Özgün Araştırma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2026;60(4):494-506*/doi: 10.5578/mb.202604155

Geliş Tarihi (Received): 15.12.2025 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 07.08.2026

Yoğun Bakım Hastalarının İdrar Örneklerinden İzole Edilen *Candida* Türlerinde Biyofilm Oluşumunun ve *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 Genlerinin PCR ile Araştırılması

Investigation of Biofilm Formation and *als*1, *hwp*1 and *sap*1 Genes in *Candida* Species Isolated from Urine Samples of Intensive Care Patients Using PCR

Elif ATEŞ(ID), Asuman BİRİNCİ(ID), Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI(ID), Demet GÜR VURAL(ID), Kemal BİLGİN(ID), Canberk ÇINAR(ID)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Samsun, Türkiye.

**Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi tarafından (BAP04-B-2024-5528) desteklenmiştir.*

***Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında uzmanlık tezinden üretilmiştir.*

Makale Atıfı: *Ateş E, Birinci A, Tanrıverdi Çaycı Y, Gür Vural D, Bilgin K, Çınar C. Yoğun bakım hastalarının idrar örneklerinden izole edilen candida türlerinde biyofilm oluşumunun ve als1, hwp1 ve sap1 genlerinin PCR ile araştırılması. Mikrobiyol Bul 2026;60(4):494-506.*

ÖZ

Candida türleri, yoğun bakım ünitelerinde üriner sistem enfeksiyonları ve kandidüri ile ilişkili önemli fırsatçı etkenler arasındadır. Biyofilm oluşumu, kateter ilişkili enfeksiyonlarda kalıcılık ve antifungal tedavi başarısızlığı açısından klinik önem taşımaktadır. Bu çalışmada, yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastaların idrar kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinde biyofilm oluşturma yeteneğinin ve biyofilm ile ilişkili olabileceği bildirilen *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] ile araştırılması amaçlanmıştır. Pediatrik ve erişkin idrar kültürlerinden izole edilen toplam 70 *Candida* izolatı çalışmaya alınmıştır. Biyofilm oluşumu 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid (XTT) redüksiyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. *als*1, *hwp*1, *sap*1 genlerinin pozitifliğinin tespiti için PCR yapılmıştır. Toplam 63 izolatta (%90.0) biyofilm oluşumu saptanmıştır. Biyofilm oluşumu erişkin grupta (%97.1) pediatrik gruba (%82.8) göre fazla iken aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p= 0.106). *als*1, *hwp*1, *sap*1 genlerinin pozitifliği sırasıyla *Candida albicans* izolatlarında %69.6; %52.2; %69.6 olarak saptanırken, albicans dışı *Candida* izolatlarında %8.5; %6.4; %6.4 olarak saptanmış olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p< 0.001). *C.albicans* izolatlarının biyofilm üretenlerinde en sık saptanan gen profili *als*1-*hwp*1-*sap*1 üçlü pozitifliği olup, orta-güçlü biyofilm oluşturan izolatlarda bu gen kombinasyonu daha sık saptanmıştır. Çalışmamızda *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 genleri *C.albicans* izolatlarında, albicans dışı *Candida* izolatlarına göre belirgin şekilde daha sık saptanmıştır. Bu durum, söz konusu genlerin *C.albicans* biyolojisindeki yeri ile uyumludur. Kaynatma temelli DNA ekstraksiyonu ve primer sınırlılıkları nedeniyle, özellikle albicans dışı *Candida* türlerindeki negatif PCR sonuçları gen yokluğu olarak yorumlanmamalıdır. Pediatrik ünite verilerimiz yerel epidemiyolojiye katkı sunmakla birlikte; kesin sonuçlar için daha gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri ve daha büyük örneklem çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: *Candida; biyofilm; PCR.*

İletişim (Correspondence): *Dr. Elif Ateş, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (541) 369 68 23,* ***E-posta (E-mail):*** *drdoganelif@gmail.com*

ABSTRACT

Candida species are among the important opportunistic agents associated with urinary tract infections and candiduria in intensive care units. Biofilm formation is clinically significant in terms of persistence and antifungal treatment failure in catheter-related infections. This study aimed to investigate the biofilm-forming ability of *Candida* species isolated from urine cultures of patients followed in intensive care units and the *als*1, *hwp*1 and *sap*1 genes which have been reported to be associated with biofilm, using polymerase chain reaction (PCR). A total of 70 *Candida* isolates obtained from pediatric and adult urine cultures were included in the study. Biofilm formation was evaluated using the 2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT) reduction method. PCR was performed to detect positivity for the *als*1, *hwp*1 and *sap*1 genes. Biofilm formation was detected in a total of 63 isolates (90.0%). Biofilm formation was more frequent in the adult group (97.1%) than in the pediatric group (82.8%), but the difference was not statistically significant (p= 0.106). Positivity rates for *als*1, *hwp*1 and *sap*1 genes were determined to be 69.6%, 52.2% and 69.6% in *Candida albicans* isolates and 8.5%, 6.4% and 6.4% in non-albicans *Candida* species isolates respectively and the difference between the groups was statistically significant (p< 0.001). In *C.albicans* isolates, the most frequently detected gene profile in biofilm-producing isolates was the *als*1-*hwp*1-*sap*1 triple positivity and this gene combination was more frequently detected in isolates forming moderate to strong biofilms. In our study, *als*1, *hwp*1 and *sap*1 genes were detected significantly more frequently in *C.albicans* isolates compared to non-albicans *Candida* isolates. This is consistent with the role of these genes in *C.albicans* biology. Due to the limitations of boil-based DNA extraction and primers, negative PCR results, particularly for non-albicans *Candida* species, should not be interpreted as gene absence. While our pediatric unit data contribute to local epidemiology, more advanced extraction methods and larger sample sizes are needed for definitive results.

Keywords: *Candida; biofilm; PCR.*

GİRİŞ

Dünya genelinde hastane kaynaklı fungal enfeksiyonların büyük bir kısmında etken *Candida* türleridir. En sık görülen kandidoz etkeni *Candida albicans*'tır. Başlıca virülans faktörlerinden biri olan biyofilm oluşumu klinikte; antifungal direnç, kronik enfeksiyon gibi tablolara neden olabilir[1-3]. Biyofilm süreci maya hücrelerinin yüzeye adezyonu ile başlar; ardından çoğalma, olgunlaşma ve dağılma aşaması gelir. Adezyon, matriks üretimi, çoğalma, olgunlaşma ve dağılmayı sağlayan çok sayıda gen biyofilm oluşumunu düzenler[4].

C.albicans başta olmak üzere diğer *Candida* türlerinde de bulunan aglütinin benzeri sekans [agglutinin-like sequence (als)] 1; *als* gen ailesinden olup adezyon ve hif oluşumunda görevli hücre yüzeyi glikoproteinlerini kodlar. Hücre duvarı proteini [hyphal wall protein (hwp)] 1; *hwp* gen ailesi tarafından kodlanan ve maya hücre duvarında bulunan bir mannoproteindir. Başta *C.albicans* olmak üzere diğer *Candida* türlerinde de bulunabilen sekretuvar aspartil proteazlar [secreted aspartic proteases (sap)], *sap* gen ailesi tarafından kodlanan ve hif oluşumu, artan adezyon, fenotipik değişkenlik ile ilişkili hidrolitik enzim grubudur[1,2,5,6].

Birçok çalışma, hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının en az %10-15'inin çoğunluğu *C.albicans* olmak üzere çeşitli *Candida* türleri tarafından oluşturulduğunu ve kandidürinin özellikle yoğun bakım ünitelerinde yaygın olduğunu göstermiştir[7,8]. Kandidüri, çoğu zaman kolonizasyonu yansıtabilse de alt veya üst üriner sistem enfeksiyonunu ve invaziv kandidiyazis açısından riskli bir durumu gösterebilir[6-9].

Bu çalışmada, pediatrik ve erişkin yoğun bakım hastalarının idrar kültürlerinde saptanan *Candida* izolatlarında biyofilm oluşumunun ve biyofilm ile ilişkili olabileceği bildirilen seçilmiş virülans genlerine ait hedef bölgelerin uygulanan polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] protokolü ile saptanabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Pediatrik ve erişkin yoğun bakım izolatları ayrı gruplar halinde değerlendirilerek biyofilm oluşumunun ve gen pozitifliği açısından olası farklılıkların incelenmesi hedeflenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih: 24.04.2024 ve Karar no: 221).

Çalışma Tasarımı ve İzolatlar

Çalışmaya, 01.2019–01.2024 yılları arasında üniversite hastanesindeki pediatrik yoğun bakım ve 01.2024–06.2024 ayları arasında erişkin yoğun bakım ünitelerinden tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen idrar örneklerinden izole edilen toplam 70 *Candida* izolatı alındı. İzolatlar pediatrik ve erişkin yoğun bakım kökenli olmak üzere iki grup altında incelendi. Bu ayrım, yoğun bakım gruplarında biyofilm oluşturma düzeylerinin farklılaşabileceği varsayımıyla keşifsel karşılaştırma amacıyla yapıldı. Pediatrik gruptaki örnek sayısı az olduğu için iki grubu karşılaştırabilmek amacıyla erişkin grubun izolatları pediatrik grup ile benzer sayıda ve altı aylık sürede laboratuvara gönderilen erişkin yoğun bakım hastalarının izolatlarından rastgele seçildi. Her hastadan yalnızca bir izolat çalışmaya alındı.

İzolatların Tanımlanması

İdrar kültürlerinde maya kolonisi olarak değerlendirilen üremeler saflaştırılmak amacıyla Sabouraud dekstroz agara (SDA) pasajı yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. Saf olan kültürlerin tür tanımlaması için germ tüp testi, kromojenik agar, Pirinç-Tween 80 agar ve BDTM MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, MA) sistemi kullanıldı.

Biyofilm Aktivitesinin Belirlenmesi

Biyofilm aktivitesi Pierce ve arkadaşlarının[10] kullandığı 2,3-Bis(2- methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilid (XTT) yönteminin modifiye edilmesiyle araştırıldı: SDA'da 37 ºC'de 24 saat inkübasyon sonrası üreyen *Candida* izolatları 10 ml Yeast Pepton Dekstroz (YPD) sıvı besiyerine konuldu ve 30 °C'de 180 rpm'de 48 saat inkübe edildi. Üreme olan sıvı besiyeri içindeki maya hücreleri fosfat tamponlu salin (PBS) (pH= 7.0) ile üç kez yıkanarak ayrıldı (Pierce ve arkadaşları[10] YPD içerisinde inkübasyonu bir gece yapmıştır, çalışmamızda 48 saattir). Yıkama sonrası kalan çökeltiden 4 ml RPMI 1640 R6505 (Thermo) içinde 0.5 McFarland süspansiyon hazırlandı. Steril, 96 kuyucuklu düz tabanlı polistren mikrotitrasyon plağındaki (Isolab, Almanya) her kuyucuğa 100 µL suş süspansiyonlarından eklendi [Bu aşamadan önce RPMI, 165 mM N-morfolino propan sülfonik asit (MOPS, AFG Bioscience)] ile tamponlandı ve pH 7.0'ye ayarlandı). Her izolat aynı plakta üç farklı kuyucuğa konularak üçer kez test edildi. Tüm plaklarda negatif kontrol olarak altı kuyucuğa 100 µL RPMI ve pozitif kontrol olarak altı kuyucuğa

C.albicans ATCC 90028 suşu konuldu. Plaklar karanlıkta 37 °C'de 24 saat inkübe edildi; sonrasında kuyucuklar çok kanallı pipet kullanılarak 200 µL steril PBS ile üç kez yıkandı. Her kuyucuğa 100 µl XTT/ menadion solüsyonu eklenerek alüminyum folyo ile kapatıldı ve karanlıkta iki saat 37 °C'de inkübe edildi. Daha sonra plak ChroMate Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Reader opitk okuyucuda (Awareness Technology, ABD) 492 nm'de okutularak optik dansitometre (OD) değerleri belirlendi.

Veriler şu şekilde değerlendirildi: Her bir kuyucukta ölçülen OD değerinden negatif kontrol kuyucuğunun OD değeri çıkarılarak test değeri hesaplandı; her bir izolat için üç test değerinin aritmetik ortalaması alındı ve bu sonuç değeri olarak ifade edildi; negatif kontrol kuyucuklarının OD değerlerinin ortalamasına üç standart sapma eklenerek sınır değer hesaplandı ve sonuç değeri sınır değer ile karşılaştırıldı[11].

- İzolatın sonuç değeri < sınır değeri ise izolat negatif,
- Sınır değer <izolatın sonuç değeri <2 x sınır değer ise izolat zayıf pozitif,
- 2 x sınır değer <izolatın sonuç değeri <4 x sınır değer ise izolat orta derecede pozitif,
- İzolatın sonuç değeri >4 x sınır değer ise izolat güçlü pozitif olarak değerlendirildi.

Virülans Genlerinin Araştırılması

Moleküler analiz için SDA'da üreyen izolatlardan kaynatma yöntemi ile DNA ekstraksiyonu yapıldı[12]. Kısaca, koloniler steril distile su içinde süspanse edildi, ısı bloğunda kaynatıldı, soğutuldu ve santrifüj sonrası elde edilen süpernatant PCR kalıbı olarak kullanıldı. Kaynatma yöntemi, hızlı ve düşük maliyetli bir yaklaşım olmakla birlikte, *Candida* türlerinde hücre duvarı yapısına bağlı olarak DNA verimi türler arasında değişebilir[13]. Bu nedenle özellikle albicans dışı *Candida* izolatlarında negatif PCR sonuçları, gen yokluğunun yanı sıra ekstraksiyon ve amplifikasyon verimi açısından da dikkatle yorumlandı. Tablo I'deki primerler kullanılarak PCR yapıldı (SensoQuest Labcycler, Almanya). Bununla birlikte, kullanılan primerlerin tüm albicans dışı *Candida* türlerinde aynı duyarlılık ve özgüllükte çalışmayabileceği dikkate alındı. *als*1, *hwp*1, *sap*1 primerleri ayrı ayrı kullanılarak toplam 25 µL'lik bir reaksiyon karışımı elde edildi. Bu işlem öncesinde 20 mM $MgCl_2$ içeren 5 µL 10X reaksiyon tamponu, 10 mM'lık her bir deoksinükleozit trifosfattan (dNTP) 0.5 µL, 1 µL 25 mM MgCl2, 1 U Taq polimeraz (0.2 µL), 1.5 µL primer, 4 µL yaklaşık 10 ng genomik DNA karıştırıldı ve daha sonra distile su ile 25 µL'lik son hacme getirildi. Primer dizileri, amplikon uzunlukları ve PCR koşulları Tablo I'de verilmiştir.

PCR sonrası amplifikasyon ürünleri %1.5'lik agaroz jelde yürütüldü, Gel Doc XR (Bio-Rad, ABD) cihazı ile görüntülendi. Görüntüler Quantity One (Bio-Rad, ABD) yazılımı ile kaydedildi.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme

Biyofilm üreten ve üretmeyen birer izolat görüntüleme amacıyla seçildi. RPMI içinde 0.5 McFarland süspansiyon hazırlanmasına kadar bütün işlemler biyofilm çalışması aşamaları ile

Tablo I. *Primer Dizileri, Amplikon Uzunlukları ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları*

Genler	Primer dizisi (5'-3')	Ürün boyutu	PCR protokolü	Kaynak
*als*1-F *als*1-R	GAC TAG TGA ACC AAC AAA TAC CAG A CCA GAA GAA ACA GCA GGT GA	318 baz çifti	94 °C 2 dakika 94 °C 4 dakika 52 °C 1 dakika 35X 72 °C 2 dakika 72 °C 5 dakika	Elkholy ve arkadaşları, 2025[14]
*hwp*1-F *hwp*1-R	ATG ACT CCA GCT GGT TC TAG ATC AAG AAT GCA GC	572 baz çifti	94 °C 4 dakika 94 °C 30 saniye 55 °C 1 dakika 35X 72 °C 2 dakika 72 °C 5 dakika	Elkholy ve arkadaşları, 2025[14]
*sap*1-F *sap*1-R	GCT CTT GCT ATT GCT TTA TTA CAT CAG GAA CCC ATA AAT CAG	253 baz çifti	95 °C 5 dakika 95 °C 4 dakika 49 °C 1 dakika 30X 72 °C 1 dakika 72 °C 5 dakika	Dikmen ve arkadaşları, 2021[15]

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu.

benzer olarak gerçekleştirildi. Süspansiyonlardan 2 ml, 12 kuyucuklu polistren plağa (Isolab, Almanya) dağıtıldı. Plağa steril 18 mm x 18 mm kare lamel parçaları yerleştirildi ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Sonrasında kuyucuklardaki lameller PBS ile yıkandı ve başka bir plağa aktarıldı. Kuyucuklara fiksasyon amacıyla 1 ml %4'lük glutaraldehit (Merck, Almanya) eklendi ve bir saat oda ısısında bekletildi; sonrasında glutaraldehit boşaltıldı ve sırayla kuyucuklara %70, %80, %90, %96 ve %100'lük birer ml etil alkol eklendi. Her basamakta oda ısısında 10 dakika beklendi. Son olarak plaktaki saf alkol aspire edilip karanlık bir ortamda kuruması için bırakıldı ardından SEM görüntülemesi yapıldı[16].

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde Statistical Package for the Social Sciences v26.0 paket programı kullanıldı. Niteliksel veriler sayı (n) ve yüzde (%) olarak sunuldu. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. İkili oran karşılaştırmalarında iki oran testi kullanıldı. İstatistiksel açıdan anlamlılık $p< 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Erişkin yoğun bakımdan 35 (%50), pediatrik yoğun bakımdan 35 (%50) olmak üzere toplam 70 *Candida* izolatı çalışmaya alınmıştır. İzolatların 23'ünü (%32.9) *C.albicans*, 57'sini (%67.1) albicans dışı *Candida* türleri oluşturmuştur. *Candida* izolatlarının türlere ve gönderildiği yoğun bakım birimine göre dağılımı Tablo II'deki gibidir.

Toplam 63 izolatta (%90.0) biyofilm oluşumu saptanmıştır. Biyofilm oluşumu erişkin grupta (%97.1) pediatrik gruba (%82.8) göre fazla iken aradaki fark istatistiksel olarak

Tablo II. *Candida İzolatlarının Türlere ve Gönderildiği Yoğun Bakım Birimine Göre Dağılımı*			
İzolat	**Toplam, n (%)**	**Pediatrik yoğun bakım, n**	**Erişkin yoğun bakım, n**
C.albicans	23 (32.9)	13	10
Candida tropicalis	22 (31.4)	12	10
Candida parapsilosis	8 (11.4)	4	4
Candida lusitaniae	7 (10.0)	3	4
Candida glabrata	6 (8.6)	2	4
Candida krusei	4 (5.7)	1	3
Toplam	70 (100.0)	35	35

anlamlı bulunmamıştır (p= 0.106). Pediatrik grup izolatlarının %45.7'si; erişkin grup izolatlarının %51.5'i güçlü biyofilm yapmış olup, bu iki grup arasındaki fark istatiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (p= 0.81) (Tablo III). Pediatrik grupta *C.albicans* ve albicans dışı *Candida* izolatlarının biyofilm oluşturma oranı sırasıyla %92.3 ve %77.2 saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (p= 0.377). Erişkin grupta *C.albicans* ve albicans dışı *Candida* izolatlarının biyofilm oluşturma oranı sırasıyla %100 ve %96 saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (p= 0.121).

Biyofilm pozitifliği *C.albicans* izolatlarında %95.7; albicans dışı *Candida* izolatlarında %87.2 bulunmuştur, iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (p= 0.413). Yapılan analizlerde, *C.parapsilosis* izolatlarındaki biyofilm pozitiflik oranı hem *C.albicans* izolatlarından (%62.5'e karşı %95.7; p= 0.043), hem de diğer tüm türlerin toplamından (%62.5'e karşı %93.5; p= 0.028) daha düşük saptanmıştır (Tablo IV).

Tablo III. *Pediatrik ve Erişkin Yoğun Bakım Hastalarından Elde Edilen İzolatların Biyofilm Yapma Özelliği*					
Özellik	**Güçlü, n (%)**	**Orta, n (%)**	**Zayıf, n (%)**	**Negatif, n (%)**	**Toplam**
Pediatrik YB	16 (45.7)	10 (28.6)	3 (8.5)	6 (17.2)	35
Erişkin YB	18 (51.5)	6 (17.1)	10 (28.5)	1 (2.9)	35

Tablo IV. *Candida Türlerine Göre XTT Yöntemi ile Biyofilm Oluşum Düzeyleri*					
Candida türleri	**Güçlü pozitif, n (%)**	**Orta pozitif, n (%)**	**Zayıf pozitif, n (%)**	**Negatif, n (%)**	**Toplam biyofilm pozitif, n (%)**
C.albicans (n= 23)	14 (60.9)	6 (26.1)	2 (8.7)	1 (4.3)	22 (95.7)
C.tropicalis (n= 22)	10 (45.5)	5 (22.7)	5 (22.7)	2 (9.1)	20 (90.9)
C.parapsilosis (n= 8)	2 (25.0)	0 (0)	3 (37.5)	3 (37.5)	5 (62.5)
C.lusitaniae (n= 7)	0 (0)	4 (57.1)	2 (28.6)	1 (14.3)	6 (85.7)
C.glabrata (n= 6)	6 (100.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (100.0)
C.krusei (n= 4)	2 (50.0)	1 (25.0)	1 (25.0)	0 (0)	4 (100.0)
Toplam (n= 70)	34 (48.6)	16 (22.9)	13 (18.6)	7 (10.0)	63 (90.0)

Uygulanan PCR protokolüne göre; *als*1 pozitifliği *C.albicans* izolatlarında %69.6; albicans dışı *Candida* izolatlarında %8.5 bulunmuş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p< 0.001). *Hwp*1 pozitifliği *C.albicans* izolatlarında %52.2; albicans dışı *Candida* izolatlarında %6.4 olarak tespit edilmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p< 0.001). *Sap*1 pozitifliği *C.albicans* izolatlarında %69.6; albicans dışı *Candida* izolatlarında %6.4 olarak tespit edilmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p< 0.001) (Tablo V).

Uygulanan PCR protokolüne göre *als*1 pozitif 20 izolatın 19'unda (%95), *hwp*1 pozitif 15 izolatın 15'inde (%100), *sap*1 pozitif 19 izolatın 18'inde (%94.7) biyofilm oluşumu gözlenmiştir. Ayrı ayrı incelendiğinde *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 geni pozitif olanlarda biyofilm üreten ve üretmeyen izolatlar arasında istatiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur (p< 0.001) (Tablo VI). Gen pozitifliği ile biyofilm pozitifliği birlikte değerlendirildiğinde, bu üç genden en az birinin pozitifliği ile biyofilm pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilememiştir. Biyofilm negatif izolat sayısının düşük olması ve toplam biyofilm pozitifliğinin yüksekliği bu analizin ayırt ediciliğini sınırlamaktadır.

C.albicans izolatlarında *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 gen kombinasyonları ve biyofilm ilişkisine bakıldığında biyofilm üreten izolatlarda en sık saptanan gen profili *als*1-*hwp*1-*sap*1 üçlü pozitifliği olup, orta-güçlü biyofilm oluşturan izolatlarda bu gen kombinasyonu daha sık saptanmıştır (Tablo VII).

Görüntülemede biyofilm üreten *C.albicans*'ta (Şekil 1A,B) yüzeye tutunmuş yoğun hücre kümeleri, filamentöz/matriks benzeri yapılar ve çok katmanlı organizasyon izlenirken; biyofilm üretmeyen *C.lusitaniae*'da (Şekil 1 C,D) yüzeye dağılmış, sınırlı sayıda maya hücresi görülmüştür.

Tablo V. *C.albicans ve Albicans Dışı Candida İzolatlarında Uygulanan PCR Protokolüne Göre Pozitiflik Dağılımı*

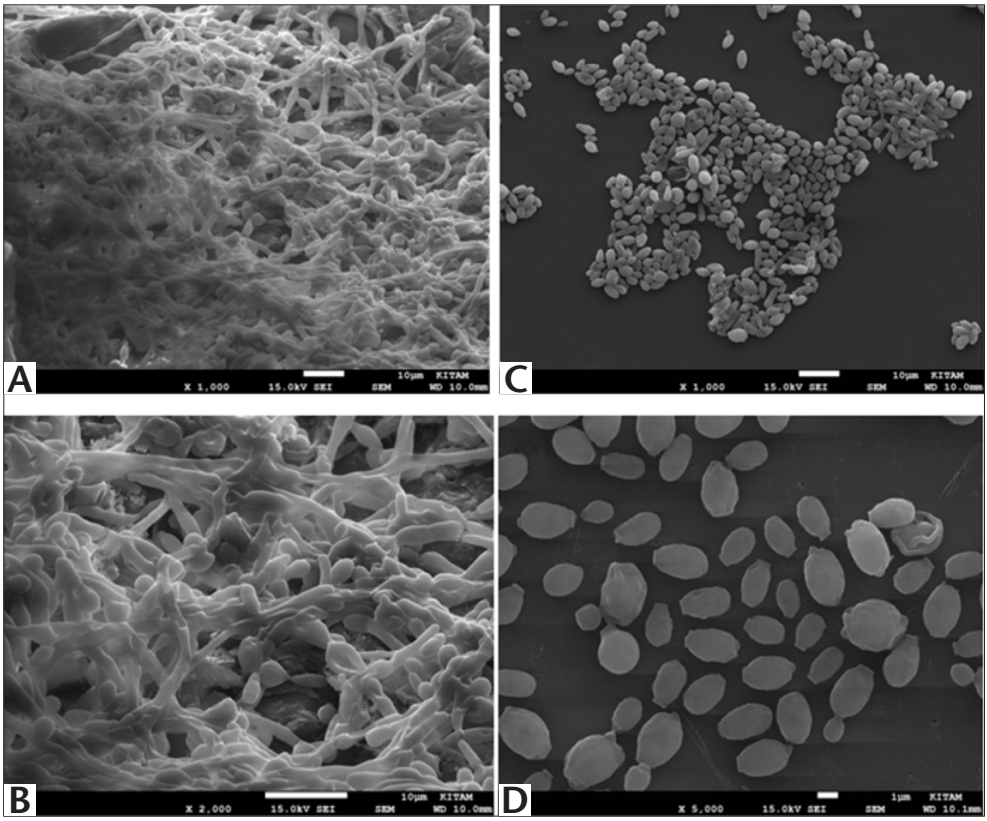
Gen durumu	***C.albicans*, n/N (%)**	**Albicans dışı Candida, n/N (%)**
*als*1	16/23 (69.6)	4/47 (8.5)
*hwp*1	12/23 (52.2)	3/47 (6.4)
*sap*1	16/23 (69.6)	3/47 (6.4)
Biyofilm pozitif, n (%)	22/23 (95.7)	41/47 (87.2)
En az bir gen pozitifliği	18/23 (78.3)	9/47 (19.1)

Tablo VI. *Gen Pozitifliği ile Biyofilm Pozitifliğinin Karşılaştırılması*

Gen	**Gen durumu**	**Biyofilm pozitif, n (%)**	**Biyofilm negatif, n (%)**	**Toplam, n (%)**
*als*1	Pozitif	19 (95.0)	1 (5.0)	20 (28.6)
*als*1	Negatif	44 (88.0)	6 (12.0)	50 (71.4)
*hwp*1	Pozitif	15 (100.0)	0 (0)	15 (21.4)
*hwp*1	Negatif	48 (87.3)	7 (12.7)	55 (78.6)
*sap*1	Pozitif	18 (94.7)	1 (5.3)	19 (27.1)
*sap*1	Negatif	45 (88.2)	6 (11.8)	51 (72.9)

Tablo VII. *C.albicans İzolatlarında als1, hwp1 ve sap1 Gen Kombinasyonlarının Biyofilm Oluşum Derecesine Göre Dağılımı*

Gen profili	**n (%)**	**Güçlü-Orta biyofilm**	**Zayıf-Negatif biyofilm**
Sadece *als*1 pozitif	2 (8.7)	2	0
Sadece *hwp*1 pozitif	1 (4.3)	1	0
Sadece *sap*1 pozitif	0 (0)	0	0
*als*1+*sap*1 pozitif	5 (21.7)	4	1
*als*1+*hwp*1 pozitif	0 (0)	0	0
*hwp*1+*sap*1 pozitif	2 (8.7)	2	0
*als*1+*hwp*1+*sap*1 pozitif	9 (39.1)	8	1
Bütün genler negatif	4 (17.4)	3	1



Şekil 1. *Biyofilm üreten* ***(A, B)*** *ve üretmeyen* ***(C, D)*** *Candida izolatlarının SEM görüntüsü (A: 1000'lik; B: 2000'lik; C: 1000'lik; D: 5000'lik büyütme.*

TARTIŞMA

İdrar yolu enfeksiyonu, en yaygın sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonlardan biridir. Hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarında *Candida* türleri, en sık izole edilen mikroorganizmalardan biridir[17]. Bu çalışmada, erişkin ve pediatrik yoğun bakım hastalarından izole edilen *Candida* türlerinin biyofilm oluşturma kapasiteleri ve bazı virülans genlerinin (*als*1, *hwp*1, *sap*1) PCR protokolü ile saptanabilirliği araştırılmıştır.

Moleküler yöntemlerin kullanımıyla tıbbi öneme sahip birçok mantar türü yeniden sınıflandırılmış ve adlandırılmıştır. Bu kapsamda *C.glabrata Nakaseomyces glabratus*, *C.krusei Pichia kudriavzevii* ve *C.lusitaniae Clavispora lusitaniae* olarak adlandırılmaktadır. Bununla birlikte, bu türler klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında, tanı sistemlerinde ve güncel klinik kılavuzların önemli bir kısmında halen geleneksel *Candida* isimleriyle raporlanmaktadır. Ayrıca önceki çalışmalarla karşılaştırılabilirliği korumak amacıyla bu çalışmada da geleneksel *Candida* adlandırması tercih edilmiştir. Bununla birlikte, güncel taksonomik değişikliklerin farkında olunması, literatürün doğru yorumlanması ve gelecekteki çalışmaların standardizasyonu açısından önem taşımaktadır[18].

Literatürde, idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *Candida* suşlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri üzerine değişken sonuçlar bildirilmiştir. Aslan ve Gülmez[11] üriner *Candida* izolatlarında XTT yöntemiyle tüm suşlarda biyofilm üretimi saptarken; Singh ve arkadaşları ise yaptıkları araştırmada[19], özellikle *C.tropicalis* ve *C.albicans* suşlarının öne çıktığı yüksek biyofilm oranları rapor etmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz %90'lık (n= 63) genel biyofilm oranı literatürdeki bu çalışmaları destekler niteliktedir. Kamini ve arkadaşları[20] üriner izolatlarda tüp yöntemiyle biyofilm oluşumunu değerlendirmiş ve izolatların büyük bir kısmında biyofilm pozitifliği saptandığını; bu oranın *C.albicans* suşlarında %100'e ulaşırken, albicans dışı türlerde %83 olarak kaydedildiğini bildirmiştir. Buna karşın, pediatrik hasta grubunda mikroplak yöntemiyle yapılan bir diğer çalışmada Husseiny Aya ve arkadaşları[21], albicans dışı *Candida* izolatlarının (%48) *C.albicans*'a (%6.2) kıyasla daha fazla biyofilm ürettiğini ve tür düzeyinde en yüksek biyofilm oranın *C.tropicalis*'te olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda *C.parapsilosis* hariç genel olarak tüm izolatlarda biyofilm oluşumu yüksek bulunmuştur. Biyofilm pozitifliğinin *C.parapsilosis*'te *C.albicans* ve diğer türlere göre daha düşük bulunması dikkat çekicidir; ancak *C.parapsilosis* izolat sayısının az olması nedeniyle bu bulgu keşifsel olarak değerlendirilmelidir. Albicans dışı *Candida* izolatlarının yüksek oranda biyofilm oluşturmaları, bunların neden olduğu ciddi enfeksiyon oranlarındaki artışı açıklayabilir.

Yapılan çalışmalarda, *Candida* türlerinde tespit edilen biyofilm oranlarının çok değişken olduğu görülmektedir. Biyofilm üretim oranları türlerin izole edildiği bölgelere, yaş grubuna, biyofilm saptamak için kullanılan yönteme, enfeksiyon etkeni olup olmamalarına ve *Candida* türüne göre farklılık göstermektedir. Bu durum biyofilm oranlarındaki farklılığı açıklamaktadır.

Çalışmamızda ayrıca pediatrik ve erişkin grup izolatlarının biyofilm oranları karşılaştırılmış ve erişkin grupta daha yüksek oranda biyofilm oluşumu görülmüştür. Literatürde bu iki grubun biyofilm oluşturma kapasitelerini karşılaştıran çalışma bulunamamıştır. Pediatrik grupta biyofilm oranının daha düşük saptanmasının nedeni bu hasta grubunda idrar almadaki zorluk ve enfeksiyon-kolonizasyon ayrımının tam yapılamaması olabilir.

Candida hücrelerinin çeşitli mukozal yüzeylere ve sentetik materyallere yapışma yeteneği enfeksiyon gelişimine katkıda bulunan önemli bir patojenite özelliğidir. Bu yetenek *C.albicans* için en fazladır ancak mantar türüne göre değişir. İran'da çeşitli klinik örneklerden toplanan 65 *C.albicans*'ta *als*1, *hwp*1 genleri sırasıyla %92, %95 olarak bulunmuştur[22]. İnci ve arkadaşları[23] yaptıkları çalışmada 82 üriner *C.albicans* izolatında *als*1 ve *hwp*1 genlerini sırasıyla %52.4 ve %4.8 tespit ederken biyofilm oluşum oranını da %31.7 bulmuşlardır. Turan ve arkadaşları[24] 50'si üriner izolat olmak üzere toplam 100 *C.albicans*'ta *als*1 ve *hwp*1 genini sırasıyla %29 ve %31 bulmuşlardır. Hamady ve Marei[25] hastanede yatan ve idrar sondası olan hastalardan topladıkları 28 *C.albicans* izolatında *als*1 ve *hwp*1 genlerini sırasıyla %46.4 ve %57.1 tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda *C.albicans*'ta *als*1, *hwp*1, *sap*1 genleri için PCR pozitifliği diğer çalışmalara oranla daha yüksek tespit edilmiştir. Çalışmamızda ayrıca *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 genleri *C.albicans* izolatlarında albicans dışı *Candida* izolatlarına göre daha sık saptanmıştır. Bu durum, söz konusu genlerin özellikle *C.albicans* biyolojisindeki yeri ile uyumludur. Ayrıca biyofilm üreten *C.albicans* izolatlarında en sık saptanan gen profili *als*1-*hwp*1-*sap*1 üçlü pozitifliğidir. *hwp*1 pozitif izolatların tamamında biyofilm üretimini gözlenmiş ve *hwp*1 pozitif suşların büyük çoğunluğunda *als*1 ve *sap*1 genlerinin de birlikte bulunduğu görülmüştür. Bununla birlikte orta-güçlü biyofilm oluşturan izolatlarda *als*1-*hwp*1-*sap*1 üçlü gen kombinasyonu daha sık saptanmış olup, bu bulgu biyofilm oluşumunda tek gen varlığından ziyade çoklu virülans genlerinin birlikte bulunmasının önemini düşündürmektedir.

Çalışmamızda biyofilm ile en güçlü ilişkiyi gösteren *hwp*1 ve bir diğer temel adezin geni olan *als*1'in, biyofilm oluşumunun özellikle erken aşamalarının ana aktörleri olduğu söylenebilir. Ancak biyofilm sürecinde tek bir genin varlığından ziyade, adezin genlerinin birlikte bulunması ve sinerjik bir şekilde çalışması daha kritiktir. Güncel çalışmalar da *als*1 ve *hwp*1'in birlikte hareket eden ana adezinler olduğunu desteklemektedir. Bir araştırmada, hem *als*1 hem de *hwp*1 kaybının biyofilm mimarisini ve hücreler arası etkileşimleri önemli ölçüde bozduğu bildirilmiştir. Buna karşın *sap*1, esas olarak doku invazyonu ve virülans ile ilişkilendirilmekte olup biyofilm oluşumuna katkı sağlasa da adezin genleri kadar birincil ve temel bir rol oynamadığı düşünülmektedir[26,27].

Bu çalışmada kullanılan *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 primerleri literatürde *C.albicans* için valide edilmiş primerlerdir. Özellikle *hwp*1 ve *sap*1 primerlerinin farklı *Candida* türleri üzerinde test edildiği çalışmalarda yalnızca *C.albicans* DNA'sını amplifiye ettiği gösterilmiştir. *als*1 primeri de benzer şekilde *C.albicans*'a özgül olarak rapor edilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda non-albicans *Candida* izolatlarında düşük gen pozitifliği saptanması beklenen bir bulgu olarak değerlendirilebilir[5,28,29].

Çalışmamızda saptanan yüksek biyofilm oluşum oranı, izolatların yoğun bakım ünitesinden elde edilmesi ve hastaların önemli bir kısmında idrar sondası bulunmasıyla ilişkili olabilir. Biyofilm oluşumu, antifungal tedavinin etkinliğini azaltabilen önemli bir virülans özelliği olduğundan, biyofilme etkili antifungal ajanların seçimi tedavi planlamasında göz önünde bulundurulabilir. Ayrıca çalışmamızda değerlendirilen *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 genleri, *C.albicans*'ın adezyon ve biyofilm gelişimi ile ilişkili virülans faktörleri arasında yer almaktadır. Bu bulgular, biyofilm oluşumunu azaltmaya yönelik yaklaşımların uygun kateter yönetimi ve antifungal kaplı biyomalzemeler gibi stratejilerle birlikte gelecekte klinik uygulamalarda değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu çıkarımların klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Özellikle albicans dışı *Candida* izolatlarındaki negatif PCR sonuçları DNA hazırlama yöntemi ve primer-hedef uyumu ile ilişkili kısıtlılıklar nedeniyle gen yokluğu olarak yorumlanmamalıdır. Bu bulguların daha güçlü ekstraksiyon yöntemleri ve türlere özgül/genişletilmiş primer panelleri ile doğrulanması gerekmektedir. Farklı çalışmalarda farklı oranların elde edilmesi örnek türü ve farklı tanı tekniklerinden kaynaklanıyor olabilir. Araştırılan genler dışındaki birçok gen *Candida* türlerinde biyofilm oluşumuna katkıda bulunabilir. Bir genin varlığı her zaman fenotipe yansımayabilir, ilgili genin ekspresyonu ve ekspresyon düzeyi çevresel şartlara, izole edildiği bölgeye ve *Candida* türüne bağlı olarak değişebilir.

Yaptığımız SEM analizinde, biyofilm oluşturan *Candida* izolatında yoğun ekstraselüler matriks içine gömülü, üç boyutlu ve organize hücre kümeleri gözlenirken; biyofilm oluşturmayan izolatta matriks oluşumu saptanmamış ve hücreler dağınık halde bulunmuştur. Literatürdeki *Candida* biyofilm morfolojileriyle benzer olan bu sonuçlar, SEM analizinin fenotipik biyofilm varlığını doğrulamadaki başarısını ve önemini ortaya koymaktadır[30].

Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı, moleküler analiz için ekstraksiyon basamağında kaynatma temelli yöntemin kullanılmış olmasıdır. Bu yöntem *Candida* izolatlarında PCR temelli bazı çalışmalarda kullanılmış olsa da, fungal hücre duvarının yapısı nedeniyle bu yaklaşımın özellikle albicans dışı *Candida* türlerinde ve seçilmiş virülans genlerinin saptanmasında duyarlılığı sınırlı olabilir. Ayrıca çalışmada DNA miktarı ve saflığının spektrofotometrik olarak değerlendirilmemiş olması, negatif PCR sonuçlarının yorumlanmasını sınırlamaktadır. Bu nedenle özellikle albicans dışı *Candida* izolatlarında saptanan düşük PCR pozitifliği, ilgili genlerin kesin yokluğu şeklinde değerlendirilmemelidir. Bulgular, kullanılan primer setleri ve DNA hazırlama protokolü altında elde edilen PCR pozitiflikleri olarak yorumlanmalıdır. Ayrıca bu çalışmada gen ekspresyonu düzeyi araştırılmadığı için sonuçlarımız sınırlıdır; bulgular sadece "potansiyel ilişki" gösterdiği yönünde yorumlanmalıdır.

Çalışmamızın bir başka kısıtlılığı, pediatrik gruba ait bazı *Candida* türlerinde izolat sayısının düşük olması nedeniyle toplam izolat sayısının ve karşılaştırma grubunun sınırlı kalmasına bağlı sonuçta evrensel bir genelleme yapılmasının zorlaşmasıdır; ancak mevcut verilerin spesifik bir klinik ünitenin güncel epidemiyolojik durumunu yansıtması açısından değerli olduğu düşünülmektedir.

Yoğun bakım hastalarının idrar kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinde in vitro biyofilm oluşumu yaygındır. *C.albicans* izolatlarında *als*1, *hwp*1 ve *sap*1 gen pozitiflikleri albicans dışı *Candida* türlerine göre daha sık saptanmış olsa da, bu çalışma gen varlığı ile biyofilm fenotipi arasında nedensel veya fonksiyonel bir ilişki kurmak için yeterli değildir. Moleküler bulgular; güçlendirilmiş DNA ekstraksiyonu, türlere özgü doğrulanmış primerler ve gen ekspresyon analizleriyle desteklenmelidir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 24.04.2024 ve Karar no: 221).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Malinovská Z, Čonková E, Váczi P. Biofilm formation in medically important *Candida* species. J Fungi (Basel) 2023; 9(10): 955. https://doi.org/10.3390/jof9100955
2. Czechowicz P, Nowicka J, Gościniak G. Virulence factors of *Candida* spp. and host immune response important in the pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. Int J Mol Sci 2022; 23(11): 5895. https://doi.org/10.3390/ijms23115895
3. Kaur J, Nobile CJ. Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. Curr Opin Microbiol 2023; 71: 102237. https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102237
4. Wang D, Zeng N, Li C, Li Z, Zhang N, Li B. Fungal biofilm formation and its regulatory mechanism. Heliyon 2024; 10(12): e32766. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32766
5. Tokak S, Kılıç İH, Mutlu EG, Beyazyüz F, Horasanlı JE, Taşbent FE. Vulvovajinal kandidiyazisli hastalardan izole edilen *Candida* türlerindeki INT, HWP, PLB, SAP ve ALS genlerinin moleküler tespiti. Kırıkkale Uni Med J 2023; 25(3): 431-7. https://doi.org/10.24938/kutfd.1332656
6. Dirbazian A, Raghibi M, Heodaro R, Chamanara M, Morovvati A, Raghibi M. Molecular study of HWP1 gene in *Candida albicans* species isolated from clinical samples of patients. Med Biomed J 2024; 1(1): 25-31.7.
7. Rabi R, Enaya A, Jomaa DM, Dweekat MZ, Raddad S, Saqfalhait ZT, et al. Catheter-associated urinary tract infections in critical care: understanding incidence, risk factors, and pathogenic causes in Palestine. PLoS One 2024; 19(8): e0309755. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0309755
8. Bizuayehu H, Bitew A, Abdeta A, Ebrahim S. Catheter-associated urinary tract infections in adult intensive care units at a selected tertiary hospital, Addis Ababa, Ethiopia. PLoS One 2022; 17(3): e0265102. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265102
9. Werneburg GT. Catheter-associated urinary tract infections: current challenges and future prospects. Res Rep Urol 2022; 14: 109-33. https://doi.org/10.2147/RRU.S273663
10. Pierce CG, Uppuluri P, Tummala S, Lopez-Ribot JL. A 96 well microtiter plate-based method for monitoring formation and antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. J Vis Exp 2010; (44): 2287. https://doi.org/10.3791/2287-v
11. Aslan H, Gülmez D. Investigation of the correlation between biofilm forming ability of urinary *Candida* isolates with the use of urinary catheters and change of antifungal susceptibility in the presence of biofilm. Mikrobiyol Bul 2016; 50(2): 256-65. https://doi.org/10.5578/mb.24248
12. Dubois VA, Salgado PA, Gliosca LA, Molgatini SL. gDNA extraction from *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* in subgingival samples in Argentina. Evaluation of different methods. Acta Odontol Latinoam 2023; 36(2): 78-85. https://doi.org/10.54589/aol.36/2/78
13. Codreanu SI, Ciurea CN. *Candida* spp. DNA extraction in the age of molecular diagnosis. Microorganisms 2023; 11(4): 818. https://doi.org/10.3390/microorganisms11040818

14. Elkholy RM, El-hendy AA, Nassar HS, Zaher EM. Study of virulence genes, biofilm formation and antifungal susceptibility of medical device associated *Candida* infection in ICU hospitalized patients. Egypt J Med Microbiol 2025; 34(2): 121-32. https://doi.org/10.21608/ejmm.2024.344155.1403
15. Dikmen N, Duran N, Ay E, Cimen F, Tek E. Genotyping, drug resistance and virulence factors of *Candida* species isolated from patients using long-term inhaled steroids. Int J Clin Pract 2021; 75(11): e14820. https://doi.org/10.1111/ijcp.14820
16. Şanda ZS. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında biyofilm oluşumunun genotipik ve fenotipik yöntemlerle araştırılması [doktora tezi]. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2023.17.
17. Castellano-Sánchez L, Rosales-Castillo A, Marcos-Rodríguez R, Olvera-Porcel MC, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Microbiological relevance of *Candida* in urine cultures. J Fungi (Basel) 2025; 11(7): 483. https://doi.org/10.3390/jof11070483
18. Kidd SE, Abdolrasouli A, Hagen F. Fungal nomenclature: managing change is the name of the game. Open Forum Infect Dis 2023; 10(1): ofac559 https://doi.org/10.1093/ofid/ofac559
19. Singh DP, Verma RK, Sarswat S, Saraswat S. Non-*Candida albicans Candida* species: virulence factors and species identification in India. Curr Med Mycol 2021; 7(2): 8-13.20.
20. Kamini P, Premamalini T, Karthika K, Bavadharani S. Antifungal susceptibility profile and biofilm production of *Candida* spp. isolated from catheterised patients with urinary tract infection. J Acad Clin Microbiol 2022; 24(2): 76-83. https://doi.org/10.4103/jacm.jacm_12_22
21. Husseiny AA, Abou-Zeid MA, Hassan YM, Ibrahim NA. Candiduria in catheterized children's patients: association with UT, in-vitro biofilm formation, and standardized VITEK 2 system for isolated *Candida* species. Egypt J Med Microbiol 2024; 33(3): 77-85. https://doi.org/10.21608/ejmm.2024.292829.1253
22. Ardehali SH, Azimi T, Fallah F, Aghamohammadi N, Alimehr S, Karimi AM, et al. Molecular detection of ALS1, ALS3, HWP1 and SAP4 genes in *Candida* genus isolated from hospitalized patients in intensive care unit, Tehran, Iran. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand) 2019; 65(4): 15-22. https://doi.org/10.14715/cmb/2019.65.4.3
23. Inci M, Atalay MA, Özer B, Evirgen Ö, Duran N, Motor VK, et al. Investigations of ALS1 and HWP1 genes in clinical isolates of *Candida albicans*. Turk J Med Sci 2013; 43(1): 125-30. https://doi.org/10.3906/sag-1205-90
24. Turan D, Barış A, Kiraz N. Investigation of virulence factors of *Candida albicans* species isolated from clinical specimens phenotypically and genotypically. Haydarpasa Numune Med J 2024; 64(4): 450-5. https://doi.org/10.14744/hnhj.2024.35545
25. Hamady A, Marei Y. Detection of ALS1 and HWP1 genes involved in biofilm formation in *Candida albicans* isolated from catheter associated candiduria. Microbes Infect Dis 2021; 2(3): 558-66. https://doi.org/10.21608/mid.2021.76052.1153
26. Atriwal T, Azeem K, Husain FM, Hussain A, Khan MN, Alajmi MF, et al. Mechanistic understanding of *Candida albicans* biofilm formation and approaches for its inhibition. Front Microbiol 2021; 12: 638609. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.638609
27. Martorano-Fernandes L, Goodwine JS, Ricomini-Filho AP, Nobile CJ, Del Bel Cury AA. *Candida albicans* Adhesins Als1 and Hwp1 Modulate Interactions with Streptococcus mutans. Microorganisms 2023; 11(6): 1391. https://doi.org/10.3390/microorganisms11061391
28. Mohammadi F, Charkhchian M, Mirzadeh M. Phenotypic and genotypic characterization of virulence markers and antifungal susceptibility of oral *Candida* species from diabetic and non-diabetic hemodialysis patients. BMC Oral Health 2023; 23(1): 261. https://doi.org/10.1186/s12903-023-02970-8
29. Alonso GC, Pavarina AC, Sousa TV, Klein MI. A quest to find good primers for gene expression analysis of *Candida albicans* from clinical samples. J Microbiol Methods 2018; 147: 1-13. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.02.010
30. Bravo E, Arce M, Ribeiro-Vidal H, Herrera D, Sanz M. The impact of *Candida albicans* in the development, kinetics, structure, and cell viability of biofilms on implant surfaces-an in vitro study with a validated multispecies biofilm model. Int J Mol Sci 2024; 25(6): 3277. https://doi.org/10.3390/ijms25063277

Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.
Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.
©Telif Hakkı 2026 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.