

CANDIDA ALBICANS'IN TAKSONOMİSİNDEKİ ÖNEMLİ BAZI DEĞİŞİKLİKLER*

Ayhan YÜCEL, A. Serda KANTARCIOĞLU

Background.- The genus *Candida* is classified in the family *Cryptococcaceae* and included about 200 species in recent taxonomic treatise. *C. albicans* is the more frequent pathogenic species and is also part of normal human flora. Recently, germ tube and chlamyospore positive *Candida albicans* strains with abnormal characteristics have been isolated from primarily oral candidiasis in HIV infected (HIV+) individuals and AIDS patients. This isolates have very close phenotypic properties to those of *C. albicans* but a distinctive atypical genomic organisation. First identified as a new species of *Candida* in Ireland in 1995 and the name *Candida dubliniensis* has been proposed. *C. stellatoidea*, *C. clausenii* and *C. langeronii* has been reduced to synonymy of *C. albicans* on the basis of their significant DNA relatedness.

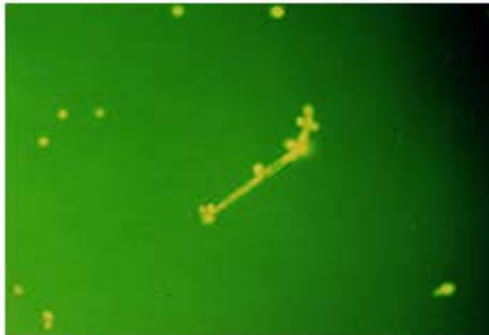
Yücel A. Kantarcıoğlu S. Some important changes in taxonomy of *Candida albicans*. *Cerrahpaşa J Med* 1999; 30 (3): 236-246.

Candida'lar *Deuteromycota*'da *Blastomycetes* sınıfının *Cryptococcales* takımında *Cryptococcaceae* ailesinde sınıflandırılan, blastosporlarla çoğalan, yalancı misel yapan, gerçek misel yapıları müstesna olan ve eşeyli şekilleri *Hemiascomycetes* sınıfında bulunan bir grup anamorf mayadır. Bugün için kabul edilmiş 200 kadar türü bulunmaktadır. *Candida*'lar küre şeklinde, söbems, silindirik olabilen, 2-8 x 3-15 µm boyutlarında ökaryonlu mikroorganizmalardır; maya hücreleri ve yalancı misel oluştururlar ve tomurcuklanarak çoğalırlar (Şekil 1, 2). Tomurcuklanarak meydana gelen yavru hücre ana hücrenin aynıdır, ana hücreden ayrılabilir veya ayrılmaz. Ayrılmayı başaramayan hücre tomurcukları, yalancı misel şeklinde zincirler, seyrek olarak bazen de gerçek misele benzeyen bir ağ oluştururlar.¹⁻³ Bu cins içerisinde en sık karşılaşılan patojen tür *C. albicans* (Robin) Berkhout (1923); Sabouraud'nun glikozlu buyyonunda küremsi, hafif söbems bazen uzamış mayalar (4-6 x 6-10 µm) şeklinde görülür. Sabouraud'nun glikozlu agarında 2-3 günlük kolonileri hamur kıvamında ve krem rengindedir. Mısırunlu jelozda *C. albicans*'ın 4 değişik şekil oluşturarak geliştiği görülür 1) Yalancı misel, 2) Blastosporlar (Blastokonidiler), 3) Klamidosporlar (Klamidokonidiler), 4) Çok seyrek olarak gerçek misel. Mısırunlu jeloz gibi besince fakir bir ortam, maya hücrelerinin, iyi yedek besin depolayan klamidosporlar oluşturmaya yol açar. Bunlar oluşurken hifin veya yalancı hifin bir yerinde, sitoplazma yoğunlaşır, burası hifin çapından daha geniş olacak tarzda şişer ve duvarı kalınlaşır. Hiflerin içinde (ara klamidospor), kenarında (yan klamidospor) veya uçlarında (uç klamidospor) gelişebilen, büyük (8-12µm), yuvarlak ve kalın duvarlı bu oluşumlar, açlığa ve diğer değişik şartlara karşı canlılığını koruyabilecek bir uyum sağlarlar (Şekil 3). Kalın duvarların polisakkarit (β 1:3 glukan)'den yapılabir dış tabakası, protein ve çok miktarda lipid taşıyan bir de iç tabakası vardır. Klamidosporlar *C. albicans*'ın en belirgin özelliğidir ve herhangi başka bir candida türü tarafından nadiren meydana

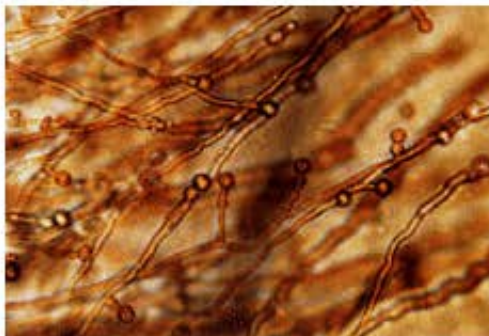
getirir. Bu bakımdan *C. albicans* ile diğer candida'ların ayırdedilmesinde faydalı olurlar. *C. tropicalis*'in de bazı kökenleri, özellikle de ilk ayrıldıkları sırada klamidiosporlar yaparlar. Ancak bunlar *C. albicans*'a ait klamidiosporlardan, bir destek (süspansör) hücrenin bulunmamasıyla farklılık gösterir ve daha sonra yapılan pasajlarda kaybolurlar. Buna karşılık klamidiospor oluşumu *C. albicans*'da sabit bir olgudur. Ayrıca *C. tropicalis*'e ait klamidiosporların biçimi gözyaşı damlasına benzer ve bunlar daha ufak çapta oluşurlar.² Klamidiospor üreten ve 1995'de ayrı bir candida türü olarak kabul edilen *C. dubliniensis*'in klamidiosporlarının diğerininkilerden farklı olması önemli bir fenotip özelliğidir. *C. albicans* genellikle gerçek veya psödohiperinin ucunda tek tek klamidiosporlar üretir (Şekil 4). Buna karşın *C. dubliniensis*'inkiler çok daha bol ve ekseri çifller halinde veya üçlü hatta bazen psödohiperinin ucundaki aynı bir taşıyıcı (süspansör) hücreye yapışmış kalın duvarlı birkaç klamidiospordan oluşan kümeler veya salkımlar oluşturularak olağandışı düzen gösterirler (Şekil 5).^{4,5}



Şekil 1. *C. albicans*, tomuruklanmamış hücreleri (Fluorescein isothiocyanate ile boyanmış) (Mikrofotografi: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)

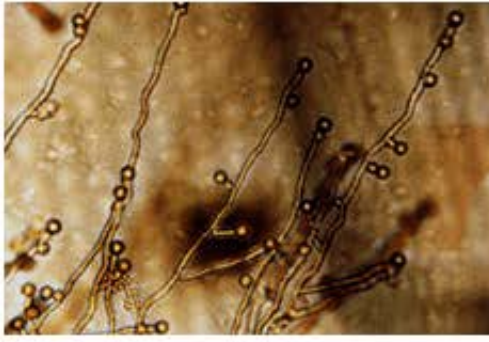


Şekil 2. *C. albicans*, psödohiper ve blastosporlar (Fluorescein isothiocyanate ile boyanmış) (Mikrofotografi: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)



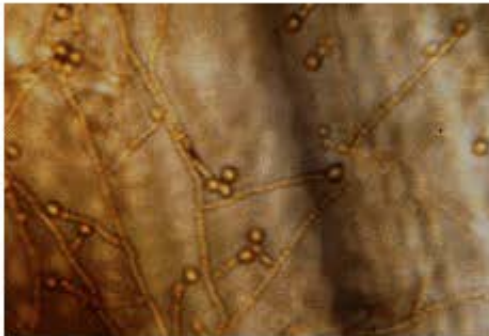
Şekil 3. *C. albicans*'da ara, uç ve yaşlı klamidiosporlar (Mikrofotografi: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)

Şekil 4. *C. albicans*'da klamidiosporların hiflerin ucunda tek tek dizilimi ve taşıyıcı (süspansör) hücreler (Mikrofotografi: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)



C. albicans'ın Tween 80'li mısır unlu jelozda klamidospore gelişmesini teşvik etmek amacıyla Yücel tarafından bir ekim yöntemi geliştirilmiştir. Yöntemin esası besiyerinin yüzey geriliminin de ayarlanmış olmasından yararlanılarak ekim iğnesi marifetiyle oluşturulan vakum sayesinde inokulumun, bir merkez noktası etrafına muntazam olarak dağılmasını sağlamaktır. İnce ekim iğnesi 30°'ye yakın bir açıyla besiyerini bir noktadan deldikten sonra Petri kutusunun tabanına bastırarak hafifçe eğilir ve bir çizgi doğrultusunda ileri gönderilip geri çekilir. Bu sırada oluşan vakum, inokulumdaki maya hücrelerinin çevreye muntazam olarak dağılmasını sağlar. Bu şekilde yapılan ekimlerde besiyerine muntazam dağılan kolonilerin periferlerinde iyi gelişmiş klamidosporeler üretilmektedir (Şekil 6, 7).

C. albicans'ı diğer candidalardan ayırtmak için serumda kısa zamanda boru oluşturmaya dayanan yöntem ilk defa 1954 yılında Johnson tarafından izlenmiş, olayın *C. albicans*'ın ayırdedilmesi için bir yöntem olarak kullanılması daha sonraki çalışmalarla ortaya çıkmış; izleyen yıllarda bu özellik yurt dışında ve içinde birçok araştırmaya konu olmuştur.⁶ *C. albicans*'ın maya hücreleri serumda asıtlı halde 37°C'de bıraktığı zaman 2 saatte füsulye filizini andıran kısa uzantılar (çimlenme borusu) oluştururlar (Şekil 8). Çimlenme boruları çok çabuk (2 saatte) oluştuğundan *C. albicans*'ın çabuk tanınmasında süratle işleyen bir deney olarak kullanılır. *C. albicans* kökenlerinde pozitif olan bu deneyin diğer sık rastlanan hiçbir candida türünde bu koşullarda görülmemesi son derecede önemlidir.

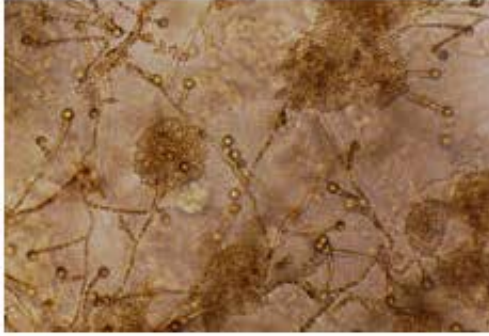


Şekil 5. *C. dubliniensis*'de hiflerin ucunda ikili ve dördüklü klamidosporeler (Mikrofotografi: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)

Şekil 6. Tween 80'li mısır unlu jelozda vakumlu yöntemle ekim (Mikrofotografi: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)



Şekil 7. Tween 80'li mısır unlu jelozda gelişen kolonilerin periferinde blastokonidyum kıvrımları ve klamidospore gelişimi (Mikrofotoğrafı: A. Yücel, S. Kantarcıoğlu)



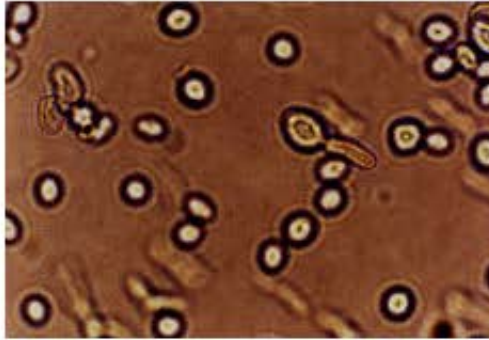
Şekil 8. *C. albicans*'da çimlenme borusu (İnsan serumunda 37°C'de iki buçuk saat) (Mikrofotoğrafı: A. Yücel, S. Kantarcıoğlu)



C. albicans'ı çabuk tanımak için serumda 37°C'de 2 saatte çimlenme borusu oluşumu ve mısır unlu tween 80'li veya başka uygun besiyerinde klamidospore oluşumu incelenir. Diğer yandan *C. tropicalis*, çimlenme borusuna benzeyen uzamış yalancı hifimsi hücreler de yapabilir. Çimlenme borusuna benzeyen bu borucuğun *C. tropicalis*'e ait maya hücresinden çıktığı yerde bir daralma görülür (Şekil 9). Bu daralma durumu *C. albicans*'ın çimlenme borusunda görülmemektedir.² Klinik olarak anlamlı *Candida* kökenlerinin tanımlama için en hızlı ve güvenilir kanıtlar çimlenme borusu deneyinin pozitif olması ve klamidosporelerin görülmesidir.^{2,3,7,8} Boya maddesi içeren besiyerlerine ekilerek doğrudan enzim aktivitesinin aranması gibi birkaç saatte sonuç verebilen ve güvenilirlikleri göreceli olan ticari candida tanımlama yöntemleri geliştirilmişse de *C. albicans* için hiçbir deney çimlenme borusu deneyi kadar özgün değildir. Bu deneyde negatif sonuç veren *C. albicans* kökenlerinin küçük bir yüzdesini oluşturan *C. clausenii* ve *C. langeronii* ise bu türün sinonimleri olarak düşünülmektedir.³

C. albicans'ın bazı yapı özellikleri; yalancı hif, blastospore, çimlenme borusu ve seyrek olarak klamidospore yapabilen *C. stellatoidea*'da bazen görülebilir. Antijen yapıları bakımından da benzerlik gösterdiğinden *C. stellatoidea* bazı araştırmacılar tarafından *C. albicans*'ın virulan olmayan bir çeşidi olarak kabul edilir. *C. albicans* kökenleri antijene A ve B tipleri

olarak farklıdır ve *C. albicans*'ın B tipi ile *C. stellatoidea* birbirinden ayrılmamaktadır. Morfoloji özellikleri gibi biyokimya özellikleri de benzerdir, fakat *C. stellatoidea* sukrozu asimile etmez.² Bir kısım moleküler genetik çalışmalarla *C. stellatoidea*'nin kökenleri tip I ve tip II olarak ayrılmış; tip II kökenlerinin bir mutasyon sonucunda α -glukozidaz düzenleyici bir gen sebebiyle sukrozu asimile etme kabiliyetinin bulunmadığı ve bu kökenlerin kolayca sukroz pozitif fenotiplere dönüşebildiği ortaya konmuştur. Daha sonra Kwon-Chung çalışmalarıyla, *C. stellatoidea* tip II kökenlerinin *C. albicans* serotip A okluğunu, tip I'lerin ise antijenleri yönünden serotip B'den ayırdedilemediğini; dolayısıyla *C. stellatoidea*'nin ayrı bir tür olarak değerlendirilemeyeceğini fakat *C. stellatoidea* tip I'in *C. albicans*'ın tek varyantı okluğunu bildirmiştir.³



Şekil 9. *C. tropicalis*, çimlenmiş borusuna benzeyen uzama; yalnızca hifimsi hücreler ve borusuğun mayas hiferesinden boğumlanarak çıktığı kısım (İnsan serumunda 37°C'de üç saatte sonra) (Mikrofotografi: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)



Şekil 10. Mısrunlu agarda 30°C'de 10 günlük koloni morfolojisi (*C. albicans* ATCC 26535) (Fotograf: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)



Şekil 11. Mısrunlu agarda 30°C'de 10 günlük koloni morfolojisi (*C. albicans*, ATCC 10231) (Fotograf: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)



Şekil 12. *C. albicans*, trypan mavili mısrunlu agarda gelişen yapı, mayas hiflerinin yitmesinden çok kutuplu (multipolar) tomuruklanma (Mikrofotografi: A. Yücel, S. Kantarcuoğlu)

Diğer yandan bazı araştırmacılar tarafından Malt özütü agar besiyerinde

30°C'de 10 gün tutularak geliştirilen kolonilerin *C. albicans* gruplarına özgü bir ipucu verip vermeyeceği üzerinde çalışılmıştır (Şekil 10, 11, 12).⁹ Yakın tarihli çalışmalarda, *C. albicans* kökenlerinin çoğunluğunun, ksiloz, adonitol, ksilitol, sorbitol, metil-D-glikozid, N-asetil-D-glukozamin, sukroz ve trehaloz asimilasyonun pozitif olması fakat gliserol, L-arabinoz ve meleziotu asimile etmemesiyle özellenen tek bir fizyolojik biyotipe, B1'e dahil olduğu anlaşılmıştır. Daha az sayıda olmakla beraber bu özellikleri kökene göre değişken olan biyotiplerin de bulunması karşısında olağandışı *C. albicans* kökenlerinin fenotipik ve genotipik karakterlerinin belirlenmesi çalışmaları yapılmıştır.^{10,11}

C. krusei, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* ve *C. kefyr* gibi bir kaç tür hariç, klinik olarak önem taşıyan candida cinsi mayaların henüz çoğunun eşeyli (teleomorf) şeklinin bilinmemesi bu organizmaların sınıflandırılmasını güçleştirmektedir. *Candida* ve *Torulopsis* cinsleri arasındaki ilişki de buna dahildir; bu iki cinsin tip kökenlerinin *Cryptococcus* ile karşılaştırıldığı moleküler çalışmalar sürdürülmektedir.^{12,13} Candida taksonomisindeki anormallikleri çözümlenmek amacıyla moleküler teknikler devreye sokulmuştur.^{13,14} Söz gelimi *C. albicans*'ın çimlenme borusu negatif mutanıtı olarak düşünölen *C. clausenii* ve klamidospore negatif mutanıtı olduğu düşünölen *C. langeronii*, *C. albicans* ile yakından ilgili iki tür olarak önerilmiş ve uzun süre tartışılmıştır. Bu durum karyotip profilleri ve DNA hibridizasyon patternlerinin karşılaştırıldığı çalışmalar sayesinde çözülmüştür. Benzer şekilde *C. parapsilosis* içerisinde de genetik heterojenlikten söz edilmektedir.¹³

Önceden *C. albicans* olarak işlem gören candidaların taksonomi durumununun araştırıldığı moleküler çalışmalarda *C. albicans*, *C. clausenii* (çimlenme borusu negatif) ve *C. langeronii* (klamidosporeleri özörlü) tip kökenlerin sinonim oldukları; diğer özellikleriyle ayırdedilemeyen *C. stellatoidea* tip II'nin *C. albicans*'ın sukroz negatif mutanıtı olduğu, ve tip I'in de ayrı bir tür statüsünde değerlendirilmeyip aynı türün gerçek bir subgrubu olduğu doğrulanmıştır. Bütün bu kökenler, diğer candida türleriyle söz gelimi *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. glabrata* ile karşılaştırıldığında genetik olarak yakından ilgili oldukları bildirilmiştir. Atipik şeker asimilasyonu saptanan klamidospore pozitif *C. albicans* kökenleri genetik çeşitlilik göstermektedirler. Ancak bu atipik kökenlerin *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. glabrata*'dan çok *C. albicans*'a yakın oldukları bulunmuştur.¹³

Diğer taraftan son on yılda klamidospore ve çimlenme borusu geliştirebilen atipik *Candida albicans* kökenleri HIV enfeksiyonlu (HIV+) hastaların ağız boşluğu lezyonlarından, daha az sayıda vagina mikozlarından ve diğer sistemik mantar enfeksiyonlarından ayrılmasıyla dikkati çekmiş, filogenetik olarak *C. albicans* ile yakından ilgili olduğu, genom organizasyonunun belirgin olarak farklı olduğu ve *Candida* cinsi içerisinde ayrı bir taksonomik grup oluşturduğu bulunmuştur. Çimlenme borusu ve klamidospore oluşturan bu candida grubunun ayrı bir tür olarak tanımlanması 1995'de İrlanda'da

olup tip köken *British National Collection of Pathogenic Fungi (NCPF)*'de saklanmıştır.^{15,16}

HIV enfeksiyonlu kişilerde ağız kandidiyazının klinik belirtileri ekseri mukozaya yüzeyleri ile ilgilidir ve enfeksiyon sıklıkla nüks eder.¹⁴ *Candida*'lar sağlıklı bireylerde ağız başta olmak üzere gastrointestinal sistemin florasında bulunurlar.^{2,15,17} Ağızda *Candida* kolonizasyonuna karşı konağın salgıları ile ilgili bağışıklık cevabı, salgı IgA molekülleri aracılığı ile kandidaların epitel hücrelerine tutunmasının baskılanması şeklindeydir. *Candida* enfeksiyonlu AIDS hastalarında hücre aracılığıyla bağışıklık özürtilüğü, humoral immün cevaptan daha fazla sorumlu görülmektedir. Dolayısıyla HIV-enfeksiyonlu kişide hastalık çoğunlukla endojen kaynaklıdır. Ancak son 7-8 yıl içerisinde HIV-enfeksiyonlu olan ve olmayan bireylerin ağızlarından ayrılan *C. albicans* kökenlerinin ayrıntılı incelenmesi AIDS'lilerde bu mantarın özel tiplerinin baskın olduğunu göstermiştir.¹⁵

Dublin'de HIV+ bireylerin ağızlarından elde edilen atipik candida izolatları incelenmiş, ayrı bir candida türü olarak düzenlenmeden önce *C. stellatoidea* tip I'in varyantı olabileceği öne sürülmüştür.¹⁸ Ancak, *C. stellatoidea* tip I sukrozu assimile etmediğinden bu ihtimal son derecede olasılık dışı görülmüştür. Sullivan ve ark. Ağustos 1988- Eylül 1994 arasında İrlanda'da 37'si AIDS'li olan 55 HIV-enfeksiyonlu kişinin ağız florasından ayrılmış olan atipik candida kökenini seçerek yeniden incelemeye almışlar, karşılaştırma amacıyla da 5 Avustralya'lı AIDS'liden elde edilen benzer atipik *C. albicans* izolatını kullanmışlardır. *C. dubliniensis*'in genomdaki DNA'sının yapısını ortaya koymak için DNA parmakizi ve karyotip analizleri yapılmış ve bu kökenlerin *C. albicans* ve *C. stellatoidea*'den açıkca farklı olduğu gösterilmiştir. Böylece Sullivan ve ark. Temmuz 1995'de ilk kez fenotipik ve moleküler genetik karakterlerini bildirmışler ve Dublin kentindeki ilk çalışmayla ilgilendirerek *C. dubliniensis* tür adını önermişlerdir. İlerleyen çalışmalarda ağızdan ayrılan *C. dubliniensis* kökenlerinin, ağızlarında kandidiyaz klinik belirtileri bulunan AIDS'lilerin %32'sinden, asimptomatik AIDS'lilerin %25'inden ve ağız kandidiyazı bulunmayan HIV-negatif normal sağlıklı bireylerden sadece %3, dişlerle bağlantılı ağız kandidiyazı bulunan HIV-negatif bireylerden %14.6 oranında elde edildiğini yazmışlardır. Buna göre *C. dubliniensis*'in normal sağlıklı bireylerin normal ağız florasında düşük bir insidansla (%3) bulunduğunu, ancak asimptomatik HIV+ bireylerdeki prevalansının (%19) ve asimptomatik AIDS'lilerdeki prevalansının (%25) anlamlı olarak yüksek olduğunu öne sürmüşlerdir. Olguların birçoğunda *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* gibi diğer türlerle birlikte bulunmuştur.¹⁵

Geriye dönük olarak yapılan çalışmalarda başka enfeksiyonlardan da sorumlu olduğu farkedilmiş, yaygın bir coğrafya yayılımı gösterdiği ve kültür koleksiyonlarında yanlış tanımlanmış kökenler bulunduğu bildirilmiştir.^{15,16} Sözelimi *British National Collection of Pathogenic Fungi*'de daha önce *C. stellatoidea* olarak listeye alınmış olan NCPF3108 *Candida* kökeninin

C. dubliniensis'den ayırdedilemediği bildirilmiştir.¹⁵

İngiltere, İrlanda, İsviçre, Avustralya ve Arjantin'den toplanan HIV+ ve HIV - hastaların ağızından ayrılmış atipik *C. albicans* kökenlerinde geriye dönmük olarak mantarın yayılım coğrafyasını araştıran bir çalışmada da incelenen atipik *C. albicans* kökenlerinin *C. dubliniensis* olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışmanın bulguları bu mantarın yeryüzündeki geniş dağılımdan başka, doğuştan normal ağız florasının üyelerinden olduğunu ve özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda fırsatçı kandidiyaz etkeni olduğunu göstermiştir.¹⁹ Doğrulanmış en eski kökenin 1957'den beri bir maya koleksiyonunda *C. stellatoidea* olarak saklanmış olduğu bildirilmiştir.¹⁵ Kuzey Amerika'da HIV+ kişilerin orofaringeal örneklerinde de bulunduğu gösterilmiştir.²⁰ Geçmişteki prevalensini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada 1970'lerden bu yana *C. albicans* olarak tanımlanıp saklanmış olan 2589 maya kökeni yeniden incelenmiş, 53 maya yeniden *C. dubliniensis* olarak tanımlanmış, bunlar içerisinde ağız ve dışkı kaynaklı kökenlerin çoğunlukta olduğu ve İngiltere'de en eski *C. dubliniensis* örneğinin 1973 ve 1975'de üç hastanın ağız örneklerinden ayrılmış olduğu belirlenmiştir.²¹

Tarafımızdan yapılan bir çalışmada da 12'si sindirim sisteminden, 10'u solunum sisteminden, 19'u idrar yollarından, 7'si vaginadan, 3'ü kandan ve 3'ü de sonda ucu ve aspirasyon materyalinden elde edilmiş 54 *C. albicans* klinik kökeni incelenmiş, bunlar arasında 13'ü (% 24) *C. dubliniensis* olarak tanımlanmıştır.^{4,5}

C. dubliniensis'in sukroz asimilasyonu pozitif, fakat *C. albicans* ve *C. stellatoidea*'de de olduğu gibi β -glukozidaz aktivitesi yoktur.¹⁹ API ID32C şeritleri kullanılarak yapılan bir başka çalışmada α -methyl-D-glucoside ve DL-lactate asimilasyonunun kararlı olmadığı fakat tip kökenin asimilasyon profilinin API APILAB veritabanına göre bilinen hiçbir *Candida sp*'ye uymadığı; *C. albicans* referans köken 3153A ve diğer 10 *C. albicans* kökeninin β -glukozidaz pozitif olduğu, *C. dubliniensis* tip kökenin diğer 10 *C. dubliniensis* kökenlerinin β -glukozidaz negatif olduğu bildirilmiştir.²²

Moleküler ve fenotipik analizler sonucunda, *C. stellatoidea*'nin tamamen *C. albicans* serotip B'ye dahil olmasına karşın *C. dubliniensis* izolatlarının da tamamen *C. albicans* serotip A'ya dahil olduğu gösterilmiştir. İngiltere, İrlanda, İsviçre, Avustralya ve Arjantin'den toplanan HIV+ ve HIV - hastalardan ayrılmış atipik *C. albicans* kökenlerinde geriye dönmük olarak mantarın yayılım coğrafyasını araştıran bir çalışmada da *Candida* faktör 6 antijeni ile işaretlenen antiserum ile aglutinasyon reaksiyonu vasıtası ile, incelenen atipik *C. albicans* kökenlerinin hepsi *C. dubliniensis* veya *C. albicans* serotip A bulunmuştur.^{19,22} Sağlam ve HIV infeksiyonlu kişilerden ayrılabilmesi sebebiyle de *C. dubliniensis*'in normal ağız florasının üyesi olduğu ve özellikle bağışıklık bozukluğu olanlarda ağız lezyonlarına yol açtığı düşünölmektedir.¹⁹

Türün *C. albicans*'dan fenotipik farkı olağantüstü bol klamidospor üretmesi ve 45°C'de gelişmemesidir. Bir başka fark, *C. albicans* için özgül olan oligonükleotid prob Ca3 ile DNA'sının zayıf reaksiyonudur.^{15,22} Bu farkların hiçbirinin rutin hızı ve kolay tanımlar sırasında ayırdedilmesi olası olmadığından birçok *C. albicans* kökeninin yanlış tanımlanmış olduğu öne sürülmüştür. *C. albicans*'ın morfolojik fenotiplendirilmesiyle ilgili çalışmalarda da bir kez dahi *C. dubliniensis* saf kültüründen söz edilmemiş olması dikkat çekici bulunmuş,²² epidemiyolojik çalışmalara gereksinim duyulmuştur.¹² Kromojen substrat içeren (CHROMAgar Candida) ayırtıcı besiyerinde 37°C'de 2 günlük inkübasyondan sonra geliştirdikleri kolonilerin rengine göre iki türün ayrılması önerilmiş;²² yapılan incelemelerde ancak *C. albicans*'ın koyu yeşil, *C. dubliniensis*'in açık yeşil renkte koloniler yaptığı; ancak bu fenotipik özelliğın yalnızca serotip A ile farklılık gösterdiği, serotip B ile farkı olmadığı da saptanmıştır. Buna karşın *C. dubliniensis*'in kesin tanımı için koloni renginin tek başına yeterli olmadığı çünkü *C. albicans*'ın açık, orta ve koyu yeşil kolonileri bulunduğu; ayrıca *C. dubliniensis*'in tip kökenin ve diğer iki atipik izolatın -70°C'de saklandıktan sonra bu özelliklerini kaybederek sadece açık yeşil renkte koloniler geliştirdikleri de bildirilmiştir.^{22,23} Metil mavisi-Sabouraud dekstroza agar (SDA)'da *C. albicans*'ın Wood lambası altında yeşil fluoressens vermesiyle diğer mayalardan ayırdığı bildirilmiştir.²⁴ Bu besiyerinde *C. dubliniensis* tip kökenin makroskopik olarak ayırdedilebilir koyu yeşil koloniler yaptığı fakat fluoressens vermediği, buna karşın açık yeşil renkli kolonilerin parlak fluoressens verdiği bildirilmiştir.²²

C. dubliniensis kökenleri *C. albicans* için uygun olan bütün kültür besiyerlerinde 30°C ve 37°C'de iyi gelişmektedir. Fakat *C. dubliniensis* kökenleri 42°C'de gelişmemekte veya 48 saat sonra zayıf gelişmekte, 45°C'de 24 saatte baskılanmakta, *C. albicans* ise bu sıcaklıklarda iyi gelişmektedir.^{5,25} Bu iki türün ayırdedilmesi için b-glukozidaz aktivitesinin aranması, boya maddesi içeren seçici besiyerlerinde koloni rengine göre ayırma, FTR tekniğı kullanılarak kompleks biyokimya maddelerinin analizi, çeşitli moleküler biyoloji teknikleriyle ayırma, *C. dubliniensis* spesifik antijenlerine dayanarak tanımlama²⁶ gibi çeşitli yöntemler denenmiş ve ayırmadaki başarı oranları irdelenmiştir. Çimlenme borusu ve klamidospor pozitif olmasıyla fenotipik olarak *C. albicans*'dan ayırdedilemeyeceğı bildirilmiş ve son gelişmeler ışığında, asimilasyon deneylerine göre ayırmanın zor olabileceğı, %1 Tween 80 katılmış mısırunlu jeloz gibi besince fakir bir besiyerinde klamidospor üretme ve sıcaklık toleransı deneyinin kullanılması ile iki türün ayrılabilceğı kabul edilmektedir.^{15,25,27}

C. dubliniensis klamidosporlarının diğerinkilerden farklı olması önemli bir fenotip özelliğidir. *C. albicans* genellikle gerçek veya psödohiflerin ucunda tek tek klamidosporlar üretir. Buna karşın *C. dubliniensis*'inkiler çok daha bol ve ekseri çiftler halinde veya üçlü hatta bazen psödohifin ucundaki aynı bir taşıyıcı (süspansör) hücreye yapışmış kalın duvarlı birkaç klamidospordan oluşan kümeler veya salkımlar oluşturularak olağantısı

düzen gösterirler.¹⁵ (Şekil 3, 4, 5).

Son yıllarda özellikle HIV-infeksiyonlu insanlardan ayrılan *C. albicans* dışındaki *Candida* türlerinin sıklığı giderek artmıştır. Şüphesiz altta yatan ciddi bağışıklık baskılanması durumu bu kişileri fırsatçı mantar enfeksiyonlarına son derecede duyarlı kılmaktadır. Genellikle tedavi veya profilaktik amaçlı olarak yaygın antifungal ilaç kullanımı, özellikle nüks eden hastalıklarda önem taşımaktadır. *C. glabrata*, *C. krusei* ve *C. tropicalis* gibi *Candida* türleri olağan antifungallere *C. albicans*'dan daha az duyarlıdır ve HIV pozitif ve AIDS'lilerde antifungal ilaç tedavisinden sonra seleksiyona uğrayabilmektedirler. Antifungal ilaç tedavisinin ağızdan ayrılan *C. dubliniensis* prevalensine etkisinin olup olmadığı henüz bilinmemektedir fakat bu kökenlerin elde edildiği HIV-infeksiyonlu kişilerin çoğunda daha önce ağız kandidiyazı için uzun süreli flukonazol kullanılmıştır.¹⁵

10 HIV-pozitif ve 4 HIV-negatif bireylerin ağızlarından elde edilen 19 oral izolat ile HIV-negatif bir hastadan ayrılan 1 vagina kökeninin flukonazole duyarlılıkları broth mikrodilüsyon yöntemiyle incelenmiş, 16 izolat flukonazole duyarlı, AIDS'lilerden elde edilmiş olan 4 köken dirençli (MIC aralığı 8-32 mg/ml¹) bulunmuştur. Yanısıra E test yöntemi de denenmiş, agar besiyerinde ilacın artan konsantrasyonları karşısında flukonazole dirençli fenotipler ortaya çıktığı (MIC aralığı 16-64 mg/ml¹), bu özelliğin ilaçsız besiyerinde ardarda 10 subkültürden ve uzun süre -70°C'de saklandıktan sonra bile stabil olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar *C. dubliniensis*'in olağan olarak kullanılan antifungal ilaçlara duyarlı olduğunu, ilaçla in vitro olarak karşılaştırılan kökenlerde hızla stabil direnç geliştirebildiğini göstermiştir.²⁸ Önceden flukonazol tedavisi alanlarda klinik *C. dubliniensis* kökenlerinin direnç geliştirebildiği, bu özelliğin organizmanın in vivo canlılığını sürdürebilmesi için bir fırsat olduğu bildirilmiştir.¹⁵

Buna karşın McCoullugh ve ark., bu türlerin özelliklerini moleküler genetik düzeyde incelemelerle karşılaştırdıkları çalışmalarında ayırdıkları kökenlerin NCCLS M27-A referans yöntemiyle flukonazole duyarlılığını da incelemişler; *C. dubliniensis* olarak ayırdıkları kökenleri *C. albicans* olarak ayırdıklarından daha duyarlı olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar duyarlılık deneyi sonuçlarının önceki yayınlardan farklı olmasını uygulanan yöntemden kaynaklandığını öne sürmüşlerdir. Aynı çalışmada 5-flucytosine'e karşı *C. albicans* genotip A'nın diğerlerinden daha az duyarlı olduğu bulunmuştur.²⁹ NCCLS M27-A referans yöntemiyle tarafımızdan yapılan bir çalışmada da *C. albicans* kökenlerinin (n=26) MIC aralıkları 5-FC için 1.0-4.0 mg/ml, AmpB için bir köken dışında 0.125-1.0 mg/ml bulunmuş, ayrıcalığı olan bu bir kökende MIC 2.0 mg/ml olarak saptanmıştır. *C. dubliniensis* kökenlerinin (n=24) MIC aralıkları ise 5-FC için (*C. albicans* kökenlerimizde olduğu gibi) 1.0-4.0 mg/ml bulunmuş, AmpB için de 0.125-0.5 mg/ml olarak saptanmıştır. Bu değerler dikkate alındığında *C. albicans* ve *C. dubliniensis* kökenlerimizin deneye alınan iki antifungale duyarlı ve duyarlılıklarının benzer olduğu görülmüştür.⁵ Gelecekteki çalışmaların bu

türün patojenliğine, antifungal ilaç direncine ve epidemiyolojisine yönelik olacağı görülmektedir.

ÖZET

Candida'lar *Blastomyces* sınıfında yer alan, blastosporlarla çoğalan, yalancı misel yapan, gerçek misel yapmaları müstesna olan ve eşeyli şekilleri *Hemiascomycetes* sınıfında bulunan mayalardır. Bugün için kabul edilmiş 220'yi aşkın türü bulunmaktadır. *C. albicans* ve diğer bazı candida türleri birçok sağlam insanların ağız-boğaz ve vaginalarında, derilerinde, barsaklarında ve dışkılarında bulunmakta, direncin kırıldığı durumlarda hastalık yapabilmektedirler. En sık karşılaşılan patojen tür olan *C. albicans*'ın çabuk tanınması için klinik örneklerden ayrılan mayaların serumda veya diğer kolloidlerde 2 saat bırakılması ve inkübasyondan sonra yalnız *C. albicans*'ın çimlenme borusu göstermesine dayanan deneyler klasik kitaplarda en güvenilir yöntem olarak önerilmektedir. Ancak son yıllarda HIV-pozitif kişilerden başlayarak HIV-negatif kişilerden ayrılan ve ayrıca depo köken olarak saklananlar arasında bulunan atipik *C. albicans* kökenleri dikkati çekmiştir. Diğer yandan ilerleyen sistematik moleküler biyoloji çalışmalarının ışığı altında bu türün taksonomisinde önemli bazı değişiklikler olduğu bildirilmiş, çimlenme borusu ve klamidospore oluşturma dahil fenotip özellikleri ortak olan *C. dubliniensis* ayrı bir tür olarak kabul edilmiş, *C. stellatoidea*, *C. langeronii* *C. clausenii*'nin konumları yeniden belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Lodder J. The Yeasts, a taxonomic study. Amsterdam, North Holland Publ Co, 1979.
2. Yücel A. Tıp bakımından önemli candida türlerinin mikolojisi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1987; 17: 45-59.
3. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia, Lea and Febinger, 1992; 280-336.
4. Yücel A, Kantarcıoğlu S. Candida albicans kökenlerinin kaç tanesi C. dubliniensis? I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (İzmir, 4-6 Mayıs 1999) Bildirileri. İzmir, 1999.
5. Yücel A, Kantarcıoğlu S. Candida albicans kökenlerinden C. dubliniensis olarak ayırdıklarımız ve antifungal duyarlılık deneyleri (Baskıda).
6. Yücel A. Candida albicans'da boru oluşumu üzerine araştırmalar. Doçentlik tezi. İÜ Cerr. Tıp Fak. Mikrobiyoloji, Tropikal Hastalıklar ve Parazitoloji Kürsüsü. 1973.
7. Warren N, Hazen KC. Candida, Cryptococcus and other of medical importance. in: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH eds. Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Washington : ASM Press, 1995; 723-737.
8. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philadelphia, Lippincott, 1997; 1044-1045.
9. Phongpaichit S, Mackenzie DWR, Fraser C. Strain differentiation of Candida albicans by morphotyping. Epidemiol Infect 1987; 99: 421-428.
10. Hellstein J, Vawter-Hugart H, Fotos P, Schmid J, Soll DR. Genetic similarity and phenotypic diversity of commensal and pathogenic strains of Candida albicans isolated from the oral cavity. J Clin Microbiol 1993; 31: 3190-3199.
11. Tietz HJ, Küssner A, Thanos M, Pinto de Andrade M, Presber W, Schönian G. Phenotypic and genotypic characterization of unusual vaginal isolates of Candida albicans from Africa. J Clin Microbiol Sept 1995; 33: 2462-2465.

12. Sullivan DJ, Henman MC, Moran GP, O'Neill LC, Bennett DE, Shanley DB, Coleman DC. Molecular genetic approaches to identification, epidemiology and taxonomy of non-albicans *Candida* species. *J Med Microbiol* 1996; 44: 399-408.
13. Pujol C, Renaud F, Mallié M, de Meeus T, Bastide JM. Atypical strains of *Candida albicans* recovered from AIDS patients. *J Med Vet Mycol* 1997; 35: 115-121.
14. Yücel A. Tıp Mikolojisinin dünü ve bugünü. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (İzmir, 4-6 Mayıs 1999) Bildirileri. İzmir, 1999.
15. Coleman DC, Sullivan DJ, Bennet DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB. Candidiasis : the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. *AIDS* 1997; 11 :557-567.
16. Pinjon E, Sullivan D, Salkin I, Shanley D, Coleman D. Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2093-2095.
17. Unat EK, Yücel A. Tıp mikolojisi. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. Unat'ın tıp parazitolojisi. İnsanın ökaryonlu parazitleri ve bunlarla oluşan hastalıklarında. 5. baskı. İstanbul, Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfi Yayınları: 15, 1995; 682-860.
18. Sullivan D, Bennett D, Henman M et. al. Oligonucleotide fingerprinting of isolates of *Candida* species other than *C. albicans* and of atypical *Candida* species from human immunodeficiency virus-positive and AIDS patients. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2124-2133.
19. Sullivan D, Haynes K, Bille J et.al. Widespread geographic distribution of oral *Candida dubliniensis* strains in Human Immunodeficiency Virus-infected individuals. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 960-964.
20. Kirkpatrick WR, Sanjay GR, McAtee RK et al. Detection of *Candida dubliniensis* in oropharyngeal samples from Human Immunodeficiency Virus-infected patients in north America by primary CHROMagar candida screening and susceptibility testing of isolates. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3007- 3012.
21. Odds F, van Nuffel L, Dams G. Prevalence of *Candida dubliniensis* isolates in a yeast stock collection. *J Clin Microbiol* 1998; 36 : 2869-2873.
22. Schoofs A, Odds FC, Colebunders R, Ieven M, Goossens H. Use of specialized isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 296-300.
23. Tintelnor K, Seibold M, Haase G, Staemmler M, Franz T, Naumann D. *Candida dubliniensis* in HIV-infected patients in Germany-evaluation of a phenotypic screening protocol and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) for definitive species identification. 6th International Mycological Congress. Israel, Jerusalem, 23-28 August 1998. Conference Abstracts Jerusalem, 1998; 6.
24. Goldschmidt MC, Fung DY, Grant R, White J, Brown J. New aniline blue dye medium for rapid identification and isolation of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1095-1099.
25. Coleman D, Sullivan D, Moran G, Shanley D. *Candida dubliniensis* - recognition of a new pathogen. 6th International Mycological Congress. Israel, Jerusalem, 23-28 August 1998. Conference Abstracts Jerusalem, 1998; 22.
26. Bikandi J, San Milan R, Moragues MD et al. Rapid identification of *Candida dubliniensis* by indirect immunofluorescence based on differential localization of antigens on *C. dubliniensis* blastospores and *Candida albicans* germ tubes. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2428- 2433.
27. Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. *J Clin Microbiol* 1998; 36 : 329-334.
28. Moran G, Sullivan DJ, Henman MC. Antifungal drug susceptibilities of oral *Candida dubliniensis* isolates from Human Immunodeficiency Virus (HIV)-infected and non-HIV- infected subjects and generation of stable fluconazole-resistant derivatives in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41 : 617-623.
29. McCullough MJ, Clemons KV, Stevens DA. Molecular and phenotypic

characterization of genotypic *Candida albicans* subgroups and comparison with *Candida dubliniensis* and *Candida stellatoidea*. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 417-421.

- **Anahtar Kelimeler:** *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. clausenii*, *C. langeronii*, *C. dubliniensis*; **Key Words:** *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. clausenii*, *C. langeronii*, *C. dubliniensis*; **Ahıdığı Tarihi:** 01 Temmuz 1999; **Prof. Dr. Ayhan Yücel, A. Serda Kantarcıoğlu:** İÜ Cerrahpaşası Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı; **Yazışma Adresi (Address):** Dr. A. Yücel, İÜ Cerrahpaşası Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 34303 Cerrahpaşası İstanbul

