

CANDIDA TÜRLERİNDE “SLIME” ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ

Mine YÜCESOY, Meral KARAMAN, Nuran YULUĞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Kateter infeksiyonları, mikroorganizmaların kateterlere adherans ve kolonizasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu adherans için “slime” faktörünün gerekli olduğu bildirilmektedir. Kateter infeksiyon etkenleri arasında Candida türlerinin de önemli bir yer tutması nedeni ile çalışmamızda Candida infeksiyonlarında “slime” üretiminin rolü incelenmiştir. Bu amaçla çeşitli klinik örneklerden soyulanan farklı türlerde toplam 148 Candida suşunda modifiye tüp adherans testi ile “slime” yapımı araştırılmış ve suşların 12’sinin (%8.11) kuvvetli, 14’ünün (%9.46) ise zayıf “slime” oluşturduğu saptanmıştır. C.albicans, C.tropicalis, C.parapsilosis, C.guilliermondii, C.glabrata suşlarının sırasıyla 10,9,1-4,2’sinde değişik oranlarda “slime” üretimi gözlenmiştir. Sonuçlarımız ışığında; özellikle albicans dışı Candida türleri açısından slime üretiminin önemli bir virulans faktörü olduğunu ve diğer patojenite testlerinin yanında incelenmesinin yararlı olacağını söyleyebiliriz.

Anahtar sözcükler: Slime, Candida, virulans faktörü

Kateter infeksiyonları, önemli nozokomiyal infeksiyonlar arasında yer almaktadır. Özellikle vasküler kateter infeksiyonları yatan hastalarda önemli bir mortalite ve morbidite etkenidir (1). Bu infeksiyonlar, mikroorganizmaların kateterlere adherans ve kolonizasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu adherans ve kolonizasyon için kateter yüzeyinde biyofilm oluşumunun gerekli olduğu bildirilmektedir. Oluşan biyofilmlerde hem mikrobiyal hem de konak faktörleri görev almaktadır. Mikrobiyal faktör olarak “slime”; konak faktörü olarak ise fibrin ve fibronektin rol oynamaktadır (2).

Kateter ile ilişkili infeksiyon etkenleri arasında Staphylococcus ve Candida türleri en başta

SUMMARY

Catheter infections result from adherence and colonization of microorganisms on the catheters. Slime factor seems to be essential for this adherence. Because Candida species are among the major pathogens of catheter infections, we evaluated the role of slime production in Candida infections. We investigated the slime production with modified tube adherence test in 148 Candida strains which were isolated from different clinical specimens, and found that slime production was strong in 12 (8.11%) and weak in 14 strains (9.46%). C.albicans, C.tropicalis, C.parapsilosis, C.guilliermondii, C.glabrata strains produced slime with varying degrees in 10, 9, 1, 4, 2 strains, respectively. According to our results we can say that slime production is an important virulence factor for Candida species other than albicans, and it would be useful to search this factor in addition to other pathogenity tests.

Key words: Slime, Candida, virulence factor

gelenlerdir (3). “Slime” üreten Staphylococcus türlerinin adherans özelliğine bağlı olarak kateter infeksiyonlarına yol açtığı bildirilmiştir (4). Bakteriyel patojenlerin ürettiği bu “slime”ın kateter ve diğer biyomekanik aletlerin yüzeylerine adherans yeteneği ile ilişkili olduğu da saptanmıştır (5,6). Kateter ile ilişkili infeksiyon etkenleri arasında Candida türlerinin de önemli bir yer tutması nedeni ile çalışmamızda candida infeksiyonlarında “slime” üretiminin rolü incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Candida suşları: Çeşitli klinik örneklerden (39 kan-kateter, 39 idrar-sonda , 27 ağız-dil-boğaz sürüntüsü, 15 pü- abse-yara, 7 balgam, 7 vaginal

sürüntü, 5 spiral, 4 parasentez-torasentez sıvısı, 3 safra, 2 gaita) soyutlanan toplam 148 Candida suşu çalışmaya alındı. Suşların 101'i C.albicans, 20'si C.tropicalis, 8'i C.parapsilosis, 8'i C.guilliermondii, 5'i C.glabrata, 4'ü C.kefyr, 2'si ise C.krusei'dir.

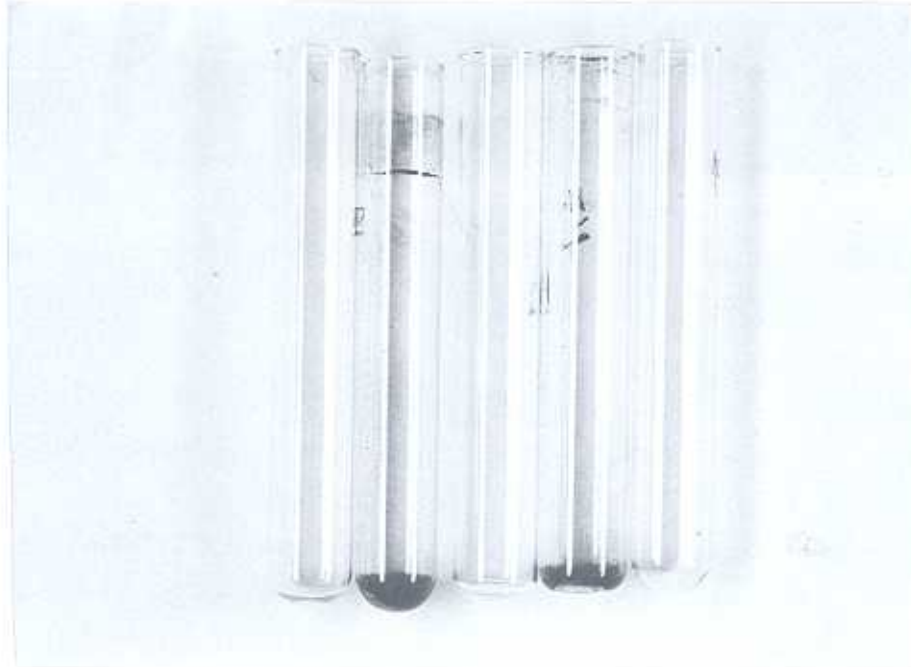
Slime Üretiminin İncelenmesi: Suşların slime üretimini modifiye tüp adherans testi ile araştırıldı (3). Bu yöntemde Sabouraud Dekstroza Agar'da üretilmiş 24-48 saatlik kolonilerden bir lup dolusu, son konsantrasyonu %8 oranında glikoz içeren 10 ml. Sabouraud buyyon bulunan tüplere inoküle edildi. Tüpler 35°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra boşaltıldı. İki kez distile su ile yıkandıktan sonra %1 safranin ile boyandı. Tüp duvarlarındaki renkli yapışkan tabaka varlığı olumlu olarak kabul edildi. Ayrıca tüpler mikroskop altında da incelendi. Bu tabakanın hem makroskopik olarak izlenmesi hem de mikroskopik olarak maya ve

pseudohif yapılarının görülmesi kuvvetli; makroskopik olarak hafif ancak yine de mikroskopik olarak maya ve pseudohif yapılarının izlenmesi zayıf olumlu olarak kabul edildi. Besiyeri ile hava kesişimindeki boya tutulmaları negatif olarak değerlendirildi. Her suş iki kez test edildi ve birbirinden bağımsız olarak iki kişi tarafından incelendi.

İstatistiksel analiz: "Slime" üretimini suşların soyutlandığı bölgelere göre dağılımları X^2 ve Fisher'in kesin X^2 testleri kullanılarak karşılaştırıldı. Bu amaçla Epi Info Version (Statcalc) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Araştırmamızda, toplam 148 Candida suşunun 12'sinin (%8.11) kuvvetli, 14'ünün (%9.46) ise zayıf "slime" oluşturduğu saptanmıştır. "Slime" üretimi olumlu ve olumsuz olarak değerlendirilen 2 suşun görünümü Şekil 1'de izlenmektedir.



Şekil 1: Modifiye tüp adherans testi ile "slime" olumlu ve olumsuz bulunan suşların görünümü

"Slime" olumlu olarak saptanan suşların 16'sı kan-kateter, 4'ü idrar-sonda, 2'si abse-püy, 1'i balgam, 1'i ağız sürüntüsü, 1'i vaginal sürüntü. 1'i de safra örneğinden soyutlanmıştır. Suşların soyutlandığı örneğe göre "slime" olumluluk oranları Tablo I'de görülmektedir. Buna göre kan-kateter örneklerinden soyutlanan suşlar ile idrar,ağız-dil-boğaz izolatları arasında "slime" üretimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($\chi^2=8.14$, $p=0.004$ ve $\chi^2=9.75$, $p=0.001$). Bu suşlardaki "slime" üretim oranı, diğer bölgelerden soyutlananlardaki oranlarla karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.107$ ve $p=0.234$).

C.albicans, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.guilliermondii* ve *C.glabrata* suşlarının sırasıyla 10,9,1,4,2'sinde değişik oranlarda "slime" üretimi gözlenmiştir. Olumlulukların suşlara göre dağılımı Tablo II'de belirtilmiştir.

TARTIŞMA

Candida türleri hastane infeksiyon etkenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. İmplant kateterler özellikle intravasküler olanlar bu infeksiyonlar ile ilişkilendirilen bir risk faktörüdür (7). Diğer yabancı cisim infeksiyonları gibi kateter infeksiyonları da patojen, konakçı ve yabancı cisim yüzeyi arasındaki karmaşık etkileşim sonucu gelişmektedir. Kateterler, mikroorganizmaların ekstrasellüler bir matriks içindeki hücrelerden meydana gelen adheran biyofilmler oluşturabileceği yüzeyler yaratır (8). Kateter yüzeyi bir süre sonra mikroorganizmaların ürettiği glikokaliks ile kaplanmış konakçı proteinleri ve infekte eden ajan mikrokolonilerinden oluşan bir biyofilm ile örtülür. Başta fibronektin ve fibrin olmak üzere bir çok konakçı proteinleri de yapısmada rol oynamaktadır. Biyofilmlerdeki mikrobiyal faktör ise "slime" yapısıdır (2).

Tablo I. Suşların soyutlandığı bölge ve "slime" üretimi arasındaki ilişki

	Kan-kateter	İdrar-sonda	Ağız-dil-boğaz-	Püy-abse-yara	Balgam	Vaginal sürüntü	Spiral	Parasentez-torasentez	Safra	Gaita
Çalışılan suş sayısı	39	39	27	15	7	7	5	4	3	2
Slime saptanan suş sayısı	16	4	1	2	1	1	-	-	1	-
%	41.0	10.3	3.7	13.3	14.3	14.3	-	-	33.3	-

Tablo II. Olumlu suşların türlere göre dağılımı

SLIME	<i>C.albicans</i> (n=101)	<i>C.tropicalis</i> (n=20)	<i>C.parapsilosis</i> (n=8)	<i>C.guilliermondii</i> (n=8)	<i>C.glabrata</i> (n=5)	<i>C.kefyr</i> (n=4)	<i>C.krusei</i> (n=2)
Kuvvetli pozitif	2 (%1.98)	7(%35.0)	-	2	1	-	-
Zayıf pozitif	8 (%7.92)	2(%10.0)	1	2	1	-	-

Çalışmamıza alınan *Candida* türleri arasında en yüksek oranda "slime" üretimi *C.tropicalis* suşlarında izlenmiştir. Bunun dışında *C.parapsilosis*, *C.guilliermondii* ve *C.glabrata* türlerinde de değişik oranlarda "slime" yapımı saptanmıştır (Tablo II). *C.albicans* suşlarının 2'sinde (%1.98) kuvvetli, 8'inde (%7.92) ise zayıf "slime" üretimi gözlenmiştir. Yüce ve arkadaşları (9) 63 suşun 1'inde (%1.6) kuvvetli, 6'sında (%9.5) zayıf; Orhon ve arkadaşları (10) 82 suşun 3'ünde (%3.6) kuvvetli, 7'sinde (%8.5) zayıf "slime" üretimi saptamıştır. Bizim sonucumuz, diğer araştırmalar ile paralel doğrultuda olup, bu suşlarda "slime" faktörü yapımının söz konusu olduğunu ancak bunun *C.albicans* suşları için çok önemli bir virulans faktörü olmadığını göstermektedir. Hawser ve arkadaşları (11) *C.albicans*'ın ürettiği biyofilmlerin maya, hif ve yalancı hiflerden oluştuğunu ve bunların amfoterisin B ve flukonazol dahil bir çok antifungal ajana dirençli olduğunu saptamıştır. Bu durumda infeksiyon kaynağı olan bölgedeki *C.albicans* suşlarının eradikasyonunda büyük bir sorun yaşanacaktır. Bu sorun; ya implantın çıkarılması ile çözülecek ya da sürekli olarak septisemi riski söz konusu olacaktır.

Çalışmamıza alınan 8 *C.parapsilosis* suşunun 1'inde "slime" üretimi saptanmıştır. Branchini ve arkadaşları (3) kan ve kateter kültürlerinden soyutlanan 31 *C.parapsilosis* suşunun 21'inde (%67) kuvvetli, 4'ünde (%13) zayıf; Girmenia ve arkadaşları (12) santral venöz kateter ile ilişkili kandidemi olgularından soyutlanmış 23 *C.parapsilosis* suşunun 7'sinde kuvvetli (%30.4), 7'sinde orta derecede (%30.4), 7'sinde de (%30.4)

zayıf "slime" yapımını izlemiştir. Pfaller ve arkadaşları (13) ise 60 izolatin 22'sinde (%37) kuvvetli, 17'sinde (%28) zayıf "slime" oluşumu gözlemiştir. Aynı çalışmada kan ve kateter izolatları *C.parapsilosis* suşlarının %83'ünde, diğer bölgelerden soyutlanan izolatların %53'ünde "slime" üretimi saptanmıştır. Bizim çalışmamızda sayı azlığı nedeni ile değerlendirme yapmak doğru olmayacaktır ancak diğer çalışmalara göre daha düşük oranda "slime" yapımı saptamamızın nedeni her bölgeden soyutlanan suşların çalışmamıza dahil edilmesi olabilir. Nötropenik fareler üzerinde yapılan çalışmalarda biyofilm yapımının *C.parapsilosis* suşları için potansiyel bir virulans faktörü olduğu belirlenmiştir. Öte yandan bu suşlar için "slime" üretimi derecesi ile antifungal duyarlılıklar arasında bir ilişki saptanmamıştır (12).

Kateterler ve diğer takılan aletlerin üzerindeki mikrobiyal biyofilmlerin hem konak defans faktörlerine hem de antimikrobiyal ajanlara dirençli olması nedeni ile bir infeksiyon rezervuarı oluşturduğu bildirilmektedir (14). "Slime", polimorf nüveli lökositlerin kemotaksisinin inhibisyonu ile opsonizasyon ve fagositoza zıt etki göstermektedir. Ayrıca, bu hücrelerin degranülasyonunu indükleyebildiği ve oksijene bağımlı metabolik aktivitelerini inhibe edebildiği belirtilmektedir (15). Organizmaların, kateterlerde oluşan bu biyofilmlerden ayrılması her zaman septisemiye yol açabileceğinden büyük önem taşımaktadır (16). Bu açıdan; infeksiyon riskinin belirlenmesinde, hastalığın erken tanısında ve sağaltım protokolünün saptanmasında "slime" faktörünün araştırılması gerekli gibi

gözükmektedir.

Genellikle florada bulunduğu kabul edilen ancak "slime" oluşumu ile kateter infeksiyonlarında etken olabilen *Staphylococcus epidermidis* suşları üzerinde yapılan bir çalışmada kontaminant suşlar ile gerçek bakteriyemi etkeni suşlar "slime" üretimi açısından karşılaştırılmış ve bakteriyemi etkeni suşların istatistiksel olarak daha fazlasının "slime" oluşturabildiği saptanmıştır. Bu sonuç doğrultusunda kontaminant ve etken suşların ayırımında "slime" yapımının saptanmasının önemli olduğu belirtilmiştir (17). Benzer durum *Candida* türleri için de söz konusu olabileceğinden

"slime" faktörünün saptanması kontaminant ve etken ayırımında da yardımcı olabilir. Ayrıca çalışmamızda en yüksek oranda "slime" üretiminin kan ve kateter örneklerinden soyutlanan suşlar olduğu düşünülürse, "slime" yapımının fungemi ve kateterlere adheransda önemli bir rol oynadığı görülmüştür.

Sonuçlarımız ışığında; özellikle albicans dışı *Candida* türleri açısından slime üretiminin önemli bir virulans faktörü olduğunu ve bu faktörün soyutlanan suşlarda diğer patojenite testleri yanında incelenmesinin yararlı olacağını söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Salzman MB, Rubin LG. Intravenous catheter-related infections. *Adv Pediatr Infect Dis* 1995; 10:337-368
2. Raad II. The pathogenesis and prevention of central venous catheter-related infections. *Middle East J Anesthesiol* 1994; 12:381-403.
3. Branchini ML, Pfaller MA, Rhine-Chalberg J, Frempong T, Isenberg HD. Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol* 1994; 32:452-456.
4. Christensen GD, Barker LP, Mawhinney TP, Baddour LM, Simpson WA. Identification of an antigenic marker of slime production for *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Immun* 1990; 38:2906-2911.
5. Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* 1982; 37:318-326.
6. Franson TR, Sheth NK, Rose HD, Sohnle PG. Scanning electron microscopy of bacteria adherent to intravascular catheters. *J Clin Microbiol* 1984; 20:500-505.
7. Goldman DA, Pier GB. Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6: 176-192.
8. Tunney MM, Gorman SP, Patrick S. Infection associated with medical devices. *Rev Med Microbiol* 1996; 7:195-205.
9. Yüce A, Yücesoy M, Yuluğ N. Detection of slime production among isolates of *Candida albicans*. *İnfeksiyon Derg* 1996; 10:267-269.
10. Orhon H, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Tünger Ö, Sivrel A. İnfeksiyon etkeni olan *Candida albicans* suşlarında slime üretimi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları. *Tropical Hastalıklar Kongresi*, (15-20 Haziran 1998, Van) Program ve bildiri özetleri kitabı.
11. Hawser SP, Douglas LJ. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:2128-

- 2131.
12. Girmenia C, Martino P, De Bernardis F, et al. Rising incidence of *Candida parapsilosis* fungemia in patients with hematologic malignancies: Clinical aspects, predisposing factors, and differential pathogenicity of the causative strains. *Clin Infect Dis* 1996; 23:506-514.
 13. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ. Variations in DNA subtype, antifungal susceptibility, and slime production among clinical isolates of *Candida parapsilosis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 21:9-14.
 14. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Ann Rev Microbiol* 1987; 41:435-464.
 15. Jansen B, Schumacher-Perdreau F, Peters G, et al. New aspects in the pathogenesis and prevention of polymer-associated, foreign-body infections caused by coagulase-negative staphylococci. *J Invest Surg* 1989; 2:361-380.
 16. Baillie GS, Douglas LJ. Iron-limited biofilms of *Candida albicans* and their susceptibility to amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:2146-2149.
 17. Mulder JG, Degener JE. Slime-producing properties of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures. *Clin Microbiol Infect* 1998; 4:689-694.