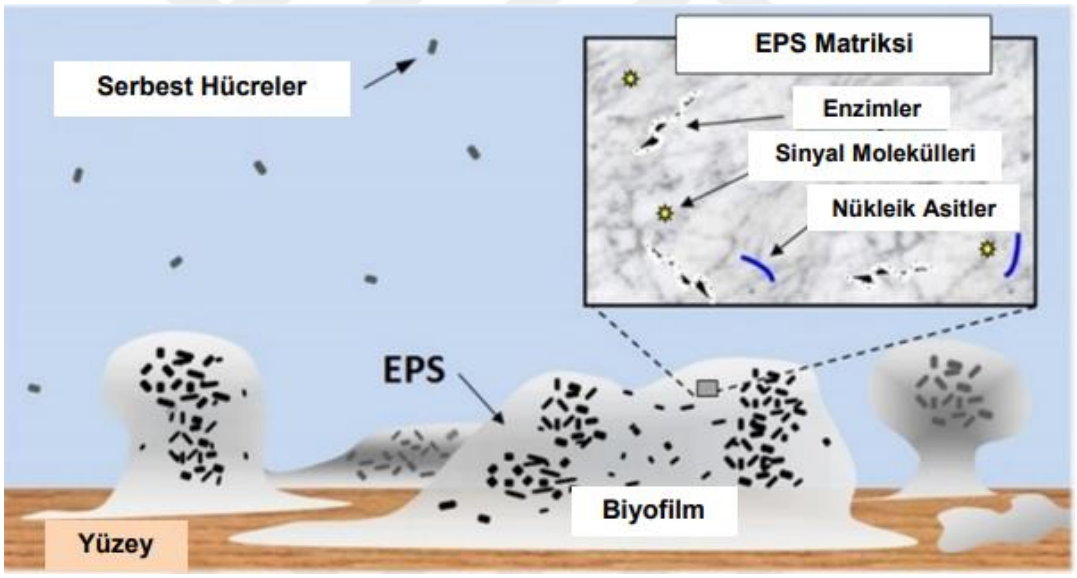
1978 de Bill Costerton ve ekibi tarafından verilen biyofilm tanımı, günümzüdeki tanımlamaya çok da uygun değildir (Costerton ve ark 1978). Günümüzde biyofilm, bir alt tabakaya geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanmış bir mikroorganizma popülasyonu olarak tanımlanmaktadır. Böylece, salgıladıkları ve modifiye edilmiş bir fenotipe sahip oldukları bir hücre dışı polimerik madde matrisine bağlanırlar (Sadik ve ark 2019).

Biyofilm hücre dışı membran ve mikrobiyal hücrelerden oluşur. Biyofilm üreten mikroorganizmalar, mikrokolon adı verilen bir yapı oluşturmak için yüzeye ve birbirine yapışır. Bu mikrokolon katmanlarında, besin maddelerini hemen su kanalları bulunur. Bu mikrokanallar, temel biyofilm birimleridir. Biyofilm oluşumunun ilk aşamasında, mikroorganizmalar kendi mikrokolonlarını oluşturur. Her ne kadar mikrokolon hücreleri arasındaki bağlar çok yakın olsa da, zamanla gevşeyebilmektedir. *Candida albicans*, diş çürüğü olan çocuklarda plak biyofilmlerinde güçlü bir Streptococcus mutans enfeksiyonu ile sıklıkla tespit edilir. *C. albicans*'ın varlığı, biyofilmlerde *S. mutans*'ın büyümesini iyileştirir, ancak bakteri birikimi ile ilişkili kimyasal etkileşimler belirsizliğini korumaktadır. Mikro kolonlardaki su kanalları bakteri ve fungal biyofilmlerde ortak bir yapıdır. Bu kanallar suyu, oksijeni emer, biyofilm ve besinlerden çıkan atıkları temizler. Mikrokoloni oluşumu ve mikrokapsüllerde yerinde gtfB geninin ekspresyonu optik ve konfokal mikroskopi ile değerlendirilmiştir (Kim ve ark 2017). Biyofilm yapısının özelliklerinden biri üç boyutlu olmasıdır. Biyofilm katmanı dış ve iç faktörlerden etkilenir. Diş minesinde biriken albümin ve glikoprotein gibi maddeler biyofilmin yapısına dahil edilir. Bakteriyel biyofilmler üzerinde çeşitli çalışmalar yapılsada mantar tipi biyofilmler hakkında çok az araştırma yapılmıştır. Bakteriyel ve *Candida* biyofilmleri hemen hemen aynı patojenik güce sahiptir. Ancak Candida biyofilminde organizmalar ekstra hücresel zarın yüzeyine kesinlikle yapışır. Mantar biyofilmlerinin üretimi sırasında maya hücreleri ve hif yapıları, farklı katmanlarında yer almaktadır. Hücre dışı matris protein heksosamin ve karbonhidratlardan bileşiminden oluşur. Güçlü hücre dışı karbonhidratlardan biri β-1,3 glukandır. Biyofilmlerin mantarlar tarafından oluşması, insan mantar hastalıklarının patogenezinde önemli bir faktördür. Ayrıca, bu hastalıklar için terapötik stratejilerin seçiminde göz önünde bulundurulduğunda önemli bir faktör haline gelmektedir (Sheppard ve Howell 2016).

1.4.7.5 Biyofilm yapısı

Biyofilmlerin tümü heterojendir. Genellikle yapısal açıdan pratik olarak değişen belirli maddelerin farklı düzeylerinden oluşmaktadır. Çok çeşitli mikroorganizmalar tarafından oluşturulur ve farklı kalınlıklara sahiptirler. Bununla birlikte, bu çeşitlilikle ragmen tüm biyofilmlerde ortak olan yapılar düzeyinde bazı özellikleri listelenmektedir (Zijnge ve ark 2010). Tabanda bir matris içine kapatılmış ve sulu

kanallarla bağlanmış birkaç kalın hücre tabakası tarafından üstlenen ince bir hücre tabakası bir biyofilmi oluşturur. Buradaki organizasyon mikroorganizmaları sinyalleşmeye teşvik edirek mikroorganizmalar arasında bir simbiyoz hayat yaratmaktadır (Stoodley ve ark 1997). Büyük aerobik hücrelerin hızlı büyümesi, biyofilmin yüzey katmanının bir özelliğidir, mikroaerobik hücreler bu iki tabaka arasında bulunur (Clutterbuck ve ark 2007, Chew ve ark 2019). Biyofilmlerin bu katmanlı yapısını, besin ve iyon gradyanının varlığı açıklar. Biyofilmin yüzey katmanlarında, dış ortamda bulunan besinler daha fazla miktarda yayılır. Daha derin tabakalara ilerlerken besin konsantrasyonları daha düşüktür, difüzyon daha az etkilidir böylece mikroorganizmaların farklı büyüme bölgelerinin varlığı (gradyentleri) etkisi daha iyi açıklanmıştır (De Chalvet De Rochemonteix 2009). Candidalar biyofilm gelişimi sırasında polimerik maddeleri salgılayarak ekzopolisakarit matrisin kurumasını engelleyen koruyucu bir engel gibi çok önemli bir yapısal ve işlevsel rol oynamaktadır (Clutterbuck ve ark 2007)



Şekil 10: Biyofilm yapısı (Şahal 2016)

1.4.7.6 Mantar biyofilmlerinin oluşumu

Candida türleri büyük ölçüde sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon mantar enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Hastanede yatan hastalarla tedavi sırasında kullanılan tıbbi cihaz ve ekipmana (kateter, şant, damar içi kataterler) bağlı olarak bu hastalıklar oluşmaktadır. Bazı çalışmalar Sap geni içermeyen mantarların antifungallere biyofilmlere göre 1000 kat daha az dirençli olduğunu göstermiştir. Bu

çalışmaların bir sonucu olarak, *Candida albicans*'ın lateks, silikon gibi maddeler üzerinde bir biyofilm oluşturabildiği ve bu özelliğin diyer *Candida* türlerinden daha iyi olduğu bildirilmiştir. Baillie ve Douglas, hif şeklinin biyofilm oluşumunda önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Tobudic ve ark 2012). Bu çalışmalar *Candida* biyofilminde güncel çalışmaların yolunu açmıştır. *Candida* biyofilmlerinin gelişim aşamaları bakteri biyofilmlerine benzerdir ve sırasıyla aşağıda gösterilmiştir (Elder ve ark 1995).

1- Yüzeyde bir film tabakası oluşturma

2-Yapışma

3-Hif oluşumu ve olgunlaşması

4-Ayrılma

1.4.7.7 Adezyon aşaması

Yapışma aşaması ilk adımdır ve 11 saat sürmektedir. Bu aşamada, planktonik *C. albicans* bir yüzeye yapışmaya başlar (Puspitawati ve ark 2019). Biyofilm oluşumu sürecinde, yapışma aşaması son derece önemlidir. *Candida* spp. için enfeksiyon sürecinde ilk adım olarak belirtilir (Soll 2008). Çevreleyen ortamın akış hızı (idrar, kan, tükürük ve diğerleri), pH, sıcaklık, antimikrobiyal ajanların ve polimerik maddelerin varlığı ve yüzeyin hidrofobikliği gibi çok çeşitli çevresel faktörleri biyofilm oluşumuna katkıda bulunur (Di Luca ve ark 2015). Kataterlere mikroorganizmaların doğrudan yapışması, kateter yüzeylerinin hidrofobikliği ve pürüzlülük derecesi ile sağlanır (Cuellar-Cruz ve ark 2012). Kolonize yüzey olarak adlandırılan bu yüzey ilk önce bir ön film ile kaplanır ve temelde çoğu zaman fibronektinler veya fibrinojenler gibi çok spesifik proteinlerden oluşur (Nett ve ark 2011). Yapışma aşaması ardarda iki aşamada gerçekleşir. Bir geri dönüşümlü adım ve bir başka geri döndürülemez adımdır (Baillie ve Douglas 1999).

-İlk adım (Tersine çevrilebilir yapışma): Bu başlangıçda genellikle yüzeye zayıf bir yapışma ile başlar. Bu sebepden yapışkanlı blastospor serbest planktonik durumunu devam ettirmek için yüzeyden hala kolayca ayrılabilir.

- İkinci aşama (Geri dönüşü olmayan yapışma): Mantar yüzeye ayrılmadan sıkıca yapışır

1.4.7.8 Ara aşama

Biyofilm, geriye dönüşümü olmayacak şekilde yüzeye bağlanmanın gerçekleşmesinin hemen ardından büyüme aşaması başlar. Yapışma fazını, belirli *Candida spp.* türleri için germ tüplerinin oluşum periyodu izler. Bu ara safha 25 saat sürer ve bu safha sırasında, *C. albicans*ın maya formu hifa formuna dönüşür. Tomurcuklanma ile çoğalma ve bazal bir maya mikrokolonisin tabakası oluşumu bu aşamada sağlanır (Puspitawati ve ark 2019). Hücresel olmayan materyal oluşur ve blastosporlar tomurcuklanma ile çoğalmaya başlar. Hatta filamentli iskelet bile üretilir. Mikrokolonlar kendilerine çarpan, hifanın uzantıları ile birleştirilir ve bu da bir birleşik tek tabakaya neden olur. *Candida* spp mikrokolonlarını örten bir örtü gibi görünen hücre dışı matrisin üretilmesi ve ortaya çıkması, hücre dışı malzemenin ilk birikimine ve bulanık bir görünüme neden olur, bunlar ara fazı karakterize eden elementlerdir (Puspitawati ve ark 2019)

1.4.7.9 Olgunlaşma aşaması

Olgunlaşma aşaması 34 saat sürer. Bu aşamada, biyofilm daha karmaşık hale gelir ve hücre dışı matris kalınlaşır. Bu nedenle *C. albicans* biyofilminin gücü artar ve antifungal ajanların penetrasyonu daha zor hale gelir. Hücre dışı materyalin miktarı, mikrobiyal popülasyonların olgunlaşma fazı boyunca sınırlanıncaya kadar artar. Biyofilm bileşenleri; yoğun bir oval maya (blastopor) hücresi, filamentler (hif) ve yalancı hifler ve bir ekzopolimer matris ağıdır (Puspitawati ve ark 2019). Biyofilmler, blastoporların bazal tabakayı oluşturduğu, iki fazlı aşamada daha kalın dallanmış üst tabakayı oluşturan bir çift tabakada düzenlenir. Mikrobiyal topluluk, biyofilmin hücre dışı matrisinin biyokimyasal bileşimini kontrol eder. Bununla birlikte, bu matrisin çoğu sudan (% 97'ye kadar) oluşur. Diğer bileşenlerin miktarı; karbonhidratlar (mannoz, galaktoz ve glukan ek olarak% 32 glukoz,% 3 heksosaminler ve% 0.1 üronik asit dahil% 40), proteinler (% 5 civarında), fosfor (% 0.5). Ayrıca nükleik asit ve lipit gibi diğer bileşenler daha az miktarda bulunur (Daniels ve ark 2006). Hücrelerin çoğu, adezyon fazının başlangıcında blastosporlar olarak bulunur. Daha sonra farklı

mikrokoloniler, hücre dışı malzemenin yokluğunda yüzeyde görünür (Zhu ve Filler 2010).

1.4.7.10 C. albicans'taki biyofilm

C. albicans'ın biyofilmi, hücre ve filamentlerin bir arapsaçı gibi yapılandırılmış, hücre dışı bir matris halinde organize edilmiş bir kompleksin oluşturduğu bir bileşiktir. Bu biyofilm, ayrıntılı mimarisi ile, antifungal ajanlara ve konağın bağışıklık hücrelerine karşı direnci artırarak, ve cihazların üzerinde kolonizasyonu sağlayarak, sistemik enfeksiyonlu hastaların tedavini zorlaştırır. *C. albicans* enfeksiyonlarının çoğunluğu biyofilm oluşturma kabiliyeti ile ilişkilidir (Finkel ve Mitchell 2011, Mathé ve Van Dijck 2013). İn vitro deneyler biyofilm gelişiminin 24 ila 48 saatlik bir süre boyunca bir dizi ardışık aşamada gerçekleştiğini göstermiştir (Mathé ve Van Dijck 2013). İlk adım, bir bazal maya hücre tabakasının oluşmasıdır oluşturur (Finkel ve Mitchell 2011, Nobile ve ark 2012, Mathé ve Van Dijck 2013). Bunu, yüzeyde bir hücre fazı çoğalması ve hücrelerin, hifalli filamentli formlarda gelişmeye devam eden uzun çıkıntılar oluşturması (başlatma aşaması) izler. Son olarak, son adımda, yapışmayan maya hücreleri, diğer yüzeyleri kolonileştirebilecekleri ortamdaki biyofilmden salınır (dağılım adımı). Biyofilm ile ilişkili hücreler büyük klinik öneme sahiptir çünkü salınan hücreler yeni biyofilm oluşumunu başlatabilir veya konak dokulara yayılabilir ve kandidemi yapar. İlginç bir şekilde, yapılan hayvan deneylerinde biyofilmden yayılan hücrelerin yüksek yapışma, filamanlama kapasitesi ve artan patojenite sergiledikleri planktonik hücrelerden farklı fenotiplere sahip oldukları görülmüştür. Bu sonuçlar, dispersiyon basamağında salınan hücrelerin, yeni biyofilmler ve enfeksiyon bölgeleri yaratmak için benzersiz bir şekilde donatıldığını göstermektedir (Finkel ve Mitchell 2011, Nobile ve ark 2012, Tsui ve ark 2016).

1.4.7.11 Biyofilm gelişiminin genetik kontrolü

Mikroorganizmanın biyofilm oluşumuna yapışması için bazı genlerin aktif olması gerekir. Biyofilm hücreleri benzersiz fenotipik özelliklere sahipse, biyofilm hücrelerinin planktonik hücrelerden farklı bir dizi gen eksprese etmesi beklenir. Birçok çalışma biyofilm transkriptomunu karakterize etmiştir (Nett ve ark 2009). Her ne kadar birçok farklı büyüme koşulu ve karşılaştırma koşulu kullanılsa da, özellikle biyofilm oluşumunda en kuvvetli şekilde indüklenen genler arasında genel bir benzerlik vardır

(Desai ve ark 2013). Örneğin, böyle bir çalışmada, amino asit biyosentezi genlerinin, çeşitli koşullar altında yetiştirilen biyofilmlerde sistematik olarak yukarı regüle edildiği bulunmuştur. Bu gözlem, amino asit biyosentezi genlerinin genel kontrolünde kusurlu olan bir gcn4Δ / p mutantı ile biyofilm oluşumunun test edilmesine yol açmıştır. Gcn4Δ / a mutant bir biyofilm üretir, ancak genel biyokütle ve metabolik aktivitesi vahşi tipe kıyasla önemli ölçüde azalmıştır. Bu denemeler, vahşi ve mutant suşların planktonik büyümesinin eşdeğer olduğu zengin bir ortamda gerçekleştirilir. Sonuç olarak, mutant, biyofilmdeki hücrelerin tutunmasında bir kusura sahip olabilir (Desai ve Mitchell 2015).

1.4.8 Biyofilm enfeksiyonları

Biyofilmler üreterek, mikroorganizmalar yaşamlarını kolayca sürdürürler (Ramage ve ark 2005).. Biyofilmler mikroorganizmaların yüzeyine yapıştıklarında yavaş yavaş oluşabilir ve kendilerini olumsuz çevresel koşullardan korurlar, buna enzimler, biyofilm genleri ve hücresel reseptörler neden olur (Costerton ve ark 1999).

Biyofilmlerin genel özellikleri aşağıdaki gibidir (Costerton ve ark 1999).

1. Biyofilmler canlı veya cansız ortamlara yapışır.

2. Biyofilmler çok yavaş bir gelişme ile karakterize edilir.

3. Antijen salınımına neden olmalarına rağmen, biyofilmde bulunan hücreler antikorların etkisine karşı korunur. Sonuç olarak, bağışıklık kompleksleri nedeniyle hasara neden olur.

4. biyofilmler antimikrobiyal tedavilere dirençlidir ve bu nedenle tamamen yok edilemezler.

5. Konağın savunma sisteminin yetersiz olduğu durumlarda, biyofilmlerden kaynaklanan planktonik hücreler akut enfeksiyona neden olur.

Candida yatan hastalarda hayatı tehdit eden enfeksiyonlara neden olur ve yaygın bir mantar patojenidir (Sutcu ve ark 2016). Pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve özellikle kan dolaşımındaki enfeksiyonlar Candida türleri tarafından oluşabilir. Kateterler gibi tıbbi alet ve ekipmanların kullanılması bu enfeksiyonlar için zemin

hazırlar (Deorukhkar ve ark 2016). Diş protezlerinin yüzeyinde, kandida türleri biyofilmler oluşturur bu biyofilmlerde streptekoklar da bulunur. Bu nedenle, biyofilm gelişiminin önlenmesi, mikroorganizmaların biyofilmleri sentezleme gücündeki artışı önleme kosunda birçok araştırma yapılımıştır (Acar 2018).

1.5 Insidans

Son yıllarda, sistemik, yaygın ve derin kandidiyazis epidemiyolojisi giderek değişmiştir. Cerrahi ve tıbbi uygulamalardaki gelişmeler, neredeyse yirmi yıldır fırsatçı enfeksiyon riski yüksek olan, derin bağışıklık sistemi baskılanmış hastaların (nakil, kemoterapi, anti-kanser, resüsitasyon, immünosüpresif tedaviler) sayısındaki artış insidansı etkilemektedir. Bu hastalarda ölüm nedeni altta yatan patolojileri değil, enfeksiyonlara bağlı komplikasyonlardır. Bu hastalarda genellikle ağır ve tanı ve tedavisi karmaşık olan mantar enfeksiyonları görülür. İstilacı mantar enfeksiyonlarından en çok sorumlu olan ajanlar *Candida spp*'dir. Bazı kan dolaşımı enfeksiyonları da dahil olmak üzere sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlar kaçınılmaz bir morbidite ve mortalite nedenidir (Cleveland ve ark 2015). Sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonları azaltmak için, yeni sağlık politikalarının benimsenmesi, enfeksiyon oranlarında düşüşe neden olmuştur (Jha ve ark 2012, Cleveland ve ark 2015). Candidaemi olarak da bilinen Candida türlerinin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları, önemli bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. *Candida spp.* yaygın bir gastrointestinal flora üyesidir ve birçok *Candida* kan dolaşımı enfeksiyonunun kökeni bunlardır (Cleveland ve ark 2015).

1.6 Kandidiyazis predispozan faktörleri

Kandidiyazis için bazı genel predispozan faktörler vardır örneğin; belirli fizyolojik durumlar (hamilelik), terapötik ilaçlar (antibiyotikler, kortikoidler, immünosüpresanlar), yaş, patolojik durumlar [diyabet, Hodgkin hastalığı, (acquired immune deficiency syndrome : AIDS), lösemi]. Ancak, asitlik, maserasyon, radyoterapi ve nem gibi diğer faktörler de oldukça önemlidir. Nötropeni, bağışıklık sisteminin işlevsizliği, kortikosteroid tedavileri, kemik iliği nakli, metabolik işlev bozukluğu veya yetersiz beslenme esas olarak *Candida* enfeksiyonuna neden olan ana endojen faktörlerdir. Sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon için genel risk faktörlerini, sistemik kandidiyazis için spesifik risk faktörlerinden ayırt etmek zordur (Ziaee ve ark

2017). İnvaziv prosedürler "sekonder" risk faktörleridir ve daha çok ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Yapılan tüm çalışmalarda, antibiyotik tedavisi risk faktörlerinden biri olarak tanımlanmıştır. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin potensial rollerinden sıklıkla bahsedilir, ancak her zaman istatistiksel olarak önemli sonuçlar bulunmamaktadır. Yoğun bakımda kalma süresi (sekiz günden daha uzun) sistematik enfeksiyonlarda risk faktörü olarak tanımlanmıştır (Gauzit 2001). Resüsitasyona özgül sistemik kandidiyazis kaynaklı mortalite risk faktörlerine ait az veri vardır. Ayrıca kandidiazise yatkın olan 60 yaş ve üstü insanlarda risk grubu içindedir. *C.albicans* dışı diğer *Candida*'ların yaptığı enfeksiyonlarda mortalitenin yüksek olduğu, özellikle *Candida glabrata*'nın septik şoktan daha çok sorumlu olduğu görülmektedir (Gauzit 2001).

Çizelge 1: İnvaziv kandidiyazın farklı klinik formları (HAS 2017)

Etkilenen organlar	**Enfeksiyon türleri**
Kan	kandidemi
Periton	Candida maya peritoniti
Akciğerler	pnömoni
Cilt	Papüller, püstüller, tek veya çoklu nodüller
Gözler	Endoftalmi, koriyoretinit
Osteoartiküler sistem	Osteoartrit, osteomiyelit, spondilodiskit
Merkezi sinir sistemi	menenjit
Böbrek	pyelonefrit
Karaciğer	Hepatosplenik kandidiyaz (kronik yaygın kandidiyaz)
Kalp	endokardit

1.7 Klinik

Klinik açıdan kandidiyazis, iki tip lezyon oluşturur : yüzeysel kandidiyazis ve derin kandidiyazis.

1.7.1 Yüzeysel kandidiyazis

Mikoz veya yüzeyel mantar enfeksiyonları toplumda sık görülmektedir. Özellikle, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda farklı şekilde görünmelerine rağmen, çoğunlukla tedavi edilebilir durumlardır (Hay 2020). Dermatofit veya saçkıran enfeksiyonları, ağzın yüzeysel kandidiyazı, cilt veya genital sistem

kandidiyazı oluşan easas klinik durumlardır. Tipik klinik değişiklikler görülmesine rağmen, tanı genellikle direkt mikroskopi ile yapılıp uygun örneklerin kültürü ile doğrulanmalıdır.Tedavi inflamasyon bölgesinin büyüklüğüne ve hastalığın ciddiyetine bağlı olarak kısa veya daha uzun süre antifungallar tedavisi kullanılmalıdır (Hay 2020). Yüzeysel kandidiyazis en sık görülen türdür ve çok çeşitlidir. Tüm epitel ve mukoza zarlarına ulaşabilir (Elangovan ve ark 2012). Bununla birlikte, bu enfeksiyonların derin enfeksiyonların aksine teşhisi ve tedavisi nispeten kolaydır.

1.7.2 Derin kandidiyazis

Günümüzde yaygın bir şekilde kolonileşmenin derin *Candida* enfeksiyonlarının ön aşaması olduğu kabul edilmektedir. Bu ön kapı genellikle sindirim sistemidir. Bağırsak homeostazındaki herhangi bir bozukluk (iltihaplanma, antibiyotik tedavisi, vb.) floradaki mayaların fazla üremesine neden olabilir. Mukoza zarlardaki artan mantar yükü, bir çok litik enzimin salgılanmasını ve mayaların hematojen translokasyonunu destekleyebilir (Naglik ve ark 2003). Derin kandidiyazis genellikle hastanelerin yoğun bakım ünitelerinde, tıbbi ve cerrahi resüsitasyon servislerinde, onkoloji ve hematoloji ünitelerinde yatan immünsüpresif hastalarda görülür. Derin kandidiyaz, birkaç *Candida spp.*'nin neden olduğu sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon ilişkili majör bir mantar enfeksiyonudur; en yaygın tür *Candida albicans*'tır, ancak bu organizmaların prevalansı coğrafi bölgeye bağlı olarak önemli ölçüde değişir. Derin kandidiyazis hastalığı spektrumu minimal semptomatik kandidemiden, % 70'in üzerinde mortalite gösteren fulminan sepsis arasında değişmektedir. Cildin ve gastrointestinal bariyerlerin (örneğin, gastrointestinal perforasyondan dolayı) bozulması da, invaziv hastalığa ortam hazırlar (Pappas ve ark 2018). En yaygın tür *Candida albicans*'tır, ancak bu organizmaların prevalansı coğrafi bölgeye bağlı olarak önemli ölçüde değişir. Derin kandidiazisin erken tanısı zordur, ancak etkili yönetim için hızlı moleküler teşhislerin geliştirilmesi ölüm oranını potansiyel olarak azaltabilir. Yeni tanımlanmış bir patojen olan *Candida auris*, bir çok ilaca dirençli olması nedeniyle küresel bir tehdit oluştumaktadır (Pappas ve ark 2018). Ayrıca bu enfeksiyonların ağır klinik tablo oluşturması, klinik ve biyolojik tanının zorlukları, antifungal ajanların tüketiminde önemli bir artışa neden olmuştur. Bu büyük ölçüde ampirik veya profilaktik tedavilerle bağlantılıdır (Leroy ve ark 2009). *C. albicans'*ın neden olduğu septisemi iki kökene dayanır: a) endojen (sindirim sistemindeki

kandidalar) yayılma karaciğer, dalak ve daha nadir olarak akciğerleri içeren daha derin organlara olur b) eksojen, kateterler, protezler üzerindeki biyofilmlerdeki kandidalar (Nucci 2000, Douglas 2003).

Çizelge 2: İnvaziv kandidiyazın risk faktörleri (HAS 2017)

Risk faktörleri	
Hastaya bağlı	Yaşlı zemin Çoklu kolonizasyon nötropeni diyabet Böbrek yetmezliği Malign hemopatiler nakli Yoğun bakım ünitelerinde yatış / resüsitasyon
Lokal	Kapsamlı yanık, sindirim sistemine zarar
Tıbbi tedaviler	Kortikoterapi> 3 hafta bağışıklık Geniş spektrum ve uzun süreli antibiyotik tedavisi kemoterapi
Cerrahi tedaviler	Sindirim, idrar, kalp cerrahisi
İnvaziv tıbbi cihazlar	Santral venöz Üriner kateter Kalp kapağı
Tıbbi prosedürler	hemodiyaliz Çoklu transfüzyonlar Katı organ nakli Yapay havalandırma Parenteral beslenme

1.8 Kandidiyazis epidemiyolojisi ve etiyolojisi

Candida enfeksiyonu, dünya genelinde üçüncü basamak hastanelerinde sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon kan dolaşımı enfeksiyonlarının önde gelen nedenidir. Flukonazole dirençli suşların neden olduğu enfeksiyonların insidans yüksektir. *Candida spp.* hastanede yoğun bakım ünitelerinde ve çocuk ünitelerinde yatan çocuklardaki sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonlardan sorumludur ve bu durum önemli sağlık harcamalarına neden olur (Steinbach 2016). Sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonların dördüncü en yaygın nedeni *Candida* türleri olarak bildirilmiştir (Lackner ve ark 2014). On beş *Candida* türü insanlara hastalık yapabilir. Ancak bildirilen kandidiyazislerin %90'ından fazlası en yaygın olan beş tür ile oluşur; *C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis, C. krusei* ve *C. tropicalis*. Her ne kadar bu enfeksiyonların sayısındaki son artış (Pappas ve ark 2015) çoğunlukla *C. albicans* ile ilişkilendirilse de, albicans dışı *Candida* ile ilişkili hastalıklar dünyanın farklı bölgelerinde de artmaktadır (Merseguel ve ark 2015). Örneğin, her yıl milyonlarca kadını etkileyen vulvovajinal kandidiyazis temel olarak C. albicans kaynaklı olmakla birlikte, albicans dışı *Candida* türlerinin, özellikle *C. glabrata*'nın bu enfeksiyonun bir nedeni olduğu bildirilmiştir (Gonçalves ve ark 2016). Virülans, epidemiyoloji ve antifungal ilaçlara duyarlılık gibi faktörler invaziv kandidiaziden sorumlu farklı patojenik türlerde değişiklik gösterir (Pappas ve ark 2009, Desai ve ark 2013).

1.9 Candida türleri

1.9.1 *Candida albicans*

Candida albicans, insanlarda en sık mukozal hastalıklara neden olan fırsatçı bir patojenidir (Vellanki ve ark 2019). *Candida albicans*, sağlık bakımı ilişkili mantar enfeksiyonlarında en sık rastlanan türdür. *C. albicans*, insanlarda enfeksiyona neden olan *Candida* spp arasında en çok izole edilenidir (Fındık ve Tuncer 2002). Önemli bir fungal patojeni olan *Candida albicans*, özellikle immün sistemi baskılanmış bireylerde çok çeşitli mukozal ve sistemik enfeksiyonlara neden olabilir (Kadosh 2019). Çoklu veri kaynakları, *C. albicans*'ın konakçıdan gelen çevresel sinyallere cevap olarak mayadan filamentli hücrelere geri dönüşümlü bir morfolojik geçiş geçirme kabiliyeti ile virülanslığı arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. *C. albicans*'ın morfolojik geçişini kontrol eden önemli mekanizmalar üzerine yapılan önceki

çalışmaların çoğu, sinyal yollarına ve sekansa özgül transkripsiyon faktörlerine odaklanmıştır. Bununla birlikte, son yıllarda çeşitli yeni mekanizmalar bildirilmiştir (Kadosh 2019). *C. albicans* ile öldürücü olan enfeksiyonlar, bağışıklığı baskılanmış hastalar veya kalıcı tıbbi cihazlar taşıyan hastalar gibi hassas bireylerin artan oranına paralel olarak sürekli artmaktadır (Vellanki ve ark 2019). Özellikle yaygın enfeksiyonlar ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Çünkü hastalar antifungal tedavi alsa bile ölüm oranları %40'ı geçmektedir (Tscherner ve ark 2019, Vellanki ve ark 2019). *C. albicans*, sağlıklı bireylerin gastrointestinal ve genitoüriner yollarını kolonize eden bir mantardır, immün sistemi baskılandığı durumlarda, *C. albicans*, epitelyuma girebilir ve ciddi sistemik enfeksiyonlara neden olabilir. *C. albicans* için kilit bir virülans faktörü, morfolojik değişim özelliğidir; çevresel koşullara bağlı olarak maya ve gerçek bir filamentli veya hifal morfolojisi arasında geçiş yapabilmeltedir. Epitel yüzeylerinde, etkili epitelyal penetrasyon için ilk yapışma ve daha sonra filamanlama gereklidir. Ayrıca, epitel hücrelerine zarar veren bir peptid olan lizin gibi birkaç virülans faktörü, yalnızca hifal formuyla üretilir (Tscherner ve ark 2019). *C. albicans* enfeksiyonları için en önemli risk faktörleri antibiyotik tedavisinin ardından merkezi venöz giriş, cerrahi prosedürler, nötropeni, parenteral beslenme, idrar sondası ve hematolojik malignite gibi bazı hastalıklardır. Kanser, prematürite, kalp hastalığı, travma, nörolojik hastalık, gastrointestinal hastalıklar, organ nakli, akciğer hastalıkları, vasküler hastalıklar, HIV, genetik hastalıklar/doğum kusuru, böbrek hastalığı, diyabet, karaciğer hastalıkları ve pankreas hastalıkları da diğer risk faktörleridir (Dadar ve ark 2018).

1.9.2 *Candida glabrata*

C. glabrata, sadece tomurcuklanma ile üreyen, aseksüel haploid bir mantardır. *C. glabrata*, diğer *Candida* türleri ile birlikte, Fungi Imperfecti sınıfına, Moniliales sırasına ve *Cryptococcaceae* familyasına aittir. *Candida glabrata* ascomycete ailesine aittir ve deuteromycete grubunun bir parçasıdır. *Candida glabrata*, bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde yüzeysel mukozal ve potansiyel ölümcül enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenidir. Evrim açısından, patojenik olmayan *Saccharomyces cerevisiae*'ye, en yaygın kan patojeni olan *C. albicans*'tan daha yakındır (Kumar ve ark 2019). *C. glabrata*, patojenik bir ajan olarak tüm çevresel koşullarda küçük blastokonidiya formunda bulunan dimorfik olmayan bir mayadır. *C. glabrata*,

37^0C'nin üzerindeki sıcaklıklarda yalancı hif oluşturmaz. *C. glabrata* blastokondiyasının (1-4 μm) *C. albicans* blastokonidyasından (4-6 μm) oldukça küçükdür. Sabouraud Dekstroz Agar üzerinde *C. glabrata*, oldukça küçük olan, diğer *Candida*'lardan ayırt edilemeyen parlak, pürüzsüz, krem renkli koloniler oluşturur (Fidel ve ark 1999). Biyokimyasal reaksiyonlarına gore Candida türlerini renklerine göre ayıran, yeni bir agar olan Chromagar'da; *C. glabrata*'nın kolonileri, pembe-mor görünür. *C. glabrata*'nın önemli bir ayırt edici özelliği, *C. albicans* ve diğer bazı *Candida* türlerinin diploid genomunun aksine, haploid genomunun olmasıdır (Fidel ve ark 1999). *Candida glabrata*, diş yüzeyindeki dental plaktaki en yaygın patojenik türlerinden biridir. *Candida* biyofilmleri, çoğu antifungal ajana karşı direnç gösterir. Bu nedenle, bu direncin önlenmesi için daha güçlü ve etkili alternatif antimikrobiyallerin geliştirilmesi gereklidir (La Cruz-Claure ve ark 2019).

1.9.3 *Candida tropicalis*

Candida albicans ve *Candida tropicalis*, insanlarda iki önemli fırsatçı mantar patojen olmasına ragmen doğal ortamlarında farklılıklar gösterirler (Zuza-Alves ve ark 2016). *C. tropicalis*'in kolonileri, yaygın olarak kullanılan Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) üzerinde hafif miçelyal sınırlara sahip krem rengli koloniler oluşturur. CHROM Agar'da koyu mavi renkte koloniler yapar. Mısır unu agar veya Tween 80 25°C'de agarda üreyen koloniler mikroskopta incelendiğinde, (Dalmau yöntemi), *C. tropicalis*, zarif veya uzun psödohipler boyunca veya küçük gruplar halinde blastokonidiya oluşturur. Ayrıca gerçek hifa da üretebilir. Biyokimyasal (fermentasyon) testlerde, bu maya, glikoz, sukroz, galaktoz, trehaloz ve maltoz fermente etmektedir. *C. tropicalis*'in konak hücrelere yapışması ve dolayısıyla kolonizasyonu, hastalığın oluşumunda önemli bir erken adım olarak kabul edilir. Çünkü yüksek yoğunluklu kolonizasyon, konakçı için yüksek risk faktörüdür (Negri ve ark 2012). İnvaziv cerrahi işlemler, uzun süreli yoğun bakımda kalma, antibiyotik kullanımı ve kateterizasyon gibi konakla ilgili faktörler kandidiyaz riskini arttırmaktadır (Zheng ve ark 2017). Ayrıca, *C. tropicalis* tarafından oluşan sistemik hastalıklar, kolonizasyon, yüksek yayılma potansiyeli ve bu organizmanın patojenitesi ile ilişkilidir. Bu, temel olarak *C. tropicalis*'in hastalara ciddi hasar veren ve ölüm riskini artıran çeşitli virülans faktörlerine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. *C. tropicalis*'in neden olduğu enfeksiyonlar endojen kaynaklı olabilir. Normal floranın bir parçası olan

mikroorganizma zaten kolonisyon gösterdiği için, uygun koşullar altında mayalar fırsatçı bir patojen gibi davranır ve yayılabilir. Gastrointestinal sistemde farklı anatomik bölgelere girerek enfeksiyona neden olur. Ekzojen enfeksiyon, sağlık çalışanlarının hastalarla teması veya kateterler, implante edilebilir protezler ve daha önce kontamine olmuş parenteral solüsyonlar yoluyla oluşabilir. *C. tropicalis*'in neden olduğu istilacı enfeksiyonlar arasında en yaygın olanları kandidüri ve kandidemi'dir (Negri ve ark 2012, Zheng ve ark 2017).

1.9.4 *Candida parapsilosis*

Bugüne kadar *C. parapsilosis*'in oluşturduğu gerçek hiflere ait mikrobiyolojik bir kanıt bulunamamıştır. Çeşitli çevresel uyaranların etkisiyle; yüksek sıcaklık (37°C), serum varlığı, açlık ve yüksek CO2 seviyeleri ve düşük oksijen seviyeleri gibi yalancı hif oluşturduğu düşünülmektedir (Kadosh 2016). Maya-yalancı hif dönüşümünün mekanizması az çalışılmış olsa da, spesifik bir amino asit alt grubunun bu davranışa neden olduğu düşünülmektedir (Tóth ve ark 2019). Ayrıca, morfolojik transformasyon genel olarak hücre duvarı yapısındaki değişikliklerle ilişkilidir. Örneğin, mayadan filamente geçişi sırasında, uzun hücre duvarının dış tabakasında yalancı hife spesifik hücre yüzey proteinleri ve adezinler oluşmaktadır. *C. parapsilosis'*in yalancı hifi virülansa katkıda bulunur. Absorpsiyon açısından, konakçının fagositik hücreleri, *C. parapsilosis'*in maya formlarını yalancı hif formlarından ayırt edememektedir. Ancak yalancı hifler makrofajlar tarafından tahrip edilmeye karşı daha dirençlidir ve in vitro olarak daha fazla hasara neden olduğu için patojeniteye katkıda bulunur (Tóth ve ark 2019). *Candida parapsilosis* de, santral venöz kateterler (CVC'ler) ve diğer tıbbi olarak implante edilen cihazlar üzerinde inatçı biyofilmler oluşturma kabiliyetine sahipdir bu nedenle *Candida* türleri, dünya çapında yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastalarda oluşan kan dolaşımı enfeksiyonlarından büyük oranda sorumludur. *C. parapsilosis*, yoğun bakım hastalarına uygulanan total parenteral beslenmede de hızla artar. Bu nedenle yetersiz beslenen çocuklar ve immünsüpresif bebekler de yüksek risk grupuna dahil edilmektedir (Harrington ve ark 2017). *C. parapsilosis* enfeksiyonları genel olarak *C. albicans* enfeksiyonlarından daha düşük morbidite ve mortalite ile sonuçlansa da, bu türlerin bazı klinik izolatlarının ekinokandinlere karşı daha az duyarlı olduğu ve bazı bölgelerde tedaviye dirençli olduğu bildirilmiştir. (Tóth ve ark 2019). Konak

kolonizasyonunda çeşitli biyotik ve abiyotik yüzeylere yapışmak ilk önemli adımdır. Bu yüzeyler; polivinil klorür (PVC), poliüretan, silikon kateterler, protezler ve ayrıca konakçı epitel dokusunu içeren kalıcı tıbbi cihazları içerir. *C. parapsilosis'*in, implante tıbbi cihazların kolonizasyonu ve yüksek glukoz içeriğine sahip parenteral nütrisyon yoluyla sistemik enfeksiyonlara neden olma kabiliyetiyle bilinmektedir. Bu nedenle, biyofilm oluşumundan önceki kritik bir adım olan türlerin yapışkanlık yetenekleri araştırılmıştır (Tóth ve ark 2019). İlginç bir şekilde, bu çalışmalar sırasında, diğer *Candida* türlerine kıyasla, *C. parapsilosisin* klinik izolatları arasında alışılmadık derecede yüksek bir çeşitlilikte adezyon gözlenmiştir (Silva-Dias ve ark 2015). Ayrıca, izolasyon bölgesi ile yapışma oranı arasında bir korelasyon gözlenmiştir. Ayrıca, hücre yüzeyinin hidrofobikliği, polistiren yüzeylere ve oral epitel hücrelere yapışmayla kuvvetli bir şekilde ilişkili olduğu da saptanan bulgulardandır (Silva-Dias ve ark 2015). *C. parapsilosis*in yapışmasının moleküler mekanizmaları da incelenmiştir. Bu türlerin abiyotik ve biyotik yüzeylere yapışmasını etkileyen birçok protein tanımlanmıştır (Tóth ve ark 2019).

1.9.5 *Candida kefyr*

Candida türleri normalde insan popülasyonlarının %50'sinin mukozal mikroflorasında bulunun flora elemenlarıdır. *Candida* türlerinden biri olan *C. kefyr*, fermente süt, peynir ve yoğurt gibi süt ürünlerinde bulunur (Dufresne ve ark 2014, Sanchis ve ark 2016). 1909'da bir kefir örneğinden izole edilmiştir. İlk olarak Saccharomyces *fragilis*, daha sonra *C. pseudotropicali* olarak adlandırılmış, en sonunda *Kluyveromyces marxianus* olarak yeniden sınıflandırılmıştır. *Candida kefyr*, hematolojik maligniteleri olan, özellikle kemoterapi görenlerde kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon patojendir. Bu mantar, fermente süt ve peynir gibi çeşitli süt ürünlerinde yaygın olarak bulunur ve bu enfeksiyonun yeme alışkanlıkları ile bağlantılı olabileceği öne sürülmüştür (Sanchis ve ark 2016). *C. kefyr*, yüzeysel bir cilt enfeksiyonu olan kandidiyazın nadir nedeni olarak da bilinir. Çeşitli durumlarda geliştiği için, bu organizma için spesifik bir ekolojik şart tanımlanamamıştır (Yavuz ve ark 2017). *C.kefyr* nadiren hastalıklara neden olsada yüksek mortaliteye sahiptir. *C. kefyr*, hematolojik malignite hastalarında sıklıkla saptanan bir patojendir (Direkze ve ark 2012).

1.9.6 *Candida dubliniensis*

C. dubliniensis, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda ve diğer immünsüpresif hasta gruplarında klinik önemi olan bir patojen olarak kabul edilir. Örneğin, bu patojen HIV ile enfekte hastalarda oral pamukçuk ile sık olarak ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, *Candida*'nın neden olduğu diş stomatitlerinde de rol oynamaktadır (Petty ve ark 2016). Bu mantar kistik fibrozlu hastaların balgamından ve diyabetik hastaların ağız boşluğundan da izole edilmiştir. *C. dubliniensis*'in neden olduğu hastalıklardan; pnömoni, multifokal osteomiyelit, menenjit, leptomeningeal, spondilodisitit ve endokardit gösterilebilir. Yapılan çalışmalar *C. dubliniensis*'in diğer ekolojik nişlerde de yayıldığını göstermektedir (Petty ve ark 2016). Sigara gibi konağa özgül faktörler, ile ağız boşluğunda *Candida* kolonizasyonu enfeksiyonlara temel hazırlayan predispozan bir faktör olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, sitokinlerdeki değişiklikler ve sigaraya bağlı epitel hücrelerinin aracılık ettiği anti-kandidiyaz aktivitesi gibi lokal bağışıklık sisteminin baskılanması bu enfeksiyonlara ortam hazırlamaktadır (Ellepola ve Khan 2019). Tütün dumanına maruz kalmanın *Candida*'lar dahil olmak üzere diğer mikroorganizmalarla da dişlerde mikrobiyal biyofilm oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (Baboni ve ark 2010). Sigara içmek aynı zamanda oral epitelyal keratinizasyonun arttırarak içiciyi daha yüksek maya kolonizasyonuna yatkın hale getirmektedir (Ellepola ve Khan 2019). *C. dubliniensis* genomu, 10 haploid kromozom ve 3 diploid kromozomun bileşeninden oluşan bir karyotipden (yaklaşık 14.6 MB) oluşmuşdur (Mahelová ve Růžička 2017). *Candida albicans* ve *C. dubliniensis*'I ayırt etmek için çeşitli fenotipik testler mevcuttur; kolonilerin kromojenik ortamdaki karakteristik rengi, yüksek sıcaklıklarda (42 veya 45 ° C) üreme, klamidospor üretiminde farklılık ve farklı morfoloji, bitki özleri ile takviye edilmiş destekler üzerinde üretilmiş koloniler. Ayrıca, *C.dubliniensisis*'in üremesi, ortamdaki tuz konsantrasyonunun artmasıyla inhibe edilebilir (Mahelová ve Růžička 2017).

1.9.7 *Candida lusitaniae*

Candida lusitaniae (teleomorph Clavispora lusitaniae), kanser ve AIDS gibi immün sistemi baskılanmış hastaları enfekte eden yeni ortaya çıkan bir haploid mantar patojenidir (Atkinson ve ark 2008). Akut lösemili bir hastada fırsatçı bir enfeksiyon bağlamında 1979'da ilk bulunmasından bu yana, *C. lusitaniae*, insan vücudunun idrar,

bronkoalveoler lavaj sıvısı, kan ve periton sıvıdan da izole edilmiştir. Tüm *Candida* türlerinden daha az yaygın olmasına ve yaygınlığın sadece % 0,6-2 olmasına rağmen, *C. lusitaniae*, amfoterisin B, flusitosin ve flukonazola karşı çok iyi gelişmiş direnç mekanizmalarına sahiptir. Bu nedenle, tedavisi oldukca güçtür (Atkinson ve ark 2008). Amfoterisin B'ye direnç, ergosterol biyosentez geni ERG6 ve muhtemelen de ERG3 tarafından kontrol edilir, ancak flusitozin ve flukonazole direnci kontrol eden mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Yakın zamanlarda yapılmış bir çalışmada, pediatrik vakalarının (yenidoğanlar hariç) oluşan mantar enfeksiyonlarının %5.4'üne *C. lusitaniae*'nın neden olduğu saptanmıştır (Young ve ark 2003). Ayrıca, Fksl geni proteinindeki oluşan mutasyon (S645F) nedeniyle ekinokandinlere direnç geliştiren *C. lusitaniae* klinik izolatların da olduğu bildirilmiştir. Daha önceki çalışmalar, kalsinörin protein fosfatazın ve bunun alt hedefi olan Crzl'in, *C. albicans*, *C. dubliniensis* ve *C. glabrata*'nın virülansında ve ilaç toleransında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bir katalitik A (Cna1) ve bir düzenleyici B'den (Cnb1) oluşan kalsinörin, mantarlarda transkripsiyon faktörü ve T hücre faktörü (NFAT) dahil olmak üzere çeşitli proteinleri calmodulin Ca^{2}+ ile uyarmaktadır. Bu sonuçlardan ortaya çıkarak yapılacak çalışmalarla *C. lusitania* enfeksiyonları için yeni tedavilerin geliştirilmesi amaçlanmaktadır (Zhang ve ark 2012).

1.9.8 *Candida krusei*

1980'de, Kurtzman ve ark., *Pichia kudriavzevi*'nin *C. krusei*'nin, cinsel formu (teleomorph) olduğunu, bu iki mantarıda eşanlamlı yapan bir türün aseksüel (anamorf) bir formun olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu öneri DNA'nın yeniden birleşmesi ve eşleşmesi testlerinde saptanmış benzerliğe dayanarak yapılmıştır ve daha sonra *C. krusei* ve P tipi suşlarının 26S ribozomal DNA'sının D1 / D2 bölgelerinin sekansları da bu sonuçları doğrulamıştır (Kurtzman ve ark 1980). *P. kudriavzevii*'nin ilk kez 1960'da tanımlandığı zaman, spor yapabildiği saptanmıştər. Ancak türe ait suşların kültürleri daha sonra konjuge veya sporüle edilemeyen olarak tarif edilmiştir. Üçüncü bir isim olarak kullanılan, *Issatchenkia orientalis* literatürde eski bir adlandırma olmasına rağmen bazı laboratuarlar tarafından kullanılmaya devam edilmektedir. CBS5147, *I.orientalis*'in bir suşu olarak saklamaya alınmıştır, ancak bu türler daha sonra *P. kudriavzevii* olarak yeniden adlandırılmıştır; *C. krusei'*nin CBS573 (Douglass ve ark 2018) adlı farklı bir tür suşu daha vardır (Douglass ve ark 2018). *P.kudriavzevii*

izolatları vahşi doğada yaygındır.Yüksek fermentasyon yeteneğine sahipdir, bu nedenle bu mantarlar geleneksel bazı fermente gıdaları üretmek için kullanılır (Ricardo 2015). Bu mantarların; Afrika'da fermente manyok ve kakao, Tibet ve Sudan'da fermente süt ve Kolombiya'da mısır bazlı içecekler yapmak için yüzyıllardır kullanıldığı bilinmektedir. Hamur mayaları için ve buğdaydan Çin sirkesi üretiminde başlangıç kültürleri kullanılır (Li ve ark 2014). Ayrıca probiyotik potansiyele sahiptir. *P. kudriavzevii* biyo-etanol üretimi için biyoteknolojide artan bir role sahiptir. *Candida glycerinogenes* adı altında endüstriyel gliserol üretimi için de kullanılır (Radecka ve ark 2015). Endüstriyel uygulamalarla ilgili yayınlarda, *C.krusei*'nin muhtemel patojen olabilme potansiyalini gözönünde bulundurarak, *P. kudriavzevii, I. orientalis* veya *C. glycerinogenes* türleri tercih edilmesinin doğru olduğu bildirilmektedir. (Ricardo 2015). *C. krusei,* genellikle 2 temel morfolojik formda (dimorfizm) bulunur: maya ve yalancı hif. İkisi de genellikle besin ürünlerde bulunur ve ayrılması kolay değildir. Psödohifal durumu, *C. krusei*'yi, invazif olmayan maya formundan invazif hale getirir (Douglass ve ark 2018). *C. krusei,* askospor oluşturmayan ve kusurlu form olarak kabul edilen aseksüel (anamorfik) formdur. *I. orientalis* veya *P. kudriavzevii* ise mükemmel bir mayotik form olarak kabul edilen teleomorfik formdur. Bu iki form arasındaki dönüşüm karmaşıktır ve genellikle çevresel koşullara bağlıdır (Douglass ve ark 2018).

1.9.9 *Candida guilliermondii*

İnvaziv mantar enfeksiyonları, allojenik hematopoetik kök hücre nakli sonrası başlıca ölüm nedenleri arasındadır, Candida spp, invazif mantar enfeksiyonlarının %80'inin etkeni olarak saptanmıştır. *C. guilliermondii* teleomorfiktir. insan derisinin normal florasının veya mukozal zar yüzeyinin bir üyesidir. *C. guilliermondii*, ksilozdan ksilitolün üretimini sağlar. *C. guilliermondii'*nin, mükemmel ksilitol üretimi (verim: 0.69 - 0.78 gram / gram) yalnızca tanımlanmış ortamlarda değil, aynı zamanda fermentasyon inhibitörleri varlığında, özellikle ksiloz bakımından zengin hidrolizatlarda da oluşur: organik asitler, furanlar, fenolik bileşikler ve lignin (Wen 2014). Bazı çalışmalarda *C. guilliermondii*'nin inhibitörlere diğer pentoz fermantasyon mayalarından daha yüksek tolerans gösterdiği saptanmıştır. *C. guilliermondii* düşük virülansa sahip olan; fırsatçı, saprofitik bir mayadır. Literatürlerde *C.albicans* dışında, diğer *Candida* türlerinin, özellikle de *C. guilliermondii*'nin klinik ve çevresel oluşum

sıklığı hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Organizma doğada yaygındır. Topraktan, bitkilerden, böceklerden, deniz suyundan, atmosferden, ağaç sızıntısından ve işlenmiş gıdalardan sık sık izole edilmektedir.Aynı zamanda insan ve hayvan cilt ve mukoza mikroflorasının saprofitik bir üyesidir. Ancak, mantar hastalıklarının nadir bir ajanı olarak kabul edilir (Savini ve ark 2010). *C.albicans* dışı diğer *Candida* türlerinin virülansı, konağın lokal veya sistemik bağışıklık sisteminin etkinliğindeki azalmayla kesin olarak bağlantılıdır. *Candida guilliermondii* kompleksi, *C. guilliermondii, Candida fermentati*, *Candida carpophila* ve *Candida xestobii* gibi fenotipik olarak ayırt edilemeyen türlerin genetik olarak heterojen bir kompleksidir. C. guilliermondii kompleksine bağlı insidans, coğrafi bölgeye bağlı olarak %1 ila 3 arasında değişmektedir. Bununla birlikte, *C. guilliermondii* kompleks enfeksiyonları hakkında epidemiyolojik ve klinik bilgileri bildiren sınırlı sayıda çalışma vardır (Hirayama ve ark 2018). *C. guilliermondii,* başta malign tümörleri veya intravasküler cihazları olan hastalarda invazif enfeksiyonların %1-3'ünde etken olarak saptanmıştır. Latin Amerika'da saptanan invaziv mantar enfeksiyonlarınn dördüncü önde gelen nedenidir. *C. guilliermondii* in vitro ekinokandinlere duyarlılığı düşüktür. Bu nedenle, bu enfeksiyonların tedavisinde alternatif antifungallerin araştırılması gerekmektedir (Sanchis ve ark 2014).

1.10 *Candida* tanısı

1.10.1 *Candida*'nın tanısı; genel bilgiler

İnvaziv mantar enfeksiyonları, özellikle aspergilloz ve kandidiyazis, son yıllarda yoğun bakımda yatan hastalarda sık şekilde saptanmaktadır. İnvaziv mantar enfeksiyonlarında zaman kaybetmeden antifungal tedavi başlanmalıdır. Bu nedenle geleneksel mikrobiyolojik tanı yöntemleri, tedavi sürecini hızlandırmak için çok gereklidir. Ancak bazen yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlar da verilebilmektedir. Kandidiyazis olgularında kan kültürlerinin %50'si yanlış negatif sonuç vermektedir (Poissy ve ark 2014). Bu nedenle, erken tedavi stratejilerinin doğru bir şekilde yapılandırmak için klassik ve yeni mikrobiyolojik yöntemlerinin birlikte kullanımı ile tanıya gidilmelidir. Tanısal kullanılan testlerde (kitlerde) kullanılan biyobelirteçler mantarların ; yapısal, enzimatik veya metabolik bileşenlerinden elde edilir. Günümüzde rutin olarak kullanılabilen ve ticari olarak temin edilebilir biyobelirteçler ; duvar polisakarit antijenleri (Ag) veya bu antijenlere özgül

antikorlarla (Ac) kaplanmıştır. Bunların arasında en yaygın kullanılanı β-D-1,3-glukan ; kandidiyazis, *Aspergillus* ve ayrıca pnömositoz için yaygın bir şekilde kullanılan biyobelirteçdir. Resüsitasyon hastaları için erken tanısı için duyarlılığı yüksek olmasına rağmen çok spesifik olmadığı bildirilmektedir. Mannan antijeni, *Candida'*ların spesifik bir Ag'dir ve bu nedenle kandidiyazis tanısı için spesifik bir tanı testidir. Ancak sensitive-D-1,3-glukandan daha erken ve daha hassas sonuç vermek için yeterli değildir. Galaktomannan antijeni, *Aspergillus*'a özgül bir antijendir. Çok sayıda yanlış pozitif sonuç vermesine rağmen, aspergilloz tanısında erken tanıda oldukça önemli, hassas ve spesifik bir tanı testi olarak kabul edilir. Yanlış pozitiflerin nedeni galaktomannan antijenin için özgül olan antikorların kusurlu performanslarıdır. Bu biyobelirteçlerin önleyici bir tedavi stratejisinin bir parçası olarak veya yanlış olarak ugulanan ampirik tedavileri sınırlandırmak için kullanılması, antifungal ajanların reçetelerini rasyonalize etmeyi mümkün kılmıştır (Poissy ve ark 2014).Mantar enfeksiyonlarının tanısında moleküler düzeyde yapılacak mikrobiyolojik testler ve diğer biyoteknolojik gelişmeler tanı ve tedavisinin ilerlemesine neden olacaktır.

1.10.2 Örnek alınması

Kullanılacak yöntem ne olursa olsun, kullanılacak örneğin niteliği ve niceliği önemlidir. Herhangi bir antifungal tedavi başlamadan önce, steril bir şekilde numuneler alınmalı ve herhangi bir maya çoğalmasını sınırlamak için laboratuara mümkün olduğunca çabuk taşınmalıdır (Poissy ve ark 2014). Ana tanı prosedürleri ; direkt mikroskopi, sitopatoloji ve histopatoloji dahil biyolojik numunelerin mikroskobik incelenmesi; kültürü takiben morfolojik, biyokimyasal veya moleküler yöntemler, antifungal duyarlılık testleri kullanılarak yapılan incelemelerdir, serolojik tanı, antijen veya antikorun saptanması ve son olarak nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) (Dufresne ve ark 2019). İnvaziv mantar enfeksiyonlarında tanı için alınabilecek örnekler ;

- Kan örneği ; kan doğrudan bir kültür ortamına (sıvı Sabouraud veya diğer ortam) ekilir.

Tanı için alınabilecek diğer örnekler:

- Giriş kapılarındaki örnekler (kateterler, sondalar, valfler)

- Çeşitli biyolojiki vücut sıvı örnekleri [beyin omurilik sıvısı (BOS), bronchoalveolar lavage (BAL), idrar].

- Klinik ve radyolojik argümanlara dayanarak biyopsi parçaları (kutanöz, hepatik, pulmoner) alınmalıdır. Biyopsi örneği iki parçaya bölünmelidir: Bouin sıvısında veya formalinde sabitlenmiş bir parça histopatolojik inceleme için patoloji laboratuvarına gönderilmelidir. Steril fizyolojik salin içerisine yerleştirilen diğer örnek için mikoloji laboratuvarında mikrobiyolojik olarak incelenecekdir (Dufresne ve ark 2019).

Pittet tarafından tanımlanan kolonizasyon indeksinin belirlenmesi, pozitif alan sayısı ile örneklenen toplam alan sayısı arasındaki orandır. Bu indeks bir çeşit alarm oluşturur ve yetişkin resüsitasyon hastalarında kanıtlanmıştır (Pihet ve Marot 2013). Bu endeks, hasta başına haftada en azı iki kere, vücudun farklı beş bölgesinden (nazal, kulak çevresi, bukkal, anal ve vulvovajinal) düzenli olarak steril kutulara alınan numunelerin incelenmesiyle belirlene bilmektedir (Dufresne ve ark 2019). Alınan her numune kromojenik besiyere ekilerek 37 C'de inkübe edilmesi, bu suşların tanımlanmasına ve yüksek riskli hastaların erken tedavisine olanak sağlayacaktır.

Antifungal tedavi kolonizasyon indeksi 0,5'e ya da üstü olduğunda uygulanır (Pihet ve Marot 2013).

1.10.3 Direkt inceleme

Bazı numuneler direkt incelemeden önce ek işlemlere tabi tutulmalıdır; sıvılar, miktar tayini için seyreltilmeden önce (dışkı ve idrar örneklerinde) homojenleştirilir veya santrifüjlenir. Sıvı örnekler santrifüjle (1500 a.p.m'de 10 dakika) veya 0.45 mikron gözenellere sahip bir zar üzerinde süzülerek konsantre edilebilir. Balgam veya BAL önceden akışkanlaştırılmalıdır. Biyopsi ve dokular, mekanik olarak parçalanmalıdır. Örnekler herhangi bir lokal veya genel tedaviden önce alınmalıdır. Direkt mikroskopik incelenme, tanıda ilk adımdır, ön tanıyı en kısa sürede yönlendirerek zaman kaybetmeden antifungal tedaviye başlamayı kolaylaştırır. (Dufresne ve ark 2019). Yüzeysel dokulardan lam üzerine kazıntı şeklinde alınmış örneklerin (pullar ve tırnak parçaları) direkt mikroskopik incelemesinden once; mantar hif yapısını belirgin bir şekilde görülmesini sağlayan, %10 veya %20 potasyum hidroksid çözeltisi (KOH) (Willinger 2019) veya laktofenol pamuk mavisi boyası

döküp lamelle kapatılması gerekir. Mantarların yapısal elemanlarının mikroskopda daha iyi görülmesi için; %2 lugol, toluidin mavisi, laktofenol mavisi, klorazol siyahı veya Kongo kırmızısı. kalsiflor beyazı, gibi kimyasal boyalar kullanılabilir. Derin bölgelerden alınan örneklerden (BAL, plevral sıvısı, eklem sıvısı, doku biyopsileri) yapılmış yaymaların sito santrifüjlenmesi ve yukardaki boyaların kullanılması tanıyı kolaylaştırır. MayGrünwald-Giemsa ve gümüşleme teknikleri de kullanılır (Anane ve Khalfallah 2007) (Dufresne ve ark 2019).

1.10.4 Kültür

Mikolojik tanının bu aşaması, aşağıdaki nedenlerden önemlidir:

- Duyarlılığının direkt mikroskopik incelemeden daha yüksek olması
- Enfeksiyona neden olan mantarın tür düzeyinde tanımlanması
- Sonuçların yorumlanması için gerekli mantar koloni miktarının belirtilmesi
- Antifungal duyarlık testlerine imkan tanıması

Candida türlerinin iddiasız doğası, basit agar, kanlı agar veya kalp-beyin suyu gibi çeşitli kültür ortamlarının üremesine neden olur. Bununla birlikte, en uygun ortam, geniş bir ekim yüzeyi sunduğundan, mayanın izole edilmesine ve türlerin birlikteliğinin görülmesine izin verdiği için Sabouraud Dekstroz Agardır. Mantar kültürleri, genellikle antibiyotiklerle desteklenmiş (mantarların yavaş büyümesi nedeniyle bakteri üremesini önlemek için) SDA'ya ekilir (Willinger 2019). Bu besiyer glikoz ve peptin bakımından zengindir ve pH değeri 5,6'dır. Aynı zamanda SDA'ya bu kültürü kirletebilecek filamentli mantarların büyümesini engelleyecek olan sikloheksimid de ilave edilebilir. Ancak bu kimyasal bileşen *C.glabrata, C.parapsilosis, C. tropicalis* veya *C. famata* gibi bazı *Candida* türlerinin büyümesini inhibe edebilir veya yavaşlatabilir. Mantar kültürlerinin inkübasyon sıcaklığı 25°C ile 35°C arasında değişmektedir. *Candida* türleri için en uygun sıcaklık 37°C'dir. Çoğu *Candida* türünü izole etmek için 24-72 saatlik bir kültür süresi yeterlidir. Derin dokulardan alınmış örneklerde ise bir ila dört hafta inkübasyon periyodu gerekmektedir. Sabouraud ortamında, kültürün gelişimi 1-2 mm çapında kremsi, beyazımsı koloniler gösterir. Mikroskobik incelemede, oval formdaki 2-4 mikron arasında blastosporlar görülür. Bazı besiyerleri, *Candida* türleri için hem izolasyon hem de tanımlama özelliğine sahiptir (Poissy ve ark 2014). Bunlar, kromojenler eklenen ve bir türün tanımlanmasına izin veren kromojenik besiyerleridir. Bu

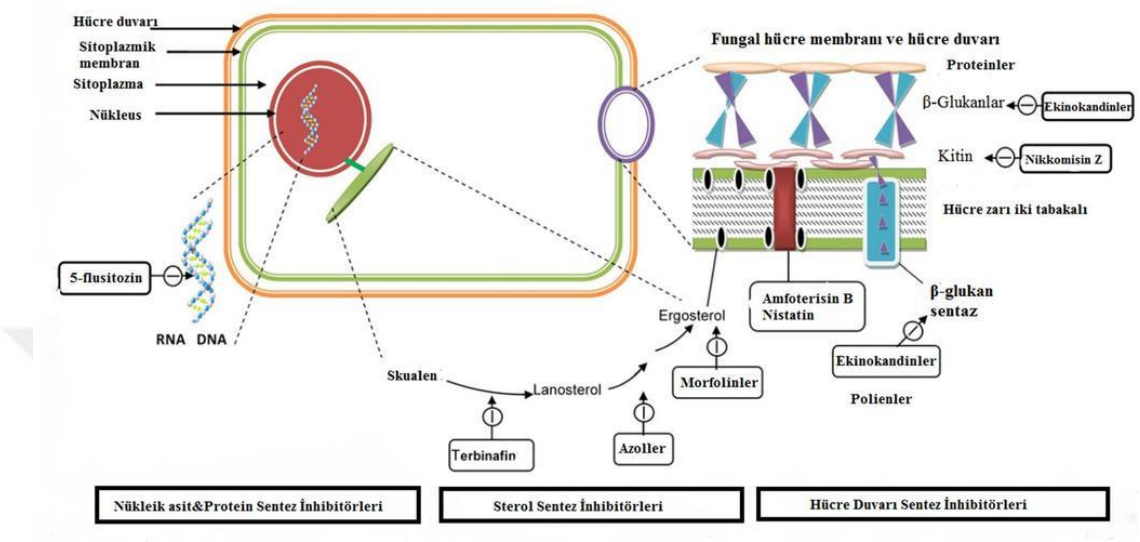
renklenme, bir türün spesifik bir enzimatik aktivitesinin gösterilmesine dayanmaktadır. Böylece, *C. albicans*, kullanılan kromojenik besiyerine bağlı olarak farklı renkler alacaktır: *Candida* ID® 2 ortamı, bioMérieux; Candichrom®, ELITech Microbio; ChromID®, bioMérieux. *Candida* tanımlaması için referans yöntemdir. Kan kültürlerinin duyarlılığını arttırmak için yeni sistemlerin (izolatör sistemi, lizis-santrifüjleme) geliştirilmesine rağmen kültür yöntemi düşük bir duyarlılığa (%40-60) sahiptir. Pozitif sonuç vermesi için birkaç gün gerekir. Bu nedenle tanı ve tedavinin başlamasını geciktirir (Bal ve McGill 2018). Ancak mantar enfeksiyonlarının prognozu erken tanı ve tedavi ile bağlantılıdır. Bu, negatif bir kan kültürünün sistemik kandidiyazis tanısını ekarte etmediği anlamına gelir. Ancak, yalnızca bir pozitif kan kültürü tanıyı doğruluyabilir. Lizis santrifüjleme yöntemi; kan hücrelerinin bir lizis aşamasını yani süpernatandan kurtulmak ve bulaşıcı ajanları konsantre etmek için bir santrifüjleme aşamasını içerir. Pelet kültür, tekrar besiyerlerine ekilir. Gerçekleştirilmesi zor olan bu yöntem, örnekler mantar önleyici işlemle alındığında veya karışık bir maya-bakteri enfeksiyonundan şüphelenildiğinde önemlidir. Ayrıca, otomatize kan kültürü sistemlerinin manüel sistemlere üstünlüğü artık kanıtlanmıştır. Günümüzde dünya genelinde otomotik Bactec sistemi (Becton-Dickinson) ve BacT / Alert sistemi (BioMérieux) kan kültürü sistemleri kullanılmaktadır. Birçok çalışma bu otomatik sistemleri farklı besiyerleri kullanarak değerlendirmiştir: BacT/Alert Fan Aerobik, Artı Aerobik / F, Mikoz IC / F (Anane ve Khalfallah 2007). Sonuçlara göre, BacT/Alert ortamının Plus Aerobik / F besiyerine göre daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Araştırmanın verilerinin analizi, Mycosis IC / F ortamı mantarlar için önceki iki besiyerden daha etkili olan spesifik bir besiyeri olduğunu göstermiştir. Sistemik kandidiyazis olgularının %70'ine *C. albicans* ve *C. glabrata* türlerinin neden olduğu unutmamak gerekir (Bal ve McGill 2018). Bakteriyel kültürlerde maya saptanmasının az olması, mayaların büyümesinin hızlı bakteri gelişimine göre yavaş olmasına veya antifungal maddelerin üretiminedeni ile engellenmesinden kaynaklanabilir. Yüksek riskli hastalarda sepsis sendromu sırasında Mycosis IC/F ortamının bakteri kültürü ile ilişkisi, sistemik kandidiyazis tanısının duyarlılığını ve hızını arttırmada büyük gelişmelere neden olacağı düşünülmektedir.

1.10.5 Seroloji: antikor ve antijen tespiti

Biyolojik serum belirteçlerinin Ag ve Ab (antijen ve antikor) tespiti, maya identifikasyonuna tamamlayıcı bir yaklaşımdır. Serumda aranan ana moleküller, dolaşımdaki antijenler; Mannan (Mn) ve β- (1,3) -D-Glukan (BG), mantar duvarının kantitatif ana sakarit bileşenleri ve serum anti-Mn antikorlarıdır (Guo ve ark 2019). Mannan antijeni mantarın büyümesi sırasında mantar duvarının yenilenmesi sırasında salınan bir moleküldür ve enfeksiyon sırasında kanda serbest formda tespit edilebilir (Persat ve Ranque 2009). Enfeksiyonun erken evresinde görülen manan antijeni, genellikle *Candida* türlerine özgüldür. Ancak bu antijen geçici olarak kanda kalabilir. Mn araştırması genellikle serumda; enzime bağlı immünosorban yöntemler, enzyme immunoassay (EIA) veya enzime bağlı immünosorban testi (ELISA) daha nadiren BAL veya BOS canlı kan analizi yöntemleri ile gerçekleştirilir. Bu yöntemlerin avantajları; büyük seri örnekleri işleme kapasitesine sahip, otomatik, standartlaştırılabilir ve çok hassas olmalarıdır (Persat ve Ranque 2009). Lateks partikülleri ile hazırlanmış bir aglütinasyon testi de vardır, ancak düşük hassasiyet nedeniyle çok az kullanılır. Serolojik testin avantajı, derin kandidiyazisli hastalarda mannanın saptanmasının, *Candida*'nın izolasyonundan birkaç gün önce pozitif olarak saptanması ve enfeksiyonun erken teşhisine olanak sağlamasıdır. Bununla birlikte, tespit edilen antijenemi, Mn'nin hızlı klirensinden dolayı genellikle geçicidir, Bu nedenle, tekrarlayan numunelerle risk altındaki hastaların düzenli olarak izlenmesi ile saptama olasılığının arttırılması gereklidir (Poulain 2000). Anti-Mn antikorlarının saptanması için kullanılan geleneksel yöntemler; İndirekt İmmünofloresan Antikor Yöntemi (IFA), İndirekt hemaglutinasyon (IHA), elektrosentez (ES), coellektrosentez (COES) ve immünoelektroforezdir (IELP). Ancak günümüzde bu yöntemler gitdikce daha az kullanılmaktadır. Çünki bu yöntemlerin manuel olması, daha uzun ve standadize edilmesi daha zor olduğundan az tercih edilmektedir. Günümüzde ağırlıklı olarak kullanılan teknik, ELISA yöntemidir. Bu yöntemde antikorların görünüm kinetiği geç ve kalıcıdır. Ancak sonuçlar yorumlanarken çok dikkatli olunması gerekmektedir. Özellikle bağışıklık yetersizliği olan hastalarda (düşük antikor seviyesine; örneğin nötropenik hastalar), pozitif bir sonucun kolonizasyonu veya enfeksiyonu gösterdiğini ayırt etmek oldukça zordur. (Persat ve Ranque 2009). Ayrıca, *Candida* türlerinin çoğunun normal flora elemanı olması nedeniyle, yüksek taşıyıcılar dahil olmak üzere sağlıklı taşıyıcılarda antikorların varlığı mümkündür.

1.11 Antifungal ilaçlar ve etki mekanizmaları

Antifungal ilaçlar, mantar hücresinde farklı hedefler üzerinden antifungal etki gösterir. Klinik kullanımda olan başlıca antifungal ilaçların etki mekanızmaları, kimyasal yapılarına göre sınıflandırılarak Tablo 5'te ve şekil 4'te özetlenmiştir.



Şekil 11: Antifungal ilaçların etki mekanizmaları
(https://images.app.goo.gl/P22XzSsz2CXC6DEr7)

Çizelge 3: Klinik kullanımda olan başlıca antifungal ilaçların kimyasal yapılarına göre etki mekanizmaları (Selim ve ark 2015)

İlaç Sınıfı	İlaç(lar)	Etki mekanizması
Ekinokandinler	Kaspofungin, anidulafungin, mikafungin	Glukan sentaz enzimini inhibe ederek mantar hücre duvarında bulunan glukan sentezi engeller
Polyenler	Amfoterisin B, nistatin	Mantar hücre membranında bulunan ergosterole bağlanarak hücre membranında porlar açılmasına ve hücrede bulunan esansiyel bilekşiklerin dışarıya akışı sonucunda mantar hücresinin ölümüne yol açar.
Antimetabolitler	Flusitozin	DNA, RNA ve sonuç olarak protein sentezini bozar
Azoller (İmidazoller ve triazoller)	Ketokonazol, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, posakonazol	Lanosterol demetilaz enzimini inhibe ederek ergosterol sentezini bozar
Alilaminler	Terbinafin, Amorolfin	Skualen epoksidaz enzimini inhibe ederek ergosterol sentezini engeller
Diğer	Grizeofulvin	Antimitotik etki gösterir

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklerin Toplanması

Selçuk Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 04/04/2019 tarih ve 14/03 sayılı kararı ile etik kurul onayı alındı. Çalışmaya, Şubat 2019-Şubat 2020 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde çeşitli kliniklerde yatarak tedavi gören sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonlarda etken olarak saptanan 87 *Candida* suşu ile *Candida albicans* ATCC 10231 standart suşu dahil edildi. *Candida* suşları, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda kan kültürü, trakeal aspirat, balgam, bronkoalveolar lavaj (BAL), beyin omurilik sıvısı (BOS), drenaj, kateter, yara, vajinal sürüntü, plevral sıvı ve periton sıvısı gibi çeşitli örneklerden izole edildi. Aynı hastaya ait kültürlerde saptanan suşlar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya alınan *Candida* suşları VITEK 2 Compact Sistem (Biomérieux, Fransa) ile tür düzeyinde tanımlandı. Suşların antifungal duyarlılık testleri ise VITEK-2 AST-YS01 kartları (Biomérieux, Fransa) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. Saf olarak izole edilen ve tanımlanan her bir *Candida* suşu boncuklu mikrobank saklama tüplerine alınarak -80°C'de saklandı. Suşların canlandırma işlemleri için, her bir mikrobank tüpünden birer boncuk alınarak Saboraud Dekstroz Agar besiyerine tek koloni ekimi yapıldı ve plaklar 30°C'de 48 saat inkübe edildi. Saboraud Dekstroz agardan alınan tek koloniler tekrar agar plağına tek koloni düşecek şekilde ekildi ve plaklar 30°C'de 48 saat inkübe edildi. Her bir plaktan morfolojisi düzgün tek koloni seçilerek çalışmalarda kullanıldı.

Kullanılan Araç ve Gereçler

Kullanılan Cihazlar

- Spektrofotometre (Colibri, Titertek Berthol, Almanya)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Fusion FXV, Vilber, Fransa)
- Analitik Hassas Terazi (SC-210, Daihan, Güney Kore)
- İnkübatör (IG-105 Thermostable, Daihan, Güney Kore)
- Çalkalamalı İnkübatör (IS-30, Daihan, Güney Kore)
- Kuru Blok Termostat (TDB-100, Biosan, Letonya)
- Vorteks (MX-S, Dragon Lab, Çin)

- Mikrodalga Fırın (MD674, Arçelik, Türkiye)
- Buz makinesi (IMS-50, Lab312, Çin)
- Su Banyosu (WB-22, Daihan, Güney Kore)
- Biyolojik Güvenlik Kabini-Class II (MSC-11A-120, Demair, Türkiye)
- PCR Cihazı (Proflex, Thermo Scientific, ABD)
- Mini Spin Santrifüj (D1008, Onilab, Çin)
- Mikrosantrifüj (CF-10, Daihan, Güney Kore)
- Soğutmalı Mikro Santrifüj (FC-5515R, Ohaus, ABD)
- Otoklav (Nüve StreamArt, ABD)
- Buzdolabı (ECO SCY550, Vestel, Türkiye)
- Buzdolabı (UES 400 IK, Uğur, Türkiye)
- Güç Kaynağı (POWERPRO300, Cleaver, İngiltere)
- Yatay Elektroforez Sistemi (MSCHOICE15 TRIO, Cleaver, İngiltere)
- Elisa Okuyucu (Multiskan, Thermo Scientific, ABD)
- Densitometre (DEN-1B, Biosan, Letonya)
- Laminar Flow Kabin (LN-120, Nüve, Türkiye)
- Derin dondurucu -80 ºC (DW-86L628, VWR Symphony, ABD)
- Vitek 2 Compact (Biomérieux, Fransa)
- Mikropipetler (Eppendorf, ABD)
- Elektroforez cihazı (Thermo scientific, OWL Easycast B2, ABD)

Kullanılan Besiyerleri ve Ticari Kitler

- Agar (Lab M, İngiltere)
- Sabouraud Dekstroz Agar (Lab M, İngiltere)
- Yeast Extract Peptone Dextrose Broth (Lab M, İngiltere)
- RPMI 1640 medium with L-glutamine and without sodium bicarbonate (Sigma, Almanya)
- VITEK 2 ID-YST (Biomérieux, Fransa)
- VITEK AST (Biomérieux, Fransa)

Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Etilen Diamin Tetra Asetik (EDTA) (Sigma, Almanya)

- Fenol (Sigma, Almanya)
- Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (Merck, Almanya)
- Kloroform (Merck, ABD)
- Primerler (Sentabiolab, Türkiye)
- 5x FIREPol Master Mix (Solis BioDyne, Estonya)
- Moleküler Ağırlık Standartı, DNA Ladder (50 bp) (Hibrigen, Türkiye)
- Moleküler Ağırlık Standartı, DNA Ladder (100 bp) (Solis BioDyne, Estonya)
- İzoamil Alkol (Tekkim, Türkiye)
- Tris-HCl (Goldbio, ABD)
- Tris-Base (Sigma, Almanya)
- Nukleaz İçermeyen Su (Thermo Fisher Scientific, Almanya)
- Etanol (Merck, Almanya)
- Proteinaz K (Sigma-Aldrich, ABD)
- Etidyum Bromür (Thermo Scientific, ABD)
- Agaroz (Bio Basic, ABD)
- Sodyum Klorür (NaCl) (Merck, Almanya)
- Glasiyel Asetik Asit (Merck, Almanya)
- Morpholinepropanesulfonic acid, MOPS (Sigma, Almanya)
- PBS tablet (Amresco, ABD)
- Kristal viyole (Merck, Almanya)

Yöntemler

Besiyerlerinin hazırlanması

Sabouraud dekstroz agar'ın (SDA) hazırlanması

Besiyerinin içeriği:
Pepton 10g/L
Dekstroz 40 g/L
Agar 12 g/L
pH 5.6±0.2

Toz besiyerinden 62 g tartıldı ve üzerine 1 L'ye tamamlayacak şekilde distile su eklenerek otoklavda 121ºC'de 15 dakika 1 atm basınçta sterilize edildi. 9 cm çapında

steril petri kaplarına kalınlığı 4 mm olacak şekilde 25'er ml dökülerek katılaşıncaya kadar bekletildi ve kullanılıncaya kadar +4ºC'de buzdolabında saklandı.

Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) sıvı besiyerinin hazırlanması

Besiyerinin içeriği:
Yeast Ekstrakt 10g/L
Tripton 20g/L
Glukoz 20 g/L
pH 6.5 ± 0.2

Toz besiyerinden 50 g tartıldı ve üzerine 1 L'ye tamamlayacak şekilde distile su eklenerek otoklavda 121ºC'de 15 dakika 1 atm basınçta sterilize edildi. Kullanılıncaya kadar +4ºC'de buzdolabında saklandı.

VITEK-2 Compact Sistem ile Tanımlama ve Antifungal Duyarlılık Tespiti

İzole edilen maya mantarlarının tanımlanmasın ve antifungal duyarlılık tespiyi VITEK-2 Compact Sistem ile yapıldı. Tanımlama için VITEK-2 ID YST (bioMérieux, Fransa) kartları kullanılırken, antifungal duyarlılık testi için VITEK-2 AST-YS01 (bioMérieux, Fransa) kartı kullanıldı. VITEK-2 ID YST kartları ile biyokimyasal özelliklerine göre 50'ye yakın maya türü tanımlanmaktadır.

SDA'da üreyen 24-48 saatlik maya kolonilerinden steril öze ile alındı. Polistiren tüpte 3 ml salin süspansiyon sıvısı içerisinde karıştırılarak bioMérieux Densi Chek ile bulanıklığı 2 McFarland olacak şekilde inokulum süspansiyonu hazırlandı ve VITEK-2 ID YST kartlarına dağıtılarak cihaza yerleştirildi. Antifungal duyarlılık tespitinde tanımlama için hazırlanan inokulum süspansiyonundan 280 µl alınarak 3 ml salin içerisine aktarıldı ve VITEK-2 AST-YS01 antifungal duyarlılık kartlarına dağıtıldıktan sonra cihaza yerleştirildi. 18 saat inkübasyondan sonra cihazdan sonuçlar alındı. Tanımlama yapıldı ve suşların Amfoterisin B, Flukonazol, Vorikonazol, Flusitozin ve Kaspofungin Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIK) sonuçları değerlendirildi.

Kullanılan solüsyonların hazırlanması

Parçalama tamponu (lizis tamponu) (100 ml)

TRIS 10 mM

EDTA 10 mM

NaCl 50 mM

SDS % 2

Proteinaz K 200 µg/ml alınarak distile su ile 500 ml'ye tamamlandı. pH 8.0'e ayarlandı ve +4 ºC'de buzdolabı ısısında saklandı.

Proteinaz-K (100 mg/ml)

100 mg Proteinaz-K (Sigma, ABD) 1 ml steril distile su ile çözülerek buzdolabında -20 °C'de saklandı.

Fenol-kloroform-izoamil alkol (25:24:1) solüsyonu

Fenol 25 ml

Kloroform 24 ml

İzoamil alkol 1 ml alınarak koyu bir cam şişe içerisinde buzdolabında +4 ºC'de saklandı.

Kloroform-izoamil alkol (24:1) solüsyonu

Kloroform 24 ml

İzoamil alkol 1 ml alınarak sonra koyu bir cam şişe içerisinde buzdolabında +4 ºC'de saklandı.

%70'lik etil alkol

Etil alkol (Absolute) 70 ml

Steril distile su 30 ml alınarak buzdolabında +4 ºC'de saklandı.

Tris-EDTA (TE) tamponu

Tris-HCI 10 mM

EDTA 1 mM alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. pH 8.0'e ayarlandı ve +4 ºC'de buzdolabı ısısında saklandı.

50X Tris-Asetik asit-EDTA (TAE) tamponu

Tris-Base 242 g

$Na_2EDTA.2H_2O$ 37.2 g

Glasiyel Asetik Asit 57.1 ml alınarak otoklavlanmış distile su ile üzeri 1L'ye tamamlandı. pH 8.0' e ayarlanarak oda ısısında saklandı.

DNA İzolasyonu

Örneklerden DNA izolasyonu için Fenol-Kloroform-İzoamilalkol (FKI) saflaştırma yöntemi kullanıldı. Bu yönteme göre;

1. 100 µl serum fizyolojik bulunan steril ependorf tüpüne, SDA besiyerinde 72 saatte üretilmiş saf maya kolonisinden öze ile alınarak iyice karıştırıldı.
2. Üzerine 10 µl Proteinaz K (100 mg/ml) ve 100 µl parçalama tamponu eklendi ve 65 ºC'de 2 saat inkübe edildi.
3. Daha sonra 95ºC'de 5 dakika bekletilerek proteinaz K denatüre edildi.
4. Tüpler 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
5. DNA içeren üst sıvı, çökeleğe dokunmadan temiz tüpe alındı.
6. DNA içeren üst sıvı üzerine 150 µl FKI (25:24:1) eklendi ve vortekslendikten sonra 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek üst sıvı dipteki bulanık çökeltiye dokunmadan, tekrar temiz tüplere alındı.
7. Üzerine 200 µl kloroform-izoamilalkol (KI) (24:1) eklendi ve vortekslendikten sonra 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek üst sıvı protein katmanına dokunmadan temiz tüplere alındı.
8. Daha sonra alınan her 50 µL üst sıvı için 125 µl (1:2.5) %100'lük etil alkol eklendi.
9. Tüpler DNA'nın çöktürülmesi için 14.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi.
10. Üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra çöken DNA üzerine 200 µl %70'lik etil alkol eklendi.
11. Tüpler 14.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve kurumaya bırakıldı.
12. Çökelti kuruduktan sonra 30 µl Tris ve EDTA (TE) örnek çözme tamponu eklendi.
13. Tüm DNA örnekleri, +4 °C de bir hafta, -20 °C'de veya -80° C'de 6 ay saklandı.

Spektrofotometre (Colibri, Titertek Berthol, Almanya) ile elde edilen DNA'ların konsantrasyon ve A260/A280 oranları ölçüldü.

Candida Türlerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Tanımlanması

Candida türlerinin tanımlanması amacıyla Trost ve ark.'ları ve Carvalho ve ark.'ları tarafından geliştirilen evrensel ve tür spesifik primerler kullanıldı. Çalışmada kullanılan primerlerin listesi Çizelge 5'te verildi.

Çizelge 4: Çalışmada kullanılan primerlerin listesi

Türler	**Primer adı**	**Primer Dizileri (5'- 3')**	**Amplikon boyutu (bp)**
Mayalara özgü evrensel primerler	UNI 1 UNI 2	GTCAAACTTGGTCATTTA TTCTTTTCCTCCGCTTATTG	Trost ve ark., 2004
C. albicans	Calb	AGCTGCCGCCAGAGGTCTAA	583/446
C. dubliniensis	Cdub	TTGTCTGAGCTCGGAGAGAG	591/217
C. glabrata	Cgla	CTGGCCGAGCGAACTAGACT	929/839
C. guilliemondii	Cgui	GATTTGCTTAATTGCCCCAC	668/512
C. krusei	Ckru	GTCAACCGATTATTTAATAG	590/169
C. lusitanae	Clus	TTGGCCTAGAGATAGGTTGG	433/329
C. tropicalis	Ctro	TTCGGAGCAACGCCTAACCG	583/507
C. parapsilosis	Cpar	CTCAAACCCCTAGGGTTTGG	570/370

PZR reaksiyon karışımı

Her bir örnek için numaralandırılmış steril 0.2 ml'lik PZR tüplerine, DNA örneğinden 1 µl eklendikten sonra hazırlanan PZR reaksiyon karışımı 19 µl dağıtıldı ve spin santrifüj yapıldıktan sonra ısı döngü cihazına (Proflex, Thermo Scientific, ABD) yerleştirildi.

Amplifikasyon karışımı (1X için)

Primer UNI 1, UNI2 (10 pmol)	0.6 µl (her biri)
Primer Calb, Cdub, Cgla, Cgui, Ckru, Clus, Ctro, Cpar (10 pmol)	0.6 µl (her biri)
5x FIREPol Master Mix (Solis BioDyne)	4 µl
Nükleaz İçermeyen Su	9 µl
DNA	1 µl

Amplifikasyon şartları

Evrensel ve tür spesifik primerler ile yapılan Multipleks PZR amplifikasyon koşulları çizelge 1'de verildi.

Multipleks PZR için optimize edilmiş reaksiyon koşulları

Reaksiyon aşaması	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
Ön Isıtma	95 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	30
Primer Bağlanması	52 °C	1 dakika	
Uzama	72 °C	40 saniye	
Son Uzama	72 °C	5 dakika	1
Saklama	4°C		

Agaroz Jel Hazırlanması ve Örneklerin Yüklenmesi

Çalışmada kullanılmak üzere stok olarak hazırlanan 50X TAE tamponu, 1X olacak şekilde seyreltildi. %1.5'lik agaroz jel hazırlamak için 1.5 gr agaroz (Bio Basic, ABD) tartılarak bir erlene alındı ve üzerine 100 ml 1X TAE tamponu eklendi. Erlen

mikrodalga fırında 2-3 dakika boyunca kaynatıldıktan sonra biraz soğutuldu ve 3 µl etidyum bromür (10 mg/ml) (Thermo Scientific, ABD) eklendi. Hafifçe çalkalanan sıvı agaroz jel kasete dökülerek ve uygun boyutta tarak yerleştirildi. Jelin 20 dakika donması beklendi. Donmuş jel, içi belli bir seviyeye kadar 1 X TAE tampon ile dolu olan elektroforez tankına alındı ve tarak çıkarıldı.

Jelin ilk kuyucuğuna moleküler ağırlık standartı (100 bp) (Solis BioDyne, Estonya), diğer kuyucuklara ise PZR ürünlerinden 10'ar µl alınarak yüklendi. PZR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde 100V, 60 dk. yürütüldü ve kemilüminesan jel görüntüleme sistemi (Fusion FXV, Vilber, Fransa) ile görüntülendi. Elde edilen sonuçlar, moleküler ağırlık standartı ile karşılaştırılarak incelendi ve görüntüler kaydedildi.

Candida albicans Suşlarında Biyofilm Oluşumunun Mikroplak Yöntemi ile Araştırılması

Candida albicans suşlarında biyofilm oluşumu, Thein ve arkadaşları ve Stepanovic ve ark.'larının çalışma protokolünde bazı değişiklikler yapılarak düz tabanlı 96 kuyucuklu mikroplaklarda gerçekleştirildi. *Candida albicans* suşları SDA'a (Lab M, İngiltere) tek koloni ekilerek 37 ºC 24 saat inkübe edildi. Daha sonra oluşan koloniler Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YPD) sıvı besiyerine (Lab M, İngiltere) ekilerek, 30 ºC 18 saat 120 rpm'de çalkalamalı etüvde inkübe edildi. Tüpler 4 ºC 4500 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Üst kısım atıldı. Pelet üç kez 1x PBS (steril, pH 7.2) ile yıkandı. Pelletten, RPMI 1640-MOPS besiyerinde (Sigma, Almanya) (pH 7) densitometre (Biosan, Letonya) ile 0.5 Mcfarland (10^7 hücre ml) standart süspansiyonu hazırlandı. Her bir *Candida albicans* suşu için 3 mikroplaka kuyucuğuna 200 µl 0.5 Mcfarland maya süspansiyonundan konuldu ve hücre adezyonunun oluşması için 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Biyofilm oluşumu için, her kuyucuğa 200 µl RPMI-1640 MOPS besiyeri eklendi, mikroplaka 37 ºC'de 24 saat süreyle inkübe edildi. Biyofilm oluşumunu değerlendirmek için besiyeri aspire edildi ve her mikroplaka PBS (Amresco, ABD) ile iki kez yıkandı ve 60 °C'de 30 dakika kurutuldu.

Biyofilm, 50 µl %1 (w / v) kristal viyole solusyonu (Merck, Almanya) ile 30 dakika inkübe ederek boyandı. Mikroplaka PBS ile yıkandıktan sonra 150 µl etanol (Merck, Almanya) eklenerek biyofilmden kristal viyole solusyonu uzaklaştırıldı. Absorbans, Elisa Okuyucu (Multiskan, Thermo Scientific, ABD) kullanılarak 590

nm'de ölçüldü. Stepanovic ve ark.'larının sınıflandırmasında bazı değişiklikler yapılarak test edilen izolatlar, absorbans değerlerine göre, biyofilm üretimi biyofilm yok, zayıf biyofilm, orta düzey biyofilm ve güçlü biyofilm olarak dört kategoride sınıflandırıldı (Çizelge 2) (Thein ve ark 2007, Salari ve ark 2018, Stepanović ve ark 2007, Roscetto ve ark 2018).

Çizelge 5: Biyofilmin Oluşumunun Değerlendirilmesi

Değerler	Biyofilm derecesi
OD < ODk	biyofilm yok
ODk < OD ≤ 2 x ODk	zayıf biyofilm
2 x ODk < OD ≤ 4 x ODk	orta düzey biyofilm
4 x ODk < OD	güçlü biyofilm

OD = Optik Dansite

ODk = negatif kontrolün ortalama OD'si + (negatif kontrolün 3 x Standart sapması)

OD = bir suşun ortalama OD'si – Odk

***Candida albicans* suşlarında Salgısal Asit Proteinaz (SAP) 1-10 Geni Varlığının PZR ile Araştırılması**

Candida albicans suşlarında SAP 1-10 geni varlığının araştırılması amacıyla Naglik ve ark.'ları tarafından geliştirilen *C. albicans*'a özgü primerler kullanıldı. Çalışmada kullanılan primerlerin listesi Çizelge 7'de verildi.

Çizelge 6: Çalışmada kullanılan *C. albicans*'a SAP özgü primerlerin listesi

Gen	Forward (5'–3')	Reverse (5'–3')
SAP1	TTTCATCGCTCTTGCTATTGCTT	TGACATCAAAGTCTAAAGTGACAAAACC
SAP2	TCCTGATGTTAATGTTGATTGTCAAG	TGGATCATATGTCCCCTTTTGTT
SAP3	GGACCAGTAACATTTTTATGAGTTTTGAT	TGCTACTCCAACAACTTTCAACAAT
SAP4	CAATTTAACTGCAACAGGTCCTCTT	AGATATTGAGCCCACAGAAATTCC
SAP5	CATTGTGCAAAGTAACTGCAACAG	CAGAATTTCCCGTCGATGAGA
SAP6	CCTTTATGAGCACTAGTAGACCAAACG	TTACGCAAAAGGTAACTTGTATCAAGA
SAP7	ATGGACACAGTGTGAAATATGAAGTG	TCAGTGGAGGATGGACCATTAGA
SAP8	TCTCAAGAAATTATCCCCCAAAATA	TCGGTTCCATTATCAGAATTTGTTC
SAP9	ATTTACTCCACAGTTTATATCACTGAAGGT	CCACCAGAACCACCCTCAGTT
SAP10	CCCGGTATCCAATAGAATCGAA	TCAGTGAATGTGACGAATTTGAAGA

PZR reaksiyon karışımı

Her bir örnek için numaralandırılmış steril 0.2 ml'lik PZR tüplerine, DNA örneğinden 1 µl eklendikten sonra hazırlanan PZR reaksiyon karışımı 19 µl dağıtıldı ve spin santrifüj yapıldıktan sonra ısı döngü cihazına (Proflex, Thermo Scientific, ABD) yerleştirildi.

Amplifikasyon karışımı (1X için)

Primer Forward (10 pmol)	0.6 µl
Primer Reverse (10 pmol)	0.6 µl
5x FIREPol Master Mix (Solis BioDyne)	4 µl
Nükleaz İçermeyen Su	13.8 µl
DNA	1 µl

Amplifikasyon şartları

C. albicans'a özgü SAP 1-10 primerlerİ ile yapılan PZR amplifikasyon koşulları çizelge 8'de verildi.

Çizelge 7 : PZR için optimize edilmiş reaksiyon koşulları

Reaksiyon aşaması	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
Ön Isıtma	95 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	30
Primer Bağlanması	52 °C	1 dakika	
Uzama	72 °C	40 saniye	
Son Uzama	72 °C	5 dakika	1
Saklama	4°C		

Agaroz Jel Hazırlanması ve Örneklerin Yüklenmesi

Yukarıda daha önce bahsedildiği şekilde %1.5'lik agaroz jel hazırlandı ve 3 µl etidyum bromür (10 mg/ml) (Thermo Scientific, ABD) eklendi. Jelin ilk kuyucuğuna moleküler ağırlık standartı (50 bp) (Hibrigen, Türkiye), diğer kuyucuklara ise PZR ürünlerinden 10'ar µl alınarak yüklendi. PZR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde 100V, 60 dk. yürütüldü ve kemilüminesan jel görüntüleme sistemi (Fusion FXV, Vilber, Fransa) ile görüntülendi. Elde edilen sonuçlar, moleküler ağırlık standartı ile karşılaştırılarak incelendi ve görüntüler kaydedildi.

ITS1 ve ITS 2 Gen Bölgesinin DNA dizi analizi

VITEK ve Multipleks PZR sonuçları uyumsuz olan örneklere tür tanımının doğrulanması amacıyla DNA dizi analizi yapıldı. ITS 1 ve ITS 2 gen bölgesinin amplifikasyonu için Trost ve ark.'ları tarafından geliştirilen, tablo 5'te verilen UNI 1 ve UNI 2 evrensel primerler kullanıldı.

PZR reaksiyon karışımı

Her bir örnek için numaralandırılmış steril 0.2 ml'lik PZR tüplerine, DNA örneğinden 1 µl eklendikten sonra hazırlanan PZR reaksiyon karışımı 19 µl dağıtıldı ve spin santrifüj yapıldıktan sonra ısı döngü cihazına (Proflex, Thermo Scientific, ABD) yerleştirildi.

Amplifikasyon karışımı (1X için)

Primer UNI 1 (10 pmol)	0.6 µl (her biri)
Primer UNI 2 (10 pmol)	0.6 µl (her biri)
5x FIREPol Master Mix (Solis BioDyne)	4 µl
Nükleaz İçermeyen Su	9 µl
DNA	1 µl

Amplifikasyon şartları

UNI1 ve UNI2 evrensel primerleri ile yapılan PZR amplifikasyon koşulları çizelge 9'da verildi.

Çizelge 8: PZR için optimize edilmiş reaksiyon koşulları

Reaksiyon aşaması	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
Ön Isıtma	95 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	30
Primer Bağlanması	45 °C	1 dakika	
Uzama	72 °C	40 saniye	
Son Uzama	72 °C	5 dakika	1
Saklama	4°C		

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında %1.5'lik agaroz jelde bant görülen PZR ürünleri DNA dizi analizi için ticari bir firmaya (Macrogen, Hollanda) gönderildi. Macrogen Laboratuvarları'nda PZR ürünleri High Prep PCR Clean Up System (MagBio Genomics, ABD) kiti kullanılarak, üretici firma önerileri doğrultusunda saflaştırıldı.

Saflaştırılmış olan amplifikasyon ürünlerinin DNA dizi analizi reaksiyonu, BigDye® Terminator V3.1 Cycle Sequencing DNA dizi analizi kitinin kullanım önerileri doğrultusunda hem forward hem de reverse primer (UNI1, UNI2) ile iki yönlü olarak ABI 3730XL Sanger Dizileme Cihazında (Applied Biosystems, ABD) yapıldı.

DNA dizileri National Center for Biotechnology Information (NCBI, Bethesda, Md., ABD) Genbank nükleotit veri tabanındaki "https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast" dizilerle Basic Local Alignment (BLAST) kullanılarak karşılaştırıldı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde, IBM SPSS® 21.0 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanıldı. Veriler özetlenirken, kategorik değişkenler, n (%) olarak belirtildi. Kategorik değişkenlerin analizinde ki-kare ($\chi 2$) testi kullanıldı. Yöntemler (VITEK 2 ile Multipleks PZR) arasındaki uyum, Ağırlıklı Kappa (κ) katsayısı ile araştırıldı. $\kappa<0.20$ önemsiz uyum, $\kappa=0.21–40$ zayıf uyum, $\kappa=0.41–0.60$ orta derece uyum, $\kappa=0.61–0.80$ iyi derecede uyum, $\kappa=0.81–1.00$ ise mükemmel uyum olarak kabul edildi. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmaya, Şubat 2019-Şubat 2020 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde çeşitli kliniklerde yatan ve sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonu olan hastalardan etken olarak izole edilen 87 *Candida* suşu ile *Candida albicans* ATCC 10231 standart suşu dahil edildi.

Candida suşlarının 44'ü kan, 13'ü balgam, 6'sı aspirat, 5'i bronkoalveolar lavaj (BAL), 4'ü periton sıvısı, 4'ü yara, 3'ü drenaj, 2'si Beyin omurilik sıvısı (BOS), 2'si plevral sıvı, 2'si katater, 2'si vajinal sürüntüden izole edildi. *Candida* suşlarının izole edildikleri örneklere göre dağılımı Çizelge 10' da verildi.

Çizelge 9: *Candida* suşlarının izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımı

Örnekler	**Sayı (%)**
Kan	44 (%50.6)
Trakeal Aspirat	6 (%6.9)
Balgam	13 (%14.9)
BAL	5 (%5.7)
BOS	2 (%2.3)
Drenaj	3 (%3.4)
Kateter	2 (%2.3)
Periton	4 (%4.6)
Plevral sıvı	2 (%2.3)
Yara	4 (%4.6)
Vajinal Sürüntü	2 (%2.3)
Toplam	**87 (%100)**

Çalışmaya dahil edilen *Candida* suşları en sık Anestezi Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi'ne (%20.7) ait örneklerden izole edildi. Ayrıca sıklık sırasına göre suşların %16.1'i Göğüs Hastalıkları Servisi'ne, %8'i Nefroloji Servisi'ne, %6.9'u Hematoloji Servisi'ne, %6.9'u Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi'ne ve %41.3'ü ise diğer poliklinik ve servislere ait klinik örneklerden izole edildi. Suşların izole edildikleri kliniklere göre dağılımı Çizelge 11'de verildi.

Çizelge 10: Candida suşlarının izole edildikleri kliniklere göre dağılımı

Klinik	Sayı (%)
Alerji İmmünoloji Polikliniği	1 (% 1.1)
Anestezi Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	18 (% 20.7)
Beyin Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi	4 (% 4.6)
Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	6 (% 6.9)
Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	5 (% 5.5)
Gastroenteroloji Servisi	3 (% 3.4)
Göğüs Hastalıkları Servisi	14 (% 16.1)
Genel Cerrahi Servisi	4 (% 4.6)
Hematoloji Servisi	6 (% 6.9)
İç Hastalıkları Servisi	5 (% 5.5)
Kalp ve Damar Cerrahisi Yoğun Bakım Ünitesi	1 (% 1.1)
Kulak Burun Boğaz Servisi	1 (% 1.1)
Nefroloji Servisi	7 (% 8.0)
Nöroloji Servisi	2 (% 2.3)
Palyatif Yoğun Bakım Ünitesi	1 (% 1.1)
Onkoloji Servisi	5 (%5.5)
Yeni Doğan Yoğun Bakım Ünitesi	5 (%5.5)
Toplam	87 (%100)

Çalışmaya dahil edilen 87 suşun 52'si (%59.8) erkek, 35'i (%40.2) ise kadın hastalardan izole edildi. Hastaların yaşlarının 1-89 yaş arasında değiştiği ve yaş ortalamalarının 52.87 ± 26.08 (medyan=62) olduğu belirlendi. Hastaların klinik ve epidemiyolojik bulguları ise Çizelge 12'de verildi.

Çizelge 11: Çalışmaya dahil edilen örneklerin yaş, cinsiyet, örnek ve altta yatan hastalık dağılımı

No	VITEK	Yaş	Cinsiyet	Örnek	Servis	Tanı
1	*C. albicans*	82	E	Balgam	Nefroloji Servisi	Prostat Kanseri
2	*C. albicans*	73	E	Kan	Nefroloji Servisi	Böbrek Yetmezliği
3	*C. albicans*	69	K	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Kalp Yetmezliği
4	*C. albicans*	68	E	Balgam	Hematoloji Servisi	Lösemi
6	*C. albicans*	82	K	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Böbrek Yetmezliği
9	*C. albicans*	9	K	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Kardiyak Arrest
10	*C. albicans*	74	E	Yara	Hematoloji Servisi	Lenfoma
11	*C. albicans*	4	E	Kan	Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	Gastrostomi
12	*C. albicans*	71	K	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Kalp Yetmezliği
13	*C. albicans*	73	E	Kan	Beyin Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi	Solunum Yetmezliği
14	*C. albicans*	78	E	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Solunum Yetmezliği
15	*C. albicans*	73	K	Kan	Beyin Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi	Venöz Emboli
16	*C. albicans*	48	K	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Kardiyak Arrest
17	*C. albicans*	88	E	Kan	Palyatif Yoğun Bakım Ünitesi	Venöz Emboli
18	*C. albicans*	36	K	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Mide Malign Neoplazmı
19	*C. albicans*	1	E	Kan	Yeni Doğan Yoğun Bakım Ünitesi	Menenjit
21	*C. albicans*	50	E	Kan	Nefroloji Servisi	Böbrek Yetmezliği
22	*C. albicans*	52	E	Kan	Gastroenteroloji Servisi	Periton Malign Neoplazmı

24	*C. albicans*	48	K	Kan	Onkoloji Servisi	Meme Malign Neoplazmı
26	*C. albicans*	75	K	Kan	Hematoloji Servisi	Lösemi
27	*C. albicans*	1	E	Kan	Kalp ve Damar Cerrahisi Yoğun Bakım Ünitesi	Kalp Yetmezliği
28	*C. albicans*	68	E	Drenaj	Onkoloji Servisi	Kolon Kanseri
29	*C. albicans*	50	E	Kan	Nefroloji Servisi	Böbrek Yetmezliği
30	*C. albicans*	57	K	Kan	İç Hastalıkları Servisi	Böbrek Yetmezliği
31	*C. albicans*	78	E	Yara	İç Hastalıkları Servisi	Böbrek Yetmezliği
32	*C. albicans*	71	K	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Kolostomi
61	*C. albicans*	63	K	Plevral Sıvı	Göğüs Hastalıkları Servisi	Pnömoni
66	*C. albicans*	67	E	Balgam	Göğüs Hastalıkları Servisi	Akut Myeloid Lösemi
67	*C. albicans*	78	E	Balgam	Göğüs Hastalıkları Servisi	Pnömoni
72	*C. albicans*	66	E	Yara	Onkoloji Servisi	Malign Deri Neoplazmı
74	*C. albicans*	26	E	Periton Sıvısı	Nefroloji Servisi	Böbrek Yetmezliği
75	*C. albicans*	67	E	BAL	Nöroloji Servisi	Enfarktüs
76	*C. albicans*	30	K	BOS	Beyin Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi	Hidroansefali
80	*C. albicans*	63	E	Plevral sıvı	Göğüs Hastalıkları Servisi	Pnömoni
88	*C. albicans*	75	K	Drenaj	Gastroenteroloji Servisi	Pankreas Kanseri
94	*C. albicans*	62	E	Balgam	Göğüs Hastalıkları Servisi	Böbrek Yetmezliği
97	*C. albicans*	48	E	Balgam	Genel Cerrahi Servisi	Akut Myeloid Lösemi
99	*C. albicans*	43	E	Balgam	Göğüs Hastalıkları Servisi	Kardiyak Arrest
100	*C. albicans*	42	E	Trakeal Aspirat	Göğüs Hastalıkları Servisi	Pnömoni

102	*C. albicans*	65	K	Trakeal Aspirat	Kulak Burun Boğaz Servisi	Özofajit
36	*C. kefyr*	45	E	Kan	Beyin Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi	Menenjit
93	*C. dubliniensis*	15	E	Balgam	Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	Gastrostomi
33	*C. glabrata*	79	E	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Mesane Malign Neoplazmı
39	*C. glabrata*	61	E	Kan	İç Hastalıkları Servisi	Böbrek Yetmezliği
43	*C. glabrata*	24	K	Vajinal Sürüntü	Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	Kandidiyazis
44	*C. glabrata*	74	K	Balgam	Göğüs Hastalıkları Servisi	Pnömoni
46	*C. glabrata*	42	K	Vajinal Sürüntü	Onkoloji Servisi	Meme Malign Neoplazmı
49	*C. glabrata*	1	K	Kan	Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi	İmmatürite
50	*C. glabrata*	61	K	Balgam	İç Hastalıkları Servisi	Böbrek Yetmezliği
51	*C. glabrata*	1	K	Kan	Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi	İmmatürite
52	*C. glabrata*	66	E	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Pnömoni
69	*C. glabrata*	78	E	Balgam	Göğüs Hastalıkları Servisi	Akut Myeloid Lösemi
73	*C. glabrata*	70	E	Periton Sıvısı	Onkoloji Servisi	Safra Yolu Malign Neoplazmı
95	*C. glabrata*	63	E	Balgam	Onkoloji Servisi	Lösemi
63	*C. glabrata*	80	E	BAL	Nefroloji Servisi	Böbrek Yetmezliği
87	*C. glabrata*	48	K	Periton Sıvısı	Göğüs Hastalıkları Servisi	Pnömoni
56	*C. guilliemondii*	76	E	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Kolostomi
71	*C. guilliemondii*	69	E	Yara	Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	Apse
58	*C. guilliemondii*	1	K	Katater	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Karaciğerin Konjenital Malformasyonu
70	*C. krusei*	62	E	Periton Sıvısı	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Karaciğer Nakli

78	*C. krusei*	37	E	BAL	Genel Cerrahi Servisi	Apendisit
35	*C. krusei*	49	K	Kan	Hematoloji servisi	Lenfoma
81	*C. krusei*	61	E	Trakeal Aspirat	Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	Pnömoni
82	*C. krusei*	61	E	BAL	Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	Tüberküloz
83	*C. krusei*	71	E	Trakeal Aspirat	Göğüs Hastalıkları Servisi	Pnömoni
62	*C. lusitanae*	41	K	BAL	Göğüs Hastalıkları Servisi	Akut Myeloid Lösemi
65	*C. lusitanae*	3	K	Kan	Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	Böbrek Yetmezliği
34	*C. parapsilosis*	1	E	Kan	Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi	İmmatürite
37	*C. parapsilosis*	79	K	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Böbrek Yetmezliği
38	*C. parapsilosis*	1	E	Kan	Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	Böbrek Yetmezliği
40	*C. parapsilosis*	79	K	Kan	Nöroloji Servisi	Böbrek Yetmezliği
45	*C. parapsilosis*	53	K	Kan	Nefroloji Servisi	Böbrek Yetmezliği
53	*C. parapsilosis*	75	E	Kan	İç Hastalıkları Servisi	Böbrek Yetmezliği
77	*C. parapsilosis*	1	E	BOS	Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi	Menenjit
84	*C. parapsilosis*	71	E	Trakeal Aspirat	Göğüs Hastalıkları Servisi	Akut Myeloid Lösemi
92	*C. parapsilosis*	1	K	Trakeal Aspirat	Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	Böbrek Yetmezliği
98	*C. parapsilosis*	1	K	Balgam	Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	Solunum Yetemzliği
59	*C. tropicalis*	42	K	Katater	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Kardiyak Arrest
41	*C. tropicalis*	64	E	Kan	Hematoloji Servisi	Lenfoma
42	*C. tropicalis*	60	K	Kan	Genel Cerrahi Servisi	Obezite
47	*C. tropicalis*	52	E	Kan	Hematoloji servisi	Lenfoma

48	*C. tropicalis*	89	E	Kan	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Pnömoni
54	*C. tropicalis*	65	E	Kan	Gastroenteroloji Servisi	Hepatit
55	*C. tropicalis*	88	E	Kan	Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	Pnömoni
57	*C. tropicalis*	71	K	Drenaj	Genel Cerrahi Servisi	Apendisit
64	*C. tropicalis*	39	E	Yara	Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi	Apse

VITEK-2 ile yapılan tür tanımlamasında, suşların 41'i (%48) *C. albicans*, 14'ü (%16) *C. glabrata*, 10'u (%12.6) *C. parapsilosis*, 9'u (%10.3) *C. tropicalis*, 6'sı (%6.9) *C. krusei*, 3'ü (%3.4) *C. guilliermondii*, 2'si *C. lusitaniae* (%2.3), 1'i (%1.15) C. *dubliniensis*, 1'i (%1.15) *C. kefyr* olarak tanımlandı. VITEK-2 ile tanımlanan *Candida* türleri ve örneklere göre dağılımı Çizelge 13'te verildi.

Çizelge 12: VITEK 2 ile tanımlanan Candida türleri ve örneklere göre dağılımı

	C. albicans	***C. glabrata***	***C. parapsilosis***	***C. tropicalis***	***C. krusei***	***C. guilliermondii***	***C. lusitaniae***	***C. dubliniensis***	***C. kefyr***
Kan	22	6	6	6	1	1	1		1
Trakeal Aspirat	2		2		2				
BAL	1	1	1		2		1		
Balgam	8	3						1	
BOS	1		1						
Drenaj	2			1					
Kateter				1		1			
Periton Sıvısı	1	2			1				
Plevral Sıvı	2								
Yara	2			1		1			
Vajinal Sürüntü		2							
Toplam	**41**	**14**	**10**	**9**	**6**	**3**	**2**	**1**	**1**

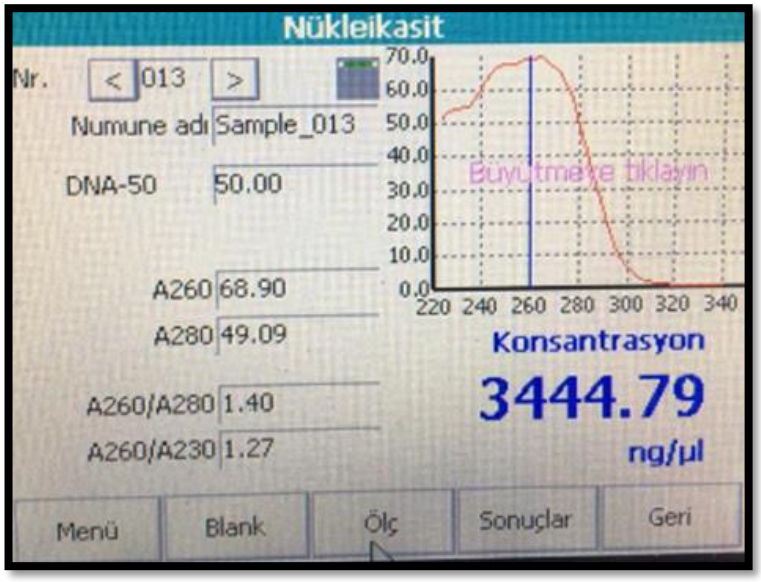
Spektrofotometre ile DNA Miktarı Ölçüm Sonuçları

Fenol Kloroform İzoamilalkol yöntemi ile elde edilen DNA'ların konsantrasyon ve A260/A280 oranları Spektrofotometre (Colibri, Titertek Berthol, Almanya) ile ölçüldü. Suşların PZR öncesi DNA miktarları Çizelge 14'te verildi.

Çizelge 13: Suşların PZR öncesi DNA Miktarları

Suş No	*Candida* türü	DNA miktarı (ng / µl)	Suş No	*Candida* türü	DNA miktarı (ng / µl)
1	*C. albicans*	298.56	**30**	*C. albicans*	363.15
2	*C. albicans*	226.91	**31**	*C. albicans*	497.50
3	*C. albicans*	655.10	**32**	*C. albicans*	3024.57
4	*C. albicans*	99.94	**61**	*C. albicans*	1241.41
6	*C. albicans*	219.26	**66**	*C. albicans*	2839.72
7	*C. albicans ATCC 10231*	3567.85	**67**	*C. albicans*	1319.84
9	*C. albicans*	524.44	**72**	*C. albicans*	2684.26
10	*C. albicans*	101.54	**74**	*C. albicans*	2222.74
11	*C. albicans*	400.46	**75**	*C. albicans*	558.10
12	*C. albicans*	2216.93	**76**	*C. albicans*	462.83
13	*C. albicans*	148.76	**80**	*C. albicans*	142.25
14	*C. albicans*	224.10	**88**	*C. albicans*	592.87
15	*C. albicans*	465.27	**94**	*C. albicans*	289.49
16	*C. albicans*	109.81	**97**	*C. albicans*	753.61
17	*C. albicans*	2959.61	**99**	*C. albicans*	589.60
18	*C. albicans*	121.72	**100**	*C. albicans*	707.61
19	*C. albicans*	3444.79	**102**	*C. albicans*	775.39
21	*C. albicans*	172.71	**36**	*C.kefyr*	539.77
22	*C. albicans*	183.37	**93**	*C. dubliniensis*	554.43
24	*C. albicans*	999.20	**33**	*C. glabrata*	362.09
26	*C. albicans*	169.28	**39**	*C. glabrata*	755.45
27	*C. albicans*	599.83	**43**	*C. glabrata*	2445.19

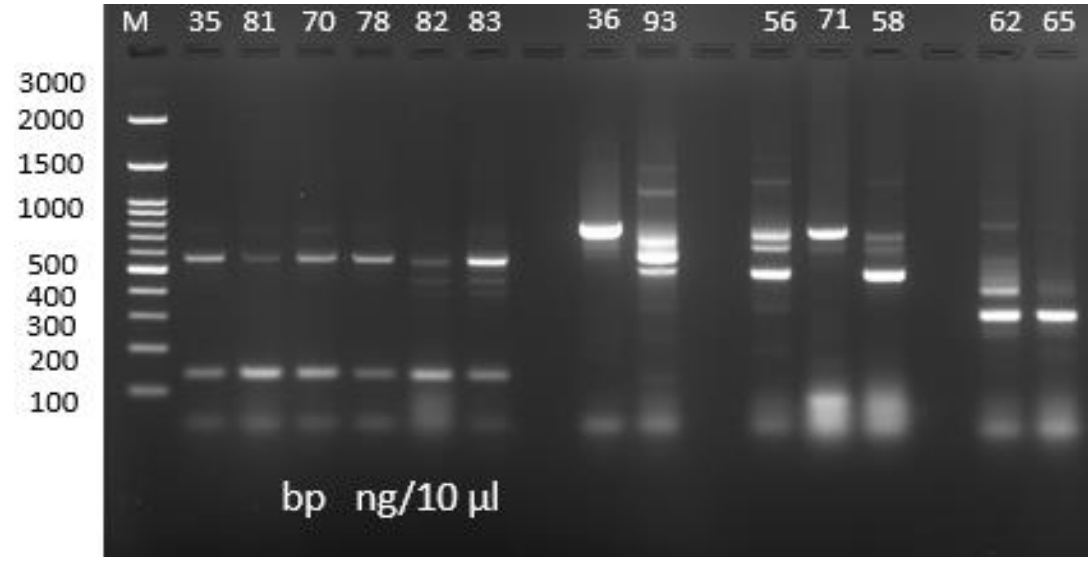
28	*C. albicans*	531.11	**44**	*C. glabrata*	309.14
29	*C. albicans*	430.63	**46**	*C. glabrata*	3203.58
49	*C. glabrata*	214.82	**98**	*C. parapsilosis*	308.58
50	*C. glabrata*	417.59	**56**	*C.guilliermondii*	687.11
51	*C. glabrata*	1731.85	**71**	*C.guilleirmondii*	110.90
52	*C. glabrata*	265.13	**58**	*C.guilleirmondii*	1753.51
69	*C. glabrata*	319.94	**70**	*C. krusei*	1064.21
73	*C. glabrata*	336.88	**78**	*C. krusei*	404.49
95	*C. glabrata*	474.49	**35**	*C. krusei*	233.45
63	*C. glabrata*	426.73	**81**	*C. krusei*	317.32
87	*C. glabrata*	511.74	**82**	*C. krusei*	120.37
62	*C. lusitanae*	312.72	**83**	*C. krusei*	114.04
65	*C. lusitanae*	2465.79	**59**	*C. tropicalis*	218.02
34	*C. parapsilosis*	2206.75	**41**	*C. tropicalis*	180.09
37	*C. parapsilosis*	2624.98	**42**	*C. tropicalis*	214.88
38	*C. parapsilosis*	214.68	**47**	*C. tropicalis*	141.32
40	*C. parapsilosis*	3444.79	**48**	*C. tropicalis*	163.46
45	*C. parapsilosis*	154.04	**54**	*C. tropicalis*	128.21
53	*C. parapsilosis*	201.14	**55**	*C. tropicalis*	181.92
77	*C. parapsilosis*	245.12	**57**	*C. tropicalis*	172.83
84	*C. parapsilosis*	1632.73	**64**	*C. tropicalis*	203.18
92	*C. parapsilosis*	1499.18	**88**	*C. albicans*	359.30



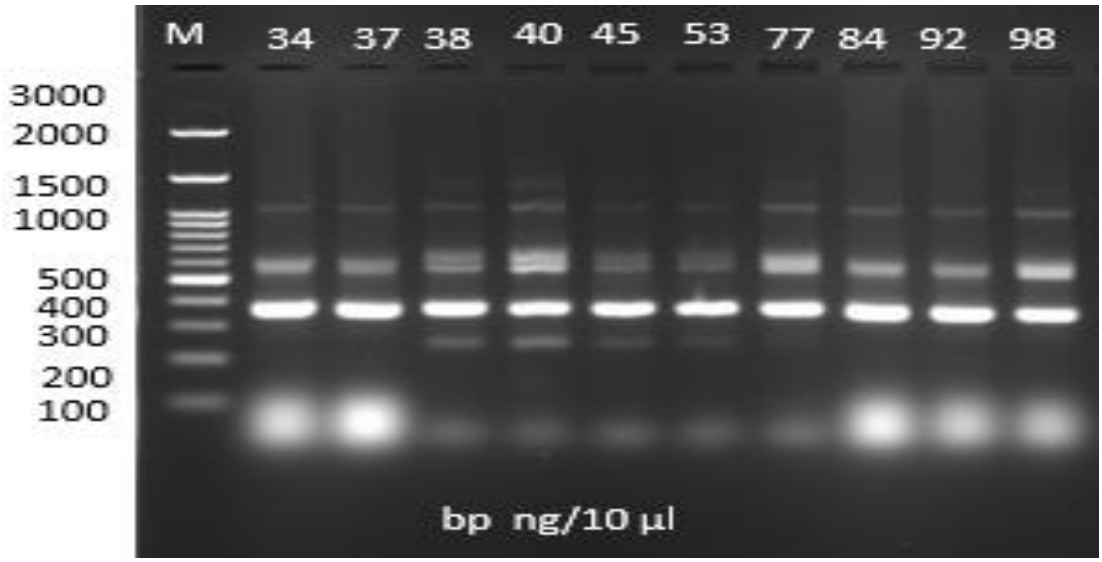
Şekil 12: (13-19) numaralı C. albicans suşunun Spektrofotometre ile DNA miktarı Ölçümü

Evrensel ve Türe Özgü Primerler ile Yapılan Multipleks PZR Sonuçları

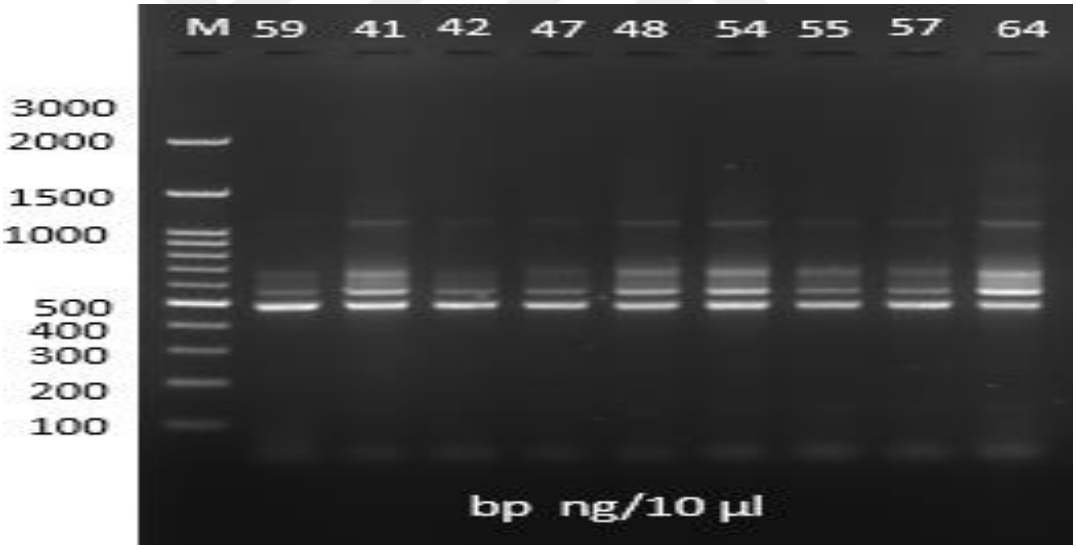
Candida türlerinin tanımlanması amacıyla evrensel ve tür spesifik primerler kullanılarak yapılan Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüleri Şekil 13-19'da verildi.



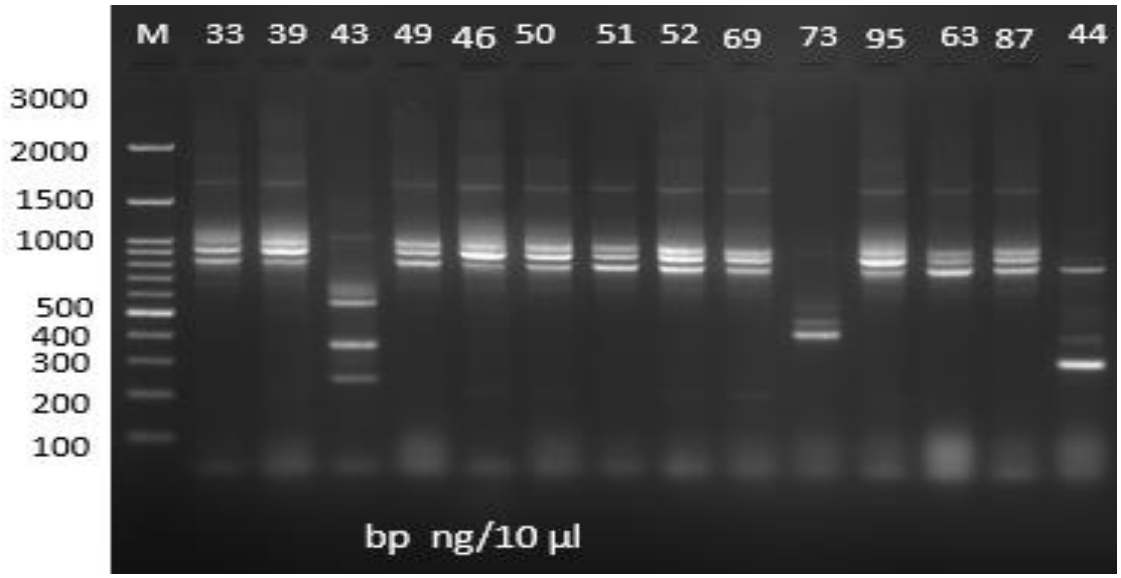
Şekil 13: Evrensel ve tür spesifik primerleri ile yapılan Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (100 bp), (35, 81, 70, 78, 82, 83) *C. krusei*, (93) *C. dubliniensis*, (56, 58) *C. guilliermondii*, (36,71) *C. kefyr*, (62, 65) *C. lusitaniae*.



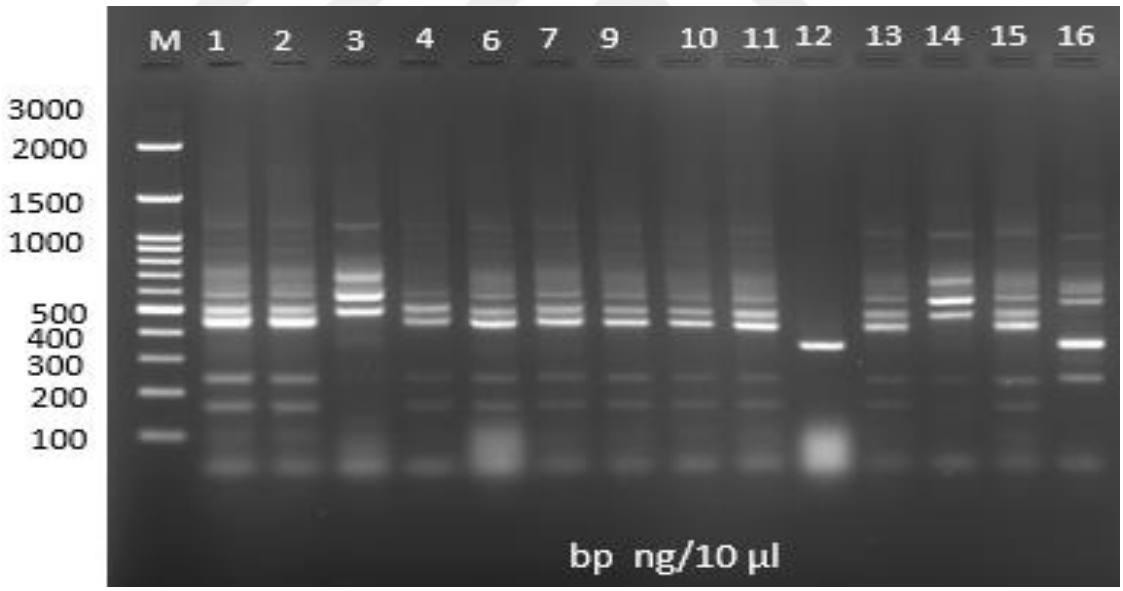
Şekil 14: Evrensel ve tür spesifik primerleri ile yapılan Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (100 bp), (34, 37, 38, 40, 45, 53, 77, 84, 92, 98) *C. parapsilosis*.



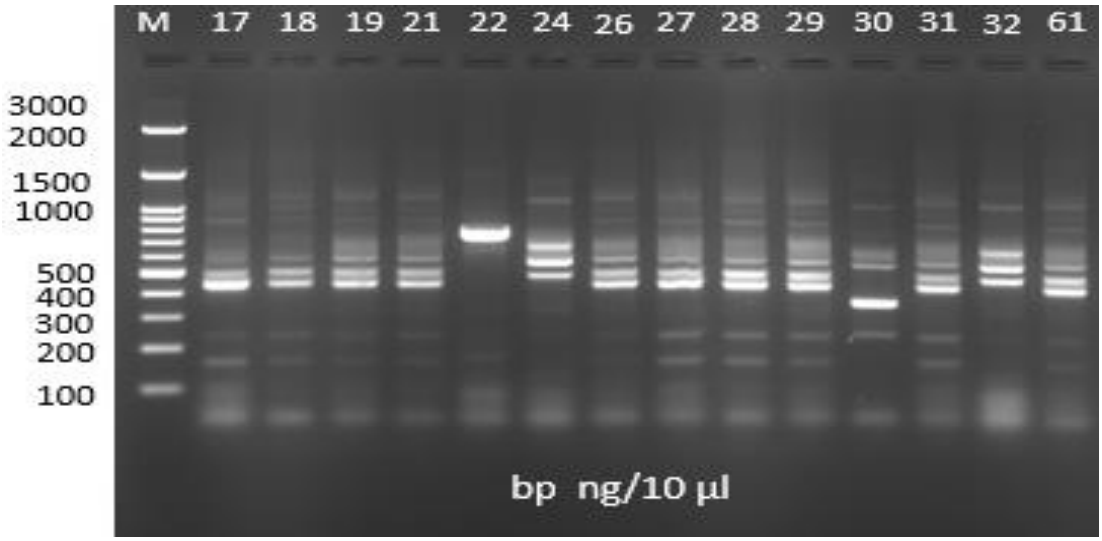
Şekil 15: Evrensel ve tür spesifik primerleri ile yapılan Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (100 bp), (59, 41, 42, 47, 48, 54, 55, 57, 64) *C. tropicalis.*



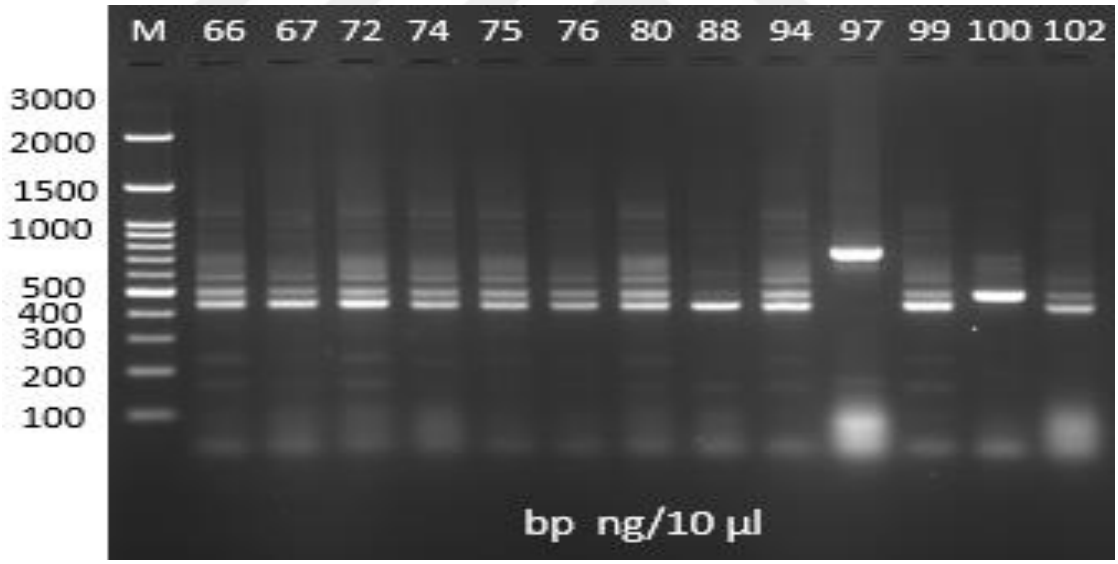
Şekil 16: Evrensel ve tür spesifik primerleri ile yapılan Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, M: moleküler ağırlık standartı (100 bp), (33, 39, 49, 46, 50, 51, 52, 69, 95, 63, 87) C. glabrata, (43, 44) C. parapsilosis, (73) C. tropicalis.



Şekil 17: Evrensel ve tür spesifik primerleri ile yapılan Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, M: moleküler ağırlık standartı (100 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 15) *C. albicans*, (3, 14) *C. tropicalis*, (12, 16) *C. parapsilosis.*



Şekil 18: Evrensel ve tür spesifik primerleri ile yapılan Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, M: moleküler ağırlık standartı (100 bp), (17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61) *C. albicans*, (22) *C. kefyr*; (24, 32) *C. tropicalis*, (30) *C. parapsilosis*.



Şekil 19: Evrensel ve tür spesifik primerleri ile yapılan Multipleks PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, M: moleküler ağırlık standartı (100 bp), (66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (97) *C. kefyr*, (100) *C. guilliermondii*.

VITEK-2 ile Multipleks PZR Yönteminin Karşılaştırılması

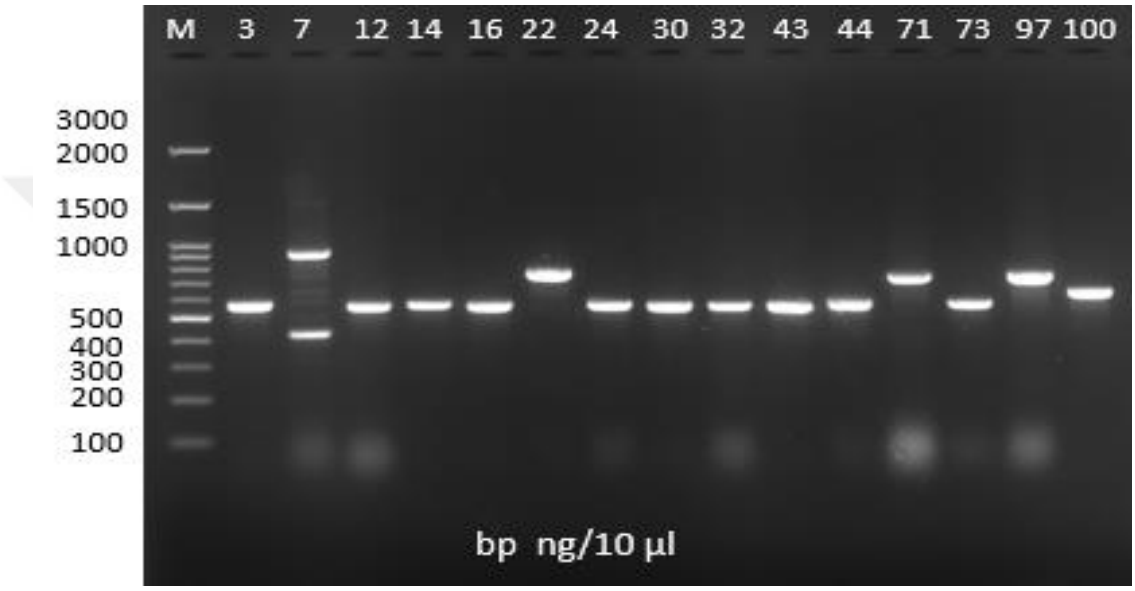
VITEK-2 ile, suşların 41'i (%48) *C. albicans*, 14'ü (%16) *C. glabrata*, 10'u (%12.6) *C. parapsilosis*, 9'u (%10.3) *C. tropicalis*, 6'sı (%6.9) *C. krusei*, 3'ü (%3.4) *C. guilliermondii*, 2'si *C. lusitaniae* (%2.3), 1'i (%1.15) C. *dubliniensis*, 1'i (%1.15) *C. kefyr* olarak tanımlandı. 41 *C. albicans* suşunun 31'i VITEK 2 ile doğru tanımlanırken, 10 suş yanlış tanımlandı. Multipleks PZR yöntemi ile 10 suşun, 4'ü *C. tropicalis*, 3'ü *C. parapsilosis*, 2'si *C. kefyr*, 1'i *C. guilliermondii* olarak tanımlandı. 14 *C. glabrata* suşunun 11'i VITEK 2 ile doğru tanımlanırken, 2 'si *C. parapsilosis* ve 1'i *C. tropicalis* suşu olmak üzere 3 suş yanlış tanımlandı. VITEK 2 ile *C. guillermondii* olarak tanımlanan 3 suştan 1'i Multipleks PZR yöntemi ile *C. kefyr* olarak identifiye edildi. VITEK 2 ile Multipleks PZR Yöntemi Sonuçları Çizelge 14'te verildi.

Çizelge 14: VITEK 2 ile Multipleks PZR Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması

VITEK 2		**Multipleks PZR**									**VITEK Yanlış Tanımlama (%)**
Tür	**Suş Sayısı**	***C. albicans***	***C. dubliniensis***	***C. glabrata***	***C. guilliermondii***	***C. kefyr***	***C. krusei***	***C. lusitaniae***	***C. parapsilosis***	***C. tropicalis***	
C. albicans	41	**31**	0	0	**1**	**2**	0	0	**3**	**4**	24.4 (10/41)
C. dubliniensis	1	0	**1**	0	0	0	0	0	0	0	0.0 (0/1)
C. glabrata	14	0	0	**11**	0	0	0	0	**2**	**1**	21.5 (3/14)
C. guilliermondii	3	0	0	0	**2**	**1**	0	0	0	0	33.3 (1/3)
C. kefyr	1	0	0	0	0	**1**	0	0	0	0	0.0 (0/1)
C. krusei	6	0	0	0	0	0	**6**	0	0	0	0.0 (0/6)
C. lusitaniae	2	0	0	0	0	0	0	**2**	0	0	0.0 (0/2)
C. parapsilosis	10	0	0	0	0	0	0	0	**10**	0	0.0 (0/10)
C. tropicalis	9	0	0	0	0	0	0	0	0	**9**	0.0 (0/9)
Total	87	31	1	11	3	4	6	2	15	14	16.1 (14/87)

ITS1 ve ITS 2 Gen Bölgesinin DNA dizi analizi için UNI1ve UNI2 primerleri ile yapılan PZR Sonuçları

VITEK ve Multipleks PZR sonuçları uyumsuz olan örneklere tür tanımının doğrulanması amacıyla DNA dizi analizi yapıldı. ITS 1 ve ITS 2 gen bölgesinin amplifikasyonu için UNI 1 ve UNI 2 evrensel primerleri kullanıldı. Macrogen Laboratuvarları'na DNA dizi analizi için gönderilen PZR ürünlerinin, PZR sonrası %1.5'lik agaroz jel görüntüsü şekil 20'de verildi.



Şekil 20 : UNI 1 ve UNI 2 evrensel primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü, M: moleküler ağırlık standartı (100 bp), (3,14,24,32,73) *C.tropicalis*(12,16,30,43,44) *C. parapsilosis*, (22, 71, 97) *C. kefyr*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı

VITEK ve Multipleks PZR sonuçları uyumsuz olan örneklerin DNA dizi analizi sonuçları Çizelge 16'da verildi. 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.

Çizelge 15: VITEK ve Multipleks PZR Sonuçları Uyumsuz Olan Örneklerin DNA dizi analizi sonuçları

Örnek No	Örnek	VITEK	DNA Dizi Analizi		
			Tanı	**BLAST Accession no**	**Identity %**
3	Kan	*C. albicans*	*Candida tropicalis*	HQ412611.1	522/522 (%100)
7	*C. albicans* ATCC 10231	*C. albicans*	*Candida albicans*	KF746425.1	531/531 (%100)
12	Kan	*C. albicans*	*Candida parapsilosis*	MH545914.1	514/514 (%100)
14	Kan	*C. albicans*	*Candida tropicalis*	CP047875.1	522/522 (%100)
16	Kan	*C. albicans*	*Candida parapsilosis*	MH545914.1	517/517 (%100)
22	Kan	*C. albicans*	*Candida kefyr*	KY103808.1	717/717 (%100)
24	Kan	*C. albicans*	*Candida tropicalis*	MT131391.1	501/501 (%100)
30	Kan	*C. albicans*	*Candida parapsilosis*	MH545914.1	513/513 (%100)
32	Kan	*C. albicans*	*Candida tropicalis*	HQ412611.1	519/519 (%100)
43	Vajinal	*C. glabrata*	*Candida parapsilosis*	MH545914.1	518/518 (%100)
44	Balgam	*C. glabrata*	*Candida parapsilosis*	MH545914.1	516/516 (%100)
71	Yara	*C. guilliemondii*	*Candida kefyr*	LR738884.1	713/713 (%100)
73	Periton Sıvısı	*C. glabrata*	*Candida tropicalis*	HQ412611.1	539/539 (%100)
97	Balgam	*C. albicans*	*Candida kefyr*	LR738884.1	715/715 (%100)
100	Trakeal Aspirat	*C. albicans*	*Candida guilliermondii*	MK267756.1	607/607 (%100)

Antifungal Duyarlılık Sonuçları

VITEK 2 Compact Sistem tarafından belirlenen duyarlılık sonuçlarına göre izole edilen 87 *Candida* suşunun; Amfoterisin B'e 78'i (%89.7) duyarlı, 6'sı (%6.9) orta derece duyarlı, 3'ü (%3.4)'ü dirençli, Flukonazol'e 73'ü (%83.9) duyarlı, 5'i (%5.7) orta derece duyarlı, 9'u (%10.3)'ü dirençli, Vorikonazole 75'i duyarlı (%86.2), 9'u orta derece duyarlı (%10.4), 3'ü dirençli (%3.4), Flusitozin'e 79'u (%90.8) duyarlı, 4'ü (%4.6) orta derece duyarlı, 4'ü (%4.6) ise dirençli, Kaspofungin'e ise 71'i (%81.6) duyarlı, 9'u (%10.4) orta derece duyarlı, 7'si (%8.0) dirençli olarak tespit edildi. VITEK-2 Compact Sisteme göre *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık profilleri Çizelge 16'da verildi.

Çizelge 16: VITEK-2 Compact Sisteme göre Candida türlerinin antifungal duyarlılık profilleri

Antifungal	***C. albicans* (n=31)**	***C. dubliniensis* (n=1)**	***C. glabrata* (n=11)**	***C. guilliermondii* (n=3)**	***C. kefyr* (n=4)**	***C. krusei* (n=6)**	***C. lusitaniae* (n=2)**	***C. parapsilosis* (n=15)**	***C. tropicalis* (n=14)**
Amfoterisin B (µg/ml)									
Duyarlı (≤ 0.25)	27 (%87,09)	1 (%100)	10 (%90,90)	3 (%100)	4 (%100)	4 (%66,66)	2 (%100)	13 (%86,66)	14 (%100)
Orta-Derece Duyarlı (0.25-16)	3 (%9,67)	0 (%0)	1 (%9,09)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%16,66)	0 (%0)	1 (%6,66)	0 (%0)
Dirençli (≥ 16)	1 (%3,22)	0	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%16,66)	0 (%0)	1 (%6,66)	0 (%0)
Flukonazol (µg/ml)									
Duyarlı (≤ 1)	26 (%83,87)	1 (%100)	11 (%100)	2 (%66,66)	3 (%75)	0 (%0.0)	2 (%100)	15 (%100)	13 (%92,85)
Orta-Derece Duyarlı (1-64)	2 (%6,45)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%33,33)	1 (%25)	0 (%0.0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%7,14)
Dirençli (≥ 64)	3 (%9,67)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	6 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
Vorikonazol (µg/ml)									
Duyarlı (≥ 0.12)	23 (%74,19)	1 (%100)	10 (%90,90)	3 (%100)	4 (%100)	6 (%100)	2 (%100)	14 (%93,33)	12 (%85,71)
Orta-Derece Duyarlı (0.12-8)	6 (%19,35)	0 (%0)	1 (%9,09)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%6,66)	1 (%7,14)
Dirençli (≥ 8)	2 (%6,45)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%7,14)
Flusitozin (µg/ml)									
Duyarlı (≤ 1)	24 (%77,41)	1 (%100)	11 (%100)	3 (%100)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%50)	15 (%100)	14 (%100)
Orta-Derece Duyarlı (1-64)	3 (%9,67)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%50)	0 (%0)	0 (%0)

Dirençli (≥ 64)	4 (%12,90)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
Kaspofungin (µg/ml)									
Duyarlı (≤ 0.25)	23 (%74,19)	1 (%100)	9 (%81,81)	3 (%100)	3 (%75)	5 (%83,33)	2 (%100)	14 (%93,33)	11 (%78,57)
Orta-Derece Duyarlı (0.25-4)	3 (%9,67)	0 (%0)	2 (%18,18)	0 (%0)	1 (%25)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	3 (%21,42)
Dirençli (≥ 4)	5 (%16,12)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%16,66)	0 (%0)	1 (%6,66)	0 (%0)

Candida albicans Suşlarında Mikroplak Yöntemi ile Biyofilm Aktivitesi Bulguları

Çalışmada VITEK ile *C. albicans* olarak tanımlanan 36 suşta biyofilm oluşumu mikroplak yöntemiyle araştırıldı. VITEK sonrasında suşlar Multipleks PZR yöntemi ve DNA dizi analizi yapıldığında suşların 31'i *C. albicans* olarak tanımlandı. DNA dizi analizi ile tanımlanan 4 *C. tropicalis* ve 1 *C. guilliermondii* suşu ile *C. albicans* ATCC 10231 çalışmada kontrol suşu olarak kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen 31 *C. albicans* suşunun 29'unda (%93.5) güçlü biyofilm aktivitesi saptanırken, 2 suşta ise orta düzey biyofilm oluşumu saptandı. Güçlü biyofilm aktivitesi görülen 28 suşun, 13'ünün kan, 11'inin eksuda (4 balgam, 2 drenaj, 2 yara, 1 bal, 1 trakeal aspirat), 4'ünün ise steril vücut sıvılarından (2 plevra, 1 periton, 1 BOS) izole edilen suşlar olduğu saptanırken, orta düzey biyofilm aktivitesi görülen 2 suşun ise balgamdan izole edildiği saptandı. *C. albicans* suşlarının, mikroplak yöntemi ile biyofilm aktivitesi sonuçları Tablo 15'te verildi.

Candida albicans suşlarında SAP 1-10 Genlerine ait PZR Bulguları

Çalışmada VITEK ile *C. albicans* olarak tanımlanan 36 suşta SAP1-10 genleri varlığı genotipik olarak PZR yöntemiyle araştırıldı. VITEK sonrasında suşlar Multipleks PZR yöntemi ve DNA dizi analizi yapıldığında suşların 31'i *C. albicans* olarak tanımlandı. DNA dizi analizi ile tanımlanan 4 *C. tropicalis* ve 1 *C. guilliermondii* suşu ile *C. albicans* ATCC 10231 çalışmada kontrol suşu olarak kullanıldı. *C. albicans'*a özgü SAP 1-10 primerleri ile yapılan PZR sonuçları tablo 16'da verildi. 31 *C. albicans* suşunun tamamında (%100) SAP1, SAP2, SAP3, SAP4, SAP6, SAP7, SAP8, SAP9 ve SAP10 gen pozitifliği saptanırken, SAP5 geni varlığı ise 30 (%98.8) *C. albicans* suşunda saptandı. SAP genlerinin örneklere göre varlığına baktığımızda; 13 kan örneğinin tamamında (%100) SAP1, SAP2, SAP3, SAP4, SAP6, SAP7, SAP8, SAP9 ve SAP10 saptanırken, 6 nolu suş haricinde 12 (%92.3) *C. albicans* suşunda SAP 5 geni saptandı. 4 steril vücut sıvısından (2 plevra, 1 periton, 1 BOS) ve 12 eksuda örneğinden (6 balgam, 2 drenaj, 2 yara, 1 bal, 1 trakeal aspirat) izole edilen *C. albicans* suşlarının tamamında (%100) SAP1, SAP2, SAP3, SAP4, SAP 5, SAP6, SAP7, SAP8, SAP9 ve SAP10 gen pozitifliği saptandı (Çizelge 19). *C. albicans'*a özgü SAP 1-10 primerleri kullanılarak yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüleri Şekil 21-30'da verildi.

Çizelge 17: *C. albicans* suşlarının, mikroplak yöntemi ile biyofilm aktivitesi sonuçları

Suş No	Tür	Ortalama OD	Delta OD	Biyofilm
1	*Candida albicans*	2,9199	2,3020	Orta düzey biyofilm
2	*Candida albicans*	3,4688	2,8509	Güçlü biyofilm
3	*Candida tropicalis*	3,7011	3,0832	Güçlü biyofilm
4	*Candida albicans*	3,9890	3,3711	Güçlü biyofilm
6	*Candida albicans*	3,5886	2,9707	Güçlü biyofilm
7	*Candida albicans*	3,8220	3,2041	Güçlü biyofilm
9	*Candida albicans*	3,5357	2,9178	Güçlü biyofilm
10	*Candida albicans*	3,3476	2,7297	Güçlü biyofilm
11	*Candida albicans*	3,3281	2,7102	Güçlü biyofilm
13	*Candida albicans*	3,8159	3,1980	Güçlü biyofilm
15	*Candida albicans*	3,3665	2,7486	Güçlü biyofilm
17	*Candida albicans*	3,5959	2,9780	Güçlü biyofilm
18	*Candida albicans*	3,4748	2,8569	Güçlü biyofilm
19	*Candida albicans*	3,3354	2,7175	Güçlü biyofilm
21	*Candida albicans*	3,3463	2,7284	Güçlü biyofilm
24	*Candida tropicalis*	3,8656	3,2477	Güçlü biyofilm
26	*Candida albicans*	3,8261	3,2082	Güçlü biyofilm
27	*Candida albicans*	3,8558	3,2379	Güçlü biyofilm
28	*Candida albicans*	3,7410	3,1231	Güçlü biyofilm
29	*Candida albicans*	3,8391	3,2212	Güçlü biyofilm
31	*Candida albicans*	3,9193	3,3014	Güçlü biyofilm
61	*Candida albicans*	3,6600	3,0421	Güçlü biyofilm
66	*Candida albicans*	2,9358	2,3179	Orta düzey biyofilm
67	*Candida albicans*	3,8197	3,2018	Güçlü biyofilm
72	*Candida albicans*	3,5504	2,9325	Güçlü biyofilm
74	*Candida albicans*	3,9108	3,2929	Güçlü biyofilm
75	*Candida albicans*	3,5870	2,9691	Güçlü biyofilm

76	*Candida albicans*	3,8816	3,2637	Güçlü biyofilm
80	*Candida albicans*	3,6171	2,9992	Güçlü biyofilm
88	*Candida albicans*	3,9290	3,3111	Güçlü biyofilm
94	*Candida albicans*	3,7269	3,1089	Güçlü biyofilm
99	*Candida albicans*	3,9045	3,2866	Güçlü biyofilm
102	*Candida albicans*	3,8213	3,2033	Güçlü biyofilm

Çizelge 18: *C. albicans*'a özgü SAP 1-10 primerleri ile yapılan PZR sonuçları

Suş no	Örnek	SAP 1	SAP 2	SAP 3	SAP 4	SAP 5	SAP 6	SAP 7	SAP 8	SAP 9	SAP 10
2	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Kan	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	Kan	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
9	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	Kan	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	Kan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
102	Aspirat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

75	BAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
76	BOS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	Balgam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Balgam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
66	Balgam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
67	Balgam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
88	Balgam	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+
94	Balgam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
99	Balgam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	Drenaj	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80	Plevra	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+

Çizelge 20'de *C.albicans* izolatlarında Sap genlerinin (1-10) varlığı ile biyofilm oluşumu arasındakı ilişki gösterilmiştir. Şöyle ki, orta düzey biyofilm oluşumuna sahip 2 örnekte Sap genleri tespit edilmiştir. Güçlü biyofilm oluşumuna sahip sadece 29 örnekte Sap genleri saptanmıştır . Ayrıca, Sap genler oluşturmadan güclü biyofilm oluşumu ise 5 örnekte saptanmıştır.Bu sonuçlara göre biyofilm oluşumu ile Sap genlerinin varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p=0.5509). Bu önemsiz fark, muhtemelen küçük örneklem boyutundan kaynaklanmaktadır.

Çizelge 19: SAP (1-10) genlerinin biyofilm oluşumuna göre dağılımı

SAP (1-10)	**Orta düzey biyofi**	**Güçlü biyofilm**	***p*-değeri**
%0	0	5	
%100	2	29	0.5509

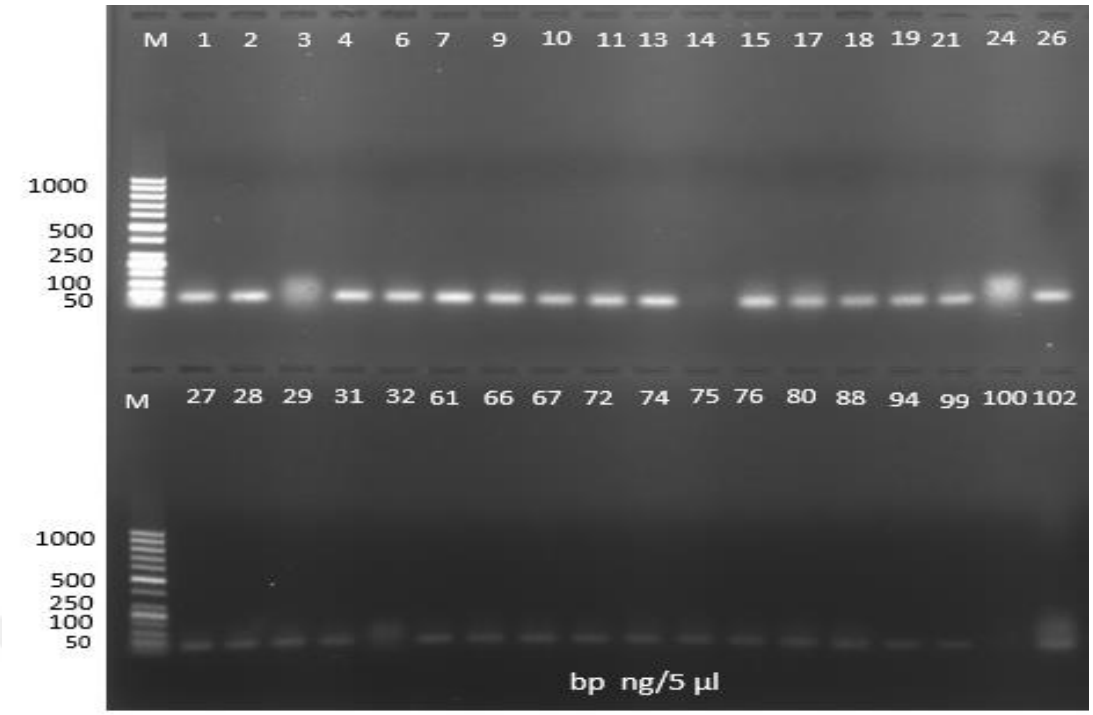
Çizelge 20: Candida albicans suşlarının biyofilm, sap genleri ve direnç oranlarının değerlendirilmesi

Örnek no	**Örnek tipi**	**Biyofim**	**Sap genleri** Sap (1-10)	**Dirençli olduğu**
2	Kan	Güçlü biyofilm	–	CPF dirençli
3	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
6	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
7	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
9	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
11	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
13	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
15	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
17	Kan	Güçlü biyofilm	+	5-FC dirençli
18	Kan	Güçlü biyofilm	+	FCZ dirençli
19	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
21	Kan	Güçlü biyofilm	+	5-FC dirençli
24	Kan	Güçlü biyofilm	–	FCZ dirençli
26	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
27	Kan	Güçlü biyofilm	+	CPF dirençli
29	Kan	Güçlü biyofilm	+	/
102	Aspirat	Güçlü biyofilm	+	FCZ dirençli

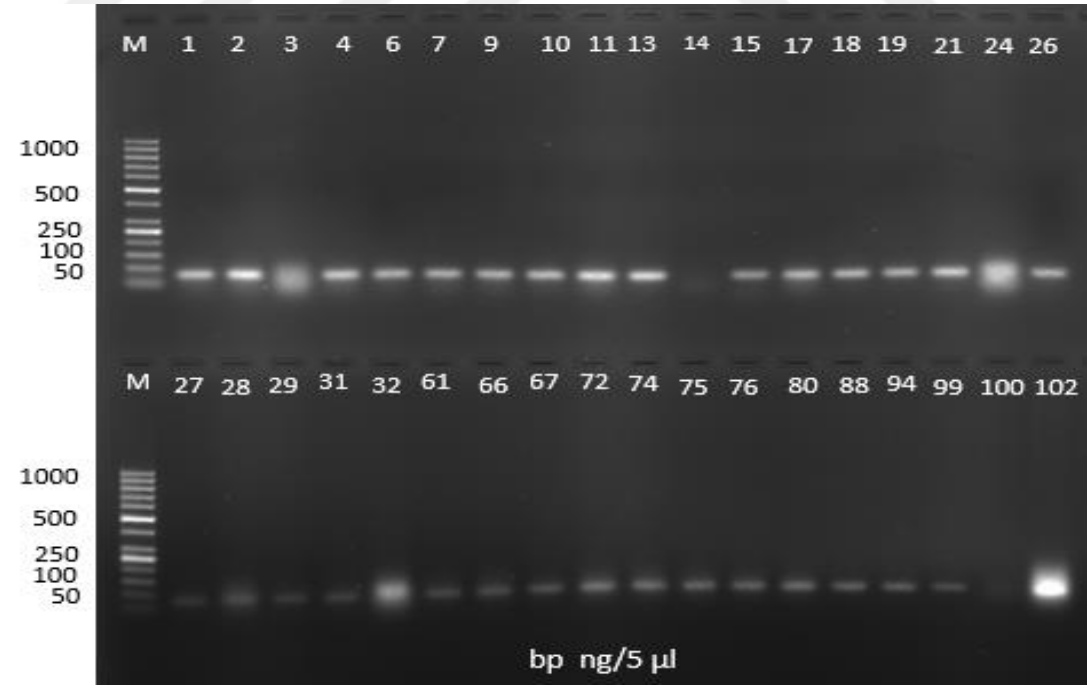
75	BAL	Güçlü biyofilm	+	/
1	Balgam	Orta düzey biyofilm	+	/
4	Balgam	Güçlü biyofilm	+	AMB dirençli
66	Balgam	Orta düzey biyofilm	+	5-FC, FCZ dirençli
67	Balgam	Güçlü biyofilm	+	VCZ, FCZ dirençli
94	Balgam	Güçlü biyofilm	+	FCZ dirençli
99	Balgam	Güçlü biyofilm	+	/
76	BOS	Güçlü biyofilm	+	/
28	Drenaj	Güçlü biyofilm	+	VCZ dirençli
88	Drenaj	Güçlü biyofilm	+	/
74	Peritoin	Güçlü biyofilm	+	/
61	Plevra	Güçlü biyofilm	+	CPF dirençli
80	Plevra	Güçlü biyofilm	+	/
10	Yara	Güçlü biyofilm	+	/
31	Yara	Güçlü biyofilm	+	/
72	Yara	Güçlü biyofilm	+	/

AMB= amfoterisin B ; CPF= caspofungin ; 5-FC= flusitozin; FCZ= fluconazole; VCZ= varikonazol

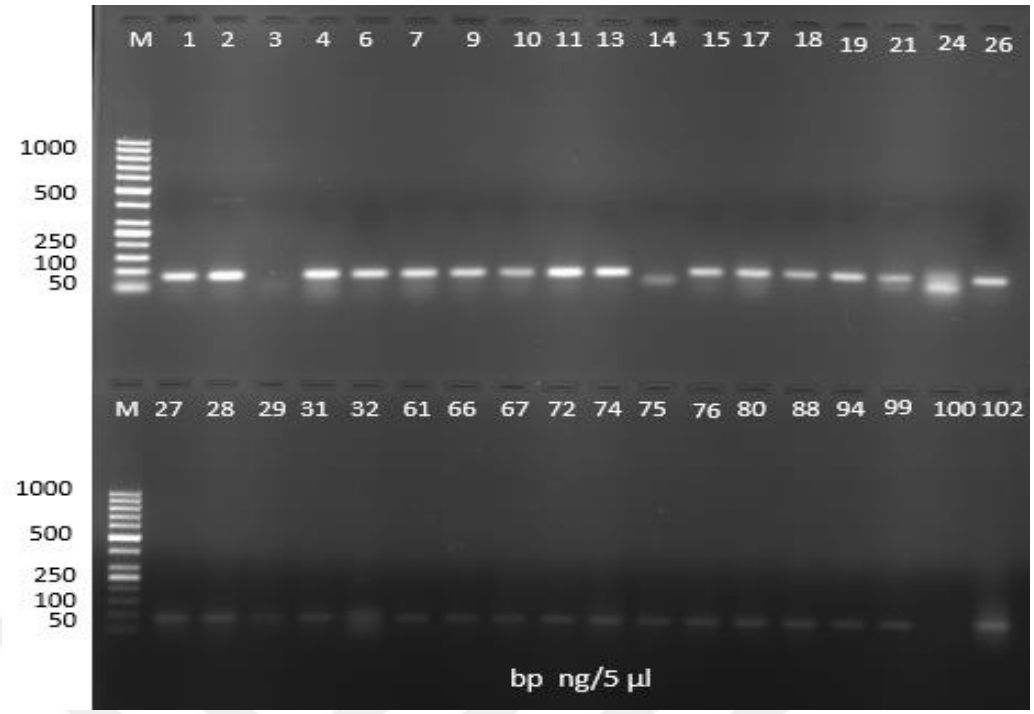
18 hastanın kan örneğinden izole edilen *C. albicans* suşlarının hepsi biyofilm yapmıştı, 2'sinde Sap 1-10 genlerinden hiçbiri saptanmadı ve sadece 6 no'lu örnekte Sap 5 negatifti, 2 örnek CFP, 2 örnek 5-FC, 2 örnek FCZ dirençli olarak saptandı. Kan dışı örneklerinin ise hepsi biyofilm yapmıştı 1 plevra örneğinde sadece Sap 4 negatifken yine diğerlerinde Sap-10 genleri saptandı, 1 örnek AMB, 2 örnek VCZ, 1 örnek CPF, 1 örnek 5-FC, 4 örnek FCZ dirençli bulundu bir örnek hem 5-FC hem de FCZ dirençli iken 1 örnek de VCZ ve FCZ birlikte dirençliydi.



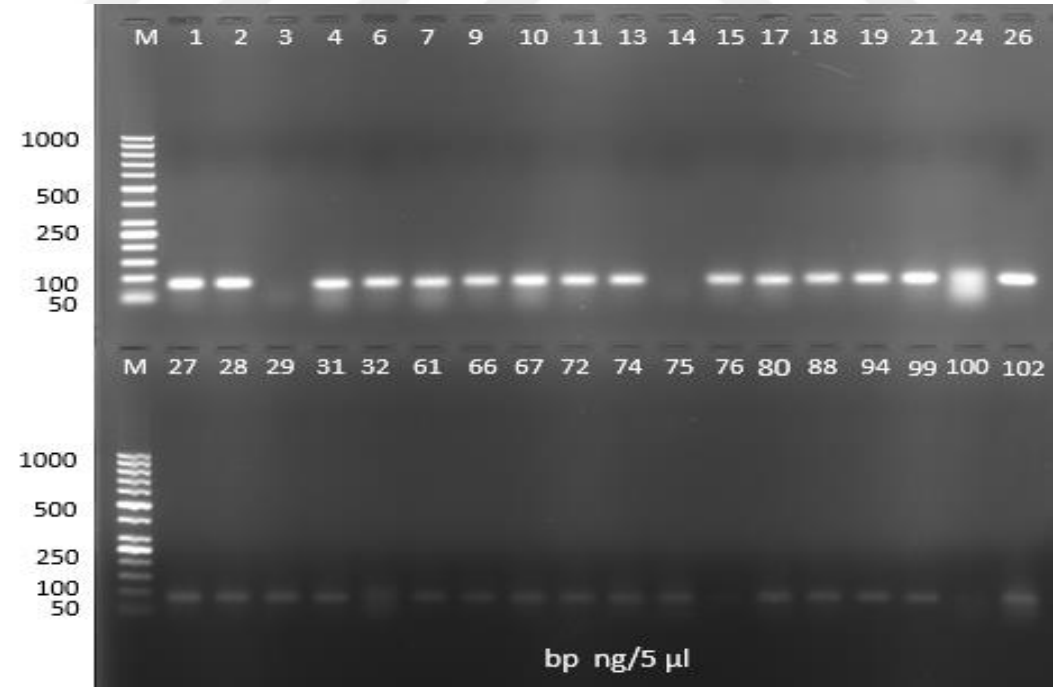
Şekil 21: SAP 1 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



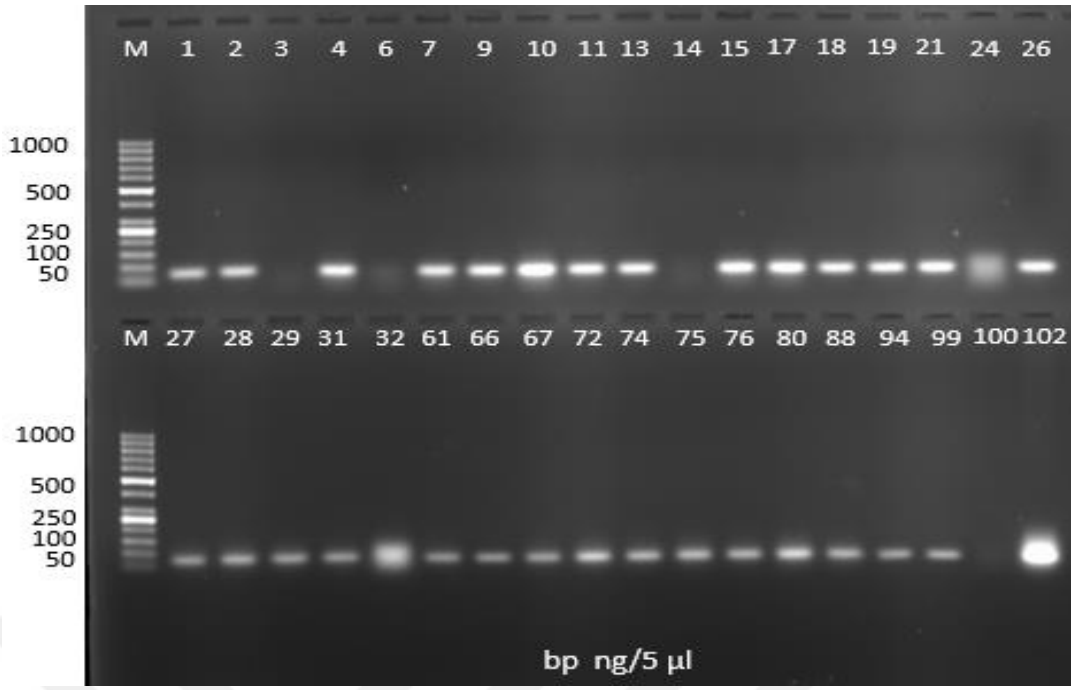
Şekil 22: SAP 2 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



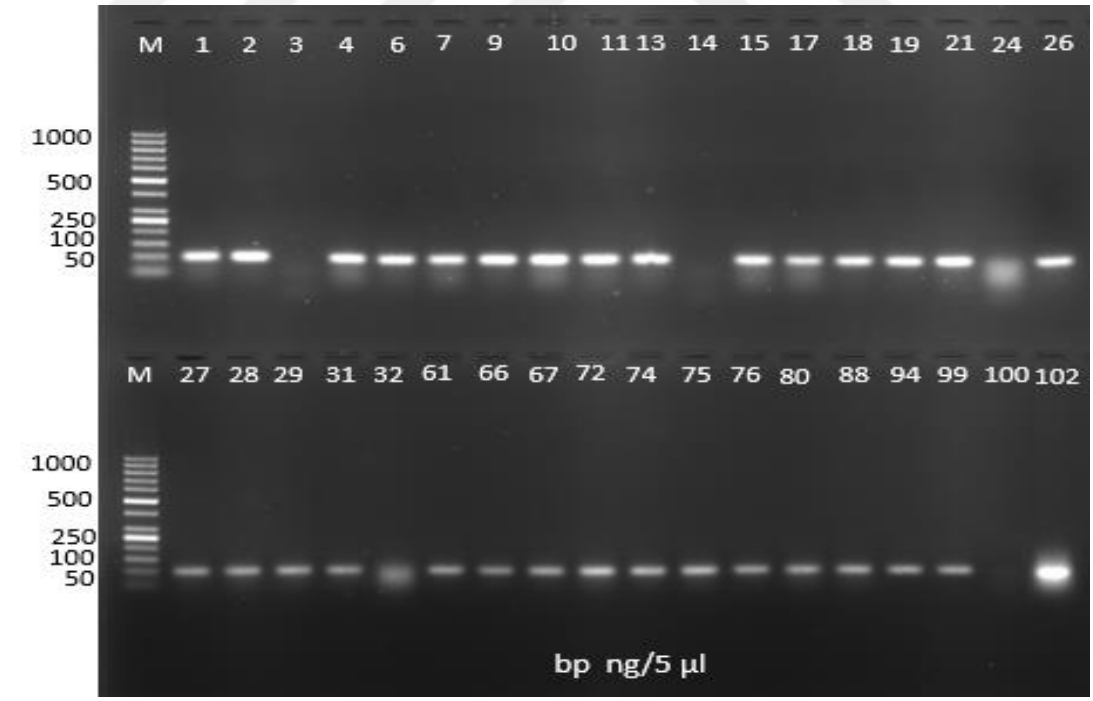
Şekil 23: SAP 3 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



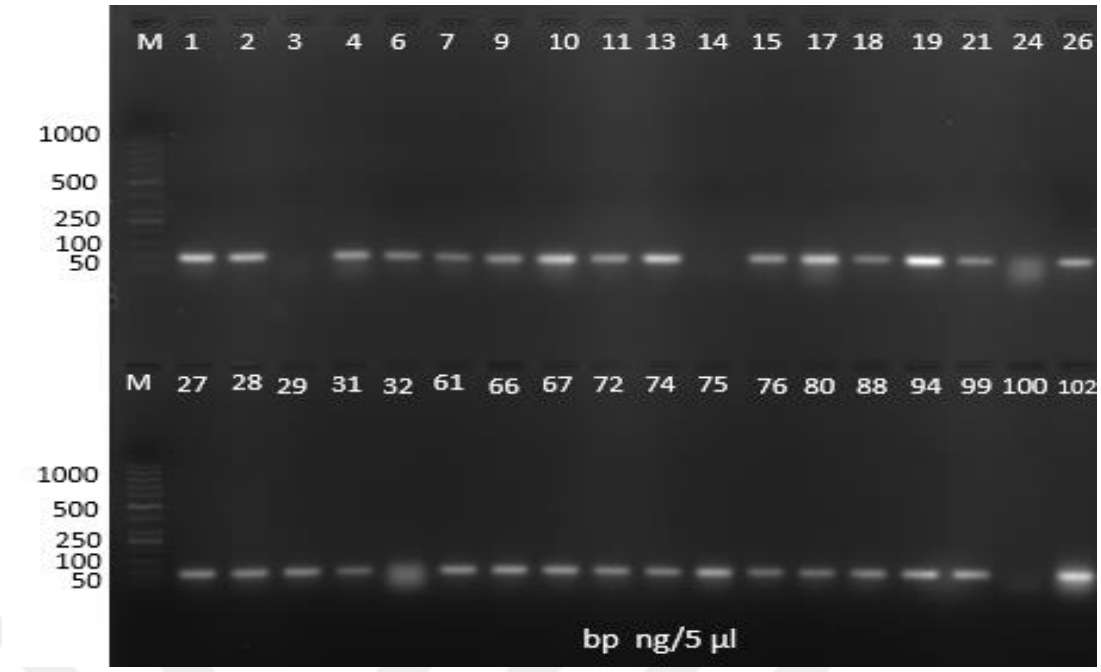
Şekil 24: SAP 4 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



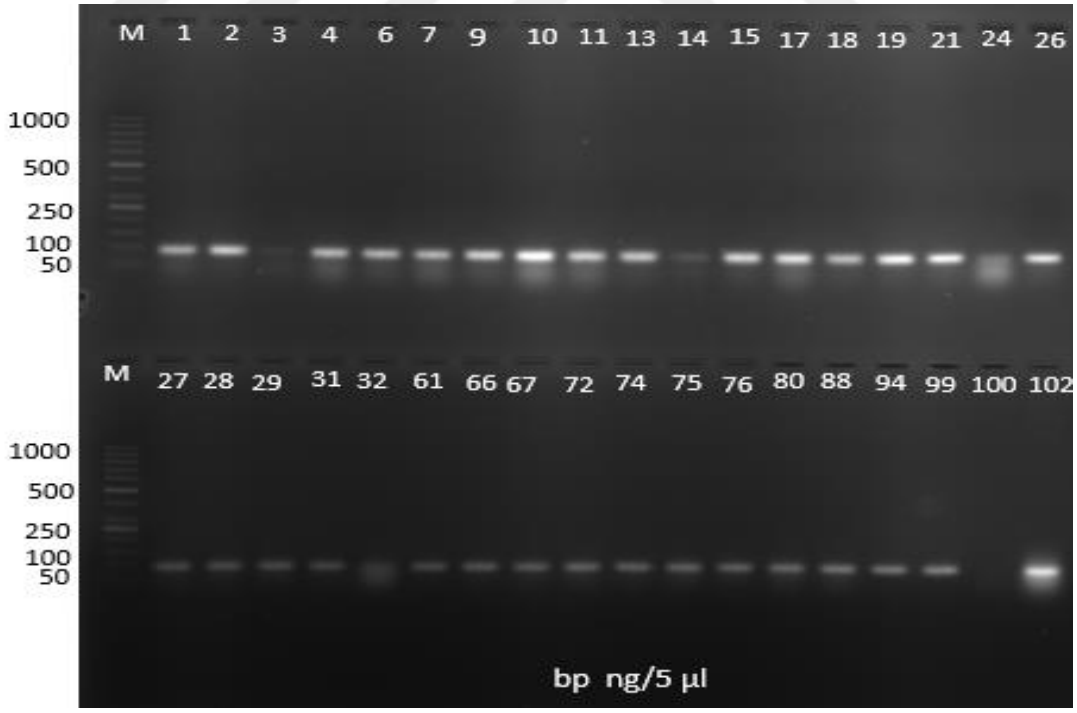
Şekil 25: SAP 5 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



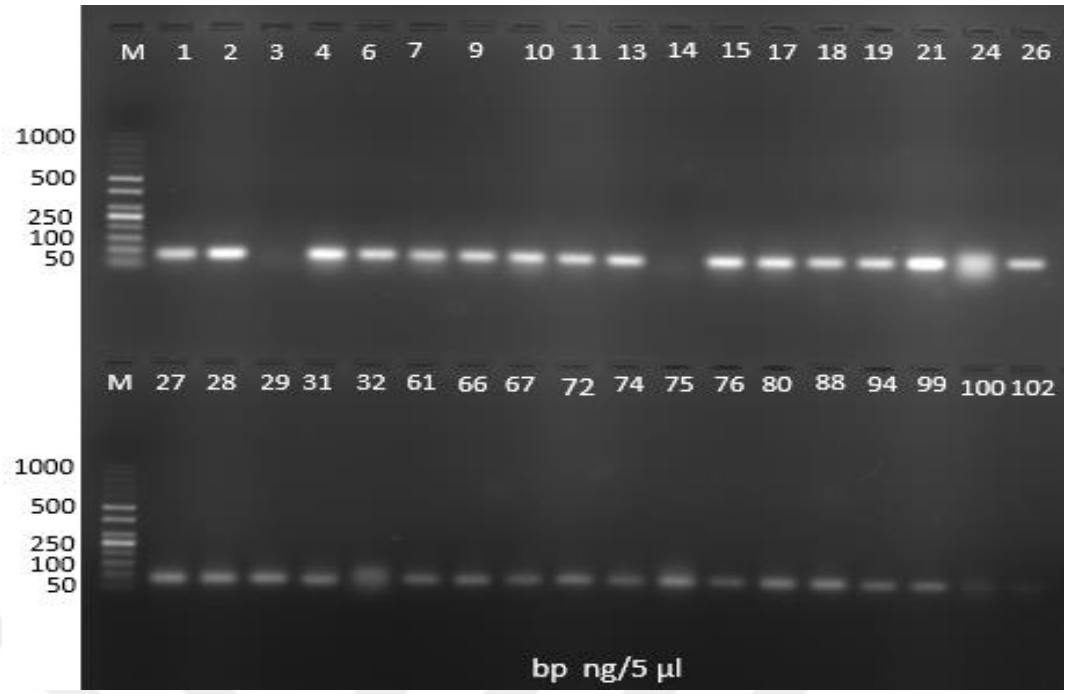
Şekil 26: SAP 6 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



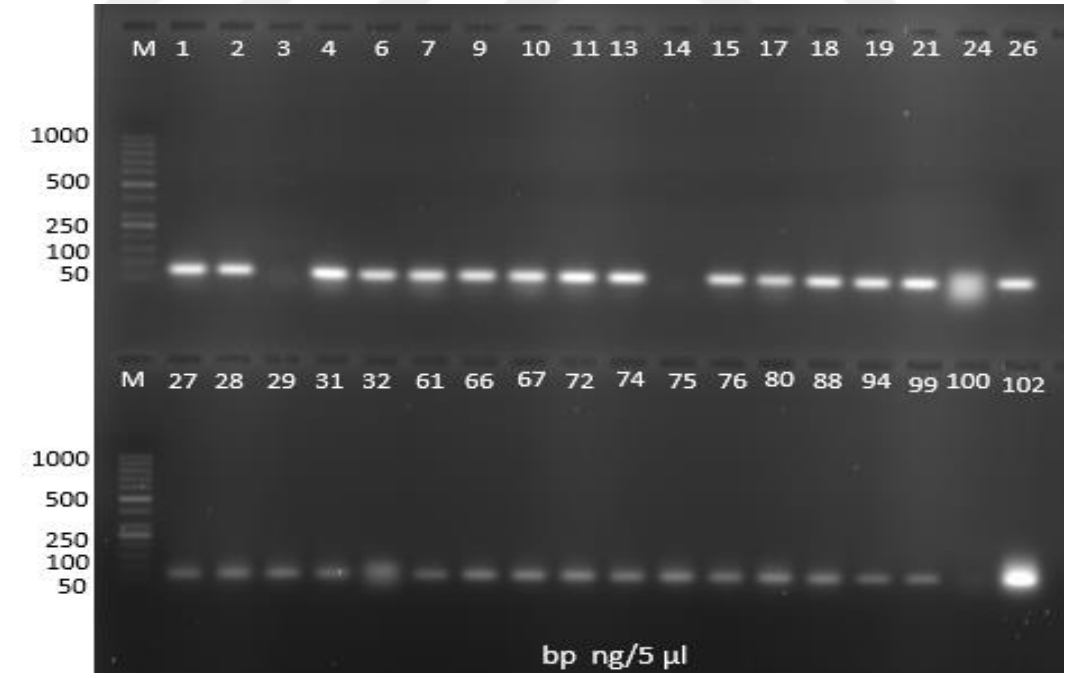
Şekil 27: SAP 7 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



Şekil 28: SAP 8 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



Şekil 29: SAP 9 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.



Şekil 30: SAP 10 primerleri ile yapılan PZR sonrası jel elektroforez görüntüsü**,** M: moleküler ağırlık standartı (50 bp), (1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 61, 66, 67, 72, 74, 75, 76, 80, 88, 94, 99, 102) *C. albicans*, (3, 14, 24, 32) *C. tropicalis*, (100) *C. guilliermondii*, 7 no'lu örnek (*C. albicans* ATCC 10231) kontrol suşu olarak kullanıldı.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada hastane ile ilişkili enfeksiyon etkeni olup kan kültürlerinden izole edilen farklı *Candida* türleri ve değişik klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinde biyofilm oluşumunun ve Candida albicans suşlarında Sap genlerinin saptanması amaçlanmıştır.

Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre *Candida* türleri kliniklere göre dağılımda farklılık göstermiştir. Örneğin, Anestezi Yoğun Bakım (%20,68), Göğüs Hastalıkları Servisi (%16,09), Nefroloji servisi (%8,04) ve diğer servislerden sekiz farklı *Candida* türü tanımlanmıştır. Genel olarak, klinik izolatlardan en çok *C. albicans* tanımlanmıştır. 2013 yılında yapılan benzeri bir çalışmada kandan izole edilen *Candida* türleri sırasıyla; Anestezi Yoğun Bakım (%31,9), Dahiliye Yoğun Bakım (%14,2), İç Hastalıkları (%8,2), Genel Cerrahi Yoğun Bakım (%7,1) ve Göğüs Hastalıkları Yoğun Bakım (%7,1) olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre, en fazla *Candida* izole edilen birim Anestezi Yoğun Bakım olmuştur ve bu da bu birimin hastane enfeksiyonları için yüksek risk oluşturtuğunu göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada kilnik örneklerden izole edilmiş *Candida* türlerinin dağılımı; C*andida albicans* %47,12 ile en çok izole edilen tür olmaktadır, *Candida glabrata* %16.09; *Candida parapsilosis* %12.64, *Candida tropicalis* %10.34, *Candida krusei* %6.89, *Candida guilliemondii* %3.44, *Candida dubliniensis* ve *Candida lusitanae* % 2.29 oranında saptanmıştır. Genel olarak, *C.albicans* dışı izolatların saptanma oranı (%52.87), *C. albicans*'tan (%47.12) daha yüksek olmasına rağmen bu fark anlamlı değildir (p = 0.574). Bizim çalışmamızda saptadığımız sekiz yaygın patojenik tür, yapılmış benzeri çalışmaların sonucları ile uyumludur. Dünya çapında yapılmış epidemiyolojik çalışma sonuclarına göre; Kuzey Avrupa ve ABD'deki en yaygın tür *C. Glabrata* (Pfaller ve ark 2014), İtalya, İspanya ve Brezilya'da *C. parapsilosis* ve Asya ülkelerinde *C. tropicalis* olmuştur. (Tortorano ve ark 2006) Asya ülkeleri ile bağlı yapılmış sürveyans çalışmasında *C. tropicalis* oranının diğer *C. albicans* dışı türlerden daha yüksek olmasına rağmen, bu türün tropikal ülkelerde izole edilme olasılığı Asya ülkelerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır (Wang ve ark 2016). Hindistan'da yapılan benzeri bir çalışmada % 45,5 *C. albicans*, % 28.88 *C. tropicalis*, % 20 C.*krusei*, % 3.33 *C. glabrata*, % 2.22 oranında ise *C. parapsilosis*

saptanmıştır (Marak ve Dhanashree 2018). Benzer bir başka çalışma, Melo ve ark tarafından, 2019 yılında Brezilyanın kuzeyinde yapılmıştır. Çalışma sonuclarına göre % 34.3 *C. albicans*, %25.7 *C. tropicalis*; %25.7 *C. parapsilosis*; %10 *C. glabrata*; %1,4 oranında ise *C. lusitanae* ve *C. krusei* izole etmişlerdir.

2016 yılında Turk Dagi ve ark. tarafından yapılan çalışmada kan kültürlerinde %47,5 *C. albicans*; %18 C.glabrata, %14 C.parapsilosis, %12 C.*tropicalis*, %5 *C.kefyr*; %3,5 *C. lusitanae* ürediği saptanmıştır. Başka bir benzer araştırma Portekiz'de, Carvalho ve ark. tarafından yapılmıştır. Çalışma sonuclarına göre çeşitli klinik örneklerde C. *tropicalis* %16 oranı ile en fazla izole edilen tür olmuştur. Diğer türlerin izole edilme oranı ise sırasıyla; %11 ,5 ile *C. parapsilosis, C. guilliemondii* %7.7, diğer çalışmalardan farklı olarak %5,6 gibi düşük bir oranla *C. albicans,* ve %5.3 oranında ise *C. krusei* olarak saptanmıştır.

Çalışmamıza hastanede yatan hastalardan alınan ve Candida üreyen izole edilen örnekler dahil edilmiştir. Bu örnekler kan, yara, bos, vajinal sürüntü, drenaj, aspirat, katater, plevra vb. klinik örneklerdir. Yaptığımız çalışmada *Candida* saptanmış klinik örneklerin oranları; %50.57 olarak en fazla kan kültürleri, %14.94 balgam, %6.89 aspirat, %5.74 BAL, %4.59 periton ve yara, %3.44 dreanaj ve %2.29 (BOS, katater, plevra, vajinal sürüntü) olmuştur.

(Muradiye 2014) tarafından yapılan benzer bir çalışmada; 2014 yılında Türkiye'de idrar dışında *Candida* spp. en çok izole edilen örnek balgam (%15,7) ve en az izole edilen örnek ise %2,1 ile vajinal sürüntü olmuştur. (Adiloğlu ve ark 2004) tarafından 2004 yılında Türkiye'de yapılan benzeri bir başka çalışmada; kanın (%21.1) idrardan sonra en çok *Candida* spp. saptanan örnek olduğu, en az saptanan ise %2.6 oranı ile vajinal sürüntü ve abse örnekleri olduğu bildirilmiştir. Bu son çalışmadan bir yıl sonra, (Koçoğlu ve ark 2005) benzer bir çalışma yapmışlar ve *Candida* spp.nin en çok kan (%25,6), en az ise %3,9 ile vajinal sürüntü ve yarada saptandığını bildirmişler. Türkiye'de yapılan ilgili diğer çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da hastaneden yatan hastalarda *C. albicans* suşlarının özellikle kan örneklerinden izole edilebileceği gibi birçok farklı klinik örneklerden de izole edilebileceği tespit edilmiştir. Önemli hastane enfeksiyonları olarak kabul edilen kateter enfeksiyonları, mikroorganizmaların kateterlere yapışması ve kolonizasyonu sonucunda ortaya çıkar. Bu yapışma ve kolonizasyon için viskoz faktörün gerekli olduğu bildirilmektedir.

Kateterlerde bulunan biyofilmlerde mikrobiyal ve konakçı faktörler rol oynar (Raad 1998).

Tanımlama ve antifungal duyarlılık için VITEK 2 Compact cihazı yüksek düzeyde otomasyon ve güvenlik kalitesine sahiptir. Yüksek düzeyde tasarlanmış bu sayısal yöntemin bazı eksiklikleri bulunmaktadır. Bu nedenle, yaptığımız çalışma sonuclarına göre VITEK 2 Compact cihazı ile tanımlanmış *Candida* spp.türlerinin multipleks PCR yöntemi ile doğrulanması yapıldığında %16,1 (14/87) oranında uyumsuzluk saptanmıştır. Bu uyumsuzluk *C. albicans* suşlarında %24.4 (10/41); *C. glabrata* suşlarında %21.5 (3/14) ve *C. guilliemondii* suşlarında %33.3 (1/3) oranında belirlenmiştir.

2020 yılında İran'da, (Kord ve ark 2020) tarafından Vitek 2 Compact sistemi kullanılarak yapılan bir çalışmada, 132 numunenin 120'sinin doğru, 12'sinin ise yanlış olarak tanımlandığını belirlenmiştir. Ayrıca çalışma sonuclarına göre Vitek 2 Compact sistemi, *Candida albicans* türlerinin neredeyse % 92'si doğru bir şekilde tanımlanmıştır. Ancak yanlış tanımlanmış suşların neredeyse tamamı *C.albicans* dışı (*C. parapsilosis* ve *C. glabrata* ve *C. tropicalis*) türler olmuştur.

(Asadzadeh ve ark 2018) yaptıkları bir çalışmada, Vitek 2 Compact tanımlama sonuçları ile PCR sonuçlarını karşılaştırdıklarında; 98/98 *C.dubliniensis C.glabrata, C.tropicalis, C. parapsilosis, C.lusitanae, C. krusei* ve 73/113 oranında ise *C.albicans*'ın korelasyonunu saptamışlardır. 2007 yılında Portekiz'de yapılmış benzeri bir çalışmada, (Carvalho ve ark 2007) Vitek 2 Compact cihazının, PCR ile karşılaştırılması sonucunda tanımlanma hata oranının; *C.albicans* %5,6 (5/90), *C.parapsilosis* %11,5 (7/61), *C.tropicalis* %16,0 (4/25), *C.krusei* %5.3 (1/19), *C. glabrata* %0 (0/18), *C.guilliemondii* %7.7 (1/13), *C.lusitanae* %0 (0/5) olduğunu saptamışlardır.Yaptığımız bu çalışma Vitek 2 Compact cihazının tanımlamalarda hata yapabildiğini, duyarlılığının düşük olduğunu göstermiştir. Vitek 2 Compact cihazının belirli türleri tanımlayamaması, veri tabanının kısıtlı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Daha eksiksiz bir veri tabanı bu sorunu çözmeye yardımcı olacaktır.

C. albicans'ın major hastalık oluşturma özelliklerinden biri, 10 SAP gen ailesi tarafından salgılanan aspartik proteazlardan (SAP) oluşmaktadır (Naglik ve ark 2003, Schaller ve ark 2005). SAP gen ürünlerinin yapışma, istila ve bağışıklıktan kaçınma

gibi hastalık oluşturma süreçlerine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bazı SAP genlerinin farklı dizileri rapor edilmiştir. Bu nedenle bunlar mantar enfeksiyonun belirli aşamalarında bireysel roller oynayabilirler (Schaller ve ark 2001). SAP4 ila SAP6'nın yalnızca C.albicans hifal formunda ifade edildiği, sistemik enfeksiyonlar ve konakçı bağışıklık sistemi kaçışıyla bağlantılı olduğu belirlenmiştir (Borg- von Zepelin ve ark 1998). SAP9 ve SAP10'u kodlayan proteinlerin, hücre duvarı proteinlerinin translasyon sonrası işlenmesi yoluyla hücre duvarı bütünlüğünü koruduğu düşünülmektedir. SAP9 veya SAP10 kodlayamayan *C. albicans* mutantları, epitel hücrelerine daha az bağlanma kabiliyetine sahiptir ve oral epitel dokuları üzerine zayıflatılmış patojenite sergiler. Sap izozimlerinin *C. albicans*'ın patojenitesine katkıda bulunduğu bilinmektedir (Naglik ve ark 2003), Ancak SAP genlerinin çokluğu ve Sap izozimlerinin fizyolojik hedefleri gibi patojenitelerine katkıda bulunan temel mekanizmalar henüz açıklanamamıştır. Biyokimyasal özelliklerin, özellikle sap izozimlerin substratlarının özgüllüğünün açıklığa kavuşturulması, bu soruların cevaplarının bulunmasına yardımcı olacaktır. Yapılmış birkaç benzeri araştırma SAP izozimlerinin substrat spesifikliklerini tanımlamıştır. (Albrecht ve ark 2006, Aoki ve ark 2011) Sap9 ve Sap10'un bazik amino asit motifleri içeren bazı sentetik peptitleri parçalayabildiğini belirlemiştir. Bununla birlikte, Sap izozimlerinin substrat spesifikliklerinin ve fizyolojik rollerinin daha kapsamlı analizleri, *C. albicans*'ın patojenliğinin net bir şekilde anlaşılması için gerekmektedir.

Genotipik olarak izole edilen 33 *C. albicans* suşunda SAP1-10 genlerinin varlığı PCR yöntemi ile araştırıldı. Bu genler *C. albicans*'ın 31 (% 93.9) suşunda saptanırken ve 2 (% 6.1) suşunda tespit edilememiştir. Dolayısıyla bu SAP genlerinin varlığı veya yokluğu arasında istatistiksel olarak hiçbir fark saptanmamıştır ($p < 0.001$).

Bu çalışma, Sap1, Sap2, Sap3, Sap4, Sap5, Sap6, Sap7, Sap8, Sap9 ve Sap10 genlerinin prevalansı ile *C. albicans* izolatlarının güçlü biyofilm üretmeleri arasında bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur. Çünkü biyofilm üreten *C.albicans*'ın izolatların % 87.9'u tüm sap genleri (1-10) kodlamıştır. Kan örneklerinden 2'sinde hiçbir Sapgenisaptanmazken bir örnekte Sap 6 negatif bulunmuştur.

(Kadry ve ark 2018), tarafından yapılan çalışmada Sap9 ve Sap10 genlerinin yaygınlığı ile *C. albicans* izolatlarının güçlü biyofilm üretmeleri arasında korelasyon olduğu saptanmıştır. Çünkü bu izolatların % 66,7'si hem Sap9 hem de Sap10'a

sahipken, % 25'i Sap9 veya Sap10'a sahip olmuştur yine bir izolatda ise % 8,3 ne Sap 9 ne de Sap10 saptanamamıştır. Yapılan diğer benzeri çalışmaların sonuçları da , Sap9 ve Sap10'un büyüme, hidrolitik enzim üretimi ve antimikrobiyal aktiviteye direnç göstergesi olan biyofilm oluşumu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Chaffin 2008, Silva ve ark 2010, Schild ve ark 2011). Daha önce insanlarda SAP1, SAP3 ve SAP8'in oral hastalıktan çok vajinal hastalık sırasında ekspresyon edildiği gösterilmiştir (Naglik ve ark 2003). Ancak aynı araştırmacı tarafından 5 yıl sonra farklı bir hasta numuneleri kullanarak yapılmış benzeri başka bir çalışma,önceki araştırmanın sonuçlarını doğrulamıştır. Çünkü benzer şekilde daha yüksek bir SAP1, SAP3 ve SAP8 ekspresyon sıklığı bulmuşlardır (SAP1: oral 8/17, vajinal 14/17; SAP3: oral 2/17, vajinal 10/17; SAP8: oral 10/17, vajinal 14/17) (Naglik ve ark 2008). Ayrıca, SAP1, SAP3, SAP7 ve SAP8 ekspresyon seviyeleri, hasta numunelerinde genellikle çok düşük tespit edilmiştir. Bu dört gen için düşük eksperesyon seviyelerinin hasta örneklerinde saptanmış olabileceğini, ancak taşıyıcılardan tespit edilemeyeceği şeklindeki önceki kalitatif sonuçları açıklayabilir. Bu gözlemlere dayanarak, insanlarda patolojik sürece SAP1, SAP3, SAP7 ve SAP8'in doğrudan bireysel katkısının minimum düzeyde olduğu düşünülmektedir (Naglik ve ark 2008).

Polonya'da yapılan bir çalışmada hastalardan izole edilen 13 *C. albicans* suşunun hepsinde SAP1-3 geninin varlığı saptanmıştır. Ayrıca 11 suşta SAP4 genini, 6 suşta SAP5 geninin ve 11 suşta ise SAP6 geninin varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışma sonuçları *C. albicans* suşlarında SAP genlerinin varlığı ve proteolitik aktivite düzeyi arasında bir korelasyon olduğunu ortaya çıkarmıştır (Sikora ve ark 2011).

Almanya'dan yapılan benzeri çalışmada, *C. albicans*'ta SAP gen dizisi analizinde SAP1-3 genlerinin % 75 ve SAP4-6 genlerinin % 90 benzer olduğunu saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada SAP1-3 enzimlerinin mukozal enfeksiyonlarda ve SAP4-6 enzimlerinin sistemik enfeksiyonlarda çok önemli bir role sahip olduğu belirlenmiştir (Felk ve ark 2002).

Başka bir çalışmada 35 kan kültürü örneği ve 28 farklı örnekden izole edilen biyofilm pozitif *C. albicans* suşlarında SAP5 ve SAP9 genlerinin biyofilm üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada ilk olarak SAP5 ve SAP9 genlerinin kan kültürlerinden izole edilen *C. albicans* suşlarında biyofilm üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca , kan kültürlerinden izole edilen ve biyofilm üreten *C. albicans*

suşlarında SAP9 ekspresyonunun, diğer örneklerden izole edilen *C. albicans* suşlarından daha yüksek olduğu saptanmıştır (Joo ve ark 2013).

Benzeri bir çalışmada ise kan kültürü örneklerinden ve vajinal sürüntülerden izole edilen toplam 80 *C. albicans* suşu üzerinde PCR yöntemi uygulayarak SAP genlerinin varlığı araştırılmıştır. Kan kültürlerinden izole edilen 40 *C. albicans* suşunda; 13 izolatta SAP1, SAP2 ve SAP3, 38 izolatta (% 95) SAP4, 30 izolatta (% 75) SAP5 ve 23 izolatta (% 57.5) SAP6 geni saptanmıştır. Vajinal sürüntü kültüründen izole ettikleri 40 *C. albicans* suşunda; 37 izolatta (% 92,5) SAP1, SAP2, 3 izolatta (% 7,5), SAP3 SAP4 SAP5 ve 3 izolatta ise (% 7,5) SAP6 genini tespit etmişlerdir. Bu çalışma sonuçları, SAP1, SAP2 ve SAP3 izoenzimlerinin vajinal enfeksiyonlarda etken *C. albicans* ile ilişkili olduğunu, SAP4, SAP5 ve SAP6 izoenzimlerinin ise sistemik enfeksiyonlara neden olan *C. albicans* ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (Kalkanci ve ark 2005).

Genellikle mikrobiyal enfeksiyonlarda bir mikrobiyal tür tek başına enfeksiyon etkeni olarak düşünülür ve tedavi edilir. Ancak vücutta yaşayan mikroorganizmalar zaten insan mikrobiyotasının bir parçasıdır. Bu mikrobiyota, üç major yaşam dalının üyelerini içerir: bakteri, arkeler ve mantarlar. İnsan hücrelerinin sayısından en az on kat daha fazla olan bu mikroorganizmalar, karmaşık bir ekosistem oluşturur; bu ekosistem, konakçının diyetinden, genetik geçmişinden, bağışıklık sisteminin değişikliklerden ve rahatsızlıklardan, Ph değişiklikleri, konakçı viskozitesindeki değişiklikler gibi çevresel geçişler ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımından etkilenebilir (Nobile ve Johnson 2015). Bu nedenle, diğer mikrobiyal üyeler bağlamında biyofilm oluşumuna ilişkin anlayışımızı genişletmek önemli bir hedeftir. *C. albicans,* insan enfeksiyonlarında, diğer *Candida* türlerinden en sık izole edilen patojen olsa da hastaların polimikrobiyal biyofilmlerinde *C.albicans* diğer *Candida* türleri ile simbiyom şekilde bulunmuştur (Chitnis ve ark 2012).

Ancak bu çalışmada, sadece *C. albicans* suşlarında biyofilm varlığı araştırılmıştır. Böylece test edilen 33 suşda (% 100) pozitif biyofilm varlığı bulunmuştur. Ayrıca, izolatlarda negatif ve zayıf biyofilm varlığı saptanmamasına karşın (% 0) sadece 2 suşta (% 5,55) orta düzey biyofilm varlığı saptanmıştır. Örneklerimiz çoğunun kan kültürlerinden izole edilmiştir, biyofilm muhtemelen bu enfeksiyonlar katater ilişkilidir.

2018 yılında Mısır'da yapılan bir çalışmada 53 izolattan 12'sinin (% 22.6) güçlü biyofilm oluşumuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu süre zarfında 1 izolatta (% 1.9) orta düzey biyofilm ve 9 izolatda ise (% 17) düşük biyofilm varlığı saptanmıştır. Ayrıca 31 izolatda (% 58,5) biyofilm üretimi saptanmamıştır. Bizim sonuçlarımıza uygun olmayan bu veriler , muhtemelen ya iklimle ya da yaşam tarzıyla bağlantılıdır (Kadry ve ark 2018).

Almanya'da *C. parapsilosis*'in biyofilm oluşumu üzerine benzeri bir çalışma yapılmıştır. *C. parapsilosis*'in 48 saatlik inkübasyondan sonra 33 klinik izolat arasında biyofilm yapabilme kabiliyetinin oldukça değişken olduğu saptanmıştır. İzolatlar, biyofilm oluşturma yeteneği yüksek, düşük veya hiç olmayan olarak sınıflandırılmıştır. İzolatların 15 / 33'ü büyük miktarlarda biyofilm, 7 / 33'ü az miktarda biyofilm ve 11 / 33'ü hiç biyofilm oluşturmamıştır. 2018'de Kadry ve ark. sonuçlarına benzer olan bu sonuçlar, muhtemelen çok farklı olmayan bir yaşam koşuluyla açıklanabilir (Pannanusorn ve ark 2014).

Mikroplak indirgeme yöntemi ile yapılan bir çalışmada, 61 *C. albicans* izolatından 29'unda (% 47,5) biyofilm pozitif, 32'sinde (% 52,4) biyofilm negatif olduğu tespit edilmiştir (Acar 2018). Ayrıca başka bir çalışmada 70 C.albicans izolatının biyofilm üretimi şu şekilde sınıflandırılmıştır: biyofilm olmayanlar (n = 47;% 67,14), düşük biyofilm üreten (n = 7; 10 %), orta (n = 13;% 18.6) ve güçlü (n = 3;% 4.3) (Mohammadi ve ark 2020). Hindistan'da biyofilm tespiti için yapılan bir çalışmada, 18 (% 23.33) izolatda güçlü biyofilm, 9 izolatda (% 70) orta biyofilm ve 9 izolat (%70) ise zayıf biyofilm üretimi saptanmıştır. Ancak orta ve zayıf biyofilm arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Singh ve ark 2020).

Bu çalışmada Vitek 2 Compact sistemi ile elde edilen tiplendirme duyarlılık duyarlılık sonuçlarına göre izole edilen 87 *Candida* suşunun; Amfoterisin B'e %92.36 duyarlı, %4.67 orta derece duyarlı, ve %2.94'ü dirençli; Flukonazol'e %82.79 duyarlı, %7.99 orta derece duyarlı, ve %12.18'i dirençli; Vorikonazole %93.79 duyarlı, %4.69 orta derece duyarlı, %1.51 dirençli; Flusitozin'e %91.93 duyarlı, %6.63 orta derece duyarlı, %1.43 ise dirençli ve Kaspofungin'e ise %87.35 duyarlı, %8.25 orta derece duyarlı, %4.38 dirençli olarak tespit edildi.

Antifungal duyarlılık paterni, kaspofungin, amfoterisin B, flusitozin, vorikonazol ve mikafunginin test edilen tüm izole *Candida* türlerine karşı mükemmel in vitro aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Son yıllarda, *Candida*'larda ortaya çıkan azol direnci küresel olarak bir endişe kaynağı olmuştur (Raja 2021). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* suşlarının amfoterisin B, kaspofungin, flukonazol, vorikonazol, flusitozin ve mikafungine duyarlılığını belirlemek için Vitek 2 cihaz kullanılmıştır. Amfotersin B, % 87.8 duyarlı ve % 12.2 dirençli, caspofungin % 92,7 duyarlı ve % 7,3 dirençli, flukonazole duyarlı % 87,8 ve% 12,2'ye dirençli, vorikonazol % 95,1'e duyarlı ve % 4,5'e dirençli, flusitozin % 95,1'e duyarlı ve% 4,5'e dirençli, micafungin % 87,8 duyarlı ve % 12,2 dirençli olarak saptanmıştır (Kett ve ark 2021).

Raja ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, tüm *Candida* türlerinde flukonazole direnç %6 olarak belirlenmiştir. Massanet ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada, *Candida spp.*lerde flukonazol direncinin % 8 olduğu bulunmuştur. Saptanan antifungal direncin yarısı, SAP genlerinin güçlü bir şekilde salgılanmasından ve biyofilm oluşumundan kaynaklana bilmektedir.

Bassetti ve ark. tarafından yapılan benzeri bir çalışmada flukonazola karşı saptanmış % 5,1 direnç oranının, Avrupa hastanelerinden toplanmış izolatlarda (% 6,3) ve Kuzey Amerika izolatlarında (% 6,6) saptanan oranlara benzer olduğu bildirilmiştir (Bassetti ve ark 2013). İtalya ve İspanya arasında flukonazole duyarlılıkta farklılıklar gözlemlenmiştir. Şöyle ki, flukonazole direncin İtalya'da daha yüksek bir orana sahip olduğu bildirilmiştir (Messer ve ark 2009, Cisterna ve ark 2010). Ancak yakın zamanda bir İtalyan üçüncü basamak hastanesinde bildirilen oranlar daha düşük olmuştur (Raja 2021).

(Kaur ve ark 2016) tarafından yapılan çalışmada flukonazole karşı % 88.95 duyarlılık ve % 11.05 direnç , amfoterisin B'ye karşı ise % 97.67 duyarlılık ve % 2.33 direnç oranı bulunmuştur. Brezilya'da yürütülen benzeri bir çalışmada, amfoterisin B'nin % 6.25 dirençli ve % 93.75 oranında duyarlı olduğu saptanmıştır (Siqueira ve ark 2018).

Kore'deki 15 üçüncül hastaneden alınan 636 kan izolatında saptanmış *Candida* spp.nin in vitro antifungal duyarlılığı Vitek-2 maya duyarlılık sistemi (BioMérieux,

Fransa) kullanılarak belirlenmiştir. Genel duyarlılık oranları, amfoterisin B için % 98.1 ,flukonazol için % 95.9, vorikonazol için % 99.1 ve flusitozin için % 97.3 olmuştur. Sonuçlar, Kore'de *Candida*'nın kan izolatları arasında 4 antifungal ilaca direnç oranlarının düşük kaldığını göstermektedir (Jung ve ark 2012). Hindistan'da yapılan başka bir çalışmada amfoterisin B'ye % 2,9, flukonazole % 5,9 , flusitozine % 0.0, itrakonazol % 4,2 ve vorikonazol % 2,5 oranında direnç saptanmıştır (Pahwa ve ark 2014).

(Kothari ve Sagar 2009) tarafından Kuzey Hindistan'da *Candida* izolatlarının duyarlılık profilini çıkartılmıştır : % 92 amfoterisin B'ye, % 36' flusitozine, % 24 itrakonazole, % 56' vorikonazole ve % 96' flusitozine duyarlıılık saptanmıştır. Hindistanda yapılan başka bir çalışmada vorikonazole % 100, amfoterisin B'ye % 92, flusitozine% 90 ve flukonazole % 75 duyarlılık belirlenmiştir (Adhikary ve Joshi 2011). Yashavanth tarafından Hindistan'da yapılan bir çalışmada ise izole edilen *Candida* türleri vorikonazola (% 72.72) ve flukonazole (% 66.66) duyarlı iken amfoterisin B'le % 91 ve flusitozine % 82 oranında daha duyarlı oldukları belirlenmiştir (Yashavanth ve ark 2013).

Taieb ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada, mikafungin ile tedavi edilen 181 hastada % 89.6 oranında ve amfoterisin B ile tedavi edilen 170 hastada % 89.5 oranında duyarlılık saptanmıştır (Taieb ve ark 2011). Benzeri başka bir çalışmada amfoterisin B'ye % 89,5 ve mikofungine % 89,6 oranında duyarlılık tespit edilmiştir (Dupont 2010).

Elfeky ve ark. tarafından yapılan çalışma sonuçlarına göre, çalışmalarında en etkili antifungal ajan amfoterisin B (% 98,4) olurken bunu ketokonazol (% 85.7) izlemiştir. Ayrıca, vorikonazola % 82.5 ve flukonazola % 77.8 oranında etkinlik saptanmıştır. Ketokonazole direnç saptanmazken, 7 izolatda (% 11,1) flukonazole, 5 izolatda (% 7,9) vorikonazole, 1 izolat da(% 1,6) flukonazole direnç saptanmıştır (ElFeky ve ark 2016).

Ayrıca, Mishra ve ark. tarafından amfoterisin B'ye karşı % 6,25 ; itrakonazole karşı ise % 21.43 ; flokonazol karşı ise % 32.14 ; ketonazol karşı ise % 21.43 direnç saptanmıştır Zer ve Balcı yoğun bakım hastalarından izole ettikleri 205 *Candida* suşunda amfoterisin B'ye % 19,5 oranında direnç saptamışlardır (Mishra ve ark 2007).

Mahmoudabadi ve ark . tarafından yapılan çalışmada yoğun bakım ünitelerinde yatan 120 hastadan izole edilen *Candida* izolatlarında kaspofunginin % 90 duyarlı, % 10 oranında dirençli olduğunu ortaya çıkarılmıştır (Mahmoudabadi ve ark 2015).

Lübnan hastanelerinde ilk olarak Lübnan izolatlarının dört ortak azole direnç derecesini belirlemek için çokmerkezli bir çalışma yapılmıştır. Sonuçlara göre flukonazol % 5, itrakonazol % 12 , ketokonazol % 6 vorikonazol % 7.7, amfoterisin B % 1.7 ve kaspofungin % 0. oranında dirençli saptanmıştır (Basma ve ark 2009).

C.albicans üreyen kan ve kan dışı örnekleri karşılaştırdığımızda ise şu sonuçları saptadık; 18 hastanın kan örneğinden izole edilen *C. albicans* suşlarının hepsi biyofilm yapmıştı, 2'sinde Sap 1-10 genlerinden hiçbiri saptanmadı ve sadece 6 no'lu örnekte Sap 5 negatifti, 2 örnek CFP, 2 örnek 5-FC, 2 örnek FCZ dirençli olarak saptandı. Kan dışı örneklerinin ise hepsi biyofilm yapmıştı 1 plevra örneğinde sadece Sap 4 negatifken yine diğerlerinde Sap-10 genleri saptandı, 1 örnek AMB, 2 örnek VCZ, 1 örnek CPF, 1 örnek 5-FC, 4 örnek FCZ dirençli bulundu bir örnek hem 5-FC hem de FCZ dirençli iken 1 örnek de VCZ ve FCZ birlikte dirençliydi.

Sonuç olarak, tiplendirme ile ilgili araştırmalarda Vitek 2 Compact sisteminin güvenilir olmadığı moleküler yötemler kullanılması gerektiği saptanmıştır. Hasta bekımı ilişkili enfeksiyonlardan izole edilen *C.albicans* suşlarında biyofilm oluşumunun çok güçlü olduğu ve hemen hemen tüm Sap genlerini taşıdıkları saptanmıştır. Bu suşların %42'si en az bir antifungale dirençli bulundu. Büyümekte olan antifungal direnç sorunu özellikle hasta bakımı ilişkili enfeksiyonlarda büyük öneme sahiptir. Yeni antifungallerin üretiminde önemli virulans faktörleri olan biyofilm özelliklerine ve Sap genlerine hedeflenen antifungal çalışmaları yapılmaktadır. Hangi Sap geninin bu virulansta en önemli rolü üstlendiği yine önemli bir araştırma konususur. Kısıtlı sayıdaki antifı-ungal ajanlara yenilerini ekleme de bu hedeflerin önemli olduğunu düşünmekteyiz.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, Türkiye'de Sap genlerle (1-10) invaziv kandidiyazis epidemiyolojisi ve biyofilm oluşumu arasındakı ilişkini araştıran sayılı çalışmalardan biridir. Ayrıca, virülans faktörleri ve antifungal duyarlılıklar arasındaki korelasayanın invaziv *Candida* enfeksiyonlarının ciddiyetini daha da arttımaktadır.

Bu çalışmaya toplam 87 *Candida* spp suşu dahil edilmiştir. Toplama yapılan hastaların ortalama yaşı 52,87 ± 26,08 (min - maks: 1-89) olmuştur. Çalışma örnekleri 52 erkek (% 59,8) ve 35 kadından (% 40,2) alınmıştır. Suşların % 50,6'sı kandan ve % 49,4'ü eksüdalardan (balgam, yara, trakeal aspirasyon sıvısı, vajinal örnekler, BOS, BAL, kateter, drenaj, plevra ve peritoin) izole edilmiştir.

Tüm *Candida* spp. suşları; Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi, Göğüs Hastalıkları Birimi, Nefroloji Birimi, Hematoloji Birimi, Pediatrik Yoğun Bakım Ünitesi ve diğer ilgili birimlerden gönderilmiş klinik örneklerden izole edilmiştir.

Konvensiyonel kültür tanımlama yöntemilerile moleküler yöntemleri kıyaslamak açısından, daha önce Vitek 2 Compact sistemi ile tanımlanan 87 *Candida* spp suşu multipleks PCR'a tabi tutuldu. Sonuçlara göre 41 *Candida albicans* suşunun 10'unun Vitek 2 Compact sisteminde yanlış tanımlandığı tespit edildi.. Sekansa yollanan bu 14 suşun tamamının Vitek 2 Compact sisteminde yanlış tanımlandiği görüldü (%16.1)

Çalışmaya dahil edilen suşların biyofilm aktivitelerinin mikroplaka yöntemi ile belirlenmesinde biyofilm için test edilen *C. albicans* suşlarının % 100'ünde biyofilm aktivitesi pozitif olarak bulunmuştur. Ancak, hiçbir suşta hafif biyofilm oluşumu görülmemiş, 2 (% 5.55) suşta orta düzey biyofilm oluşumu saptanmıştır.

Genotipik olarak izole edilen 33 *C. albicans* suşunda SAP1-10 genlerinin varlığı PCR yöntemi ile araştırıldı. Bu genler *C. albicans*'ın 31 (% 93.9) suşunda saptanırken ve 2 (% 6.1) suşunda tespit edilememiştir. Dolayısıyla bu SAP genlerinin varlığı veya yokluğu arasında istatistiksel olarak hiçbir fark saptanmamıştır ($p < 0.001$).

Bu türden gelecekteki araştırmalara daha da özgüllük kazandırmak için tanımlamada mutlaka moleküler yöntemler kullanılmalıdır. Hasta bakımı ilişkili enfeksiyonlardan izole edilen *C.albicans* suşları yoğun biyofilm yapma özelliğine

sahiptir ve hemen hemen tüm Sap genlerini taşımaktadır. Artan antiful direnci karşısında biyofilm oluşumuna ve Sap genlerine yönelik çalışmaların önemli olacağı kanısındayız. Ayrıca hasta bakımı ilişkili enfeksiyonlarda antifungal duyarlılık oranları daima takip altında tutulmalıdır.

Bu çalışmanın eksikliği örnek sayısının az olmasıdır bu da kısıtlı maddi olanaklardan kaynaklanmaktadır. Özellikle çok sayıda örnek üzerinde yapılacak çalışmalar varsayılan hata payları önemli ölçüde azaltılabilir. Çeşitli sağlık kurumlarını ve çeşitli yöntemleri kapsayacak şekilde farklı mayaları bir araya getiren epidemiyolojik çalışmalar yapılması literatüre çok büyük katkı sağlıyacaktır.

6. KAYNAKLAR

Acar S, 2018. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen candida izolatlarinda biyofilm oluşumu ve antifungal duyarliliklarinin belirlenmesi.

Adhikary R, Joshi S, 2011. Species distribution and anti-fungal susceptibility of Candidaemia at a multi super-specialty center in Southern India.

Adiloğlu AK, Şirin C, Arıdoğan B, Can R, Demirci M, 2004. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Candida kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması.

Agarwalla SV, Ellepola K, da Costa MCF, Fechine GJM, Morin JLP, Neto AC, Seneviratne CJ, Rosa V, 2019. Hydrophobicity of graphene as a driving force for inhibiting biofilm formation of pathogenic bacteria and fungi. Dental Materials, 35, 3, 403-13.

Akhavan B, Michl TD, Giles C, Ho K, Martin L, Sharifahmadian O, Wise SG, Coad BR, Kumar N, Griesser HJ, 2018. Plasma activated coatings with dual action against fungi and bacteria. Applied Materials Today, 12, 72-84.

Albrecht A, Felk A, Pichova I, Naglik JR, Schaller M, de Groot P, MacCallum D, Odds FC, Schäfer W, Klis F, 2006. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteases of Candida albicans target proteins necessary for both cellular processes and host-pathogen interactions. Journal of Biological Chemistry, 281, 2, 688-94.

Anane S, Khalfallah F, 2007. Diagnostic biologique des candidoses systémiques: difficultés et perspectives. Pathologie biologie, 55, 5, 262-72.

Aoki W, Kitahara N, Miura N, Morisaka H, Yamamoto Y, Kuroda K, Ueda M, 2011. Comprehensive characterization of secreted aspartic proteases encoded by a virulence gene family in Candida albicans. The Journal of Biochemistry, 150, 4, 431-8.

Asadzadeh M, Ahmad S, Al-Sweih N, Khan Z, 2018. Rapid and accurate identification of Candida albicans and Candida dubliniensis by real-time PCR and melting curve analysis. Medical Principles and Practice, 27, 6, 543-8.

Atkinson BJ, Lewis RE, Kontoyiannis DP, 2008. Candida lusitaniae fungemia in cancer patients: risk factors for amphotericin B failure and outcome. Sabouraudia, 46, 6, 541-6.

Baboni FB, Guariza Filho O, Moreno AN, Rosa EAR, 2010. Influence of cigarette smoke condensate on cariogenic and candidal biofilm formation on orthodontic materials. American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics, 138, 4, 427-34.

Baillie GS, Douglas LJ, 1999. Role of dimorphism in the development of Candida albicans biofilms. Journal of medical microbiology, 48, 7, 671-9.

Bal A, McGill M, 2018. Rapid species identification of Candida directly from blood culture broths by Sepsityper-MALDI-TOF mass spectrometry: impact on antifungal therapy. JOURNAL OF THE ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS OF EDINBURGH, 48, 2, 114-9.

Barman A, Gohain D, Bora U, Tamuli R, 2018. Phospholipases play multiple cellular roles including growth, stress tolerance, sexual development, and virulence in fungi. Microbiological research, 209, 55-69.

Basma R, Barada G, Ojaimi N, Khalaf RA, 2009. Susceptibility of Candida albicans to common and novel antifungal drugs, and relationship between the mating type locus and resistance, in Lebanese hospital isolates. Mycoses, 52, 2, 141-8.

Bassetti M, Merelli M, Righi E, Diaz-Martin A, Rosello EM, Luzzati R, Parra A, Trecarichi EM, Sanguinetti M, Posteraro B, 2013. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility, and outcome of candidemia across five sites in Italy and Spain. Journal of clinical microbiology, 51, 12, 4167-72.

Benzaid C, Belmadani A, Djeribi R, Rouabhia M, 2019. The effects of Mentha× piperita essential oil on C. albicans growth, transition, biofilm formation, and the expression of secreted aspartyl proteinases genes. Antibiotics, 8, 1, 10.

Biswas S, Van Dijck P, Datta A, 2007. Environmental sensing and signal transduction pathways regulating morphopathogenic determinants of Candida albicans. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 71, 2, 348-76.

Bollag WB, 2016. Role of phospholipases in adrenal steroidogenesis. Journal of Endocrinology, 229, 1, R29-R41.

Bonfante P, Lanfranco L, 2019. The mycobiota: fungi take their place between plants and bacteria. Current opinion in microbiology, 49, 18-25.

Borg- von Zepelin M, Beggah S, Boggian K, Sanglard D, Monod M, 1998. The expression of the secreted aspartyl proteinases Sap4 to Sap6 from Candida albicans in murine macrophages. Molecular microbiology, 28, 3, 543-54.

Böttcher B, Pöllath C, Staib P, Hube B, Brunke S, 2016. Candida species rewired hyphae developmental programs for chlamydospore formation. Frontiers in microbiology, 7, 1697.

Brandt ME, Warnock DW, 2015. Taxonomy and classification of fungi. In: Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition. Eds: American Society of Microbiology, p. 1935-43.

Bromley M, Johns A, Davies E, Fraczek M, Gilsenan JM, Kurbatova N, Keays M, Kapushesky M, Gut M, Gut I, 2016. Mitochondrial complex I is a global regulator of secondary metabolism, virulence and azole sensitivity in fungi. PloS one, 11, 7, e0158724.

Burdett H, 2019. Human microbiota: insights from large population studies. Nature.

Bzducha-Wróbel A, Bryła M, Gientka I, Błażejak S, Janowicz M, 2019. Candida utilis ATCC 9950 Cell Walls and β (1, 3)/(1, 6)-Glucan Preparations Produced Using Agro-Waste as a Mycotoxins Trap. Toxins, 11, 4, 192.

Calderone R, Gow NA, 2002. Host recognition by Candida species. Candida and candidiasis. ASM Press, Washington, DC, 67-86.

Calvillo- Medina RP, Martínez- Neria M, Mena- Portales J, Barba- Escoto L, Raymundo T, Campos- Guillén J, Jones GH, Reyes- Grajeda JP, González- y- Merchand JA, Bautista- de Lucio VM, 2019. Identification and biofilm development by a new fungal keratitis aetiologic agent. Mycoses, 62, 1, 62-72.

Canela HMS, Cardoso B, Vitali LH, Coelho HC, Martinez R, Ferreira MEdS, 2018. Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of Candida spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in Brazil. Mycoses, 61, 1, 11-21.

Cannon R, Chaffin W, 1999. Oral colonization by Candida albicans. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, 10, 3, 359-83.

Caraës N, 2016. Epidémiologie des candidoses profondes au Centre

Hospitalier Universitaire de Rouen, p.

Carrol K, Hobden J, Miller S, Morse S, Mietzner T, Detrick B, Mitchel T, Mckerrow J, Sakanari J, (2016). Jawetz-Melnick, & Adelberg, s Medical Microbiology, New York: McGraw Hill.

Carroll CJ, Isohanni P, Pöyhönen R, Euro L, Richter U, Brilhante V, Götz A, Lahtinen T, Paetau A, Pihko H, 2013. Whole-exome sequencing identifies a mutation in the mitochondrial ribosome protein MRPL44 to underlie mitochondrial infantile cardiomyopathy. Journal of medical genetics, 50, 3, 151-9.

Carvalho A, Costa-De-Oliveira S, Martins M, Pina-Vaz C, Rodrigues A, Ludovico P, Rodrigues F, 2007. Multiplex PCR identification of eight clinically relevant Candida species. Medical mycology, 45, 7, 619-27.

Çeçen E, 2019. Chlorella Vulgaris biyofilm kültürlerinde azot açlığının lipid üretimi üzerine etkisi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü.

Chaffin WL, 2008. Candida albicans cell wall proteins. Microbiology and molecular biology reviews, 72, 3, 495-544.

Chandra J, Mukherjee P, Leidich S, Faddoul F, Hoyer LL, Douglas L, Ghannoum M, 2001. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. Journal of dental research, 80, 3, 903-8.

Chen J, Seviour R, 2007. Medicinal importance of fungal β-(1→ 3),(1→ 6)-glucans. Mycological research, 111, 6, 635-52.

Chew SY, Ho KL, Cheah YK, Sandai D, Brown AJ, Than LTL, 2019. Physiologically Relevant Alternative Carbon Sources Modulate Biofilm Formation, Cell Wall Architecture, and the Stress and Antifungal Resistance of Candida glabrata. International journal of molecular sciences, 20, 13, 3172.

Chitnis AS, Magill SS, Edwards JR, Chiller TM, Fridkin SK, Lessa FC, 2012. Trends in Candida central line-associated bloodstream infections among NICUs, 1999–2009. Pediatrics, 130, 1, e46-e52.

Cisterna R, Ezpeleta G, Telleria O, Guinea J, Regueiro B, Garcia-Rodríguez J, Esperalba J, Group SCS, 2010. Nationwide sentinel surveillance of bloodstream Candida infections in 40 tertiary care hospitals in Spain. Journal of clinical microbiology, 48, 11, 4200-6.

Cleveland AA, Harrison LH, Farley MM, Hollick R, Stein B, Chiller TM, Lockhart SR, Park BJ, 2015. Declining incidence of candidemia and the shifting epidemiology of Candida resistance in two US metropolitan areas, 2008–2013: results from population-based surveillance. PloS one, 10, 3, e0120452.

Clutterbuck A, Woods E, Knottenbelt D, Clegg P, Cochrane C, Percival S, 2007. Biofilms and their relevance to veterinary medicine. Veterinary microbiology, 121, 1-2, 1-17.

Cogo AJD, Ferreira KdRD, Okorokov LA, Ramos AC, Façanha AR, Okorokova-Façanha AL, 2018. Spermine modulates fungal morphogenesis and activates plasma membrane H+-ATPase during yeast to hyphae transition. Biology open, 7, 2, bio029660.

Córdova-Alcántara IM, Venegas-Cortés DL, Martínez-Rivera MÁ, Pérez NO, Rodriguez-Tovar AV, 2019. Biofilm characterization of Fusarium solani keratitis isolate: increased resistance to antifungals and UV light. Journal of Microbiology, 57, 6, 485-97.

Correia A, Lermann U, Teixeira L, Cerca F, Botelho S, da Costa RMG, Sampaio P, Gärtner F, Morschhäuser J, Vilanova M, 2010. Limited role of secreted aspartyl proteinases Sap1 to Sap6 in Candida albicans virulence and host immune response in murine hematogenously disseminated candidiasis. Infection and immunity, 78, 11, 4839-49.

Costerton JW, Geesey G, Cheng K-J, 1978. How bacteria stick. Scientific American, 238, 1, 86-95.

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP, 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. science, 284, 5418, 1318-22.

Cristina I, 2010. Caractérisation génétique, phénotypique et formation de biofilm des

souches de Candida albicans répondant ou non au farnésol, p.

Cuellar-Cruz M, Vega-Gonzalez A, Mendoza-Novelo B, Lopez-Romero E, Ruiz-Baca E, Quintanar-Escorza M, Villagómez-Castro J, 2012. The effect of biomaterials and antifungals on biofilm formation by Candida species: a review. European journal of clinical microbiology & infectious diseases, 31, 10, 2513-27.

Dadar M, Tiwari R, Karthik K, Chakraborty S, Shahali Y, Dhama K, 2018. Candida albicans-Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control–An update. Microbial pathogenesis, 117, 128-38.

Dagi HT, Findik D, Senkeles C, Arslan U, 2016. Identification and antifungal susceptibility of Candida species isolated from bloodstream infections in Konya, Turkey. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 15, 1, 36.

Dalonso N, Goldman GH, Gern RMM, 2015. β-(1→ 3),(1→ 6)-Glucans: medicinal activities, characterization, biosynthesis and new horizons. Applied microbiology and biotechnology, 99, 19, 7893-906.

Damiens S, 2012. Les médiateurs de l'immunité anti-candida: outils d'analyse physiopathologique et intérêt diagnostique.

De Chalvet De Rochemonteix A, 2009. Les biofilms et la peau. Docto-ral dissertation. École vétérinaire de Maisons-Alfort.

Deorukhkar S, Saini S, Raytekar N, Sebastian M, 2016. Catheter associated urinary tract candida infections in Intensive Care Unit patients. J Clin Microbiol Biochem Technol, 2, 1, 015-7.

Desai JV, Bruno VM, Ganguly S, Stamper RJ, Mitchell KF, Solis N, Hill EM, Xu W, Filler SG, Andes DR, 2013. Regulatory role of glycerol in Candida albicans biofilm formation. MBio, 4, 2, e00637-12.

Desai JV, Mitchell AP, 2015. Candida albicans biofilm development and its genetic control. Microbiology spectrum, 3, 3.

Develoux M, Bretagne S, 2005. Candidoses et levuroses diverses. EMC-Maladies infectieuses, 2, 3, 119-39.

Di Luca M, Maccari G, Maisetta G, Batoni G, 2015. BaAMPs: the database of biofilm-active antimicrobial peptides. Biofouling, 31, 2, 193-9.

Direkze S, Mansour M, Rodriguez-Justo M, Kibbler C, Gant V, Peggs K, 2012. Candida kefyr fungal enteritis following autologous BMT. Bone marrow transplantation, 47, 3, 465.

Dong G, Liu Y, Wu Y, Tu J, Chen S, Liu N, Sheng C, 2018. Novel non-peptidic small molecule inhibitors of secreted aspartic protease 2 (SAP2) for the treatment of resistant fungal infections. Chemical communications, 54, 96, 13535-8.

Douglas LJ, 2003. Candida biofilms and their role in infection. Trends in microbiology, 11, 1, 30-6.

Douglass AP, Offei B, Braun-Galleani S, Coughlan AY, Martos AA, Ortiz-Merino RA, Byrne KP, Wolfe KH, 2018. Population genomics shows no distinction between pathogenic Candida krusei and environmental Pichia kudriavzevii: One species, four names. PLoS pathogens, 14, 7, e1007138.

Dufresne SF, Marr KA, Shoham S, 2019. Diagnosis of Systemic Fungal Diseases. In: Principles and Practice of Transplant Infectious Diseases. Eds: Springer, p. 819-40.

Dufresne SF, Marr KA, Sydnor E, Staab JF, Karp JE, Lu K, Zhang SX, Lavallée C, Perl TM, Neofytos D, 2014. Epidemiology of Candida kefyr in patients with hematologic malignancies. Journal of clinical microbiology, 52, 6, 1830-7.

Dupont B, 2010. Micafungine. Journal de mycologie médicale, 20, 3, 194-205.

El Kirat S, 2010. Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions Candida-phagocytes; Application à la caractérisation du gène OLE2 codant une désaturase chez C. lusitaniae, Bordeaux 2.

Elangovan S, Srinivasan S, Allareddy V, 2012. Hospital-based emergency department visits with oral candidiasis in the USA. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology, 114, 2, e26-e31.

Elder MJ, Stapleton F, Evans E, Dart JK, 1995. Biofilm-related infections in ophthalmology. Eye, 9, 1, 102.

ElFeky DS, Gohar NM, El-Seidi EA, Ezzat MM, AboElew SH, 2016. Species identification and antifungal susceptibility pattern of Candida isolates in cases of vulvovaginal candidiasis. Alexandria Journal of Medicine, 52, 3, 269–77–77.

Ellepola ANB, Khan ZU, 2019. Impact of Cigarette Smoke Condensate on Adhesion-Related Traits and Hemolysin Production of Oral Candida dubliniensis Isolates. Mycopathologia, 1-9.

Enczi K, Yamaguchi M, Sipiczki M, 2007. Morphology transition genes in the dimorphic fission yeast Schizosaccharomycesjaponicus. Antonie van Leeuwenhoek, 92, 2, 143-54.

Espinasse F, Page B, Cottard-Boulle B, 2010. Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. Revue francophone des laboratoires, 2010, 426, 51-63.

Felk A, Kretschmar M, Albrecht A, Schaller M, Beinhauer S, Nichterlein T, Sanglard D, Korting HC, Schäfer W, Hube B, 2002. Candida albicans hyphal formation and the expression of the Efg1-regulated proteinases Sap4 to Sap6 are required for the invasion of parenchymal organs. Infection and immunity, 70, 7, 3689-700.

Fidel PL, Vazquez JA, Sobel JD, 1999. Candida glabrata: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison toC. albicans. Clinical microbiology reviews, 12, 1, 80-96.

Fındık D, Tuncer İ, 2002. Nosocomial fungal infections in a teaching hospital in Turkey: identification of the pathogens and their antifungal susceptibility patterns. Turkish Journal of Medical Sciences, 32, 1, 35-8.

Finkel JS, Mitchell AP, 2011. Genetic control of Candida albicans biofilm development. Nature Reviews Microbiology, 9, 2, 109.

Gauthier G, Klein BS, 2008. Insights into Fungal Morphogenesis and Immune Evasion: Fungal conidia, when situated in mammalian lungs, may switch from mold to pathogenic yeasts or spore-forming spherules. Microbe (Washington, DC), 3, 9, 416.

Gauzit R. Épidémiologie et facteurs de risque des candidoses systémiques en réanimation. Annales francaises d'anesthesie et de reanimation, 394-9.

Gigou-Cornet M, 2006. Rôle des gènes RIM et VPS dans la signalisation du pH, la virulence et la résistance aux antifongiques chez la levure Candida albicans.

Gladieux P, Feurtey A, Hood ME, Snirc A, Clavel J, Dutech C, Roy M, Giraud T, 2015. The population biology of fungal invasions. Molecular Ecology, 24, 9, 1969-86.

Gogol M, Bochenska O, Zawrotniak M, Karkowska-Kuleta J, Zajac D, Rapala-Kozik M, 2017. Roles of Candida albicans Aspartic Proteases in Host-Pathogen Interactions. In: Pathophysiological Aspects of Proteases. Eds: Springer, p. 353-80.

Gonçalves B, Ferreira C, Alves CT, Henriques M, Azeredo J, Silva S, 2016. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. Critical reviews in microbiology, 42, 6, 905-27.

Graham DM, Burridge K, 2016. Mechanotransduction and nuclear function. Current opinion in cell biology, 40, 98-105.

Gulati M, Nobile CJ, 2016. Candida albicans biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. Microbes and infection, 18, 5, 310-21.

Guo J, Wu Y, Lai W, Lu W, Mu X, 2019. The diagnostic value of (1, 3)-β-D-glucan alone or combined with traditional inflammatory markers in neonatal invasive candidiasis. BMC infectious diseases, 19, 1, 716.

Hamid S, Zainab S, Faryal R, Ali N, Sharafat I, 2018. Inhibition of secreted aspartyl proteinase activity in biofilms of Candida species by mycogenic silver nanoparticles. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 46, 3, 551-7.

Harrington R, Kindermann SL, Hou Q, Taylor RJ, Azie N, Horn DL, 2017. Candidemia and invasive candidiasis among hospitalized neonates and pediatric patients. Current medical research and opinion, 33, 10, 1803-12.

HAS, (2017). Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic des candidoses invasives.

Hay RJ, 2020. Superficial mycoses. In: Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. Eds: Elsevier, p. 648-52.

Hazen KC, Cutler JE, 1983. Isolation and purification of morphogenic autoregulatory substance produced by Candida albicans. The Journal of Biochemistry, 94, 3, 777-83.

Hirayama T, Miyazaki T, Yamagishi Y, Mikamo H, Ueda T, Nakajima K, Takesue Y, Higashi Y, Yamamoto Y, Kimura M, 2018. Clinical and Microbiological Characteristics of Candida guilliermondii and Candida fermentati. Antimicrobial agents and chemotherapy, 62, 6, e02528-17.

Høiby N, 2014. A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. Pathogens and disease, 70, 3, 205-11.

Hong Y, Zhao J, Guo L, Kim S-C, Deng X, Wang G, Zhang G, Li M, Wang X, 2016. Plant phospholipases D and C and their diverse functions in stress responses. Progress in Lipid Research, 62, 55-74.

Hovijitra RS, Choonharuangdej S, Srithavaj T, 2016. Effect of essential oils prepared from Thai culinary herbs on sessile Candida albicans cultures. Journal of oral science, 58, 3, 365-71.

Hruskova-Heidingsfeldova O, 2008. Secreted proteins of Candida albicans. Front Biosci, 13, 7227-42.

Huse JT, Liu K, Pijak DS, Carlin D, Lee VM-Y, Doms RW, 2002. β-Secretase processing in the trans-Golgi network preferentially generates truncated amyloid species that accumulate in Alzheimer's disease brain. Journal of Biological Chemistry, 277, 18, 16278-84.

Jabra-Rizk MA, Kong EF, Tsui C, Nguyen MH, Clancy CJ, Fidel PL, Noverr M, 2016. Candida albicans pathogenesis: fitting within the host-microbe damage response framework. Infection and immunity, 84, 10, 2724-39.

Jackson MA, Moura MG, (2016). Stable fungal blastospores and methods for their production, stabilization and use, Google Patents.

Jha AK, Joynt KE, Orav EJ, Epstein AM, 2012. The long-term effect of premier pay for performance on patient outcomes. New England Journal of Medicine, 366, 17, 1606-15.

Joo MY, Shin JH, Jang H-C, Song ES, Kee SJ, Shin MG, Suh SP, Ryang DW, 2013. Expression of SAP5 and SAP9 in Candida albicans biofilms: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. Medical mycology, 51, 8, 892-6.

Jung S-I, Shin JH, Choi H-J, Ju M-Y, Kim S-H, Lee WG, Park Y-J, Lee K, for Candidemia KSG, 2012. Antifungal susceptibility to amphotericin B, fluconazole, voriconazole, and flucytosine in Candida bloodstream isolates from 15 tertiary hospitals in Korea. Annals of laboratory medicine, 32, 6, 426.

Kadosh D, 2016. Control of Candida albicans morphology and pathogenicity by post-transcriptional mechanisms. Cellular and molecular life sciences, 73, 22, 4265-78.

Kadosh D, 2019. Regulatory mechanisms controlling morphology and pathogenesis in Candida albicans. Current opinion in microbiology, 52, 27-34.

Kadry AA, El-Ganiny AM, El-Baz AM, 2018. Relationship between Sap prevalence and biofilm formation among resistant clinical isolates of Candida albicans. African health sciences, 18, 4, 1166-74.

Kalkanci A, Bozdayi G, Biri A, Kustimur S, 2005. Distribution of secreted aspartyl proteinases using a polymerase chain reaction assay withSAP specific primers inCandida albicans isolates. Folia microbiologica, 50, 5, 409.

Kaur R, Dhakad MS, Goyal R, Haque A, Mukhopadhyay G, 2016. Identification and antifungal susceptibility testing of Candida species: a comparison of Vitek-2 system with conventional and molecular methods. Journal of global infectious diseases, 8, 4, 139.

Kawano-Kawada M, Kakinuma Y, Sekito T, 2018. Transport of Amino Acids across the Vacuolar Membrane of Yeast: Its Mechanism and Physiological Role. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 41, 10, 1496-501.

Kett S, Pathak A, Turillazzi S, Cavalieri D, Marvasi M, 2021. Antifungals, arthropods and antifungal resistance prevention: lessons from ecological interactions. Proceedings of the Royal Society B, 288, 1944, 20202716.

Kim J, Lee J-E, Lee J-S, 2015. Histone deacetylase-mediated morphological transition in Candida albicans. Journal of microbiology, 53, 12, 805-11.

Klemm SL, Shipony Z, Greenleaf WJ, 2019. Chromatin accessibility and the regulatory epigenome. Nature Reviews Genetics, 20, 4, 207-20.

Koçoğlu E, Bayram A, Balcı İ, 2005. Klinik örneklerden izole edilen Kandida türleri ve antifungal duyarlılıkları. Van Tıp Derg, 12, 3, 195-200.

Kollár R, Reinhold BB, Petráková E, Yeh HJ, Ashwell G, Drgonová J, Kapteyn JC, Klis FM, Cabib E, 1997. Architecture of the yeast cell wall β (1→ 6)-glucan interconnects mannoprotein, β (1→ 3)-glucan, and chitin. Journal of Biological Chemistry, 272, 28, 17762-75.

Koneman EW, Allen SD, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, 1997. Diagnostic microbiology. The nonfermentative gram-negative bacilli. Philedelphia: Lippincott-Raven Publishers, 253-320.

Kord M, Salehi M, Khodavaisy S, Hashemi SJ, Ghazvini RD, Rezaei S, Maleki A, Elmimoghaddam A, Alijani N, Abdollahi A, 2020. Epidemiology of yeast species causing bloodstream infection in Tehran, Iran (2015–2017); superiority of 21-plex PCR over the Vitek 2 system for yeast identification. Journal of medical microbiology, 69, 5, 712.

Kothari A, Sagar V, 2009. Epidemiology of Candida bloodstream infections in a tertiary care institute in India. Indian journal of medical microbiology, 27, 2, 171.

Kruppa M, 2009. Quorum sensing and Candida albicans. Mycoses, 52, 1, 1-10.

Kullberg BJ, Arendrup MC, 2015. Invasive candidiasis. New England Journal of Medicine, 373, 15, 1445-56.

Kumar K, Askari F, Sahu MS, Kaur R, 2019. Candida glabrata: A lot more than meets the eye. Microorganisms, 7, 2, 39.

Kurtzman C, Smiley M, Johnson C, 1980. Emendation of the genus Issatchenkia Kudriavzev and comparison of species by deoxyribonucleic acid reassociation, mating reaction, and ascospore ultrastructure. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 30, 2, 503-13.

La Cruz-Claure D, María L, Cèspedes-Llave AA, Ulloa MT, Benito-Lama M, Domínguez-Álvarez E, Bastida A, 2019. Inhibition–Disruption of Candida glabrata Biofilms: Symmetrical Selenoesters as Potential Anti-Biofilm Agents. Microorganisms, 7, 12, 664.

Lackner M, Tscherner M, Schaller M, Kuchler K, Mair C, Sartori B, Istel F, Arendrup M, Lass-Flörl C, 2014. Positions and numbers of FKS mutations in Candida albicans selectively influence in vitro and in vivo susceptibilities to echinocandin treatment. Antimicrobial agents and chemotherapy, 58, 7, 3626-35.

Lee KK, MacCallum DM, Jacobsen MD, Walker LA, Odds FC, Gow NA, Munro CA, 2012. Elevated cell wall chitin in Candida albicans confers echinocandin resistance in vivo. Antimicrobial agents and chemotherapy, 56, 1, 208-17.

Lenardon MD, Whitton RK, Munro CA, Marshall D, Gow NA, 2007. Individual chitin synthase enzymes synthesize microfibrils of differing structure at specific locations in the Candida albicans cell wall. Molecular microbiology, 66, 5, 1164-73.

Leroy O, Gangneux J-P, Montravers P, Mira J-P, Gouin F, Sollet J-P, Carlet J, Reynes J, Rosenheim M, Regnier B, 2009. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006). Critical care medicine, 37, 5, 1612-8.

Li P, Li S, Cheng L, Luo L, 2014. Analyzing the relation between the microbial diversity of DaQu and the turbidity spoilage of traditional Chinese vinegar. Applied microbiology and biotechnology, 98, 13, 6073-84.

Lipke PN, Klotz SA, Dufrene YF, Jackson DN, Garcia-Sherman MC, 2018. Amyloid-like β-aggregates as force-sensitive switches in fungal biofilms and infections. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 82, 1, e00035-17.

Liu Y, Filler SG, 2011. Candida albicans Als3, a multifunctional adhesin and invasin. Eukaryotic cell, 10, 2, 168-73.

Lücking R, Hodkinson BP, Leavitt SD, 2017. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota–Approaching one thousand genera. The Bryologist, 119, 4, 361-417.

Luna-Tapia A, Peters BM, Eberle KE, Kerns ME, Foster TP, Marrero L, Noverr MC, Fidel PL, Palmer GE, 2015. ERG2 and ERG24 are required for normal vacuolar physiology as well as Candida albicans pathogenicity in a murine model of disseminated but not vaginal candidiasis. Eukaryotic cell, 14, 10, 1006-16.

Luo S, Dasari P, Reiher N, Hartmann A, Jacksch S, Wende E, Barz D, Niemiec MJ, Jacobsen I, Beyersdorf N, 2018. The secreted Candida albicans protein Pra1 disrupts host defense by broadly targeting and blocking complement C3 and C3 activation fragments. Molecular immunology, 93, 266-77.

Mahelová M, Růžička F, 2017. Methods of Candida dubliniensis identification and its occurrence in human clinical material. Folia microbiologica, 62, 5, 401-8.

Mahmoudabadi AZ, Rezaei-Matehkolaei A, Ghanavati F, 2015. The susceptibility patterns of Candida species isolated from urine samples to posaconazole and caspofungin. Jundishapur journal of microbiology, 8, 3.

Mantzorou A, Navakoudis E, Paschalidis K, Ververidis F, 2018. Microalgae: a potential tool for remediating aquatic environments from toxic metals. International Journal of Environmental Science and Technology, 15, 8, 1815-30.

Marak MB, Dhanashree B, 2018. Antifungal susceptibility and biofilm production of Candida spp. isolated from clinical samples. International journal of microbiology, 2018.

Masuoka J, 2004. Surface glycans of Candida albicans and other pathogenic fungi: physiological roles, clinical uses, and experimental challenges. Clinical microbiology reviews, 17, 2, 281-310.

Mathé L, Van Dijck P, 2013. Recent insights into Candida albicans biofilm resistance mechanisms. Current genetics, 59, 4, 251-64.

Mavor A, Thewes S, Hube B, 2005. Systemic fungal infections caused by Candida species: epidemiology, infection process and virulence attributes. Current drug targets, 6, 8, 863-74.

Mayer FL, Wilson D, Hube B, 2013. Candida albicans pathogenicity mechanisms. Virulence, 4, 2, 119-28.

McBride SG, Strickland M, 2019. Quorum sensing modulates microbial efficiency by regulating bacterial investment in nutrient acquisition enzymes. Soil Biology and Biochemistry.

Melo AV, Zuza-Alves D, da Silva-Rocha W, Canßrio deáSouza LF, Francisco E, SallesádeáAzevedoáMelo A, Chaves GM, 2019. Virulence factors of Candida spp. obtained from blood cultures of patients with candidemia attended at tertiary hospitals in Northeast Brazil. Journal de Mycologie MÚdicale, 29, 2, 132-9.

Merseguel KB, Nishikaku AS, Rodrigues AM, Padovan AC, e Ferreira RC, de Azevedo Melo AS, da Silva Briones MR, Colombo AL, 2015. Genetic diversity of medically important and emerging Candida species causing invasive infection. BMC infectious diseases, 15, 1, 57.

Merzendorfer H, 2011. The cellular basis of chitin synthesis in fungi and insects: common principles and differences. European journal of cell biology, 90, 9, 759-69.

Messer SA, Moet GJ, Kirby JT, Jones RN, 2009. Activity of contemporary antifungal agents, including the novel echinocandin anidulafungin, tested against Candida spp., Cryptococcus spp., and Aspergillus spp.: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006 to 2007). Journal of clinical microbiology, 47, 6, 1942-6.

Mille C, Bobrowicz P, Trinel P-A, Li H, Maes E, Guerardel Y, Fradin C, Martínez-Esparza M, Davidson RC, Janbon G, 2008. Identification of a new family of genes involved in β-1, 2-mannosylation of glycans in Pichia pastoris and Candida albicans. Journal of Biological Chemistry, 283, 15, 9724-36.

Mishra N, Prasad T, Sharma N, Payasi A, Prasad R, Gupta D, Singh R, 2007. Pathogenicity and drug resistance in Candida albicans and other yeast species. Acta microbiologica et immunologica Hungarica, 54, 3, 201-35.

Mitchell KF, Zarnowski R, Sanchez H, Edward JA, Reinicke EL, Nett JE, Mitchell AP, Andes DR, 2015. Community participation in biofilm matrix assembly and function. Proceedings of the National Academy of Sciences, 112, 13, 4092-7.

Mohammadi F, Ghasemi Z, Familsatarian B, Salehi E, Sharifynia S, Barikani A, Hosseini MA, 2020. Relationship between antifungal susceptibility profile and virulence factors in Candida albicans isolated from nail specimens. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 53.

Monds RD, O'Toole GA, 2009. The developmental model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review. Trends in microbiology, 17, 2, 73-87.

Monod M, Hube B, Hess D, Sanglard D, 1998. Differential regulation of SAP8 and SAPS, which encode two new members of the secreted aspartic proteinase family in Candida albicans. Microbiology, 144, 10, 2731-7.

Morales-Reyes C, Mascarin GM, Jackson MA, Hall D, Sánchez-Peña SR, Arthurs SP, 2018. Comparison of aerial conidia and blastospores from two entomopathogenic fungi against Diaphorina citri (Hemiptera: Liviidae) under laboratory and greenhouse conditions. Biocontrol science and technology, 28, 8, 737-49.

Muñoz JF, McEwen JG, Clay OK, Cuomo CA, 2018. Genome analysis reveals evolutionary mechanisms of adaptation in systemic dimorphic fungi. Scientific reports, 8, 1, 4473.

Muradiye Y, 2014. Klinik materyallerden izole edilen candida albicans suşlarinda sap genlerinin araştirilmasi. Tıp fakültesi tıbbi mikrobiyoloji anabilim dalı.

Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B, 2003. Candida albicans secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 67, 3, 400-28.

Naglik JR, Moyes D, Makwana J, Kanzaria P, Tsichlaki E, Weindl G, Tappuni AR, Rodgers CA, Woodman AJ, Challacombe SJ, 2008. Quantitative expression of the Candida albicans secreted aspartyl proteinase gene family in human oral and vaginal candidiasis. Microbiology (Reading, England), 154, Pt 11, 3266.

Negri M, Silva S, Henriques M, Oliveira R, 2012. Insights into Candida tropicalis nosocomial infections and virulence factors. European journal of clinical microbiology & infectious diseases, 31, 7, 1399-412.

Nett JE, Cabezas-Olcoz J, Marchillo K, Mosher DF, Andes DR, 2016. Targeting fibronectin to disrupt in vivo Candida albicans biofilms. Antimicrobial agents and chemotherapy, 60, 5, 3152-5.

Nett JE, Lepak AJ, Marchillo K, Andes DR, 2009. Time course global gene expression analysis of an in vivo Candida biofilm. The Journal of infectious diseases, 200, 2, 307-13.

Nett JE, Sanchez H, Cain MT, Ross KM, Andes DR, 2011. Interface of Candida albicans biofilm matrix-associated drug resistance and cell wall integrity regulation. Eukaryotic cell, 10, 12, 1660-9.

Nobile CJ, Fox EP, Nett JE, Sorrells TR, Mitrovich QM, Hernday AD, Tuch BB, Andes DR, Johnson AD, 2012. A recently evolved transcriptional network controls biofilm development in Candida albicans. Cell, 148, 1-2, 126-38.

Nobile CJ, Johnson AD, 2015. Candida albicans biofilms and human disease. Annual review of microbiology, 69, 71-92.

Noble SM, Gianetti BA, Witchley JN, 2017. Candida albicans cell-type switching and functional plasticity in the mammalian host. Nature Reviews Microbiology, 15, 2, 96.

Nucci M, 2000. Candiduria in hospitalized patients: a review. The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases, 4, 4, 168-72.

Padder SA, Prasad R, Shah AH, 2018. Quorum sensing: A less known mode of communication among fungi. Microbiological research, 210, 51-8.

Pahwa N, Kumar R, Nirkhiwale S, Bandi A, 2014. Species distribution and drug susceptibility of Candida in clinical isolates from a tertiary care centre at Indore. Indian Journal of Medical Microbiology, 32, 1, 44.

Pannanusorn S, Ramírez-Zavala B, Lünsdorf H, Agerberth B, Morschhäuser J, Römling U, 2014. Characterization of biofilm formation and the role of BCR1 in clinical isolates of Candida parapsilosis. Eukaryotic cell, 13, 4, 438-51.

Pappas P, Silveira F, Practice AIDCo, 2009. Candida in solid organ transplant recipients. American Journal of Transplantation, 9, S173-S9.

Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, Reboli AC, Schuster MG, Vazquez JA, Walsh TJ, 2015. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases, 62, 4, e1-e50.

Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ, 2018. Invasive candidiasis. Nature Reviews Disease Primers, 4, 18026.

Pendrak ML, Klotz SA, 1995. Adherence of Candida albicans to host cells. FEMS microbiology letters, 129, 2-3, 103-13.

Pericolini E, Gabrielli E, Amacker M, Kasper L, Roselletti E, Luciano E, Sabbatini S, Kaeser M, Moser C, Hube B, 2015. Secretory aspartyl proteinases cause vaginitis and can mediate vaginitis caused by Candida albicans in mice. MBio, 6, 3, e00724-15.

Persat F, Ranque S, 2009. Intérêts et limites du sérodiagnostic fongique. La lettre de l'infectiologue, 24, 1, 8-18.

Petty LA, Gallan AJ, Detrick JA, Ridgway JP, Mueller J, Pisano J, 2016. Candida dubliniensis pneumonia: a case report and review of literature. Mycopathologia, 181, 9-10, 765-8.

Pfaller MA, Jones RN, Castanheira M, 2014. Regional data analysis of Candida non- albicans strains collected in United States medical sites over a 6- year period, 2006–2011. Mycoses, 57, 10, 602-11.

Pihet M, Marot A, 2013. Diagnostic biologique des candidoses. Revue francophone des laboratoires, 2013, 450, 47-61.

Poissy J, 2015. Physiopathologie des candidoses invasives. Réanimation, 24, 3, 318-27.

Poissy J, Parmentier-Decrucq E, Sendid B, Mathieu D, Poulain D, 2014. Nouveaux marqueurs pour le diagnostic de la maladie fongique invasive. Réanimation, 23, 3, 298-308.

Poulain D, 2000. Physiopathologie et diagnostic des candidoses systémiques. La lettre de l'infectiologue, 15, 5, 182-90.

Preechasuth K, Anderson JC, Peck SC, Brown AJ, Gow NA, Lenardon MD, 2015. Cell wall protection by the Candida albicans class I chitin synthases. Fungal Genetics and Biology, 82, 264-76.

Presterl E, Diab-El Schahawi M, Lusignani LS, Paula H, Reilly JS, 2019. Medical Mycology: Fungal Infections. In: Basic Microbiology and Infection Control for Midwives. Eds: Springer, p. 155-9.

Puspitawati R, Maira U, Suniarti DF, Salma A, 2019. Inhibition and Eradication Effect of Javanese turmeric (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) Extract Against Mature Phase Biofilm of Candida albicans. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clinica Integrada, 19, 1, 4886.

Quindós G, Marcos-Arias C, San-Millán R, Mateo E, Eraso E, 2018. The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar Candida albicans to multiresistant Candida auris. International Microbiology, 21, 3, 107-19.

Raad I, 1998. Intravascular-catheter-related infections. The Lancet, 351, 9106, 893-8.

Radecka D, Mukherjee V, Mateo RQ, Stojiljkovic M, Foulquié-Moreno MR, Thevelein JM, 2015. Looking beyond Saccharomyces: the potential of non-conventional yeast species for desirable traits in bioethanol fermentation. FEMS yeast research, 15, 6.

Raja NS, 2021. Epidemiology, risk factors, treatment and outcome of Candida bloodstream infections because of Candida albicans and Candida non- albicans in two district general hospitals in the United Kingdom. International Journal of Clinical Practice, 75, 1, e13655.

Ramage G, Robertson SN, Williams C, 2014. Strength in numbers: antifungal strategies against fungal biofilms. International Journal of Antimicrobial Agents, 43, 2, 114-20.

Reiss E, 2012. Fundamental Medical Mycology

Errol Reiss

Mycotic Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention,

Atlanta, Georgia

H. Jean Shadomy

Department of Microbiology and Immunology,

Virginia Commonwealth University, School of Medicine, Richmond, Virginia

G. Marshall Lyon, III

Department of Medicine, Division of Infectious Diseases,

Emory University, School of Medicine, Atlanta, Georgia

A JOHN, p.

Riddell IV J, Comer GM, Kauffman CA, 2011. Treatment of endogenous fungal endophthalmitis: focus on new antifungal agents. Clinical Infectious Diseases, 52, 5, 648-53.

Roselletti E, Monari C, Sabbatini S, Perito S, Vecchiarelli A, Sobel JD, Cassone A, 2019. A Role for Yeast/Pseudohyphal Cells of Candida albicans in the Correlated Expression of NLRP3 Inflammasome Inducers in Women with Acute Vulvovaginal Candidiasis. Frontiers in Microbiology, 10, 2669.

Ruiz-Herrera J, 2016. Fungal cell wall: structure, synthesis, and assembly, CRC press, p.

Sadik O, Ditu LM, Gheorghe I, Holban AM, Curutiu C, Parcalabioru GG, Avram I, Banu O, Al-mahdawy O, Alkurjia DA, 2019. Phenotypic and genotypic evaluation of adherence and biofilm development in Candida albicans respiratory tract isolates from hospitalized patients. Revista Romana de Medicina de Laborator, 27, 1, 73-83.

Şahal G, 2016. Investigation of biofilms formed by different clinical candida strains on various materials and effects of different plant substances on these biofilms. Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

Salvatori O, Puri S, Tati S, Edgerton M, 2016. Innate immunity and saliva in Candida albicans–mediated oral diseases. Journal of dental research, 95, 4, 365-71.

Sanchis M, Martin- Vicente A, Capilla J, Guarro J, 2016. Antifungal therapies in murine infections by Candida kefyr. Mycoses, 59, 4, 253-8.

Sanchis M, Pastor FJ, Capilla J, Sutton DA, Fothergill AW, Guarro J, 2014. Experimental therapy with azoles against Candida guilliermondii. Antimicrobial agents and chemotherapy, 58, 10, 6255-7.

Savini V, Catavitello C, Di Marzio I, Masciarelli G, Astolfi D, Balbinot A, Bianco A, Pompilio A, Di Bonaventura G, D'Amario C, 2010. Pan-azole-resistant Candida guilliermondii from a leukemia patient's silent funguria. Mycopathologia, 169, 6, 457-9.

Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B, 2005. Hydrolytic enzymes as virulence factors of Candida albicans. Mycoses, 48, 6, 365-77.

Schaller M, Januschke E, Schackert C, Woerle B, Korting HC, 2001. Different isoforms of secreted aspartyl proteinases (Sap) are expressed by Candida albicans during oral and cutaneous candidosis in vivo. Journal of medical microbiology, 50, 8, 743-7.

Schaller M, Korting HC, Schäfer W, Bastert J, Chen W, Hube B, 1999. Secreted aspartic proteinase (Sap) activity contributes to tissue damage in a model of human oral candidosis. Molecular microbiology, 34, 1, 169-80.

Schild L, Heyken A, de Groot PW, Hiller E, Mock M, de Koster C, Horn U, Rupp S, Hube B, 2011. Proteolytic cleavage of covalently linked cell wall proteins by Candida albicans Sap9 and Sap10. Eukaryotic cell, 10, 1, 98-109.

Seghir A, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K, Sari-Belkharroubi L, Anselme-Bertrand I, 2015. Évaluation du potentiel de formation de biofilms mixtes entre Candida albicans et quelques espèces bactériennes isolées de cathéters vasculaires périphériques au CHU de Tlemcen. Première étude en Algérie. Journal de Mycologie Médicale, 25, 2, 123-9.

Seghir A, Boucherit-Otmani Z, Sari-Belkharroubi L, Boucherit K, 2017. Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (Candida–bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. Journal de Mycologie Médicale, 27, 1, 20-7.

Selim B, Hakan A, Betigül Ö, 2015. Enfeksiyon Patogenezi ve Bağışıklık, Akademi Yayınevi, p.

Sheppard DC, Howell PL, 2016. Biofilm exopolysaccharides of pathogenic fungi: lessons from bacteria. Journal of Biological Chemistry, 291, 24, 12529-37.

Shrief R, Zaki MES, El-Sehsah EM, Ghaleb S, Mofreh M, 2019. Study of Antifungal Susceptibility, Virulence Genes and Biofilm Formation in Candida albicans. The Open Microbiology Journal, 13, 1.

Sikora M, Dabkowska M, Swoboda-Kopec E, Jarzynka S, Netsvyetayeva I, Jaworska-Zaremba M, Pertkiewicz M, Mlynarczyk G, 2011. Differences in proteolytic activity and gene profiles of fungal strains isolated from the total parenteral nutrition patients. Folia microbiologica, 56, 2, 143-8.

Silva-Dias A, Miranda IM, Branco J, Monteiro-Soares M, Pina-Vaz C, Rodrigues AG, 2015. Adhesion, biofilm formation, cell surface hydrophobicity, and antifungal planktonic susceptibility: relationship among Candida spp. Frontiers in microbiology, 6, 205.

Silva S, Henriques M, Oliveira R, Williams D, Azeredo J, 2010. In vitro biofilm activity of non-Candida albicans Candida species. Current microbiology, 61, 6, 534-40.

Singh V, Maurya K, Sen M, Das A, Agarwal J, 2020. Candida biofilm-A medical havoc: Prospective study among the patients in tertiary health care centre in North India. IP International Journal of Medical Microbiology and Tropical Diseases, 4, 3, 109-12.

Siqueira RA, Doi AM, de Petrus Crossara PP, Koga PCM, Marques AG, Nunes FG, Pasternak J, Martino MDV, 2018. Evaluation of two commercial methods for the susceptibility testing of Candida species: Vitek 2® and Sensititre YeastOne®. Revista iberoamericana de micologia, 35, 2, 83-7.

Skerl KG, Calderone RA, Segal E, Sreevalsan T, Scheld WM, 1984. In vitro binding of Candida albicans yeast cells to human fibronectin. Canadian journal of microbiology, 30, 2, 221-7.

Soll DR, 2008. Candida biofilms: is adhesion sexy? Current Biology, 18, 16, R717-R20.

Staib P, Morschhäuser J, 2007. Chlamydospore formation in Candida albicans and Candida dubliniensis–an enigmatic developmental programme. Mycoses, 50, 1, 1-12.

Steinbach WJ, 2016. Pediatric invasive candidiasis: epidemiology and diagnosis in children. Journal of Fungi, 2, 1, 5.

Stoodley P, deBeer D, Lappin-Scott HM, 1997. Influence of electric fields and pH on biofilm structure as related to the bioelectric effect. Antimicrobial agents and chemotherapy, 41, 9, 1876-9.

Sutcu M, Salman N, Akturk H, Dalgıc N, Turel O, Kuzdan C, Kadayifci EK, Sener D, Karbuz A, Erturan Z, 2016. Epidemiologic and microbiologic evaluation of nosocomial infections associated with Candida spp in children: A multicenter study from Istanbul, Turkey. American journal of infection control, 44, 10, 1139-43.

Taieb F, Méchaï F, Lefort A, Lanternier F, Bougnoux M-E, Lortholary O, 2011. Prise en charge des infections systémiques à Candida spp. La Revue de médecine interne, 32, 3, 173-80.

Tedersoo L, Sánchez-Ramírez S, Koljalg U, Bahram M, Döring M, Schigel D, May T, Ryberg M, Abarenkov K, 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. Fungal Diversity, 90, 1, 135-59.

Thajuddin N, 2018. Bacterial morphology.

Thompson DS, Carlisle PL, Kadosh D, 2011. Coevolution of morphology and virulence in Candida species. Eukaryotic cell, 10, 9, 1173-82.

Tobudic S, Kratzer C, Lassnigg A, Presterl E, 2012. Antifungal susceptibility of Candida albicans in biofilms. Mycoses, 55, 3, 199-204.

Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R, 2006. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. International journal of antimicrobial agents, 27, 5, 359-66.

Tóth R, Nosek J, Mora-Montes HM, Gabaldon T, Bliss JM, Nosanchuk JD, Turner SA, Butler G, Vágvölgyi C, Gácser A, 2019. Candida parapsilosis: from genes to the bedside. Clinical microbiology reviews, 32, 2, e00111-18.

Trevijano-Contador N, Rueda C, Zaragoza O. Fungal morphogenetic changes inside the mammalian host. Seminars in cell & developmental biology, 100-9.

Tscherner M, Giessen TW, Markey L, Kumamoto CA, Silver PA, 2019. A synthetic system that senses Candida albicans and inhibits virulence factors. ACS synthetic biology, 8, 2, 434-44.

Tsui C, Kong EF, Jabra-Rizk MA, 2016. Pathogenesis of Candida albicans biofilm. FEMS Pathogens and Disease, 74, 4, ftw018.

Uppuluri P, Zaldívar MA, Anderson MZ, Dunn MJ, Berman J, Ribot JLL, Köhler JR, 2018. Candida albicans dispersed cells are developmentally distinct from biofilm and planktonic cells. MBio, 9, 4, e01338-18.

Vellanki S, Huh EY, Saville SP, Lee SC, 2019. Candida albicans Morphology-Dependent Host FGF-2 Response as a Potential Therapeutic Target. Journal of Fungi, 5, 1, 22.

Vinterová Z, 2015. CANDIDA PARAPSILOSIS SECRETED ASPARTIC PROTEINASES:

PROCESSING AND SECRETION, p.

Walker GM, White NA, 2017. Introduction to fungal physiology. Fungi: biology and applications, 1-35.

Wang H, Xu Y-C, Hsueh P-R, 2016. Epidemiology of candidemia and antifungal susceptibility in invasive Candida species in the Asia-Pacific region. Future microbiology, 11, 11, 1461-77.

Wedge M-È, Naruzawa ES, Nigg M, Bernier L, 2016. Diversity in yeast–mycelium dimorphism response of the Dutch elm disease pathogens: the inoculum size effect. Canadian journal of microbiology, 62, 6, 525-9.

Wen X, 2014. Characterization of Hexose Fermentation Capability of the Pentose-Fermenting Yeast Candida guilliermondii FTI 20037, p.

Whiteway M, Bachewich C, 2007. Morphogenesis in Candida albicans. Annu. Rev. Microbiol., 61, 529-53.

Williams C, Ramage G, 2015. Fungal biofilms in human disease. In: Biofilm-based healthcare-associated infections. Eds: Springer, p. 11-27.

Willinger B, 2019. What Is the Target? Clinical Mycology and Diagnostics. In: Clinically Relevant Mycoses. Eds: Springer, p. 3-24.

Yang Y-L, 2003. Virulence factors of Candida species. Journal of Microbiology Immunology and Infection, 36, 4, 223-8.

Yarar M, 2014. Klinik materyallerden izole edilen Candida albicans suşlarinda sap genlerinin

Araştirilmasi, p.

Yashavanth R, Shiju M, Bhaskar U, Ronald R, Anita K, 2013. Candiduria: prevalence and trends in antifungal susceptibility in a tertiary care hospital of mangalore. Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR, 7, 11, 2459.

Yavuz S, Kocabay S, Çetinkaya S, Akkaya B, Akkaya R, Yenidunya AF, Bakıcı MZ, 2017. Production, purification, and characterization of metalloprotease from Candida kefyr 41 PSB. International journal of biological macromolecules, 94, 106-13.

Young LY, Hull CM, Heitman J, 2003. Disruption of ergosterol biosynthesis confers resistance to amphotericin B in Candida lusitaniae. Antimicrobial agents and chemotherapy, 47, 9, 2717-24.

Yüksekkaya S, Fındık D, Arslan U, 2011. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of Candida species isolated from urine samples of patients in intensive care unit. Mikrobiyoloji bulteni, 45, 1, 137-49.

Zanne AE, Abarenkov K, Afkhami ME, Aguilar- Trigueros CA, Bates S, Bhatnagar JM, Busby PE, Christian N, Cornwell WK, Crowther TW, 2019. Fungal functional ecology: bringing a trait-based approach to plant- associated fungi. Biological Reviews.

Zarnowski R, Westler WM, Lacmbouh GA, Marita JM, Bothe JR, Bernhardt J, Sahraoui AL-H, Fontaine J, Sanchez H, Hatfield RD, 2014. Novel entries in a fungal biofilm matrix encyclopedia. MBio, 5, 4, e01333-14.

Zhang J, Silao FGS, Bigol UG, Bungay AAC, Nicolas MG, Heitman J, Chen Y-L, 2012. Calcineurin is required for pseudohyphal growth, virulence, and drug resistance in Candida lusitaniae. PLoS One, 7, 8, e44192.

Zhao X, Daniels KJ, Oh S-H, Green CB, Yeater KM, Soll DR, Hoyer LL, 2006. Candida albicans Als3p is required for wild-type biofilm formation on silicone elastomer surfaces. Microbiology (Reading, England), 152, Pt 8, 2287.

Zheng Q, Zhang Q, Bing J, Ding X, Huang G, 2017. Environmental and genetic regulation of white-opaque switching in Candida tropicalis. Molecular microbiology, 106, 6, 999-1017.

Zhu W, Filler SG, 2010. Interactions of Candida albicans with epithelial cells. Cellular microbiology, 12, 3, 273-82.

Ziaee M, Vafaeenejad R, Bakhtiari G, Mostafavi I, Gheibi M, Fathabadi JM, Ahmadi MT, 2017. National Nosocomial Infection Surveillance System–based study in north eastern of Iran. Social Determinants of Health, 3, 2, 64-9.

Zijnge V, van Leeuwen MBM, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, Harmsen HJ, 2010. Oral biofilm architecture on natural teeth. PloS one, 5, 2, e9321.

Zuza-Alves DL, de Medeiros SS, de Souza LB, Silva-Rocha WP, Francisco EC, de Araújo MC, Lima-Neto RG, Neves RP, Melo AS, Chaves GM, 2016. Evaluation of virulence factors in vitro, resistance to osmotic stress and antifungal susceptibility of Candida tropicalis isolated from the coastal environment of Northeast Brazil. Frontiers in microbiology, 7, 1783.