

HIV Pozitif Bireylerden İzole Edilen Candida Albicans Suşlarının in Vitro Hemolitik Aktivitesi

In Vitro Haemolytic Activities of Candida Albicans Strains Isolated From HIV Positive Subjects

¹Emel Uzunoğlu, ²İştar Dolapçı, ³Esara Koyuncu, ²Alper Tekeli

¹İlhan Özdemir Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Giresun
²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
³Isparta Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Özet

Bu çalışmada, Human Immunodeficiency Virus pozitif ve sağlıklı bireylerin oral kavitelelerinden izole edilen Candida albicans suşlarının in vitro hemolitik aktiveleri araştırılmıştır. Çalışmamızda 52 Human Immunodeficiency Virus pozitif birey ve 22 sağlıklı gönüllünün ağız çalkantı suyundan; 2003 yılında izole edilen ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda saklanan C. albicans suşları kullanılmıştır. Hemolitik aktivite kanlı agar plak metodu kullanılarak gösterilmiştir. Plaklar 370C'da % 5 CO₂'li ortamda 24 ve 48 saat inkübe edilmiş; hemolitik indeks (Hz), koloni çapının beta hemoliz zon çapına oranı olarak değerlendirilmiştir. Beta ve alfa hemoliz zonlarının değerlendirilmesinde kontrol suşu olarak sırasıyla Staphylococcus aureus ATCC 12228 ve Streptococcus pneumoniae ATCC 6305 suşları, negatif kontrol olarak Candida parapsilosis ATCC 22019 kullanılmıştır. İstatistiksel analiz Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. HZ değerleri Human Immunodeficiency Virus pozitif grupta 0 ile 2.57, kontrol grubunda ise 0 ile 1.75 arasında saptanmıştır. Bulgular değerlendirildiğinde her iki gruptan izole edilen C.albicans izolatlarının hemolitik indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (p>0.05). Bu durum suşlarımızın kolonizan izolatlar olmalarıyla açıklanabilir. İn vivo ortamda virülans faktörlerinin birbirleri ile etkileşim içerisinde oldukları düşünüldüğünde, diğer virülans özelliklerini de beraberinde araştıran ve virülans genlerinin ekspresyonlarına bakan çalışmalar ön plana çıkacaktır.

Anahtar kelimeler: Candida albicans, HIV, kandidiyazis, virülans faktörler

Abstract

In this study, in vitro haemolytic activities of oral Candida albicans isolates from Human Immunodeficiency Virus infected subjects and healthy controls were studied. In our study 52 C.albicans strains isolated from Human Immunodeficiency Virus positive subjects' and 22 C.albicans strains isolated from healthy controls' oral rinse samples in 2003 which were stored in Ankara University School of Medicine, Medical Microbiology Department Mycology Laboratory, were investigated. Haemolytic activity was determined by using the blood agar plate assay method. Plates were incubated at 37oC in 5% CO₂ for 24 and 48 h. Haemolytic index (Hz) were calculated as the ratio of the colony diameter to the beta hemolysis zone diameter. Staphylococcus aureus ATCC 12228 and Streptococcus pneumoniae ATCC 6305 were used to evaluate the alpha and beta haemolysis zones, Candida parapsilosis ATCC 22019 was used as negative control. Statistical analysis was performed with Mann-Whitney U test. The Hz values ranged from 0 ile 2.57 for the Human Immunodeficiency Virus positive group and from 0 ile 1.75 for the controls. There were no statistical difference found between the groups (p>0.05). Because our isolates are colonizing these results can be expected. When the interactions between the virulence factors in vivo environment is taken into consideration, studies investigating the other virulence factors influencing the pathogenesis of the fungus and the expression of the virulence genes are needed.

Key words: Candida albicans, HIV, candidiasis, virulence factors

GİRİŞ

Hücrel bağışıklığın baskılanmasının belirgin olduğu Human Immunodeficiency Virus (HIV) ile enfekte bireylerde, hastalığın seyri boyunca herhangi bir zamanda, özellikle fungal enfeksiyonlar başta olmak üzere bir ya da birkaç fırsatçı enfeksiyon görülebilmektedir. Oral kandidiyazis HIV pozitif bireylerde ve Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) hastalarında en sık ve en erken görülen fırsatçı enfeksiyonlardan biri olarak tanımlanmaktadır. HIV ile enfekte ve tedavi almayan hastaların yaklaşık % 90'ında orofaringeal kandidiyazis geliştiği bildirilmektedir. Bu durum özefagusu kadar ilerleyip özofajial kandidiyazise neden olabilmekte; mukozal kolonizasyon ve takiben gelişen invaziv enfeksiyonlar arasında önemli oranda bağ kuran

çalışmalar bulunmaktadır (1-4). Candida albicans orofaringeal kandidiyazisin en önemli nedenidir. Sağlıklı bireylerin üçte birinin, HIV ile enfekte bireylerin ise üçte ikisinin ağızlarından izole edilebilmekte ve HIV ile enfekte kişilerde fırsatçı patojen olarak, yüksek morbiditeye neden olabilmektedir (5). AIDS hastaları başta olmak üzere, immün sistemi baskılanmış hastalarda artan kandidiyazis sıklığı ve artan C.albicans prevalansına rağmen virülans faktörlerinin patogeneze etkisi ile ilgili halen yeterli bilgi mevcut değildir ve özellikle HIV pozitif bireylerde AIDS gelişim sürecine olan katkılarının araştırılması gereklidir (6). Çalışmalar, Candida'ların neden olduğu, yüzeyel enfeksiyonlardan yaygın kandidiyazise kadar değişen tüm klinik tablolarda tek bir virülans faktörünün etkili olmadığını göstermektedir (7). Konak hücrelerine

adezyon, germ tüp oluşturma, proteinaz, lipaz, fosfolipaz gibi enzimlerin salgılanması majör virülans faktörleridir. Hemolitik aktivite de Candida'ya ait önemli bir virülans faktörü olarak patogenezde rol almaktadır (8). Bu çalışmada, sağlıklı ve HIV ile enfekte bireylerin ağız çalkantı sularından izole edilen *C. albicans* suşlarının hemolitik aktivitelerinin in vitro olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Candida albicans suşları. Çalışmada kullanılan suşlar; 2003-08-09-159 no'lu "HIV pozitif hastaların orofarengeal örneklerinde *Candida* taşıyıcılığının ortaya konulması ve *Candida dubliniensis* varlığının araştırılması" isimli Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi kapsamında izole edilmiştir. *C. albicans* suşları 52 HIV pozitif birey ve 22 sağlıklı gönüllünün ağız çalkantı suyundan elde edilmiş olup, çalışma öncesi hastalardan onam formu ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmıştır. Suşların identifikasyonu, API 20C identifikasyon sistemi (Biomerioux, Fransa) ile yapılmış ve tür spesifik primerler ile, *C. albicans* NIH A, NIH B ve Ca26555 izolatları referans suş olarak kullanılarak, gerçekleştirilen polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile doğrulanmıştır.

Hemolitik aktivite. Hemolitik aktivite, Lou ve ark. (8)'nin çalışması temel alınarak, kanlı agar plak yöntemi ile ortaya konulmuştur. Çalışmamızda kullanılan plak besiyeri, 100 ml Sabouraud Dektroz Agar'a (SDA, Difco) %7 koyun kanı ve %3 glikoz ilavesiyle hazırlanmıştır. *C. albicans* maya hücrelerinin konsantrasyonu hemositometri yardımı ile belirlenmiştir. Maya hücreleri, 48 saatlik inkübasyon sonunda elde edilen taze maya kültüründen, tamponlu fosfatlı tuzlu su (Phosphate Buffered Saline, PBS) içerisinde 1x10⁸ CFU/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu hücre süspansiyonundan 10 µl alınarak glikozla zenginleştirilmiş koyun kanlı agar yaklaşık 5 mm çap oluşturacak şekilde bir damla inoküle edilmiştir. Plaklar 37°C'de %5 CO₂'li etüve kaldırılmış, 24. ve 48. saatlerde değerlendirilmiştir. Beta ve alfa hemoliz zonlarını tanımlayabilmek amacıyla kontrol suşu olarak sırasıyla *Staphylococcus aureus* ATCC 12228 ve *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 suşları, negatif kontrol olarak *Candida parapsilosis* ATCC 22019 kullanılmıştır. Kontrol ve hasta gruplarının hemolitik aktivitelerinin karşılaştırılmasında parametrik olmayan Mann-Whitney U testi kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık seviyesi olarak p=0.05 alınmıştır. Hemolitik indeksin (Hz) hesaplanması. Hz, koloni çapının beta hemoliz zon çapına oranı olarak değerlendirilmiştir (9).

BULGULAR

Çalışmamızda, 24 saatlik inkübasyon sonucunda, bir HIV pozitif bireye ait suş hariç tüm suşlarda alfa hemoliz zonu oluşurken, 48 saat sonunda bazı suşlarda bu zon genişlemiş ve kolonilerin etrafında dışta alfa hemoliz zonu ile çevrelenmiş beta hemoliz zonu oluşmuştur. Alfa ve beta hemoliz zonlarını karşılaştırarak değerlendirebilmek amacıyla kullanılan kontrol suşlarından *S. aureus* ATCC 12228'nin etrafında şeffaf

beta hemoliz zonu; *S. pneumoniae* ATCC 6305'nin etrafında yeşilimsi alfa hemoliz zonu izlenirken, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 suşu etrafında hemoliz oluşumuna rastlanmamıştır. Toplam 22 adet kontrol suşunun hepsi 24 saatin sonunda alfa hemoliz oluştururken, 48 saat sonunda 13'ünün alfa hemoliz zonu genişlemiş, iç kısımlarında beta hemoliz zonu belirmiş, 9'unda hemoliz zonu yeşilimsi olarak kalmıştır. HIV pozitif gruptan izole edilen 52 izolatın ise 24 saatin sonunda biri hariç hepsi alfa hemoliz oluştururken, 48 saat sonunda 26'sının alfa hemoliz zonlarının içinde beta hemoliz zonu izlenmiştir (Tablo 1). Hz değerleri HIV pozitif grupta 0 – 2.57 arasında, kontrol grubunda ise 0 – 1.75 arasında saptanmıştır.

İstatistiksel Değerlendirme

Bulgular değerlendirildiğinde HIV pozitif bireylerden ve kontrol grubundan izole edilen *C. albicans* izolatlarının hemolitik indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (p>0.05).

TARTIŞMA

Candida spp. diğer mikroorganizmalarla birlikte sıklıkla insan oral mukozasında normal flora elemanı olarak bulunur. Bununla birlikte HIV ile enfekte bireylerde bu mantar fırsatçı patojen haline dönüşerek mukozal enfeksiyonlara yol açabilir. Zararsız kommensal olarak yaşayan bir mikroorganizmanın konak immün sistemi baskılandığı zaman virülen bir patojene dönüşmesi, geniş virülans faktör repertuarından bazılarını seçerek eksprese etmesine bağlanabilir (10). Hemoliziner, mikroorganizmaların elementer demir ihtiyaçlarını karşılamak üzere, konağa ait demir bağlı proteinlerini kullanarak yaşamalarını sağlayan virülans faktörleridir. Heme bağlı demir üzerinde hidrolitik aktivite gösterirler. *Candida* türlerinin değişik hidrolitik enzimler salgıladığı bilinmektedir ancak farklı hemolitik aktivite mekanizmaları ve bu mekanizmaları tetikleyen faktörler henüz açıklığa kavuşmamıştır (11). Lou ve ark. (8) *C. albicans*'i da içeren bir grup *Candida* izolatında alfa hemolizi 24. saatte gözlerken aynı suşların 48. saatte beta hemoliz oluşturmalarına karşın, başka bazı *Candida* türlerinin 48. saatte bile sadece alfa hemoliz oluşturmaları gözlemlerinden yola çıkarak; alfa ve beta hemolitik aktivitenin bir biri ardına üretilen iki farklı hemolitik faktör olduğu sonucuna varmışlardır. Buradan, eritrositlerin iki basamakta yıkıldığı ve genç maya kolonilerinin alfa hemolitik faktörün etkisiyle eritrositleri kısmi olarak parçaladığı, bu yolağın son ürünlerinin de beta hemolizinin sentezlenmesini indükleyip hemoglobinin tam hemolizine neden olduğu hipotezini geliştirmişlerdir. Alfa hemolizin ardından beta hemoliz yapamayan suşların bu metabolik yolağın tamamına sahip olmadıkları düşünülmektedir (8). Bizim çalışmamızda da kullanılan suşlardan HIV pozitif bireylerin ağızlarından izole edilen gruba ait 1 suş (%1.9) hariç hepsinde 24 saat sonunda alfa hemoliz zonu gözlemlenirken, toplamda yalnızca 39 (%52,7) tanesinde beta hemoliz zonuna rastlanmıştır. Suşlarımızın geri kalanında (%45,9) sadece alfa hemoliz gözlenmesi Lou ve ark. (8)'nin hipotezine benzer yönde, *Candida*

Tablo 1. *C. albicans* suşlarının 48 saat sonundaki hemolitik aktiviteleri

C.albicans Gruplar (n)	Beta+Alfa hemoliz yapanlar (%)	Sadece Alfa hemoliz yapanlar (%)	Hiç hemoliz yapmayan (%)
HIV pozitif gruptan izole edilenler (52)	26 (50)	25 (48,1)	1 (1,9)
Kontrol grubu izolatları (n:22)	13 (59,1)	9 (40,9)	-
TOPLAM (n: 74)	39 (52,7)	34 (45,9)	1 (1,3)

suşlarının iki farklı hemolizine sahip olduğu görüşünü desteklemektedir.

Manns ve ark. (12) 'nın glikozla zenginleştirilmiş kanlı agar besiyerinde *C. albicans*'ın indüklediği komplemana bağlı hemolizi gösteren çalışmalarında, kültür besiyerinde glikoz ortamda bulunmadığında, *C. albicans* suşları hemolitik aktivite gösterememiştir. Diğer yandan Luo ve ark. (8) 80 *Candida* suşu ile yaptıkları çalışmada, suşların glikoz içermeyen koyun kanlı agar da sadece alfa hemoliz zonu oluşturabildiklerini, aynı suşların beta hemoliz zonu oluşturamadıklarını saptamışlardır. Buradan yola çıkarak özellikle diabetes mellitus (DM)'lu hastalarda artmış kan glikoz düzeylerinin *C. albicans* izolatlarının hemolitik aktivitelerini artırarak patogeneze rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır (8). Benzer bir çalışmada Tsang ve ark. (13) tarafından yapılmış ve artmış kan ve tükürük glikoz konsantrasyonunun, *C. albicans* izolatlarının hemolitik aktivitesini indükleyebileceği düşünülerek, 210 tip 2 DM'lu hasta ve 210 sağlıklı bireyin ağız çalkantı sularından izole edilen *C. albicans* suşlarının hemolitik aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada DM'lu hastalardan izole edilen suşların hemolitik aktivitelerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı oranda yüksek bulunduğu bildirilmiştir (13).

Sacristan ve ark. (13)'nin çalışmalarında 17 yoğun bakım hastasının bronşial aspiratlarından izole edilen *C. albicans* suşlarının hemolitik aktiviteleri araştırılmış ve suşların hepsinin hemolitik aktivite gösterdiği, %88.9'unda da orta ve yüksek düzey hemolitik indeks saptandığı belirtilmiştir. Araştırmacılar yoğun bakım hastalarını mukozal kandidiyazis risklerinin yüksek olması ve mukozal kandidiyazisli hastalarda da invaziv enfeksiyonlar görülme olasılığının yüksek bulunması nedeniyle seçtiklerini ifade etmişlerdir (3). Yüksek mukozal kandidiyazis riski taşıyan bir diğer grup da HIV pozitif bireylerdir. Bu nedenle çalışmamızda, oral kandidiyazis belirtileri bulunmayan, antibiyotik veya antifungal tedavi almamış HIV pozitif bireylerin ağız çalkantı sularından kolonizan olarak izole edilen *C. albicans* suşlarının hemolitik aktiviteleri araştırılmıştır. Steroid kullanan, dental problemleri olan, diabetik veya diğer metabolik bozuklukları bulunan hastalara ait izolatlar çalışmaya alınmıştır. Mukozal enfeksiyonlarla invaziv enfeksiyonlar arasındaki bağlantı ve mukozal *Candida* izolatlarının da invazivler kadar patojen olduğunu gösteren çalışmalar (4,14), normalde kolonizasyon yapan *C. albicans* suşlarının in vivo olarak hemolizinler gibi çeşitli virülans faktörlerini farklı oranlarda eksprese ederek fırsatçı patojen olarak davranabileceğini düşündürmektedir. Bu noktadan hareketle farklı hasta gruplarında (DM'lu hastalar, yoğun bakım hastaları gibi) oral *Candida* izolatlarının çeşitli virülans faktörleri üzerine yoğunlaşan çalışmalar mevcuttur (4,14).

Çalışmamızda 52 HIV pozitif hasta ve 22 sağlıklı gönüllünün ağız çalkantı suyundan izole edilen *C. albicans* suşlarının hemolitik aktiviteleri karşılaştırılmıştır. 48 saat sonunda oluşan beta hemoliz zonu, koloni çapına oranı (Hz değerleri) HIV pozitif gurupta 0 – 2.57, kontrol grubunda ise 0 – 1.75 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, HIV pozitif hasta grubunda hemolitik aktivite değerleri, kontrol grubuna göre farklı bulunmamıştır ($p>0.05$). İn vivo ortamda virülans faktörlerinin birbirleri ile etkileşim içerisinde oldukları düşünüldüğünde, diğer virülans özelliklerini de beraberinde taşıyan ve virülans genlerinin ekspresyonlarına bakan çalışmalar ön plana çıkacaktır. Jungeria ve ark. (14), HIV pozitif bireylerin ağızlarından izole ettikleri *C. albicans* izolatlarının biyofilm oluşturma kapasitelerini, sistemik *C. albicans* suşlarınıninkilerle karşılaştırdıkları çalışmalarında, oral izolatların invaziv izolatlar kadar patojen olduklarını ortaya koymuşlardır. Bu çalışma sonuçlarına göre oral *Candida* enfeksiyonlarının sistemik enfeksiyonlar haline dönüşmeleri durumunda, invaziv izolatlarla oluşanlar kadar ölümcül seyretilmeleri olasıdır ve bu nedenle dikkatle izlenmeleri ve ciddiye alınmaları gereklidir. Kommensal

mikroorganizmaların virülans hale dönüşmesinde konağın savunma sisteminde var olan hasarların önemli birer faktör olduğu düşünülmektedir. Mane ve ark. (10), oral kandidiyazisi bulunan 65 HIV enfekte bireyden izole ettikleri *C. albicans* suşlarının bukkal epitelyal hücrelere adherensini, enzimatik ve hemolitik aktivitelerini incelemişler ve izole ettikleri tüm suşlarda hemolitik aktiviteye rastlamışlardır. Yenişehirli ve ark. (15) farklı klinik örneklerden izole ettikleri 147 *C. albicans* izolatının tamamında beta-hemolitik aktivite gösterdiklerini ifade ederek, *C. albicans*'ın önemli virülans faktörleri olarak kabul edilen proteinaz ve fosfolipaz enzimlerinin yanı sıra, beta hemoliz yapabilme yeteneğinin de patogeneze rol oynayabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda, Yenişehirli ve ark. (15)'nin çalışmasının aksine, kullanılan suşların tamamı beta hemoliz zonu oluşturamamıştır. HIV pozitif bireylerin ağız çalkantı sularından izole edilen suşların % 48.1'i, sağlıklı kontrollerden izole edilenlerin ise % 40.9'u sadece alfa hemoliz zonu oluşturmuştur. Bu durum yukarıda açıklandığı gibi *Candida*'ların alfa ve beta hemoliz oluşturan faktörlerinin farklı olmasına bağlanabileceği gibi suşların virülans farklılıklarıyla da açıklanabilir. Yenişehirli ve ark. 15'nin çalışmasında kullanılan izolatlar kan, solunum yolu, idrar, yara yeri ve gaitadan etken olarak izole edilen suşlar iken, bizim çalışmamızda kolonizan suşlar kullanılmıştır.

Bunun yanı sıra mikroorganizmaların alfa hemoliz mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Stafilokoklar ve streptokoklara bağlı bakteriyel enfeksiyonlarda hemolizinler patogeneze katkıda bulunan anahtar faktörlerden biri olarak bilinmektedir. *Streptococcus gordonii*'nin alfa hemolitik faktörünün hidrojen peroksit olduğu ortaya konulmuştur, *C. albicans* da hidrojen peroksit üretebilmektedir, ancak alfa hemolizinden hidrojen peroksitin sorumlu olup olmadığı açık değildir. Yapılan bazı çalışmalarda *C. albicans*'ın beta hemoliz oluşturmamasının, hücre duvarında bulunan mannopteinden kaynaklanabileceği, bununla birlikte farklı *Candida* türlerinin hemolitik aktivitelerinin de aynı hücre duvar yapısını taşımalarına rağmen farklılıklar gösterdiği ifade edilmiştir (8,16). *Candida*'ların hemolitik aktivitelerinin genetik ekspresyonu ile ilgili az sayıda çalışma vardır. Luo ve ark. (17) yaptıkları çalışmada hemolizin benzeri bir genin (HLP) *C. glabrata*'nın hemolitik aktivitesi ile ilişkili olduğunu göstermiş ancak bu geni *C. albicans*'da gösterememişlerdir. Bu durumu ya HLP geninin *C. albicans*'larda bulunmaması ya da gen dizisindeki varyasyonlara bağlı olarak yorumlamışlardır (17).

Çalışmamızda HIV pozitif bireylerin ağızlarında kolonize olan *C. albicans* suşları ile sağlıklı kontrollerden izole edilenler arasında hemolitik aktivite açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durum suşların kolonizan olmaları, HIV pozitif bireylerin seçilmelerinde; steroid kullanan, dental problemleri olan, diabetik veya diğer metabolik bozuklukları bulunanların ekarte edilerek, olası etken patojen izolatların çalışma dışı bırakılması etkili olmuş olabilir. *Candida*'ların hemolitik aktivitelerini etkileyen faktörlerin daha ileri çalışmalarla incelenmesinin hastalık prognozu açısından yol gösterici olacağını ve *Candida* enfeksiyonlarının kontrol ve önlenmelerinde tüm virülans faktörlerinin önemli olduğunu düşünmekteyiz. Sonuç olarak *Candida*'ların hemolizinleri ile ilgili, farklı klinik izolatlar ile, mantarın izolasyonunun yapıldığı bölgedeki konak faktörlerinin de göz önünde alınacağı ve gen ekspresyonu gibi mekanizmaları da açıklamaya yönelik daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Çalışmada kullanılan suşlar 2003-08-09-159 no'lu "HIV pozitif hastaların orofarengeal örneklerinde *Candida* taşıyıcılığının ortaya konulması ve *Candida dubliniensis* varlığının araştırılması" isimli Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi kapsamında izole edilmiş olup, projede yer alan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Dahiliye Ünitesi Öğretim Üyesi Sayın Dr. Gülay Sain Güven ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi Öğretim Üyesi Sayın Dr. Ömrüm Uzun'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Klein RS, Harris CA, Small CB, Moll B, Lesser M, Friedland GH. Oral candidiasis in high-risk patients as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1984; 311(6): 354-8.
2. Moore RD, Chaisson RE. Natural history of opportunistic disease in an HIV-infected urban clinical cohort. *Ann Intern Med* 1996; 124(7): 633-42.
3. Sacristan B, Blanco MT, Galan-Ladero MA, Blanco J, Perez-Giraldo C, Gomez-Garcia AC. Aspartyl proteinase, phospholipase, hemolytic activities and biofilm production of *Candida albicans* isolates from bronchial aspirates of ICU patients. *Medical Mycology* 2011; 49(1): 94-7.
4. Greenspan D, Komaroff E, Redford M et al. Oral mucosal lesions and HIV viral load in the Women's Interagency HIV Study (WIHS). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000; 25(1): 44-50.
5. Fichtenbaum CJ, Koletar S, Yiannoutsos C, et al. Refractory mucosal candidiasis in advanced human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2000; 30(5): 749-56.
6. Jin Y, Yip HK, Samaranyake YH, Yau JY, Samaranyake LP. Biofilm-Forming Ability of *Candida albicans* Is Unlikely To Contribute to High Levels of Oral Yeast Carriage in Cases of Human Immunodeficiency Virus Infection. *J Clin Microbiol* 2003; 41(7): 2961-7.
7. Ozekinci T, Akpolat N, Mete M, Atmaca A. *Candida* türlerinin in vitro hemolitik aktivitesi. *İnfeksiyon Derg* 2007; 21(4): 201-3.
8. Luo G, Samaranyake LP, Yau JY. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *J Clin Microbiol* 2001; 39(8): 2971-4.
9. Yiđit N, Aktaş A.E. *Candida* türlerinde hemolitik aktivite araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 2008; 22(2): 91-6.
10. Mane A, Pawale C, Gaikwad S, Bembalkar S, Risbud A. Adherence to buccal epithelial cells, enzymatic and hemolytic activities of *Candida* isolates from HIV-infected individuals. *Med Mycol* 2011; 49(5): 548-51.
11. Linares CEB, Loreto ES, Silveira CP. Enzymatic and hemolytic activities of *Candida dubliniensis* strains. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2007; 49(4): 203-6.
12. Manns JM, Mosser DM, Buckley HR. Production of a hemolytic factor by *Candida albicans*. *Infect Immun* 1994; 62(11): 5154-6.
13. Tsang C. S. P, Chu F. C. S, Leung W.K, Jin L. J, Samaranyake L.P. Phospholipase, proteinase and haemolytic activities of *Candida albicans* isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. *J Med Microbiol* 2007; 56(10): 1393-8.
14. Jungeria JC, Fuchs BB, Muhamed M et al. Oral *Candida albicans* isolates from HIV-positive individuals have similar in vitro biofilm-forming ability and pathogenicity as invasive *Candida* isolates. *BMC Microbiology* 2011;11: 247-55.
15. Yenişehirli G, Bulut Y, Tunçođlu E. Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* suşlarının fosfolipaz, proteinaz ve hemolitik aktiviteleri. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(1): 71-7.
16. Watanabe T, Takano M, Murakami M. Characterization of a hemolytic factor from *Candida albicans*. *Microbiology* 1999; 145(3): 689-94.
17. Luo G, Samaranyake LP, Cheung PK, Tang G. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) detection of HLP gene expression in *Candida glabrata* and its possible role in in vitro haemolysin production *APMIS* 2004; 112(4-5): 283-90.