

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA*
TÜRLERİNİN ANTİFUNGAL DUYARLILIĞI, VİRULANS
FAKTÖRLERİ VE BİYOFİLM GENLERİNİN ANALİZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ERSİN ŞENTÜRK

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mustafa BEHÇET

BOLU, AĞUSTOS 2025

KABUL VE ONAY SAYFASI

Ersin ŞENTÜRK tarafından hazırlanan “İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TÜRLERİNİN ANTİFUNGAL DUYARLILIĞI, VİRULANS FAKTÖRLERİ VE BİYOFİLM GENLERİNİN ANALİZİ” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir. 14/08/2025

Jüri Üyeleri

Danışman
Doç. Dr. Mustafa BEHÇET
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Muhammet Güzel KURTOĞLU
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Doç. Dr. Fatma AVCIOĞLU
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu ve Şablonuna uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir

Aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %10'dur.

Bu tez çalışması için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2023/422 karar sayılı ve 05.12.2023 tarihli etik kurul onayı alınmıştır

ERSİN ŞENTÜRK

ÖZET

İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA* TÜRLERİNİN ANTİFUNGAL DUYARLILIĞI, VİRÜLANS FAKTÖRLERİ VE BİYOFİLM GENLERİNİN ANALİZİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
ERSİN ŞENTÜRK
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MUSTAFA BEHÇET)

BOLU, AĞUSTOS - 2025
IV + 95 sayfa

Amaç: Bu çalışmada, idrar örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin sıklığı, virülans faktörleri, biyofilm oluşumu ve antifungal duyarlılık profillerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İdrar örneklerinden izole edilen 100 *Candida* türünün antifungal duyarlılıkları için VITEK 2 cihazı, tanımlamaları için ise geleneksel yöntemler ve VITEK 2 cihazı kullanılmıştır. Virülans faktörlerini değerlendirmede hemoliz aktivitesi için %5 koyun kanlı SDA, fosfolipaz aktivitesi için yumurta sarılı agar, proteinaz aktivitesi için %1 sığır serum albumin agar, esteraz aktivitesi için tween 80 agar kullanılmıştır. Fenotipik biyofilm oluşumu modifiye tüp aderans yöntemiyle; ALS1, ALS3 ve HWP1 gen ekspresyon düzeyleri real time PCR yöntemi ile genotipik olarak saptanmıştır.

Bulgular: *Candida* izolatlarının %53'ü yoğun bakımlar, %24'ü poliklinikler ve %23'ü yataklı servislerden gönderilen idrar örneklerinden izole edilmiştir. İzolatların %61'i kadın, %39'u erkek hastalardan elde edilmiştir. En sık tür olarak *Candida albicans* (*C. albicans*) (%57) saptanırken bunu *Candida tropicalis* (%17), *Candida glabrata* (%12) ve diğer non-*albicans Candida* (NAC) (%14) türleri izlemiştir. *C. albicans* izolatlarında hemoliz (%100), esteraz (%98,2), fosfolipaz (%92,9) ve proteinaz (%73,6) aktiviteleri yüksek oranlarda görülmüştür. NAC türlerinde hemoliz *C. albicans* ile aynı (%100) proteinaz ile benzer (%69,7) oranda saptanırken fosfolipaz (%67,4) ve esteraz (%62,7) aktiviteleri daha düşük oranlarda bulunmuştur ($p=0,001$). Fenotipik biyofilm değerlendirmesinde, NAC

izolatlarında güçlü aderans (%44,1) *C. albicans* izolatlarına göre yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). *C. albicans* izolatlarında NAC izolatlarına göre HWP1 (%94,7) ve ALS3 (%96,4) gen ekspresyonları yüksek bulunurken ($p<0,001$) ALS1 gen ekspresyonu açısından fark görülmemiştir. Biyofilm oluşumu ile gen ekspresyonu arasında *C. albicans* izolatlarında anlamlı ilişki saptanmazken, NAC izolatlarında HWP1 ve ALS3 gen ekspresyonları biyofilm oluşumu ile ilişkili bulunmuştur ($p=0,048$). Antifungal duyarlılık testlerinde, *C. albicans* izolatlarında flukonazol ve mikafungine karşı %2, *Candida tropicalis* izolatlarında mikafungine %6; *Candida parapsilosis* izolatlarında flukonazol ve vorikonazole %50, amfoterisin B'ye %40, mikafungine %20; *Candida krusei* izolatlarında ise amfoterisin B'ye %33 direnç saptanmıştır.

Sonuç: *Candida* enfeksiyonlarında tür düzeyinde doğru tanılama, virülans faktörlerinin hem fenotipik hem de genotipik olarak değerlendirilmesi ve antifungal duyarlılık testlerinin rutin uygulamaya dahil edilmesi etkin klinik yönetime katkı sağlayacaktır. Ayrıca daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmakla birlikte HWP1 ve ALS3 genleri idrar yolu enfeksiyonlarında *C. albicans* için moleküler tanıda potansiyel biyobelirteç olarak değerlendirilebilir.

ANAHTAR KELİMELEER: İdrar, *Candida*, Biyofilm, Gen, Antifungal

ABSTRACT

ANALYSIS OF ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY, VIRULENCE FACTORS, AND BIOFILM GENES OF *CANDIDA* SPECIES ISOLATED FROM URINE SAMPLES

THESIS IN MEDICINE

ERSIN SENTURK

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF MEDICAL SCHOOL

DEPARTMENT OF MEDICAL MICROBIOLOGY

(SUPERVISOR: ASSOCIATE PROFESSOR MUSTAFA BEHCET)

BOLU, AUGUST 2025

IV + 95 pages

Objective: This study aimed to investigate the frequency, virulence factors, biofilm formation, and antifungal susceptibility profiles of *Candida* species isolated from urine samples.

Materials and Methods: VITEK 2 device was used for antifungal susceptibilities of 100 *Candida* species isolated from urine samples, and conventional methods and VITEK 2 device were used for their identification. For the assessment of virulence factors, 5% sheep blood SDA was used for hemolytic activity, egg yolk agar for phospholipase activity, 1% bovine serum albumin agar for proteinase activity, and Tween 80 agar for esterase activity. Phenotypic biofilm formation was determined by the modified tube adherence method, while the expression levels of the ALS1, ALS3, and HWP1 genes were genotypically assessed using real-time PCR.

Results: Among the isolates, *Candida* isolates, 53% were isolated from intensive care units, 24% from outpatient clinics, and 23% from inpatient services. The isolates were obtained from 61% female and 39% male patients. *Candida albicans* (*C. albicans*) was the most frequently isolated species (57%), followed by *Candida tropicalis* (17%), *Candida glabrata* (12%), and other non-*albicans Candida* (NAC) species (14%). Among *C. albicans* isolates, hemolytic (100%), esterase (98.2%), phospholipase (92.9%), and proteinase (73.6%) activities were observed at high rates. In NAC species, hemolytic activity was equal to *C. albicans* (100%), proteinase activity was similar (69.7%), whereas phospholipase (67.4%)

and esterase (62.7%) activities were significantly lower ($p=0.001$). In phenotypic biofilm assessment, strong adherence was significantly higher in NAC isolates (44.1%) compared to *C. albicans* isolates ($p<0.001$). While HWP1 (94.7%) and ALS3 (96.4%) gene expressions were found higher in *C. albicans* isolates compared to NAC isolates ($p<0.001$), no difference was observed in terms of ALS1 gene expression. No significant association was observed between biofilm formation and gene expression in *C. albicans* isolates, whereas HWP1 and ALS3 gene expressions were associated with biofilm formation in NAC isolates ($p=0.048$). Antifungal susceptibility tests revealed resistance rates of 2% against fluconazole and micafungin in *C. albicans* isolates. *Candida tropicalis* isolates resistance rates were 6% against micafungin. *Candida parapsilosis* isolates resistance rates were 50% against fluconazole and voriconazole, 40% against amphotericin B, and 20% against micafungin. *Candida krusei* isolates, resistance to amphotericin B was found at 33%.

Conclusion: Accurate species-level identification, phenotypic and genotypic evaluation of virulence factors, and routine implementation of antifungal susceptibility tests in *Candida* infections will contribute to effective clinical management. Additionally, although further studies are needed, HWP1 and ALS3 genes may be considered potential molecular biomarkers for the diagnosis of urinary tract infections caused by *C. albicans*.

KEYWORDS: Urine, *Candida*, Biofilm, Gene, Antifungal

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TABLO LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Tarihçe	4
2.2 <i>Candida</i> Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	4
2.2.1 Morfoloji ve Üreme Özellikleri.....	4
2.2.2 Hücre Yapısı.....	7
2.2.3 Antijenik Yapı	7
2.3 Patogenez ve Patoloji.....	8
2.4 Klinik	9
2.4.1 Yüzeyel Kandidoz	9
2.4.1.1 Deri Kandidozu	9
2.4.1.2 Onikomikoz	9
2.4.1.3 Oral Kandidoz	10
2.4.1.4 Genital Kandidoz.....	10
2.4.1.5 Kronik Muko-kütanöz Kandidoz.....	10
2.4.2 Derin/Sistemik Kandidoz	11
2.4.3 Üriner Sistem Enfeksiyonları ve Üriner Kandidiyazis	11
2.5 Epidemiyoloji ve Kontrol	16
2.6 Tedavi ve Antifungal İlaçlar	17
2.6.1 Mitoz İnhibitörleri	18
2.6.1.1 Griseofulvin.....	18
2.6.2 Azoller	18
2.6.2.1 Ketokanazol.....	18
2.6.2.2 Flukonazol	19
2.6.2.3 İtrakonazol.....	19
2.6.2.4 Vorikonazol	20
2.6.2.5 Posakanazol	20
2.6.3 Ekinokandinler (Anidulafungin, Kaspofungin, Mikafungin)	20
2.6.4 Poliyenler.....	21

2.6.5 Nükleik Asit Sentez İnhibitörleri.....	22
2.6.5.1 Alilaminler.....	22
2.6.6 Diğer Antifungaller.....	22
2.6.6.1 Kitin Sentez İnhibitörleri (Nikkomisin Z, Sordarin ve Azosordarin Türevleri)	22
2.6.6.2 Mannan İnhibitörleri (Pramidisin ve Benanomisinler).....	23
2.7 Virulans Faktörleri.....	23
2.7.1 Adezyon.....	24
2.7.2 Biyofilm (Slime) Üretimi	25
2.7.3 Fenotipik Dönüşüm (Switching) ve Antijenik Çeşitlilik.....	26
2.7.4 Toksinler.....	27
2.7.5 Fosfolipaz Enzimi.....	28
2.7.6 Proteinaz Enzimi	28
2.7.7 Lipaz/Esteraz Enzimi.....	29
2.7.8 Hemolizin Enzimi ile Sideroforları Kullanabilme Yeteneği	30
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	32
3.1 İzolatların Toplanması ve Saklanması.....	32
3.2 İzolatların Tanımlanması	32
3.3 İzolatların Boyanarak Mikroskopik İncelenmesi.....	32
3.4 Germ Tüp Oluşumunun Tespiti.....	32
3.5 Mısır Unlu Tween 80 Besiyerinde Morfolojik Görünüm.....	33
3.6 Kromojenik Besiyerleri	37
3.7 Tür Tanımlaması.....	38
3.8 <i>Candida</i> İzolatlarında Antifungal Duyarlılığın Belirlenmesi	38
3.9 Besiyeri ve Katkıları	39
3.9.1 Hemoliz	39
3.9.2 Fosfolipaz	40
3.9.3 Proteinaz	41
3.9.4 Esteraz	43
3.9.5 Biyofilm.....	43
3.10 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Metot	44
3.10.1 Numune Ön Hazırlık	44
3.10.2 Ekstraksiyon Metot	45
3.10.3 Analiz	45
3.11 Etik Kurul Onayı	46
3.12 İstatistiksel Yöntem	46
4. BULGULAR	47
4.1 İzolatların Dağılımı.....	47
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	78
7. KAYNAKLAR.....	80

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3. 1. Germ tüp pozitif <i>Candida albicans</i> görüntüsü	33
Şekil 3. 2. Mısır unlu agarda <i>Candida albicans</i> klamidospor görüntüsü	34
Şekil 3. 3. Mısır unlu agarda <i>Candida glabrata</i> görüntüsü	34
Şekil 3. 4. Mısır unlu agarda <i>Candida parapsilosis</i> görüntüsü	35
Şekil 3. 5. Mısır unlu agarda <i>Candida krusei</i> görüntüsü	35
Şekil 3. 6. Mısır unlu agarda <i>Candida tropicalis</i> görüntüsü.....	36
Şekil 3. 7. Mısır unlu agarda <i>Candida guilliermondii</i> görüntüsü	36
Şekil 3. 8. Mısır unlu agarda <i>Candida lusitaniae</i> görüntüsü	37
Şekil 3. 9. CHROMagar™ <i>Candida</i> görüntüsü	38
Şekil 3. 10. %5 koyun kanlı SDA'da <i>Candida</i> türü hemoliz aktivitesi	40
Şekil 3. 11. YSA'da <i>Candida</i> türü fosfolipaz aktivitesi	41
Şekil 3. 12. SSAA'da <i>Candida</i> türü proteinaz aktivitesi	42
Şekil 3. 13. TWEEN80 agarda <i>Candida</i> türü esteraz aktivitesi.....	43
Şekil 3. 14. <i>Candida</i> biyofilm tüp aderansı	44
Şekil 4. 1. İzole edilen <i>Candida</i> türlerinin cinsiyete göre dağılımı	47
Şekil 4. 2. İzole edilen <i>Candida</i> türlerinin kliniklere göre dağılımı	48

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Sık kullanılan mantar kültür besiyerleri ve kullanım amaçları	7
Tablo 2.2. Virülans faktörleri ve konaktaki etkileri	24
Tablo 3.1. <i>Candida</i> türleri CHROMagar™ <i>Candida</i> besiyeri renk tanımı	37
Tablo 3.2. Primer ve oligonükleotid dizileri	45
Tablo 4.1. İzolatların cinsiyete göre dağılımları	48
Tablo 4.2. <i>Candida</i> türlerinin virülans faktörleri ve gen ekspresyonları	51
Tablo 4.3. <i>Candida</i> türleri ve antifungal duyarlılıkları	51
Tablo 4.4. Biyofilm pozitifliği ve ilaç direnci arasındaki ilişki	53
Tablo 4.5. <i>C. albicans</i> organizmalarında biyofilm tüp aderansı ile gen ekspresyonları arasındaki ilişki	54
Tablo 4.6. NAC izolatlarında biyofilm tüp aderansı ile gen ekspresyonları arasındaki ilişki	55
Tablo 4.7. <i>C. albicans</i> izolatlarında gen ekspresyonları ile virülans faktörleri arasındaki ilişki	56
Tablo 4.8. NAC izolatlarında gen ekspresyonları ile virülans faktörleri arasındaki ilişki	56
Tablo 4.9. <i>C. albicans</i> ve NAC izolatlarında virülans faktörleri ve gen ekspresyonları arasındaki ilişki	57

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

µL: Mikrolitre

A. fumigatus: *Aspergillus fumigatus*

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AIDS: Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu

ALS: Aglütinin benzeri diziler

BOS: Beyin omurilik sıvısı

C. albicans: *Candida albicans*

C. boidinii: *Candida boidinii*

C. catenulata: *Candida catenulata*

C. colliculosa: *Candida colliculosa*

C. dubliniensis: *Candida dubliniensis*

C. famata: *Candida famata*

C. freyschussii: *Candida freyschussii*

C. glabrata: *Candida glabrata*

C. guilliermondii: *Candida guilliermondii*,

C. haemulonii: *Candida haemulonii*

C. immitus: *Coccidioides immitis*

C. inconspicua: *Candida inconspicua*

C. intermedia: *Candida intermedia*

C. kefyr: *Candida kefyr*

C. krusei: *Candida krusei*

C. lambica: *Candida lambica*

C. lipolytica: *Candida lipolytica*

C. lusitaniae: *Candida lusitaniae*

C. magnoliae: *Candida magnoliae*

C. neoformans: *Cryptococcus neoformans*

C. norvegensis: *Candida norvegensis*

C. pelliculosa: *Candida pelliculosa*

C. pulcherrima: *Candida pulcherrima*

C. parapsilosis: *Candida parapsilosis*

C. rugosa: *Candida rugosa*

C. sake: *Candida sake*
C. spherica: *Candida spherica*
C. tropicalis: *Candida tropicalis*
C. utilis: *Candida utilis*
C. viswanathi: *Candida viswanathi*
C. zeylanoides: *Candida zeylanoides*
Ca²⁺: Kalsiyum
CaCl₂: Kalsiyum klorür
CaCl₂6H₂O: Kalsiyum klorür hekzahidrat
CDC: Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri
COVID-19: Koronavirüs hastalığı 2019
CYP: Sitokrom
DNA: Deoksiriboz nükleik asit
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
E. histolytica: *Entamoeba histolytica*
EAP: Ekstrasellüler yapışma proteini
ECE: Endotelin dönüştürücü enzim
EGFR: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
EMB: Eozin metilen mavisi
EPS: Ekstrasellüler polisakkaritler
FDA: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
G-CSF: Granülosit-koloni uyarıcı faktör
GM-CSF: Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
GPI: Glikozilfosfatidilinozitol
H capsulatum: *Histoplasma capsulatum*,
HIV: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
HWP: Hifal duvar proteini
Ig: İmmünoglobulin
IL: İnterlökin
INT: İntegraz
İYE: İdrar yolu enfeksiyonları
K⁺: Potasyum

KCFT: Karaciğer fonksiyon testleri

kDa: Kilodalton

L. monocytogenes: *Listeria monocytogenes*

M. furfur: *Malassezia furfur*

M. tuberculosis: *Mycobacterium tuberculosis*

MAPK: Mitojenle Aktive Edilmiş Protein Kinazlar

MÖ: Milattan Önce

NAC: Non-*albicans Candida*

NaCl: Sodyum klorür

NNIS: Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Gözetim Sistemi

P. boydii: *Pseudallescheria boydii*,

P. jirovecii: *Pneumocystis jirovecii*

P. marneffei: *Penicillium marneffei*

P.brasiliensis: *Paracoccidioides brasiliensis*

PBS: Fosfat tamponlu tuzlu su

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PFT: Porlar oluşturan toksin

PLB: Fosfolipaz B

PNA FISH: Peptid nükleik asit floresans in situ hibridizasyon

RNA: Ribonükleik asid

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

S. cerevisiae: *Saccharomyces cerevisiae*

S. schenkii: *Sporothrix schenkii*

SAP: Salgısal Aspartil Proteinazlar

SDA: Sabouraud Dekstroz Agar

SOD: Süperoksit dismutaz

spp.: Taksonomide bir cinse ait tüm türleri ifade eden bir kısaltma.

SSAA: Sığır serum albumin agar

T. beigelii: *Trichosporon beigelii*

T. gondii: *Toxoplasma gondii*

UDP: Üridin difosfat

ÜSE: Üriner Sistem Enfeksiyonu

VVK: Vulvovajinal kandidoz

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

YEPD: Yeast extract pepton dextrose buyyon

YSA: Yumurta sarılı agar



TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasından tamamlanmasına kadar geçen süreçte her aşamada değerli katkılarını esirgemeyen ve akademik rehberliği,engin bilgi birikimi ve sabırlı yaklaşımıyla bana yol gösteren saygıdeğer danışman hocam çok değerli Sayın Doç. Dr. Mustafa BEHÇET'e

Asistanlık eğitimim süresince bana her türlü desteği veren, bilgi ve deneyimlerini sürekli paylaşan Sayın Prof. Dr. Muhammet Güzel KURTOĞLU ve Sayın Doç. Dr. Fatma AVCIOĞLU hocalarıma

Asistanlık süresi boyunca beraber çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum başta Sayın Uzm. Dr. Yusuf AFŞAR'a ve sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Ayşe MERDEN, Dr. Sare AYBEK, Dr. Hakan Burak ÇELİK, Dr. Ayça Çisem HARRE, Dr. Elif SOYSAL ve Dr. Hilal Ecem ALBAŞ'a

Dostluklarını ve desteklerini yüreğimde hissettiğim, onlarla çalışmaktan mutluluk duyduğum laboratuvarıda görev yapan tüm saygıdeğer arkadaşlarıma

Tezimin istatistiksel değerlendirme kısmına yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Oya KALAYCIOĞLU'na

Tezimin geliştirilmesi için finansal destek sunan Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği'ne

Bu süreçte duaları ve motivasyonları ile desteklerini esirgemeyen tüm akrabalarıma Hayatım boyunca her daim yanımda olan üstümde sonsuz emekleri bulunan kıymetlilerim annem Sema ŞENTÜRK'e, babam Ahmet ŞENTÜRK'e ve sevgili abim Eren ŞENTÜRK'e

Her daim beni destekleyen, kendimi çok değerli hissettiren ve yoğun /yorucu zamanlarımda sabır gösteren, hayat arkadaşım, sevgili eşim Gülay BAKIŞLI ŞENTÜRK'e

En içten saygı ve sevgilerimle teşekkür ederim.

Ersin ŞENTÜRK BOLU 2025

1. GİRİŞ

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olup dünya çapında önemli bir ekonomik yük oluşturmaktadır. Bir tür maya olan kandidaların sebep olduğu kandidiyazis tablosu normalde cilt florası ve iç organlarda bulunmasına karşın çeşitli predispozan faktörler varlığında (çoklu antibiyotik kullanımı, yoğun bakımda uzamış yatış süreleri, santral venöz katater varlığı, immunsupresyon, geçirilmiş cerrahi operasyon, hemodiyaliz, diyabet varlığı, preterm bebekler) hastalık gelişimine neden olabilmektedir. Başta *Candida albicans* (*C. albicans*) olmak üzere *Candida glabrata* (*C. glabrata*) *Candida Candida tropicalis* (*C. tropicalis*), *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*) ve *Candida krusei* (*C. krusei*) %90 ve üzerinde invaziv hastalık ile ilişkili olabilmektedir. Sağlıklı bireylerin idrar örneklerinde <%1'in altında *Candida* türleri tespit edilebilmektedir. Pozitif idrar kültür sonuçlarının birinci basamaktan üçüncü basamağa kadar %5 ila %10' undan daha fazlasından sorumlu tutulmaktadır. Hastanede yatan hastalarda idrarda *Candida* türlerinin varlığı yaygın görülmele beraber tedavi gerektiren hastaların %90 kadarına yatış verildiği, ortalama 3-13 gün hastane yatış süresiyle \$6,000 ila \$29,000 arasında her bir hastada sağlık harcamalarına sebep olduğu bildirilmektedir. Semptomu olmayan yetişkin hastalarda kandidüri sıklıkla kolonizasyonu veya kontaminasyonu gösterebilir. Klinisyenler tarafından bu klinik bulgu göz ardı edilmemelidir. Çünkü idrarda mayaların varlığı, İYE'lerdeki etiyolojik önemlerinden veya genitoüriner sistemdeki bir patolojiden (vulvovajinal kandidiyazis gibi) kaynaklanıyor olabilir. Bunun yanısıra kandidüri, %30-40'luk kaba bir ölüm oranıyla ilişkili olan yaygın kandideminin bir belirtici olarak da işlev görebilir. *Candida* türlerine bağlı idrar yolu enfeksiyonlarının epidemiyolojik dağılımı coğrafi farklılıklar göstermektedir; bu bağlamda, yerel epidemiyolojik verilerin düzenli aralıklarla analiz edilmesi ve uluslararası literatürdeki bulgularla karşılaştırılarak ülkemize özgü durumun ortaya konması son derece önemlidir (1).

Etken mikroorganizmaların konak savunma mekanizmalarını bozarak hastalık yapabilme yeteneği gösteren çeşitli faktörler virulans faktörü olarak adlandırılır. *Candida* türlerinin sahip oldukları başlıca virulans faktörleri adezyon, enzimler (proteinaz, fosfolipaz, esteraz vb), toksinler, morfolojik ve fenotipik

değişim, hidrofobisite ve hemolizin enzimi ile sideroforları kullanabilme yeteneği ve biyofilm yapımıdır. Birçok mikrobiyal enfeksiyonun patogeneğinde önemli rol oynayan adezyon; erken aşamada enfeksiyonun kontrolünde kritik rol oynamaktadır. Adezyona sahip türlerin daha virulan olduğu gösterilmiştir. Epitel hücrelere sıkı bağlanmayı sağlayan hifal hücre duvar proteini (HWP) invazyonda önemli rol oynamaktadır. Hifler tarafından salgılanan proteinaz ve fosfolipaz enzimleri ise epitelyal hücrelere zarar vererek invazyonu kolaylaştırmaktadır. *Candida*'lar tarafından oluşturulan organik polimerik matriksle kaplı hücre kolonilerine biyofilm denilmektedir. Biyofilmler mikrobiyal büyüme faktörlerini temsil etmekle beraber invaziv aletlerin yüzeylerinde (özellikle plastik yüzeylerde) saptanabilmektedir. Biyofilm yapımı antifungal tedaviye karşı önemli bir direnç sağlar ve hücreleri konağın bağışıklık tepkilerinden korur. Biyofilmlerin gen regülasyonu çok karmaşıktır ve hala tam olarak anlaşılamamıştır. Adhezyon, hif oluşumu, ekstrasellüler polisakkaritlerin (EPS) üretimi, proliferasyon, olgunlaşma ve dispersiyonu sağlayan çok sayıda gen biyofilm oluşumunu düzenlemektedir. Biyofilm oluşumu ilişkili en sık eksprese olan genler ise ALS1, ALS3, HWP1'dir. Biyofilm oluşumunun temel mekanizmalarının aydınlatılması, invaziv *Candida* enfeksiyonlarının anlaşılmasını ve tedavisini ilerletmek için gereklidir (2-4).

Ayrıca *Candida* izolatlarının biyofilm üretme kapasitesine ilişkin bilgi, klinisyenin virülansı değerlendirmesine ve hasta için uygun bir antifungal tedavi planı tasarlamasına yardımcı olacaktır. Ağır hastalarda kandidüri dikkatle değerlendirilmelidir çünkü bu tıbbi durum invaziv kandidiyazın tek göstergesi olabilir. Kandidürinin tespit edilmesi tedavide başarı ve hastaların hayatta kalma olasılığını artırır.

Candida türlerinin ve antifungal duyarlılık paternlerinin bilinmesi hastanın zamanında uygun şekilde tedavi edilebilmesi için esastır. Dünya genelinde *Candida*'lara karşı artan antifungal direnç önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC) verilerine göre izole edilen *Candida*'ların %7'sinin flukonazole karşı dirençli olduğu bunların ise %70'ten fazlasının *C.glabrata* ve *C.krusei* olduğu ve geçmiş 20 yılda direncin arttığını bildirmişlerdir (5).

Bu çalışmada kandidürinin etiyolojisinin coğrafi bölgeye ve hastaneye göre değiştiği göz önüne alınarak idrar örneklerinden izole ettiğimiz *Candida* izolatlarının tür dağılımını, virölans faktörlerini, biyofilm genlerini ve antifungal duyarlılık paternlerini inceleyerek hastanemiz verilerini ortaya çıkarmak ve tedavi aşamasında klinisyenlere yardımcı olunması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Candida 'ların keşif ve adlandırılması antik Yunan tarihine kadar dayanmaktadır. Milattan önce (MÖ) 400'lü yıllarda Hipokrat, "Epidemiler Üzerine" adlı eserinde oral kandidiyazisi "aftöz ülserasyonlarla etkilenmiş ağızlar" olarak tanımlamıştır. Charles Cagniard-Latour, Friedrich Kützing ve Theodor Schwann 1836-1838 yılları arasında yaptıkları çalışmalarda mayayı yaşayan bir organizma olarak göstermişlerdir. Schwann ise bu organizmayı sonradan mantar olarak tanımlamıştır. 1839 yılında Langenbeck pamukçukla ilişkili mantarı ilk belgelendiren bilim adamı olmuştur. 1847 yılında Charles Philippe Robin, pamukçuk ilişkili mantarı "Oidium albicans" olarak sınıflandırmış ve bu hususta albicans (beyazlatmak) kelimesini kullanmıştır. Hill ve sonrasında Martin ve Jones *Candida*'yı bitkilerde görülen Monilia cinsine ait olarak yanlış sınıflandırmışlardır. İlerleyen zamanlarda, mikologlar tarafından pamukçukla ilişkili mantar ile Monilia cinsindeki mantar arasındaki morfolojik farklılıkları açıklamış olmalarına rağmen klinisyenler tarafından pamukçuk etiyolojisinden dolayı hatalı bir şekilde "Monilias" olarak kullanmışlardır. Christine Marie Berkhout özellikle bu mantarın insanları enfekte etme yeteneğini fark etmiş ve mevcut cinsi *Candida* altında yeniden sınıflandırmıştır (6).

Candida cinsinde yaklaşık 200'den fazla organizma türü bulunmakla beraber insanda yaklaşık 40'ı patojendir. Başlangıçta *Candida* türleri, eşeyli sporlar olmaksızın hif veya psödohif oluşturabilen "askomiçet" mayalar olarak tanımlanmıştır. Son filogenetik analizlere göre *Candida* türlerinin mantar aleminde Ascomycota bölümü, Hemiascomycetes sınıfı, Saccharomycetales takımı ve Saccharomycetaceae ailesi altında Saccharomycotina alt bölümü içindeki polifiletik bir gruba ait olduğu doğrulanmıştır (7).

2.2 *Candida* Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

2.2.1 Morfoloji ve Üreme Özellikleri

Mantarlar morfolojik olarak filamentöz (küf benzeri) veya tek hücreli maya olacak şekilde iki temel yapıya sahiptir. Bunun dışında çevre koşullarıyla değişen dimorfik özellik gösteren türler de mevcuttur.

Filamentöz mantarlar: Vejetatif bir gövde veya iplikçik kitlesine benzer görünümündedir. Uç kısımlarında uzama ve dallanma gösteren kitlesel hifal yapı miçelyum olarak adlandırılır. Hiflerin bazılarında septa görülebilirken bazılarında ise septa bulunmamaktadır. Hif yapısı yoğun kümeler oluşturduğu durumlarda miçelyum doku görünümüne sahip olabilir.

Maya benzeri mantarlar: Bakteri hücresinden daha büyük ve küme oluşturmeyen daha çok tekli halde bulunan mantarlardır. Sıklıkla tomurcuklanarak üreme gösterirler (8).

Candida'lar oval, ince duvarlı, kapsülsüz, hareketsiz, Gram-pozitif, 4-6 µm çapında, lateral tomurcuklanma (blastospor) ile aseksüel olarak üreyen fakültatif anaerob mayalardır. Kültür ve dokularda tomurcuklanma sırasında meydana gelen uzantının ana hücreden ayrılmaması sonucu yalancı hif oluşturubildikleri gibi tomurcuklanan maya hücrelerinin septalarla ayrılarak apikalde uzamasıyla boğumlanma göstermeyen, bölmeli ve düzgün kenarlı gerçek hif de oluşturabilirler (9).

Çevre koşullarına göre *C. albicans* morfolojisi de değişebilmektedir. Düşük pH (<6) koşullarında maya formunda iken daha yüksek pH (> 7)'da hif formunun oluşumu tetiklenir. Serum veya N-asetilglukozaminin varlığı, fizyolojik sıcaklık ve CO₂ gibi birçok koşul da hif oluşumunu teşvik eder (10).

Candida türlerinin üremesi: Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) ve kanlı agarda oda ısısında (25°C) ve 35,5°C de 24 saatte üremeye başlamaktadır fakat belirgin üreme ise 48-72 saate kadar uzayabilmektedir. Çoğunluğu saprofit olarak bulunan *Candida* türleri, patojen *Candida* türlerine kıyasla daha düşük sıcaklıklarda üremektedirler. Bu yüzden vücut sıcaklığında üreyemeyen saprofit *Candida* mantarları sebebiyle insanda patojen olarak kabul edilen *Candida* türleri sınırlıdır. Bunlardan başlıcaları *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *Candida guilliermondii* (*C. guilliermondii*), *Candida kefyr* (*C. kefyr*), *Candida lusitanae* (*C. lusitanae*), *Candida dubliniensis* (*C. dubliniensis*) sıklıkla saptanmakla beraber; nadiren *Candida boidinii* (*C. boidinii*), *Candida colliculosa* (*C. colliculosa*), *Candida famata* (*C. famata*), *Candida freyschussii* (*C. freyschussii*), *Candida utilis* (*C. utilis*), *Candida catenulata* (*C. catenulata*), *Candida inconspicua* (*C. inconspicua*), *Candida pelliculosa* (*C. pelliculosa*), *Candida pulcherrima* (*C.*

pulcherrima), *Candida rugosa* (*C. rugosa*), *Candida lipolytica* (*C. lipolytica*), *Candida magnoliae* (*C. magnoliae*), *Candida norvegensis* (*C. norvegensis*), *Candida viswanathi* (*C. viswanathi*), *Candida haemulonii* (*C. haemulonii*), *Candida intermedia* (*C. intermedia*), *Candida lambica* (*C. lambica*), *Candida sake* (*C. sake*) ve *Candida zeylanoides* (*C. zeylanoides*) saptanabilmektedir (11). Ayrıca *Candida* türleri üremeleri için %30-40 oranında bağıl neme ihtiyaç duyarlar. Diğer *Candida* türlerine kıyasla *C. albicans*'ta bağıl nemin %60 ve üstü olduğu durumlarda üremelerinin olumsuz etkilendiği görülmüştür (12).

Maya hücresinin filamentöz uzantıları germ tüp olarak adlandırılır. Geleneksel tanımlamada germ tüp oluşturma *C. albicans* için büyük bir öneme sahiptir. Bununla beraber *C. dubliensis*'in de germ tüp yapacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu hususta 45 °C'de üreyememe, klamidospore oluşumunun daha fazla gözlenmesi, karbonhidrat asimilasyon test profili, peptid nükleik asit floresans in situ hibridizasyon (PNA FISH) testinin negatif olması, deoksiriboz nükleik asit (DNA) dizi analizi ile *C. albicans*'tan ayırt edilebilirler (9).

Mısır unlu tween 80 agarda *Candida* türlerinin üreme şekillerine göre ön tanımlama yapılabilmektedir. Blastokonidyumların özellikleri ve yalancı hif varlığına göre *Candida* türleri kendi aralarında farklılıklar gösterir. Mısır unlu agarda *C. albicans*'ın klamidospore üretimi dışında üreme özelliklerinin tanısal önemi olmadığından türler arasında kesin tanı biyokimyasal testler ve şeker asimilasyon testleri ile belirlenir. Konvansiyonel yöntemlerle birlikte üreaz, nitrat redüksiyonu, kafeik asit üretimi de tanıda yardımcıdır. Ayrıca ticari maya tanımlama sistemleri de tanıya yardımcıdır. Sık kullanılan mantar kültür besiyerleri ve kullanım amaçları Tablo 2.1'de gösterilmiştir (9).

Karışık kültürlerde klinik açıdan önemli olan *Candida* izolatlarını renk paternleri ve koloni morfolojisiyle ayırt etmeye yarayan CHROMagar™ kromojenik besiyerleri de maya türlerinin ayırımında kullanılmaktadır (9).

Tablo 2.2.1. Sık kullanılan mantar kültür besiyerleri ve kullanım amaçları

Besiyeri	Kullanım Amacı
Sabouraud dekstroz agar	Geleneksel besiyeri. Mantarlar iyi üremesine rağmen; yüksek glukoz içeriği sporulasyonu baskılar
Sabouraud kalp infüzyon agar	Zor üreyen saprofit ve dimorfik mantar izolasyonu
Beyin kalp infüzyon agar	Saprofit ve dimorfik mantar izolasyonu
Mycosel/Mikobiyotik agar	Dermatofit ve dimorfik mantar izolasyonu
Patates dekstroz agar	Zor ve yavaş üreyen saprofit ve dimorfik mantar izolasyonu
İnhibitörlü küf agar	Bakteri floralı örneklerde mantar izolasyonu

2.2.2 Hücre Yapısı

Mantar hücreleri, ökaryotik hücre özellikleri taşımakta ve nükleus ile organelleri içeren sitoplazma, sitoplazma zarı, hücre duvarı ve bazı türlerde kapsül gibi yapılar bulundurmaktadır.

Candida türlerinin sitoplazmaları, hücre membranı ve bunun dışında yer alan kalın, çok tabakalı bir hücre duvarı ile çevrilidir. Hücre duvarı hücreyi dış etkilere karşı korur, hücreye şekil ve dayanıklılık kazandırır. Yapısında glukanlar (β -1,3-glukan ve β -1,6-glukan (%50-60), kitin (%0.6-9), mannanlar (%15,2-22,9), proteinler (%6-25) ve lipitler (%1-7) bulundurur (11). Genellikle 3-6 tabakadan oluşur ve beta (β)-glukan içeren 7-50 nm çapında mikrofibril demetleri tarafından çevrelenmiştir. Her biri 5-7 nm çapında olan mikrofibriller, hücre duvarını çevreleyerek bir fibril ağı (fibrillar network) oluşturur. Bu yapı hücre duvarında bulunan mannoproteinler, kitin ve diğer proteinler için matriks işlevi görür.

Hücre duvarının önemli bir bileşeni olan ve hücre duvarına sertlik kazandıran kitin, ergosterol sentezi sırasında üretilmektedir. Ergosterol ise mikrozomal sitokromlarında bulunan lanosterol-14 α -demethylase enzimi tarafından sentezlenmekte ve hücre zarının yapısında bulunmaktadır (13).

2.2.3 Antijenik Yapı

Hücre duvarında bulunan mannanın farklılıklarına göre *C. albicans* A ve B olmak üzere iki serotipe ayrılmaktadır. Bununla birlikte *C. tropicalis* serotip A ile benzer yakınlıktadır. Potent immunojen olan mannan proteini dışında enolaz, salgısal proteazlar ve ısı şok proteinleri de *C. albicans*'ın antijenleri arasındadır.

Candida'lar ile günlük yaşamda sık sık temas halinde olunmasından ötürü bireylerin serumlarında mantara karşı özgül antikorlar ve hücresel bağışıklık gelişmektedir. Sistemik kandidoz olgularında *Candida* hücre duvarı, mannan lateks aglütinasyon testi ve enzim immunoassay ile gösterilmekle beraber *Candida* antijenlerine karşı özgül antikor seviyelerinde artış görülmektedir (14).

2.3 Patogenez ve Patoloji

Candida türleri floranın doğal bileşenleri arasında da yer almakta olup, belirli koşullar altında fırsatçı patojenler hâline gelerek endojen kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Floradaki kolonizasyon yoğunluğunun artması ise enfeksiyon gelişme riskini önemli ölçüde artırmaktadır.

Candida'ların sebep olduğu hastalıklar yüzeysel ve derin olmak üzere iki grup altında sınıflandırılabilir. İç organ ve sistemik tutulum, derin; deri mukoza tutulumu ise yüzeysel kandidoz olarak isimlendirilmektedir.

Deri veya mukozadaki çatlaklardan yalancı hifleri ile içeriye giren *Candida* türleri blastokonidyumları aracılığıyla dokuya yayılarak yüzeysel mantar enfeksiyonlarına sebep olabilirler.

Candida türleri, gastrointestinal sistemde kolonize hâlde bulunmakta olup, mukozal bütünlüğün bozulması veya diğer invazyon mekanizmaları yoluyla dolaşım sistemine geçebilmektedir. Bu durum özellikle immünsüpresif hastalarda, sistemik ve derin kandidiyazis gibi ciddi enfeksiyonlara zemin hazırlamaktadır.

Kandidoz gelişmesini kolaylaştıran etmenler:

- Hücresel immun yetmezlikler
- Nötropeni
- Diabetes mellitus
- Kortikosteroid kullanımı
- İmmunosüpresif ilaç kullanımı
- Geniş etkili antibiyotik kullanımı
- Deri hasarı
- Ameliyat geçirme öyküsü
- Yanıklar

- Katater kullanımı
- Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu (AIDS)

C. albicans türlerinin bazılarında gözlemlenen virülans ilişkili fenotipik değişiklikler, invazif enfeksiyon etkeni olan kökenlerde daha yaygın olarak görülmektedir. Bazı *Candida* türleri ise epitelyal yüzeye yapışmayı sağlayan adezyon molekülleri ile hif oluşumuna ve sonucunda epitelyal hasara sebep olan aspartil proteinaz enzimine sahiptirler.

Histolojik olarak *Candida* enfeksiyonu dokularda granülatöz yanıt ve apse formasyonuna sebep olabilir. Mukozal tutulumda, epitel yüzeyde blastokonidyum ve hif yapılarının bir araya gelmesiyle oluşan, “pamukçuk” olarak adlandırılan beyaz renkli yalancı membran görünümü tipik bir histopatolojik bulgu olarak kabul edilmektedir.

Hücrel bağışıklık yanıtı içerisinde CD4⁺ T lenfositler, mukokütanoz kandidiyazis gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca sistemik kandidoza karşı bireylerin nötrofil yanıtı önemli bir koruyucu etkidir (14).

2.4 Klinik

2.4.1 Yüzeyel Kandidoz

2.4.1.1 Deri Kandidozu

Sıcak ve katlantı yerlerinde (aksilla, el-ayak parmak arası, meme altı dokusu, kasık çizgileri) sık görülen, diyabet ve obezite gibi kolaylaştırıcı etmelerle ortaya çıkan derideki lezyonlardır. Sıklıkla yüzeyel erozyon şeklinde olmakla birlikte veziküller lezyonlar da gelişebilmektedir. Bulaşıkçılar, aşçılar, balıkçılar gibi çeşitli sektörlerde çalışan bireyler ile ev hanımları, sürekli nemli kalan elleri nedeniyle bu tür lezyonlara daha sık maruz kalmakta ve bu durum meslek hastalıkları kapsamında değerlendirilebilmektedir. Ayrıca *Candida* türlerinin sıklıkla etken olduğu ve özellikle yenidoğanlarda gözlemlenen klinik tablolardan biri de bebek bezi dermatitidir (8,9,13,14).

2.4.1.2 Onikomikoz

Nemin önemli bir kolaylaştırıcı etmen olduğu genellikle el parmak tırnaklarında sık görülen tırnak ve tırnak çevresi yumuşak dokunun enfeksiyonudur.

Yumuşak dokuda başlayan kızarıklık, ödem, piyojenik enfeksiyon zamanla tırnağın düşmesine neden olabilmektedir (8,9,13,14)

2.4.1.3 Oral Kandidoz

Oral kavitenin mukozal membranı, kandidiyazisin en sık tutulum gösterdiği bölgeler arasında yer almaktadır. Diyabetikler, kortikosteroid kullananlar, hücrel immun yanıtı bozulmuş kişilerde ağız mukozasının tüm bölgelerinde (dudak, dil, yanak, dişeti) görülebilen pamukçuklarla seyreden bir klinik tablodur. Bu lezyonlar zamanla birleşerek ülseratif bir görünüm alabilir ve orofarinkse hatta hipofarinkse kadar yayılım gösterebilir. Ödemli ve eritemli bir tabana sıkıca yapışmış beyaz plakların kaldırılmasıyla eksüdasından alınan Gram boyalı mikroskopik incelemede yalancı hifler ve blastokonidyumların görülmesi oral kandidiyazis tanısını desteklemektedir. Özellikle insan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) enfeksiyonunun ileri evrelerinde, lezyonlar özefagusa kadar yayılabilmekte ve sistemik kandidiyazisin bir göstergesi olabilmektedir. Ayrıca doğum sırasında enfekte anneden yenidoğana geçiş yoluyla da oral kandidiyazis gelişebilmektedir. Pamukçuk olgularında etken genellikle *C. albicans* olmakla birlikte, *C. dubliniensis* gibi diğer türler de izole edilebilmektedir. Tutulum yalnızca orofaringeal bölgeyle sınırlı kalmayıp; trakea, bronş mukozası ve tüm gastrointestinal sistem boyunca yayılarak gastrit, enterit, özofajit ve perianal kandidiyazis gibi klinik tablolara yol açabilmektedir (8,9,13,14).

2.4.1.4 Genital Kandidoz

Doğurganlık çağındaki kadınlarda sık görülen vulvovajinal kandidiyazis, doğum kontrol hapı kullanımı, diyabet ve gebelik gibi predispozan faktörlerin varlığında gelişebilmektedir. Klinik tablo genellikle vajinal irritasyon, kaşıntı ve beyaz renkli akıntı ile karakterizedir. Özellikle HIV pozitif bireylerde olmak üzere, enfeksiyonun sık sık tekrarlaması önemli bir klinik sorun teşkil etmekte olup; cinsel yolla bulaş ihtimali de göz önünde bulundurulduğunda, eşlerin birlikte tedavi edilmesi önem taşımaktadır (8,9,13,14).

2.4.1.5 Kronik Muko-kütanöz Kandidoz

Lökosit formasyonundaki bozukluklar ve özellikle endokrin sistemin baskılandığı genetik hastalıklar, deri ve mukozal membranlarda fırsatçı mantar enfeksiyonlarının gelişimine zemin hazırlamaktadır. Hücrel immün yetmezliği

bulunan bireylerde, antifungal tedavilere dirençli, erken dönemde başlayan yaygın deri ve/veya mukozal lezyonlarla seyreden karakteristik bir klinik tablo ortaya çıkmaktadır. Timik displazi, miyeloperoksidaz eksikliği ve hipoparatiroidizm gibi immün sistemi etkileyen konjenital bozukluklar, bu enfeksiyonların gelişiminde önemli predispozan faktörler arasında yer almaktadır (8,9,13,14).

2.4.2 Derin/Sistemik Kandidoz

Kandidemiye yatkınlık oluşturan risk faktörlerinin varlığı, derin ya da sistemik kandidoz gelişimini kolaylaştırabilmektedir. Konak savunma mekanizmaları, enfeksiyonun gelişiminde kritik rol oynamaktadır. Özellikle fagositik aktivitenin bozulduğu durumlarda, kandidemi; kalp, göz, böbrek, karaciğer, dalak, beyin ve deri gibi çeşitli organlarda enfeksiyon odaklarının gelişimine neden olabilmektedir. Bu bağlamda, *Candida* endokarditi özellikle protez kapak taşıyan hastalarda daha sık gözlenmektedir. Hepatosplenomegali ile seyreden aynı zamanda alkalen fosfataz yüksekliği ve karın ağrısının eşlik ettiği hepatosplenik kandidoz tablosu görülebilmektedir.

Ayrıca organ nakli yapılan hastalarda, özellikle akut rejeksiyon dönemlerinde, sistemik *Candida* enfeksiyonları gelişebilmektedir. Diyabetik bireyler, üriner katater kullananlar, gebelerde de sıklıkla *Candida* etkenli sistit gelişebilmektedir (8,9,13,14).

2.4.3 Üriner Sistem Enfeksiyonları ve Üriner Kandidiyazis

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), mikroorganizmaların üriner sistemin bir ya da birden fazla bölgesine invazyonu ve çoğalmasıyla karakterize edilen enfeksiyöz hastalıklardır. Üriner sistem, böbrek, böbrekleri mesaneye bağlayan üreterler, idrarı mesaneden dış ortama ileten üretradan oluşmaktadır.

Her iki cinsiyette anatomik olarak bazı farklılıklar bulunmaktadır. Kadınlarda üriner ve genital sistemler anatomik olarak birbirinden bağımsızken, erkeklerde bu iki sistem özellikle üretra düzeyinde ortak bir yapıya sahiptir. Kadınlarda üretranın daha kısa olması (yaklaşık 3-5 cm) ve vajinal açıklığa yakın konumu, mikroorganizmaların invazyonuna karşı daha savunmasız bir yapı oluşturmakta ve bu durum kadınlarda ÜSE gelişme riskini artırmaktadır.

Erkeklerde ise üretra uzunluğu yaklaşık 18-20 cm'dir ve penis ucunda sonlanmaktadır.

Dünya genelinde en sık karşılaşılan enfeksiyon hastalıkları arasında yer alan ÜSE Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl yaklaşık sekiz milyon bireyi etkilemekte olup; yaklaşık 100.000'inde ise hastaneye yatış gerektirmektedir. Vakaların yaklaşık %15'i antibiyotik tedavisi almakta ve yıllık ekonomik maliyetin ise yaklaşık 1,6 milyar Amerikan doları olduğu düşünülmektedir (15).

Ülkemizde herhangi bir istatistik veri bulunmamakla birlikte ekonomik yükün yüksek olduğu düşünülmektedir (15).

Tanıda idrar mikroskobisinde piyüri saptanması tek başına yeterli olmamaktadır. Anamnez, fizik muayene bulguları ve kültürde mikroorganizmanın izolasyonu ile kültür sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi tanıda önemlidir (15).

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) sıklıkla bakteriyel etkenlere bağlı görülse de pozitif idrar kültürlerinin yaklaşık %12'sinde fungal patojenlerin izole edildiği izlenmiştir (16).

Kandidüri yönetimi günümüzde hâlâ tartışmalı bir konu olup bu belirsizlik çoğunlukla klinisyenlerin antifungal tedavi başlama konusundaki kararsızlıklarından kaynaklanmaktadır. Bu karar süreci özellikle kritik öneme sahip olup; kandidürinin, yoğun bakım hastalarında yüksek morbidite, mortalite ve sağlık hizmetleri maliyeti ile ilişkilendirilen invaziv kandidiyazis için bilinen bir risk faktörü olduğu unutulmamalıdır. Kandidüri bazı durumlarda kandideminin tek belirtisi olabilmektedir (17).

İdrar örneklerinde *Candida* türlerinin izole edilmesi durumunda, bu bulgunun klinik önemini değerlendirmek çoğu zaman güç olmaktadır. Kandidüri; asemptomatik kolonizasyon, alt üriner sistem enfeksiyonu veya daha ciddi bir klinik tablo olan üst üriner sistem enfeksiyonu ile ilişkili olabilir. Özellikle üst üriner sistemden izole edilen *Candida* türleri, piyelonefrit ve renal kandidiyazis gibi invaziv enfeksiyonların gelişimine zemin hazırlayabilmektedir (17). Nötropenik hastalarda ise immün sistemin baskılanmış olması nedeniyle invaziv enfeksiyon riski belirgin şekilde artmakta; bu hasta grubunda tanısal yaklaşım ve yönetim stratejileri ayrı bir öneme sahip olmaktadır.

Kandidüri, özellikle yoğun bakım ünitesindeki (YBÜ) hastalar arasında giderek artan bir klinik sorun olarak öne çıkmaktadır. Bu hasta grubunda enfeksiyon gelişim riskini artıran birçok predispozan faktör bulunmaktadır. Bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler, doğal mukozal ve cilt bariyerleri çeşitli nedenlerle zedelenmiş hastalar, ciddi sistemik hastalıkları bulunanlar, uzun süreli ve kalıcı üriner kateterizasyon uygulananlar ile sağlık personeli tarafından sık tekrarlayan invaziv girişimlere maruz kalan hastalar yüksek risk grubunu oluşturmaktadır (18).

Ayrıca, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yoğun kullanımı, üriner sistemin normal mikrobiyotasını bozarak fungal ajanların kolonizasyonunu ve enfeksiyon geliştirme olasılığını artırmaktadır (19).

Sağlıklı bireylerde kandidüri prevalansı oldukça düşük olup, %0-0,3 arasında değişmektedir (17). Ancak nozokomiyal fungal idrar yolu enfeksiyonları özellikle üriner kateterizasyonu olan hastalarda belirgin şekilde artış göstermektedir. Bu hasta grubunda izole edilen kandida türleri, idrar kültürlerinde toplam patojenlerin %12 ila %27'sini oluşturarak bakteriyel etkenlerden sonra en sık karşılaşılan ikinci nozokomiyal enfeksiyon etkeni olduğu belirtilmiştir (20).

İdrarda en sık izole edilen tür *C. albicans* olmakla birlikte, *C. glabrata* ve diğer non-*albicans Candida* (NAC) türlerinin izole edilme sıklığı da giderek artmaktadır (21).

Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Gözetim Sistemi (National Nosocomial Infections Surveillance – NNIS), *Candida* türlerinin, yoğun bakım ünitelerine kabul edilen hastalarda İYE'lerin başlıca etiyolojik ajanlarından biri olduğunu bildirmiştir (22). Özellikle *C. glabrata*'nın izolasyon oranlarındaki küresel artış dikkat çekici olup; 1990'lı yıllardan bu yana kandidiyazis tedavisinde birincil ajan olarak kullanılan flukonazole karşı doğal direnç eğilimi göstermesi klinik açıdan önem taşımaktadır (23).

Epidemiyolojik veriler, NAC türlerinin üriner sistemde, orofarinks veya vajina gibi diğer anatomik bölgelerden daha yaygın olduğunu ortaya koymaktadır. Bu farklılığın idrarın kimyasal bileşimi, özellikle pH düzeyi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (17). Ayrıca hastaların yaklaşık %10'unda idrar örneklerinde

birden fazla *Candida* türü birlikte saptanmakta ve bu durum genellikle eşlik eden bakteriüri ile birlikte gözlemlenmektedir (24).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, kritik hastalarda kandidüri prevalansının %19-44 arasında değiştiği ve artış eğiliminde olduğu bildirilmektedir (25). Bu yüksek prevalans, özellikle yoğun bakım hastalarında kandidürinin klinik önemini ve yönetim stratejilerinin belirlenmesinin önemine vurgu yapmaktadır.

Fungal üriner sistem enfeksiyonları genellikle asendan enfeksiyon ve hematolojik yayılım olarak iki ana mekanizma ile gelişebilmektedir. Nozokomiyal kandidüri olgularında asendan enfeksiyonun daha sık bulaş yolu olduğu görülmüştür. Kadın cinsiyette uretranın anatomik olarak daha kısa olması ve vulvovestibüler bölgede *Candida* türlerinin %10-65 arasında değişen oranlarda kolonize olması sebebiyle asendan enfeksiyonlara karşı daha duyarlıdırlar (17).

Üriner kateterizasyon, kandidal İYE'lerin gelişiminde en önemli risk faktörü olarak tanımlanmaktadır. Kateterler, mikroorganizmaların doğrudan mesaneye girişine veya kateter yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası aracılığıyla yukarı doğru ilerleyerek enfeksiyona neden olmaktadır. Vezikoüreteral reflü ya da idrar akımındaki obstrüksiyon ise üst üriner sistem enfeksiyonlarına yatkınlık oluşturarak akut piyelonefrit ve kandidemi gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir. Bazı durumlarda papiller nekroz gelişimi görülebilmektedir (26).

Hematolojik yayılım özellikle renal kandidiyazis açısından büyük önem taşımaktadır. Kandidemi nedeniyle yaşamını kaybeden hastaların otopsi bulgularında %90'a varan oranlarda böbrek tutulumu saptandığı görülmüştür (26). Ayrıca, *Candida* türleri merkezi venöz kateterler, invaziv tıbbi cihazlar, intraabdominal enfeksiyon odakları veya septik tromboflebit gibi lokalize kaynaklar aracılığıyla da hematolojik yayılım gösterebilmektedir (27).

Hematolojik yayılım sonucu gelişen renal kandidiyazis, invaziv sistemik bir enfeksiyon olup; şiddetli ateş, sepsis kaynaklı hemodinamik instabilite ve akut böbrek yetmezliği gibi ciddi sistemik bulgularla seyredebilmektedir (26). Bu nedenle, özellikle yoğun bakımda takip edilen yüksek riskli hasta gruplarında kandidürinin klinik değerlendirmesi büyük önem arz etmektedir.

Candida türleri, sağlıklı yetişkin bireylerin yaklaşık %30'unda gastrointestinal sistem florasında kolonize halde bulunabilmektedir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı ile bu oranı %100'e kadar yükselebilmektedir. Bağırsak mukozasının bütünlüğü bozulmamış olsa dahi, intestinal translokasyon yoluyla sistemik dolaşıma geçerek yaklaşık 3-6 saat içerisinde kandidemiye, 2.75-3.5 saat içerisinde ise kandidüriye yol açabildiği görülmüştür (28).

Kandidüri, asemptomatik kolonizasyondan alt üriner sistem enfeksiyonları ve katetere bağlı kandidal kolonizasyona kadar uzanan yüzeysel enfeksiyonlar; bazı durumlarda da renal kandidiyazis gibi invaziv ve hayatı tehdit edici tablolara sebep olabilmektedir (29).

Çok merkezli büyük ölçekli bir çalışmada kandidüri tanısı konulan olguların büyük çoğunluğunun asemptomatik olduğu ve bunların yalnızca %4'ünün klinik semptom bildirdiğini raporlamışlardır. Semptomatik olguların ise genellikle alt üriner sistem enfeksiyonu ile ilişkili sistit benzeri (dizüri, hematüri, suprapubik hassasiyet vb.) belirtiler gösterdiği bildirilmiştir (16).

Kandidüri gelişen hastalarda genel mortalite oranlarının yaklaşık üç kat arttığı ve bu oranın %20-50 arasında değiştiği bildirilmektedir (30). Kandidürinin bağımsız bir mortalite belirleyicisi olmasından ziyade genellikle ileri yaş, zayıflamış fonksiyonel durum ve çoklu ciddi komorbiditeler gibi klinik açıdan kötü prognoz göstergeleriyle birlikte görüldüğü ve bu etkenlere bağlı mortaliteye etkisi olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur. Geriatrik hasta popülasyonlarında kandidürinin artmış hastane içi mortalite oranları ile paralel olarak artış gösterdiği görülmüştür (31). Yoğun bakım ünitelerinde izlenen hasta gruplarında, birden fazla anatomik bölgede saptanan *Candida* türlerine ait fungal kolonizasyonun, artmış mortalite oranları ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (32). Bu yüzden kandidürinin yalnızca lokal bir enfeksiyon ya da kolonizasyon değil, aynı zamanda sistemik invazyon potansiyeline sahip ciddi bir klinik tabloya sebep olabilecek bir etken olarak değerlendirilmesi gereklidir.

Radyolojik incelemelerde, mesanenin sistoskopik değerlendirmesi kandida sistiti tanısına yardımcı olabilmektedir. Bu inceleme sırasında kandida sistitine özgü olarak, sedef beyazı renkte, yumuşak kıvamda ve kabarık yapıdaki lezyonlar

ile bu lezyonların altında yer alan kırılğan ve belirgin hiperemi gösteren mukozal yüzeyler izlenebilmektedir. Ancak sistoskopi, invaziv bir yöntem olması nedeniyle rutin tanı aracı olarak önerilmemekte; genellikle sadece mantar topağı (fungus ball) varlığından şüphelenildiğinde ya da nadiren asendan seyirli fungal enfeksiyonların söz konusu olduğu durumlarda başvurulmalıdır (17).

Kandidüri tanısında karşılaşılan temel sorunlardan biri, kontaminasyon, kolonizasyon ve gerçek İYE ayrımının güvenilir biçimde yapılamamasıdır. Bu ayrımı sağlamak için önerilen ilk adım, yeni bir idrar örneği alınarak *Candida* spp.'nin izolasyonunun olup/olmadığı kontrol edilmelidir. Kalıcı üriner kateteri bulunmayan hastalarda, kontaminasyon riskini en aza indirmek amacıyla steril mesane kateterizasyonu ile örnek alınması önemlidir. İkinci alınan numunede *Candida* saptanmama durumunda ise ileri tanı testlerine gerek duyulmamaktadır (33). Yalnızca kültürde *Candida* üremesinin saptanması, tedavi kararı için yeterli bir kriter olarak kabul edilmemeli; klinik durumun bütüncül değerlendirilmesi esas alınmalıdır.

2.5 Epidemiyoloji ve Kontrol

Gastrointestinal sistem normal florasında %30-50; kadınların normal genital florasında %20-30 oranında *Candida* türleri bulunabilmektedir. *C. albicans* florada bulunan en sık izole edilen mantar türü olmakla beraber (oral bölge %60-80, genital bölge %80-90) *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* türleri de deri florasında görülmektedir (9,14).

Kandidoz vakalarının büyük çoğunluğu endojen kaynaklıdır ve enfeksiyon genellikle ağız ya da gastrointestinal sistem florasında bulunan *Candida* türlerinin aşırı çoğalmasıyla gelişmektedir. Bununla birlikte, insandan insana bulaş da mümkündür. Vajinal kandidozlu annelerden yenidoğanlara doğum esnasında geçiş gerçekleşebilirken; cinsel temas yoluyla eşler arasında da bulaş rapor edilmiştir. Ayrıca hastane personeline %70'e varan oranlarda *Candida* taşıyıcılığı bulunması, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalara nozokomiyal geçiş riskini artırmaktadır (9).

Hem yüzeysel hem de sistemik/derin enfeksiyonlarda *C. albicans* en sık görülen etkindir (9). Bununla birlikte, NAC (*C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* vb.) türleri de sistemik kandidoz olgularının yaklaşık

%46'sında etken olarak bildirilmektedir (14). Son yıllarda nötropenik ve immünsüprese bireylerin sayısındaki artış, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, antineoplastik ajanlar, intravenöz kateter uygulamaları ve sağlık personelinin elleri aracılığıyla gerçekleşen bulaş gibi çeşitli predispozan faktörlerin, NAC türlerine bağlı enfeksiyonlarda belirgin bir artışa neden olduğu düşünülmektedir (14).

Ayrıca NAC türlerinin farklı klinik tablolarla ilişkili olduğu da gösterilmiştir. Örneğin; *C. parapsilosis* sıklıkla vulvovajinit, bronkopulmoner ve gastrointestinal enfeksiyonlarla ilişkilendirilirken; *C. tropicalis* peritonit, endokardit, endoftalmit, otitis eksterna ve artrit vakalarında etken olarak izole edilmektedir. *C. guilliermondii* endokardit ile birlikte deri ve tırnak enfeksiyonlarıyla ilişkili bulunurken, *C. krusei* endokardit ve vajinit ile ilişkili bulunmuştur. Özellikle kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalarda *C. lusitaniae* enfeksiyonlarına da rastlanabilmektedir (14). Deri ve mukozal bariyer bütünlüğünün korunması, normal mikrobiyota dengesinin sürdürülmesi ve bağışıklık sisteminin etkin şekilde çalışması, *Candida* türlerinin patojen hale gelmesini engelleyerek kandidoz gelişimini önleyebilmektedir (14).

2.6 Tedavi ve Antifungal İlaçlar

Mantar enfeksiyonlarının sistemik tedavisi 1950'li yıllarda griseofulvinin keşfi ile başlamıştır. Bu gelişmeyi takiben, 1970'li yıllarda azol grubu antifungallerden ketokonazol, klinik kullanıma girmiştir. Daha sonraki yıllarda ise azol türevlerinin devamı olarak triazoller grubuna ait flukonazol ve itrakonazol antifungal tedavi seçenekleri arasına katılmıştır. Ayrıca, allilamin türevi bir antifungal ajan olan terbinafin de yüzeysel ve bazı sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Yüzeysel kandidozların tedavisinde predispozan faktörlerin (nem, diabet, antibiyotik kullanımı) sınırlandırılmasının yanı sıra azol türevleri (flukonazol, ketokonazol, itrakonazol) ile topikal nistatin günümüzde kullanılmaktadır.

Kronik mukokütanöz kandidozlu hastalarda mevcut genetik defektler nedeniyle azol türevlerini yaşam boyu kullanmaları gerekmektedir.

Erken tanının zor olduğu sistemik kandidozda, kültürlerde üreme ve klinik olarak özgül semptomlar görülmeyebilir. Antibakteriyellere yanıtız ateş yüksekliği

ile seyreden bağışıklık yanıtı düşük hastalarda amfoterisin B (bazı durumlarda lipozomal) ve oral flusitozin tercih edilebilir (34).

2.6.1 Mitoz İnhibitörleri

2.6.1.1 Griseofulvin

Penicillium griseofulvum'dan keşfedilen ve izole edilen doğal bir ürün olan griseofulvin, dar spektrumlu ve mikrotübüllere bağlanarak mitozu metafaz evresinde durduran fungustatik antifungal bir ajandır. Yalnızca dermatofitlere karşı etkilidir. Lipofilik olması sebebiyle yağlı gıdalarla birlikte alındığında emilimi artar. Gastrointestinal semptomlara bağlı yan etkiler (bulantı, kusma, diyare) görülebilmektedir. Ayrıca santral sinir sistemi ilişkili yan etkiler (baş ağrısı, baş dönmesi, konfüzyon) görülebilmektedir. Sitokrom (CYP) P-450 enzimlerinin güçlü bir indükleyicisi olduğundan varfarin ile birlikte kullanıldığında antikoagülan etkiyi azalttığı; oral kontraseptiflerle kullanıldığında gebelik önleyici etkiyi azalttığı görülmüştür (35). Çocuklarda tinea capitis tedavisinde tercih edilen Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration-FDA) onaylı antifungaldir. Uzun süreli kullanımda karaciğer fonksiyon testleri (KCFT) takibinin yapılması önemlidir (36).

2.6.2 Azoller

2.6.2.1 Ketokanazol

Fungustatik etkili imidazol grubu bir antifungaldir. Flukonazol ve itrakanozal gibi mikrozomal sitokrom P-450 enzimi olan 14- α -demetilaz enzimini inhibe ederek mantar hücre membranında lanosterolün ergosterole dönüşümünü engeller. İnhibe olan ergosterol sentezi sonucunda mantar hücre membranının sentezi sonlanarak fungustatik etki görülür. *Candida* türleri, *Malassezia* türleri, *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*) ve endemik dimorfik mantarlara bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Gastrointestinal yan etkiler (dispepsi, bulantı, kusma) yanı sıra yüksek dozda kullanımında kortizol ve testeseron sentezini azaltarak hipoadrenalizm, jinekomasti ve impotansa sebep olabilir (37). Ketokonazol, sitokrom P-450 enzimini inhibe ettiğinden dolayı bu enzim ile yıkılan ilaçlarla beraber kullanıldığında bu ilaçların serum düzeylerini yükseltir. Böbrek

yetmezliğinde doz ayarlamasına gerek olmamakla beraber hepatotoksitite yapmasından dolayı takibinde KCFT'nin yapılması önerilir (36).

2.6.2.2 Flukonazol

Düşük molekül ağırlıklı, azol grubunda, triazol yapısında birinci kuşak antifungaldir. İmidazol ve triazoller aynı etki mekanizmalarına sahip olmasına karşın; triazoller daha yavaş metabolize olur, daha az toksik etki gösterir ve endokrin yan etkileri yoktur. Oral veya parenteral kullanımı mevcut olup; %10 oranında plazma proteinlerine bağlanabilmektedir. Tamamına yakını gastrointestinal sistemden emilmekle beraber %80'i idrarla değişmeden atılmaktadır. Beyin omurilik sıvısı (BOS)'na geçebildiğinden santral sinir sisteminin enfeksiyonlarında kullanılabilen bir antifungaldir. Küflere etkisi az olduğu için sıklıkla maya enfeksiyonlarında tercih edilir. *Candida* türleri, dermatofitler, *C. neoformans*, *Trichosporon* türleri, *Coccidioides immitis* (*C.immitis*), *Histoplasma capsulatum* (*H. capsulatum*), *Paracoccidioides brasiliensis* (*P. brasiliensis*)'e bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca son yıllarda artan sık ve profilaktik kullanımı sebebiyle özellikle HIV pozitif hastalardaki *C. albicans* izolatlarında kazanılmış direnç görülmeye başlanmıştır. *C. krusei* 'de flukonazole karşı intrensek direnç; *C. glabrata* 'da ise azalmış duyarlılık (yüksek doz flukonazol yanıtı iyi) mevcuttur. Fırsatçı küflere (*Aspergillus* türleri, *Fusarium* türleri ve *Zygomycetes*) bağlı enfeksiyonların tedavisinde etkinliği yoktur. Flukonazol hem CYP 3A4 hem de CYP 2C9 izoformlarını inhibe ettiğinden çeşitli antihistaminikler (astemizol, terfenadin) ve sisaprid gibi gastrointestinal motilite ajanı ile kullanımında kardiyotoksositeye bağlı ölümler gelişebilmektedir (38). Sitokrom enzim inhibisyonuna bağlı gelişebilecek toksik metabolit birikimini önlemek amacıyla karaciğer fonksiyon testlerinin (KCFT) düzenli olarak izlenmesi önem taşımaktadır (36).

2.6.2.3 İtrakonazol

Azol grubunda triazol yapısında birinci kuşak antifungaldir. Oral ve paranteral formu mevcut olup lipofilik olduğundan yemeklerle birlikte alındığında mide asiditesi ile emilimi artar. Plazmada %90 ın üzerinde albümine bağlanır. BOS'a geçişi düşüktür. *Candida* türleri, *Aspergillus* türleri (bazı *Aspergillus fumigatus* türlerinde direnç mevcuttur), dermatofitler, *C. neoformans*,

Pseudallescheria boydii (*P. boydii*), *Sporothrix schenckii* (*S. Schenkii*) ve endemik dimorfik mantarların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (35). Flukonazol dirençli *C. krusei* ve *C. glabrata* enfeksiyonlarının tedavisinde de tercih edilmektedir.

2.6.2.4 Vorikonazol

Azol grubunda triazol yapısında ikinci kuşak antifungaldir. Hem oral hem de intravenöz formu mevcuttur. Flukonazol türevidir olduğundan BOS'a geçişi iyidir. Doza bağımlı olarak ergosterol sentezini flukonazolden daha güçlü, inhibe eder. Maya benzeri mantarlara karşı fungistatik, *Aspergillus* türlerine karşı fungisidal aktivite gösterir. Invaziv *Aspergillus* tedavisinde sıklıkla kullanılır. *P. boydii*'nin etken olduğu beyin apseleri, kandidoz ve *Fusarium* türlerine bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Karaciğer ile metabolize edilerek atılır. Karaciğer enzimlerinde yükselme ve geçici görme bozukluğu en sık görülen yan etkilerdendir (39).

2.6.2.5 Posakanazol

Azol grubunda triazol yapısında ikinci kuşak antifungaldir. İtrakonazol benzeri bir antifungaldir. *Aspergillus*lara karşı itrakonazolden daha etkili olmakla beraber mayalara bağlı enfeksiyonların tedavisinde de kullanılmaktadır. *C. neoformans* ve *Aspergillus* türlerine karşı fungisidal; *Candida* türlerine karşı fungistatik etkilidir (39).

2.6.3 Ekinokandinler (Anidulafungin, Kaspofungin, Mikafungin)

Mantar hücre duvarında 1-3 β Glukan sentezini inhibe ederek mantara özgül hücre duvar sentezini inhibe eden lipopeptid yapısında antifungallerdir. Osmotik basıncın sağlanması, hücre bölünmesi ve gelişiminde rolü olan glukanın sentezlenmemesi *Candida* türlerinde fungisidal, *Aspergillus* türlerinde ise fungistatik etki gösterir. Flukonazol dirençli *Candida* türlerinin enfeksiyonlarında sıklıkla tercih edilmektedir. *C. neoformans* ekinokandinlere doğal dirençli olmakla beraber *Fusarium* türleri, *Trichosporon* türleri, *Zygomycetes* sınıfındaki mantar enfeksiyonlarının tedavisinde ekinokandinler etkili değildirler. İntavenöz olarak uygulanmakta ve %90-95 oranında plazma proteinlerine bağlanarak taşınmaktadır. Sistemik organ yayılımı iyi olmakla beraber BOS'a geçişleri düşük miktardadır ve ilaç-ilâç etkileşimleri çok azdır. Ekinokandinlere karşı primer direncin nadir

görüldüğü *Candida* ve *Aspergillus* türlerinin tedavisinde benzer spektrumlardaki ekinokandinler tercih edilebilir. İnvaziv kandidoz ve *Aspergillus* tedavisinde kaspofungin; özefagus kandidozu ve kandidemisinde mikafungin ile anidulafungin tercih edilebilir (40,41).

2.6.4 Poliyenler

1950 yılında Amfoterisin B toprak aktinomiçeti streptomiçetler tarafından üretildiği fark edilmiştir (42). Poliyen makrolid türevi olan Amfoterisin B, mantar hücre membranındaki ergosterole geri dönüşümsüz olarak bağlanarak membranda delik ve porlar açar. Bozulan hücre geçirgenliği, hücre dışına magnezyum, potasyum gibi elektrolit, nükleoproteinler ve makromoleküllerin kaybına yol açarak fungisidal etki gösterir. Oral ve parenteral formu mevcut olup absorpsiyonu kötüdür. %90-95 oranında plazma proteinlerine bağlanarak taşınır. Dissemine kandidiyazis, kandidemi, kandida sistiti ve piyelonefriti, mukormikoz, ampirik antifungal tedavi (özellikle nötropenik hastalarda), pulmoner mantar enfeksiyonları (invaziv aspergillus enfeksiyonu, kriptokokkosis, kandidiyazis vb) fungal peritonit, oftalmik fungal enfeksiyonların tedavinde kullanılmaktadır. *C. lusitaniae*'nın amfoterisin B'ye karşı değişken in vitro duyarlılıkları saptanmıştır (43). Direnç yaygın olmamakla birlikte *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* türlerine karşı amfoterisin B kullanımına sekonder, duyarlılıkta azalma görülmüştür. *Aspergillus* türleri (in vivo ve in vitro dirençli olduğundan *Aspergillus terreus* hariç) Amfoterisin B'ye karşı duyarlıdır. *C. neoformans*'da da direnç oldukça nadirdir. Duyarlılığı azalan izolatların da ergosterol içeriğinin azaldığı görülmüştür. Dermatofitler, Aktinomiçes, *P. boydii* bazı *Trichosporon beigelii* (*T.beigelii*) türleri ile kromoblastomikozise neden olan funguslar Amfoterisin B'ye dirençlidirler (44). Direncin moleküler mekanizması saptanamamış olsa da ERG3 genlerindeki mutasyondan dolayı ergosterol sentez kusurunun sebep olabileceği düşünülmektedir (45). 1957 yılından itibaren sistemik antifungal tedavide kullanılan 1990'lı yıllarda daha az renal toksik olan lipid formları geliştirilse de Amfoterisin B'nin memeli hücresindeki kolesterole de bağlanması sonucunda yan etkiler gözlemlenebilmektedir. En sık yan etkisi glomerüler ve tübüler hasar sonucu görülen renal toksititedir (46).

2.6.5 Nükleik Asit Sentez İnhibitörleri

Florlanmış pirimidin analogu olan Flusitozin, mantar hücresindeki DNA, ribonükleik asit (RNA) ve protein sentezini engelleyen antimetabolit etkili bir antifungaldir. Mantar hücresi sitoplazmasında 5-florourasil dönüşümü ile RNA sentezi sırasında urasil ile yarışarak RNA'nın yanlış kodlanmasına sebep olur. Sonuç olarak DNA ve protein sentez inhibisyonu ile fungisidal etki gözlemlenir. Oral formu mevcut olup gastrointestinal sistemden emilimi iyidir. Vücut sıvılarında (idrar vb) ve BOS'a geçerek yüksek konsantrasyonlara erişebilir. *Candida* türleri, *C. neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* (*S. Cerevisiae*) ve *Rhodotorula* türlerine etkilidir. Hızlı direnç geliştiğinden dolayı özellikle kandidoz ve kriptokokkoz tedavisinde amfoterisin B veya flukonazol kombinasyonu ile birlikte tercih edilir. Vücut sıvılarındaki yüksek konsantrasyonlarda hepatotoksitite, kemik iliği depresyonu ve gastrointestinal yan etkiler görülebilir. Antimetabolitler en sık nefrotoksititeye sebep olabilen ilaçlar olduğundan başka nefrotoksik ilaçlar (alkilleyici ajanlar, antrasiklinler) ile birlikte kullanımında dikkat edilmesi gereklidir (47).

2.6.5.1 Alilaminler

Skualen epoksidaz enzimini inhibe ederek ergosterol sentezinde azalmaya ve artan skualen sonucunda membran geçirgenliğinin bozulmasına yol açarak fungusidal etki gösterir. Oral ve topikal formu olan terbinafin hem sistemik hem lokal; topikal formu olan naftidin ise lokal etkilidir. Lipofilik etkisinden dolayı yağlı dokular, saç, deri ve tırnakta yüksek konsantrasyonlara ulaşan terbinafinin etki spektrumu geniştir. *Candida* türleri, dermatofitler, *Malassezia furfur* (*M. furfur*), *Trichosporon* türleri, *C. neoformans*, *S. schenckii*, *Penicillium marneffe* (*P. marneffe*), *Aspergillus* türlerine karşı etkilidir. Flukonazole dirençli *Candida* türlerinde flukonazol ile birlikte kullanımı sinerjistik etki yaratır. Geçici agranülositoz dışında yan etkileri azdır (48).

2.6.6 Diğer Antifungaller

2.6.6.1 Kitin Sentez İnhibitörleri (Nikkomisin Z, Sordarin ve Azosordarin Türevleri)

Streptomyces tarafından üretilen, üridin difosfat (UDP) N asetilglukozamin analogu olan nikkomisin mantar hücre duvarındaki kitin sentezini

inhibe eden nükleozit peptid yapısında bir antifungaldir. Sordarin ve azosordarin türevleri elongasyon faktör 3 inhibisyonu ile *Pneumocystis jirovecii (carinii)* (*P. jirovecii/carinii*) tedavisinde kullanılan bir antifungaldir (49).

2.6.6.2 Mannan İnhibitörleri (Pramidisin ve Benanomisinler)

Actinomadura türleri tarafından üretilen, 1980 li yıllarda bulunmuş, serbest karboksil grubu yüzey mannoproteini ile kompleks oluşturularak mantar plazma membranında bozulmaya ve sonucunda potasyum kaybına sebep olan antifungallerdir (50).

2.7 Virülans Faktörleri

Virülans faktörleri, patojenlerin konak hücrelere bağlanma, konak hücrenin bağışıklık yanıtından kaçma ve konak hücrede hastalığa neden olma yeteneklerini artıran yapılardır. Virülans mekanizmaları ve konak bağışıklık sisteminin aktivasyonunu baskılayarak enfeksiyonun başlaması, devamı veya yayılmasını kolaylaştırıcı etki yapabilir. Adhezyon molekülleri, fosfolipaz, proteazlar, kapsül, toksinler, pigmentler, katalaz, üreaz, mannitol, süperoksit dismutaz, hücre duvarı bileşenleri, mantar hücresi virülans faktörlerine örnek olarak verilebilir. Konak hücrelerde kolonize olan patojenler, bağışıklık yanıtından kaçarak özgül antijen salınımının önüne geçerken; zararlı patojenler ise sayılarını dokuda arttırarak inflamatuvar süreci tetikler ve sitokin salınımıyla birlikte konak hücre hasarına sebep olurlar (51). Virülans faktörleri ve konaktaki etkileri Tablo 2.2’de özetlenmiştir (51,52).

Tablo 2.2. Virölans faktörleri ve konaktaki etkileri

Virölans faktörü	Konaktaki etkisi
Biyofilm üretimi	Yüzeylere yapışmayı sağlama
Hif oluşumu	Epitelyal penetrasyon
Agglutinin benzeri sekanslar (ALS) ailesi proteinleri	Konak protein ve yüzeylerine yapışma Biyofilm oluşumunu destekleme
Hifal duvar proteini (HWP) 1	Konak epiteline yapışma Biyofilm oluşumunu destekleme
Salgısal Aspartil Proteinazlar (SAP) izoenzim ailesi	Proteinaz aktivitesi Konak hücrelere yapışma, penetrasyon ve yıkım
Fosfolipaz B (PLB)1	Fosfolipaz aktivitesi Konak hücrelere yapışma, penetrasyon ve yıkım
Lip izoenzim ailesi	Lipaz aktivitesi Konak hücrelere yapışma, penetrasyon ve yıkım
Katalaz	Konağın antimikrobiyal etki için salınan reaktif oksijen moleküllerinin aktivasyonu
Süperoksit dismutaz (SOD)4, SOD5	Mantarin oksidatif stresten korunmasını sağlama
Fenotipik dönüşüm	Derin dokuda ve deride virölansı değiştirme
Östrojen bağlayan proteinler	Hif oluşumunu arttırarak doku invazyonu kolaylaştır Biyofilm oluşumunu destekleme
Toksinler	Konak dokuyu zayıflatarak biyofilm oluşumunu destekler

2.7.1 Adezyon

Candida türlerine bağlı enfeksiyon ve kolonizasyonda konak hücrelere tutunma ilk ve en önemli adımdır. Mantar hücre yüzeyinin hidrofobik özelliğinden dolayı van der Waals kuvvetleri ve hidrojen bağlarının etkileşimiyle konak hücreye özgül olmayan tutunma gerçekleşirken; konak hücredeki komplementer reseptöre ALS, HWP1 gibi genlerin ekspresyonu ile adezin reseptörünce özgül tutunma görülebilmektedir. ALS tarafından sentezlenen proteinlerin N terminal ucu immunglobulin, C terminal ucu glikozilfosfatidilinozitol (GPI) yapısındadır. GPI kısmı özellikle hücre yüzeyine bağlanmadan sorumludur (53). *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* bu hususta en aderans türlerdendir (54). Konak hücredeki E-cadherin proteini ile mantar hücresindeki ALS3 invazyon proteinine bağlanarak aktif taşıma ile konak hücreye giriş yaptıkları gösterilmiştir (55).

Adezin-ligand etkileşimleri üç farklı şekilde görülmektedir.

(i) Protein-protein etkileşimleri (Örnek: integrin analogu ve fibronektin reseptörü) *Candida* proteini ile epitelyal veya endotelyal hücrelerin yüzeyindeki ligand protein arasında doğrudan bağlanma

(ii) Lektin-benzeri etkileşimler *Candida* yüzeyindeki mannoproteinlerin epitelyal veya endotelyal hücrelerin yüzeyinde bulunan çeşitli karbonhidratları tanıması

(iii) Tanımlanmamış etkileşimler (Örnek: sekretuar aspartil proteinaz, faktör 6) (56).

Yaklaşık 34 kilodalton (kDa) moleküler ağırlığa sahip hifal hücrelerin yüzeyinde bulunan HWP1p reseptörü konak hücre epiteline tutunmayı kolaylaştırır. HWP1p yapısal olarak, ALS proteinleri ile benzerlik gösterir. HWP1'in N-terminal bölgesinin epitelyal tutunmada kolaylaştırıcı etkisi olarak insan epitel hücrelerinde prolinden zengin kısımlarla benzerlik göstermesi önemlidir (57).

Polistirene karşı artan yapışma proteini 1 (EAP1p) adezini, HWP1p ile homoloji ve yapısal benzerlik göstermesine karşın, EAP1p proteinin konak hücre ligandları bilinmemektedir (58).

Int 1p yüzey reseptörü *C. albicans* membran yüzeyinde bulunan kompleman 3 ve 4 e yapısal benzer olan; dış sinyallerde *Candida* morfolojik değişimi sağlayan bir reseptördür (53).

2.7.2 Biyofilm (Slime) Üretimi

Adezin molekülleri konak hücre dışında tıbbi aletlerin (katater, şant, protez) yüzeylerine de yapışarak biyofilm tabakası oluşturabilmektedir. *C. albicans* biyofilm oluşumunda tutunma sonrasında germ tüp oluşumuna istinaden hem gerçek hem de yalancı hiflerin görüldüğü, polimerik matriksle çevrili biyofilm yapısı gözlemlenir. Biyofilm tabakasının taban kısımlarında mayalar, üst kısımlarında ise hifal formlar yer almaktadır. Biyofilm oluşumunun son aşamasında serbest kalan maya hücreleri yeni bölgelerin kolonizasyonuna katkıda bulunmakta ve yaygın enfeksiyonlara yol açabilmektedir.

Candida türlerinin biyofilm yapısı, antifungal ajanlara karşı belirgin düzeyde direnç gösteren ve enfeksiyonların klinik tedavisini güçleştiren önemli bir faktördür. Özellikle biyofilm içindeki hücrelerin antifungal tedavilere karşı geliştirdiği direnç mekanizmaları (özellikle flukonazol, amfoterisin B, nistatin), standart tedavi rejimlerinin başarısız olmasını sağlamaktadır. Bu durum, enfeksiyonların kronikleşmesine zemin hazırlamaktadır. Sonuç olarak, enfekte olmuş medikal cihazların çıkarılması ve değiştirilmesi, biyofilme bağlı enfeksiyonların kontrolü ve tekrarlamaların önlenmesi açısından sık kullanılan bir uygulama olarak kabul edilmektedir (59).

Biyofilm oluşumu sırasında yüksek oranda indüklenen genler arasında ilişki olduğu görülmüştür. Adezyon molekülleri, biyofilm oluşturan *Candida* hücrelerinin konak hücre yüzeylere tutunması için kritik bir öneme sahiptir. Hidrofobik etkileşimler, elektrostatik kuvvetler ve adezyon-ligand bağlantıları aracılığıyla adezyon yönetilir. Bu süreçte organik ve inorganik yüzeylere, hücre dışı matriks proteinlerine ve insan epitel ile endotel hücrelerine bağlanmayı sağlayan, ALS1, ALS2, ALS4, ALS5, HWP1 ve EAP1 gibi genler tarafından kodlanan çeşitli adezinler ve glikozilfosfatidil-çapa bağlantılı hücre duvarı proteinleri (GPI-CWPs) aktif rol oynamaktadır. Ayrıca ALS3'ün biyofilm oluşumunda rol oynadığı görülmüştür (53). Farklı büyüme koşullarında gelişen biyofilmlerde amino asit biyosentezinden sorumlu genlerin reseptör sayısının da arttığı gösterilmiştir (60).

2.7.3 Fenotipik Dönüşüm (Switching) ve Antijenik Çeşitlilik

C. albicans'ın çevresel koşullara hızlı ve etkin biçimde uyum sağlayabilme yeteneği hem doku invazyonu hem de konak hücre hasarının oluşumunda kritik bir rol oynamaktadır. Bu tür, patojenitesini artırmak amacıyla morfolojik yapı, biyokimyasal özellikler ve metabolik aktivitelerinde çeşitli değişiklikler gerçekleştirebilmektedir. Özellikle beyaz-opak fenotipik dönüşüm, *C. albicans*'ın virülansını artıran en iyi tanımlanmış adaptif mekanizmalardan biri olarak öne çıkmaktadır. Bu dönüşüm, patojenin bağışıklık sisteminden kaçış, dokuya tutunma ve invazyon süreçlerinde avantaj sağlamasına katkıda bulunmaktadır. Virülans özelliğindeki değişiklikte aspartil proteinaz 2 üreten beyaz hücrelerin aspartil proteinaz 1 ve 3 üreten opak hücrelere dönüşümü görülebilmektedir (61). Beyaz, oval ve düzgün kolonilerin; opak, gri ve buruşuk kolonilere dönüşümü ile hızlı adaptasyon, antifungallere karşı erken yanıt ve konak immun sisteminden kaçma

gibi etkileri bulunmaktadır. Opak hücreler kolonizasyonda sıklıkla görülürken; beyaz hücrelerin sistemik enfeksiyonda rol aldığı gözlemlenmiştir.

Çeşitli çevresel koşulların etkisiyle morfolojik değişimler meydana gelebilmektedir. Organizmanın hifal dönüşümünde 37°C'lik sıcaklığa maruz kalması, pH değerinin 7,0 veya daha yüksek olması, %5,5 oranında CO₂ konsantrasyonu, serum varlığı ya da hifal büyümeyi indükleyen karbon kaynaklarının bulunması bu koşullar arasında yer almaktadır (62). Tek hücreli maya morfolojisinin oluşumu ise daha düşük sıcaklık, daha asidik pH değerleri, serum yokluğu ve yüksek glikoz konsantrasyonları tarafından teşvik edilmektedir (63).

Ayrıca Cph1p, Efg1p transkripsiyonunun hifal büyümeyi tetikleyerek hücre yüzey antijenlerinde değişikliğe sebep olduğu gözlemlenmiştir (64,65). Hifal büyüme ile konak fagositik hücrelerinde artan süperoksit dismutaz ekspresyonu konak fagositik hücrelerinin oksidatif hasar ile ölümüne sebep olur. ALS adezinlerinin hifal hücrelerce ekspresyonu konak hücrede tutunmayı ve invazyonu artırır (64).

2.7.4 Toksinler

2016 yılında tanımlanan ilk fungal sitolitik peptit toksinin olan Candidalysin, *Candida* türlerinde keşfedilen ilk gerçek toksin olma özelliği açısından mikoloji için önemli bir gelişmedir. Endotelin dönüştürücü enzim (ECE)1 geni, *C. albicans*'ın hifal formunda yüksek oranda eksprese edilmektedir ve Candidalysin peptidi ile ilişkilidir. ECE1-III62–93 bölgesinin epitel hücre aktivasyonu ve hasarına neden olduğu gösterilmiş ve bu bölge, “Candidalysin” olarak isimlendirilmiştir.

Candidalysin, 31 amino asit uzunluğunda, amfipatik özellikte α -helikal yapıya sahip bir sitolitik peptit toksindir. Candidalysin, epitel hücre zarına bağlanarak gözenekler (porlar) oluşturan toksin (PFT) sınıfına dahil edilmiştir. Toksinin konak hücreye bağlanması ile hücre içi kalsiyum (Ca²⁺) artışı ve potasyum (K⁺) kaybı ile nekrotik/apoptotik hücre ölümüne yol açar. Epitelyal bariyeri bozulan konak hücrede *Candida* türlerinin dokuya invazyonu kolaylaşır. Candidalysin sitolitik etkisin yanı sıra konak hücrelerinde güçlü bir immünomodülatör etkisi de mevcuttur. Düşük konsantrasyonda ECE1-III62–93 bölgesine sahip Candidalysin'e maruz kalan epitel hücreleri interlökin (IL)-1 β , IL-6, granülosit-koloni uyarıcı

faktör (G-CSF) ve granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) gibi proinflamatuvar sitokinleri salgılayarak epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve mitojenle aktive edilmiş protein kinazlar (MAPK) yollarının aktivasyonu gerçekleşir. p38-MAPK/c-Fos sinyal yolunun aktive olması ile G-CSF gibi immün düzenleyici sitokinlerin üretimi indüklemekte ve lokal immün hücreleri (nötrofiller, monositler) enfeksiyon bölgesine çekilerek bağışıklık tepkisi başlatılır (66).

2.7.5 Fosfolipaz Enzimi

Fosfolipazlar, gliserofosfolipitlerdeki bir veya daha fazla ester bağına hidrolize etme yeteneğine sahip heterojen bir enzim grubudur.

C. albicans'ın yanı sıra, dış ortama salgılanan fosfolipazlar (PL'ler), *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) ve *C. neoformans* gibi diğer mantar türleri ile *Clostridium* türleri, *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Pseudomonas* türleri, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) ve *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*) gibi birçok patojenik bakteri ve protozoonlar için de virulans faktörü olarak görev yapmaktadır (67). Konak doku invazyonunda rol oynayan fosfolipazlar, hücre membranının ana bileşeni olan gliserofosfolipidlerin ester bağlarını hidrolize eder ve bunun sonucunda membran bütünlüğü bozularak invazyon kolaylaşır. Substratların türüne göre 4 farklı grupta (A,B,C,D) fosfolipaz enzimi bulunmaktadır (11). Fosfolipaz B (PLB) gliserofosfolipidlerden yağ asitlerini parçalamanın dışında lizofosfolipidlere yağ asidi bağlayarak fosfolipid sentezi yapabilmektedir. Bu da invazyon süresince mantarın membran bütünlüğü ve adaptasyonunda önemli rol oynar (68). Fosfolipaz B aktivitesinin büyük bir kısmı hücre dışı üretilen PLB1 daha az olarak da PLB2 ile ilişkilidir (69). Bunun yanında intrasellüler fosfolipaz genlerinin PLC1 ve PLD kodlayan genler ile ilişkilidir (67).

2.7.6 Proteinaz Enzimi

SAP (Salgisal Aspartil Proteinazlar) proteinazları, *C. albicans*'ın patogeneğinde rol oynayan önemli virülans faktörlerindendir. SAP ailesi, SAP1'den SAP10'a kadar 10 farklı SAP genini içermektedir. Bu genler, ortalama 35-50 kDa moleküler ağırlığa sahip aspartil proteinaz enzimlerini kodlar. SAP proteinazları,

mukozal yüzeylerde ve sistemik enfeksiyonlarda farklılık gösteren doku ortamlarında aktif olabilirler. SAP1–3 genleri genellikle mukozal enfeksiyonlarda; SAP4–6 genleri ise invaziv, sistemik enfeksiyonlarla ilişkilendirilmektedir (70).

Bu enzimlerin enfeksiyon sürecine katkısı çeşitli biyolojik mekanizmalar üzerinden gerçekleşmektedir. Öncelikle, SAP proteinazları konak dokuya invazyonu kolaylaştırmakta ve doku bütünlüğünü bozmaktadır. Kolajen, laminin ve keratin gibi yapısal proteinlerin yıkımı sonucunda *C. albicans*, epitel yüzeyini aşarak derin doku katmanlarına invaze olabilmektedir. Endotel hücreleriyle temas ile bu enzimlerin oluşturduğu endotelyal hasar, fungusun vasküler bariyerleri aşmasını kolaylaştırmaktadır. Bunun yanı sıra, SAP proteinazları bağışıklık sisteminden kaçışı da destekler. İmmünoglobulin A (IgA), kompleman proteinleri ve çeşitli antimikrobiyal peptidleri parçalayan bu enzimler, *Candida*'nın bağışıklık sisteminden kaçışını ve immün yanıtın baskılamasını sağlarlar. Proteinazların bir diğer kritik fonksiyonu, ortamdan proteinlerin parçalanması sonucu oluşan amino asit ve azot kaynaklarının sağlanmasıdır. Bunun sonucunda konak dokularda *Candida* için besin sağlanarak patojenin hayatta kalma ve çoğalma kapasitesi artar. SAP proteinazları aynı zamanda fungusun konak hücrelere tutunma yeteneğini artırarak kolonizasyonu destekler. Yüksek düzeyde proteinaz aktivitesine sahip izolatlar epitel hücrelerine daha güçlü adheze olabilmektedir. *Candida*'nın patojenitesi açısından önemli bir unsur olan morfolojik dönüşüm sürecinde, özellikle SAP4–6 genlerinin ekspresyonunun hifal forma geçiş ile ilişkisi mevcuttur. SAP proteinazlarının morfolojik adaptasyon süreçlerinde de kritik rol oynarak invazyon kapasitesini artırmaktadır. SAP proteinazlarının sadece doku invazyonu ve bağışıklık yanıtından kaçışta değil; aynı zamanda metabolik adaptasyon, morfolojik dönüşüm ve kolonizasyon süreçlerinde de etkin bir şekilde görev almaktadır (70).

2.7.7 Lipaz/Esteraz Enzimi

Candida'ların doku invazyonu ve virülansında etkili olan lipaz ve esteraz enzimleri, hidrolaz sınıfına ait ester bağlarını parçalayan enzimlerdir. Aktiviteleri ve substratları açısından birbirinden ayrılmaktadır.

Lipazlar uzun zincirli trigliseritleri (özellikle C10 ve üzeri yağ asitleri içeren lipidleri) hidrolize eden suda çözünmeyen, hidrofobik yağlara karşı aktif

enzimlerdir. *Candida* türlerinde dış ortam lipaz aktivitesi ilk kez Werner (71) tarafından saptanmış; sonrasında yapılan çalışmalarda Tsuboi ve ark. (72) tarafından salgılanan bir esteraz monoester hidrolazı olarak tanımlanmışlardır.

Esterazlar, ester bağlarını hidrolize ederek alkol ve asit oluşturan enzimlerdir. Bu enzimler, lipit metabolizmasında, hücre zarının yapı taşlarının parçalanmasında ve konak doku bileşenlerinin yıkımında rol oynar. *Candida* türlerinde saptanan esteraz aktivitesi, özellikle yüzey yapılarının modifikasyonunda ve konak dokularda *Candida* invazyonunu arttıran hücre dışına salınan enzimlerdendir. Hidrolitik enzimler içerisinde esterazlar, konak dokusunda suda çözünen kısa zincirli esterlerin (asetat veya Tween 80) hidrolizi, pH değişimi ile hidrolitik enzim aktivasyonu, konak bağışıklık hücrelerine bağlanarak fagositozdan kaçış ve biyofilm yapısının stabil hale getirilmesine katkı sağlamaktadır (67,72).

Tween'ler içerisinde Tween 20'de laurik asit (C12), Tween 40'ta palmitik asit (C16), Tween 60'ta stearik asit (C18), Tween 80 ve 85'te ise oleik asit (C18) bulunan başlıca yağ asitleridir. Esteraz enzimlerinin fenotipik düzeyde tespiti için yaygın olarak kullanılan substratlardan biri Tween 80'dir. Kimyasal olarak polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate olarak bilinen Tween 80, sorbitan çekirdeğine bağlı oleik asit ve 20 birimlik polioksietilen zincirinden oluşan, amfipatik özellik gösteren bir noniyonik yüzey aktif maddedir (73). Bu bileşik, hem lipofilik hem de hidrofilik bölgeler içermesi sayesinde su ve yağ fazları arasında emülsiyon oluşturabilir. Tween 80, esteraz enzimi varlığında hidrolize uğrayarak serbest oleik asit açığa çıkarır. Ortamda bulunan kalsiyum iyonları ile oleik asit birleşerek çözünmeyen agardaki opaklığı (bulanık) sağlayan çözünmeyen bir kompleks oluşumu gözlemlenir. Agar yüzeyinde oluşan opak zon çapı enzim aktivitesinin derecesiyle doğru orantılıdır. *Candida* izolatlarında esteraz üretiminin değerlendirilmesinde kullanılan bu yöntem, *Candida* türlerinin hidrolitik enziminin fenotipik olarak gözlemleyerek patogeneze hakkında bilgi verir (72,74).

2.7.8 Hemolizin Enzimi ile Sideroforları Kullanabilme Yeteneği

Hemolizin üretimi, *Candida* türleri için virülans faktörlerinden biridir. Bu aktivite, konak doku hasarına ve enfeksiyon gelişimine katkıda bulunan önemli patojenik mekanizmalardan biridir. Demir, mikroorganizmalar için büyüme ve metabolik aktivitelerini sürdürebilmeleri için elzem bir elementtir. İnsan vücudu

serbest demir bulunmasını engelleyen homeostatik kontrol mekanizması ile donatılmıştır. Demir, transferrin, laktoferrin, ferritin gibi bağlayıcı proteinlerde veya hem grubu içeren moleküllerde depolanır. Dolaşımda serbest halde demir bulunmaz. Bu sebeple patojen mikroorganizmalar, enfeksiyon oluşturma sürecinde demiri biyoyararlanabilir formda temin edebilmek amacıyla çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Enfeksiyon sırasında patojen mikroorganizmaların konak hücrelerden demir temin etmesi, mikroorganizmaların hayatta kalmaları ve yayılmalarını kolaylaştırmaktadır. Mikroorganizmalar tarafından salınan hemolizin enzimlerinin, konak hücre eritrosit membranlarında porlar açarak hücre lizisine neden olur. Eritrositlerin parçalanması ile ortaya çıkan serbest demir hemolizin salgılayan mikroorganizmalar (Örneğin *Candida*'lar) için çoğalma kapasitesini artıran önemli bir besin kaynağıdır. Enfeksiyon tablosunda demir kaynaklarını kullanabilme özelliği, patojenin virülansı açısından önemli bir faktördür. Konak mikroorganizmanın demir taşıma ve depolama mekanizmalarından korunabilmek, patojen organizmanın hayatta kalması ve çoğalması için kritiktir. Serumdaki transferrin dolayısıyla dolaşımda sınırlanan demir seviyesi *Candida*'ların büyümesini inhibe edebilmektedir. 1994 yılında *C. albicans* tarafından indüklenen kompleman aracılı hemoliz izlenmiştir. Özellikle hifal formdaki hücrelerin, opsonize edilmiş koyun eritrositlerini yüksek oranda lizise uğrattığı; bu hemolitik aktivitenin yalnızca hücre yüzeyinde değil, kültür ortamına salgılanan bir faktör aracılığıyla da gerçekleştiği görülmüştür (75).

C. albicans'ta bulunan Rbt5 proteini, hemoglobin ve heminin etkin bir şekilde kullanılabilmesi için önemli bir rol oynamaktadır. Eksikliğinde, *C. albicans*'ın demir metabolizması ciddi şekilde bozulmakta olup patojenin büyüme ve yayılma yeteneği sınırlanmaktadır (76).

Sidereforlar, ortamda demirin yetersiz olduğu durumlarda ökaryotik ve prokaryotik organizmalar tarafından salınan düşük molekül ağırlıklı (400-1500 Da) demir bağlayan proteinlerdir. *Candida*'lar ihtiyaç duydukları demiri otolog (kandidal) sideroforlardan veya heterolog (non-kandidal örnek Enterobacteriaceae) sideroforlardan elde edebilmektedirler (54).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 İzolatların Toplanması ve Saklanması

Çalışmaya Mart 2023-Kasım 2023 tarihleri arasında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen, idrar örneklerinden izole edilen 100 *Candida* türü izolat dahil edilmiştir. İzolatlar, steril eppendorf tüpleri içerisinde %16'lık gliserollü beyin kalp infüzyon buyyon besiyerine yoğun süspansiyon olacak şekilde inoküle edilerek -70°C'de saklanmıştır (77). Saklanan izolatlar çalışma zamanı geldiğinde SDA (Becton Dickinson (BD), Amerika) besiyerine azaltma ekimi şeklinde üç alt kültür pasajı yapılarak canlandırılmıştır.

3.2 İzolatların Tanımlanması

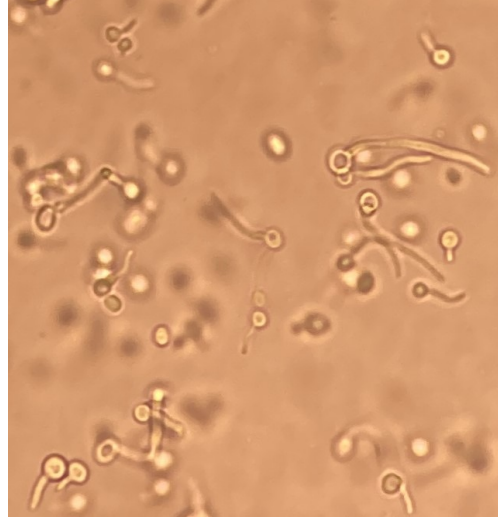
Çeşitli kliniklerden laboratuvara gönderilen idrar yolu örnekleri kültür laboratuvarında %5 koyun kanlı ve eozin metilen mavisi (EMB) (RTA, Türkiye) agara ekimi yapılarak; 35,5°C'de 18-24 saat etüvde inkübe edilmiştir. Kültür değerlendirmelerinde maya şüpheli koloniler (yumuşak, mukoid kıvamda, kabarık ve nemli bir görünüşte olan oval veya yuvarlak kenarlara sahip koloniler) Gram boyama ile boyanmıştır.

3.3 İzolatların Boyanarak Mikroskopik İncelenmesi

Gram boyama sonrasında mikroskopta maya görünümüne sahip olan koloniler SDA besiyerlerine pasajlar yapılarak 35,5°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir.

3.4 Germ Tüp Oluşumunun Tespiti

SDA besiyerinde üreyen maya kolonileri insan serumu içeren cam tüp içinde homojenize edilerek 35,5 °C'de 3 saat inkübasyon sonrasında lam-lamel arasında mikroskopta çimlenme borusu (germ tüp) oluşumu değerlendirilmiştir (Şekil 3.1). Çimlenme borusu gerçek hif başlangıcı olarak kabul edilmekle birlikte çimlenme borusu oluşturanlar *C.albicans* veya *C.dubliniensis* olarak düşünülmüştür.

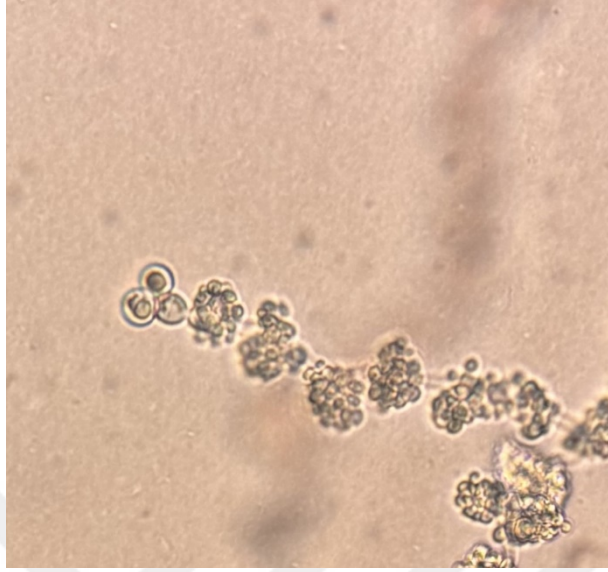


Şekil 3. 1. Germ tüp pozitif *Candida albicans* görüntüsü

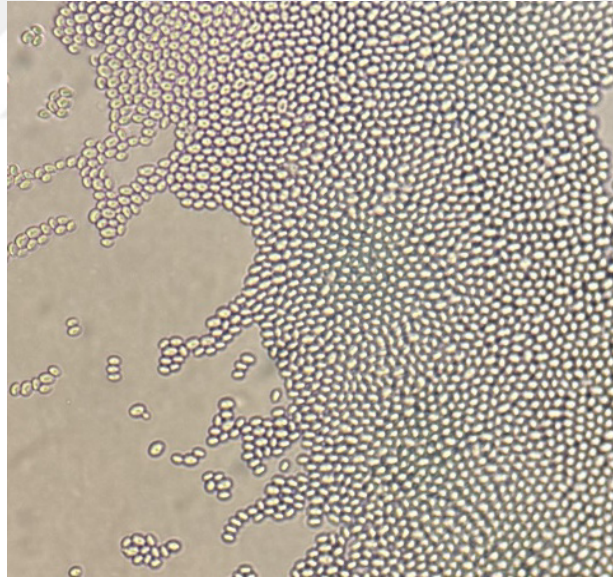
3.5 Mısır Unlu Tween 80 Besiyerinde Morfolojik Görünüm

Klamidospor oluşumunu incelemek için mısır unlu Tween-80 agara Dalmau tekniği ile ekim yapılmıştır. Saf maya kolonilerinden bu besiyerine iğne uçlu öze kullanılarak birbirine paralel çizgi ekimi yapılmıştır. İlk çizgiye paralel ikinci ve üçüncü çizgiler çekilerek koloninin seyreltilmesi amaçlanmıştır. Ekim çizgileri üzerine ortam oksijenini azaltması için steril bir lamel kapatılarak hazırlanan preparatlar oda ısısında 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda preparatlar ışık mikroskopunda 10x ve 40x büyütmede incelenmiştir. Psödohif ve blastospor yapıları gözlemlenmeyen kolonilerin inkübasyonu 72 saate uzatılmıştır. Büyük (8-12µm), yuvarlak ve sitoplazması yoğun sporlar içeren klamidospor yapısına sahip olanlar *C. albicans* veya *C. dubliniensis* olarak değerlendirilmiştir (şekil 3.2). *C. albicans* için mikroskopik olarak terminal klamidosporlarla psödohif; septalarda blastokonidia kümeleri içermesine bakılmıştır. Ekim çizgileri boyunca mikroskopik olarak hif yapısının olmaması, küçük blastospor yapıları ve terminal tomurcuklanma *C. glabrata* olarak değerlendirilmiştir (şekil 3.3). Kavisli psödohif boyunca blastokonidia ve düz misel hücreler *C. parapsilosis* olarak değerlendirilmiştir (şekil 3.4). Mikroskopide çapraz-kibrit çöpü veya ağaç dalına benzer uzun psödohiflerle karakterize tür *C. krusei* olarak değerlendirilmiştir (şekil 3.5). Psödohif boyunca blastokonidia; dallanan psödohifler *C. tropicalis* olarak değerlendirilmiştir (şekil 3.6). Erken tomurcuklanan, ince psödohif; septalarda blastokonidia kümeleri *C. guilliermondii* olarak değerlendirilmiştir (şekil 3.7). Kısa zincirli uzamış blastokonidia ve kavisli psödohifler *C. lusitaniae* olarak

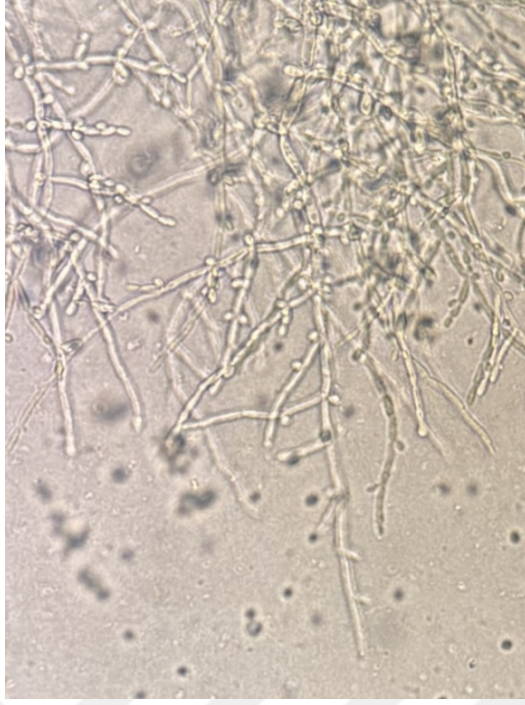
değerlendirilmiştir (şekil 3.8). Kısa psödohifler ve az sayıda blastokonidialar *Candida ciferrii* olarak değerlendirilmiştir (78-80).



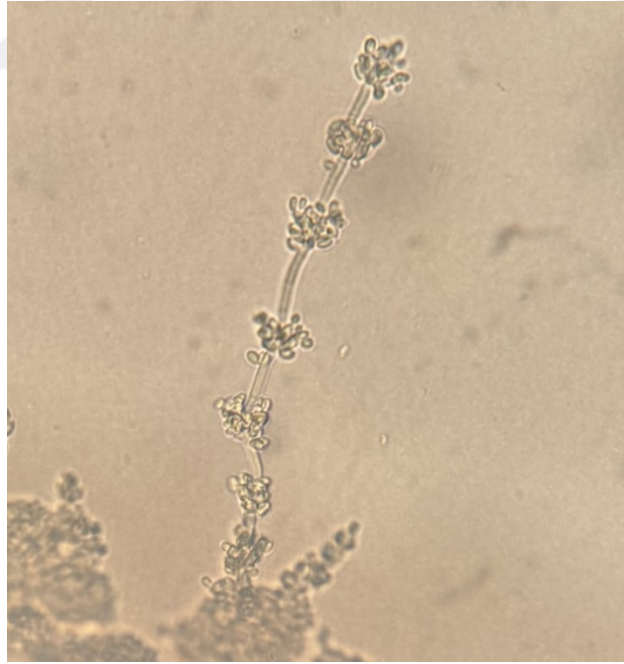
Şekil 3. 2. Mısır unlu agarda *Candida albicans* klamidospor görüntüsü



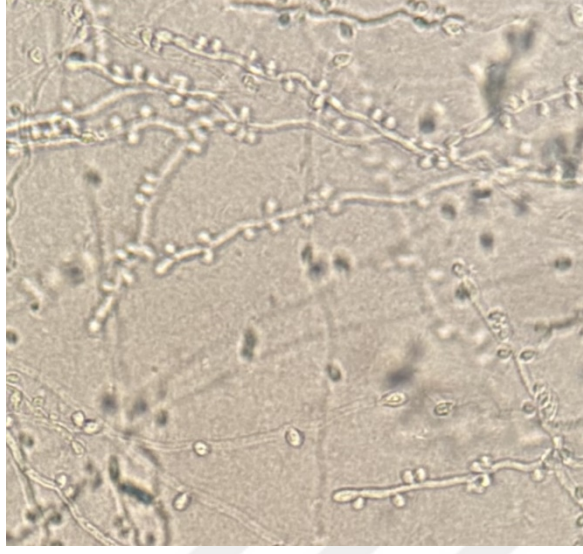
Şekil 3. 3. Mısır unlu agarda *Candida glabrata* görüntüsü



Şekil 3. 4. Mısır unlu agarda *Candida parapsilosis* görüntüsü



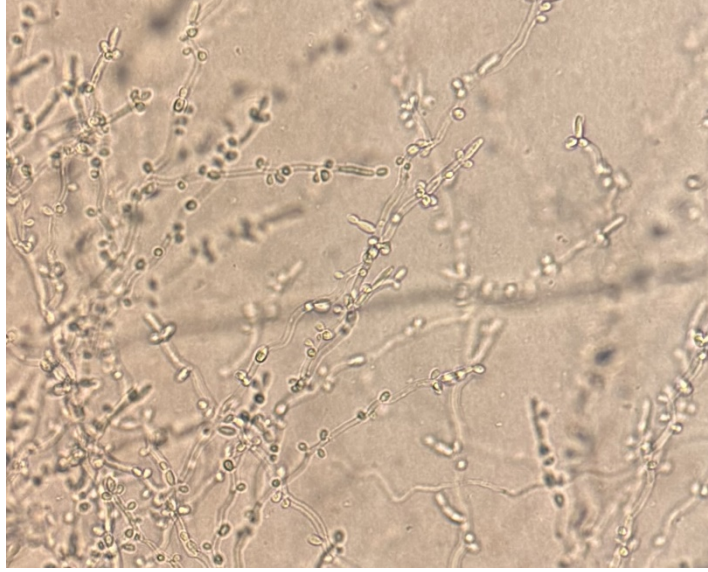
Şekil 3. 5. Mısır unlu agarda *Candida krusei* görüntüsü



Şekil 3. 6. Mısır unlu agarda *Candida tropicalis* görüntüsü



Şekil 3. 7. Mısır unlu agarda *Candida guilliermondii* görüntüsü



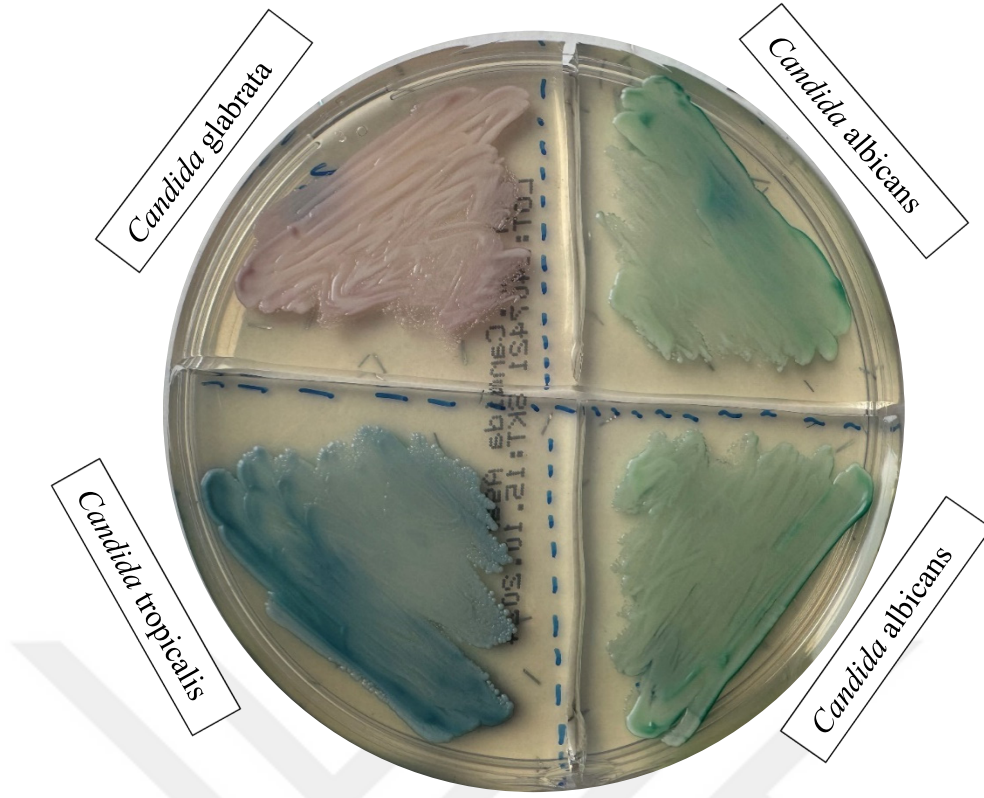
Şekil 3. 8. Mısır unlu agarda *Candida lusitaniae* görüntüsü

3.6 Kromojenik Besiyerleri

SDA’da üreyen mantarların cins ve tür tanımı için fenotipik yöntemlerden CHROMagar™ *Candida* besiyerine (CHROMagar, Saint-Denis, Fransa) ekimi yapılarak 35,5°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Besiyerlerinin içerisinde farklı kromojenik substratlar mevcuttur. Mayaların üremesiyle beraber ortama salınan ekzoenzimler (öz. β -hekzosaminidaz) aracılığı ile substrat yıkımı sonucu oluşan kromojenik ürün, maya kolonilerinin renginde değişimi sağlamaktadır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda *Candida* türlerinin oluşturduğu renk değişimine göre tanımlamalar yapılmıştır (Tablo 3.1, Şekil 3.9) (81).

Tablo 3.1. *Candida* türleri CHROMagar™ *Candida* besiyeri renk tanımı

<i>Candida</i> türleri	CHROMagar™ <i>Candida</i> besiyeri renk tanımı
<i>Candida albicans</i>	Yeşil koloni
<i>Candida tropicalis</i>	Metalik mavi koloni
<i>Candida krusei</i>	Pembe bulanık koloni
<i>C. kefyr, C. glabrata</i>	Leylak rengi – kahverengi
Diğer koloniler	Beyazdan leylak rengi



Şekil 3. 9. CHROMagarTM *Candida* görüntüsü

3.7 Tür Tanımlaması

Mayaların tür düzeyinde tanımlaması geleneksel yöntemlerin yanında tam otomatize bakteri tanımlama sistemi VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) cihazı aracılığıyla yapılmıştır. Tanımlama için VITEK 2 YST kartlarından faydalanılmıştır.

YST kartı ile tanımlanabilen *Candida* türleri:

• *C. albicans* • *C. auris* • *C. boidinii* • *C. catenulata* • *C. ciferrii* • *C. colliculosa* • *C. dubliniensis* • *C. duobushaemulonii* • *C. famata* • *C. freyschussii* • *C. glabrata* • *C. guilliermondii* • *C. haemulonii* • *C. haemulonii var vulnera* • *C. inconspicua* / *C. lambica* • *C. intermedia* • *C. kefyr* • *C. krusei* • *C. lipolytica* • *C. lusitaniae* • *C. magnoliae* • *C. norvegensis* • *C. parapsilosis* • *C. pelliculosa* • *C. pulcherrima* • *C. rugosa* • *C. sake* • *C. spherica* • *C. tropicalis* • *C. utilis* • *C. zeylanoides*

3.8 *Candida* İzolatlarında Antifungal Duyarlılığın Belirlenmesi

Mayaların antifungal duyarlılıkları tam otomatize bakteri tanımlama sistemi VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) cihazıyla yapılmıştır. Antifungal duyarlılık için 6 antifungal ajanı içeren VITEK 2 AST-YS08 kartlarından faydalanılmıştır.

AST-YS08 kart sisteminde yer alan antifungaller:

Flukonazol

Vorikonazol

Amfoterisin B

Mikafungin

Kaspofungin

Flusitozin

3.9 Besiyeri ve Katkıları

3.9.1 Hemoliz

İzolatların hemolitik aktivitelerinin tespiti için %5 koyun kanlı SDA (Orbak, Türkiye) besiyerleri kullanılmıştır. Besiyeri hazırlamak için bir litre steril su içine 65 g SDA (BD, Amerika) ve 30 g glukoz (Kimyalab, Türkiye) ilave edilerek otoklavda 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir. Besiyerleri 40-45°C’ye soğutulduktan sonra 50ml/L koyun kanı eklenmiş olup besiyerinin son pH’ı 5,6 olacak şekilde ayarlanmıştır. SDA besiyerinde üreyen kolonilerden steril serum fizyolojik kullanılarak 10 McFarland (10^8 koloni/ml) süspansiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlardan 10’ar µl alınarak her plak için 4 izolat kullanılarak besiyerlerine 1 cm’lik çap oluşturacak şekilde inoküle edilmiştir. 35,5°C’de 48 saat süre ile %5’lik CO₂’li ortamda plaklar inkübe edilmiştir.

Hemoliz aktivitesinin saptanması için inokülasyondan 24 saat sonra tüm izolatlarda ekim alanlarını çevreleyen alfa hemoliz gözlenmiştir. İnkübasyon süresi 48 saate uzatıldığında ise tüm izolatlarda hemoliz bölgesinin genişlediği ve çift bölgenin (içte beta hemoliz ile onu çevreleyen periferik alfa hemoliz) olduğu gözlemlenmiştir.

Koloniler etrafında oluşan ışığı geçiren saydam halkalar pozitif hemoliz zonu olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.11) (82).



Hemoliz pozitif

Hemoliz negatif

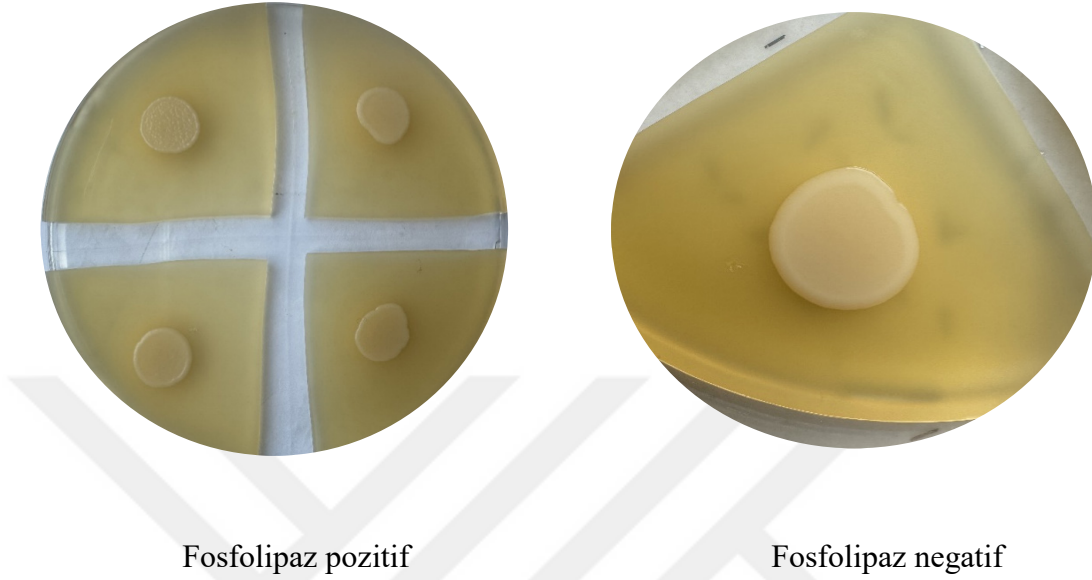
Şekil 3. 10. %5 koyun kanlı SDA'da *Candida* türü hemoliz aktivitesi

3.9.2 Fosfolipaz

Fosfolipaz aktivitesini değerlendirmek amacıyla yumurta sarılı agar (YSA) plak yöntemi kullanılmıştır. Besiyeri 65 g SDA (BD, Amerika), 1 M NaCl (58,5 g/mol), 0,005 M $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (219 g/mol) (KimyaLab, Türkiye) 1 litre distile su 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Karışıma 50 °C'de 80 gram/litre steril yumurta sarısı (Oxoid, İngiltere) yavaş yavaş eklenmiştir. Sitrik asit/disodyum fosfat tamponu (KimyaLab, Türkiye) ile %8'lik yumurta sarısı eklenmiş agarın son pH'ı 4,3 olacak şekilde ayarlanmıştır (83).

SDA'da 35,5 °C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası üreyen maya kolonileri steril serum fizyolojik kullanılarak McFarland 0,5 bulanıklığında süspansiyonlar hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlardan steril uçlu mikropipetler ile 10 mikrolitre (μL) alınarak her petride 4 adet izolat olacak şekilde damlatılarak ekim yapılmıştır. Besiyerleri 35,5°C'de 2 gün inkübe edilmiştir. Fosfolipaz aktivitesi gösteren izolatların sayısında ek inkübasyon süresince önemli ölçüde değiştiğinden inkübasyon süresi 5 güne kadar uzatılmıştır. Fosfolipaz aktivitesi inkübasyon sonrasında koloni çapının, presipitasyon zonunun çapına oranı hesaplanarak değerlendirilmiştir. Bu oran bir değerine eşit olması durumunda fosfolipaz

aktivitesi negatif, birin altında olması durumunda ise pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.12) (83).



Şekil 3. 11. YSA’da *Candida* türü fosfolipaz aktivitesi

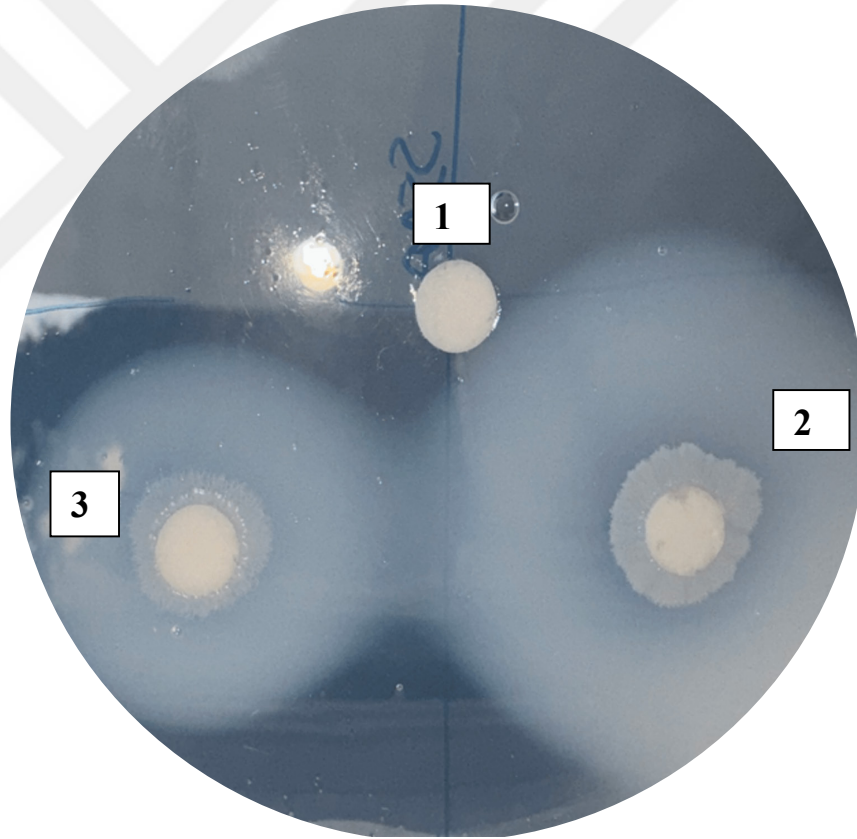
3.9.3 Proteinaz

Proteinaz aktivitesinin gösterilmesi için yeast extract pepton dextrose buyyon (YEPD) ve %1’lik sığır serum albumin agar (SSAA) kullanılmıştır.

YEPD buyyon hazırlamak için; 10 g yeast extract (Merck, Almanya), 20 g pepton (Kimyalab, Türkiye), 20 g dekstroze (KimyaLab, Türkiye) 1000 mL distile su içerisinde karıştırılarak otoklavda 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir. Karışım, ağzı kapalı steril tüplere 5 er mL dökülmüştür.

SSAA hazırlamak için 20 g dekstroze (KimyaLab, Türkiye), 1 g KH_2PO_4 (KimyaLab, Türkiye), 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (KimyaLab, Türkiye), 20 g agar (KimyaLab, Türkiye) 1000 mL distile su içinde karıştırılarak sitrik asit çözeltisi ile pH’si 5 olacak şekilde ayarlanıp otoklavda sterilize edilmiştir. Karışımın 50°C’ye soğuması beklenerek 0,45 µm’lik membran filtreden geçirilerek steril edilmiş ve %1’lik sığır serum albümin (Sigma chemical Co. St. Louis, Mo) çözeltisi %20 oranında eklendikten sonra plaklara dökülmüştür (84).

SDA'da üretilen *Candida* kolonileri steril serum fizyolojik içinde 0,3 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlanarak YEPD sıvı besiyerine inoküle edilmiştir. 30°C'de dört saat sonra yaklaşık 0,5 McFarland yoğunluğunda süspansiyonlar elde edilmiştir. Bu süspansiyonlardan 10'ar µL alınarak ve %1 sığır serum albümini içeren katı besiyerleri üzerine dizilmiş 6 mm çapındaki steril kağıt disklerin (Whatmann No2) (Bioanalyse, Türkiye) üzerine damlatılmıştır. %1'lik sığır serum albümini içeren agarlar 30°C'de yedi gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında proteolitik aktivitenin belirlenmesi amacıyla üreme zonunun çevresinde oluşan, besiyerindeki proteinin parçalandığını gösteren erime zonlarının genişlikleri ölçülmüştür. Disk etrafında lizis zonu olmayanlar proteolitik aktivitesi negatif, disk etrafında lizis zon çapı oluşturanlar ise pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.13) (85).



Proteinaz pozitif (2,3), Proteinaz negatif (1)

Şekil 3. 12. SSAA'da *Candida* türü proteinaz aktivitesi

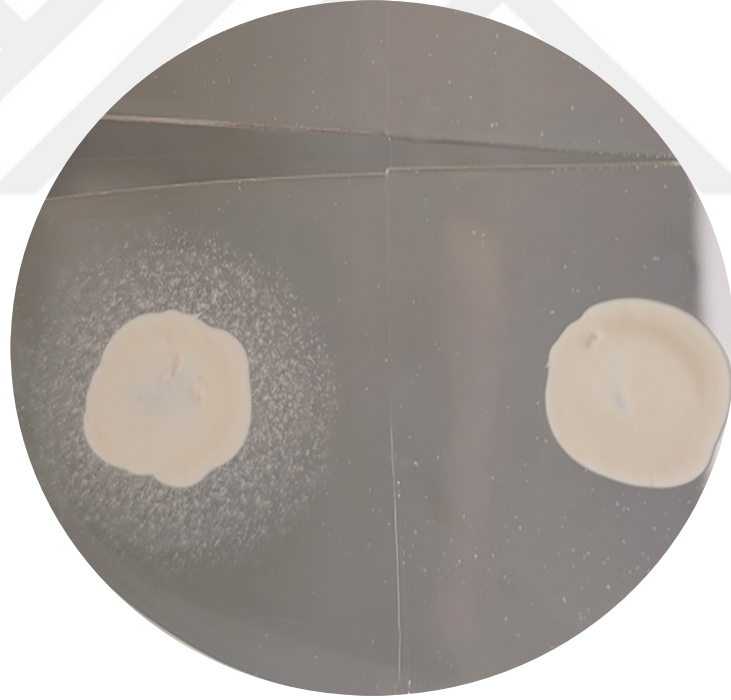
Şekil 3.13. *Candida* türü biyofilm tüp aderansı (Soldan

3.9.4 Esteraz

Esteraz aktivitesinin belirlenmesi için tween 80 katkılı agar kullanılmıştır. Besiyeri 10 g pepton, 5 g NaCl, 0.1 g CaCl₂ (Kimyalab, Türkiye), 15 g agar (Kimyalab, Türkiye) ve 1000 ml distile su ile hazırlanarak 121C°'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyeri otoklavlandıktan sonra 50°C'ye soğutulmuş ve plaklara 5 ml otoklavlanmış Tween 80 (Kimyalab, Türkiye), eklenmiştir. Besiyerinin son pH'ı 6,8'e ayarlanarak steril plaklara dökülmüştür.

SDA besiyerinde üreyen koloniler bölünmüş her bir tween 80 içeren agar plaklarına dörder izolat olacak şekilde pamuklu çubuk vasıtası ile 1 cm çap oluşturarak inoküle edilmiştir ve 30 °C'de inkübe edilmiştir. 2-3, 4-7 ve 10-12 günlerde değerlendirilmiştir.

Ekim alanının etrafında ışığı geçiren bir halo varlığı olması durumunda esteraz aktivitesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.14) (74).



(Solda esteraz pozitif, sağda esteraz negatif)

Şekil 3. 13. TWEEN80 agarda *Candida* türü esteraz aktivitesi

3.9.5 Biyofilm

Biyofilm üretimini belirlemek amaçlı modifiye tüp aderans yöntemi kullanılmıştır. SDA'da 48 saat inkübasyon sonrasında gelişen maya kolonilerinden bir öze dolusu mikroorganizma, glukoz ile zenginleştirilmiş ve son konsantrasyonu

%8 olan 10 ml'lik sabouraud dekstrozu buyyon (Merck, Almanya) içeren polistiren tüplere (Borox, Türkiye) inoküle edilmiştir. Tüpler, 35,5 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra dikkatlice içeriği boşaltılmış ve altında tortu kalmayacak şekilde distile su ile yıkayıp kurumaya bırakılmıştır. Kuruma sonrasında %1 safranin (Kimyalab, Türkiye) ile boyanarak 7 dakika bekletilmiştir. Safranin uzaklaştırıldıktan sonra tüpler biyofilm üretimi açısından iki farklı gözlemci tarafından bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Tüpün duvarında ve tabanında görünür bir film tabakası oluştuğunda biyofilm oluşumu pozitif kabul edilmiştir. Yapışkan biyofilm tabakası görsel olarak negatif, düşük pozitif (1+), orta derecede pozitif (2+) veya güçlü pozitif (3+) şeklinde derecelendirilmiştir (Şekil 3.15) (86).



(Soldan Sağa Güçlü/Orta/Zayıf/Negatif)

Şekil 3. 14. *Candida* biyofilm tüp aderansı

3.10 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Metot

3.10.1 Numune Ön Hazırlık

Petri üzerinde üretilmiş olan mikroorganizmalar öncelikle steril öze kullanılarak 1 öze dolusu kadar alındı ve 1mL fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) (1X,

Sigma, Amerika) içerisinde çözöldü. Ardından içerik, çalışma yapılana kadar -80 °C’de muhafaza edildi.

3.10.2 Ekstraksiyon Metot

Çalışmada izole edilen *Candida* izolatları için ekstraksiyon kiti olarak DiaRex® Stool Genomic DNA Extraction Kit (Kat No: SD-0323, Ankara) kullanıldı. Kısaca 200 µl PBS alındı ve 10.000 x g’ de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldıktan sonra pellet üzerine 250µl lizis (LBD) solüsyonu eklendi. Ardından üzerine 15 mg cam ve 10 adet zirkon boncuk eklenerek homojenizatör cihazında 4000 rpm’de 2x20 saniye homojenize edildi. Homojenizasyondan sonra üzerine 25µl proteinaz K (PKD) solüsyonu eklendi ve 56 °C’ de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm içerik 5000 g’ de 5 dakika santrifüj yapılarak süpernatant yeni tüpe aktarıldı. Süpernatant üzerine 200µl lizis (SLD) solüsyonu eklendi ve 70 °C’ de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından lizata 250 µl mutlak etanol eklendi ve tüm içerik kolona aktarıldı. Kolon 8000 g x 1 dakika santrifüj yapıldıktan sonra yeni tüpe aktarıldı. Ardından kit protokolüne göre yıkamalar yapıldıktan sonra 100 µl elüsyon (EBD) solüsyonu eklendi ve 2 dakika inkübasyondan sonra 8000 g x 1 dakika santrifüj yapılarak genomik DNA elde edildi.

3.10.3 Analiz

Çalışmada kullanılan primer sekansları ve ürün boyutları Tablo 3.2.’de verilmiştir (2,87).

Tablo 3.2 Primer ve oligonökleotid dizileri

Hedeflenen Grup	Primer Adı	Oligonökleotid Bilgisi	Baz Uzunluğu	Boyut (bp)	Sıcaklık (°C)	Melting TM
ALS1(87)	<i>C.albicans</i> ALS1-F	ACCAGAAGAAACA GCAGGTG	22	319	60	81-83 °C
	<i>C.albicans</i> ALS1-R	GACTAGTGAACCA ACAAATACCAG	26			
ALS3(87)	<i>C.albicans</i> ALS3-F	CCAAGTGTTCCAAC AACTGAA	23	185	60	81-82 °C
	<i>C.albicans</i> ALS3-R	GAACCGGTTGTTGC TATGGT	22			
HWP1(2)	<i>C.albicans</i> HWP1-F	TCAGTTCCACTCAT GCAACCA	21	99	60	80-82 °C
	<i>C.albicans</i> HWP1-R	AGCACCGAAAGTC AATCTCATGT	23			

PCR primerleri (BIOligo, Ankara, Türkiye) sentez ettirildi ve 100 µM olacak şekilde sulandırıldı. Ardından PCR ana karışımı 5 µL DNA, 4µL Sybrgreen® 5X ana karışımı (Solisbiodyne, Estonya), primer miks 5µL (0,3µM forward ve reverse primer) (Tablo 4) kullanılarak toplam hacim dH₂O ile 20 µL olacak şekilde ayarlandı. DNA'nın amplifikasyonu için realtime PCR (BioRAD CFX96-Amerika) cihazında 5 dakika süreyle 95°C; 10 saniye süreyle 95°C, 30 saniye süreyle 60 °C 'de 40 döngü olacak şekilde uygulandı. PCR döngüsünün ardından melting eğrisi için 95 °C 5 sn, 60 °C 1 dk ve 95 °C' ye kadar HRM analizi ile fragment çoğaltma işlemi yapıldı.

3.11 Etik Kurul Onayı

Çalışma için gerekli etik kurul onayı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu'nun 2023/422 sayı ve 05.12.2023 tarihli kararı ile alındı.

3.12 İstatistiksel Yöntem

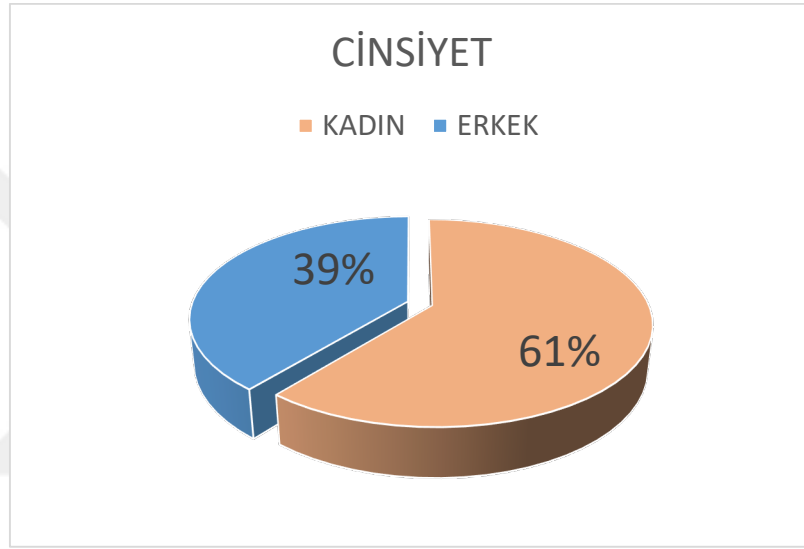
Çalışmadaki kategorik değişkenler sayı ve yüzdeler ile özetlenmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Pearson'un ki-kare testi, doğrusal ilişki ki-kare testi ve Fisher'ın kesin testi kullanılmıştır. Ki-kare testleri, iki değişken arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını değerlendirirken, Fisher'ın kesin testi özellikle düşük gözlem sayılarına sahip hücrelerde tercih edilmiştir. İki sıralı (ordinal) değişken arasındaki doğrusal ilişkiyi değerlendirmek için de doğrusal ilişki ki-kare testi tercih edilmiştir. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler, SPSS 26.0 (IBM Corp. Armonk, NY, USA) istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 İzolatların Dağılımı

Bu çalışmada toplam 100 *Candida* izolatı incelenmiş olup, Hastaların yaş ortalaması $75,78 \pm 13,82$ olduğu görülmüştür. Kadın cinsiyette yaş ortalaması $77,82 \pm 14,38$ (39-101); erkek cinsiyette yaş ortalaması $72,59 \pm 12,42$ (37-93) olarak tespit edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen *Candida* izolatlarının %61'i kadın %39'u erkek hastalardan elde edilmiştir (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. İzole edilen *Candida* türlerinin cinsiyete göre dağılımı

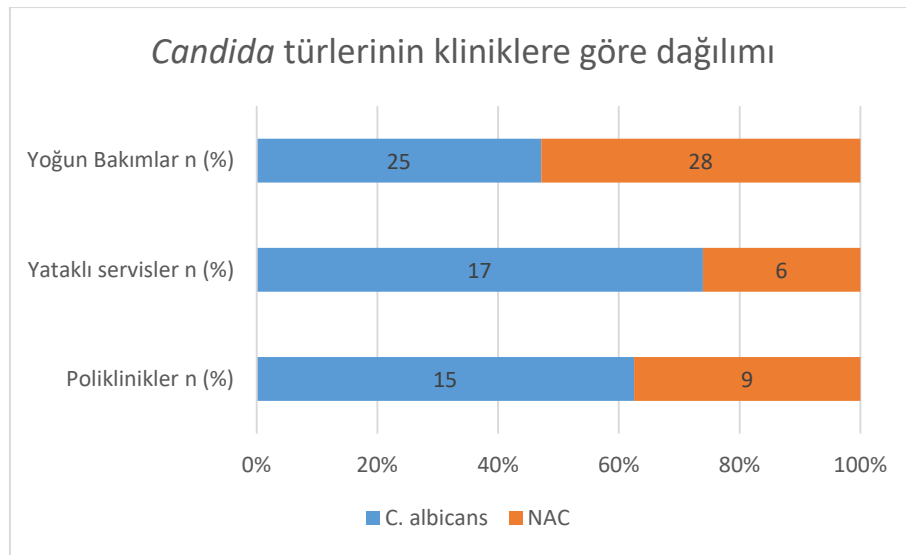
En sık izole edilen tür *C. albicans* olup, toplam 57 olguda (%57) saptanmıştır. Kadın hastalarda 37 (%60,7), erkek hastalarda ise 20 (%51,3) *C. albicans* izole edilmiştir.

NAC türleri kadın hastalarda 24 (%39,3), erkek hastalarda 19 (%48,7) olmak üzere toplam 43 (%43) örnekten izole edilmiştir. NAC türleri arasında en sık izole edilen tür *C. tropicalis* (%17) olmuştur. *Candida* türlerinin cinsiyete göre dağılımı Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. İzolatların cinsiyete göre dağılımları

<i>Candida</i> Türleri	Kadın	Erkek	Toplam
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>Candida albicans</i>	37 (60,7)	20 (51,3)	57(57)
Non-<i>albicans Candida</i>	24 (39,3)	19 (48,7)	43 (43)
<i>Candida tropicalis</i>	9 (14,8)	8 (20,5)	17 (17)
<i>Candida glabrata</i>	8 (13,1)	4 (10,3)	12 (12)
<i>Candida parapsilosis</i>	2 (3,3)	3 (7,7)	5 (5)
<i>Candida lusitanae</i>	3 (4,9)	1 (2,6)	4 (4)
<i>Candida krusei</i>	2 (3,3)	1 (2,6)	3 (3)
<i>Candida ciferrii</i>	0 (0)	1 (2,6)	1 (1)
<i>Candida guilliermondii</i>	0 (0)	1 (2,6)	1 (1)
Genel Toplam	61 (61)	39 (39)	100 (100)

İzolatların %53'ü yoğun bakımlar, %24'ü poliklinikler ve %23'ü yataklı servislerden izole edilmiştir (Şekil 4.2.). Kliniklere göre tür dağılımı ise polikliniklerden elde edilen toplam 24 izolatın 15'i (%62,5) *C. albicans*, 9'u (%37,5) NAC olmuştur. Yataklı servislerde izole edilen 23 izolatın 17'sinin (%73,91) *C. albicans*, 6'sının (%26,09) NAC izolatları olduğu görülmüştür. Yoğun bakım ünitelerinde ise toplam 53 izolatın 25'inde (%47,16) *C. albicans*, 28'inde (%52,84) NAC izolatları tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. İzole edilen *Candida* türlerinin kliniklere göre dağılımı

Çalışmamızda *C. albicans* izolatları yüksek oranda hemoliz (%100), esteraz (%98,2), fosfolipaz (%92,9) ve proteinaz (%73,6) aktiviteleri göstermiştir (Tablo 4.2.).

NAC türlerinde ise hemoliz (%100) *C. albicans* ile aynı oranda görülürken; proteinaz (%69,7), fosfolipaz (%67,4) ve esteraz (%62,7) daha düşük oranlarda saptanmıştır (Tablo 4.2.).

Çalışmamızda NAC türlerinde enzim aktivitelerinin değiştiği; *C. tropicalis*'in yüksek hemoliz (%100), proteinaz (%82,3), esteraz (%100) aktivitesi ile daha düşük oranda fosfolipaz (%58,8) aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. *C. glabrata*'da yüksek hemoliz (%100), fosfolipaz (%91,6) ile düşük oranda proteinaz (%33,3) ve esteraz (%8,3) aktivitesi saptanmıştır. (Tablo 4.2.).

İzole edilen *Candida* türlerinin biyofilm oluşturma kapasiteleri tüp aderans yöntemiyle değerlendirilmiştir. *C. albicans* izolatlarının %40,3'ünde (%33,3 zayıf, %7 orta düzeyde) biyofilm oluşumu gözlenmiş olup güçlü biyofilm oluşturan izolat gözlenmemiştir. Buna karşılık NAC türlerinde biyofilm oluşturma oranlarının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu gruptaki izolatların %83,7' sinde (%18,6 zayıf, %20,9 orta, %44,1 güçlü düzeyde) biyofilm oluşumu gözlenmiştir. Tüm *Candida* izolatlarında biyofilm pozitifliği %59 oranında saptanmıştır (tablo 4.2.).

Tablo 4.2. *Candida* türlerinin virülans faktörleri ve gen ekspresyonları

<i>Candida</i> Türleri	Hemoliz n/t (%)	Fosfolipaz n/t (%)	Proteinaz n/t (%)	Esteraz n/t (%)	Biyofilm Tüp Adherans			Genler			
					Zayıf n/t (%)	Orta n/t (%)	Güçlü n/t (%)	Total Pozitif n/t (%)	HWP 1 n/t (%)	ALS 1 n/t (%)	ALS 3 n/t (%)
<i>Candida albicans</i>	57/57 (100)	53/57 (92,9)	42/57 (73,6)	56/57 (98,2)	19/57 (33,3)	4/57 (7,0)	0/57 (0,0)	23/57 (40,3)	54/57 (94,7)	6/57 (10,5)	55/57 (96,4)
<i>Non- albicans Candida</i>											
<i>Candida tropicalis</i>	17/17 (100)	10/17 (58,8)	14/17 (82,3)	17/17 (100)	1/17 (5,8)	2/17 (11,7)	14/17 (82,3)	17/17 (100)			
<i>Candida glabrata</i>	12/12 (100)	11/12 (91,6)	4/12 (33,3)	1/12 (8,3)	2/12 (16,6)	4/12 (33,3)	2/12 (16,6)	8/12 (66,6)			
<i>Candida parapsilosis</i>	5/5 (100)	2/5 (40,0)	5/5 (100)	3/5 (60,0)	2/5 (40,0)	2/5 (40,0)	0/5 (0,0)	4/5 (80,0)			
<i>Candida lusitanae</i>	4/4 (100)	2/4 (50,0)	3/4 (75,0)	4/4 (100)	1/4 (25,0)	1/4 (25,0)	1/4 (25,0)	3/4 (75,0)	2/4 (50,0)	1/4 (25,0)	2/4 (50,0)
<i>Candida krusei</i>	3/3 (100)	2/3 (66,6)	3/3 (100)	1/3 (33,3)	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	2/3 (66,6)	2/3 (66,6)			
<i>Candida ciferrii</i>	1/1 (100)	1/1 (100)	0/1 (0,0)	1/1 (100)	1/1 (100)	0/1 (0,0)	0/1 (0,0)	1/1 (100)	1/1 (100)		1/1 (100)
<i>Candida guilliermondii</i>	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	0/1 (0,0)	1/1 (100)	0/1 (0,0)	0/1 (0,0)	1/1 (100)			
<i>Non-albicans Candida</i>	43/43 (100)	29/43 (67,4)	30/43 (69,7)	27/43 (62,7)	8/43 (18,6)	9/43 (20,9)	19/43 (44,1)	36/43 (83,7)	3/43 (6,9)	1/43 (2,3)	3/43 (6,9)
Genel Toplam	100/100 (100)	82/100 (82,0)	72/100 (72,0)	83/100 (83,0)	27/100 (27,0)	13/100 (13,0)	19/100 (19,0)	59/100 (59,0)	57/100 (56,9)	7/100 (7,0)	58/100 (57,9)

C. albicans izolatlarında flukonazole ve mikafungine karşı %2 oranında direnç saptanmıştır. *C. tropicalis* izolatlarında mikafungin karşı direnç %6 olarak saptanmıştır. *C. parapsilosis* için flukonazole %50, vorikonazole %50, amfoterisin B'ye %40, mikafungine %20 oranında direnç saptanmıştır. *C. glabrata* izolatlarında kaspofungine %8, *Candida krusei* izolatlarında ise amfoterisin B'ye %33 oranında direnç saptanmıştır (Tablo 4.3.) (88,89).

Tablo 4.3. *Candida* türleri ve antifungal duyarlılıkları

<i>Candida</i> türleri	Flukonazol		Vorikonazol		Amfoterisin B		Mikafungin			Kaspofungin		
	S n/t (%)	R n/t (%)	S n/t (%)	R n/t (%)	S n/t (%)	R n/t (%)	S n/t (%)	I n/t (%)	R n/t (%)	S n/t (%)	I n/t (%)	R n/t (%)
<i>Candida albicans</i> (n=57)	56/57 (98)	1/57 (2)	57/57 (100)	0	57/57 (100)	0	55/57(96)	1/57 (2)	1/57 (2)	56/57 (98)	1/57 (2)	0
<i>Candida tropicalis</i> (n=17)	16/16 (100)	0	15/15 (100)	0	16/16(100)	0	16/17(94)		1/17 (6)	16/17(94)	1/17(6)	
<i>Candida glabrata</i> (n=12)					12/12 (100)	0	12/12 (100)		0	4/12 (33)	7/12 (59)	1/12 (8)
<i>Candida parapsilosis</i> (n=5)	1/2 (50)	1/2(50)	2/4(50)	2/4(50)	3/5(60)	2/5(40)	4/5 (80)		1/5(20)	5/5(100)		0
<i>Candida lusitanae</i> (n=4)												
<i>Candida krusei</i> (n=3)	-	-	3/3(100)	0	2/3 (67)	1/3 (33)	3/3(100)		0	3/3(100)		0
<i>Candida ciferrii</i> (n=1)												
<i>Candida guilliermondii</i> (n=1)	IE	IE	IE	IE	IE	IE	1/1 (100)			1/1 (100)		0

S: Duyarlı

I: Yüksek dozda duyarlı

R: Dirençli

IE: Yetersiz kanıt

Duyarlı *C. albicans* izolatlarında biyofilm pozitiflik oranı flukonazol için %41, vorikonazol ve amfoterisin B için %40,3, mikafungin için %38,1, kaspofungin için %39,2 olarak saptanmıştır. Ayrıca mikafungin ve kaspofungin için yüksek dozda duyarlı birer izolatta ve mikafungin dirençli bir izolatta biyofilm pozitifliği saptanmıştır (Tablo 4.4).

Duyarlı NAC izolatlarında biyofilm pozitiflik oranı flukonazol için %100, vorikonazol için %95, amfoterisin B için %84,8, mikafungin için %83,3 ve kaspofungin için %86,2 olarak saptandı. Ayrıca yüksek dozda duyarlılıkta kaspofungin için 6 örnek (6/8) ve dirençli izolatlarda flukonazol için 1 (1/1), vorikonazol için 1 (1/2), amfoterisin B için 2 (2/3), mikafungin için 2 (2/2) kaspofungin için 1 (1/1) örnekte biyofilm pozitifliği saptanmıştır (Tablo 4.4).

Duyarlı tüm *Candida* izolatlarında biyofilm pozitiflik oranı flukonazol için %54,7, vorikonazol için 54,5, amfoterisin B için %56,7, mikafungin için %56 ve kaspofungin için %55,3 olarak saptanmıştır. Ayrıca yüksek dozda duyarlılıkta mikafungin için 1 (1/1), kaspofungin için 7 örnek (7/9) ve dirençli izolatlarda flukonazol için 1 (1/2), vorikonazol için 1 (1/2), amfoterisin B için 2 (2/3), mikafungin için 3 (3/3), kaspofungin için 1 (1/2) örnekte biyofilm pozitifliği saptanmıştır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Biyofilm pozitifliği ve ilaç direnci arasındaki ilişki

Biyofilm pozitif olan <i>Candida</i> Türleri	Flukonazol		Vorikonazol		Amfoterisin B		Mikafungin			Kasopfungin		
	S n/t (%)	R n/t (%)	S n/t (%)	R n/t (%)	S n/t (%)	R n/t (%)	S n/t (%)	I n/t (%)	R n/t (%)	S n/t (%)	I n/t (%)	R n/t (%)
<i>Candida albicans</i>	23/56 (41,0)	0/1 (0)	23/57 (40,3)	0/0 (0)	23/57 (40,3)	0/0 (0)	21/55 (38,1)	1/1 (100)	1/1 (100)	22/56 (39,2)	1/1 (100)	0/1 (0)
<i>Non-albicans Candida</i>												
<i>Candida tropicalis</i>	16/16 (100)	0/0 (0)	15/15 (100)	0/0 (0)	16/16 (100)	0/0 (0)	16/16 (100)	0/0 (0)	1/1 (100)	16/16 (100)	1/1 (100)	0/0 (0)
<i>Candida glabrata</i>					8/12 (66,6)	0/0 (0)	8/12 (66,6)	0/0 (0)	0/0 (0)	2/4 (50,0)	5/7 (71,4)	1/1 (100)
<i>Candida parapsilosis</i>	1/1 (100)	1/1 (100)	2/2 (100)	1/2 (50,0)	3/3 (100)	1/2 (50,0)	3/4 (75,0)	0/0 (0)	1/1 (100)	4/5 (80,0)	0/0 (0)	0/0 (0)
<i>Candida lusitanae</i>												
<i>Candida krusei</i>			2/3 (66,6)	0/0 (0)	1/2 (50,0)	1/1 (100)	2/3 (66,6)	0/0 (0)	0/0 (0)	2/3 (66,6)	0/0 (0)	0/0 (0)
<i>Candida ciferrii</i>												
<i>Candida guilliermondii</i>							1/1 (100)	0/0 (0)	0/0 (0)	1/1 (100)	0/0 (0)	0/0 (0)
<i>Non-albicans Candida</i>	17/17 (100)	1/1 (100)	19/20 (95,0)	1/2 (50,0)	28/33 (84,8)	2/3 (66,6)	30/36 (83,3)	0/0 (0)	2/2 (100)	25/29 (86,2)	6/8 (75,0)	1/1 (100)
Genel Toplam	40/73 (54,7)	1/2 (50,0)	42/77 (54,5)	1/2 (50,0)	51/90 (56,7)	2/3 (66,6)	51/91 (56)	1/1 (100)	3/3 (100)	47/85 (55,3)	7/9 (77,7)	1/2 (50,0)

Tablo 4.5.'te, *C. albicans* izolatlarında biyofilm tüp aderansı ile HWP1, ALS1 ve ALS3 gen ekspresyonları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. HWP1 gen ekspresyonu olmayanlarda, biyofilm tüp aderansı %33,3 (1/3) oranında negatiflik gösterirken, HWP1 gen ekspresyonu olanlarda %61,1'i (33/54) negatif biyofilm tüp aderansı göstermiştir. Benzer şekilde, ALS1 gen ekspresyonu olmayanlarda %60,8 (31/51) oranında biyofilm aderansı negatif iken, ALS1 gen ekspresyonu olanların ise %50'si (3/6) negatif biyofilm aderansı göstermiştir. ALS3 gen ekspresyonu olmayanlarda %50 (1/2) oranında biyofilm aderansı negatif iken, ALS3 gen ekspresyonu olanlarda bu oran %60 (33/55) olarak gözlemlenmiştir. Her ne kadar biyofilm tüp aderansı oranları gen ekspresyonu varlığına göre farklılık gösterse de *C. albicans* izolatlarında biyofilm ve gen ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Tablo 4.5. *C. albicans* izolatlarında biyofilm tüp aderansı ile gen ekspresyonları arasındaki ilişki

Biyofilm Tüp Aderans	HWP1			ALS1			ALS3		
	Yok n(%)	Var n(%)	p	Yok n(%)	Var n(%)	p	Yok n(%)	Var n(%)	p
	3 (5,3)	54 (94,7)	p	51 (89,5)	6 (10,5)	p	2 (3,5)	55 (96,5)	p
Negatif	1 (33,3)	33 (61,1)		31 (60,8)	3 (50,0)		1 (50,0)	33 (60,0)	
Zayıf	2 (66,7)	17 (31,5)	0.6	17 (33,3)	2 (33,3)	0.467	1 (50,0)	18 (32,7)	1.00
Orta	0 (0)	4 (7,4)	36	3 (5,9)	1 (16,7)		0 (0)	4 (7,3)	0
Güçlü	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	

p-değerleri doğrusal ilişki ki-kare testi ile hesaplanmıştır.

NAC izolatları için yapılan analizde, HWP1 ve ALS3 genleri için biyofilm tüp aderansı ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (p=0.048). HWP1 ve ALS3 gen ekspresyonu olmayanlarda biyofilm tüp aderansı negatif olanların oranı %15 (6/40) ve zayıf pozitif olanların oranı %15 (6/40) iken, HWP1 ve ALS3 gen ekspresyonu olanlarda negatif olanların oranı %33,3 (1/3) ve zayıf pozitif olanların oranı ise %66,7 (2/3) olarak gözlemlenmiştir. HWP1 ve ALS3 gen ekspresyonu olmayanlarda sırasıyla orta (%22 ve %22,5) ve güçlü (%47,5 ve %47,5) düzeyde biyofilm aderansı gözlenirken, HWP1 ve ALS3 gen ekspresyonu olanlarda orta ve güçlü düzeyde biyofilm tüp aderansı gözlemlenmemiştir. ALS1

gen ekspresyonu olmayanların %45,2' sinde güçlü düzeyde biyofilm tüp aderansı gözlemlenirken ALS1 gen ekspresyonu olanların sadece birinde zayıf biyofilm gözlemlenmiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. NAC izolatlarında biyofilm tüp aderansı ile gen ekspresyonları arasındaki ilişki

Biyofilm Tüp Aderans	HWP1		p	ALS1		p	ALS3		p
	Yok n(%)	Var n(%)		Yok n(%)	Var n(%)		Yok n(%)	Var n(%)	
	40 (93)	3(7)		42(97,7)	1(2,3)		40(93)	3(7)	
Negatif	6 (15)	1 (33,3)	0.048	7 (16,7)	0 (0)	0.791	6 (15)	1 (33,3)	0.048
Zayıf	6 (15)	2 (66,7)		7 (16,7)	1(100)		6 (15)	2 (66,7)	
Orta	9 (22)	0 (0)		9 (21,4)	0 (0)		9 (22,5)	0 (0)	
Güçlü	19(47,5)	0 (0)		19 (45,2)	0 (0)		19 (47,5)	0 (0)	

p-değerleri doğrusal ilişki ki-kare testi ile hesaplanmıştır.

Tablo 4.7'de, *C. albicans* örneklerinin virülans faktörleri (hemoliz, fosfolipaz, proteinaz, esteraz) ile HWP1, ALS1 ve ALS3 gen ekspresyonları arasındaki ilişki analiz edilmiştir. HWP1 gen ekspresyonu olan izolatlarda hemoliz %94,7 (54/57), fosfolipaz %96,2 (51/53), proteinaz %92,9 (39/42) ve esteraz %94,6 (53/56) oranında pozitif saptanmıştır. ALS3 gen ekspresyonu olan izolatlarda hemoliz %96,5 (55/57), fosfolipaz %96,2 (51/53), proteinaz %95,2 (40/42) ve esteraz %96,4 (54/56) oranında pozitif olarak saptanmıştır. ALS1 gen ekspresyonu olan izolatlarda ise hemoliz %10,5 (6/57), fosfolipaz %9,4 (5/53), proteinaz %14,3 (6/42) ve esteraz %10,7 (6/56) oranında pozitif saptanmıştır. HWP1, ALS1 ve ALS3 genleri ile hemoliz, fosfolipaz, proteinaz ve esteraz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$).

Tablo 4.7. *C. albicans* izolatlarında gen ekspresyonları ile virülans faktörleri arasındaki ilişki

Genler	Hemoliz			Fosfolipaz			Proteinaz			Esteraz		
	Yok (n=0)	Var (n=57)	p	Yok (n=4)	Var (n=53)	p	Yok (n=15)	Var (n=42)	p	Yok (n=1)	Var (n=56)	p
HWP1	0(0)	54 (%94,7)	NA	3 (%75)	51 (%96,2)	0.199	15 (%100)	39 (%92,9)	0.559	1 (%100)	53 (%94,6)	1.000
ALS1	0(0)	6 (%10,5)	NA	1 (%25)	5 (%9,4)	0.367	0 (0)	6 (%14,3)	0.325	0(0)	6 (%10,7)	1.000
ALS3	0(0)	55 (%96,5)	NA	4 (%100)	51 (%96,2)	1.000	15 (%100)	40 (%95,2)	1.000	1 (%100)	54 (%96,4)	1.000

p-değerleri Fisher'ın kesin testi ile hesaplanmıştır. NA: Gruplarda gözlem olmaması nedeniyle hesaplanamamıştır.

Tablo 4.8'de NAC izolatlarında gen ekspresyonlarının virülans faktörleri ile ilişkisi incelenmiştir. HWP1 ve ALS3 gen ekspresyonu pozitif olanlarda, hemoliz %7 (3/43), fosfolipaz %6,9 (2/29), proteinaz %3,3 (1/30) ve esteraz pozitifliği %11,1 (3/27) oranında görülürmüştür. ALS1 gen ekspresyonu pozitif olanlarda, hemoliz %2,3 (1/43), proteinaz %3,3 (1/30), esteraz %3,7 (1/27) oranında pozitif bulunurken; bu izolatlarda fosfolipaz pozitifliği görülmemiştir. NAC izolatlarında HWP1, ALS1 ve ALS3 genleri ile hemoliz, fosfolipaz, proteinaz ve esteraz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Tablo 4.8. NAC izolatlarında gen ekspresyonları ile virülans faktörleri arasındaki ilişki

Genler	Hemoliz			Fosfolipaz			Proteinaz			Esteraz		
	Yok (n=0)	Var (n=43)	p	Yok (n=14)	Var (n=29)	p	Yok (n=13)	Var (n=30)	p	Yok (n=16)	Var (n=27)	p
HWP1	0 (0)	3 (%7,0)	NA	1 (%7,1)	2 (%6,9)	1.000	2 (%15,4)	1 (%3,3)	0.213	0 (0)	3 (%11,1)	0.282
ALS1	0 (0)	1 (%2,3)	NA	1 (%7,1)	0 (0)	0.326	0 (0)	1 (%3,3)	1.000	0 (0)	1 (%3,7)	1.000
ALS3	0 (0)	3 (%7,0)	NA	1 (%7,1)	2 (%6,9)	1.000	2 (%15,4)	1 (%3,3)	0.213	0 (0)	3 (%11,1)	0.282

p-değerleri Fisher'ın kesin testi ile hesaplanmıştır. NA: Gruplarda gözlem olmaması nedeniyle hesaplanamamıştır.

Tablo 4.9’da *C. albicans* ve NAC izolatları arasında virülans faktörleri ve gen ekspresyonları arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Fosfolipaz pozitifliği *C. albicans* izolatlarında %93,0 (53/57), NAC izolatlarında %67,4 (29/43) olup aradaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$). Esteraz pozitifliği *C. albicans* izolatlarında %98,2 (56/57), NAC izolatlarında %62,8 (27/43) olup, aradaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$).

Biyofilm tüp aderansı açısından değerlendirildiğinde, NAC izolatlarında güçlü aderans özellik %44,2 (19/43) oranında gözlenirken, *C. albicans* izolatlarında güçlü aderans özellik gözlenmemiştir ve bu fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$).

HWP1 ve ALS3 gen ekspresyonları, *C. albicans* izolatlarında NAC izolatlarına göre daha fazla saptanmıştır ($p<0.001$). *C. albicans* ve NAC izolatlarda ALS1 gen ekspresyonu bakımından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0.234$).

Tablo 4.9. *C. albicans* ve NAC izolatlarında virülans faktörleri ve gen ekspresyonları arasındaki ilişki

	<i>Candida</i> türleri (n=100) n(%)	<i>Candida albicans</i> (n=57) n(%)	NAC (n=43) n(%)	p
<u>Virülans Faktörleri</u>				
Hemoliz	100 (100)	57 (100)	43 (100)	NA
Fosfolipaz	82 (82)	53 (93,0)	29 (67,4)	0.001
Proteinaz	72 (72)	42 (73,7)	30 (69,8)	0.666
Esteraz	83 (83)	56 (98,2)	27 (62,8)	<0.001
<u>Biyofilm Tüp Aderans</u>				
Negatif	41 (41)	34 (59,6)	7 (16,3)	<0.001
Zayıf	27 (27)	19 (33,3)	8 (18,6)	
Orta	13 (13)	4 (7)	9 (20,9)	
Güçlü	19 (19)	0 (0)	19 (44,2)	
<u>Gen ekspresyonları</u>				
HWP1	57 (57)	54 (94,7)	3 (7,0)	<0.001
ALS1	7 (7)	6 (10,5)	1 (2,3)	0.234
ALS3	58 (58)	55 (96,5)	3 (7,0)	<0.001

p-değerleri veri dağılımına göre Pearson’ ın ki-kare veya Fisher’ın kesin testi ile hesaplanmıştır. NA: Gruplarda gözlem olmaması nedeniyle hesaplanamamıştır. $\alpha=0.05$ düzeyinde anlamlı bulunan değişkenler koyu ile gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Kandidüri, *Candida* türlerinin idrar yollarında bulunması ile karakterize klinik bir durumdur ve prevalansı özellikle hastaların bağışıklık durumlarına, klinik ortamlara ve demografik özelliklerine göre değişiklik göstermektedir (90).

Kandidüri vakalarında en sık görülen tür *C. albicans* 'tır (91).

Çalışmamızda da kandidüri vakalarında en sık *C. albicans* (%57) saptanmıştır. Bunu sırasıyla; *C. tropicalis* (%17), *C. glabrata* (%12), *C. parapsilosis* (%5), *C. lusitaniae* (%4), *C. krusei* (%3), *C. ciferrii* (%1) ve *C. guilliermondii* (%1) izlemiştir. Literatürde yer alan 40 farklı çalışmada bildirilen *C. albicans* izolat sayısı 10 ile 300; görülme sıklığı %14,3–82,5 arasında değişik oranlarda görülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda kandidüri vakalarında *C. albicans* dışındaki diğer türlerden *C. tropicalis* %2,6–65,7, *C. glabrata* %0,6–30 *C. parapsilosis* %3,5–11 *C. krusei* %2,5–12,7 ve *C. dubliniensis* %1,8–10,9 gibi değişik oranlarda bildirilmiştir. Daha düşük sıklıkta bildirilen türler arasında *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. rugosa*, *C. utilis* ve *C. sphaerica* yer almıştır. Bu türlerin çalışmalarda bildirilen izolat sayıları genellikle 1–13 arasında değişmekte olup, görülme oranları da %1,1–12,7 arasında değişmektedir (92-132).

Çalışmamızda *Candida* türleri görülme sıklığı literatürde yapılan çalışma sonuçları aralığında olmakla birlikte geniş bir dağılım aralığı olduğu da görülmektedir. Bu geniş dağılım yerel epidemiyolojik faktörlerin yanısıra örnek sayılarının farklılığından da kaynaklanabilir.

Kadınlarda kandidüri prevalansının erkeklere kıyasla daha yüksek olması anatomik farklılıklara bağlanmaktadır. Kısa üretra yapısı, gebelik ve hormonal değişiklikler kadınların kandidüriye yakalanmasını yatkın hale getirebilmektedir (133,134). Toplum kökenli İYE kadınlar arasında oldukça yaygın olup; epidemiyolojik veriler, kadınların yaklaşık %50'sinin yaşamları boyunca en az bir kez İYE geçirdiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, yaşın ilerlemesiyle birlikte enfeksiyon insidansında artış gözlemlenmekte; postmenopozal kadınların yaklaşık %10'unda her yıl İYE geliştiği bildirilmektedir (135). Kadınların genital sisteminde kolonize olan *Candida* türleri, vulvovajinal kandidiyazis (VVK) gibi

enfeksiyonların gelişimine yol açabilmekte ve sonucunda İYE gelişimini kolaylaştırabilmektedir (136).

Çalışmamızda idrar kültürü örneklerinde *Candida* izolasyonu kadınlarda %61, erkeklerde %39 olarak saptanmış olup yapılan benzer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Alenzi (103) (%62 kadın, %38 erkek), Makia ve ark. (137) (%65 kadın, %35 erkek) ve Marak ve ark. (138) (%54 kadın, %46 erkek)'nın yapmış oldukları çalışmalarda kadın hastalarda kandidüri sıklığının erkeklere oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Kadınlarda kandidürinin daha fazla görülmesinde anatomik ve fizyolojik faktörlerin etkili olduğu bilinmekle birlikte literatürde bu durumun tersine sonuçlar da bulunmaktadır. Örneğin Paulitsch ve ark. (139)'nın yaptığı çalışmada erkeklerde (%61) kadınlardan (%39) daha yüksek kandidüri sıklığı saptanmış olup özellikle kateter kullanımı gibi invaziv uygulamaların erkek hastalarda kandidüri sıklığını artırabileceği vurgulanmıştır. Sonuç olarak çalışmamızın bulguları genel olarak literatürle uyumlu olmakla birlikte cinsiyet ile kandidüri ilişkisini değerlendirirken hastaların klinik durumu ve uygulanan girişimsel yöntemlerin de göz önünde bulundurulması gerekir.

Çalışmamızda en sık izole edilen tür *C. albicans* olup; kadın hastalarda 37 (%60,7), erkek hastalarda ise 20 (%51,3) olguda tespit edilmiştir. *C. albicans*, her iki cinsiyette en yaygın görülen tür olmuştur.

NAC türleri kadın hastalarda 24 (%39,3), erkek hastalarda ise 19 (%48,7) olguda görülmüştür. Erkek hastalarda NAC tür oranının kadın cinsiyete göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşılık Sharma ve ark.'nın (133) yapmış oldukları bir çalışmada kadın cinsiyetteki idrar örneklerinde NAC türlerinin daha yüksek sıklıkta izole edildiği bildirilmiştir. Kamini ve ark. (134) yapmış oldukları bir çalışmada erkek hastalarda genellikle invaziv enfeksiyonlar ve sistemik kandidiyazis vakalarının daha sık görüldüğü; bu olgularda ise *C. albicans* türünün baskın olarak izole edildiğini bildirilmiştir. Cinsiyete göre *Candida* türlerinin bilinmesi, antifungal direnç gelişimi riskinin önlenmesi, tanı, tedavi ve izlem süreçlerinin daha etkin yürütülmesine ve dolayısıyla klinik iyileşmeye katkı sağlayabilir.

Çalışmamızda *Candida* türlerinin %53'ü yoğun bakım, %24'ü poliklinik ve %23'ü yataklı servislerden izole edilmiştir. Çalışmamızda polikliniklerde (%62,5)

ve yataklı servislerde (%73,91) *C. albicans*'ın; yoğun bakım ünitelerinde NAC türlerinin (%52,84) baskın tür olduğu görüldü. Yapılan çalışmalarda, kandidüri gelişimiyle ilişkili başlıca risk faktörleri, kadın cinsiyet, üriner sistem anomalileri, üriner sistemde yabancı cisim varlığı, malign neoplaziler, nötropeni, diabetes mellitus, kronik renal yetmezlik, genitoüriner tüberküloz, immünsüpresif tedavi protokolleri, geniş spektrumlu antimikrobiyal ajan kullanımı, hemodiyaliz uygulamaları, major cerrahi girişimler ve renal transplantasyonlar sayılabilir (16,25,29,140-142). Kateterizasyon uygulamaları ve antibiyotik kullanımının yaygınlığı kandidüri insidansının artışında önemli rol oynamaktadır. *Candida* türlerinin dağılımı, klinik örnekler açısından farklılıklar göstermektedir. Poliklinik ortamlarında izole edilen *Candida* türleri arasında *C. albicans* en sık rastlanan tür olarak öne çıkmaktadır. Bununla birlikte, son yıllarda NAC türlerinin de artan sıklıkta izole edildiği görülmüştür (116,121). Özellikle *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* gibi türler polikliniklerde alınan örneklerde *C. albicans*'a kıyasla daha fazla tespit edilmeye başlanmıştır. Bu değişim, antifungal tedaviye yanıt, hastaların bağışıklık durumu ve uygulanan invaziv işlemler gibi birçok faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (121,143). Çalışmamızda literatür verileriyle uyumlu olmakla beraber polikliniklerde ve yataklı servislerde *C. albicans*; yoğun bakım ünitelerinde ise NAC türleri baskın tür olmuştur. Polikliniklerde alınan idrar, vajinal sürüntü, ağız mukozası ve cilt örneklerinde tür dağılımı farklılık gösterebilmektedir. Bu durum, enfeksiyonun lokalizasyonu ve altta yatan risk faktörleriyle yakından ilişkilidir (144). Örneğin kadın hastalarda vajinal kandidiyazis olgularında sıklıkla *C. albicans* izole edilirken, diyabetik veya immünsüprese hastalarda NAC türlerinin oranı artabilmektedir (143). Polikliniklerde *Candida* türlerinin dağılımı ve virülans özellikleri, enfeksiyonun klinik yönetimi ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde dikkate alınmalıdır. Özellikle NAC türlerinin artan sıklığı ve biyofilm oluşturma kapasiteleri, antifungal tedaviye direnç gelişimi açısından önemli bir risk faktörü oluşturabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (144,145). Bu nedenle, polikliniklerde izole edilen *Candida* türlerinin doğru tanımlanması, virülans faktörlerinin belirlenmesi ve antifungal duyarlılıklarının değerlendirilmesi, hasta yönetiminde kritik rol oynamaktadır.

Hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının (ÜSE) en az %10–15'inin *Candida* türleri tarafından oluşturulduğu belirtilmiştir (16,146,147).

Candida türlerine bağlı nozokomiyal ÜSE oranı, 1986–1989 döneminde %22 iken, 1992–1997 döneminde bu oran yaklaşık %40'a kadar yükselmiştir (148,149).

Shay ve Miller (150), 2004 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde kandidüri insidansının yıllık yaklaşık 25.000 vaka olduğunu bildirmişlerdir. İdrar kültürlerinde *Candida* üremesi saptanan hastaların yaklaşık üçte birinin YBÜ'de yattığı ve bu hastalarda mesane kateteri kullanım sıklığının yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Platt ve ark. (151) ise 1986 yılında yaptıkları çalışmada, mesane kateteri uygulanan hastalarda gelişen üriner sistem enfeksiyonlarının %26,5'inin *Candida* türlerine bağlı olduğunu rapor etmişlerdir. Bu bulgu, Berrouane ve ark. (152)'nin yapmış oldukları çalışmalarla da desteklenmiş ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bir üçüncü basamak sağlık merkezinde *Candida* kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının %90'ının mesane kateteri kullanımıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, kandidüri sıklığının yoğun bakım ve immünsüpresyonlu hastalarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir (153). Yoğun bakım üniteleri, pediatri servisleri ve diğer klinik birimler arasında *Candida* türlerinin dağılımında belirgin farklılıklar gözlemlenmektedir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde, invaziv girişimler, uzun süreli antibiyotik kullanımı ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastaların varlığı, *Candida* enfeksiyonlarının sıklığını ve tür dağılımını etkilemektedir. Uzun süre hastanede yatan hastalarda ve yoğun bakım ünitelerinde kandidüri insidansı belirgin şekilde artmaktadır. Yatan hastalarda, idrar yolu enfeksiyonlarının etiyolojisinde *Candida* türlerinin önemi giderek artmakta, *C. albicans* en sık izole edilen tür olmakla birlikte NAC türlerinin de invaziv enfeksiyonlarda belirgin bir artış gösterdiği bildirilmektedir (154). Yoğun bakımda izole edilen *C. albicans* ve *C. parapsilosis*' in idrar ve kan örneklerinde baskın etken olduğu görülmektedir (155). Ayrıca, yoğun bakım hastalarında kandidemi gelişim riski de artmakta ve bu durum geç sepsis ile birlikte yüksek mortalite ve morbiditeye yol açabilmektedir (144). Özellikle *C. parapsilosis* gibi türler, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde ciddi sistemik enfeksiyonlara neden olabilmektedir (144). Yoğun bakım hastalarında kandidüri, hem

enfeksiyonun yayılımı hem de tedaviye direnç gelişimi açısından dikkatle izlenmesi gereken bir klinik tablodur.

Çalışmamızda *C. albicans* izolatları yüksek oranda hemoliz (%100), esteraz (%98,2), fosfolipaz (%92,9) ve proteinaz (%73,6) aktiviteleri göstermiştir.

NAC türlerinde ise hemoliz (%100) *C. albicans* ile aynı oranda görülürken; proteinaz (%69,7) benzer, fosfolipaz (%67,4) ve esteraz (%62,7) ise daha düşük oranlarda saptanmıştır.

Çalışmamızda NAC türlerinde enzim aktivitelerinin değiştiği; *C. tropicalis*'in yüksek hemoliz (%100), proteinaz (%82,3), esteraz (%100) aktivitesi ile daha düşük oranda fosfolipaz (%58,8) aktivitesi; *C. glabrata*'da yüksek hemoliz (%100), fosfolipaz (%91,6) ile düşük oranda proteinaz (%33,3) ve esteraz (%8,3) aktivitesi görülmüştür.

Kandidürili hastalarda hemoliz aktivitesinin sıklığı, *Candida* türlerinin virülans potansiyelinin değerlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Hemoliz, mikroorganizmaların konak eritrositlerini parçalayarak demir elde etmesini sağlayan bir mekanizmadır. Demir, *Candida*'nın büyümesi ve enfeksiyon oluşturma kapasitesi için gereklidir. Hemolizin üretimi, *Candida*'nın konak savunma mekanizmalarını aşmasında ve doku invazyonunda avantaj sağlamak ve bu özellik, özellikle invaziv enfeksiyonlarda patojenitenin artmasına katkıda bulunabilmektedir (144). Çalışmalarda, kandidürili olgulardan izole edilen *Candida* izolatlarının hemoliz aktivitesi açısından farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. *C. albicans* izolatlarının çoğunda yüksek hemolizin aktivitesi saptanırken, *C. glabrata* ve *C. krusei* gibi türlerde bu aktivitenin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda *C. albicans*, hemolizin açısından %67–100 arasında değişen yüksek aktivite düzeyleri ile en güçlü hemolitik kapasiteye sahip tür olarak öne çıkmaktadır. *C. tropicalis* ise bazı çalışmalarda %100 hemoliz kapasitesi göstererek, *C. albicans* ile benzer şekilde yüksek virülans riski taşıyabileceğini ortaya koymaktadır. Buna karşın, *C. glabrata* ve *C. krusei* türlerinde hemoliz aktivitesinin daha geniş bir aralıkta (%13–100 ve %42,8–100) değişmekte olduğu görülmüştür. *C. parapsilosis* ise %20-67 arasında daha düşük hemoliz aktivitesi sergilediği görülmüştür (92-130).

Klinik örneklerin kaynağına göre de hemoliz aktivitesinde farklılıklar gözlenmiştir. İdrar, kan, oral ve vajinal örneklerden izole edilen *Candida* türlerinde hemoliz aktivitesinin dağılımı değişebilmektedir (130). Bazı çalışmalarda, özellikle oral kandidiyazis ve solunum yolu örneklerinden izole edilen türlerde hemoliz ve diğer virülans faktörlerinin daha yüksek oranda saptandığı bildirilmiştir (121). Bu bulgular, klinik örnek tipinin hemoliz aktivitesi üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Hemoliz aktivitesinin türler arası ve izolatlar arası farklılıkları, klinik yönetim ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde dikkate alınmalıdır (156). Çalışmamızda *C. albicans* ve NAC izolatlarının bazı çalışmalardan farklı olarak tümünde hemoliz aktivitesi görülmüştür. Bu farklılığın çalışmalarda kullanılan süspansiyonların farklı yoğunluklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Fosfolipaz aktivitesi hücre membranlarının bütünlüğünün bozulmasına yol açarak *Candida* türlerinin doku invazyonu ve patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Fosfolipaz enzimi, *Candida*'nın idrar yolu enfeksiyonlarında epitel hücrelerine tutunmasını ve fosfolipazların ürettiği lizofosfolipidler ve serbest yağ asitler ile konak hücre zarında yapısal değişikliklere neden olarak *Candida*'nın dokuya penetre olmasını kolaylaştırır. Aynı zamanda bağışıklık sistemden kaçış mekanizmalarını da desteklemektedir (105). Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında fosfolipaz pozitifliği %92,9 oranında saptanmış olup; bu durum söz konusu türün doku invazyonu ve konak savunma mekanizmalarından kaçış açısından önemli bir virülans faktörüne sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda NAC izolatlarında *C. glabrata* (%91,6) ile *C. albicans* (92,9) izolatları benzer oranda fosfolipaz aktivitesi gösterirken; *C. krusei* (%66,6), *C. tropicalis* (%58,8), *C. lusitaniae* (%50) ve *C. parapsilosis* (%40) izolatlarında daha düşük düzeyde fosfolipaz aktivitesi gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda *C. albicans* türünde fosfolipaz aktivitesi açısından yüksek değerlere sahip olduğu (%44–100) bildirilmiştir. *C. tropicalis* %0-76, *C. glabrata* %0-75, ve *C. krusei* %0-42,8 arasında değişen oranlarda fosfolipaz aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. *C. parapsilosis*'in de bazı çalışmalarda değişken fosfolipaz aktivitesine (%10–100) sahip olduğu görülmüştür (92-130).

Bu çalışmada tüm *Candida* izolatlarının %82'sinin fosfolipaz aktivitesi göstermesi, *Candida* enfeksiyonlarında fosfolipazın önemli bir virülans faktörü olarak rol oynadığını destekler niteliktedir. Bu bağlamda fosfolipaz aktivitesindeki

türler arası farklılıklar, enfeksiyonların klinik seyrinde önemli olabilecek tür bazlı değerlendirmelerin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Özellikle *C. albicans* izolatlarının büyük bir kısmında fosfolipaz aktivitesinin gözlenmiş olması (%92,9) enfeksiyonun daha ağır seyretmesine ve tedaviye direnç gelişimine katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir (109,157,158).

Proteinaz aktivitesi, konak hücre doku invazyonunu kolaylaştırarak *Candida* virülansında önemli bir rol oynamaktadır. Çalışmamızda *Candida* türlerinin proteinaz enzim aktivitesi incelendiğinde, tüm izolatlarda %72 oranında pozitiflik tespit edilmiştir. *C. albicans* izolatlarının %73,6'sinde proteinaz aktivitesi görülmüştür. NAC izolatlarında ise bu oran %69,7 olarak saptanmıştır. Tür bazında değerlendirildiğinde, *C. tropicalis* (%82,3), *C. parapsilosis* (%100), *C. lusitanae* (%75), *C. krusei* (%100) ve *C. guilliermondii* (%100) yüksek proteinaz aktivitesi göstermiştir. Buna karşılık, *C. glabrata* izolatlarının yalnızca %33,3'ü proteinaz aktivitesi göstermiştir. *C. ciferrii*' de ise proteinaz aktivitesine rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalarda en yüksek proteinaz aktivitesinin *C.albicans*'ta gözlemlendiği bildirilmektedir (%61-100) (92-130). Bu durum, *C. albicans*'ın invaziv enfeksiyon oluşturma kapasitesini artıran temel faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda *C. tropicalis*, %30–91,7, *C. parapsilosis* (%69–80), *C. glabrata* (%0–75), *C. krusei* (%0–75) türlerinde değişen oranlarda proteinaz aktivitesi bildirilmiştir (92-130). Literatürde *C. albicans* için proteinaz aktivitesinin %61–100 arasında değişen oranlarda bildirildiği dikkate alındığında, çalışmamızda elde edilen %73,6 pozitifliğin literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Ayrıca çalışmamızda, NAC türlerinde de proteinaz aktivitesi (%69,7) yüksek bulunmuştur. Tür bazında incelendiğinde, özellikle *C. parapsilosis* ve *C. krusei* türlerinin çalışmamızda %100 oranında proteinaz aktivitesi göstermesi, literatürdeki oranların (%69–80 ve %0–75) üzerinde yer almaktadır. *C. tropicalis* türünde çalışmamızda belirlenen proteinaz aktivitesi (%82,3), literatürde bildirilen aralık (%30–91,7) ile uyumludur. Buna karşın, çalışmamızda *C. glabrata* izolatlarında saptanan proteinaz pozitifliği (%33,3) daha düşük bulunmakla birlikte, literatür verileriyle (%0–75) uyumludur. Proteinaz aktivitesine *C. ciferrii* türünde rastlanmaması ise türler arası farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, bu çalışmada *Candida* türlerinde proteinaz aktivitesi genel olarak yüksek düzeyde görülmekle birlikte, türlere özgü belirgin

farklılıkların olabileceğini ortaya koymaktadır. En yüksek düzeyde SAP üretimini gerçekleştiren tür olan *C. albicans*, aynı zamanda en patojenik *Candida* türü olarak tanımlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda vulvovajinal kandidiyazis vakalarından izole edilen *C. albicans* izolatlarının yüksek düzeyde SAP üreticisi olduğu bildirilmiş olup, özellikle SAP1 ve SAP3 izoenzimlerinin hem aktif hem de tekrarlayan vulvovajinal kandidiyazisli hastalarda belirgin olarak üretildiği gösterilmiştir. Buna karşın, düşük düzeyde SAP üreten *C. parapsilosis* gibi türler daha az patojenik bulunmuştur. Bu türlerin üriner sistem enfeksiyonlarında daha az sıklıkla izole edilmesinin, düşük SAP üretim kapasiteleriyle ilişkili olabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca SAP'ların, vajinal immün sistemin önemli bir bileşeni olan sekretuar immünoglobulin A (sIgA)'yı parçalayabildiği bildirilmiştir. Vajinal sIgA'nın yıkımı, kadınlarda *Candida* türlerinin üriner sistem kolonizasyonunu kolaylaştırmakta ve böylece asendan enfeksiyon gelişimine yatkınlık oluşturmaktadır (158). Yüksek proteinaz aktivitesine sahip izolatlar daha invaziv enfeksiyonlara ve tedaviye dirençli tablolara yol açabilmektedir. Proteinaz aktivitesinin, *Candida* türlerinin patojenitesini artıran önemli bir faktör olduğu ve klinik seyir üzerinde etkili olabileceği vurgulanmakta, proteinaz aktivitesinin yüksek olduğu izolatlarda enfeksiyonun daha şiddetli seyredebildiği ve antifungal tedaviye yanıtın da etkilenebileceği düşünülmektedir (105).

Esteraz aktivitesi, *Candida* türlerinin konak membran lipidlerini hidrolize ederek doku invazyonu ve yayılım yeteneğini artıran önemli bir virülans faktörüdür. Çalışmamızda esteraz enziminin *Candida* türlerinde yaygın olarak eksprese edildiği görülmüştür. Toplam 100 izolatın 83'ünde (%83) esteraz aktivitesi saptanmış olup, bu durum söz konusu enzimin *Candida* izolatlarının virülansında önemli bir yer tuttuğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızda *C. albicans* %98,2 pozitiflik oranı ile yüksek esteraz aktivitesine sahip tür olarak belirlenmiştir. İzolat sayısı az olmakla birlikte *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* ve *C. ciferii* türlerinde de %100 oranında esteraz aktivitesinin varlığı tespit edilmiştir. *C. parapsilosis* izolatlarında da %60'ında esteraz aktivitesi gözlenmiştir. Buna karşılık *C. krusei*'de (%33,3) ve *C. glabrata*'da (%8,3) daha az oranlarda esteraz pozitifliği saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda *C. albicans* için %28-96, *C. glabrata* için %38-50 ve *C. parapsilosis* için %13-67 oranlarında esteraz aktivitesi bildirilmiş olup çalışmamızın verileri literatür ile benzerlik göstermektedir (92-130).

Pekintürk ve ark. (159) yapmış oldukları bir çalışmada enfeksiyon ve kontrol gruplarında esteraz aktivitesinin yüksek oranda tespit edildiğini, özellikle 4-7 gün arası izole edilen *Candida* izolatlarında esteraz pozitifliğinin %96'ya ulaştığını belirtmişlerdir. Bu bulgu, esteraz aktivitesinin hem enfeksiyonun erken hem de geç dönemlerinde sürdürülebilir olduğunu ve patojenitenin devamlılığında etkili olabileceğini düşündürmektedir. Susever ve ark. (160) çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C. albicans* izolatlarında %91,6 oranında esteraz pozitifliği saptamışlardır. Yücesoy ve ark. (161) izole edilen *C. albicans* izolatları için hasta grubunda %76 ve sağlıklı grupta %89,7 oranlarında esteraz pozitifliği gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında gözlenen %98 esteraz pozitifliği, daha önce yapılan çalışmalarda bildirilen %28–96 oranlarının üst sınırına yakın bir oranda yer almakta ve Pekintürk ve ark.'nın (159) belirttiği %96'lık oranla benzerlik göstermektedir. Benzer biçimde, Susever ve ark. (160) (%91,6) ve Yücesoy ve ark. (161) (%76–89,7) raporladığı değerlerle karşılaştırıldığında, çalışmamızda elde edilen yüksek oran, esteraz enziminin *C. albicans*'ın virülansındaki önemini destekler niteliktedir. *C. tropicalis* ve *C. lusitaniae* türlerinde saptanan %100 esteraz pozitifliği literatürde *C. tropicalis* (%45,5-100) için benzer olmakla birlikte; *C. lusitaniae* için esteraz pozitifliği saptanmamıştır (74,161-164). Buna karşın *C. glabrata* türünde gözlemlediğimiz esteraz pozitiflik oranı (%8,3), literatürde belirtilen oranların (%38–50) altında kalmaktadır (162-164). *C. krusei* türü için saptadığımız esteraz pozitifliği (%33,3) literatür verileri (%0-75) ile uyum göstermektedir (162-164). *C. parapsilosis* türündeki esteraz aktivitesi (%60), literatürde bildirilen (%13–67) aralık içinde yer almaktadır. Sonuç olarak elde ettiğimiz bulgular, esteraz enziminin *Candida* türlerinin virülansında önemli bir role sahip olduğunu ve türler arasında belirgin farklılıklar gösterdiğini desteklemektedir. Klinik izolatların elde edildiği ortam (idrar, kan veya solunum yolu gibi farklı vücut bölgeleri) esteraz üretimini etkileyebilmektedir (138). Ayrıca, çevresel pH, besiyeri kompozisyonu ve mevcut karbon kaynakları gibi kültür koşulları da esteraz üretimini doğrudan etkileyen parametrelerdir (155). Klinik açıdan bakıldığında, esteraz aktivitesi yüksek olan *Candida* izolatlarının özellikle invaziv enfeksiyonlarda ve kateter ilişkili enfeksiyonlarda daha sık izole edildiği gözlemlenmiştir (138,165). Ayrıca, antifungal tedaviye karşı direnç gelişiminde de esteraz aktivitesinin rol oynayabileceği öne sürülmektedir (124). *Candida* türlerinde esteraz aktivitesine etki eden faktörler çok boyutlu olup, hem çevresel

hem de genetik parametrelerin etkileşimiyle şekillenmektedir. Bu faktörlerin anlaşılması, *Candida* enfeksiyonlarının klinik yönetiminde ve antifungal stratejilerin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlayacaktır (155,166).

Tüp aderans yöntemi, *Candida* türlerinin biyofilm oluşturma özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerden biridir. Pramodhini ve ark. (123), bu yöntemi kullanarak farklı *Candida* türlerinin biyofilm oluşturma oranlarını karşılaştırmış ve biyofilm pozitifliğinin türler arasında değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu yöntemin avantajları arasında uygulama kolaylığı, düşük maliyet ve çok sayıda izolatin kısa sürede test edilebilmesi yanında; yöntemin subjektif değerlendirmeye açık olması ve biyofilm miktarının kantitatif olarak ölçülememesi bazı sınırlamalar oluşturmaktadır. Buna rağmen, tüp aderans yöntemi, klinik laboratuvarlarda biyofilm taraması için pratik bir araç olarak kullanılmaya devam etmektedir (123,144). Biyofilm üretiminin antifungal dirençle ilişkili olması, biyofilm varlığının klinik yönetimde dikkatle ele alınmasını gerekli kılmaktadır. Klinik izolatlarda yapılan analizlerde, biyofilm ve hemolizin üretiminin özellikle yenidoğan ve infantlarda izole edilen *Candida* izolatlarında anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (145). Bu durum, biyofilm oluşumunun yaş gruplarına ve hasta popülasyonuna göre de değişebileceğini göstermektedir. Klinik açıdan bakıldığında, biyofilm oluşturan *Candida* izolatları, özellikle kateterize hastalarda ve yoğun bakım ünitelerinde daha sık izole edilmektedir. Kateter yüzeylerinde gelişen biyofilmler, enfeksiyonun persiste etmesine ve tekrarlayan kandidüri ataklarına neden olabilmektedir (167). Ayrıca, biyofilm varlığı, enfeksiyonun eradikasyonunu güçleştirirken, hastanede kalış süresinin uzamasına ve sağlık maliyetlerinin artmasına sebep olabilmektedir.

Çalışmamızda yürütülen tüp aderans yöntemine göre; 100 *Candida* izolatının 59'u (%59) pozitif biyofilm oluşturma yeteneği sergilemiştir. Türler bazında değerlendirildiğinde, *C. albicans* izolatlarının %40,3'ü biyofilm oluştururken, bunların büyük çoğunluğu (%33,3) zayıf aderans özelliği göstermiştir. Buna karşın NAC türleri arasında biyofilm oluşturma oranı yüksek (%83,7) bulunmuştur. *C. tropicalis* %100 (%82,3 güçlü aderans) oranıyla dikkat çekerken örnek sayıları az olmakla birlikte *C. krusei* (%66,6), *C. lusitaniae* (%75), *C. parapsilosis* (%80), *C. ciferrii* (%100) ve *C. guilliermondii* (%100) izolatları da yüksek biyofilm kapasitesi göstermiştir. NAC izolatlarının %18,6'sı zayıf, %20,9'u

orta ve %44,1'i güçlü aderans özellik göstermiştir. Tüp adherens yönteminin kullanıldığı 25 çalışma incelendiğinde *C. albicans* türünde biyofilm pozitiflik oranı %17,5-88,9, NAC'larda biyofilm pozitifliğinin %9-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Türe özgü oranların incelendiği 19 çalışmanın 12 sinde NAC türlerinin daha fazla biyofilm pozitifliğine sahip olduğu görülmüştür. *C. tropicalis* ve *C. glabrata*'nın bu çalışmalarda *C. albicans*'tan daha sık biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir (103,123,130,134,143,168-187).

Çalışmamızda tüm izolatlarda tüp aderans yöntemiyle belirlenen biyofilm oluşturma yeteneği %59 olarak saptanmış olup; tür bazında ise *C. albicans* izolatlarımızda biyofilm oluşturma oranı (%40,3) literatürde bildirilen çalışmalarla (%17,5–88,9) uyumlu bulunmuştur. Yine NAC izolatlarında gözlemlediğimiz yüksek biyofilm pozitifliği (%83,7), literatür verileri ile uyumludur ve özellikle *C. tropicalis* izolatlarında %100 gibi yüksek bir oranla biyofilm oluşumu gözlenmesi bu türün güçlü biyofilm oluşturma potansiyelini destekleyen önemli bir bulgudur. Literatürde, tür bazında yapılan çalışmalarda NAC türlerinin *C. albicans*'tan daha yüksek oranda biyofilm oluşturduğuna yönelik bulguların olduğu belirtilmiştir. Çalışmamız da NAC türlerinde (%83,7) *C. albicans* türünde (%40,3) biyofilm pozitiflik oranı bu durumu destekler niteliktedir. Bu sonuçlar, klinik önem taşıyan biyofilm formasyonunun özellikle NAC türlerinde daha belirgin olduğunu ve bunun enfeksiyon yönetiminde tedavi zorluklarına yol açabileceğini göstermektedir. Dolayısıyla bulgularımız, *Candida* enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisinde türlere özgü biyofilm oluşum özelliklerinin dikkatle değerlendirilmesinin önemini vurgular niteliktedir.

Biyofilm oluşumunda rol oynayan anahtar genler, *Candida* türlerinin patojenitesini ve antifungal tedavilere karşı direnç geliştirme potansiyelini belirlemede kritik öneme sahiptir. Özellikle *C. albicans* gibi türlerde yüzey adezinleri biyofilm başlangıcında ve olgunlaşmasında merkezi bir rol oynar. Adezinler, mantar hücrelerinin hem inert polimerlere hem de insan hücrelerinin yüzeyindeki proteinlere bağlanmasını sağlayan yüzey molekülleridir. Bu molekülleri kodlayan başlıca genler arasında ALS1, HWP1 ve integrin (INT)1 yer almaktadır. ALS1 ve HWP1 genlerinin ekspresyonu *Candida*'nın biyofilm oluşturma kapasitesini artırırken, bu genlerin varlığı aynı zamanda hücreler arası yapışmayı ve substrata tutunmayı kolaylaştırır. ALS1 geni, aglütinin-benzeri sekans proteinlerini kodlayarak hem hücre-hücre hem de hücre-yüzey

etkileşimlerinde önemli bir rol üstlenir. Efg1 tarafından indüklenen adezinlerin, özellikle ALS1'in, hem in-vitro hem de in-vivo koşullarda biyofilm oluşumu ve enfeksiyon etkeninin yerleşmesi için kritik öneme sahiptir. Efg1 transkripsiyon faktörü, hifal formasyonun ve buna bağlı olarak biyofilm matürasyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (188). HWP1 ise hifal duvar proteini olarak özellikle hifal morfolojinin gelişimi sırasında substrata sıkı tutunmayı sağlar. INT1 geni de hücre adezyonunda ve morfolojik geçişlerde görev alır. *C. albicans*'ın biyofilm üretiminde ALS1 ve ALS3 genleri biyofilm yapımı ve stabilizasyonu açısından kritik rol oynamaktadır. Nailis ve ark. (189) yaptıkları çalışmada ALS3 geninin erken evrede biyofilm oluşumu için önemli olduğunu; gen eksikliğinin durumunda ise adezyonun azalarak biyofilm yapısının zayıflattığını gözlemlemişlerdir. Nobile ve ark. (190) tarafından yapılan çalışmalarda, ALS3 ve HWP1 genlerinin inaktivasyonunun biyofilm oluşumunu belirgin şekilde azalttığı, bu genlerin biyofilm mimarisinin korunmasında ve antifungal dirençte anahtar rol oynadığını göstermiştir. Nobile ark. (191) yapmış oldukları başka bir çalışmada *C. albicans*'ın biyofilm oluşumunun başlıca iki tür yüzey adezin proteinine (HWP1 ve ALS1/ALS3) bağlı olduğunu göstermişlerdir. Bu proteinlerin, biyofilm oluşumu sürecinde birbirini tamamlayıcı şekilde görev yaptığı; in vivo yapılan deneysel çalışmalarda ALS1 ve ALS3 yüzey proteinlerinin birlikte bulunmasının biyofilm oluşumu için gerekli olduğunu ortaya koymuştur. ALS1 ve ALS3 yüzey proteinlerinin işlevini, komşu hücrelerin yüzeyinde bulunan HWP1 ile etkileşime girerek gerçekleştirdiğini ve bu şekilde hücreler arası yapışmayı sağladığını belirtmişlerdir (191). Bu bulgular, biyofilm oluşumunda hücre-hücre etkileşimlerinin ve yüzey proteinlerinin koordineli işlevinin kritik bir rol oynadığını göstermektedir. In vitro kateter modellerinde biyofilm oluşumunda ALS3'ün, Bcr1 transkripsiyon faktörü tarafından düzenlendiği gösterilmiştir. Nobile ve ark (190) in vitro ortamda ALS3 mutantının biyofilm oluşumunun önüne geçtiğini fakat buna karşın in vivo ortamda ise ALS3 mutantının biyofilm oluşturabildiğini gözlemlemişlerdir. Bunun sebebi olarak sadece Bcr1 yolağının biyofilm oluşumunu desteklediğinin dışında ALS1, ECE1, HWP1 genlerinin aşırı sekresyonunun da biyofilm oluşturma kapasitesini kısmen geri kazandırabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Sachin Deorukhkar ve ark. (192) *Candida* türleri tarafından oluşturulan biyofilmlerin antifungal ajanlara karşı dirençli olma eğilimini arttırdığını göstermiştir. Çalışmamızda *C.albicans* 'larda yüksek oranda ALS3

(%96,4) ve HWP1 (%94,7) gen ekspresyonu olduğu görülmüştür. Daha çok çalışmaya ihtiyaç olmakla birlikte bu genlerin varlığı ve ekspresyon seviyeleri *C. albicans*' ların virülansını belirlemede potansiyel moleküler belirteçler olarak düşünülebileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda *C. albicans*'larda ALS1 gen ekspresyonu ise HWP1 ve ALS3 gen ekspresyonlarının aksine sadece %10,5 oranında saptanmıştır. İnci ve ark. (193) yapmış oldukları bir çalışmada idrar örneklerinden izole ettikleri *C. albicans*'larda ALS1 gen ekspresyonunu %52,4, HWP1 gen ekspresyonunu %48,4 olarak bulmuşlardır. Bu izolatların %18,3 ünde biyofilm tüp aderansının pozitif olduğunu gözlemlemişlerdir. Jihad ve ark. (194)'nın yapmış olduğu bir çalışmada idrar yolu enfeksiyonu olan kadınlardan izole edilen *C. albicans* türünde ALS1 (%88), ALS3 (%77) ve HWP1 (%96,29) gen ekspresyonu gözlemlemişlerdir. Shrief ve ark. (195) yapmış oldukları çalışmada *C. albicans*'larda HWP1 (%77), ALS1 (%65) oranında gen ekspresyonu gözlemlemişlerdir. Ayrıca idrar örneklerinde biyofilm oluşturan (%43,1) *Candida* izolatlarında %96,6 HWP1 ve ALS1 gen ekspresyonu bildirirken; buna karşılık, biyofilm oluşturmayan *Candida* izolatlarının %45,2'sinde ise HWP1 ve ALS1 genlerinin ekspresyonu yalnızca %21,4 oranında saptanmıştır. Bir tez çalışmasında idrardan izole edilen *C. albicans* izolatlarında HWP1 %56,3 ve ALS1 %38,1 gen ekspresyonu saptanmıştır (196). Çalışmamızdaki veriler *C. albicans* türü için ALS3 (%96,4) ve HWP1 (%94,7) gen ekspresyonu ile benzer olup; ALS1 (%10,5) gen ekspresyonu daha düşük seyretmiştir.

Öte yandan çalışmamızda fenotipik olarak biyofilm oluşumu ile HWP1 ve ALS1 ve ALS3 gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi *C. albicans* türleri için değerlendirdiğimizde HWP1 gen ekspresyonu olanların %61,1'i ALS1 gen ekspresyonu olanların %50'si ve ALS3 gen ekspresyonu olanların ise %60'ında negatif biyofilm aderansı gösterdiği saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Çalışmamızda NAC türlerinin ise HWP1 (%6,9) ve ALS3 (%6,9) ile ALS1 (%2,3)'i daha az eksprese ettiği görülmüş olup; bu da farklı moleküler mekanizmaların biyofilm oluşumunda rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Yeater ve ark. (197)'nin yapmış olduğu çalışmada biyofilm oluşumunda farklı zaman dilimlerinde gen ekspresyonunun değiştiğini gözlemlemişlerdir. ALS1 gen ekspresyonunun 6. saatte biyofilm hücrelerinde göreceli olarak baskılandığı, 6. ve

12. saatler arasında biyofilm oluşturan hücrelerde ALS1 ekspresyonunun arttığı, bu sürecin ardından ise gen ekspresyon düzeyinde azalmanın meydana geldiğini rapor etmişlerdir. ALS3 geninin erken biyofilm oluşumu evresinde (0,5-6 saat) ekspresyonunun arttığı ve biyofilm yapısının oluşturulmasında kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir. ALS3 genindeki delesyonun biyofilm biyokütlesini azaltmakta olduğunu gözlemlemişlerdir (197). ALS1 ise ALS3 ile ortak işlevleri biyofilm adezyonuna katkı sağlamaktır. HWP1 geni, özellikle hif gelişimi ve biyofilm olgunlaşmasının sürdürülmesinde merkezi bir role sahiptir. HWP1 genindeki mutasyonlar veya alelik varyantlar (örneğin HWP1-2), biyofilm oluşum kapasitesini %90,8'e varan oranda düşürmekte ve aynı zamanda hifal büyümeyi yaklaşık %40,4 oranında azaltmaktadır (198). Adezinlerin ekspresyon düzenlenmesi ayrıca Bcr1, Efg1 ve Sfp1 gibi transkripsiyon faktörleri tarafından modüle edilmektedir (189-191,198-200). Bcr1 transkripsiyon faktörünün, ALS3 ve HWP1 dahil olmak üzere çeşitli hedef genleri aktive ederek biyofilm oluşumunu teşvik ettiği bilinmektedir. Biyofilm oluşumunda HWP1, ALS1 ve ALS3 genlerinin koordineli ekspresyonu, *Candida* türlerinin konak savunma mekanizmalarına karşı direnç geliştirmesinde ve kronik enfeksiyonların sürdürülmesinde belirleyici olmaktadır. Ardehali ve ark. (87) yapmış oldukları çalışmada izole edilen *C. krusei* hiçbirinde ALS1, ALS3 ve HWP1 gen ekspresyonu görülmemiştir. Bir tez çalışmasında idrardan izole edilen *C. tropicalis* izolatlarında HWP1 geni %20 ve ALS1 geni %53,3 oranında pozitiflik göstermiştir (196). *C. glabrata* izolatlarında HWP1 pozitifliği %45,4, ALS1 pozitifliği ise yalnızca %9 olduğu görülmüştür (196).

Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında ALS3 (%96,4) ve HWP1 (%94,7) gen ekspresyonlarının yüksek oranda saptanması, bu genlerin biyofilm oluşumu ve virülans mekanizmalarındaki temel rollerini ortaya koyan literatür verileri ile uyumludur. İnci ve ark. (110) gen ekspresyonu pozitif olan *C. albicans* izolatlarının %18,3 ünde biyofilm tüp aderansının pozitif olduğunu gözlemlemişlerdir. Shrief ve ark. (195) ise idrar örneklerinde %96,6 oranında HWP1 ve ALS1 gen ekspresyonu olan *C. albicans* izolatlarında %43,1 oranında biyofilm oluşumu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında HWP1 gen ekspresyonu (%94,7) olanların %38,9'unda, ALS1 (%10,5) gen ekspresyonu olanların %50' sinde ve ALS3 gen ekspresyonu (%96,5) olanların %40 ında

biyofilm pozitifliği görülmüş olup Shrief ve ark. (195)'nin saptadığı sonuçlarla benzerdir. ALS3 gen ekspresyonunun biyofilm oluşumunun erken dönemlerinde önemli bir artış gösterdiği, ALS3 geninin delesyonunda ise biyofilm yapısının belirgin ölçüde zayıfladığı yönündeki literatür bulguları, çalışmamızdaki yüksek ALS3 ekspresyonunun klinik önemiyle örtüşmektedir. Benzer şekilde, HWP1 geni biyofilm olgunlaşması ve hifal formasyonun sürdürülmesinde kritik rol oynamakta olup, çalışmamızda elde edilen yüksek ekspresyon oranı, bu genin *C. albicans*'ın virülansındaki önemini desteklemektedir. Buna karşın Orsi ve ark. (201)'nin yapmış oldukları bir çalışmada *C. albicans* HWP1 genotipinin patojenin morfolojik yapısını ve mikrogial hücrelerle etkileşimini etkilediğini, fungal biyofilm üretiminin ise etkilenmediğini göstermiştir.

Yine bu çalışmada izolat sayısı az olmakla birlikte fenotipik olarak biyofilm oluşumu ile HWP1, ALS1 ve ALS3 gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi NAC izolatları için değerlendirdiğimizde HWP1 ve ALS3 genleri için biyofilm tüp aderansı ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,048$). Çalışmamızda NAC izolatlarında HWP1 gen ekspresyonu (%7) olanların %66,7'sinde, ALS1 gen ekspresyonu (%2,3) olanların %100'ünde ve ALS3 (%7) gen ekspresyonu olanların %66,7'sinde biyofilm pozitifliği görülmüştür.

Literatürde, bu adezin genlerinin ekspresyonunun Bcr1, Efg1 ve Sfp1 gibi transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlendiği ve bu koordinasyonun biyofilm oluşumunu destekleyerek *Candida* enfeksiyonlarının kronikleşmesine katkıda bulunduğu belirtilmektedir (188). Sonuç olarak bulgularımız daha fazla çalışmaya ihtiyaç olmakla birlikte İYE'lerde ALS3 ve HWP1 genlerinin özellikle *C. albicans* türünde potansiyel antifungal hedefler olarak değerlendirilebileceği ve biyofilm oluşumunu kontrol etmek için moleküler düzeyde müdahale stratejilerinin önemini ortaya koyabileceği düşünülmektedir. Bu genlerin ekspresyon profillerinin analizi, biyofilm tabanlı enfeksiyonların tanı ve tedavisinde yeni hedeflerin belirlenmesine olanak sağlayabilir.

Son yıllarda, antifungallara dirençli mantar türlerinin ortaya çıkması, antibiyotik ve antiviral dirençle birlikte yeni bir sağlık sorununun ortaya çıkmasına neden olmuştur. Ekim 2022'de Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), mantar enfeksiyonlarına ve antifungal direnç küresel yanıtı güçlendirmek için araştırma, geliştirme ve halk sağlığı eylemlerine rehberlik etmek üzere ilk kez sağlığı tehdit

eden mantarlar listesini yayınlamıştır. Son yıllarda antifungal tedavilere dirençli mantar formlarının ortaya çıkmasının nedenleri, çevre koşulları, virülans faktörleri ve gen ifadesindeki değişiklikler arasındaki karmaşık etkileşimleri içerebilir. Rehberlere göre mikrobiyolojik tanı konulduktan sonra antifungal ilaçların uygulanması esastır. Hastalar tarafından antifungallerin yetersiz kullanımı, klinisyenler tarafından uygunsuz antifungal reçeteleme; terapötik antifungal tedaviye uymama gibi nedenler optimum olmayan ilaç konsantrasyonlarına neden olabilir ve bu da antifungallere dirençli mantar türlerinin gelişme olasılığını artırabilir. Ayrıca, tarımda fungusitlerin kullanımı muhtemelen ilaca dirençli formların ortaya çıkmasını desteklemektedir. Yeni antifungal ilaçların sınırlı sayıda olması, bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler (kanser, tedavi edilmemiş HIV enfeksiyonu/AIDS ve COVID-19), neredeyse sınırsız uluslararası seyahatler ve mantarların çevrede yayılması antifungal dirençli mantarların ortaya çıkmasına katkıda bulunmuştur. Dahası, mantarlar genomik plastisite, hem eşeysiz hem de eşeyli üreme yoluyla hızlı adaptasyon ve evrimle biyofilmler oluşturabilir. Özellikle, doğal çevredeki plastikle ilişkili mantar toplulukları 'plastisfer' genellikle çevredeki mikrobiyal topluluklardan farklıdır ve tür içi etkileşimleri destekleyebilir ve hatta direnç mekanizmalarının gelişimine yönelik doğal evrimsel baskıyı artırabilir. Genellikle mantar türlerine antimikotiklere karşı azalmış bir duyarlılık kazandıran genetik değişiklikler nokta mutasyonları ve genom yeniden düzenlemeleridir. Ek olarak, tolerans ve hetero-direnç de dahil olmak üzere direncin genetik olmayan mekanizmaları, tekrarlayan mantar enfeksiyonlarıyla ilişkili antifungal ilaç tedavisi başarısızlığından sorumlu olarak kabul edilmektedir. Klinikçiler için yalnızca birkaç antifungal sınıfı mevcuttur ve birçok durumda bunların kullanımı polifarmakolojik tedavi gören hastalarda tehlikeli ilaç-ilaç etkileşimleri nedeniyle sınırlıdır (202). Tüm bu nedenlerden dolayı antifungal tedavide duyarlılık paternlerinin bilinmesi önemlidir.

Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında flukonazole ve mikafungine karşı %2 oranında direnç saptanmıştır *C. tropicalis* izolatlarında mikafungin için %6, *C. glabrata* izolatlarında ise kaspofungine karşı %8 oranında direnç saptanmıştır. *C. parapsilosis* te flukonazole %50, vorikonazole %50, amfoterisin B'ye %40 ve mikafungine %20 oranında yüksek direnç oranları saptanmıştır. Öte yandan, *C. krusei* izolatlarında amfoterisin B'ye karşı %33 oranında direnç saptanmıştır. *C.*

guilliermondii türünde ise mikafungin ve kaspofungin duyarlılığı değerlendirilmiş olup, bu antifungallere karşı direnç gözlenmemiştir.

Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında azol grubuna karşı ilaç direnci flukonazol için %2 saptanırken vorikonazol için direnç tespit edilmemiştir. Yapılan bazı çalışmalarda flukonazol direnci %0-33,3, vorikonazol direnci %0-2,6 arasında rapor edilmekte olup çalışmamız verileri ile uyumludur. Çalışmamızda *C. albicans* izolatlarında amfoterisin B için direnç gözlenmemiş olup, literatürdeki düşük direnç oranları (%0-6) ile uyumludur (203,204). *C. albicans* izolatlarında ekinokandin grubu için mikafungine direnç %2 olup kaspofungine karşı direnç gözlenmemiştir. Yapılan çalışmalarda mikafungin direnci %0-4,7, kaspofungin direnci %0-2,65 arasında olup, çalışmamızda gözlenen direnç oranlarıyla örtüşmektedir (204-212).

Çalışmamızda *C. tropicalis* izolatlarında azol gruplarına, amfoterisin B'ye ve kaspofungine karşı direnç görülmemiştir. Mikafungin için %6 oranında direnç gözlenmiştir. Çalışmamızın verileri Asad ve ark. (132)'nin yapmış oldukları çalışmada *C. tropicalis* izolatlarında mikafungine karşı %5,5 direnç oranıyla benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda *C. glabrata* izolatlarında amfoterisin B ve mikafungine karşı direnç görülmezken, kaspofungine %8 direnç görülmüştür. *C. glabrata* izolatlarında kaspofungin için yapılan bazı çalışmalardaki düşük direnç oranlarıyla (%0-10) uyumludur (203,207,213,214). Çalışmamızda *C. parapsilosis* izolatlarında ise flukonazole %50 direnç oranı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda flukonazole %0-50 arasında direnç oranları bildirilmiştir (205,209). *C. parapsilosis* 'te vorikonazol (%50), amfoterisin B (%40), mikafungin (%20) ve kaspofungin (%0) için saptadığımız direnç oranları literatürde bildirilen bazı çalışmalarda vorikonazol (%0) amfoterisin B (0-67,7) kaspofungin (%0-33,3) ve mikafungin (%0) için bildirilen oranlarla farklılıklar göstermektedir. Bu farklılığın nedeni örnek sayılarının genelde düşük olmasıyla ilgili olabilir. Çalışmamızda *C. parapsilosis* için kaspofungin direnci saptanmamış olup; literatürdeki direnç oranları (%0-33,3) ile uyumluluk göstermiştir (123,132, 203-205,214).

Çalışmamızda *C. krusei* izolatlarında amfoterisin B'ye karşı görülen %33 direnç oranımız, yapılan çalışmalarda görülen direnç (%0-75) oranı ile uyumlu görünmektedir (123,204,205,208). Çalışmamızda *C. krusei* izolatlarında

mikafungin ve kaspofungine karşı direnç görülmemiş olup; çalışmamızın verileri literatürdeki ekinokandin direnç oranları (%0-25) içinde seyretmiştir (123,214).

Sonuç olarak, çalışmamızın bulguları literatürdeki verilerle büyük oranda uyumlu olmakla birlikte, bazı türlerde belirgin direnç farklılıkları ortaya koymaktadır. Bu farklılıklar, coğrafi değişkenliklerin ve yerel antifungal kullanım alışkanlıklarının direnç gelişimini etkileyebileceğini göstermekte ve antifungal tedavi stratejilerinin yerel direnç durumuna göre optimize edilmesinin önemini vurgulamaktadır.

Bu çalışmada, antifungal duyarlılığı belirlenmiş *Candida* izolatlarının biyofilm oluşturma potansiyelleri değerlendirilmiş; biyofilm varlığının, antifungal duyarlılık düzeyleriyle olan ilişkisi incelenmiştir. Bulgular, biyofilm oluşumunun yalnızca dirençli izolatlarda değil, duyarlı olarak tanımlanan *Candida* türlerinde de yaygın olarak görülebildiğini ortaya koymuştur.

Özellikle *C. albicans* izolatları arasında flukonazole duyarlı 56 örneğin 23'ünde (%41), vorikonazole duyarlı 57 örneğin 23'ünde (%40,3) ve amfoterisin B'ye duyarlı 57 örneğin yine 23'ünde (%40,3) biyofilm pozitifliği tespit edilmiştir. Bu oranlar, biyofilm oluşumunun antifungal duyarlılıktan bağımsız bir virülans faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Duyarlılık testlerinde “duyarlı” kategorisinde yer alan bu izolatların in vivo koşullarda biyofilm tabakası altında antifungal tedaviye direnç gösterebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durum, in vitro antifungal duyarlılık sonuçları ile klinik tedavi yanıtı arasında oluşabilecek uyumsuzlukların önemli bir açıklayıcısıdır.

C. tropicalis izolatları çalışmanın en dikkat çekici bulgularından birini oluşturmuştur. Bu türde flukonazol, vorikonazol, amfoterisin B ve ekinokandin grubu ajanlara duyarlı olarak belirlenen tüm izolatlarda (%100) biyofilm pozitif bulunmuştur. Duyarlılık düzeyi yüksek olmasına rağmen, biyofilm oluşturma oranının da bu denli yüksek olması, *C. tropicalis*'in biyofilm oluşturmaya yatkın bir tür olduğunu ve bu özelliğin türün doğal patojenitesiyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

C. glabrata izolatlarında amfoterisin B ve mikafungin duyarlı 12 örneğin 8'inde (%66,6) ve kaspofungine duyarlı 4 örneğin 2'sinde (%50) biyofilm

pozitifliği saptanmıştır. Bu türde, klinikte azalmış azol duyarlılığı ve biyofilm yapısının antifungal direnç üzerinde etkili olma potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda, klinik açıdan daha fazla dikkat edilmesi gerekmektedir.

NAC türleri genel olarak değerlendirildiğinde flukonazol duyarlılığı bakılan bütün izolatlarda 17 örneğin 17'sinde (%100) biyofilm pozitifliği saptanmıştır. Duyarlı izolatlarda biyofilm pozitifliği sırasıyla vorikonazol için 20 örneğin 19'unda (%95), kaspofungin için 29 örneğin 25'inde (%86,2), amfoterisin B için 33 örneğin 28'inde (%84,8), mikafungin için 36 örneğin 30'unda (%83,3) olarak görülmüştür. Kaspofungin yüksek dozda duyarlı 8 örneğin 6'sında da (%75) biyofilm pozitifliği izlenmiştir. Dirençli izolatlarda ise biyofilm pozitifliği sırasıyla ekinokandin grubunun tamamında, amfoterisin B için 3 örneğin 2'sinde (%66,6), vorikonazol için 2 örneğin 1'inde (%50) görülmüştür.

Çalışmamızda izolatların %59'unda biyofilm pozitifliği saptanmıştır. *Candida parapsilosis* izolatlarında, flukonazol ve vorikonazol dirençli olanların 1/2'sinde biyofilm pozitifliği saptanmıştır. *C. parapsilosis* ve *C. krusei* türlerinde amfoterisin B'ye dirençli izolatların 2/3'ünde biyofilm pozitifliği gözlenmiştir. *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* türlerinde mikafungine dirençli izolatların tamamında (3/3) biyofilm pozitifliği görülmüştür. *C. glabrata*'da ise kaspofungine dirençli izolatların 1/2'sinde biyofilm pozitifliği saptanmıştır. Prakash ve ark. (215) yapmış oldukları bir çalışmada *Candida* türlerinde biyofilm üretimi ile flukonazol direnci arasındaki ilişki değerlendirilmiş olup, toplamda incelenen 29 flukonazol dirençli *Candida* izolatının 18'inde (%62,1) biyofilm pozitif olduğu saptanmıştır. Bu dirençli biyofilm pozitif izolatların tür dağılımı incelendiğinde ise, 2'sinin (%11,1) *C. albicans*, 6'sının (%33,3) *C. tropicalis*, 5'inin (%27,8) *C. krusei*, 4'ünün (%22,2) *C. glabrata* ve 1'inin (%5,6) *C. parapsilosis* olduğu görülmüştür. Bu direnç paterninin ekzo-polimerik madde birikimi sonucunda oluşan biyofilm tabakasına antifungallerin sınırlı penetrasyonu, biyofilm içerisinde besin kısıtlılığı nedeniyle mikroorganizmaların daha yavaş büyüme hızına sahip olmaları ve temasla indüklenen gen ekspresyonu sonucu yeni özelliklerin kazanılmasına bağlamışlardır. Kamini ve ark. (134) yapmış oldukları çalışmada toplam 55 *Candida* izolatının 48'inde biyofilm ürettiği saptanmıştır (%87); yalnızca 7/55 (%13) izolat biyofilm üretmemiştir. Tür bazında değerlendirildiğinde biyofilm üretiminin en yüksek oranda *C. tropicalis*'te (%39,5), bunu takiben *C. albicans*'ta (%29,1) gözlenmiştir.

Toplam 48 (%87,2) biyofilm pozitif izolat arasında 2 *C. albicans* (%4,1), 3 *C. tropicalis* (%6,2) ve 1 *C. lusitaniae* izolatı amfoterisin B ve flukonazole karşı dirençli bulunmuştur. Bu veriler, biyofilm oluşumunun yaygınlığına işaret ederken, antifungal tedavide yalnızca duyarlılık paternlerine göre karar vermenin yeterli olmayabileceğini göstermektedir.

Biyofilm oluşumunun; hücre duvarı yapısının değişmesi, matriks üretimi ile antifungal ajan penetrasyonunun kısıtlanması ve düşük metabolik aktiviteye sahip hücre popülasyonlarının varlığı gibi çeşitli mekanizmalarla antifungal tedaviyi başarısızlığa uğrattığı bilinmektedir. Bu bağlamda, klinik açıdan özellikle invaziv kandidiyazis gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde, izolatların biyofilm oluşturma kapasitesinin belirlenmesi ve tedavi protokolünün buna göre şekillendirilmesi önem arz etmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma biyofilm oluşumunun, antifungal duyarlılıktan bağımsız ve tedavi başarısını etkileyebilecek kritik bir virülans faktörü olduğunu göstermektedir. Klinik uygulamada tür tayini ve antifungal duyarlılık testlerine ek olarak biyofilm analizi yapılması, daha etkili ve hedefe yönelik antifungal tedavi stratejileri geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Candida türlerinin artan klinik önemi, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ciddi sistemik enfeksiyonlara yol açabilme potansiyelleri ile ilişkilidir. Bu çalışmada, idrar yollarından izole edilen *C. albicans* ve NAC türleri arasındaki fenotipik ve genotipik farklılıklar değerlendirilmiş, virülans faktörleri ile antifungal duyarlılık profilleri karşılaştırılmalı olarak analiz edilmiştir.

Candida izolatları kadın cinsiyette daha sık (%61) görülmüş ve bu bulgu kadınlarda genital organların anatomik farklılıkları ve vajinal kolonizasyonla ilişkili olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Elde edilen veriler, idrardan izole edilen *Candida* türlerinde *C. albicans*'ın en sık (%57) izole edilen tür olduğunu göstermesine karşın, NAC türlerinin oranının (%43) belirgin şekilde artmakta olduğu görülmüştür. Bu durum son yıllarda artan NAC izolatlarının sıklığını belirten çalışmaları desteklemektedir.

Virülans faktörleri açısından değerlendirildiğinde tüm izolatlarda hemoliz aktivitesi görülmekle birlikte *C. albicans* izolatlarının fosfolipaz ve esteraz üretiminde NAC türlerine kıyasla daha yüksek düzeyde aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bu enzimlerin, *Candida*'nın doku invazyonunu kolaylaştırarak bağışıklık sisteminden kaçış mekanizmalarını desteklediği düşünülmektedir. Öte yandan, NAC türlerinde biyofilm oluşturma kapasitesinin (%83,7) *C. albicans* türündeki biyofilm oluşturma kapasitesine (%40,3) göre daha sık görülmesi bu gruptaki türlerin hastalık oluşturma potansiyelini arttırdığını düşündürmektedir. *C. albicans*'ın klasik olarak biyofilm oluşturmada etkin bir tür olduğu bilinmekle birlikte, bu çalışmada duyarlı izolatlarda biyofilm pozitifliğinin daha fazla olması, duyarlılık testleri ile biyofilm analizlerinin ayrı değerlendirilmesi gerekliliğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra, NAC grubunda genel eğilim daha yüksek biyofilm pozitiflik oranlarına işaret etmektedir. Flukonazole duyarlı 17 NAC izolatının tamamı (%100), vorikonazole duyarlı 20 izolatın 19 (%95)'u, amfoterisin B'ye duyarlı 33 izolatın 28 (%84,8)'i, mikafungine duyarlı 36 izolatın 30 (%83,3)'u ve kaspofungine duyarlı 29 izolatın 25 (%86,2)'inde biyofilm pozitifliği bulunmuştur. Bu oranlar, NAC türlerinin duyarlı izolatlar arasında biyofilm oluşturma eğiliminin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

Elde edilen veriler, antifungal tedavide yalnızca duyarlılık profiline göre karar verilmesinin klinik başarısızlıklara yol açabileceğini göstermektedir. Özellikle NAC türlerinin biyofilm oluşturma eğilimi yüksek olduğundan, in vitro duyarlılık sonuçları klinik etkinliği tam olarak yansıtmayabilir. Biyofilm varlığı, antifungal ajanların hedefe ulaşmasını engelleyerek klinikte tedavi etkinliğini önemli ölçüde azaltabilmektedir. Bu nedenle, antifungal tedavi planlamasında yalnızca tür tayini ve duyarlılık testleri değil, aynı zamanda biyofilm varlığının da dikkate alınması gerekir.

İleriye dönük çalışmalarda, biyofilm oluşturan NAC izolatlarına yönelik özgün tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi, tedavi başarısını artırma açısından faydalı olacaktır.

Moleküler düzeyde yapılan incelemelerde İYE'lerde *C. albicans* için HWP1 (%94,7) ve ALS3 (%96,4)'ün gen ekspresyonlarının yüksek düzeyde saptanması moleküler tanı yöntemlerinin klinik uygulamalara entegrasyonunu önemli hale getirmektedir. Ayrıca gelecekte yapılacak çalışmalarla bu genlerin kandidürili hastaların *C. albicans* tanısında biobelirteç olarak kullanılabilme potansiyelleri araştırılmalıdır.

Gelecekte, *Candida* türlerinin klinik ve moleküler özelliklerinin daha geniş hasta gruplarında ve farklı bölgelerde karşılaştırmalı olarak araştırılması, enfeksiyonların önlenmesine ve tedaviye yönelik daha etkili ve hedefe yönelik stratejilerin geliştirilmesine katkı sunacaktır. Bu çalışma sonucuna göre HWP1, ALS3 moleküler belirteçlerin tanıya entegrasyonu ve biyofilme özgü tedavi stratejilerinin geliştirilmesi tedavi başarısını artırabilir. Virülans genlerinin ekspresyon düzeylerinin klinik sonuçlarla ilişkisini inceleyen ileri moleküler çalışmalar, bireyselleştirilmiş antifungal tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine ışık tutacaktır.

Sonuç olarak, *Candida* enfeksiyonlarının etkin klinik yönetimi için tür düzeyinde doğru tanılama, virülans faktörlerinin hem fenotipik hem de genotipik olarak değerlendirilmesi ve antifungal duyarlılık testlerinin rutin uygulamaya dahil edilmesi; hasta sonuçlarının iyileştirilmesinde öne çıkan temel yaklaşımlar olarak düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Gajdác, M., Dóczy, I., Ábrók, M., et al. (2019). Epidemiology of candiduria and *Candida* urinary tract infections in inpatients and outpatients: results from a 10-year retrospective survey. *Cent European J Urol*, 72(2), 209-214. <https://doi.org/10.5173/cej.2019.1909>
2. Hamady, A., and Marei, Y. (2021). Detection of ALS1 and HWP1 genes involved in biofilm formation in *Candida albicans* isolated from catheter associated candiduria. *Microbes and Infectious Diseases*, 2(3), 558–566. <https://doi.org/10.21608/mid.2021.76052.1153>
3. Wiebusch, L., De Almeida-Apolonio, A. A., Rodrigues, L. M., De Paula Bicudo, B., Dos Santos Silva, D. B., Lonchiati, D. F., & De Oliveira, K. M. (2017). *Candida albicans* isolated from urine: Phenotypic and molecular identification, virulence factors and antifungal susceptibility. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(7), 624–628. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.006>
4. Malinová, Z., Čonková, E., & Váczi, P. (2023). Biofilm formation in medically important *Candida* species. *Journal of Fungi*, 9(10), 955. <https://doi.org/10.3390/jof9100955>
5. Toda M, Williams SR, Berkow EL, Farley MM, Harrison LH, Bonner L, et al. (2019). Population-based active surveillance for culture-confirmed candidemia — four sites, United States, 2012–2016. *MMWR Surveill Summ*;68(8),1–15. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6808a1>
6. McCool, L. (2010). The discovery and naming of *Candida albicans*. <http://www.antimicrobe.org/h04c.files/history/DiscoveryNaming%20of%20Candida%20albicans.asp>
7. Pereira, G. V. M. (2018). What is *Candida* doing in my food? A review and safety alert on its use as starter cultures in fermented foods. *Food Research International*, 107, 518–526. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.042>
8. Strohl, W. A., Rouse, H., & Fisher, B. D. (2006). Mantarlar ve parazitler (Bölüm 23, ss. 265–278) (Ö. Anđ, Ed. ve Çev.). Lippincott Mikrobiyoloji içinde. Nobel Tıp Kitabevi.
9. Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., & Winn, W. C. (1997). Fungal infections (pp. 983–1069). In Color atlas and textbook of diagnostic microbiology (5th ed.). Lippincott.
10. Sudbery, P. E. (2011). Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 737–748. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2636>
11. Calderone, R. A. (2002). Taxonomy and biology of *Candida*. In R. A. Calderone (Ed.), *Candida and candidiasis* (1st ed, pp. 15–27). American Society for Microbiology Press.
12. Das, C. T., Bhowal, J., & Kamilya, D. (2010). Effect of relative humidity on growth of clinically isolated three *Candida* spp. *Current Research in Bacteriology*, 3(1), 7–13.
13. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2010). *Tıbbi mikrobiyoloji* (A. C. Başustaoğlu, Ed.; 6. baskı, Türkçeye çev., ss.679-791) içinde. Ankara: Atlas Kitabevi.
14. Tümbay, E. (1999). *Candida* türleri. Ş. U. Çelebi (Ed.), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji (Bölüm 5, ss. 1081–1087) içinde. Güneş Kitabevi.
15. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneđi (KLİMUD). (2020). Üriner sistem örneklerinin laboratuvar tanısı rehberi (2. baskı, KLİMUD-ÜRİ.REH.09/20.Ver02, Kaynak No: 7), Ankara. [https://www.klimud.org/uploads/content/%C3%9Criner%20Sistem%20%C3%96rnekle rin%20Laboratuvar%20Tan%C4%B1s%C4%B1%20\(Ver2.1-2020\).pdf](https://www.klimud.org/uploads/content/%C3%9Criner%20Sistem%20%C3%96rnekle rin%20Laboratuvar%20Tan%C4%B1s%C4%B1%20(Ver2.1-2020).pdf)

16. Kauffman, C. A., Vazquez, J. A., Sobel, J. D., & others. (2000). Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. *Clinical Infectious Diseases*, 30(1), 14–18. <https://doi.org/10.1086/313589>
17. Lundstrom, T., & Sobel, J. (2001). Nosocomial candiduria: A review. *Clinical Infectious Diseases*, 32(11), 1602–1607. <https://doi.org/10.1086/320531>
18. Alvarez-Lerma, F., Nolla-Salas, J., Leon, C., & others. (2003). Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive Care Medicine*, 29(7), 1069–1076. <https://doi.org/10.1007/s00134-003-1750-8>
19. Storfer, S. P., Medoff, G., Fraser, V. J., & others. (1994). Candiduria: Retrospective review in hospitalized patients. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 3(1), 23–29. <https://doi.org/10.1097/00019048-199401000-00004>
20. Schaberg, D. R., Culver, A. H., & Gaynes, R. P. (1991). Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *The American Journal of Medicine*, 91(Suppl. 3B), 72S–74S. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(91\)90346-y](https://doi.org/10.1016/0002-9343(91)90346-y)
21. Passos, X. S., Sales, W. S., Maciel, P. J., et al. (2005). *Candida* colonization in intensive care unit patients' urine. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(8), 925–928. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000800004>
22. Jenkins, E. N., Gold, J. A., Benedict, K., et al. (2025). Population-based active surveillance for culture-confirmed candidemia — 10 sites, United States, 2017–2021. *MMWR Surveillance Summaries*, 74(SS-4), 1–15. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss7404a1>
23. Knoke, M., Schulz, K., & Bernhardt, H. (1997). Dynamics of *Candida* isolations from humans in 1992–1995 in Greifswald, Germany. *Mycoses*, 40(3–4), 105–110. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1997.tb00026.x>
24. Sobel, J. D., Kauffman, C. A., McKinsey, D., et al. (2000). Candiduria: A randomized, double-blind study of treatment with fluconazole and placebo. *Clinical Infectious Diseases*, 30(1), 19–24. <https://doi.org/10.1086/313590>
25. Slotman, G. J., Shapiro, E., & Moffa, S. M. (1994). Fungal sepsis: Multisite colonization versus fungemia. *The American Surgeon*, 60(2), 107–113.
26. Lehner, T. (1964). Systemic candidiasis and renal involvement. *The Lancet*, 1(7347), 1414–1416. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(64\)91478-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(64)91478-0)
27. Hollenbach, E. (2008). Invasive candidiasis in the ICU: Evidence-based and on the edge of evidence. *Mycoses*, 51(Suppl. 2), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2008.01625.x>
28. Krause, R. J., Matheis, H., & Wulf, K. (1969). Fungaemia and funguria after oral administration of *Candida albicans*. *The Lancet*, 1(7592), 598–599. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(69\)92244-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(69)92244-3)
29. Kozinn, P., Taschdjian, C. L., Goldberg, P. K., et al. (1978). Advances in the diagnosis of renal candidiasis. *The Journal of Urology*, 119(2), 184–187. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)57429-7](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)57429-7)
30. Magill, S. S., Swoboda, C. M., Johnson, E. A., et al. (2006). The association between anatomic site of *Candida* colonization, invasive candidiasis, and mortality in critically ill surgical patients. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 55(4), 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.03.002>
31. Jacobs, L. G. (1996). Fungal urinary tract infections in the elderly: Treatment guidelines. *Drugs & Aging*, 8(2), 89–96. <https://doi.org/10.2165/00002512-199608020-00002>

32. Charles, P. E., Dalle, F., Aube, H., et al. (2005). *Candida* spp. colonisation significance in critically ill medical patients: A prospective study. *Intensive Care Medicine*, 31(3), 393–400. <https://doi.org/10.1007/s00134-004-2525-0>
33. Leu, H.-S., & Huang, C.-T. (1995). Clearance of funguria with short-course antifungal regimens: A prospective, randomized, controlled study. *Clinical Infectious Diseases*, 20(5), 1152–1157. <https://doi.org/10.1093/clinids/20.5.1152>
34. Pappas, P. G., Rex, J. H., Sobel, J. D., Filler, S. G., Dismukes, W. E., Walsh, T. J., & Edwards, J. E. (2004). Guidelines for treatment of candidiasis. *Clinical Infectious Diseases*, 38(2), 161–189. <https://doi.org/10.1086/380796>
35. Konnikov, N. (1999). Oral antifungal agents. In I. M. Freedberg, A. Z. Eisen, K. Wolff, K. F. Austen, L. A. Goldsmith, S. I. Katz, & T. B. Fitzpatrick (Eds.), *Dermatology in general medicine* (5th ed., pp. 2847–2852). McGraw-Hill.
36. Bennett, M. L., Fleischer, A. B., Loveless, J. W., & Feldman, S. R. (2000). Oral griseofulvin remains the treatment of choice for tinea capitis in children. *Pediatric Dermatology*, 17(4), 304–309. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1470.2000.01784.x>
37. Smith, E. B. (2000). The treatment of dermatophytosis: Safety considerations. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 43(6, Suppl. 1), S113–S119. <https://doi.org/10.1067/mjd.2000.111016>
38. Gupta, A. K., Katz, H. I., & Shear, N. H. (1999). Drug interactions with itraconazole, fluconazole, and terbinafine and their management. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 41(2), 237–249. [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(99\)70194-6](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(99)70194-6)
39. Sheehan, D. J., Hitchcock, C. A., & Sibley, C. M. (1999). Current and emerging azole antifungal agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 40–79. <https://doi.org/10.1128/cmr.12.1.40>
40. Hope, W. W., Castagnola, E., Groll, A. H., et al. (2012). ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: Prevention and management of invasive infections in neonates and children caused by *Candida* spp. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(Suppl. 7), S38–S52. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12040>
41. Walsh, T. J., Anaissie, E. J., Denning, D. W., et al. (2008). Treatment of aspergillosis: Clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 46(3), 327–360. <https://doi.org/10.1086/525258>
42. Hazen, E., & Brown, R. (1950). Two antifungal agents produced by a soil actinomycete. *Science*, 112(2915), 423. <https://doi.org/10.1126/science.112.2915.423>
43. Kalkancı, A., Hızal, K., Ali, F., Çerikçioğlu, N., Akyar, I., Rukiye, B., Erturan, Z. (2013). Klinik *Candida lusitanae* kökenlerinin amfoterisin B'ye in vitro duyarlılığı: Çok merkezli çalışma. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 45(1), 30–35. <https://doi.org/10.5222/tmcd.2015.030>
44. Gallis, H. A., Drew, R. H., & Pickard, W. W. (1990). Amphotericin B: 30 years of clinical experience. *Reviews of Infectious Diseases*, 12(2), 308–329. <https://doi.org/10.1093/clinids/12.2.308>
45. Young, L. Y., Hull, C. M., & Heitman, J. (2003). Disruption of ergosterol biosynthesis confers resistance to amphotericin B in *Candida lusitanae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(9), 2717–2724. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.9.2717-2724.2003>
46. Fanos, V., & Cataldi, L. (2000). Amphotericin B-induced nephrotoxicity: A review. *Journal of Chemotherapy*, 12(6), 463–470. <https://doi.org/10.1179/joc.2000.12.6.463>

47. Kintzel, P. E. (2001). Anticancer drug-induced kidney disorders: Incidence, prevention and management. *Drug Safety*, 24(1), 19–38. <https://doi.org/10.2165/00002018-200124010-00003>
48. Ryder, N. S. (1992). Terbinafine: Mode of action and properties of the squalene epoxidase inhibition. *British Journal of Dermatology*, 126(Suppl. 39), 2–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1992.tb00001.x>
49. Domínguez, J. M., Kelly, V. A., Kinsman, O. S., Marriott, M. S., Gómez de las Heras, F., & Martín, J. J. (1998). Sordarins: A new class of antifungals with selective inhibition of the protein synthesis elongation cycle in yeasts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(9), 2274–2278. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.9.2274>
50. Yücesoy, M. (2000). Sistemik mantar infeksiyonlarında kullanılan antifungal ilaçlar. *ANKEM Dergisi*, 14(3), 286–297. https://ankemdernegi.org.tr/ANKEMJOURNALPDF/ANKEM_14_3_286_297.pdf
51. Huffnagle, G. B., Herring, A. C., & Traynor, T. R. (2000). Role of fungal virulence factors in evasion of host defences. *ARBS Annual Review of Biomedical Sciences*, 2, 77–90. <https://doi.org/10.5016/1806-8774.2000.v2p77>
52. Odds, F. C. (2018). Pathogenesis of fungal disease. In C. C. Kibbler, D. W. Denning, & N. A. R. Gow (Eds.), *Oxford textbook of medical mycology* (pp. 123–135). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/med/9780198755388.003.0008>
53. Çerikçiöğlu, N. (2012). Mantarlarda virülans faktörleri. *ANKEM Dergisi*, 26(Ek 2), 261–269.
54. Yücesoy, M. (1999). *Candida* türlerinin virulans faktörleri ve konağa ait faktörler. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13(3), 377–388.
55. Yang, W., Yan, L., Wu, C., Zhao, X., & Tang, J. (2014). Fungal invasion of epithelial cells. *Microbiological Research*, 169(10), 803–810. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.02.008>
56. Hostetter, M. K. (1994). Adhesins and ligands involved in the interaction of *Candida* spp. with epithelial and endothelial surfaces. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(1), 29–42. <https://doi.org/10.1128/CMR.7.1.29>
57. Staab, J. F., Bradway, S. D., Fidel, P. L., & Sundstrom, P. (1999). Adhesive and mammalian transglutaminase substrate properties of *Candida albicans* Hwp1. *Science*, 283(5407), 1535–1538. <https://doi.org/10.1126/science.283.5407.1535>
58. Filler, S. G. (2006). *Candida*–host cell receptor–ligand interactions. *Current Opinion in Microbiology*, 9(4), 333–339. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.06.007>
59. Finkel, J. S., & Mitchell, A. P. (2011). Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nature Reviews Microbiology*, 9(2), 109–118. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2475>
60. Garcia-Sanchez, S., Aubert, S., Iraqui, I., Janbon, G., Ghigo, J. M., & d’Enfert, C. (2004). *Candida albicans* biofilms: A developmental state associated with specific and stable gene expression patterns. *Eukaryotic Cell*, 3(2), 536–545. <https://doi.org/10.1128/EC.3.2.536-545.2004>
61. Odds, F. C., Gow, N. A. R., & Brown, A. J. P. (2006). Toward a molecular understanding of *Candida albicans* virulence. In J. Heitman, S. G. Filler, J. E. Edwards Jr., & A. P. Mitchell (Eds.), *Molecular principles of fungal pathogenesis* (pp. 305–319). ASM Press <https://doi.org/10.1128/9781555815776.ch22>
62. Eckert, S. E., Sheth, C. C., & Mühlischlegel, F. A. (2007). Regulation of morphogenesis in *Candida* species. In C. d’Enfert & B. Hube (Eds.), *Candida: Comparative and functional genomics* (pp. 263–291). Caister Academic Press.

63. Whiteway, M., & Bachewich, C. (2006). Signal transduction in the interactions of fungal pathogens and mammalian hosts. In J. Heitman, S. G. Filler, J. E. Edwards Jr., & A. P. Mitchell (Eds.), *Molecular principles of fungal pathogenesis* (pp. 143–161). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555815776.ch10>
64. Karkowska-Kuleta, J., Rapala-Kozik, M., & Kozik, A. (2009). Fungi pathogenic to humans: Molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. *Acta Biochimica Polonica*, 56(2), 211–224. https://doi.org/10.18388/abp.2009_2452
65. Ener, B. (2002). *Candida* infeksiyonlarının patogenezi: Etkenin rolü. In *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Sempozyumu Kongre Kitabı* (ss. 65–70). Eskişehir.
66. Moyes, D. L., Wilson, D., Richardson, J. P., Mogavero, S., Tang, S. X., Wernecke, J., & Naglik, J. R. (2016). Candidalysin is a fungal peptide toxin critical for mucosal infection. *Nature*, 532(7597), 64–68. <https://doi.org/10.1038/nature17625>
67. Schaller, M., Borelli, C., Korting, H. C., & Hube, B. (2005). Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*, 48(6), 365–377. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2005.01165.x>
68. Theiss, S., Ishdorj, G., Brenot, A., Kretschmar, M., Lan, C. Y., Nichterlein, T., Hacker, J., Nigam, S., Agabian, N., & Köhler, G. A. (2006). Inactivation of the phospholipase B gene *PLB5* in wild-type *Candida albicans* reduces cell-associated phospholipase A2 activity and attenuates virulence. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(6), 405–420. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.06.003>
69. Ghannoum, M. A. (2000). Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(1), 122–143. <https://doi.org/10.1128/cmr.13.1.122-143.2000>
70. Naglik, J. R., Challacombe, S. J., & Hube, B. (2003). *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(3), 400–428. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.3.400-428.2003>
71. Werner, H. (1966). Studies on the lipase activity in yeasts and yeast-like fungi. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 200, 113–124. [https://doi.org/10.1016/s0934-8840\(11\)80254-9](https://doi.org/10.1016/s0934-8840(11)80254-9)
72. Tsuboi, R., Komatsuzaki, H., & Ogawa, H. (1996). Induction of an extracellular esterase from *Candida albicans* and some of its properties. *Infection and Immunity*, 64(7), 2936–2940. <https://doi.org/10.1128/iai.64.8.2936-2940.1996>
73. Chou, D. K., Krishnamurthy, R., Randolph, T. W., Carpenter, J. F., & Manning, M. C. (2005). Effects of Tween 20 and Tween 80 on the stability of Albutropin during agitation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94(6), 1368–1381. <https://doi.org/10.1002/jps.20365>
74. Slifkin, M. (2000). Tween 80 opacity test responses of various *Candida* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(12), 4626–4628. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.12.4626-4628.2000>
75. Manns, J. M., Mosser, D. M., & Buckley, H. R. (1994). Production of a hemolytic factor by *Candida albicans*. *Infection and Immunity*, 62(11), 5154–5156. <https://doi.org/10.1128/iai.62.11.5154-5156.1994>
76. Weissman, Z., & Kornitzer, D. (2004). A family of *Candida* cell surface haem-binding proteins involved in haemin and haemoglobin-iron utilization. *Molecular Microbiology*, 53(4), 1209–1220. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04196.x>
77. UMS. (2012). *Guidelines for assuring quality of medical mycological culture media* (2nd ed., Vol. 2). UMS Publications.

78. Bharathi, R. (2018). Comparison of chromogenic media with the corn meal agar for speciation of *Candida*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(3), 1617–1622. <https://doi.org/10.22207/JPAM.12.3.68>
79. Larone, D. H. (2011). *Medically important fungi: A guide to identification* (5th ed.). <https://doi.org/10.1128/9781555816605>
80. de Hoog, G. S., Guarro, J., Gené, J., & Figueras, M. J. (Eds.). (2000). *Atlas of clinical fungi* (2nd ed., pp. viii–1126). Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS).
81. CHROMagar. (2024, May 6). *CHROMagar™ Candida: Instructions for use* (Version 10.1, NT-EXT-001). <https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/11/NT-EXT-001-V10.1.pdf>
82. Luo, G., Samaranayake, L. P., & Yau, J. Y. (2001). *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(8), 2971–2974. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.8.2971-2974.2001>
83. Samaranayake, L. P., Raeside, J. M., & MacFarlane, T. W. (1984). Factors affecting the phospholipase activity of *Candida* species in vitro. *Sabouraudia*, 22(3), 201–207. <https://doi.org/10.1080/00362178485380331>
84. Staib, F. (1965). Serum-proteins as nitrogen source for yeastlike fungi. *Sabouraudia*, 4(3), 187–193. <https://doi.org/10.1080/00362176685190421>
85. Gürçan, Ş., Yücesoy, M., Pullukçu, H., & Taşbakan, M. (2010). Evaluation of virulence in various *Candida* species: In vitro and in vivo study. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 30(5), 1493–1502. <https://doi.org/10.5336/medsci.2009-16724>
86. Branchini, M. L., Pfaller, M. A., Rhine-Chalberg, J., Frempong, T., & Isenberg, H. D. (1994). Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(2), 452–456. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.2.452-456.1994>
87. Ardehali, S. H., Azimi, T., Fallah, F., & Aghamohammadi, N. (2019). Molecular detection of *ALSI*, *ALS3*, *HWP1* and *SAP4* genes in *Candida* genus isolated from hospitalized patients in intensive care unit, Tehran, Iran. *Cellular and Molecular Biology*, 65(4), 15–22. <https://doi.org/10.14715/cmb/2019.65.4.3>
88. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2020). Breakpoint tables for interpretation of MICs for antifungal agents (Version 10.0). <http://www.eucast.org/astoffungi/clinicalbreakpointsforantifungals/>
89. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2022). Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeast (3rd ed., CLSI Supplement M27M44S). https://cdn.bfldr.com/YLD4EVFU/at/4jk63cjmxxk9gwc564p8t8s3/m27m44sed3e_sample.pdf
90. Castellano-Sánchez, L., Rosales-Castillo, A., Olvera-Porcel, M. C., Navarro-Marí, J. M., & Gutiérrez-Fernández, J. (2025). Presencia emergente de microorganismos de crecimiento lento en urocultivos. Análisis clínico y microbiológico [Emergent presence of slow-growing microorganisms in urine cultures. Clinical and microbiological analysis]. *Revista española de quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*, 38(2), 75–83. <https://doi.org/10.37201/req/101.2024>
91. Gharaghani, M., Rezaei-Matehkolaei, A., Hardani, A., & Mahmoudabadi, A. Z. (2021). Pediatric candiduria: Epidemiology, genotype distribution and virulence factors of *Candida albicans*. *Microbial Pathogenesis*, 158, 105051. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105051>
92. Amer, A. (2009). Virulence activities of *Candida* species isolates from patients and healthy subjects. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 18(4), 147–154.

93. D'Eça Júnior, A., Silva, A. A., Rosa, F. C., Monteiro, S. G., Figueiredo, P. M. S., & Monteiro, C. A. (2011). In vitro differential activity of phospholipases and acid proteinases of clinical isolates of *Candida*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(3). <https://doi.org/10.1590/s0037-86822011005000036>
94. Mahmoudabadi, A. Z., Zarrin, M., & Miry, S. (2010). Phospholipase activity of *Candida albicans* isolated from vagina and urine samples. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 3(4), 169–173. <https://doi.org/10.5812/jjm.4633>
95. Kantarcioğlu, A. S., & Yücel, A. (2002). Phospholipase and protease activities in clinical *Candida* isolates with reference to the sources of strains. *Mycoses*, 45(5–6), 160–165. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2002.00748.x>
96. Sarkar, A., & Samant, S. (2021). Detection of phospholipase activity in clinical isolates of *Candida* species in a tertiary care hospital. *International Journal of Creative Research Thoughts (IJCRT)*, 9(6), 2851–2855. <https://doi.org/10.1729/IJCRT.2106423>
97. Sachin, C., Ruchi, K., & Santosh, S. (2012). In vitro evaluation of proteinase, phospholipase and haemolysin activities of *Candida* species isolated from clinical specimens. *International Journal of Medicine and Biomedical Research*, 1(2), 153–157. <https://doi.org/10.14194/ijmbr.1211>
98. Gupta, J., & Shah, H. (2017). In vitro evaluation of virulence factors associated with clinical isolates of *Candida* species from patients in a tertiary care hospital in Central India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(6), 2786–2792. <https://doi.org/10.17511/jopm.2017.i02.20>
99. Ghosh, R. R., Ghosh, M., Chatterjee, N., & Chatterjee, M. (2018). Determination of potential virulence factors in clinical isolates of various *Candida* species to assess its clinical implication in a tertiary care hospital in Eastern India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(4), 2562–2571. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.188385>
100. França, E. J. G., Furlaneto-Maia, L., Quesada, R., Fávero, D., Oliveira, M. T., & Furlaneto, M. C. (2011). Haemolytic and proteinase activities in clinical isolates of *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis* with reference to the isolation anatomic site. *Mycoses*, 54(4), e313–e320. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2010.01908.x>
101. Silva, E. H. da, Ruiz, L., Matsumoto, F. E., Auler, M., Giudice, M., Moreira, D., Szeszs, W., & Paula, C. R. (2007). Candiduria in a public hospital of São Paulo (1999–2004): Characteristics of the yeast isolates. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 49(6), 349–353. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000600006>
102. Riceto, É. B. de M., Menezes, R., Penatti, M., & Pedroso, R. (2015). Enzymatic and hemolytic activity in different *Candida* species. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32(2), 79–82. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.10.004>
103. Alenzi, F. (2016). Virulence factors of *Candida* species isolated from patients with urinary tract infection and obstructive uropathy. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 32(1), 205–210. <https://doi.org/10.12669/pjms.321.8735>
104. TilakRamu, G., Joseph, N., Umadevi, S., Srirangaraj, S., & Stephen, S. (2014). Virulence factors of *Candida* species isolated from respiratory tract and urine. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(5), 955–960.
105. Yenişehirli, G., Bulut, Y., & Tunçoğlu, E. (2010). Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* suşlarının fosfolipaz, proteinaz ve hemolitik aktiviteleri / Phospholipase, proteinase and hemolytic activities of *Candida albicans* isolates obtained from clinical specimens. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44(1), 71–77.

106. Silva, J. O., Ferreira, J. C., & Cândido, R. C. (2007). [Enzymatic activity, slime production and antifungal agent sensitivity of *Candida* sp]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40(4), 326–328. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822007000400010>
107. Ravinder, K. (2015). A study of virulence factors: Proteinase, phospholipase, and biofilm in HIV/AIDS patients. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 1(2) <https://doi.org/10.16966/2380-5536.110>
108. Wasnik, K., Wankhade, A., & Wasnik, P. (2022). Study of virulence factor production in *Candida* species colonizer isolated from diabetic patients. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 16(4), 2347–2353. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.4.38>
109. Rörig, K. C. O., Colacite, J., & Abegg, M. (2009). [Production of virulence factors in vitro by pathogenic species of the genus *Candida*]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(6), 652–655. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000600016>
110. Inci, M., Atalay, M., Koç, A., Yula, E., Evirgen, Ö., Durmaz, S., & Demir, G. (2012). Investigating virulence factors of clinical *Candida* isolates in relation to atmospheric conditions and genotype. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 42(Suppl. 1), 1470–1477. <https://doi.org/10.3906/sag-1106-21>
111. Ismail, M., Abd El-Haliem, N. F., & Aboelmagd, E. (2020). Assessment of virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from catheter-associated urinary tract infections. *Al-Azhar International Medical Journal*, 1(1), 54–63. <https://doi.org/10.21608/aimj.2020.35322.1278>
112. Mushi, M. F., Bader, O., Bii, C. C., Groß, U., & Mshana, S. E. (2018). Virulence and susceptibility patterns of clinical *Candida* spp. isolates from a tertiary hospital, Tanzania. *Medical Mycology*, 56(4), 469–476. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx080>
113. Zarrin, M., Rajabi, M., & Mahmoudabadi, A. (2016). Study of haemolytic, esterase activities and germ tube formation in *Candida albicans* from patients with vaginitis and urinary infections. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(11), e41446. <https://doi.org/10.5812/jjm.41446>
114. Menka, M., Chand, A. E., & Verma, D. (2023). Detection of various virulence factors of *Candida* species isolated from different clinical specimens. *Indian Journal of Applied Research*, 13(3), 1–3. <https://doi.org/10.36106/ijar>
115. Jose, N., Mudhigeti, N., Asir, J., & Chandrakesan, S. (2015). Detection of virulence factors and phenotypic characterization of *Candida* isolates from clinical specimens. *Journal of Current Research in Scientific Medicine*, 1(1), 27–31.
116. Burduniuc, O. (2021). Antifungal susceptibility patterns and virulence factors of clinical *Candida* spp. isolates. *Arta Medica*, 79(2), 23–27. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5636857>
117. Ghosh, R., Ghosh, M., Chatterjee, M., & Banerjee, M. (2016). In vitro demonstration of potential virulence determinants among clinical isolates of various *Candida* species and its clinical implication in a teaching hospital in Eastern India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 34(2), 263–264. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.180374>
118. Kaur, R., Goyal, R., Dhakad, M. S., Bhalla, P., & Kumar, R. (2014). Epidemiology and virulence determinants including biofilm profile of *Candida* infections in an ICU in a tertiary hospital in India. *Journal of Pathogens*, 2014, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/303491>
119. Treviño-Rangel, R. J., Bodden-Mendoza, B. A., Montoya, A. M., Villanueva-Lozano, H., Elizondo-Zertuche, M., Robledo-Leal, E., & González, G. (2014). Phenotypical characterization and molecular identification of clinical isolates of *Candida tropicalis*. *Journal of Pathogens*, 2014, Article ID 456791. <https://doi.org/10.1155/2014/456791>

120. Treviño-Rangel, R. J., González, J., & González, G. (2013). Aspartyl proteinase, phospholipase, esterase and hemolysin activities of clinical isolates of the *Candida parapsilosis* species complex. *Medical Mycology*, 51(5), 626–631. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.755519>
121. Rajeswari, M. R., Kalyani, M., Hanumanthappa, A. R., Vijayaraghavan, R., & Lava, R. (2018). Detection of virulence factors in *Candida* isolated from different clinical specimens. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences (IJBPAS)*, 7(3), 4397–4405. <https://doi.org/10.31032/ijbpas/2018/7.3.4397>
122. Basu, S., Guignani, H., Joshi, S., & Gupta, N. (2004). Distribution of *Candida* species in different clinical sources in Delhi, India, and proteinase and phospholipase activity of *Candida albicans* isolates. *Revista Iberoamericana de Micología*, 20(4), 137–140.
123. Pramodhini, S., Srirangaraj, S., & Easow, J. M. (2021). Candiduria—Study of virulence factors and its antifungal susceptibility pattern in tertiary care hospital. *Journal of Laboratory Physicians*, 13(2), 154–159. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731630>
124. Subramanya, S., Baral, B., Sharan, N. K., Nayak, N., Metok, Y., Sathian, B., Bairy, I., & Gokhale, S. (2017). Antifungal susceptibility and phenotypic virulence markers of *Candida* species isolated from Nepal. *BMC Research Notes*, 10(1), 513. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2844-x>
125. Nazeer, S., Naz, S., Zubair, A., Shafique, M., Sharafat, S., Baig, S., & Jabeen, G. (2020). Assessment of different enzymatic virulence traits contributing to pathogenicity of *Candida albicans*. *International Journal of Endorsing Health Science Research*, 8(2), 13–19. <https://doi.org/10.29052/IJEHSR.v8.i2.2020.13-19>
126. Setty, C. R. (2016). Speciation, detection of virulence factors and antifungal susceptibility testing of *Candida* isolates in a tertiary care hospital. *Asian Journal of Medical Sciences*, 11(4), 91–96. <https://doi.org/10.3126/ajms.v11i4.28494>
127. Yu, S.-B., Li, W.-G., Che, J., Bian, F., Lu, J., & Wu, Y. (2015). [Study on virulence factors of *Candida tropicalis* isolated from clinical samples]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 36(10), 1162–1166. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.10.027>
128. Udayalaxmi, J., Jacob, S., & D'Souza, D. (2014). Comparison between virulence factors of *Candida albicans* and non-*albicans* species of *Candida* isolated from genitourinary tract. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(11), DC15–DC17. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/10088.5184>
129. Chin, V. K., Foong, K., Maha, A., Rusliza, B., Norhafizah, M., Ng, K. P., & Chong, P. P. (2013). *Candida albicans* isolates from a Malaysian hospital exhibit more potent phospholipase and haemolysin activities than non-*albicans* *Candida* isolates. *Tropical Biomedicine*, 30(4), 654–662.
130. Mohandas, V., & Ballal, M. (2011). Distribution of *Candida* species in different clinical samples and their virulence: Biofilm formation, proteinase and phospholipase production: A study on hospitalized patients in Southern India. *Journal of Global Infectious Diseases*, 3(1), 4–8. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.77288>
131. Atalay, M. A., Koç, A. N., Sav, H., & Demir, G. (2012). İdrar kültürlerinden izole edilen *Candida* türleri ve antifungal duyarlılıkları. *ANKEM Dergisi*, 26(Ek 1), 27. ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi, Dalaman / Muğla, 25–29 Nisan 2012
132. Asad, M., Ali, M., Hamza, H. M., Faisal, M., & Gondal, A. (2024). Antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from urine samples: A laboratory-based analysis. *International Journal of Medical Science and Clinical Invention*, 11(10), 7262–7369. <https://doi.org/10.18535/ijmsci/v11i.10.05>

- 133.Sharma, Y., Chumber, S. K., & Kaur, M. (2017). Studying the prevalence, species distribution, and detection of in vitro production of phospholipase from *Candida* isolated from cases of invasive candidiasis. *Journal of Global Infectious Diseases*, 9(1), 8–11. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.199995>
- 134.Kamini, P., Premamalini, T., Karthika, K., & Bavadharani, S. (2022). Antifungal susceptibility profile and biofilm production of *Candida* spp. isolated from catheterised patients with urinary tract infection. *Journal of the Academy of Clinical Microbiologists*, 24, 76–83. https://doi.org/10.4103/jacm.jacm_12_22
- 135.Alós, J. I. (2005). Epidemiología y etiología de la infección urinaria comunitaria. Sensibilidad antimicrobiana de los principales patógenos y significado clínico de la resistencia [Epidemiology and etiology of urinary tract infections in the community. Antimicrobial susceptibility of the main pathogens and clinical significance of resistance]. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23(Suppl. 4), 3–8. <https://doi.org/10.1157/13091442>
- 136.Achkar, J. M., & Fries, B. C. (2010). *Candida* infections of the genitourinary tract. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2), 253–273. <https://doi.org/10.1128/CMR.00076-09>
- 137.Makia, R. S., Fadhil, A., & Ismail, M. C. (2013). Biofilm production as a virulence factor in uropathogenic bacteria and yeasts. *Journal of Biotechnology Research Center*, 7(2), 57–63. <https://doi.org/10.24126/jobrc.2013.7.1.238>
- 138.Marak, M., & Dhanashree, B. (2018). Antifungal susceptibility and biofilm production of *Candida* spp. isolated from clinical samples. *International Journal of Microbiology*, 2018, Article ID 7495218. <https://doi.org/10.1155/2018/7495218>
- 139.Paulitsch, A., Willinger, B., Zsalatz, B., Stabentheiner, E., Marth, E., & Buzina, W. (2009). In-vivo *Candida* biofilms in scanning electron microscopy. *Medical Mycology*, 47(7), 690–696. <https://doi.org/10.1080/13693780802531633>
- 140.Paul, N., Mathai, E., Abraham, O. C., & Mathai, D. (2004). Emerging microbiological trends in candiduria. *Clinical Infectious Diseases*, 39(11), 1743–1744. <https://doi.org/10.1086/426102>
- 141.Sobel, J. D., & Vazquez, J. A. (1999). Fungal infections of the urinary tract. *World Journal of Urology*, 17(6), 410–414. <https://doi.org/10.1007/s003450050162>
- 142.Oravcová, E., Lacka, J., Drgoňa, L., & Others. (1996). Funguria in cancer patients: Analysis of risk factors, clinical features and outcome in 50 patients. *Infection*, 24(4), 319–323. <https://doi.org/10.1007/BF0171335>
- 143.Turan, D., Barış, A., & Kiraz, N. (2024). Investigation of virulence factors of *Candida albicans* species isolated from clinical specimens phenotypically and genotypically. *Haydarpaşa Numune Medical Journal*, 64(2), 450–455. <https://doi.org/10.14744/hnhj.2024.35545>
- 144.Keçeli, S. A., Kurt, M., Özgür, D., & Otağ, Z. F. (2020). The correlation of biofilm formation, hemolytic and coagulase activities and antifungal susceptibility among *Candida parapsilosis* isolates recovered from clinical specimens. *KOU Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(3), 203–208. <https://doi.org/10.30934/kusbed.777921>
- 145.Jahan, S., Khan, M. W., Malik, A., & Fatima, N. (2017). Virulence determinants of *Candida* infections in high-risk neonates and infants in a tertiary hospital of North India. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 6(1).
- 146.Febre, N., Silva, V., Medeiros, E. A., Wey, S., Colombo, A. L., & Fischman, O. (1999). Microbiological characteristics of yeasts isolated from urinary tracts of intensive care unit patients undergoing urinary catheterization. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(5), 1584–1586. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.5.1584-1586.1999>

147. Hamory, B. H., & Wenzel, R. P. (1978). Hospital-associated candiduria: Predisposing factors and review of the literature. *Journal of Urology*, 120(4), 444–448. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)57223-7](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)57223-7)
148. Richards, M. J., Edwards, J. R., Culver, D. H., & Gaynes, R. P. (1999). Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States: National Nosocomial Infections Surveillance System. *Critical Care Medicine*, 27(5), 887–892. <https://doi.org/10.1097/00003246-199905000-00020>
149. Richards, M. J., Edwards, J. R., Culver, D. H., & Gaynes, R. P. (2000). Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 21(8), 510–515. <https://doi.org/10.1086/501795>
150. Shay, A. C., & Miller, L. G. (2004). An estimate of the incidence of candiduria among hospitalized patients in the United States. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 25(11), 894–895. <https://doi.org/10.1086/503489>
151. Platt, R., Polk, B. F., Murdock, B., & Rosner, B. (1986). Risk factors for nosocomial urinary tract infection. *American Journal of Epidemiology*, 124(6), 977–985. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a114487>
152. Berrouane, Y. F., Herwaldt, L. A., & Pfaller, M. A. (1999). Trends in antifungal use and epidemiology of nosocomial yeast infections in a university hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(2), 531–537. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.3.531-537.1999>
153. Baykara, N., Akalın, H., Arslantaş, M. K., Hancı, V., Çağlayan, Ç., Kahveci, F., Demirağ, K., Baydemir, C., Ünal, N., & Sepsis Study Group (2018). Epidemiology of sepsis in intensive care units in Turkey: a multicenter, point-prevalence study. *Critical care (London, England)*, 22(1), 93. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2013-1>
154. Patil, S., Ugargol, A. R., & NS, S. (2014). Comparison of two methods for detection of secreted aspartyl protease in urinary isolates of *Candida* species. *National Journal of Medical Research*, 4(2), 119.
155. Akyol, V., & Çerikçioğlu, N. (2010). *Candida parapsilosis* klinik izolatlarının morfoloju, genotiplendirilmesi ve farklı morfolojilerde bazı virülans faktörlerinin araştırılması [Morphotyping, genotyping and investigation of some virulence factors in different morphotypes of *Candida parapsilosis* clinical isolates]. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44(4), 605–617.
156. Eid, D., Said, M. E., & Barwa, R. (2019). Molecular identification and virulence factors determination in *Candida* species isolated from Egyptian patients. *American Journal of Microbiological Research*, 7(4), 94–99. <https://doi.org/10.12691/ajmr-7-4-2>
157. Júnior, A. D., Silva, A. F., Rosa, F. C., Monteiro, S. G., de Maria Silva Figueiredo, P., & de Andrade Monteiro, C. (2011). *In vitro* differential activity of phospholipases and acid proteinases of clinical isolates of *Candida*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(3), 334–338. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000036>
158. Fisher, J. F., Kavanagh, K., Sobel, J. D., Kauffman, C. A., & Newman, C. A. (2011). *Candida* urinary tract infection: Pathogenesis. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 52(Suppl 6), S437–S451. <https://doi.org/10.1093/cid/cir110>
159. Pekintürk, N., Değerli, K., Özkütük, N., Ecemiş, T., Kurutepe, S., & Özbakkaloğlu, B. (2012). *Candida albicans* suşlarının fosfolipaz, esterase ve slime aktivitelerinin enfeksiyon-kolonizasyon ayrımındaki rolleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 32(1), 171–176. <https://doi.org/10.5336/medsci.2011-23496>

160. Susever, S., Ağırbaşı, H., Erturan, Z., & Yeğenoğlu, Y. (2003). Investigation of esterase and hemolytic activity of *Candida albicans* strains isolated from children with leukemia [Conference presentation]. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı* (1. baskı., s. 363) içinde. İstanbul: Çatı Grafik.
161. Yücesoy, M., & Karaman, M. (2003). Phospholipase and esterase activity of *Candida albicans* strains isolated from patients with oral candidosis and healthy individuals [Article in Turkish]. *Turkish Journal of Infection*, 17(4), 483–486. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2002.tb04743.x>
162. Noori, M., Dakhili, M., Sepahvand, A., & Davari, N. (2017). Evaluation of esterase and hemolysin activities of different *Candida* species isolated from vulvovaginitis cases in Lorestan Province, Iran. *Current Medical Mycology*, 3(4), 1–5. <https://doi.org/10.29252/cmm.3.4.1>
163. Aktaş, E., Yiğit, N., & Ayyıldız, A. (2002). Esterase activity in various *Candida* species. *The Journal of International Medical Research*, 30(3), 322–324. <https://doi.org/10.1177/147323000203000315>
164. Kumar, C. P., Kumar, S. S., & Menon, T. (2006). Phospholipase and proteinase activities of clinical isolates of *Candida* from immunocompromised patients. *Mycopathologia*, 161(4), 213–218. <https://doi.org/10.1007/s11046-005-0157-4>
165. Verma, R., Jain, P., Chandra, K. P., & Kulkarni, R. (2017). Pathogenicity testing of clinical *Candida* isolates by assessing biofilm formation and their adhesion to urinary catheter material. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(4), 1939–1946. <https://doi.org/10.22207/JPAM.11.4.35>
166. Nouraei, H., Zare, S., Nemati, M., Amirzadeh, N., Motamedi, M., Shabanzadeh, S., Zomorodian, K., & Pakshir, K. (2024). Comparative analysis of enzymatic profiles and biofilm formation in clinical and environmental *Candida kefyr* isolates. *Environmental Microbiology Reports*, 16(3), 1–8. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13282>
167. Ogba, O. M., Bullem-Odu, D. C., Inah, I. O., Ogba, R. O., Akpan, N. G., Nyambi, E. S., & Ugar, L. I. (2024). Catheter associated candiduria among in-patients accessing care in a tertiary health institution in Calabar, Nigeria. *Sokoto Journal of Medical Laboratory Science*, 9(3), 227–236. <https://doi.org/10.4314/sokjmls.v9i3.24>
168. Alkilani, A., Shalakany, A. H. E., El-Masry, E., Awad, E., & Mohamad, E. (2016). Nosocomial candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in Menoufia University Hospitals, Egypt. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 15(9), 1–15. <https://doi.org/10.9734/bjmmr/2016/25940>
169. Pragaspathy, A., Meundi, M., & Shreeshma, P. (2016). *Candida* biofilm: A study on characterisation, speciation and a comparative analysis of the effects of antifungal drugs on biofilm producers and non-biofilm producers. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(6), 405–407.
170. Khater, E., & Al-Nory, M. H. (2014). Exoenzymes activity and biofilm production in *Candida* species isolated from various clinical specimens in Benha University Hospital, Egypt. *British Microbiology Research Journal*, 4(12), 1335–1346. <https://doi.org/10.9734/bmrj/2014/7879>
171. Ibrahim, E. A., & Hamzah, R. Q. (2021). Biofilm formation by *Candida albicans* and *Candida glabrata* isolated from urine specimens of diabetic Iraqi women. *Journal of Life and Bio Sciences Research*, 2(4), 1–7. <https://doi.org/10.38094/jlbrs20246>
172. Tiwari, G. K., Mishra, B., Dogra, V., Loomba, P. S., & Arora, D. R. (2019). Detection of biofilm production and its quantification in *Candida* isolates in a tertiary care hospital. *Saudi Journal of Pathology and Microbiology*, 4(10), 726–731. <https://doi.org/10.36348/sjpm.2019.v04i10.011>

173. Sida, H., Shah, P. T., Pethani, J. D., Patel, L., & Shah, H. (2016). Study of biofilm formation as a virulence marker in *Candida* species isolated from various clinical specimens. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 5(1), 72–75. <https://doi.org/10.5455/ijmsph.2016.24082015139>
174. Ravinder, K. (2015). A study of virulence factors: Proteinase, phospholipase, and biofilm in HIV/AIDS patients. *Journal of Infectious Diseases and Pathogenesis*, 1(2). <https://doi.org/10.16966/2380-5536.110>
175. Ghonaim, M., Labeeb, A., Eliwa, A. I., & Salem, E. (2020). Molecular diagnosis and antifungal resistance and biofilm production profiles among *Candida* species isolated from immunocompromised patients at Menoufia University Hospitals. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 29(3), 232–240. <https://doi.org/10.51429/ejmm29305>
176. Ismail, M., Abd El-Haliem, N. F., & Aboelmagd, E. (2020). Assessment of virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from catheter-associated urinary tract infections. *Al-Azhar International Medical Journal*, 1(12), 117–122. <https://doi.org/10.21608/aimj.2020.35322.1278>
177. Yücesoy, M., & Karaman, M. (2004). [Biofilm production and antifungal susceptibility patterns of *Candida* species]. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 38(1), 91–97.
178. Ismail, M., Abd El-Haliem, N. F., & Aboelmagd, E. (2020). Assessment of virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from catheter-associated urinary tract infections. *Al-Azhar International Medical Journal*, 1(12), 117–122. <https://doi.org/10.21608/aimj.2020.35322.1278>
179. Sharma, M., Kumar, D., Rana, S., & Broor, S. (2017). Detection of biofilms in *Candida* species in a resource-limited setting. *Indian Journal of Microbiology Research*, 4(1), 6–10. <https://doi.org/10.5958/2394-2800.2017.00002.5>
180. Rishpana, M. S., & Kabbin, J. S. (2015). Candiduria in catheter-associated urinary tract infection with special reference to biofilm production. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(8), DC16–DC18. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2015/13910.6690>
181. Rajkumar, N. (2020). Emerging trend of candidiasis with special reference to biofilm production. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 8(11), 3983–3987. <https://doi.org/10.26611/10081511>
182. Bansal, R., Tiwari, Y. K., & Patidar, V. (2019). Biofilm formation among various *Candida* species and its role in antifungal resistance at tertiary care centre, Jhalawar. *International Journal of Contemporary Medical Research*, 6(5), E1–E4. <https://doi.org/10.21276/ijcmr.2019.6.5.25>
183. Lohiya, R., Chandak, S., & Deotale, V. (2023). In vitro detection of virulence factors of *Candida albicans* & non-*albicans* *Candida* species isolated from the samples in ICU patients. *International Journal of Current Research and Review*, 15(20), 80–85. <https://doi.org/10.31782/ijcrr.2023.15201>
184. Keçeli, S., Kurt, M., Özgür, D., & Otağ, Z. (2020). Klinik örneklerden izole edilmiş *Candida parapsilosis* suşlarının biyofilm oluşturma, hemolitik ve koagülaz aktiviteleriyle antifungal duyarlılıklarının karşılaştırılması. *Kastamonu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(3), 186–193. <https://doi.org/10.30934/kusbed.777921>
185. Ashour, S. M., Kheiralla, Z. M., Maklad, S., Ameen, M., & Zaki, S. (2015). Relationship between virulence factors of *Candida* species with candiduria and myeloperoxidase concentrations. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(1), 108–123.
186. Tabassum, S. (2015). The biofilm production by various *Candida* species isolated from different clinical samples. *South American Journal of Clinical Research*, 2(1).

187. Prabhakaran, V., Sengodan, T., & Rajeswari, P. (2016). The evaluation of the virulence factors of clinical *Candida* isolates and the anti-biofilm activity of *Elettaria cardamomum* against multi-drug resistant *Candida albicans*. *Current Medical Mycology*, 2(2), 3–9. <https://doi.org/10.18869/acadpub.cmm.2.2.3>
188. Glazier, V. E. (2022). *EFG1*, everyone's favorite gene in *Candida albicans*: A comprehensive literature review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 855229. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.855229>
189. Nailis, H., Vandenbroucke, R., Tilleman, K., Deforce, D., Nelis, H., & Coenye, T. (2009). Monitoring *ALS1* and *ALS3* gene expression during *in vitro* *Candida albicans* biofilm formation under continuous flow conditions. *Mycopathologia*, 167(1), 9–17. <https://doi.org/10.1007/s11046-008-9148-6>
190. Nobile, C. J., Schneider, H. A., Nett, J. E., Sheppard, D. C., Filler, S. G., Andes, D. R., & Mitchell, A. P. (2008). Complementary adhesin function in *C. albicans* biofilm formation. *Current Biology*, 18(14), 1017–1024. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.06.034>
191. Nobile, C. J., Andes, D. R., Nett, J. E., Smith, F. J., Yue, F., Phan, Q. T., Edwards, J. E., Filler, S. G., & Mitchell, A. P. (2006). Critical role of *Bcr1*-dependent adhesins in *C. albicans* biofilm formation in vitro and in vivo. *PLoS Pathogens*, 2(7), e63. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0020063>
192. Deorukhkar, S., & Saini, S. (2013). Evaluation of phospholipase activity in biofilm forming *Candida* species isolated from intensive care unit patients. *British Microbiology Research Journal*, 3(3), 440–447. <http://www.sciencedomain.org/abstract/434>
193. İnci, M., Atalay, M. A., Özer, B., Evirgen, Ö., Duran, N., Motor, V. K., Koç, A. N., Önlü, Y., Kılınç, Ç., & Durmaz, S. (2013). Investigations of *ALS1* and *HWPI* genes in clinical isolates of *Candida albicans*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 43(1), Article 22. <https://doi.org/10.3906/sag-1205-90>
194. Jihad, M. F., & Salih, M. B. (2025). Molecular identification, virulence gene profiling, and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from women with urinary tract infections. *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis*, 1(85), 29–38. [https://doi.org/10.31450/ukrjnd.1\(85\).2025.05](https://doi.org/10.31450/ukrjnd.1(85).2025.05)
195. Shrief, R., Zaki, M. E. S., El-Sehsah, E. M., Ghaleb, S., & Mofreh, M. (2019). Study of antifungal susceptibility, virulence genes and biofilm formation in *Candida albicans*. *The Open Microbiology Journal*, 13(1), 241–248. <https://doi.org/10.2174/1874285801913010241>
196. Çolak Hallum, S. (2019). *Genito-üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen Candida türlerinde bazı virülans faktörleri ile antifungal ilaç direncinin araştırılması* [Tıpta uzmanlık tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı]. YÖK Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=578808>
197. Yeater, K., Chandra, J., Cheng, G., Mukherjee, P., Zhao, X., Rodriguez-Zas, S., Kwast, K., Ghannoum, M., & Hoyer, L. (2007). Temporal analysis of *Candida albicans* gene expression during biofilm development. *Microbiology*, 153(9), 2373–2385. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/006163-0>
198. Padovan, A. C. B., Chaves, G. M., Colombo, A. L., & Briones, M. R. S. (2009). A novel allele of *HWPI*, isolated from a clinical strain of *Candida albicans* with defective hyphal growth and biofilm formation, has deletions of Gln/Pro and Ser/Thr repeats involved in cellular adhesion. *Medical Mycology*, 47(8), 824–831. <https://doi.org/10.3109/13693780802645234>
199. Liu, C., Xu, C., Du, Y., Liu, J., & Ning, Y. (2021). Role of agglutinin-like sequence protein 3 (Als3) in the structure and antifungal resistance of *Candida albicans* biofilms. *FEMS Microbiology Letters*, 368(1), fnab004. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab004>

200. Chen, H.-F., & Lan, C. (2015). Role of *SFPI* in the regulation of *Candida albicans* biofilm formation. *PLoS ONE*, 10(3), e0122929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122929>
201. Orsi, C. F., Borghi, E., Colombari, B., Neglia, R. G., Quaglino, D., Ardizzoni, A., Morace, G., & Blasi, E. (2014). Impact of *Candida albicans* hyphal wall protein 1 (*HWPI*) genotype on biofilm production and fungal susceptibility to microglial cells. *Microbial Pathogenesis*, 69–70, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2014.03.003>
202. Vitiello, A., Ferrara, F., Boccellino, M., Ponzo, A., Cimmino, C., Comberiati, E., Zovi, A., Clemente, S., & Sabbatucci, M. (2023). Antifungal drug resistance: An emergent health threat. *Biomedicine*, 11(4), 1063. <https://doi.org/10.3390/biomedicine11041063>
203. Jain, S., Ahmad, N., & Tomar, S. (2020). Epidemiology, characterization and antifungal susceptibility profile of *Candida* species isolated from suspected cases of urinary tract infections at tertiary care centre of North Delhi. *International Journal of Health Sciences and Research*, 10(6), 286–290.
204. Ghosh, R., Haldar, P., & Chatterjee, M. (2019). Characterization and antifungal susceptibility profile of *Candida* species isolated from candiduria cases in a tertiary care hospital, Kolkata. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6), 1129–1137. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.806.133>
205. Suganya, R., Kavitha, G., & Sengodan, R. (2023). Antifungal susceptibility pattern of *Candida* species isolated from urine samples in a tertiary care hospital in Salem. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 12(2), 201–206. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2023.1202.024>
206. Nademi, A., Shahrokh, H., Kordbacheh, P., Zaini, F., Rezaie, S., Mahmoudi, M., Safara, M., Moosa, H., & Fateh, R. (2015). Identification and antifungal susceptibility pattern of *Candida* species isolated from patients with nosocomial candiduria. *Journal of Mycology Research*, 2(2), 77–84.
207. Ozhak-Baysan, B., Ogunc, D., Çolak, D., Ongut, G., Donmez, L., Vural, T., & Gunseren, F. (2012). Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species causing nosocomial candiduria. *Medical Mycology*, 50(5), 529–532. <https://doi.org/10.3109/13693786.2011.618996>
208. Lima, G., Nunes, M. O., Chang, M., Tsujisaki, R. A. S., Nunes, J., Taira, C., Thomaz, D. Y., Negro, G. B., Mendes, R. P., & Paniago, A. (2017). Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from the urine of patients in a university hospital in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 59, e75. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946201759075>
209. Ekpo, I. A., Kechia, F., Iwewe, Y. S., Ngueguim, A., Nangwat, C., & Dzoyem, J. (2017). Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. isolated from urine of hospitalized patients in Dschang District Hospital, Cameroon. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(3), 1298–1306. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i3.23>
210. Toner, L., Papa, N., Aliyu, S., Dev, H., Lawrentschuk, N., & Al-Hayek, S. (2016). *Candida* growth in urine cultures: A contemporary analysis of species and antifungal susceptibility profiles. *QJM: An International Journal of Medicine*, 109(2), 109–113. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcv202>
211. Ghasemi, R., Rabiei, M., Lotfali, E., Abolghasemi, S., & Ansari, S. (2020). Candiduria: Prevalence, identification of isolated *Candida* species and trends in antifungal susceptibility in hospitalized patients. *New Biomedical Materials*, 1(1), 35–41. <https://doi.org/10.22037/nbm.v1i1.26963>

212. Yashavanth, R., Shiju, M. P., Bhaskar, U. A., R. R., & Anita, K. B. (2013). Candiduria: Prevalence and trends in antifungal susceptibility in a tertiary care hospital of Mangalore. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(11), 2459–2461. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2013/6298.3578>
213. Kaan, Ö., Koç, A. N., Atalay, M. A., & Mutlu Sarigüzel, F. (2021). Molecular epidemiology, antifungal susceptibility and virulence factors of *Candida glabrata* complex strains in Kayseri/Turkey. *Microbial Pathogenesis*, 154, 104870. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104870>
214. Ahmadi, F., Daie Ghazvini, R., Hashemi, S. J., Ramezanalipour, Z., Chabavizadeh, J., Rafat, Z., & Roostaei, D. (2022). Epidemiologic and antifungal susceptibility profile of candiduria among patients hospitalized in the nephrology and intensive care unit wards, Tehran, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 15(5), Article e126418. <https://doi.org/10.5812/jjm-126418>
215. Prakash, V., Verma, D., & Agarwal, S. (2018). Candiduria: Its characterization, antifungal susceptibility pattern and biofilm formation. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 6(11), 4070–4076. <http://dx.doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20184909>