

Candida albicans Suşlarının Fosfolipaz, Esteraz ve Slime Aktivitelerinin Enfeksiyon-Kolonizasyon Ayırımındaki Rollerini

Roles of Phospholipase, Esterase and Slime Activities of *Candida albicans* Strains in Infection-Colonisation Differentiation

Uz.Dr. Nilüfer PEKİNTÜRK,^a
Doç.Dr. Kenan DEĞERLİ,^b
Doç.Dr. Nuri ÖZKÜTÜK,^b
Yrd.Doç.Dr. Talat ECEMİŞ,^b
Doç.Dr. Semra KURUTEPE,^b
Prof.Dr. Beril ÖZBAKKALOĞLU^b

^aManisa Devlet Hastanesi,
^bTıbbi Mikrobiyoloji AD,
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Manisa

Geliş Tarihi/Received: 25.02.2011
Kabul Tarihi/Accepted: 05.08.2011

Bu çalışma Celal Bayar Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir ve KLİMİK 2005, XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (16-20 Kasım 2005, Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

Yazışma Adresi/Correspondence:
Doç.Dr. Kenan DEĞERLİ
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Manisa,
TÜRKİYE/TURKEY
kdegerli@yahoo.com

ÖZET Amaç: Bu çalışmada, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *C. albicans* suşlarında, “slime” faktörü, fosfolipaz ve esteraz aktivitelerinin varlığı, virülans faktörü olarak etkinlikleri ve aralarındaki ilişkilerin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla hasta örneklerinden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen (enfeksiyon grubu) 50 ve kontrol grubunun ağız sürüntülerinden izole edilen (kontrol grubu) 50 *C.albicans* kökeninin virülans faktörleri incelenmiş ve virülans faktörlerinin kolonizasyon ve enfeksiyon ayırımındaki rolleri araştırılmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada referans suş olarak *C. albicans* ATCC 10039 ve hastanemizdeki çeşitli kliniklerde tedavi gören hastalardan alınan klinik örneklerden invaziv enfeksiyon etkeni olarak soyutlanan 50 adet *C. albicans* suşu kullanılmıştır. Steril vücut bölgelerinden ve doğrudan incelemede yalancı hişlerin görüldüğü klinik örneklerden izole edilen bu suşlar, enfeksiyon etkeni olarak değerlendirilmiş, *C. albicans* olarak tanımlanması amacıyla çimlenme borusu ve klamidospore oluşumu incelenmiştir. Fosfolipaz, esteraz ve “slime” aktivitesinin saptanması için sırasıyla yumurta sarılı agar, Tween 80 agar ve Kongo kırmızılı beyin-kalp infüzyon agar besiyerleri kullanılmıştır. **Bulgular:** Enfeksiyon etkeni *C.albicans* suşlarında fosfolipaz, esteraz ve “slime” aktiviteleri ile kontrol grubuna ait değerler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla p= 0,357; p= 0,842; p= 0,841). Virülans faktörleri arasındaki tutarlılık incelendiğinde, hasta grubunda testler arasında anlamlı ilişki saptanmazken, kontrol grubunda sadece esteraz/fosfolipaz birlikteliğinin gözlenen tutarlılığı anlamlı bulunmuştur (K değeri= + 0,35, p= 0,001) **Sonuç:** Sonuç olarak, çalışmada *C.albicans*'ın neden olduğu enfeksiyonun oluşum mekanizmasında mikroorganizmaya ait birçok virülans faktörünün rolü olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Candida albicans*; fosfolipaz; esteraz; “slime”

ABSTRACT Objective: This study investigated slime factor, phospholipase and esterase activities of *C. albicans* strains isolated as the infectious agent from healthy individuals, their effectiveness as virulence factors and interactions between each other. For this purpose, virulence factors of 50 *C. albicans* strains isolated from specimens as infectious agent (infection group) and 50 *C.albicans* isolates obtained from oral smears of the control group (control group) were analyzed and roles of virulence factors in differentiation of colonisation and infection were investigated. **Material and Methods:** *C.albicans* ATCC 10039 and 50 *C.albicans* strains isolated from clinical specimens of patients who were treated in various clinics of our hospital were used as reference strains. The strains isolated from sterile body sites and from clinical specimens containing pseudohyphae on direct examination were considered as infectious agent and were identified as *C.albicans* by germ tube test and chlamidospore formation. Yalc sac agar medium was used to detect phospholipase activity, Tween 80 agar medium was used to detect esterase activity and Kongo red brain-heart infusion agar medium was used to detect slime activity. **Results:** There was no significant difference in terms of slime, phospholipase and esterase activities of *C. albicans* strains isolated from patients compared to controls (p= 0.357, p= 0.842, p= 0.841). Consistency analysis between virulence factors revealed no significant difference in the patient group. In the other hand, in the control group, esterase/phospholipase coexistence consistency was significant (K value= +0.35, p= 0.001). **Conclusion:** In conclusion, we suggest that many virulence factors of *C. albicans* have important roles in the development of *C. albicans*-related infections.

Key Words: *Candida albicans*; phospholipase; esterase; slime

doi:10.5336/medsci.2011-23496

Copyright © 2012 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012;32(1):171-6

Doğada yaygın olarak bulunan mantar türlerinin önemi, tanı ve tedavi yaklaşımlarındaki gelişmelere paralel olarak, giderek artmaktadır.¹ Yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılmaya başlanması ve son yıllarda kemoterapi veya hastalık sonucu bağışıklığı baskılanmış vakaların artması, mantar enfeksiyonlarına duyarlı kişilerin sayısını artırmıştır.² Mantar enfeksiyonları arasında en sık karşılaşılan etkenler kandidalardır.³ Kandida enfeksiyonlarında etken olarak ilk sırada *Candida albicans* yer almaktadır.^{3,4}

C. albicans, deri, gastrointestinal sistem ve vajinada kolonize olabilmektedir.^{1,5,6} Normal koşullarda nadiren hastalık yapabilen bu tür, fırsatçı bir patojendir ve konak savunmasının herhangi bir nedenle yerel veya sistemik olarak kırılması sonucu hastalık oluşturmaktadır. Deri ve mukozaların tutulduğu yüzeysel enfeksiyonlardan, derin ve sistemik kandidozlara kadar değişen çeşitlilikte hayatı tehdit eden enfeksiyonlara neden olabilmektedir.⁵

Kandida enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan türün *C. albicans* olması, bu türe ait virülans faktörlerinin hastalık patogenezinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda, *C. albicans*'ın çeşitli virülans faktörlerine sahip olduğu gösterilmiştir. Bunlardan "slime" faktörünün, maya hücrelerini konağın savunma mekanizmalarından koruyan ve konak hücrelerine, protez ve kateterlere tutunup daha kolay kolonizasyona ve enfeksiyonlara yol açmasını sağlayan bir virülans faktörü olduğu bilinmektedir. Maya hücrelerinin epitel hücrelerine girerek derin dokulara invazyonunda rol oynayan fosfolipaz ve esteraz gibi sitolitik enzimleri de, *C. albicans*'ın önemli virülans faktörlerindedir.⁷

Bu çalışmada, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *C. albicans* suşlarında, "slime" faktörü, fosfolipaz ve esteraz aktivitelerinin varlığı, virülans faktörü olarak etkinlikleri ve aralarındaki ilişkilerin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda, referans suş olarak *C. albicans* ATCC 10039 ve hastanemizdeki çeşitli kliniklerde tedavi gören hastalardan alınan klinik örneklerden

invaziv enfeksiyon etkeni olarak soyutlanan 50 adet *C. albicans* suşu kullanılmıştır. Steril vücut bölgelerinden ve doğrudan incelemede yalancı hiflerin bulunduğu klinik örneklerden izole edilen suşlar enfeksiyon etkeni olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubu olarak, sağlıklı yetişkinlerin oral sürüntülerinden izole edilen 50 adet *C. albicans* suşu kullanılmıştır. Klinik örneklerden ve kontrol grubundan izole edilen maya suşlarının, *C. albicans* olarak tanımlanması amacıyla *çimlenme borusu* ve klamidospore oluşumu incelenmiştir.

Fosfolipaz aktivitesinin saptanması amacıyla Samaranayake ve ark.'nın metodu uygulanmıştır.⁸ Steril distile su kullanılarak, Mc Farland No:1'e uygun bulanıklıkta süspansiyonları hazırlanan suşlardan 10'ar ml, 1 M NaCl, 0,005 M CaCl₂, %8 steril yumurta sarısı eklenmiş Sabouraud-Dextroz-Agar (SDA) besiyeri yüzeyine inoküle edilmiş ve 30°C'de, nemli ortamda dört gün enkübe edilmiştir. Fosfolipaz aktivitesi (Pz değeri), koloni çapının, koloni etrafındaki presipitasyon zonunun oluşturduğu toplam çapa bölünmesi ile hesaplanmıştır. Pz değeri 1,00'e eşit olan suşlar fosfolipaz olumsuz olarak değerlendirilirken, bu değer 1,00'den küçük ise fosfolipaz olumlu kabul edilmiştir.

Esteraz aktivitesinin belirlenmesi için Tween 80 Agar kullanılmıştır. Tween 80 Agar besiyeri yüzeyine 10 mm çapında bir daire şeklinde inoküle edilen suşlar, 30°C'de on gün süreyle enkübe edilmiş, plaklar 2-3, 4-7 ve 8-10. günlerde esteraz aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. İnoküle edilen bölgenin etrafında ışığı geçiren halenin varlığı esteraz olumluluğu olarak kabul edilmiştir.

"Slime" faktörünün varlığı, Kongo kırmızılı beyin-kalp infüzyon (KKBKI) agar yöntemi ile incelenmiştir. KKBKI besiyerine inoküle edilen suşlar, 35°C'de 48 saat enkübe edilmiş, bu süre sonunda besiyerinde koyu kırmızı koloni oluşturan suşlar "slime" olumlu, pembe koloni oluşturanlar ise "slime" olumsuz olarak değerlendirilmiştir.

Elde edilen veriler SPSS for Windows 11,0 istatistik paket programında değerlendirilmiştir. Enfeksiyon ve kontrol gruplarının farklı virülans faktörü üretim oranları arasındaki farklılıklar ve enfeksiyon grubundaki örnek gruplarının "slime"

üretimi oranları arasındaki farklılık Ki-kare testi ile analiz edilmiştir. Fosfolipaz/esteraz, esteraz/"slime" ve fosfolipaz/"slime" tutarlılığı hasta ve kontrol gruplarında ayrı ayrı olmak üzere gözlenen tutarlılık ve kapa değerleri ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Toplam 272 sağlıklı yetişkinden ağız sürüntüsü örnekleri alınmış ve toplam 61 örnekten *Candida* türleri izole edilmiştir. Soyutlanan 61 *Candida* suşunun 50'si *C. albicans* olarak tanımlanmış ve kolonizasyon gösteren kontrol grubu başlığında toplanmıştır. Hasta örneklerinden izole edilen enfeksiyon etkeni 50 *C. albicans* suşu, enfeksiyon grubu başlığı altında çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınan suşların 25 (%50)'i idrardan, 12 (%24)'si solunum örneklerinden, 12 (%24)'si steril vücut sıvı ve dokularından (kan, periton sıvısı, özofagus biyopsisi örneği, akciğer biyopsisi örneği ve katater sürüntüsü vb.) ve 1 (%2)'i dışkı örneklerinden izole edilmiştir.

Kontrol grubunda ve enfeksiyon grubunda saptanan fosfolipaz, esteraz ve "slime" faktörü olumlulukları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 1).

İdrar örneklerinden soyutlanan suşların 14 (%56)'ünde, solunum örneklerinden soyutlananların 6 (%50)'sında ve diğer örneklerden elde edilenlerin 8 (%61,5)'inde "slime" faktörü saptanmıştır. "Slime" aktivitesi açısından vücut bölgeleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Ki-kare $p=0,845$).

Fosfolipaz- esteraz, esteraz-"slime" ve fosfolipaz-"slime" tutarlılığı hasta ve kontrol gruplarında ayrı ayrı olmak üzere, gözlenen tutarlılık ve kapa değerleri ile değerlendirilmiş, hasta grubunda testler arasında anlamlı ilişki saptanmazken kontrol grubunda yalnızca esteraz/fosfolipaz tutarlılığı anlamlı bulunmuştur (K değeri= + 0,35, $p=0,001$) (Tablo 2, 3).

TABLO 1: Kontrol grubunda ve enfeksiyon grubunda fosfolipaz, esteraz ve "slime" faktörü olumluluk oranları.

Virülans faktörleri	Kontrol grubu (n=50)		Enfeksiyon grubu (n=50)		p değeri
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Fosfolipaz	42 (84)	46 (92)	46 (92)	46 (92)	$p=0,357$
Esteraz 1-3gün	38 (76)	36 (72)	36 (72)	36 (72)	$p=0,820$
Esteraz 4-7gün	48 (96)	48 (96)	48 (96)	48 (96)	$p=1,000$
Esteraz 8-10gün	48 (96)	48 (96)	48 (96)	48 (96)	$p=1,000$
"Slime" faktörü	26 (52)	28 (56)	28 (56)	28 (56)	$p=0,841$

TABLO 2: Hasta grubunda virülans faktörlerinin tutarlılığı (n= 50).

Virülans faktörleri	+		-		Gözlenen tutarlılık*	K değeri	p
	+	-	+	-			
Esteraz/"Slime"	56,0	42,0	0,0	2,0	58,0	0,05	$p=0,2$
Esteraz/Fosfolipaz	90,0	8,0	2,0	0,0	90,0	- 0,03	$p=0,7$
"Slime"/Fosfolipaz	50,0	6,0	42,0	2,0	52,0	- 0,06	$p=0,4$

*Gözlenen tutarlılık=(pozitif-pozitif) + (negatif-negatif)/N

TABLO 3: Kontrol grubunda virülans faktörlerinin tutarlılığı (n=50).

Virülans faktörleri	+		-		Gözlenen* tutarlılık	K değeri	p
	+	-	+	-			
Esteraz "Slime"	52,0	44,0	0,0	4,0	56,0	0,08	$p=0,1$
Esteraz Fosfolipaz	84,0	12,0	0,0	4,0	88,0	0,35	$p=0,001$
"Slime" Fosfolipaz	42,0	10,0	42,0	6,0	48,0	- 0,06	$p=0,5$

*Gözlenen tutarlılık=(pozitif-pozitif) + (negatif-negatif)/N

TARTIŞMA

Kandida türlerinin doğada yaygın olarak bulunduğu ve insanlarda normal vücut florası elemanları arasında yer aldığı bildirilmiştir. Bu mantar türünün deri ve mukozalarda kolaylıkla kolonize olabileceği belirtilmiştir. Normal toplumda oral taşıyıcılığın %2-37 olduğu bildirilmiştir.^{9,10} Bu çalışmada, sağlıklı erişkinlerin ağız sürüntülerinden yapılan ekimlerde taşıyıcılık oranı %22,4 bulunmuştur. Bu sonuç daha önce yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir.

Florada en sık bulunan tür olan *C. albicans*, aynı zamanda kandidozlardan da en sık izole edilen etkindir.⁶ *C. albicans*'ın oluşturduğu enfeksiyon genellikle endojen kaynaklıdır. *C. albicans*'ın enfeksiyon oluşturmasında konak faktörlerinin yanı sıra, sahip olduğu virülans faktörlerinin yeri literatürde yaygın olarak belirtilmekte ve çalışmaların çoğunda enfeksiyon etkeni olarak izole edilen kökenlerin daha virulan olduğu bildirilmektedir.¹¹⁻¹³ Normalde deri ve mukozalarda kolonize olabilen *C. albicans*'ın klinik örneklerden izole edilmesi, enfeksiyonu tanımlamada güçlükler neden olmaktadır. Fırsatçı bir mantar olan *C. albicans*'ın enfeksiyon oluşturabilmesi için konağın savunma sistemini kırabilecek birtakım virülans faktörlerine sahip olması gerekmektedir. Fosfolipaz, esteraz gibi hidrolitik enzimlerin salınımı ve "slime" aktivitesi, birçok araştırmacı tarafından çalışılmış önemli virülans faktörlerindedir. Bu çalışmada enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve sağlıklı erişkin ağız florasında bulunan *C. albicans* kökenlerinde çeşitli virülans faktörleri bakılmış, enfeksiyon ve kolonizasyon ayırımında bu faktörlerin rolleri incelenmiştir.

Çalışmada enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 50 *C. albicans* suşunun 46'sında (%92), sağlıklı yetişkinlerin ağız sürüntülerinden izole edilen 50 *C. albicans* suşunun ise 42'sinde (%84) değişen derecelerde fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. Price ve ark.,¹⁴ fosfolipaz aktivitesinin tespiti için yeni bir plak metodu geliştirmiş ve bu yöntemle değişik klinik örneklerden izole edilen *C. albicans* kökenlerinin fosfolipaz aktivitelerini, kandan %55, yarıdan %50 ve idrardan elde edilenlerden %30 olarak bul-

muşlardır. Samaranayeke ve ark., Price yöntemini modifiye ederek yaptıkları çalışmada, *C. albicans* kökenlerinin %79'unda fosfolipaz aktivitesi bulunmuşlardır.¹⁵ Yapılan farklı çalışmalarda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C. albicans* kökenlerinin fosfolipaz aktiviteleri %61-94 arasında değişmektedir.¹⁶⁻¹⁸ Çalışmamızda bulduğumuz fosfolipaz olumluluğunun diğer çalışmalarla uyumluluk göstermediği görülmüştür.

Çalışmamızda, enfeksiyon grubunda fosfolipaz olumlu suş sayısı (n= 46, %92), kontrol grubunda elde edilenden (n= 42, %84) fazla bulunmuştur. İki grubun Pz değerlerinin dağılımı incelendiğinde; enfeksiyon grubundaki suşların %66'sının Pz değerlerinin 0,45-0,70 arasında, kontrol grubundaki suşların ise %74'ünün Pz değerlerinin 0,71-1,00 arasında olduğu bulunmuştur. Enfeksiyon grubundaki suşların Pz değerleri ortalama $0,68 \pm 0,14$ olarak tespit edilmiş ve kontrol grubuna (Pz değeri ortalama $0,79 \pm 0,13$) oranla anlamlı ölçüde (T-test, p= 0,00) düşük bulunmuştur. Bu durum, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen suşlarda fosfolipaz aktivitesinin, kolonizasyon gösteren suşlara oranla daha fazla olduğunu göstermektedir (Pz değeri azaldıkça fosfolipaz aktivitesi artmaktadır).

Bu çalışmada enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve kontrol grubundaki *C. albicans* suşlarının esteraz aktiviteleri arasında anlamlı fark bulunmamış, 4-7, 8-10. günlük enkübasyonlar sonunda da bu sonucun değişmediği görülmüş, her iki grupta da esteraz aktivitesi %98 olumlu bulunmuştur. Susever ve ark., lösemili çocukların çeşitli klinik örneklerinden izole ettikleri 60 *C. albicans* suşunda %91,6 esteraz aktivitesi bulunmuşlardır.¹⁹ Yücesoy ve ark. oral kandidozlu ve sağlıklı bireylerden izole edilen *C. albicans* suşlarını sırasıyla, %76 ve %89,7 oranlarında esteraz olumlu bulunmuşlardır.²⁰ Aradaki fark anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızın bulguları bu çalışmalarla uyumlu bulunmuş ve bu bulgular doğrultusunda *C. albicans* suşları tarafından salgılanan esteraz enziminin virulansta önemli olmadığı düşünülmüştür.

Bu çalışmada, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *C. albicans* suşlarının (n= 28, %56), kontrol

grubuna (n= 26, %52) oranla daha fazla “slime” ürettiği tespit edilmiş, fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Arslan ve Fındık, çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 100 *C. albicans* suşunun %48’inin “slime” ürettiğini tespit etmişlerdir.²¹ Bunun dışında, farklı yöntemlerle yapılan çeşitli çalışmalarda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C. albicans* suşlarında “slime” üretimi %9,7-%78,5 arasında değişen oranlarda bulunmuştur.²²⁻²⁴ Bu çalışmanın sonuçları diğer çalışmalarla uyumluluk göstermiştir. Dolapçı ve Tekeli, çeşitli kandida türlerinde “slime” üretimini araştırmışlar ve kandan izole edilen suşların, boğaz ve vaginadan izole edilenlere oranla daha fazla “slime” ürettiklerini saptamışlardır.²⁵ Bu çalışmada, kandan izole edilmiş olan 8 *C. albicans* suşunun 3’ünde (%37,5) “slime” üretimi tespit edilmiş ve diğer örneklerden izole edilen suşlara göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Çalışmamızdaki oranın düşük olmasının, örnek çeşitliliğine oranla suş sayısının yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalıştığımız virülans testleri arası tutarlılık incelendiğinde, sadece kontrol grubunda esteraz/fosfolipaz arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (K değeri= + 0,35, p= 0,001). Yücesoy ve Karaman çalışmalarında, oral kandidozlu ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *C. albicans* suşlarında fosfolipaz ve esteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir.²⁰ Ancak çalışmalarında iki test ayrı ayrı değerlendirilmiş, testler arasındaki tutarlılık ile ilgili bulguya rastlanmamıştır. Arslan ve Fındık, klinik örneklerden izole ettikleri *C. albicans* suşlarında fosfolipaz, “slime” ve proteinaz aktivitelerini araştırmışlar ve fosfolipaz ve “slime” aktivitesi arasında anlamlı ilişki saptamamışlardır.²¹

Sonuç olarak, araştırılan virülans faktörlerinden fosfolipaz enzim aktivitesinin, enfeksiyon etkeni kökenlerde, kolonizasyon gösteren suşlara oranla daha fazla olduğu saptanmış, klinik örneklerden izole edilen *C. albicans* suşlarının enfeksiyon-kolonizasyon ayırıcı tanısında farklı virülans faktörlerinin etkinliğinin araştırılmasının gerektiği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Maenza JR, Merz WG. *Candida albicans* and related species. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. *Infectious Diseases*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1998. p.2313-22.
- Yücel A. [The past of *Candida*]. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyum Kitabı*. 1. Baskı. Eskişehir: OGÜ Basımevi; 2002. p.3-27.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM. *Candida albicans*. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997. p.1044-69.
- Edwards JE. *Candida species*. In: Mandell GL, Dolin R, Bennett JE, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill-Livingstone; 2000. p.2656-74.
- Warren NG, Hazen KC. *Candida, Cryptococcus, and other yeasts of medical importance*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington, DC: ASM Press; 1999. p.1184-99.
- Tümbay E. [*Candida species*]. Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. p.1081-5.
- Yücel A, Kantarcıoğlu AS. [Pathogenicity determinants of *Candida*]. *Cerrahpaşa Journal of Medicine* 2000;31(3):172-86.
- Samaranayake LP, Raeside JM, MacFarlane TW. Factors affecting the phospholipase activity of *Candida* species in vitro. *Sabouraudia* 1984;22(3):201-7.
- Browner DL, Cutler JE. Oral *Candida albicans* isolated from nonhospitalized normal carriers, immunocompetent hospitalized patients, and immunocompromised patients with or without acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Microbiol* 1989;27(6):1335-41.
- Fung JC, Donta ST, Tilton RC. *Candida* detection system (CAND-TEC) to differentiate between *Candida albicans* colonization and disease. *J Clin Microbiol* 1986;24(4):542-7.
- Chaffin WL, López-Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martínez JP. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62(1):130-80.
- Haynes K. Virulence in *Candida species*. *Trends Microbiol* 2001;9(12):591-6.
- Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* 2001; 9(7):327-35.
- Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia* 1982; 20(1):7-14.
- Samaranayake LP, Raeside JM, MacFarlane TW. Factors affecting the phospholipase activity of *Candida species* in vitro. *Sabouraudia* 1984;22(3):201-7.
- Kalkancı A, Kuştimur S, Bozdayı G, Biri A. [Some virulence factors in *Candida* isolates cause of vulvovaginal candidosis]. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı. 1. Baskı. Ankara: Sistem Ofset; 2001. p.239-40.
- Keçeli SA, Kolaylı F, Dündar V. [Detection of phospholipase activity in *Candida species*]. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı. 1. Baskı. Ankara: Sistem Ofset; 2001. p.243.
- Özkütük A, Ergon MC, Yuluğ N. [Detection of extracellular phospholipase activity on yeast-like fungi by yolk egg agar method]. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı. 1. Baskı. Ankara: Sistem Ofset; 2001. p.244-5.

19. Susever S, Ağırbaşı H, Erturan Z, Yeğenoğlu Y. [Investigation of esterase and hemolytic activity of *Candida albicans* strains isolated from children with leukemia]. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongre Kitabı. 1. Baskı. İstanbul: Çatı Grafik; 2003. p.363.
20. Yücesoy M, Karaman M. [Phospholipase and esterase activity of *Candida albicans* strains isolated from patients with oral candidosis and healthy individuals]. Turkish Journal of Infection 2003;17(4):483-6.
21. Arslan U, Fındık D. [In vitro investigation of virulence factors (proteinase, slime and phospholipase) in clinical isolates of *Candida albicans*]. Turkish Journal of Infection 2003;17(4):471-81.
22. Toroman ZA, Özdarendeli A, Seyrek A, Kılıç SS. Study on esterase activity in *Candida* species. 9th Congress of the European Confederation of Medical Mycology Book. 1st ed. Amsterdam: Monduzzi Editore, International Proceedings Division; 2003. p.217.
23. Gülenç S, Karadenizli A, Kolaylı F, Bingöl R. [Investigation of slime factor and proteinase activity in yeast species isolated from various clinical specimens]. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1999;32(3-4):235-8.
24. Zer Y, Balci I, Meriç G. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* isolated from intensive care unit patients. New Microbiol 2002;25(4):489-94.
25. Dolapçı I, Tekeli A. [Investigation of the production of slime factor from various *Candida* specimens]. 30. Türk Mikrobiyoloji Kongre Kitabı. 1. Baskı. Antalya: Başak Matbaacılık; 2002. p.315.