

Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida* İzolatlarında Biyofilm Oluşumu ve Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Determination of Biofilm Formation and Antifungal Sensitivity of *Candida* Strains Isolated from Various Clinical Samples

Seda ACAR¹([iD](#)), Burak KÜÇÜK¹([iD](#)), Murat ARAL¹([iD](#)), Kübra DERÇİN¹([iD](#))

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

Makale atfı: Acar S, Küçük B, Aral M, Derçin K. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* izolatlarında biyofilm oluşumu ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi. FLORA 2021;26(1):122-8

ÖZ

Giriş: Çalışmamızın amacı tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gelen klinik örneklerden izole edilen 60 *Candida albicans* türünde biyofilm oluşumunu tespit etmek ve antifungal duyarlılıklarını belirlemektir.

Materyal ve Metod: Biyofilm oluşturma yeteneği Kongo Kırmızısı Agar ve mikropakta XTT indirgenmesi yöntemiyle araştırılmıştır. Suşların; amfoterisin B, vorikonazol, flukonazol, kaspofungin, flusitozin duyarlılıkları The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerileri doğrultusunda Broth dilüsyon metoduna göre araştırılmıştır.

Bulgular: Suşların 29'u (%47.5) biyofilm pozitif, 32'si (%52.4) biyofilm negatif olarak tespit edilmiştir. Biyofilm pozitif olan bu suşların 10'u zayıf biyofilm (%34.4), 15'i orta biyofilm (%51.7), 4'ü güçlü biyofilm (%13.7) oluşturmuştur. Biyofilm oluşumunu saptamada mikropakta XTT indirgenmesi testi ile Kongo Kırmızısı Agar testi aynı sonucu vermiştir. Antifungal ilaçların minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) aralıkları vorikonazol için 0.032-4 mg/L, flukonazol için 0.064-64 mg/L, amfoterisin B için 1-4 mg/L bulunmuştur. Vorikonazol için örneklerin 53'ü (%88.3), amfoterisin B için 56'sı (%93.3), flukonazol için 6'sı (%10) dirençli olarak tespit edilmiştir. Kaspofungin için MİK aralığı 0.008-4 mg/L, flusitozin için 0.064-64 mg/L olarak belirlenmiştir. *Candida albicans* örneklerinde amfoterisin B ve vorikonazole yüksek oranda direnç saptanmıştır.

Sonuç: Kongo Kırmızısı Agar yönteminin XTT indirgenmesi yöntemine kıyasla biyofilm oluşumunu saptamada maliyet açısından daha uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Biyofilm oluşturan örneklerin antifungal MİK değerleri biyofilm oluşturmayan örneklerle göre daha yüksek bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antifungal duyarlılık; Biyofilm; *Candida*

ABSTRACT

Determination of Biofilm Formation and Antifungal Sensitivity of *Candida* Strains Isolated from Various Clinical SamplesSeda ACAR¹, Burak KÜÇÜK¹, Murat ARAL¹, Kübra DERÇİN¹¹Department of Medical Microbiology, Kahramanmaraş Sütçü İmam University School of Medicine, Kahramanmaraş, Turkey**Introduction:** The aim of this study was to determine the biofilm formation and antifungal susceptibility of 60 *Candida albicans* strains isolated from clinical samples in Medical Microbiology Laboratory.**Materials and Methods:** Biofilm formation was investigated using Congo Red agar and XTT reduction method. Amphotericin B, voriconazole, fluconazole, caspofungin, and flucytosine susceptibility of the strains were investigated by the Broth dilution method according to the recommendations of The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).**Results:** In both methods, 29 (47.5%) of the strains were positive and 32 (52.4%) strains were negative. Of the biofilm-positive strains, biofilm production level was weak in 10 strains (34.4%), moderate in 15 strains (51.7%) and strong in 4 strains (13.7%). In determining biofilm formation, XTT reduction test in Microplate and Congo red agar test gave the same result. MIC ranges of antifungal drugs were 0.032-4 mg/L for voriconazole, 0.064-64 mg/L for fluconazole and 1-4 mg/L for amphotericin B. The number of voriconazole, amphotericin B and fluconazole resistant strains were 53 (88.3%), 56 (93.3%) and 6 (10%) respectively. MIC ranges were 0.008-4 mg/L for caspofungin and 0.064-64 mg/L for flucytosine.**Conclusion:** As a result, it was concluded that the Congo Red Agar method is more cost effective in detecting biofilm formation than the XTT reduction method. Antifungal MIC values of biofilm forming strains were higher than non-biofilm producing strains. High resistance to amphotericin B and voriconazole was detected.**Key Words:** Antifungal susceptibility; Biofilm; *Candida***GİRİŞ**

Candida spp. insan deri ve mukoza florasında yer alan mikroorganizmalardır. Sağlıklı bireylerin ağız ve gastrointestinal sistemlerinde bulunmaktadır. Predispozan faktörlerin varlığında kandidoz olarak tanımlanan yüzeysel veya derin, akut veya kronik infeksiyonlara sebep olabilmektedir^[1]. Yapılan invaziv girişimler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, immünsupresif tedaviler, HIV ile infekte popülasyonun artması gibi çeşitli nedenler fungal infeksiyon görülme sıklığını artırmaktadır^[2]. *Candida* infeksiyonunda görülen morbidite ve mortalite oranlarının artmasına; proteaz, esteraz, fosfolipaz, biyofilm gibi virulans faktörlerinin neden olduğu düşünülmektedir^[3]. Bu nedenle *Candida*'ya ait virulans faktörleri dikkate alınarak yeni tedavi yöntemleri araştırılmaya başlanmıştır^[4]. Çalışmamızın amacı *Candida albicans* örneklerinde biyofilm oluşumunun iki farklı yöntemle saptanması ve bu örneklerin antifungal duyarlılıklarının belirlenmesidir.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmaya 2018 yılında tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan, idrar, solunum ve

yara örneklerinden izole edilen 60 adet *C. albicans* izolatu ve *C. albicans* ATCC 90028 standart suşu dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen *Candida* örneklerinin biyofilm oluşturma özelliği iki farklı yöntemle belirlenmiştir.

Kongo Kırmızısı Agar (KKA) Yöntemi

Test edilecek *Candida* suşunun sabouraud dekstroza agarda (SDA) üretilmiş taze kültüründen bir öze dolusu alınarak KKA yüzeyine ekilmiş ve petriler 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında üreyen maya kolonilerinin renkleri incelenerek, sonuçlar görsel olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeye göre koloniler siyah ve bordo ise mikroorganizma biyofilm pozitif; kırmızı, pembe ve beyaz ise biyofilm negatif olarak kabul edilmiştir^[5].

Mikroplakta XTT İndirgenmesi İle Biyofilm Varlığının Test Edilmesi

Bu yöntemde 96 kuyucuklu mikroplaklar kullanılmıştır. Test edilecek suşun sabouraud dekstroza agarda (SDA) üretilmiş 24 saatlik taze kültüründen bir öze dolusu 10 mL yeast peptone dekstroze (YPD) sıvı besiyerine konmuş ve çalkalayıcıda 37°C'de bir gece inkübe edilmiştir. Ertesi gün,

İNDE ÜREME OLAN SIVI BESİYERİ İÇİNDEKİ MAYA HÜCRELERİ PBS İLE ÜÇ KEZ YIKANARAK AYRIŞTIRILMIŞTIR. BUNUN İÇİN BESİYERİ 3000 RPM'DE 5-10 DAKİKA SANTRİFÜJ EDİLMİŞ, ÜST KISIMDAKİ SIVI DÖKÜLMÜŞTÜR. TÜPTE KALAN ÇÖKELTİYE 5 mL STERİL PBS EKLENEREK VORTEKSLENMİŞ ARDINDAN 3000 RPM'DE TEKRAR SANTRİFÜJLENMİŞ VE ÜSTEKİ SIVI DÖKÜLEREK BU KEZ 2 mL STERİL PBS EKLENMİŞTİR. YENİDEN VORTEKSELEME VE SANTRİFÜJ YAPILMIŞ VE KALAN ÇÖKELTİYE 37°C SICAKLIKTA 1 mL SERUM FİZYOLOJİK (SF) EKLENEREK KARIŞTIRILMIŞTIR. ELDE EDİLEN SÜSPANSİYONDAN SF İÇİNDE 1×10^6 CFU/mL, SPEKTROFOTOMETREDE ABSORBANS 0.09-0.13 VE OPTİK DENSİTE (OD) %78-80 OLACAK ŞEKİLDE SÜSPANSİYON HAZIRLANMIŞTIR. SONRAKİ İŞLEM 15 DAKİKA İÇİNDE GERÇEKLEŞMEYECEK İSE, HAZIRLANAN SÜSPANSİYON BUZDOLABINDA BEKLETİLMİŞTİR. MİKROPLAKLAR KONTAMİNE EDİLMEMEYECER ŞEKİLDE PAKETLERİNDEN ÇIKARILDIKTAN SONRA, TEST İÇİN KULLANILACAK HER KUYUCUĞA 50 μ L RPMI 1640 KONULMUŞ VE POZİTİF KONTROL SUŞU DA DBHİL OLMAK ÜZERE SUŞ SÜSPANSİYONLARINDAN 50'ŞER μ L EKLENMİŞTİR. NEGATİF KONTROL KUYUCUKLARINA İSE SADECE 50 μ L RPMI 1640 KONULMUŞTUR. HAZIRLANAN TEST PLAKLARI KAPAKLARI KAPATILIP PARAFİLMLE SARILDIKTAN SONRA 37°C'DE 24 SAAT İNKÜBE EDİLMİŞTİR. ÜREME AŞAMASININ ARDINDAN KUYUCUKLARDA YIKAMA YAPILARAK BİYOFİLM OLUŞTURMAYAN VE ÇUKUR YÜZEYİNE TUTUNAMAYAN MAYA HÜCRELERİNİN UZAKLAŞTIRILMASI SAĞLANMIŞTIR. YIKAMA İŞLEMİNİN ARDINDAN YAPILAN GÖRSEL DEĞERLENDİRMEDE, ÇUKURLARIN TABAN KISIMINDA TABAKA OLUŞUMU GÖZLENMESİ BİYOFİLM VARLIĞINI, TABAKA OLUŞUMU GÖZLENMEMESİ BİYOFİLM BULUNMADIĞINI İŞARET ETMEKTEDİR. SONUÇLAR AYRICA HÜCRE CANLILIĞINI TAYİN ETMEDE KULLANILAN BİR KİMYASAL OLAN XTT İLE SPEKTROFOTOMETRİK OLARAK DA DEĞERLENDİRİLMİŞTİR^[6].

Mayaların Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Klinik suşların yanında çalışmada standart sus olarak *C. albicans* ATCC 90028 kullanılmıştır. Suşların antifungal duyarlılıkları sıvı mikrodilüsyon yönteminde referans yöntemlerden biri olan The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kılavuzu önerilerine göre gerçekleştirilmiştir^[7].

İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde kategorik değişkenler arasındaki dağılım ilişkisi ki kare testi ve Fisher exact testi ile incelenmiştir. Testler arasındaki uyum Cohen Kappa katsayısı ile incelenmiştir. İstatistik parametreler oran ve frekanslar ile ifade edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak ifade edilmiştir. Veriler SPSS 22.0 programında incelenmiştir.

Çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı (Karar no: 247 Tarih: 02.11.2016).

BULGULAR

Kongo Kırmızısı Agar yöntemi ve mikropakta XTT indirgenmesi testi ile yapılan çalışma sonucuna göre toplam 61 susun 32'si (%53) biyofilm negatif olarak değerlendirilirken, 29'u (%47) biyofilm pozitif olarak tespit edilmiştir. Solunum ve idrar örneklerinde biyofilm pozitifliği diğer örneklerle göre daha yüksek oranda saptanmıştır. Mikropakta XTT İndirgenmesi testi ile Kongo Kırmızısı Agar testi karşılaştırıldığında sonuçlar aynı bulunmuştur. İki test arasındaki uyum istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$) (Tablo 1).

Tablo 1. XTT indirgenmesi yöntemi ve Kongo Kırmızısı Agar yönteminin karşılaştırılması

		Mikropakta XTT Yöntemi								Kappa Coefficient		p
		Negatif		Zayıf Biyofilm		Orta Biyofilm		Güçlü Biyofilm				
		n	%	n	%	n	%	n	%	n		
Kongo Kırmızısı Agar	Negatif	32	100	0	0.0	0	0	0	0	32	0.974	$p < 0.001^*$
	Zayıf Biyofilm	0	0	10	100	0	0	0	0	10		
	Orta Biyofilm	0	0	1	6.7	14	93.3	0	0	15		
	Güçlü Biyofilm	0	0	0	0	0	0	4	100	4		
Toplam		32		11		14		4		61		

Kappa Coefficient; a: 0.05.

* İki test arasındaki uyum istatistiksel olarak anlamlı.

Tablo 2. Antifungal ajanlar için belirlenen MİK değerleri

Antifungal ajanlar	MİK Aralığı
Amfoterisin B	1.0-4 mg/L
Flukonazol	0.064-64 mg/L
Flusitozin	0.064-64 mg/L
Kaspofungin	0.008-4 mg/L
Vorikonazol	0.032-4 mg/L

Antifungal Duyarlılık Test Sonuçları

Biyofilm pozitif suşların antifungal MİK değerleri biyofilm negatif suşlara göre daha yüksek bulunmuştur. Amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve flusitozin konsantrasyon düzeylerinin biyofilm pozitif ve negatif gruplarına göre frekans dağılımındaki farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Amfoterisin B için $p=0.044$, flukonazol için $p=0.048$, vorikonazol için $p=0.029$, flusitozin için $p=0.045$). Kaspofungin konsantrasyon düzeylerinin biyofilm pozitif ve negatif gruplarına göre frekans dağılımındaki farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p=0.107$). Antifungal ilaçların MİK aralıkları vorikonazol için 0.032-4 mg/L, flukonazol için 0.064-64 mg/L, amfoterisin B için 1-4 mg/L aralığında bulunmuştur. Suşların vorikonazol için 53'ü (%88.3), amfoterisin B için 56'sı (%93.3), flukonazol için 6'sı (%10) dirençli olarak tespit edilmiştir. Kaspofungin için MİK aralığı 0.008-4 mg/L, flusitozin için 0.064-64 mg/L aralığında elde edilmiştir. EUCAST kaspofungin ve flusitozin için tam bir MİK değeri belirtmediğinden dirençli ve duyarlı suş sayısı belirlenememiştir. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) değerlerine göre kaspofungin için suşların 2'si dirençli (%3.33) olarak belirlenmiştir^[8]. Sonuç olarak amfoterisin B ve vorikonazole yüksek oranda direnç saptanmıştır (Tablo 2).

TARTIŞMA

Candida spp. doğada yaygın olarak bulunmakla beraber sağlıklı bireylerin normal vücut floralarında yer almaktadır. Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde fırsatçı infeksiyonlara neden olmaktadır. Bu durum da morbidite ve mortalite oranlarında artışa yol açmaktadır^[9,10].

Biyofilm kaynaklı infeksiyonların tedavisi biyofilmlerin antimikrobiyal tedaviye azalan duyarlı-

lıklarından dolayı zordur. Ramage ve arkadaşları yaptıkları çalışmada biyofilm oluşturan *C. albicans* suşlarının flukonazole karşı direnç oranlarının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir^[11]. Karaman ve arkadaşları yaptıkları çalışmada biyofilm pozitif ve biyofilm negatif *C. albicans* suşları ile infekte *Galleria* larvalarının sağkalım oranlarını karşılaştırmıştır. Biyofilm pozitif *C. albicans* ile infekte larvalarda 24. saat sonunda sağkalım diğer grubun %20'si olarak belirlenmiştir^[12]. Triazol grubu antifungallerin çok sık kullanılmasından dolayı biyofilm üreten *Candida* türlerinde antifungal ajanlara karşı dirençte artış görülmeye başlamıştır^[13]. Plastik yüzeylerde üreyen *C. albicans* biyofilminin planktonik hücrelerle kıyaslandığında amfoterisin B'ye 20-30 kat fazla dirençli olduğu tespit edilmiştir^[14]. Bu nedenle *Candida* cinsi mayaların biyofilm oluşturma kapasiteleri, antifungal ajanlara karşı duyarlılık ve direnç durumlarının incelenmesi açısından gün geçtikçe önemini artırmaktadır.

Biyofilm pozitif olarak bulduğumuz 29 suşun 10'unun (%34.4) zayıf biyofilm, 15'inin (%51.7) orta biyofilm, 4'ünün ise (%13.7) güçlü biyofilm oluşturdukları gözlemlenmiştir. Aslan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada KKA yöntemi ile test edilen 10 *C. albicans* ve 18 *C. tropicalis* suşlarından hiçbirinde biyofilm pozitifliği saptanamazken, bu suşlar XTT indirgenmesi yöntemiyle güçlü biyofilm pozitif bulunmuştur^[15]. Üriner katateri olan ve olmayan 25'er hastadan izole edilen 50 *Candida* izolatının dahil edildiği çalışmada XTT indirgenmesi yöntemi ve KKA yöntemiyle biyofilm oluşumu araştırılmış ve XTT yöntemiyle tüm suşlar biyofilm pozitif bulunurken, KKA yöntemiyle 50 suşun 12'sinde biyofilm pozitifliği saptanmıştır^[16]. Saxena ve arkadaşları 120 *Candida* suşlarında biyofilm oluşumunu araştırmış, %38.3 biyofilm pozitifliği rapor etmişlerdir. Biyofilm pozitif olarak belirlenen suşların %27.7'sinin güçlü pozitif, %78.2'sinin zayıf pozitif olduğunu bildirmişlerdir^[17]. Yıldırım ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *C. albicans* ve non-albicans *Candida* suşlarında biyofilm oluşumu, fosfolipaz, esteraz gibi faktörlerini araştırmış olup 92 *C. albicans* suşunun 16'sında (%17), 40 non-albicans *Candida* suşunun 13'ünde (%33) biyofilm oluşumunu gözlemlediklerini bildirmişlerdir^[18]. Arslan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 100 adet *C. albicans* suşunun %48'inde biyofilm

varlığını rapor etmişlerdir^[4]. 216 *Candida* türünün dahil edildiği bir çalışmada biyofilm oluşumu XTT yöntemiyle araştırılmış olup, 128'inin (%59.3) *C. albicans* olduğu ve bu izolatların 20'sinde (%15.6) biyofilm pozitifliği rapor edilmiştir^[19].

Çalışmamızda susların amfoterisin B, flusitozin, kaspofungin, vorikonazol, flukonazole karşı duyarlılıkları ve bu antifungallerin MİK değerleri belirlenmiştir. Ülkemizde amfoterisin B için direnç tespit edilemeyen çalışmalar bulunduğu gibi %57.8'e kadar direnç tespit edilen çalışmalar da mevcuttur^[20-22]. Çalışmamızda amfoterisin B için incelenen 60 *C. albicans* içinde 4 (%6.66) duyarlı, 56 (%93.6) dirençli suşa rastlanılmıştır. Amfoterisin B direnç oranları yapılan çalışmalarla kıyaslandığında çalışmamızda yüksek oranda direnç tespit edilmiştir. Atalay ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada idrar örneğinden izole edilen 61 *Candida* spp. izolatında, amfoterisin B'ye karşı duyarlılıkları E-test yöntemiyle incelenmiş olup MİK aralıkları 0.002-0.5 µg/mL arasında tespit edilmiş ve dirençli izolat bulunamamıştır^[23].

Flukonazol, *C. albicans* susları için MİK düzeyi düşük olan bir ilaçtır. Flukonazol tedavisinde en önemli problem *C. albicans* dışındaki türlerde oluşan dirençtir^[24]. Çalışmamızda flukonazol için incelenen 60 *C. albicans* türünde 54 (%90) duyarlı, 6 (%10) dirençli suş tespit edilmiştir. Flukonazol için yaptığımız çalışma diğer verilerle kıyaslandığında çalışmamızın duyarlılık oranı yüksek bulunmuştur. 100 *Candida* susunun dahil edildiği çalışmada bir *Candida* türlerinin 23'ünün (%23) flukonazole duyarlı, 37'sinin (%37) doza bağlı duyarlı, 40'ının (%40) dirençli olduğu saptanmıştır. Çalışmadaki 54 *C. albicans* izolatının 18'i (%33.3) duyarlı, 11'i (%20.4) doza bağlı duyarlı ve 25'i (%46.3) dirençli olarak belirlenmiştir^[18]. Yashavant ve arkadaşları *C. albicans* için yaptığı çalışmada flukonazol için %80'inin duyarlı, %10'unun doza bağlı duyarlı, %10'unun dirençli olduğunu bildirmiştir^[25].

Çalışmamızda 60 *C. albicans* izolatının 7'sinin (%11.6) vorikonazole duyarlı, 53'ünün (%88.3) dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda vorikonazol için direnç oranları, yapılan diğer çalışmalara kıyasla yüksek bulunmuştur. Elfeky ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *C. albicans* izolatının vorikonazole direnç oranını %10.5 olarak belirlemiştir^[26]. Ying ve arkadaşları vulvovajinal

kandidiyazisli hastalardan izole edilen *C. albicans* için yaptıkları çalışmada vorikonazol için %81 duyarlı, %5 doza bağlı duyarlı, %14 dirençli izolat tespit etmiştir^[27]. Yapılan bir çalışmada *Candida* türlerinin 75'inin (%75) kaspofungine duyarlı, 12'sinin (%12) orta duyarlı, 13'ünün (%13) dirençli olduğu tespit edilmiştir^[28]. Pfaller ve arkadaşları flukonazole dirençli 351 *Candida* izolatı ile yaptıkları çalışmada, susların %99'unun kaspofungine duyarlı olduğunu (MİK ≤2 µg/mL), 8 izolatın MİK değerinin ≥8 µg/mL olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, bu 8 susun laboratuvar kaynaklı glukan sentez mutasyonlu türler olduğu rapor edilmiştir^[29]. Toner ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada idrar örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinde kaspofungine dirençli izolat saptamamıştır^[30].

Sonuç olarak, *Candida* infeksiyonlarında biyofilm üreten susların virulansının ve antibiyotiklere direnç oranlarının daha yüksek oldukları görülmüştür. Biyofilm oluşumunun tespitinde Kongo Kırmızısı Agar yöntemi ekonomik açıdan uygun ve rahat uygulanabilen bir yöntemdir. Mikroplakta XTT yöntemi ile biyofilm oluşumunun test edilmesi ise iki saatte sonuç verebilmesi, sonuçların objektif olarak değerlendirilebilmesi, yüzeye tutunan biyofilm hücrelerini koparma işlemi gerektirmediğinden biyofilm oluşumunu saptamada kullanılabilen tutarlı yöntemlerden biridir. Ancak maliyet açısından KKA yöntemine göre oldukça pahalıdır. Bu nedenle Kongo Kırmızısı Agar yönteminin biyofilm oluşumunu saptamada daha maliyet etkin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu türlerin antifungal ilaçlara direncinin yüksek olması sebebiyle *Candida* infeksiyonlarında etkenin tür düzeyinde tanımlanıp antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi ve uygun tedavinin sağlanmasının, direnç gelişiminin engellenebilmesi açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir.

ETİK KURUL ONAYI

Çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı (Karar no: 247 Tarih: 02.11.2016).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: SA, MA

Analiz/Yorum: SA, MA, BK

Veri Sağlama: SA, BK, KD

Yazım: SA, BK, KD

Gözden Geçirme ve Düzeltme: BK, MA, KD

Onaylama: SA, BK, MA, KD

KAYNAKLAR

1. Tümbay E. *Candida* türleri. In: Ustaçelebi Ş (ed). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, 1999:1081-5.
2. Yakupoğulları Y, Toraman Z. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida* kökenlerinde slime faktörü üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004;34(3):178-81.
3. Birinci A, Çekiç Cihan Ç, Bilgin K, Acuner Ç, Durupınar B. *Candida* türlerinde slime üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005;35:163-6.
4. Arslan U, Fındık D. Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2003;17(4):471-81.
5. Hilmioğlu S, İlitik M, Çavuşoğlu C, Aydemir Ş, Tümbay E. *Candida* izolatlarında slime üretiminin üç ayrı yöntemle gösterilmesi ve slaym üretiminin kristal viyole reaksiyonu ile ilişkisi. *İnfeks Derg* 1999;13:183-6.
6. Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM, Glasebrook AL. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *J Immunol Methods* 1991;142:257-65.
7. Arendrup MC, Melatiadis J, Mouton JW, Lagrou K, Hamal P, Guinea J, et al; Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST definitive document EDEF 7.3.1 January 2017: Method For The Determination Of The Broth Dilution Minimum Inhibitory Concentrations Of Antifungal Agents For Yeast.
8. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts. *CLSI Suppl M60*, 2017.
9. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in pediatric intensive care units in the United States. *National Nosocomial Infections Surveillance System. Pediatrics* 1999;103(4):e39.
10. Kalkancı A, Yalınay Ç, Mansuroğlu H, Kuştımur S. *Candida* türlerinde slaym faktör belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1999;29:183-5.
11. Ramage G, Bachmann S, Patterson TF, Wickes BL, López-Ribot JL. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemotherapy* 2002;49(6):973-80.
12. Karaman M, Alvandian A, Bahar İH. *Candida albicans* biyofilm etkilerinin değerlendirilmesinde *Galleria mellonella* larvası modeli. *Mikrobiyol Bul* 2017;51(1):32-40.
13. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2004;10(1):14.
14. Özcan SK. Tıbbi gereçlerle ilişkili *Candida* biyofilm ve enfeksiyonları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007;27(4):589-600.
15. Aslan H, Gülmez D. Üriner *Candida* izolatlarının biyofilm yapabilme özelliğinin üriner kateter kullanımı ile ilişkisinin araştırılması ve biyofilm varlığında antifungal duyarlılık durumunun değişimi. *Mikrobiyol Bul* 2016;50(2):256-65.
16. Arslan H. *Candida* Türlerinde Biyofilm Oluşumu ve Antifungal Duyarlılığa Etkisi. T.C Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. 2015;61-3.
17. Saxena N, Maheshwari D, Dadhich D, Singh S. Evaluation of Congo Red Agar for detection of biofilm production by various clinical *Candida* isolates. *J Evolution Med Dent Sci* 2014;3(59):13234-9.
18. Yıldırım M, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, Koldaş K, Yetener V, Balaban N. İnfeksiyon etkeni olarak izole edilen *Candida albicans* ve non-*albicans Candida* suşlarındaki bazı virulans faktörlerinin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2009;39(3-4):62-8.
19. Tüzüner U, İnci R. *Candida* türlerinde biyofilm oluşumunun modifiye mikropalak ve modifiye XTT redüksiyon yöntemleri ile saptanması. *Ege Tıp Dergisi* 2017;56(4):178-82.
20. Koç N. Ülkemizde antifungal direnç. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı, 27-30 Mayıs 2003, Bodrum. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını*. 2003;46:285-300.
21. Hassan Hassan AB. Yoğun Bakım Hastalarının İdrar Kültüründen İzole Edilen *Candida* Türlerinin Dağılımı ve Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi. T.C. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. 2018;58-65.
22. Cilo BD, Topaç T, Ağca H, Sağlam S, Efe K, Ener B. *Candida* İzolatlarının Antifungal Duyarlılığının Belirlenmesinde Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2018;52(1):35-48.
23. Atalay MA, Koç AN, Sav H, Demir G. Yatan hastaların idrar kültürlerinden izole edilen *Candida* türleri ve antifungal duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2013;70(4):185-90.
24. Aktaş F. Kandidüri ve üriner sistem kandidiyazisi. In: Doğanay M, Ünal S, Çetinkaya Şardan Y (eds). *Hastane İnfeksiyonları, Bilimsel Tıp Yayınevi*. 2008;2:191-7.
25. Yashavanth R, Shiju M, Bhaskar U, Ronald R, Anita K. Candiduria: prevalence and trends in antifungal susceptibility in a tertiary care hospital of mangalore. *JCDR* 2013;7(11):2459.
26. ElFeky DS, Gohar NM, El-Seidi EA, Ezzat MM, AboElew SH. Species identification and antifungal susceptibility pattern of *Candida* isolates in cases of vulvovaginal candidiasis. *Alexandria J Med* 2016;52(3):269-77.
27. Ying C, Zhang H, Tang Z, Chen H, Gao J, Yue C. Antifungal susceptibility and molecular typing of 115 *Candida albicans* isolates obtained from vulvovaginal candidiasis patients in 3 Shanghai maternity hospitals. *Sabouraudia* 2015;54(4):394-9.

28. Hösükoğlu Çelikkan GF. Vajinal Örneklerden İzole Edilen Candidaların Tiplendirilmesi Ve Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi. T.C. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. 2017;69-73.
29. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ, et al. Caspofungin activity against clinical isolates of fluconazole-resistant Candida. J Clin Microbiol 2003;41(12):5729-31.
30. Toner L, Papa N, Aliyu SH, Dev H, Lawrentschuk N, Al-Hayek S. Candida growth in urine cultures: a contemporary analysis of species and antifungal susceptibility profiles. QJM: An Int J Med 2015;109(5):325-9.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Dr. Burak KÜÇÜK

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

Kahramanmaraş-Türkiye

E-posta: dr.burakkucuk@gmail.com