

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TEMEL ve ENDÜSTRİYEL MİKROBİYOLOJİ BİLİM DALI**

**MANİSA İL MERKEZİNİN BİNA DIŞI HAVASINDAN İZOLE
EDİLEN MİKROFUNGUSLARIN ANTİFUNGAL
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

Yağmur EKER

**Danışman:
Prof. Dr. Fatih KALYONCU**



MANİSA-2019

TEZ ONAYI

Yağmur EKER tarafından hazırlanan "Manisa İl Merkezinin Bina Dışı Havaından İzole Edilen Mikrofungusların Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi" adlı tez çalışması 26.12.2019 tarihinde aşağıda isimleri yazılı jüri üyeleri önünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman Prof. Dr. Fatih KALYONCU
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Jüri Üyesi Prof. Dr. Hüsnüye KAYALAR
Ege Üniversitesi

Jüri Üyesi Prof. Dr. Bülent ERGÖNÜL
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

TAAHHÜTNAME

Bu tezi Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi BİYOLOJİ Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Yağmur EKER



İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	II
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	III
TABLolar DİZİNİ	V
TEŞEKKÜR.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Morfoloji	6
2.2. Hücre Duvarı Yapısı.....	8
2.3. Üreme Şekli	8
2.4. <i>Aspergillus</i> Toksinleri	9
2.5. <i>Aspergillus</i> Enzimleri	9
2.6. <i>Aspergillus</i> 'a Bağlı Oluşan Hastalıklar	10
2.7. AntiFungal Duyarlılık Testleri	13
2.7.1. Rutin Kullanılan Ajanlar.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1. Çalışmada Kullanılan Malzemeler:	17
3.2. Hava Örneklemesinin Yapılması:.....	18
3.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Ajanlar:.....	21
3.3.1. Antifungal Ajanlar:.....	22
3.4. Bitki Eksratlarının Hazırlanması:	22
3.4.1. <i>Juglans regia</i> L. Hazırlanması:	22
3.4.2. <i>Allium cepa</i> L. Hazırlanması :.....	23
3.5. Antifungal Duyarlılık Testlerinin Uygulanması:.....	23
4. BULGULAR.....	25
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
6. KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABPA	Allerjik Bronko Pulmoner Aspergilloz
AFDT	Antifungal Duyarlılık Testleri
AMBP	Amfoterisin-B
BAL	Bronkoalveolar Lavaj
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CLSI	The Clinical & Laboratory Standards Institute
CFU	Colony Forming Unit
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
EUCAST	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
FLK	Flukonazol
ITZ	Itrakonazol
MEDH	Merkez Efendi Devlet Hastanesi
MEK	Minimal Efektif Kontrasyon
MEV	Mevlevihane
MF	Muradiye Fidanlık
MIK	Minimal İnhibitör Kontrasyon
MOPS	Mopholino Proponesulfanic Acid
NCCLS	The National Committee for Clinical Laboratory Standards
OS	Organize Sanayi
OTO	Otogar
PA	Posteroanterior Akciğer Grafi
PDA	Patates Dextroz Agar
rRNA	Ribozomal RiboNükleik asit
RNA	RiboNükleik asit
RPMI	Medium Sodium Bicorbanete L-glutamin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Fungal Hücre Yapısı [2]	1
Şekil 2.1 <i>Aspergillus</i> türlerinde kleistotesyum [25].....	7
Şekil 3.1. Etüv	17
Şekil 3.2. Otoklav.....	17
Şekil 3.3. Hassas tartı	18
Şekil 3.4. Karıştırıcı	18
Şekil 3.5. Mevlevihane istasyonundan örnekleme görüntüsü	19
Şekil 3.6. Organize Sanayi istasyonundan örnekleme görüntüsü	20
Şekil 3.7. Stok kültüre alınmış örnekler.....	20
Şekil 3.8. Stok kültüre alınmış örnekler.....	21
Şekil 3.9. Antifungal ajanlar eklenmiş PDA besiyerindeki kolonilerin görüntüsü....	24
Şekil 4.1.10S2 istasyonun petri alttan görüntüsü	28
Şekil 4.2.Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (23.10.2018)	28
Şekil 4.3. Ekim tarihinden itibaren 5.gün zon çapları (mm) ölçümleri (24.10.2018)	29
Şekil 4.4. Ekim tarihinden itibaren 6.gün zon çapları (mm) ölçümleri (25.10.2018)	30
Şekil 4.5. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri.....	31
Şekil 4.6. 2ME1 istasyonun petri alttan görüntüsü	32
Şekil 4.7. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri.....	33
Şekil 4.8. Ekim gününden sonra 6. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri.....	34
Şekil 4.9. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri.....	35
Şekil 4.10. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri.....	36
Şekil 4.11. Ekim gününden sonra 6. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri.....	37
Şekil 4.12. Şubat ayı 4, 5 ve 6 günlerin zon çaplarının (mm) ölçümleri	38
Şekil 4.13. Ekim gününden sonra 3, 4 ve 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri.....	40
Şekil 4.14. <i>Allium cepa</i> L. ile hazırlanan PDA besiyerindeki <i>Aspergillus</i> kolonilerinin 3 ve 4 gün zon çaplarının (mm) ölçülmesi.....	41
Şekil 4.15. <i>Allium cepa</i> L petri alttan görüntüsü.....	42
Şekil 4.16. <i>Juglans regia</i> L. 6 gr ile hazırlanan PDA besiyerindeki <i>Aspergillus</i> kolonilerinin 3, 4 ve 6. Gün zon çaplarının (mm) ölçülmesi	43

Şekil 4.17. <i>Juglans regia</i> L. 30 gr ile hazırlanan PDA besiyerindeki <i>Aspergillus</i> kolonilerinin 3, 4 ve 6. gün zon çaplarının (mm) ölçülmesi	44
Şekil 4.18. <i>Juglans regia</i> L. , ITZ ve FLK eklenmiş petri üstten görüntüleri.....	45
Şekil 4.19. <i>Juglans regia</i> L. , ITZ ve FLK eklenmiş petri attan görüntüleri	45
Şekil 5.1. Koloni sayıları.....	46
Şekil 5.2. <i>Aspergillus</i> genusuna ait koloni sayıları	46
Şekil 5.3. Min ve Max dozlarla hazırlanan PDA besiyerindeki suşların zon çaplarının (mm) ekimden sonraki 4. Güne göre karşılaştırılması.....	48



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1 Fungusların gıda endüstrisinde uygulama alanları [6,10].....	3
Tablo 2.1 Küflerde CLSI ve EUCAST standart yöntemlerinin özellikleri [42]	13
Tablo 3.1. İstasyonlarımız.....	16
Tablo 3.2 Örnekleme yapılan günlere göre sıcaklık, nem ve yağış durumu.....	16
Tablo 4.1. Mevsimlere göre toplam fungus koloni sayısı	25
Tablo 4.2. İlkbahar (Mayıs) mevsimine göre tespit edilen fungus koloni sayıları	25
Tablo 4.3. Yaz (Ağustos) mevsimine göre tespit edilen fungus koloni sayıları	26
Tablo 4.4. Sonbahar (Kasım) mevsimine göre tespit edilen fungus koloni sayıları .	26
Tablo 4.5. Kış (Şubat) mevsimine göre tespit edilen fungus koloni sayıları	26
Tablo 4.6. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (23.10.2018)	27
Tablo 4.7. Ekim tarihinden itibaren 5.gün zon çapları (mm) ölçümleri (24.10.2018)29	
Tablo 4.8. Ekim tarihinden itibaren 6.gün zon çapları (mm) ölçümleri (25.10.2018)30	
Tablo 4.9. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (23.10.2018)	31
Tablo 4.10. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının ölçümleri (24.10.2018)....	33
Tablo 4.11. Ekim tarihinden itibaren 6.gün zon çapları (mm) ölçümleri (25.10.2018)	34
Tablo 4.12. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının ölçümleri (05.08.2019)....	35
Tablo 4.13. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının ölçümleri (06.08.2019)....	36
Tablo 4.14. Ekim gününden sonra 6. Gün zon çaplarının ölçümleri (07.08.2019)....	37
Tablo 4.15. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (05.08.2019)	38
Tablo 4.16. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (06.08.2019)	38
Tablo 4.17. Ekim gününden sonra 6. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (07.08.2019)	38
Tablo 4.18. Ekim gününden sonra 3. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (05.08.2019)	39
Tablo 4.19. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm)ölçümleri (06.08.2019)	39

Tablo 4.20. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (07.08.2019).....	40
Tablo 4.21. <i>Allium cepa</i> L. ile hazırlanan PDA besiyerindeki <i>Aspergillus</i> kolonilerinin zon çaplarının (mm) ölçülmesi.....	41
Tablo 4.22. <i>Juglans regia</i> L. 6 gr ile hazırlanan PDA besiyerindeki <i>Aspergillus</i> kolonilerinin zon çaplarının (mm) ölçülmesi Ekim Tarihi 23.11.2018	43
Tablo 4.23. <i>Juglans regia</i> L. 30 gr ile hazırlanan PDA besiyerindeki <i>Aspergillus</i> kolonilerinin zon çaplarının (mm) ölçülmesi.....	44



TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fatih KALYONCU' ya, öğrenim hayatım boyunca destekleyen ve hep yanımda olan kardeőim Deniz EKER'e yürekten teşekkür ederim.

Yağmur EKER

2019, Manisa



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Manisa İl Merkezinin Bina Dışı Havasından İzole Edilen Mikrofungusların Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Yağmur EKER

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih KALYONCU

Çalışmamız ile bina dışı havada bulunan mikrofungusların yoğunlukları, dağılımları ve klinik antifungaller ile bitki ekstraktlarına karşı duyarlılık/dirençlilik durumları belirlenmeye çalışıldı. Çalışmamızda gravimetrik yöntemle hava örnekleme yapıldı. Manisa il merkezinde belirlenen 5 istasyondan mevsimlik olarak (Mayıs, Ağustos, Kasım ve Şubat aylarında) ait olduğu ayın ikinci haftasında örnek alımı gerçekleştirilmiştir.

Antifungal duyarlılık testlerine başlanmadan önce mikrofungus izolatlarının genus düzeyinde tanılamaları yapıldı. Antifungal duyarlılık testleri katı besiyerlerinde yapılmıştır. Kullanılan antifungaller; amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazoldür. Antifungal kullanım dozunda içeren ve antifungal içermeyen PDA besiyerlerine tek nokta ekimi yöntemi ile aktarılan mikrofungus izolatları 27⁰C'de inkübasyona bırakıldı ve koloni gelişimleri günlük olarak izlenmiştir, koloni çapları ölçülerek kaydedilmiştir. *Aspergillus* genusuna ait izolatların antifungallere karşı duyarlılık/dirençlilik durumları ve gelişim düzeyleri değerlendirilmiştir.

Antifungal özelliği olduğu belirtilen ceviz (*Juglans regia* L.) ve soğan (*Allium cepa* L.) ekstratları ile de duyarlılık testleri yapılmıştır. Bu sayede bitkisel preparatların antifungal özellikleri ve ticari antifungaller ile karşılaştırılmaları belirlenmeye çalışılmıştır.

Çalışma kapsamında toplam 1777 mikrofungus kolonisi sayılmış ve 31 *Aspergillus sp.* izolatu elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Aspergilloz, *Aspergillus spp.*, antifungal duyarlılık

2019, 70 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

Determination of Antifungal Susceptibility of Microfungi Isolated from Outdoor Weather of Manisa City Center

Yağmur EKER

Manisa Celal Bayar University Institute of Science
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr Fatih KALYONCU

In this study, the density, distribution and susceptibility to clinical antifungals and plant extracts of outdoor microfungi were investigated. In our study, air sampling was performed by gravimetric method. Seasonal sampling (in May, August, November and February) of 5 stations in Manisa city center was carried out in the second week of the month.

Genifal identification of microfungus isolates was performed before antifungal susceptibility tests were initiated. Antifungal susceptibility tests were performed on solid media. Antifungals used; amphotericin B; fluconazole; and itraconazole. Microfungi isolates were transferred to PDA media containing antifungal and non-antifungal by single point cultivation method and incubated at 27⁰C. Colony developments were monitored daily. Colony diameters were measured. Antifungal susceptibility / resistance status and development levels of *Aspergillus* isolates were evaluated.

Susceptibility test was performed with walnut (*Juglans regia* L.) and onion (*Allium cepa* L.) extracts, which have antifungal properties. Thus, antifungal properties of herbal preparations and their comparison with commercial antifungals were determined.

In this study, 1777 micro fungi colonies were counted and 31 *Aspergillus* sp. isolates were obtained.

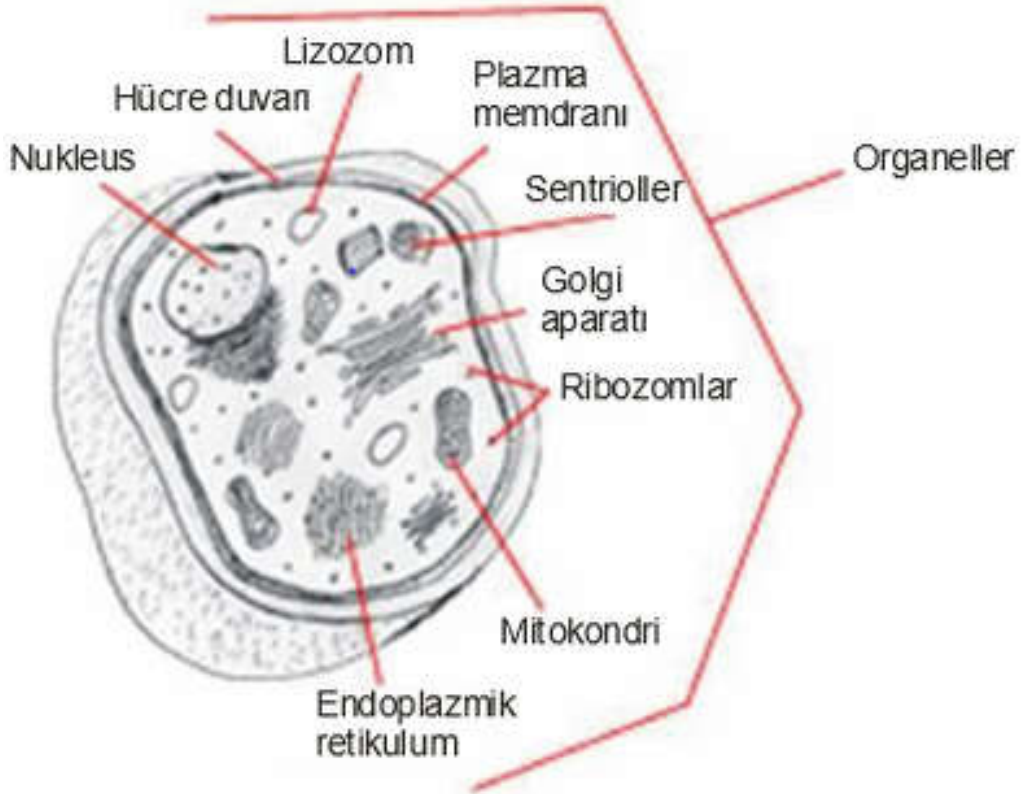
Key Words: Aspergillosis, *Aspergillus spp.*, antifungal susceptibility

2019, 70 pages

1. GİRİŞ

Funguslar, gerçek nükleuslu (ökaryot), klorofilsiz ve bundan dolayı heterotrof olarak yaşayan canlılardır. Fungusların 50.000'e yakın türü tanımlanmıştır ancak bir milyona yakın fungus bulunduğu; fungus türü sayısının kapalı tohumlulardan daha fazla olduğu ileri sürülmektedir [1].

Bakteriler üzerinde yapılan araştırmalar sonucu, yapıları ve özelliklerinin funguslardan farklı olduğu görülmüştür. Funguslar, gerçek çekirdekli olmaları ile prokaryot olan bakterilerden ayrılmaktadır. Likenler simbiyotik yaşayan canlılardır, ortaklıkta algler ve funguslar yer alır. Funguslar klorofile sahip olmadıklarından bitkilerden ve alglerden ayrılmaktadır [1].



Şekil 1.1 Fungal Hücre Yapısı [2]

Funguslar, ökaryotik ve filamentli canlılardır. Hücre duvarına sahiptirler ve hemen hemen tüm üyeleri hareketsizdir. Fotosentetik pigment içermezler. Besinlerini diğer canlıların hazırladığı organik maddelerden absorpsiyonla alırlar. Aerobik gelişirler ve enerjiyi organik maddelerin oksidasyonundan temin ederler [3].

Fungusların gelişmesi için gerekli olan ana fiziksel etkenler [1]:

- Sıcaklık
- Yeterli su
- Nem
- Oksijen
- Karbondioksit
- Uygun pH (genelde asidik, en iyi 3.5-6.5 pH aralığı)
- Hava basıncı
- Işık
- Radyasyon (Işıma)
- Fungus gelişmesi için gerekli olan ana kimyasal etkenler:
- Makrobesinler (karbon kaynağı)
- Mikrobesinler (iz elementler, büyüme maddeleri, vitaminler)

Funguslar, hem eşeysiz (anamorfik- aseksüel) hem de eşeyli (telemorfik - seksüel) ürerler. Bazı funguslarda tüm fungal yapı üretken bir yapıya dönüşebilir. Buna “halokarpik” denir. Fungusların çoğu “eukarpik”tir; fungus vücudunun (thallus) bir kısmı üretken yapıya dönüşür. Genellikle eşeysiz üreme konidium adı verilen eşeysiz sporlar ile gerçekleşmektedir. Eşeyli üreme ise zigospor, askospor veya basidiosporlar ile gerçekleşir. Eşeyli sporların oluşmasında izogami, anizogami, oogami, gametangiogami (gameangium birleşmesi) ve somatogami olayları ile gerçekleşir [1].

Funguslar enzim, vitamin, polisakkarit, alkol, pigment, lipid ve glikolipid üretimi gibi birçok endüstriyel sanayide kullanılmaktadır. Bu ürünlerin bir kısmı ticari olarak kullanılırken bir kısmı biyoteknolojik proseslerde önem arz eder. Funguslardan elde edilen ikincil metabolitlerden bazıları besleyici değeri yüksek ürünlerdir [4]. Yüksek oranda B vitamini ve tüm temel aminoasitleri içermesi,

protein bakımından zengin olması ve düşük yağ içeriğine sahip olması yönünden funguslar gıda sektöründe önemli yer kaplar [5,6].

İnsanlar için yararlı olan birçok fungus türü endüstriyel ve ticari olarak üretilmektedir. Ayrıca funguslardan elde edilen metabolitler endüstriyel proseslerde kullanılmaktadır [7]. Filamentli funguslar, saprofit veya patojen türleriyle zararlarının yanında ekosistemde çok etkin rollere de sahiptirler [8]. Vitaminler, polisakkaritler, enzimler, immunosupresif ajanlar, hiperkolesterolemik ajanlar, pigmentler, antibiyotikler ve organik asitler gibi birçok metabolit funguslardan elde edilir. Metabolitlerin elde edilmesinde her bir spesifik fungus ve üreme koşulları bütünüyle karakterize edilmelidir [9].

Tablo 1.1 Fungusların gıda endüstrisinde uygulama alanları [6,10]

• Gıda Uygulamaları
• Fırıncılık
• Mayalama
• Peynir Üretimi
• Kültür Fungus Yetiştiriciliği
• Geleneksel Gıda Fermantasyonları
• Et Mikoproteini
• Bira ve Damıtık İçki Üretimi
• Etin Olgunlaştırılması
• Çikolata İşleme Sanayisi
• Süt Teknolojisi

Fungusların habitatları oldukça farklılık göstermektedir. Tatlı sularda, denizlerde yaşayan fungus türleri mevcuttur. Ancak büyük bir çoğunluğu toprakta ve ölü bitkisel atıklarda yaşamaktadır. İnsan, hayvan ve bitkilerde parazit olan türleri de mevcuttur [3].

Aspergillus'lar hifli funguslardır; doğal yaşam ortamları toprak ve çürüyen bitki materyalidir; doğada biyodegradasyonda rol alırlar. Bu funguslar ürettikleri enzimler sayesinde tüm organik maddeleri ayrıştırarak kullanır ve saprofit olarak yaşarlar. Uygun koşullarda bitki, hayvan ve insanlarda patojen hale geçerek hastalık etkeni olurlar. Yaşam döngülerini tamamlamak için konak olarak insana ihtiyaçları yoktur. Üreme hız ve kapasiteleri yüksektir. Atmosfere dağılan konidyumlar havada asılı kalırlar, tozlarla, böceklerle, rüzgârla her yere taşınabilirler. Havada en yüksek yoğunlukta bulunan funguslardan biridir. Ortam çalışmalarında insanların solunumla günde en az birkaç yüz konidi aldıkları belirlenmiştir [11].

Aspergillus, dünyanın her yerine yayılmış yaklaşık 200 fungus türünden oluşmuş bir genustur. *Aspergillus* genusu üyeleri kozmopolittirler. Rüzgârın etkisiyle Antartika'nın karalarına taşınmışlardır [12]. Yeni türler özellikle Hindistan, Avrupa, Mısır, Suriye, Tropikal Avrupa, Japonya ve Kuzey Amerika'da görülmüştür. Genelde toprak ve bitki döküntülerinden izole edilmişlerdir [13].

Aspergillus genusu, ekonomik, ekolojik ve tıp bakımından önemli yere sahiptir. Bu genusun türleri, depo edilmiş ürünlerde bozulmalara neden olabilir. Endüstri ve besin fermentasyon işlemlerinde kullanılırlar [14,15]. Ayrıca, bazı türler, mikotoksin üretmeleri nedeniyle de önemlidir. Bazı *Aspergillus* türleri ozmofiliktir. *Aspergillus* türleri ılıman iklimlerde toprakta çok yaygın olarak bulunur. Ayrıca kompostlarda, çürüyen bitki atıklarında, depolanmış tahıllarda v.s. de bol miktarda bulunurlar [16].

Aspergillus'lar diğer mikroorganizmalar için çok düşük olan nem düzeylerinde bile gelişebildikleri için, depolanmış tahıl ve tohumlarda, unlarda ve çeşitli gıdalarda gelişebilirler. Ayrıca dış ortamda, hastane ve evlerin iç ortamlarındaki havada asılı olarak bol bulunurlar [17].

Koloni özelliklerinden, koloninin rengi, büyüme hızı, büyüme şekli, miselyumu (bazal, yüzeyel), konidi başlarının yoğunluğu, şekli ve düzenlenmesi gibi özellikler tür tanımlamada önemlidir [17]. Ayrıca koloninin dokusu kadifemsi, pamuksu, yünsü olabilir. Koloni ön yüzünün rengi türe göre değişir ve tür tanılamada önemlidir. Yeşil, sarı, turuncu, kahverengi veya siyah tonlarında renklerde olabilir [18].

Aspergillus cinsi içindeki türlerin hepsi insanda hastalık etkeni olarak bildirilmemiştir. En sık görülen insan patojeni *A. fumigatus* türüdür. Sırasıyla *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* ve *Aspergillus terreus* gibi diğer bazı türler de insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyona neden olabilmektedirler [19].

Bağışıklık sistemi zayıf olmayan kişilerde havadan solunumla alınan konidiler doğal dirençle zararsız hale getirilir. Dolayısıyla yakın zamanlara kadar *Aspergillus*'lara yalnız alerjik reaksiyonlara ve tedavisi başarılı olmuş tüberkülozlu veya sarkoidozlu hastalardaki daha önceden oluşmuş kavitelerde aspergillomaya (fungus topu) sebep olan zayıf bir patojen gözüyle bakılmıştır [20].

Bu tez çalışmasının amacı Manisa il merkezi bina dışı havasından izole edilen mikrofunguslar içinde yer alan *Aspergillus* genusu üyelerinin klinikte sıklıkla kullanılan antifungal ajanlara karşı dirençlilik / duyarlılık durumlarının belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Aspergillus kısaca dik konidiyoforları, uçlarında vesikülleri ve vesiküllerin üzerinde bunları kaplamış sterigmaları ile karakterize edilirler. Sterigmalar bir tabaka üzerinde gelişebilir veya doğrudan doğruya vesiküllerden çıkabilirler, fiyalidlerden (sterigma) bazı petal konidi zincirleri oluşur [1].

Vejetatif miselyum dallı ve bölmeli hiflerden oluşmuş renksiz, parlak renkli veya birkaç türde kahverengimsi hale dönüşmektedir. Konidiyoforlar ayak hücrelerinden gelişmektedir. Ayak hücreleri özelleşmiş, genişlemiş, kalın çeperli hif hücreleridir. Konidiyoforlar bu hücrelerden dik olarak gelişirler [1].

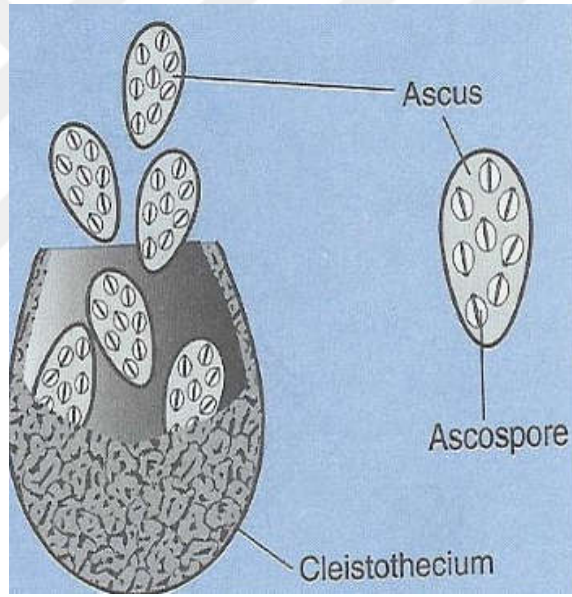
2.1. Morfoloji

Aspergillus türleri zincirler halinde çok miktarda konidi üretirler ve olgunlaştıklarında alana dağılırlar. Konidyumlar genelde 2-5 μ çapındadırlar. *A. fumigatus* 'un konidyumları 2-3.5 μ m çapında iken, *A. flavus*'un konidyumları 3-6 μ m, *A. niger*'in konidyumları ise 4-5 μ m çapındadır [37]. Hava ile taşınırlar. Koloniler hızlı gelişirler. Renkleri türlere ve gelişme koşullarına bağlı olarak beyaz, sarı, sarımsı kahverengi, siyaha yakın kahverengi, kırmızı ya da yeşil tonlarında olabilir. Koloniler sık konidiyoforlardan oluştuğu bir keçe görünümündedir [21]. *A. fumigatus*'un pigmentsiz sokak suşlarının patojenitesi, yeşil renkte konidyumları olan suşlara göre daha azdır [38].

Besiyerine dağılan pigment üretebilirler ve bu pigmentin rengi koloninin hava miselli kısmının renginden farklı olabilir. Hifler bölmelidir, ince veya kalın olabilir; hif hücreleri çok çekirdeklidir. Miselyum enzim ve bazı mikotoksinler üretebilir. Vejetatif hifin "ayak hücresi" denen özelleşmiş bir hücrelerinden dik olarak çıkan yapıya konidiofor denir. Yukarı doğru oluşturdukları yuvarlak veya oval biçimdeki baş kısmına "vezikül" adı verilir. Vezikül üzerindeki üreyimli alan türlere göre farklıdır ve bu özellik tür tanımında kullanılır. Konidyum yapıcı hücreler olan fiyalidler, ya doğrudan vezikülün üzerinde (uniseriate) veya metulaların üzerinde (biseriate) oluşurlar. Altındaki sap (stibe) denilen hücre ile birlikte konidyumlu baş denen tipik görünümü oluştururlar. Konidyoforun uzunluğu; bölmeli, bölmesiz veya

dallanmış oluğu ve duvarının döz, pürüklü, dikenli olması gibi özellikleri türlere göre farklıdır [21].

Yeni bir duvarla sarılmış olan konidyumların oluşumu sırasında konidyum yapıcı hücrenin (fiyalid) kendisi büyümez ve dış tabakası konidyumu örtmek üzere uzamaz (enteroblastik gelişim). Konidyumlar ard arda dizilerek tesbih şeklinde zincirler oluştururlar ve böyle bir zincirde en genç hücre en diptekidir. Konidyum zincirleri ya sütunlar halinde ya da ışınsaldır. Konidyumlar bir hücreli, duvarları döz veya pürüzlü, dikenli; seffaf veya pigmentli olabilirler. Bazı türler “hülle cells” denen dinlenme hücreleri veya sklerot denen tıkız hif kitleleri üretirler. Bu özellikler türlerin ayırımında önem taşır. Teleomorfların tanımında olgunlaşmış kleistotesyum, ask ve askosporların biçimleri ve renkleri önem taşır [21, 22].



Şekil 2.1 *Aspergillus* türlerinde kleistotesyum [25]

Aspergillus genusunun sistematik sınıflandırılması:

ALTBÖLÜM : Ascomycota,
TAKIM : Eurotiales
SINIF : Eurotiomycetidae
FAMİLYA : Trichocomaceae
CİNS : *Aspergillus*

2.2. Hücre Duvarı Yapısı

Fungus hücre duvarı funguslara ait en tipik yapıdır. Sert bir katmandan oluşur. *Aspergillus* türlerinde çevresel (fiziksel, kimyasal, biyolojik) etmenlere karşı korunmadan, konakta ve laboratuvar koşullarında büyüme ve gelişmeden, konakta enfeksiyon ve alerjik tabloların oluşumundan sorumlu yapı hücre duvarıdır. Ayrıca ortamdaki ozmotik basınç değişimlerine karşı hücre membranını korur [22].

Hücre yüzeyindeki adezinler, lektinler ve hidrofobinler gibi biyomoleküller fungusun çeşitli yüzeylere bağlanmasını sağlar. Konak hücrelerine tutunma patojen bir fungusun invazyonundaki ilk basamaktır. Hücre duvarında bulunan enzimler tarafından proteinler, polisakkaritler ve lipidler gibi büyük moleküllerin parçalanmasıyla, fungus hücrelerinin büyüme ve gelişmesi için besin sağlanır. Fungus hücre duvarındaki bu enzimlerin bir kısmı, konak hücre ve doku yapılarını parçalayıcı etki göstererek, fungusun invazyonunda rol oynar [22].

Aspergillus hücre duvarı majör oranda polisakkaritlerden oluşmaktadır. Daha az oranda proteinler, lipidler, pigmentler ve inorganik tuzlar gibi diğer minör bileşenler izlenmektedir [22]. *Aspergillus* hücre duvarlarında N-asetilglukozamin, glukoz, mannoz ve galaktoz bulunduğu belirlenmiştir [24].

Hücre duvar bileşenleri, en başta hidrofobik bağlar olmak üzere, hidrojen bağları, kovalent ve non-kovalent bağlarla bağlanırlar. Hücre duvarı her işlevi yerine getiren üç boyutlu bir yapı halini alır. *Aspergillus* hücre duvarında kitin ve glukon gibi yapısal polisakkaritlerin oluşturduğu mikrofibril yumak; hücrenin sertliğini sağlar. Glukoproteinler ve diğer polisakkaritlerin oluşturduğu amorf bileşen, mikrofibriler katmanının iç kısmını oluşturur. Amorf katman, yapışmada rol oynayan glukoproteinleri ve çevreye karşı korunmayı sağlayan biyomolekülleri içerir [23].

2.3. Üreme Şekli

Aspergillus seksüel, aseksüel veya paraseksüel yollarla üreyebilmektedir. Aseksüel üreme sırasında bol miktarda konidyum üretildiği için, genetik değişiklik geçirme olasılığı yüksektir [26].

Askospor oluşumu ile karakterize olan seksüel üreme, iki ayrı suşa ait genetik materyali birleştirme avantajına sahiptir. Paraseksüel üremede ise iki uyumlu suşa ait hifler kaynaşmaktadır. Bu durum, küf fungusunun sporulasyon olmadan genetik madde aktarmasına olanak tanımaktadır ve olgun bir miçelyumda, biyofilmde ve in vivo olarak ortaya çıkabilmesi nedeniyle önemlidir [26].

Farklı üreme yolları, fungusın genetik değişimler geçirmesini ve antifungal direnç mutasyonları geliştirmek de dâhil olmak üzere çevreye uyum sağlayabilmesini sağlamaktadır [27].

2.4. *Aspergillus* Toksinleri

Aspergillus cinsine bağlı mikotoksinler; aflatoksinler, sterigmatoksin, siklapiazonik asit, okratoksin A, parulin sayılabilir [28].

Aflatoksin: En çok bilinen mikotoksindir. Enfekte gıdalar; yer fıstığı, kabuklu gıdalar, süt ve süt ürünleri sayılabilir. Hepatotoksik etki yaparlar. Etkisi akut ve kronik olarak seyrederek ölüme kadar gidebilir.

Sterigmatoksin: Kronik kanserojen bir toksindir. Enfekte gıdalar genellikle peynir ve tahıllardır.

Siklapiazonik Asit: Enfekte gıdalar tahıllar ve baklagiller sayılabilir.

Okratoksin A: Enfekte gıdalar kahve, üzüm suyu ve şarap sayılabilir. Nefropatiye sebep olabilir.

Parulin: Elma suyu ve meyveler enfekte gıdalar arasındadır.

Gliotoksin: *A. fumigatus*' un sık ürettiği toksik metabolittir. Akut toksiktir. Bağışıklığı baskılar.

18-kDa RNaz (Restriktosin) - 30 kDa hemolizin: Konidyumların hücre duvarında bulunur. *Aspergillus*' ların hemolitik bileşimidir. Güçlü toksiteye sahiptir. Doku nekrozunu kolaylaştırır.

Ftioik asit: *A. fumigatus* tarafından üretilir. Granülom oluşturur [28].

2.5. *Aspergillus* Enzimleri

Patojen bir fungusın konağın dokusunda ilerleyebilmesi için enzimlere sahip olması gerekir. Bu enzimler çeşitli proteazlar, ribotoksin, fosfolipazlar ve hemolizin

gibi çeşitli virülans faktörleri sayılmaktadır [29]. Proteaz akciğer epitel hücrelerine fungusun yapışmasını arttırmaktadır [30].

Galaktomannan: *Aspergillus* türlerinin hücre duvarından salınan heteropolisakkarittir. Fungusun üremesi veya doku invazyonu sırasında, özellikle hiflerin doku içinde gelişimi sırasında salınır [29, 30].

2.6. *Aspergillus*'a Bağlı Oluşan Hastalıklar

İnsanda aspergillozis ilk kez Bennet tarafından 1842 yılında tanımlanmıştır. *Aspergillus* türlerinin neden olduğu lokal ve yaygın enfeksiyonlara aspergilloz adı verilir [31].

Aspergillus'a bağlı akciğer hastalıkları üç grupta incelenir [31]:

Allerjik aspergillozlar:

- Allerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA),
- IgE-ilişkili astım,
- Hipersensitivite pnömonisi,
- Allerjik *Aspergillus* sinüziti.

Saprofitik kolonizasyon:

- Aspergilloma.

İnvaziv aspergilloz:

- İnvaziv dissemine aspergilloz,
- Kronik nekrotizan pnömoni.

ABPA, *Aspergillus* (özellikle de *A. fumigatus*) antijenine karşı oluşan aşırı duyarlılık sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Allerjik aspergillozların içerisinde en sık görülenidir [31]. ABPA, çok büyük oranda (%1-7.6) astımlılarda görülmektedir. Akciğerlerin hipersensitivite bir hastalığıdır [32].

Nefes darlığı, hırıltılı solunum ve öksürük gibi belirtilerle bahar aylarında basit ataklar halinde, yıllar geçtikçe atak sıklığı ve şiddeti artar ve iyilik dönemleri azalır. Bu bulgulara ateş, halsizlik, öksürük, pürülan balgam, göğüs ağrısı ve hemoptizi eklenmesi ABPA'yı akla getirmelidir. Sarı-kahverengi balgam olguların %56'sında görülür ve varlığı ABPA'yı akla getirmelidir [41].

Aspergillus fumigatus lösemili, kanserli, bağışıklık sistemi baskılanmış ve kemik deprese olmuş hastalarda *Aspergillus* Pnömonisine etken oluşturur [33]. Aspergilloz insanlar dışında en çok kanatlılarda, sırasıyla sığır, koyun, keçi, at, kedi, gibi hayvanlarda da görülebilir. Akut aspergilloz genç, kronik aspergilloz ergin hayvanlarda görülür. Sığırlarda *Aspergillus fumigatus*'un sebep olduğu nadir de mikotik abortus (düşük) görülmektedir [34].

Aspergillus türlerinin enfeksiyon oluşturan yapısı konidyumdur. *Aspergillus* konidyumları akciğerlere solunum yolları aracılığıyla havanın inhale edilmesiyle bulaşmaktadır [35]. Nadir olsa da cerrahi yaralar, kontamine intravenöz kateterler veya kontamine bandaj uygulamaları ile deride kütanoz enfeksiyonlar gelişebilmektedir [36].

Aspergillus enfeksiyonlarının oluşması için inokulum miktarı bilinmemektedir. Bağışıklık sisteminin baskılanmış olduğu durumlarda inhale edilmiş olan konidyum şişerek genişler, hif haline dönüşür ve büyümeye başlar. İn vitro hifal büyüme ve fungus kütleindeki logaritmik artış 24 saat kadar devam ettikten büyüme en üst düzeye gelir. Pulmoner dokudaki konidyal üremeden sonra inkübasyon süresi, iki gün ile aylar arasında değişebilir. Bu süre türlere göre de değişkenlik gösterir. Organizmanın 37°C'de üreyebilme yeteneği ve üreme hızı, etkenin patojenitesini ve oluşan enfeksiyonun ilerleme hızını belirleyici özellikleri arasındadır [37].

İnvaziv Aspergilloz da en sık hastalık etkeni *A.fumigatus* olup, tanı için alınan örneklerin ekimi sonunda en hızlı gelişen türdür. Kullanılan besiyerine bağlı olarak, germinasyon 37°C'de 5-12 saat içinde başlar. Hastada hifal gelişim ve doku invazyonu başlayıp ardından invaziv aspergillozun belirgin bulguları olan vasküler invazyon ve pulmoner infarkt ile sonuçlanır [37].

İnvaziv aspergilloz immün sistemi güçlü konaklarda hastalığa nadiren sebep olur. Normal pulmoner savunma mekanizmaları sonucunda enfeksiyon önlenir. *Aspergillus*'a karşı ilk savunma solunum yollarında bulunan silyaların patojeni hava yollarından temizlenmesidir. Konidyal boyut alveole ulaşmada önemli rol oynar. Konidyum boyutu ne kadar küçükse alveollere ilerleme olasılığı o kadar fazladır [37].

Aspergillus türlerine karşı konak savunmasının yetersiz kaldığı durumlarda *Aspergillus* türleri ile kolonizasyon ve/veya enfeksiyon gelişebilmektedir. Hematolojik malignitesi, kemik iliği nakli, aplastik anemi, AIDS, kronik granümatöz hastalık, graft-versus-host hastalığı, organ nakli ve romatolojik hastalıklar gibi uzun süre kortikosteroid kullanımı gerektiren durumlar, yanık, kistik fibrozis ve diabetes mellitus *Aspergillus* türleri ile kolonizasyon ve enfeksiyon gelişimi için en önemli risk faktörleridir [37, 38].

Aspergillus türlerinin hastalık oluşturabilmesi için, konak dokusuna tutunmasını, dokuya penetrasyonunu ve özellikle fagositik hücreler gibi savunma elemanlarını etkisiz hale getirmeleri gerekmektedir. Bunları sağlayacak virülans faktörleri adezinler, pigment oluşturma özelliği, toksik moleküller ve ekstrasellüler enzimler *Aspergillus* türlerinde sayılabilirler. Fakat bugüne kadar *Aspergillus*'a özgü adezinlerin hiçbiri saflaştırılarak elde edilememiştir ve hastalık gelişiminde oynadıkları roller konusundaki şüpheler hala devam etmektedir [38].

Bağışıklık sistemi baskılanmış konakta yüksek mortaliteyle seyreden enfeksiyonlara neden olabilen *Aspergillus* türlerinin virülans faktörlerinin bilinmesinin avantajları vardır. Virülans faktörlerinin bilinmesi neden olduğu enfeksiyonlardan korunmaya ve enfeksiyonun tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesinde rol oynar [39].

Aspergillus türleri arasında *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger* insanlarda en sık enfeksiyon oluşturan *Aspergillus* türleridir [40].

Tanı Yöntemleri şöyle sıralanabilir:

- Radyolojik Tanı
 - Posteroanterior (PA) akciğer grafisi
 - Bilgisayarlı akciğer tomografisi (BT)
- Mikolojik Tanı
 - Mikroskopik İnceleme (Doku, İndirekt klinik örnekler (balgam, BAL)
 - Kültür
 - Seroloji (IgE ve IgG düzeyleri, galaktoman testleri)
 - Moleküler Yöntemler
- Cilt Testleri

2.7. AntiFungal Duyarlılık Testleri

- ✓ Sıvı makro ve mikrodilüsyon yöntemleri (CLSI M38-A2 - EUCAST-E-DEF.9.1)
- ✓ Agar difüzyon
 - Disk difüzyon
 - E-test
- ✓ Agar dilüsyon yöntemi [42]

Tablo 2.1 Küflerde CLSI ve EUCAST standart yöntemlerinin özellikleri [42]

	CLSI M38-A2	EUCAST-E-DEF 9.1
Uygulama alanı	Konidya ve spor oluşturan tüm küf fungusları	<i>Aspergillus</i> türleri ve küfler
İnokulum	0.4x10 ⁴ -5x10 ⁴ CFU/ml	1x10 ⁵ -2.5x10 ⁵ CFU/ml
İnokulum standardizasyonu	Spektrofotometrik	Hemositometrik
Besiyeri	RPMI 1640	RPMI %2 glukoz
Buffer	MOPS, pH 7.0±0.1	MOPS, pH 7.0±0.1
Mikrodilüsyon plağı	U tabanlı	Düztabanlı
Isı	35 °C	35 °C ±2 0 °C
İnkübasyon süresi	46-50 saat	48 saat
Sınır değeri	Azol ve polienler için üreme olmayan kuyucuk MİK Ekinokandinler için MEK	Azol ve polienler için üreme olmayan kuyucuk MİK Ekinokandinler için MEK

Küfler için mikrodilüsyon yöntemine bakıldığında ise CLSI M38-A2 klavuzunda inkübasyon süresi *Aspergillus* spp., 46-50 saat, diğer türler için 48-96 saat, dimorfikler için ise 5-7 gün olarak belirtilmiştir [9].

2.7.1. Rutin Kullanılan Ajanlar

- **Polienler :**
 - Amfoterisin B:(Klasik ve lipid formlar)
 - Lipozomal Nistatin (Sadece topikal kullanılır.)

- **Triazololler :**
 - İtrakonazol
 - Vorikonazol
 - Posakonazol
 - Ravukonazol
 - Flukonazol
- **Alilaminler :**
 - Terbinafin: Oral yolla alınır.
- **Hücre Duvarı İnhibitörleri:**
 - a. 1,3 beta D glukon sentez inhibitörleri
 - Kaspofungin
 - Mikafungin
 - Anidulafungin
 - b. Mannoprotein İnhibitörleri (pradimisin)
 - c. Kitin Sentez İnhibitörleri (nikkomisin)
- **Sordarinler (Protein Sentezi İnhibitörleri)**
- **Partrisinler (Yarısentezik Poliyen)**

Poliyenler: Ergosterol zerine etkilidirler, sitoplazmik zarın yapısal bütünlüğünü bozarlar. **Amp B**, fungusun hücre zarındaki ergosterole bağlanarak zarda kanallar oluşmasına sebep olarak zarın işlevini bozar ve sitoplazmadaki katyonların kaybedilmesine yol açarak etki gösterir. (Ergosterol insan hücre yapısında bulunan kolesterol analogudur, fungus hücre zarının asıl yapısını oluşturur. Amfoterisin B nefrotoksik etkisi yüksektir [43, 44].

Azoller: Fungus hücre zarındaki ergosterol sentezini sitokrom P-450'ye bağımlı α -demetilasyon aşamasında engelleyerek hücre zarının işlevini bozar. Azol halkasında nitrojen sayısına göre triazololler ve imidazololler olmak üzere ikiye ayrılırlar. İmidazololler *Aspergillus* ' a karşı etkili değildirler. 1. Jenerasyon triazolollerden de flukonazolünde *Aspergillus* ' a etkisiz olduğu bilinmektedir (İntrinsik direnç) [43,44].

Klinikte sık olarak kullanılmakta olan üç sınıftan antifungal maddeler amfoterisin B (ampB), 5-florositozin ve azollerdir. *Aspergillus*'larda en etkili iki

antifungal madde bulunmaktadır, ampB ve itrakonazol (İTZ). Şiddetli yan etkilerine karşın geniş etki alanı sebebiyle amp B genelde sistemik mikozların tedavisinde altın standart olarak düşünülmektedir. İnvaziv aspergillozun AmpB tedavisinin genelde başarı oranının %34 olduğu, ancak hasta gruplarına göre de değiştiği bildirilmiştir. İtrakonazole yanıtın da benzer oranlarda olduğu; dolayısıyla ağızdan ilaç alabilen ve sindirim sistemi sorunları olmayan hastalarda ilk seçeneğin İTZ olduğu yazılmıştır [27, 29, 43]. *A.fumigatus*'da İTZ'e *in vitro* dirençle karşılaşmış ve hayvan modellerinde de doğrulanmıştır. Bu direncin sıklığının şimdilik düşük olduğu düşünülmektedir. *A.flavus* ve *A.terreus* genelde *in vitro* olarak diğer türlerden daha duyarlı bulunmaktadır [43, 44].

Alilaminler: Squalen epoksidaz enzimini inhibe eder ve hücre zarında squalen oksitleri birikir. Böylece hücre zarında ergosterol yoksunluğu gelişir.

Ekinokandinler: Glukan sentez inhibitörüdür. Fungusta olan memeli hücresinde olmayan 1,3 β D glukan sentetazı inhibe ederek, hücre duvar biyosentezini engeller.

5 Flusitozin: Hücre içine sitozin permeaz ile alınır, sitozin deaminaz enzimi ile 5 flourasile çevrilir.

Nikkomisinler: Hücre duvarı kitin sentezini inhibe eder, ozmotik lizise sebep olur. *Aspergillus*'a etkisi düşüktür. Kombinasyon tedavisi için kullanılabilir.

Sordarinler: Elongasyon siklusunun transformasyonunu inhibe eder. *Aspergillus*' a minimal etkisi vardır [43,44].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Manisa il merkezinde belirlenen 5 istasyondan mevsimlik olarak (Mayıs 2018, Ağustos 2018, Kasım 2018 ve Şubat 2019 aylarında) ait olduğu ayın ikinci haftasında bina dışı örnek alımı gerçekleştirilmiştir. Belirlenen istasyonlar Şehzadeler ve Yunusemre ilçeleri sınırlarında bulunan Manisa yeni otoparkı, Mevlevihane, Merkez Efendi Devlet Hastanesi, Manisa Organize Sanayi Bölgesi ve Muradiye Fidanlığı dış ortamlarıdır.

Tablo 3.1. İstasyonlarımız

İstasyon numarası	İstasyon Adı	ENLEM	BOYLAM
1.	Otopark	38,6359	27,4408
2.	Mevlevihane	38,6165	27,4098
3.	Muradiye Fidanlık	38,6468	27,2976
4.	Organize Sanayi	38,6147	27,3660
5.	MEDH	38,6158	27,4060

Tablo 3.2 Örnekleme yapılan günlere göre sıcaklık, nem ve yağış durumu

ÖRNEKLEME	MEVSİM	SAAT	SICAKLIK	NEM	YAĞIŞ
1. Dönem	Mayıs (15)	08:30-11:45	32°C	%56	0mm
2. Dönem	Ağustos (13)	08:30- 11:45	31°C	%43	0mm
3. Dönem	Kasım (14)	08:30- 11:45	19°C	%72	0mm
4. Dönem	Şubat (13)	08:30- 11:45	11°C	%79	70mm

3.1. Çalışmada Kullanılan Malzemeler:



Şekil 3.1. Etüv



Şekil 3.2. Otoklav



Şekil 3.3. Hassas tartı



Şekil 3.4. Karıştırıcı

3.2. Hava Örneklemesinin Yapılması:

Çalışmamızda gravimetrik yöntemle hava örnekleme yapılmıştır. Örneklemeye mevsimlik olarak belirli aylarda yapılmıştır. İlk örnekleme 15 Mayıs 2018, ikinci örnekleme 13 Ağustos 2018, üçüncü örnekleme 14 Kasım 2019, dördüncü örnekleme 13 Şubat 2019 tarihlerinde saat 08:30 ile 11:45 saatleri arasında yapılmıştır. Örneklemelerde her bir istasyonda 10 Petri kabı kullanılmıştır. Örnekler

havanın yağışsız olduğu günde sabah 08:30 – 11.45 saatleri arasında, yerden 1,5 m yükseğe yerleştirilen Petri kaplarının kapakları 15 dakika açık tutularak alınmıştır [45]. Örnekleme için Rosebengal Chloramphenicol Agar besiyeri kullanılmıştır. Örneklemenin yapıldığı güne ait meteorolojik veriler İl Meteoroloji İstasyonu'ndan temin edilmiştir. Örnekleme sonrası Petri kapları hızla MCBÜ Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilerek 27⁰C'ye ayarlı etüve konulmuştur [46]. Etüvde 5-10 gün süre ile inkübasyona bırakılan Petri kaplarında gelişen mikrofungus kolonileri sayılmıştır. Genus düzeyinde sadece *Aspergillus* tanılamaları yapılmıştır. *Aspergillus* genusuna ait kolonilerin sayımı yapılmış ve tanılama işlemi için güncel literatür kullanılmıştır [47, 48]. *Aspergillus* kolonileri numara verilerek Patates Dekstroz Agar (PDA) içeren stok besiyerlerine aktarılmış ve +4⁰C'de saklanmıştır.



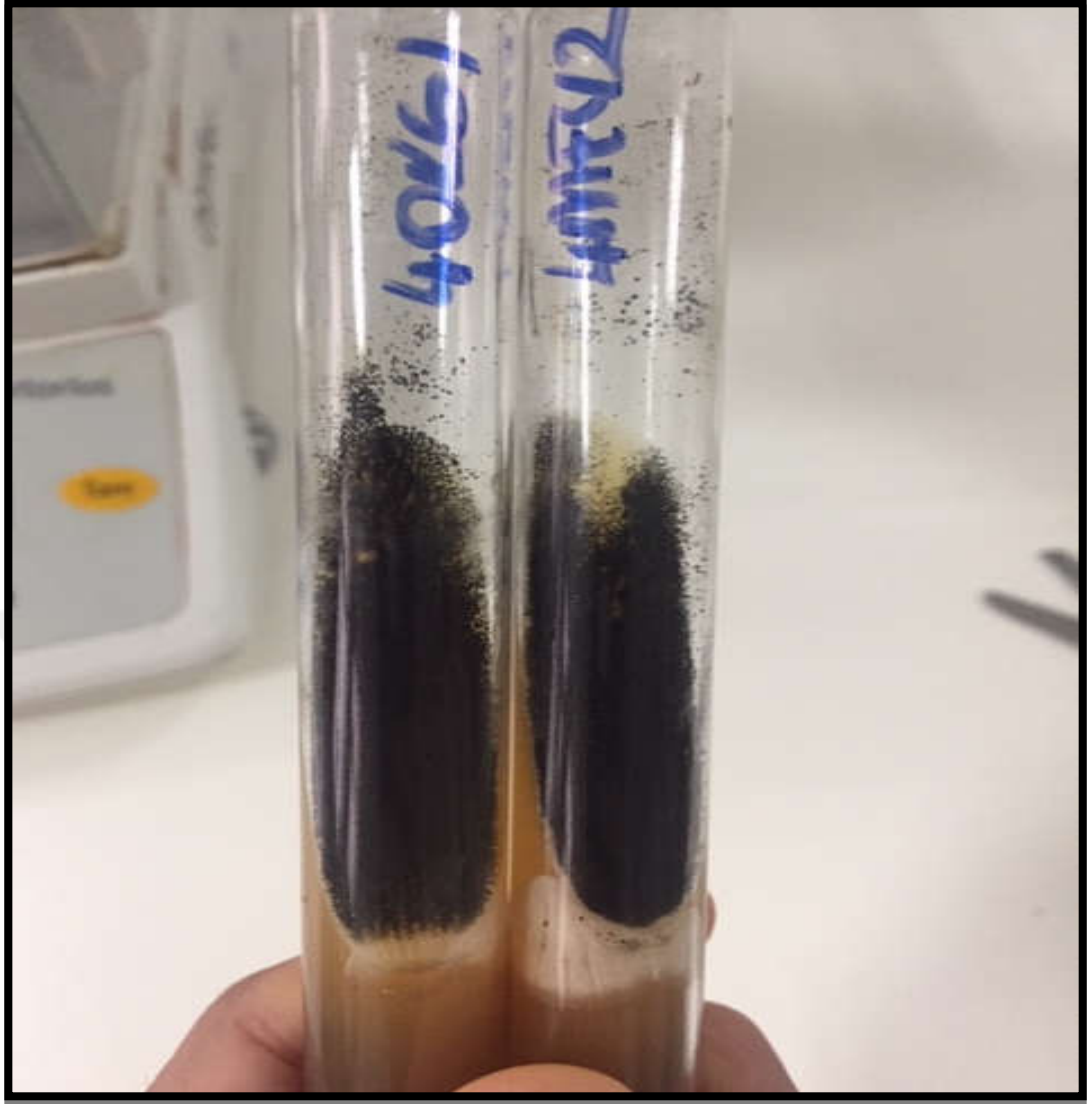
Şekil 3.5. Mevlevihane istasyonundan örnekleme görüntüsü



Şekil 3.6. Organize Sanayi istasyonundan örnekleme görüntüsü



Şekil 3.7. Stok kültüre alınmış örnekler



Şekil 3.8. Stok kültüre alınmış örnekler

3.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Ajanlar:

İlaç dilusyon aralıkları; flukonazol için 0,12-64 µg/ml, diğer ilaçlar için 0,03-16 µg/ml 'dir (60).

Rosebengal Chloramphenicol Agar Besiyeri:

Rosebengal Chloramphenicol 24 gr

Agar 20 gr

Distile su 1 lt

*Bu besiyerinin MERCK (1.00467) marka hazır ticari formu kullanılmıştır.

Patates Dextroz Agar : (İlavesiz)

Patates Dekstroz 24 gr

Agar 20 gr

Distile Su 1 lt

*Bu besiyerinin Merck (1.10130) marka hazır ticari formu kullanılmıştır.

3.3.1. Antifungal Ajanlar:

Amfoterisin B flakon 50 mg:

**Ambisome flakon 50 mg ticari isimli formu kullanılmıştır.

Patates Dekstroz Agar Besiyerine;

Minimum doz: 1 ml = 0.016 mg

Maximum doz: 1ml = 0,625 mg ilave edilmiştir.

Flukonazol flakon 100 mg:

** Candisept flakon 100 mg ticari isimli formu kullanılmıştır.

** Patates Dekstroz Agar Besiyerine;

Minimum Doz: 1 ml = 0.065 mg

Maximum Doz: 1 ml = 0,313 mg ilave edilmiştir.

Itrakonazol tablet 100 mg:

** Funit tablet 100 mg ticari isimli formu kullanılmıştır.

** Patates Dekstroz Agar Besiyerine;

Minimum Doz: 1 ml = 0.065 mg

Maximum Doz: 1 ml = 0,313 mg ilave edilmiştir.

Bitkisel ekstratlar :

Juglans regia L.

Minimum miktar: 1ml = 0,0075 gr (800 ml = 6 gr)

Maximum miktar: 1 ml = 0,0375 gr (800 ml = 30 gr)

Allium cepa L.

Ortalama miktar: 1ml = 0,1875 ml (160 ml = 30 ml)

3.4. Bitki Ekstratlarının Hazırlanması:

3.4.1. *Juglans regia L.* Hazırlanması:

- 10 gr kuru *Juglans regia L.* yaprağı tartılmıştır.

- Üzerine 200 ml % 96'lık etanol ilave edilmiştir.
- 7-10 gün oda ısısında bekleme bırakılmıştır.
- Etanolde bekletilen *Juglans regia* L. süzgeç yardımıyla süzölmüştür.
- Geri kalan ekstrakt çeker ocak bekletilerek etanol uçurulmuştur.
- Etanolü uçmuş ekstrat tartılmıştır
- Elde edilen miktar 196, 53 mg 'dır.
- PDA besiyeri hazırlanarak, içine 6 gr (minimum) ve 30 gr (maximum) *Juglans regia* L. ilave edilerek besiyeri hazırlanmıştır.

3.4.2. *Allium cepa* L. Hazırlanması :

- 1 adet orta boy *Allium cepa* L. kullanılmıştır.
- Blenderdan geçirilerek parçalanmış ve filtre kağıdından süzölmüştür.
- 30 cc sıvı soğan öz suyu elde edilmiştir.
- PDA besiyeri hazırlanarak, içine 30 cc soğan öz suyu ilave edilerek 8 (160ml) petri kabında besiyeri hazırlanmıştır.

3.5. Antifungal Duyarlılık Testlerinin Uygulanması:

Antifungal duyarlılık testleri katı besi yeri kullanılarak uygulandı. Kullanılan antifungaller; amfoterisin B, flukonazol ve itrakonazoldür. Antifungal kullanım dozunda içeren ve antifungal içermeyen PDA besiyerlerine tek nokta ekimi yöntemi ile aktarılan mikrofungus izolatları 27⁰C'de inkübasyona bırakılmış ve koloni gelişimleri günlük olarak izlenmiş, koloni çapları ölçülerek kaydedilmiştir [47]. *Aspergillus* genusunun flukonazola olan intrinsik direnci (doğal direnç) göz önüne alınarak antifungal duyarlılık/dirençlilik durumu ölçölmüştür. Bu işlem ile *Aspergillus* izolatlarının *in vitro* ortamda antifungal ajanlara karşı duyarlılık/dirençlilik durumları ortaya konulmuştur. Antifungal özellikli kimyasallar ile yapılan denemeler literatür de antifungal özelliği olduğu belirtilen ceviz (*Juglans regia* L.) ve soğan (*Allium cepa* L.) bitkilerinin antifungal duyarlılık/dirençlilik durumları da belirlenmeye çalışılmıştır [50].



Şekil 3.9. Antifungal ajanlar eklenmiş PDA besiyerindeki kolonilerin görüntüsü

4. BULGULAR

Manisa il merkezinde bulunan toplam 5 istasyondan mevsimlik gravimetrik yöntemle örnekleme yapılmıştır. Her istasyondan 10 adet petri kabı kullanılmış olup, her bir örnekleme gününde toplam 50 adet petri kabı kullanılmıştır. Her petri kabındaki koloni sayıları sayılmıştır. Tüm çalışma süresince toplam 1777 fungus kolonisi sayılmıştır. *Aspergillus* genusuna ait olarak ise 31 koloni sayılmıştır. En çok koloni sayısı ağustos ayı, en az koloni sayısı ocak ayı örneklemesine aittir. Örnekleme ilkbahar mevsiminden başlanmıştır. İstasyon bazında mevsimsel olarak elde edilen koloni sayıları Tablo 4.1 ve Tablo 4.2 verilmiştir. Sayımı yapılan fungus örneklerinden *Aspergillus* genusuna ait koloniler sayılarak PDA besiyerinden hazırlanan stok kültüre aktarılmıştır. Çalışmamızdaki tüm istasyonlar bina dışıdır.

Tablo 4.1. Mevsimlere göre toplam fungus koloni sayısı

Mevsim	İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış
Koloni Sayıları	402	725	402	248
<i>Aspergillus</i> Koloni Sayıları	9	11	9	2

Tablo 4.2. İlkbahar (Mayıs) mevsimine göre tespit edilen fungus koloni sayıları

Petri Sayısı	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama
İstasyonlar											
1.	9	14	13	8	9	13	12	4	4	7	9,3
2.	5	9	10	8	10	12	17	5	3	5	8,4
3.	18	12	23	19	13	6	10	11	9	2	12,3
4.	3	2	5	1	3	5	3	2	2	6	3,2
5.	8	4	6	11	9	13	5	5	4	5	7

Tablo 4.3. Yaz (Ağustos) mevsimine göre tespit edilen fungus koloni sayıları

Petri Sayısı	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama
İstasyonlar											
1.	19	14	22	15	9	25	18	13	20	16	17,1
2.	12	13	20	19	23	17	23	11	17	13	16,8
3.	22	19	16	12	21	14	9	13	10	11	13,7
4.	10	8	9	15	9	12	15	13	10	8	10,9
5.	9	10	18	11	13	12	15	26	26	0	14

Tablo 4.4. Sonbahar (Kasım) mevsimine göre tespit edilen fungus koloni sayıları

Petri Sayısı	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama
İstasyonlar											
1.	7	5	2	11	9	7	5	9	11	6	7,2
2.	7	8	12	13	21	18	9	10	11	9	11,8
3.	17	9	8	5	10	3	7	15	7	8	8,9
4.	2	4	5	1	3	7	8	11	2	9	5,2
5.	5	4	7	11	3	5	7	8	10	11	7,1

Tablo 4.5. Kış (Şubat) mevsimine göre tespit edilen fungus koloni sayıları

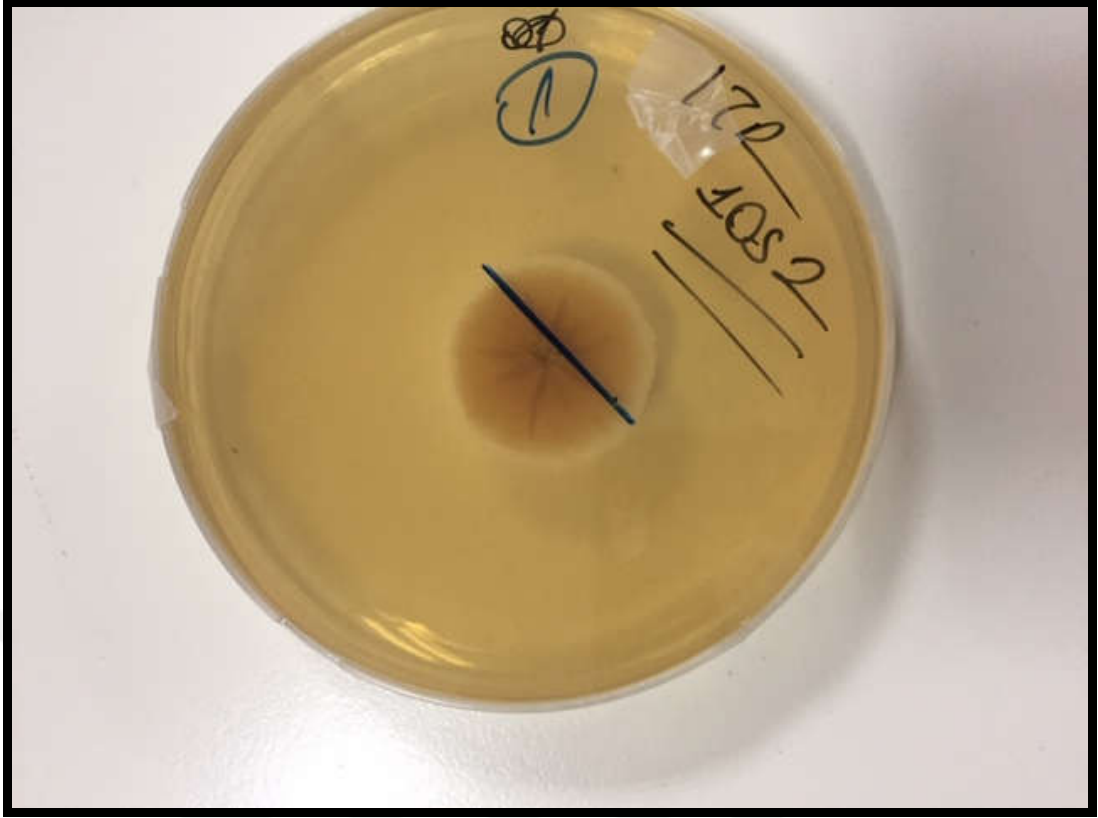
Petri Sayısı	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama
İstasyonlar											
1.	11	7	12	5	3	7	8	7	4	5	6,9
2.	4	6	3	5	9	4	5	9	4	0	4,9
3.	14	2	5	4	2	3	10	4	7	8	5,9
4.	0	2	4	0	5	7	3	5	5	3	3,4
5.	0	1	1	3	4	3	8	7	2	8	5,9

Aşağıdaki tablolarda **Mayıs** Ayı *Aspergillus* türlerinin Flukonazol, İtrakonazol, Amfoterisin-B ve İlavesiz olarak zon çaplarının ölçümü (mm) gösterilmiştir. (Minimal Doz uygulanmıştır.)

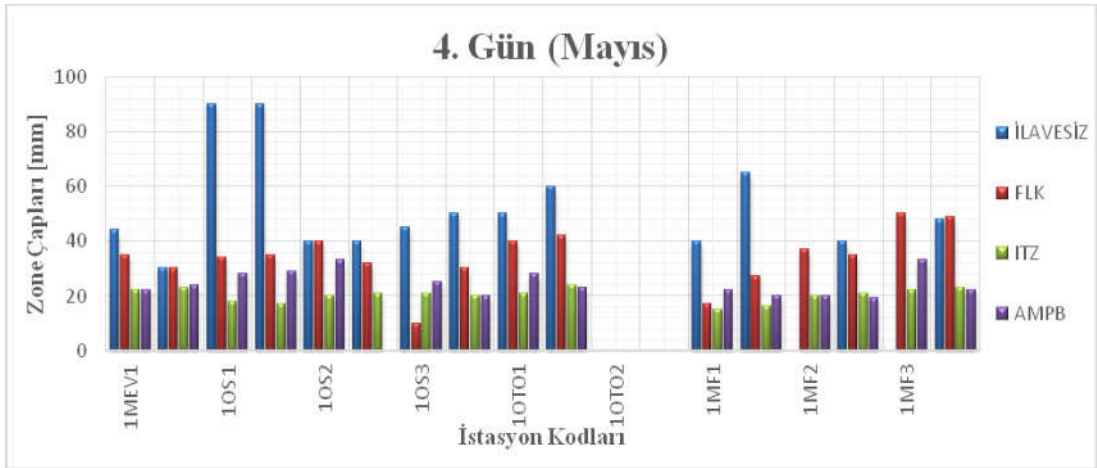
Ekim tarihi: 19.10.2018

Tablo 4.6. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (23.10.2018)

	İLAVESİZ	FLK	ITZ	AMPB
1MEV1	44	35	22	22
	30	30	23	24
1OS 1	90	34	18	28
	90	35	17	29
1OS2	40	40	20	33
	40	32	21	K
1OS3	45	10	21	25
	50	30	20	20
1OTO1	50	40	21	28
	60	42	24	23
1OTO2	0	0	0	0
	0	0	0	0
1MF1	40	17	15	22
	65	27	16	20
1MF2	K	37	20	20
	40	35	21	19
1MF3	K	50	22	33
	48	49	23	22



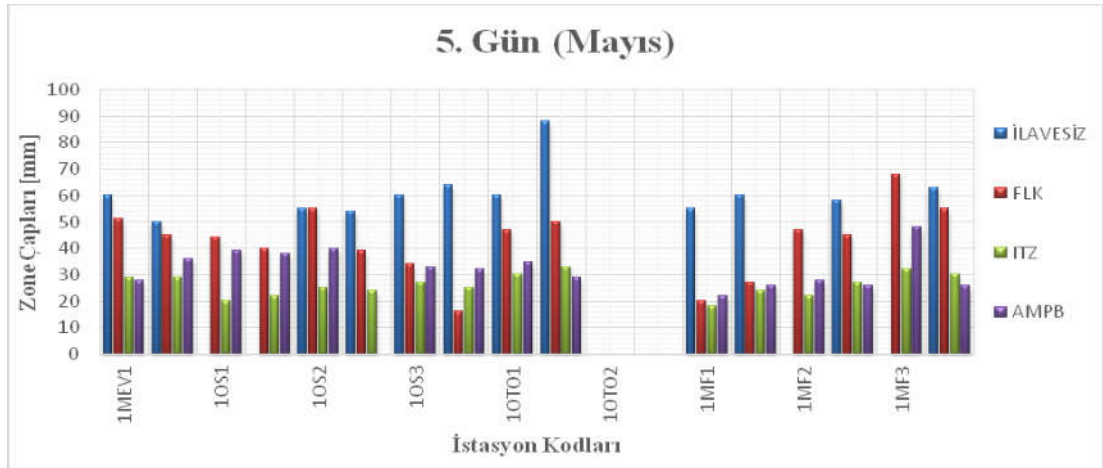
Şekil 4.1.10S2 istasyonunun petri alttan görüntüsü



Şekil 4.2.Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (23.10.2018)

Tablo 4.7. Ekim tarihinden itibaren 5.gün zon çapları (mm) ölçümleri (24.10.2018)

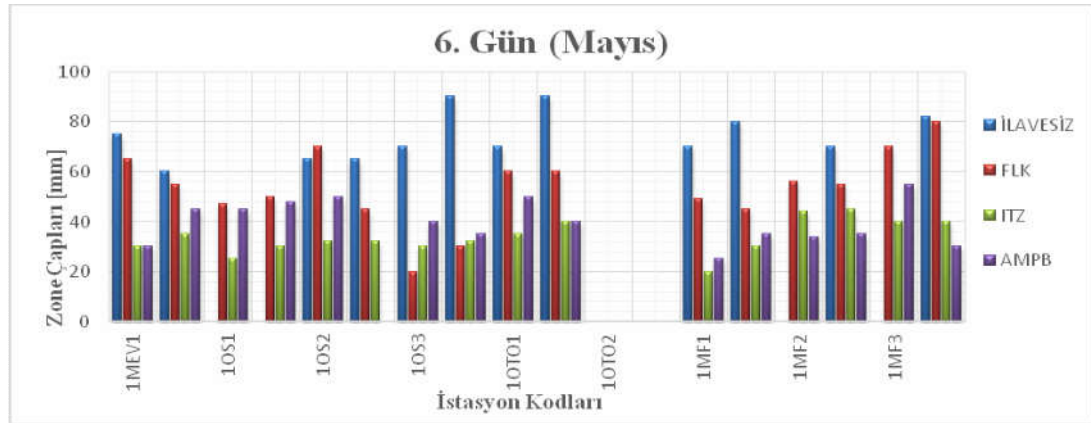
	İLAVESİZ	FLK	ITZ	AMPB
1MEV1	60	51	29	28
	50	45	29	36
1OS1	0	44	20	39
	0	40	22	38
1OS2	55	55	25	40
	54	39	24	K
1OS3	60	34	27	33
	64	16	25	32
1OTO1	60	47	30	35
	88	50	33	29
1OTO2	0	0	0	0
	0	0	0	0
1MF1	55	20	18	22
	60	27	24	26
1MF2	K	47	22	28
	58	45	27	26
1MF3	K	68	32	48
	63	55	30	26



Şekil 4.3. Ekim tarihinden itibaren 5.gün zon çapları (mm) ölçümleri (24.10.2018)

Tablo 4.8. Ekim tarihinden itibaren 6.gün zon çapları (mm) ölçümleri (25.10.2018)

	İLAVESİZ	FLK	ITZ	AMPB
1MEV1	75	65	30	30
	60	55	35	45
1OS1	0	47	25	45
	0	50	30	48
1OS2	65	70	32	50
	65	45	32	K
1OS3	70	20	30	40
	90	30	32	35
1OTO1	70	60	35	50
	90	60	40	40
1OTO2	0	0	0	0
	0	0	0	0
1MF1	70	49	20	25
	80	45	30	35
1MF2	K	56	44	34
	70	55	45	35
1MF3	K	70	40	55
	82	80	40	30

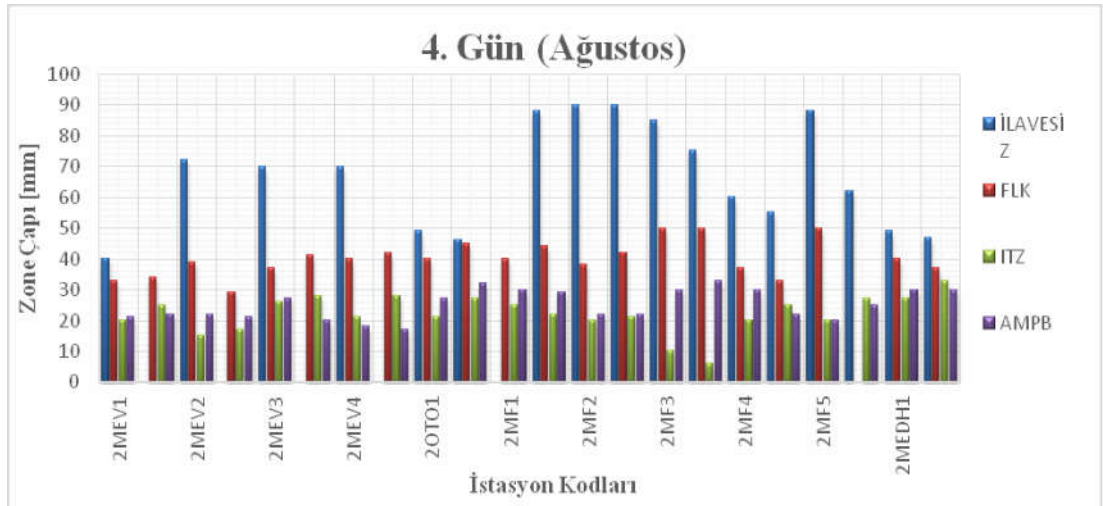


Şekil 4.4. Ekim tarihinden itibaren 6.gün zon çapları (mm) ölçümleri (25.10.2018)

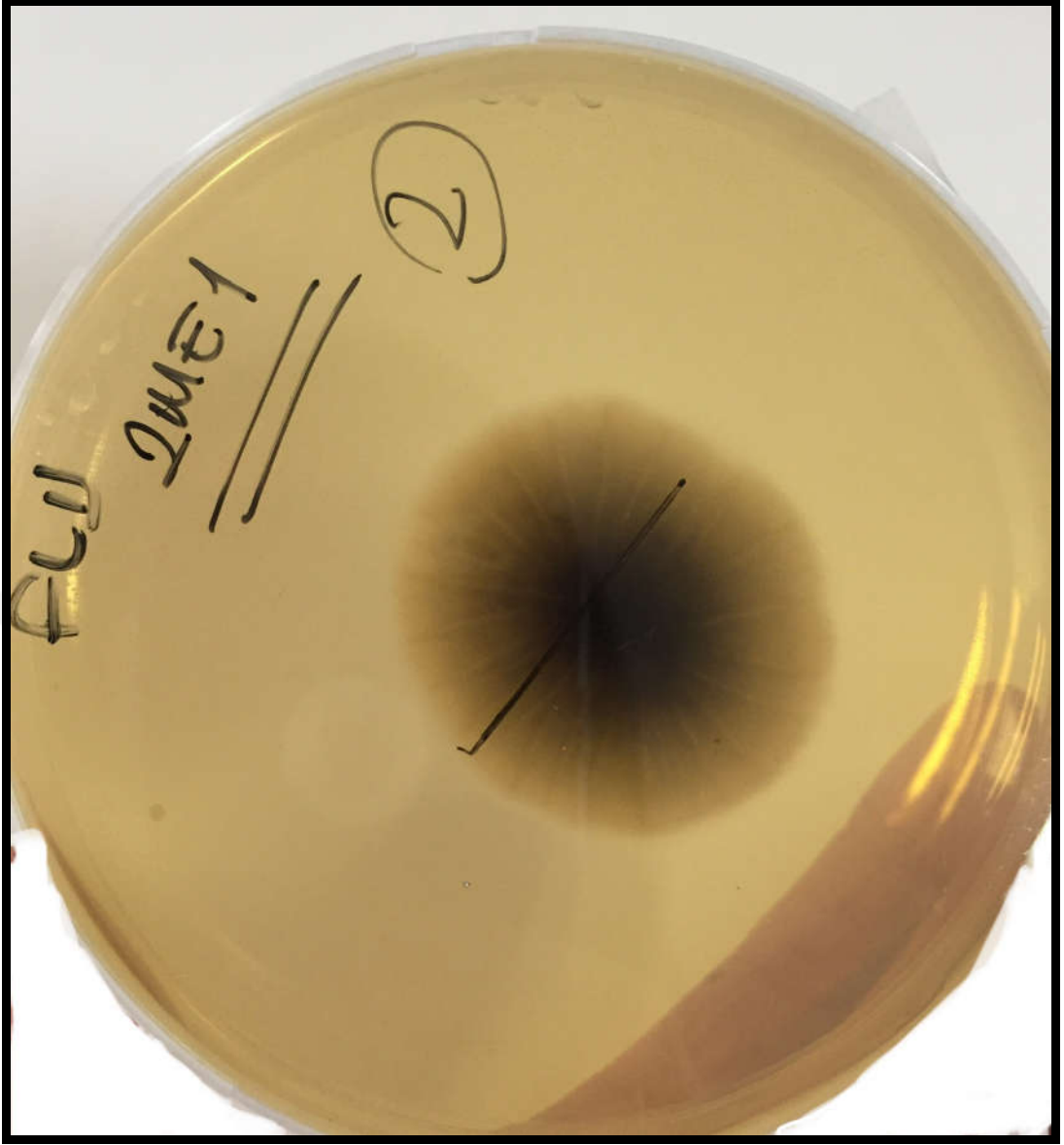
Tablo 4.9’da verilen **Ağustos** Ayı *Aspergillus* türlerinin Flukonazol, İtrakonazol, Amfoterisin-B ve İlavesiz olarak zon çaplarının ölçümü (mm) gösterilmiştir. (Minimal Doz uygulanmıştır).

Tablo 4.9. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (23.10.2018)

	İLAVESİZ	FLK	ITZ	AMPB
2MEV1	40	33	20	21
	K	34	25	22
2MEV2	72	39	15	22
	K	29	17	21
2MEV3	70	37	26	27
	K	41	28	20
2MEV4	70	40	21	18
	K	42	28	17
2OTO1	49	40	21	27
	46	45	27	32
2MF1	K	40	25	30
	88	44	22	29
2MF2	90	38	20	22
	90	42	21	22
2MF3	85	50	10	30
	75	50	6	33
2MF4	60	37	20	30
	55	33	25	22
2MF5	88	50	20	20
	62	K	27	25
2MEDH1	49	40	27	30
	47	37	33	30



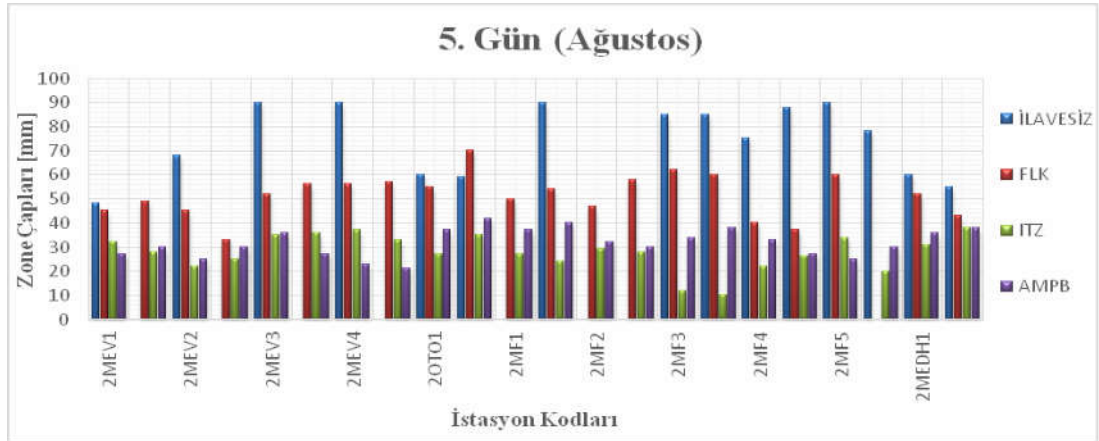
Şekil 4.5. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri



Şekil 4.6. 2ME1 istasyonunun petri alttan görüntüsü

Tablo 4.10. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının ölçümleri (24.10.2018)

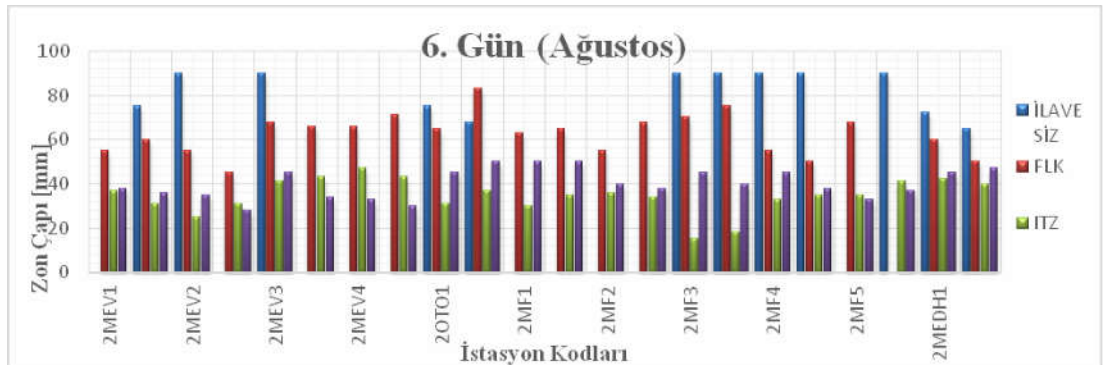
	İLAVESİZ	FLK	ITZ	AMPB
2MEV1	48	45	32	27
	K	49	28	30
2MEV2	68	45	22	25
	K	33	25	30
2MEV3	90	52	35	36
	K	56	36	27
2MEV4	90	56	37	23
	K	57	33	21
2OTO1	60	55	27	37
	59	70	35	42
2MF1	K	50	27	37
	90	54	24	40
2MF2	0	47	29	32
	0	58	28	30
2MF3	85	62	12	34
	85	60	10	38
2MF4	75	40	22	33
	88	37	26	27
2MF5	90	60	34	25
	78	K	20	30
2MEDH1	60	52	31	36
	55	43	38	38



Şekil 4.7. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri

Tablo 4.11. Ekim tarihinden itibaren 6.gün zon çapları (mm) ölçümleri (25.10.2018)

	İLAVESİZ	FLK	ITZ	AMPB
2MEV1	K	55	37	38
	75	60	31	36
2MEV2	90	55	25	35
	K	45	31	28
2MEV3	90	68	41	45
	K	66	43	34
2MEV4	0	66	47	33
	K	71	43	30
2OTO1	75	65	31	45
	68	83	37	50
2MF1	K	63	30	50
	0	65	35	50
2MF2	0	55	36	40
	0	68	34	38
2MF3	90	70	15	45
	90	75	18	40
2MF4	90	55	33	45
	90	50	35	38
2MF5	0	68	35	33
	90	K	41	37
2MEDH1	72	60	42	45
	65	50	40	47



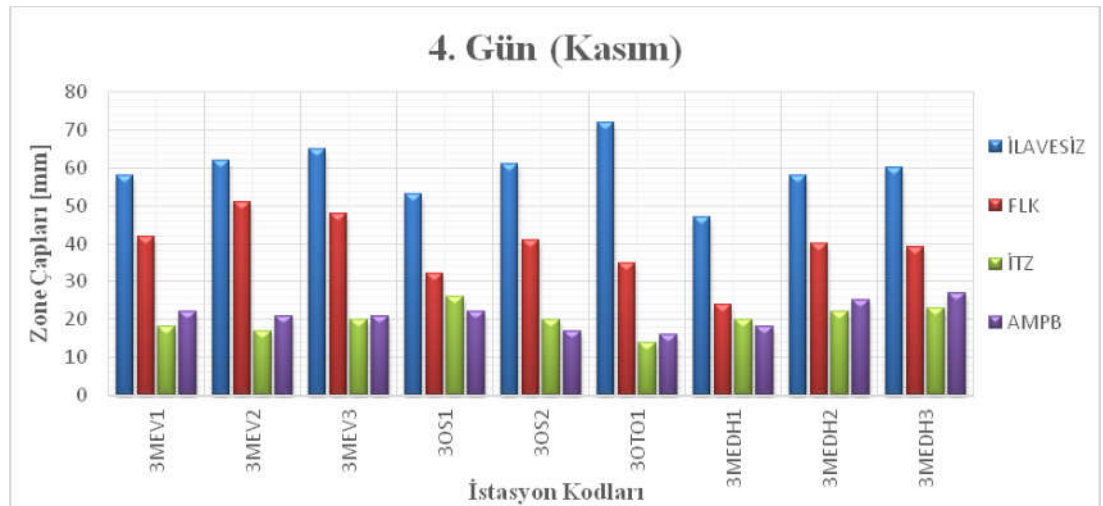
Şekil 4.8. Ekim gününden sonra 6. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri

Aşağıdaki tablolarda **Kasım** Ayı *Aspergillus* türlerinin Flukonazol, İtrakonazol , Amfoterisin-B ve İlavesiz olarak zon çaplarının ölçüm (mm) sonuçları gösterilmiştir. (Minimal Doz uygulanmıştır.)

Ekim Tarihi : 31.07.2019

Tablo 4.12. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının ölçümleri (05.08.2019)

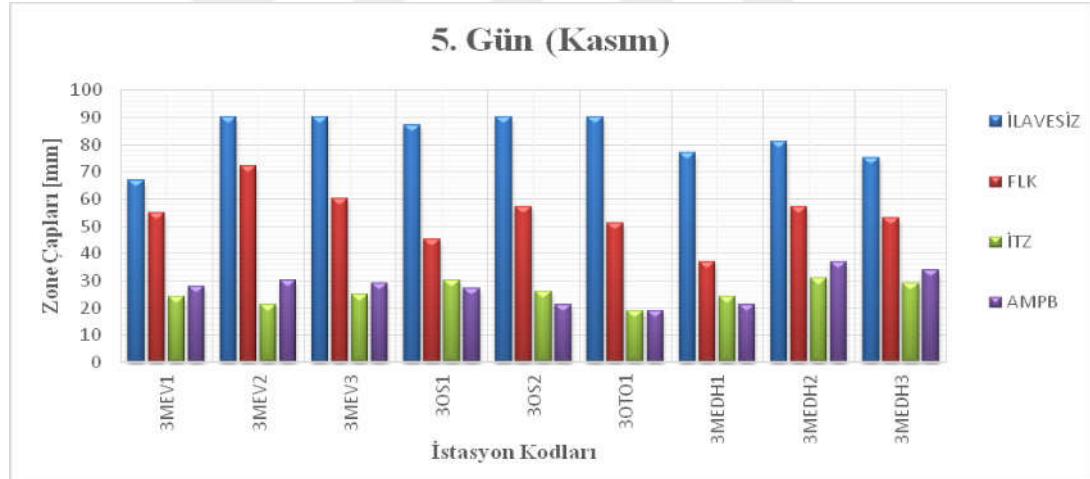
	İLAVESİZ	FLK	İTZ	AMPB
3MEV1	58	42	18	22
3MEV2	62	51	17	21
3MEV3	65	48	20	21
3OS1	53	32	26	22
3OS2	61	41	20	17
3OTO1	72	35	14	16
3MEDH1	47	24	20	18
3MEDH2	58	40	22	25
3MEDH3	60	39	23	27



Şekil 4.9. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri

Tablo 4.13. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının ölçümleri (06.08.2019)

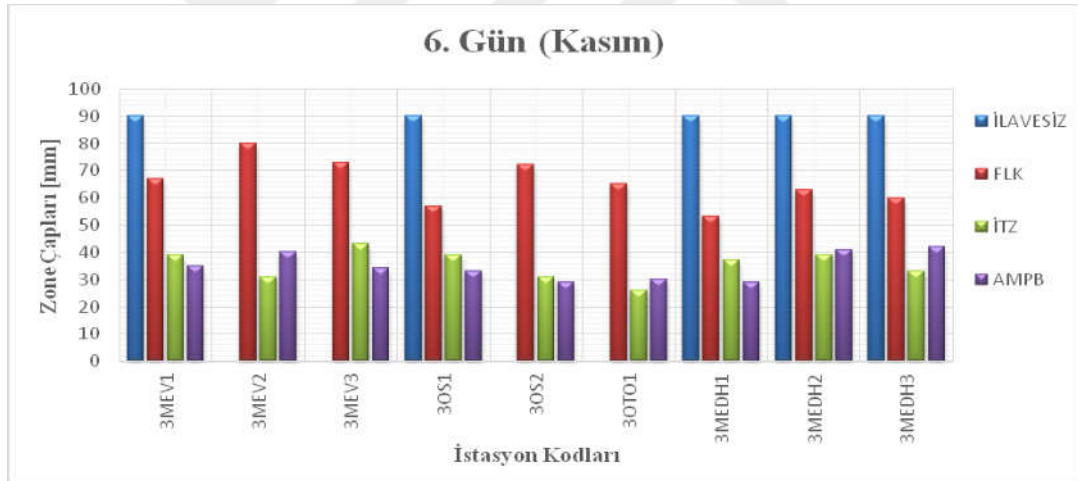
	İLAVESİZ	FLK	İTZ	AMPB
3MEV1	67	55	24	28
3MEV2	90	72	21	30
3MEV3	90	60	25	29
3OS1	87	45	30	27
3OS2	90	57	26	21
3OTO1	90	51	19	19
3MEDH1	77	37	24	21
3MEDH2	81	57	31	37
3MEDH3	75	53	29	34



Şekil 4.10. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri

Tablo 4.14. Ekim gününden sonra 6. Gün zon çaplarının ölçümleri (07.08.2019)

	İLAVESİZ	FLK	İTZ	AMPB
3MEV1	90	67	39	35
3MEV2	0	80	31	40
3MEV3	0	73	43	34
3OS1	90	57	39	33
3OS2	0	72	31	29
3OTO1	0	65	26	30
3MEDH1	90	53	37	29
3MEDH2	90	63	39	41
3MEDH3	90	60	33	42



Şekil 4.11. Ekim gününden sonra 6. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri

Aşağıdaki tablolarda **Şubat** Ayı *Aspergillus* türlerinin Flukonazol, İtrakonazol, Amfoterisin-B ve İlavesiz olarak zon çaplarının ölçüm (mm) sonuçları gösterilmiştir. (Minimum Doz uygulanmıştır.)

Ekim Tarihi: 31.07.2019

Tablo 4.15. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (05.08.2019)

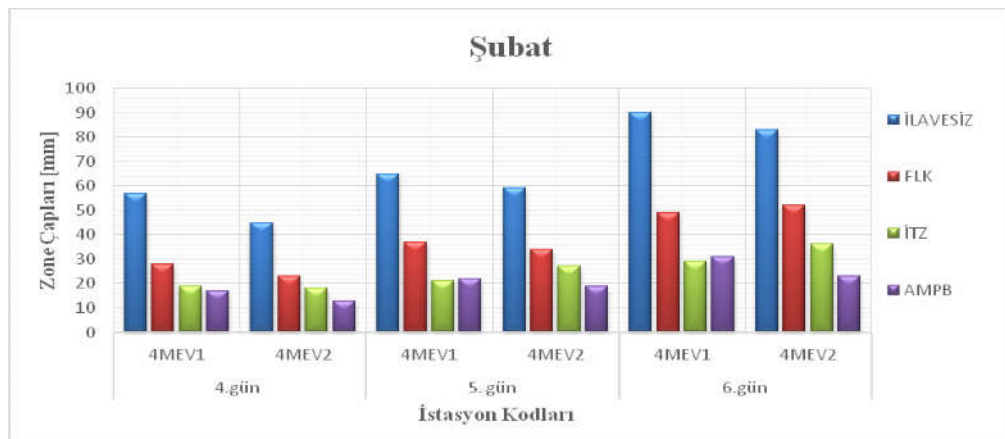
	İLAVESİZ	FLK	İTZ	AMPB
4OS1	57	28	19	17
4MEV2	45	23	18	13

Tablo 4.16. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (06.08.2019)

	İLAVESİZ	FLK	İTZ	AMPB
4OS1	65	37	21	22
4MEV2	59	34	27	19

Tablo 4.17. Ekim gününden sonra 6. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (07.08.2019)

	İLAVESİZ	FLK	İTZ	AMPB
4OS1	90	49	29	31
4MEV2	83	52	36	23



Şekil 4.12. Şubat ayı 4, 5 ve 6 günlerin zon çaplarının (mm) ölçümleri

Aşağıdaki tablolarda mevsimlik dönemden seçilen *Aspergillus* örneklerinin yüksek doz antifungal duyarlılıklarının zon çaplarının ölçülmesi:

Ekim Tarihi: 02.08.2019

Tablo 4.18. Ekim gününden sonra 3. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (05.08.2019)

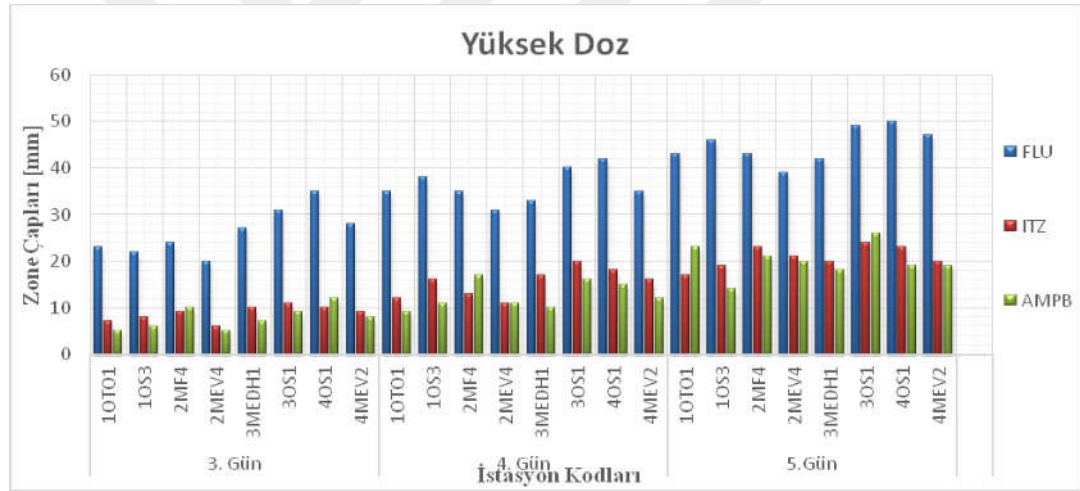
	FLU	ITZ	AMPB
1OTO1	23	7	5
1OS3	22	8	6
2MF4	24	9	10
2MEV4	20	6	5
3MEDH1	27	10	7
3OS1	31	11	9
4OS1	35	10	12
4MEV2	28	9	8

Tablo 4.19. Ekim gününden sonra 4. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (06.08.2019)

	FLU	ITZ	AMPB
1OTO1	35	12	9
1OS3	38	16	11
2MF4	35	13	17
2MEV4	31	11	11
3MEDH1	33	17	10
3OS1	40	20	16
4OS1	42	18	15
4MEV2	35	16	12

Tablo 4.20. Ekim gününden sonra 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri (07.08.2019)

	FLU	ITZ	AMPB
1OTO1	43	17	23
1OS3	46	19	14
2MF4	43	23	21
2MEV4	39	21	20
3MEDH1	42	20	18
3OS1	49	24	26
4OS1	50	23	19
4MEV2	47	20	19



Şekil 4.13. Ekim gününden sonra 3, 4 ve 5. Gün zon çaplarının (mm) ölçümleri

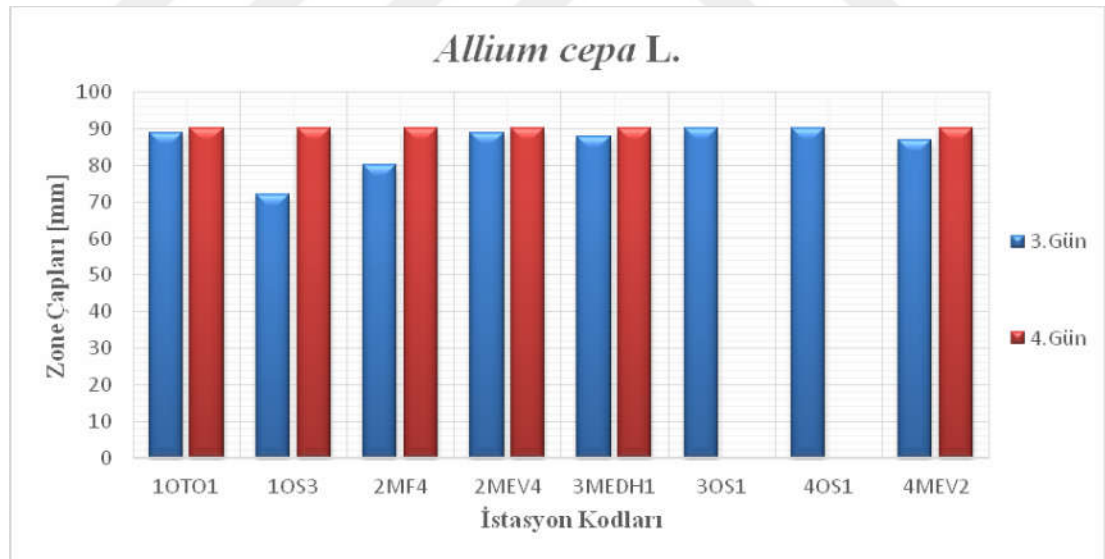
Antifungal özelliği olduğu belirtilen ceviz (*Juglans regia* L.) ve soğan (*Allium cepa* L.) ekstrelerinin antifungal duyarlılık/dirençlilik durumu da ölçülmüştür.

Mevsimlik yapılan örneklemeden elde edilen *Aspergillus* kolonilerden her mevsimden 2 örnek alınarak *Allium cepa* L. Antifungal duyarlılık/dirençlilik durumuna ait veriler **Tablo 4.21** de verilmiştir.

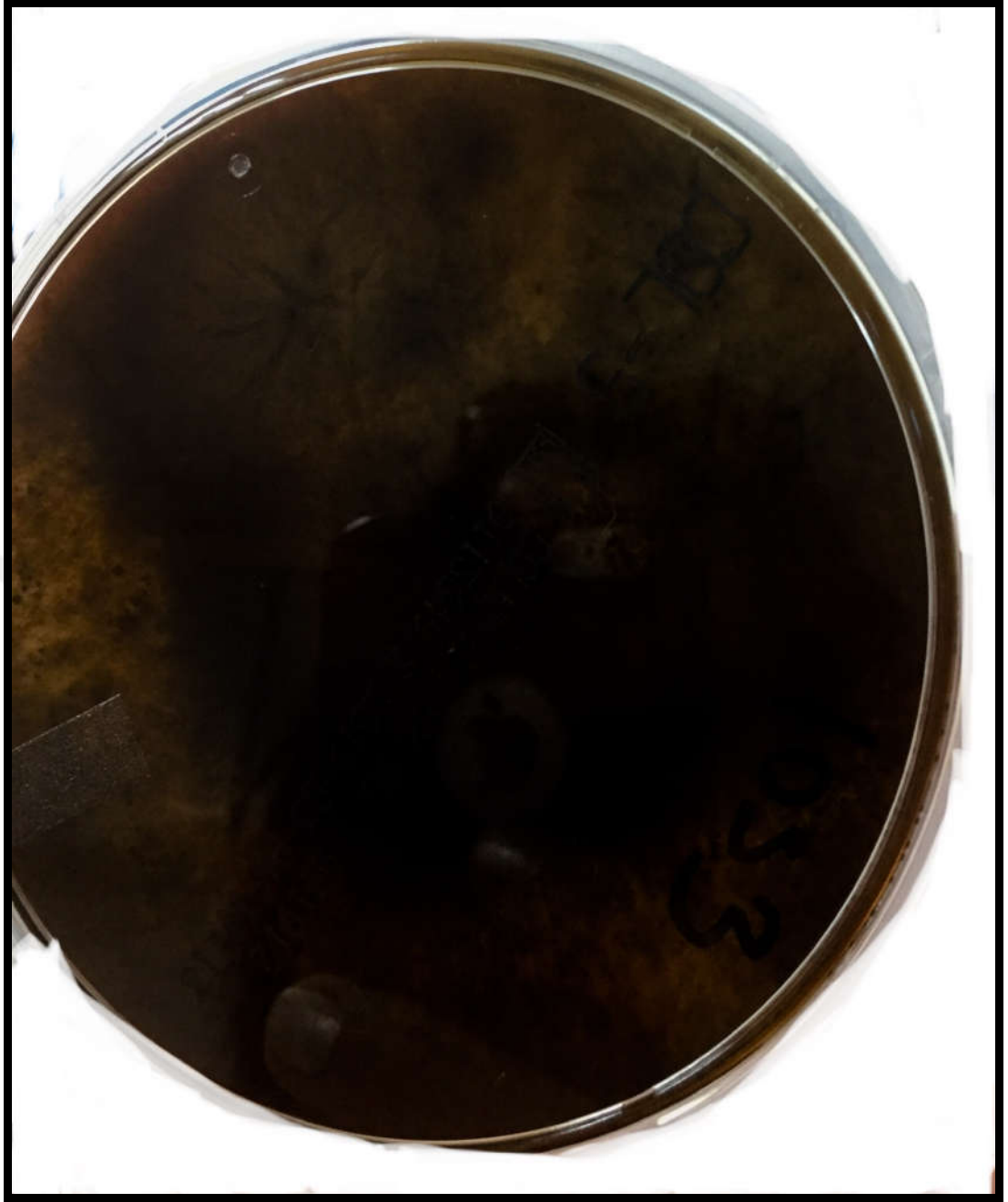
Ekim Tarihi: 02.08.2019

Tablo 4.21. *Allium cepa* L. ile hazırlanan PDA besiyerindeki *Aspergillus* kolonilerinin zon çaplarının (mm) ölçülmesi

	<i>Allium cepa</i> L. zon çapları (mm)	
GÜN	3.	4.
1OTO1	89	90
1OS3	72	90
2MF4	80	90
2MEV4	89	90
3MEDH1	88	90
3OS1	90	0
4OS1	90	0
4MEV2	87	90



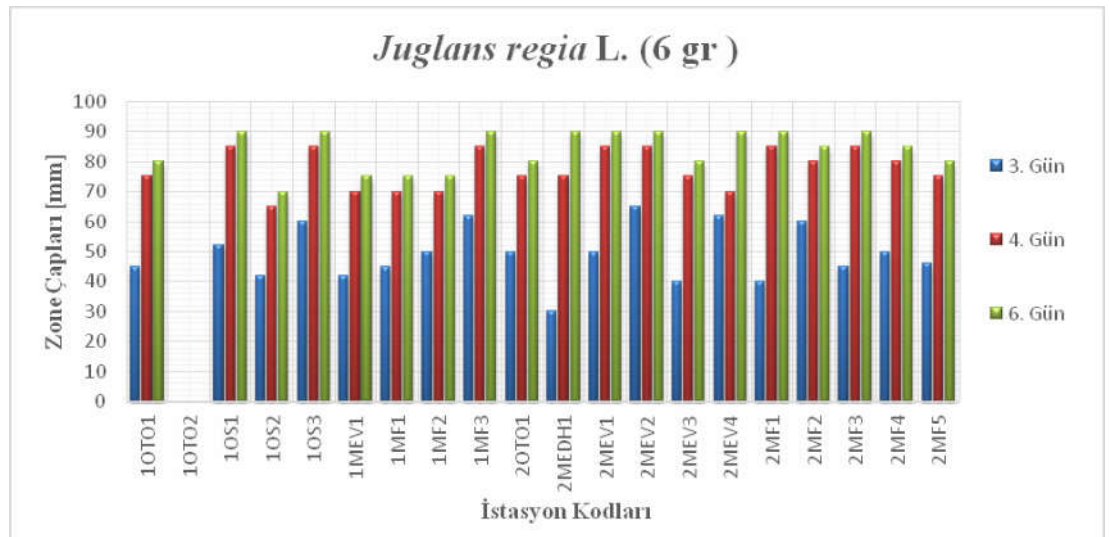
Şekil 4.14. *Allium cepa* L. ile hazırlanan PDA besiyerindeki *Aspergillus* kolonilerinin 3 ve 4 gün zon çaplarının (mm) ölçülmesi



Şekil 4.15. *Allium cepa* L petri alttan görüntüsü

Tablo 4.22. *Juglans regia* L. 6 gr ile hazırlanan PDA besiyerindeki *Aspergillus* kolonilerinin zon çaplarının (mm) ölçülmesi Ekim Tarihi 23.11.2018

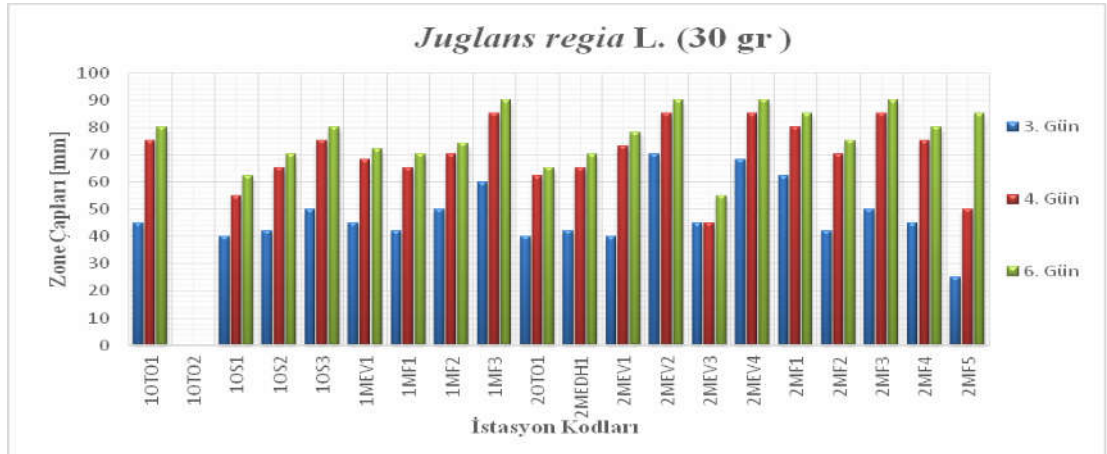
GÜN	<i>Juglans regia</i> L. (6 gr)		
	3	4	6
1OTO1	45	75	80
1OTO2	K	K	K
1OS1	52	85	90
1OS2	42	65	70
1OS3	60	85	90
1MEV1	42	70	75
1MF1	45	70	75
1MF2	50	70	75
1MF3	62	85	90
2OTO1	50	75	80
2MEDH1	30	75	90
2MEV1	50	85	90
2MEV2	65	85	90
2MEV3	40	75	80
2MEV4	62	70	90
2MF1	40	85	90
2MF2	60	80	85
2MF3	45	85	90
2MF4	50	80	85
2MF5	46	75	80



Şekil 4.16. *Juglans regia* L. 6 gr ile hazırlanan PDA besiyerindeki *Aspergillus* kolonilerinin 3, 4 ve 6. Gün zon çaplarının (mm) ölçülmesi

Tablo 4.23. *Juglans regia* L. 30 gr ile hazırlanan PDA besiyerindeki *Aspergillus* kolonilerinin zon çaplarının (mm) ölçülmesi

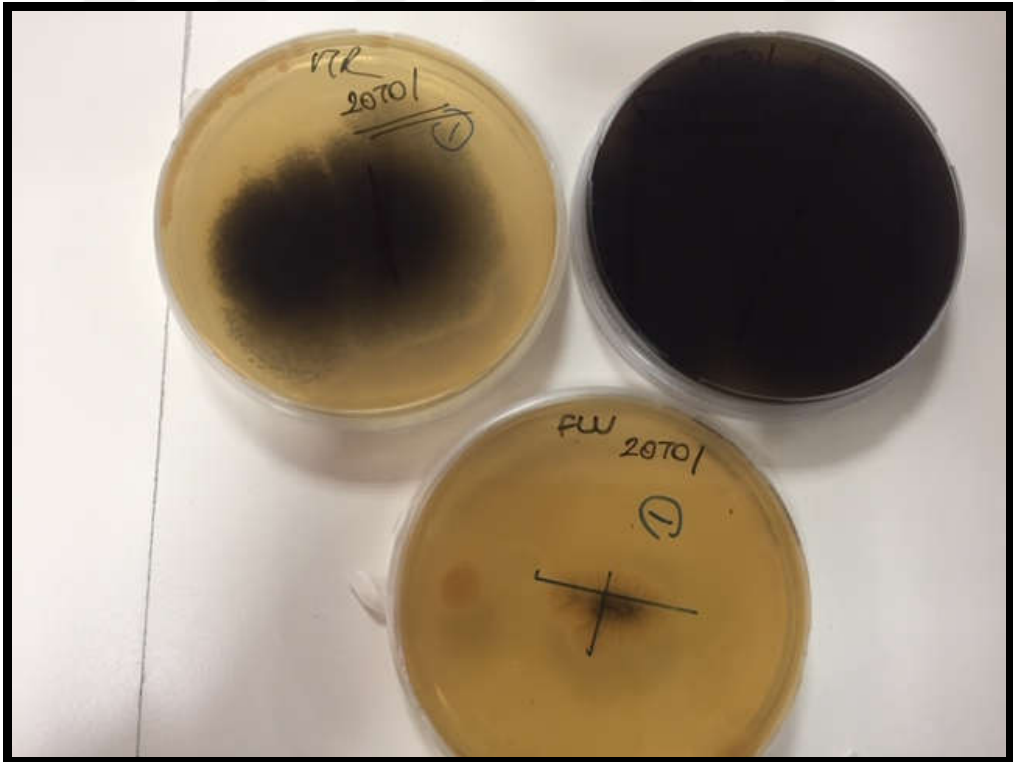
<i>Juglans regia</i> L. (30 gr)			
GÜN	3	4	6
1OTO1	45	75	80
1OTO2	K	K	K
1OS1	40	55	62
1OS2	42	65	70
1OS3	50	75	80
1MEV1	45	68	72
1MF1	42	65	70
1MF2	50	70	74
1MF3	60	85	90
2OTO1	40	62	65
2MEDH1	42	65	70
2MEV1	40	73	78
2MEV2	70	85	90
2MEV3	45	45	55
2MEV4	68	85	90
2MF1	62	80	85
2MF2	42	70	75
2MF3	50	85	90
2MF4	45	75	80
2MF5	25	50	85



Şekil 4.17. *Juglans regia* L. 30 gr ile hazırlanan PDA besiyerindeki *Aspergillus* kolonilerinin 3, 4 ve 6. gün zon çaplarının (mm) ölçülmesi



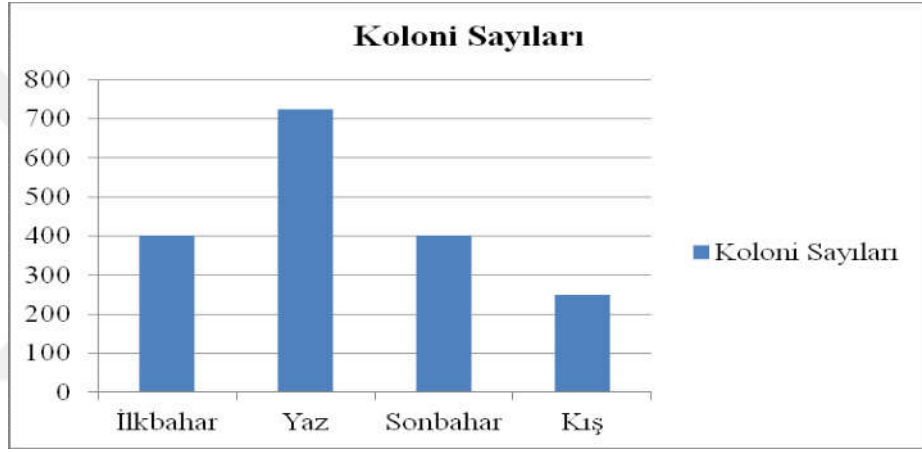
Şekil 4.18. *Juglans regia* L. , ITZ ve FLK eklenmiş petri üstten görüntüleri



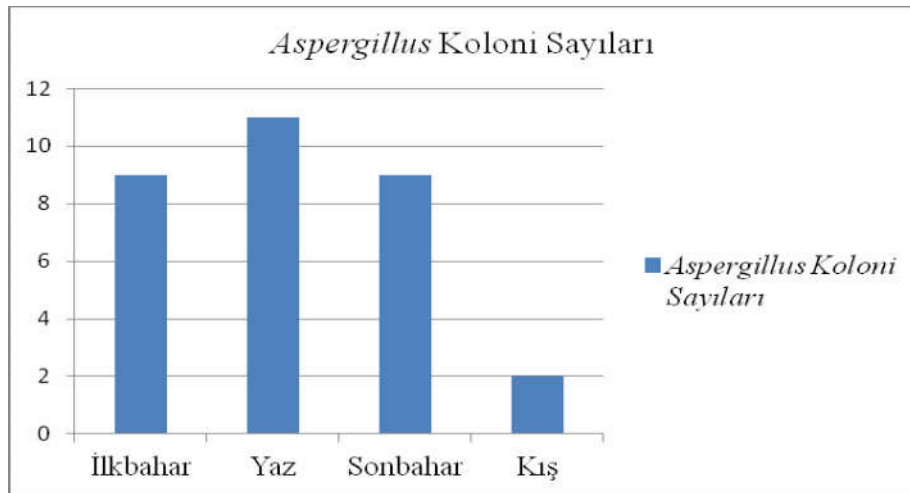
Şekil 4.19. *Juglans regia* L. , ITZ ve FLK eklenmiş petri attan görüntüleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda 2018-2019 yılları arasında Manisa il merkezinde belirlenen 5 istasyondan mevsimlik örnekleme yapılmıştır. Her istasyondan 10 adet petri kabı kullanılmış olup, toplamda 50 adet petri kabı kullanılmıştır. Her petri kabındaki koloni sayıları sayılmıştır. Toplamda 1777 fungus kolonisi sayılmıştır. *Aspergillus* genusuna ait 31 koloni sayılmıştır. Şekil 5.1 de gösterildiği gibi en çok koloni sayısı ağustos ayı, en az koloni sayısı ocak ayı örneklemesine aittir. Şekil 5.2 de *Aspergillus* genusuna ait türlerin oluşturduğu koloni sayıları gösterilmiştir. *Aspergillus* genusuna ait türlerin identifikasyonu yapılmamıştır.



Şekil 5.1. Koloni sayıları



Şekil 5.2. *Aspergillus* genusuna ait koloni sayıları

Mevsimsel olarak örnekleme yapılan çalışmamızda Mayıs ayında yapılan örneklemede en çok koloni sayısı ortalamasına sahip istasyon 3. (Ortalama:12,3), Ağustos ayı örneklemede 2.(Ortalama:16,9), Kasım ayın örneklemede 2.(Ortalama:11,8), ve Şubat ayı örneklemede 1. (Ortalama:6,9) istasyondur. Ağustos ve Kasım ayında en çok ortalamaya sahip olan 2.ci istasyon Mevlevihane'dir. Bu bölge ağaç çeşitliği bakımından zengin, kayalık, atıkların bulunduğu bir bölgedir. Mevsimlik örnekleme de Mayıs ayında en az koloni sayısına sahip istasyon 5. (ortalama:7), Ağustos ayı örneklemede 4. (Ortalama:10,9), Kasım ayı örneklemede 4. (Ortalama: 5,2), Şubat ayı örneklemede 4. (Ortalama:3,4) istasyondur. Ağustos, Kasım, Şubat ayın da en az koloni ortalamasına sahip olan 4. cü istasyon Organize Sanayi bölgesidir.

Antifungal özellikli kimyasallar ile yapılan denemeler literatürde antifungal özelliği olduğu belirtilen ceviz (*Juglans regia* L.) ve soğan (*Allium cepa* L.) ekstraları ile yapılan antifungal duyarlılık testinde dirençlilik saptanmıştır (47). *Allium cepa* L. Ekim sonra ki 96 saatte 90 mm ye ulaşarak *Aspergillus* genusunun üremesini durdurucu hiçbir etkisi olmadığı anlaşılmıştır. *Juglans regia* L. 6 gr ve 30 gr ekstralar ilave edilerek minimal ve maksimal düzeyde dirençlilik değerlendirilmiştir. 3. 4. ve 6. Gündeki değerlendirmeler sonucunda üreme durumunda gerileme olmayıp hızla çoğalma gözlenmiş ve *Aspergillus* genusunda dirençlilik tespit edilmiştir.

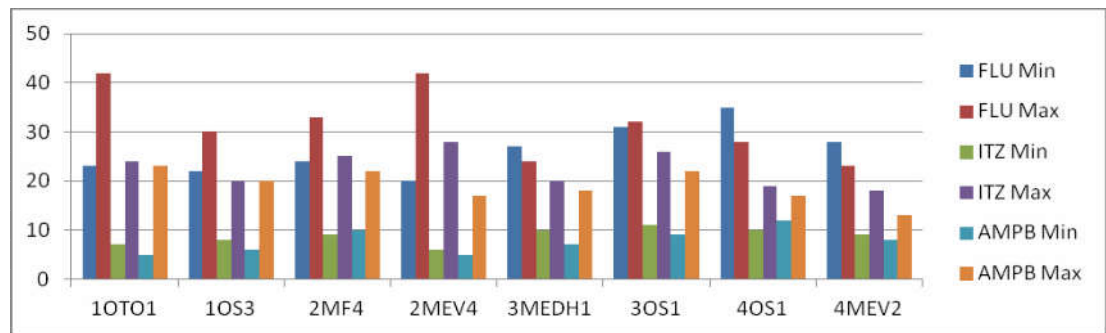
Çalışmamızda *Aspergillus* türlerinin minimal doz Flukonazol, İtrakonazol, Amfoterisin-B ve ilavesiz olarak hazırlanan PDA katı besiyerindeki zon çaplarının ölçümünde ilavesiz örneklerin ekimin 4.gününde gelişimlerinin 90 mm ulaştığı görülmüştür. Flukonazol ve Amfoterisin-B nin etkinliğinin karşılaştırmamız olanak sağlayan *Aspergillus* türlerine karşı intrensik direnci olan Flukonazol arasında görülür zon çapı farkı bulunmaktadır. Flukonazolla hazırlanan PDA besiyerindeki kolonilerde gelişim devam etmiştir. IOTO2 istasyonuna ait suşta gelişim gözlenmemiştir. Ekimden sonraki 6. Günde ITZ ve AMPB ile hazırlanan PDA besiyerlerinde kolonizasyonda aşırı büyüme olmadığı gözlenmiş olup FLK ile hazırlanan besiyerinde gelişim hızla devam etmiştir. IOS3 istasyonuna ait suşta FLK 'li besiyerinde gelişimin ITZ/ AMPB göre daha yavaşladığı gözlenmiştir.

Bir triazol bileşiği olan itrakonazolün *Aspergillus* türlerine karşı *in vivo* ve *in vitro* etkili olduğu bilinmektedir. Fakat *A. fumigatus*'un klinik kökenlerinde İTZ'e kazanılmış dirençle ilgili bildirimler de bulunmaktadır [52].

Maximum doz antifungal ajanlarla hazırlanan PDA besiyerindeki suşlarda gelişim minimum dozla hazırlanan besiyerindeki suşlara göre gelişim karşılaştırıldığında maximum dozda gelişim yavaştır. Gelişimin karşılaştırılması ekimden sonra ki 4. Gündeki zon çaplarının karşılaştırılması Tablo 5.1 gösterilmiştir.

Tablo 5.1. Min ve Max dozlarla hazırlanan PDA besiyerindeki suşların zon çaplarının (mm) ekimden sonraki 4. Güne göre karşılaştırılması

	FLU		ITZ		AMPB	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max
1OTO1	23	42	7	24	5	23
1OS3	22	30	8	20	6	20
2MF4	24	33	9	25	10	22
2MEV4	20	42	6	28	5	17
3MEDH1	27	24	10	20	7	18
3OS1	31	32	11	26	9	22
4OS1	35	28	10	19	12	17
4MEV2	28	23	9	18	8	13



Şekil 5.3. Min ve Max dozlarla hazırlanan PDA besiyerindeki suşların zon çaplarının (mm) ekimden sonraki 4. Güne göre karşılaştırılması

In vitro testlerde *Aspergillus* türlerinin genellikle amfoterisin B ve itrakonazol için düşük MİK değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir [53]. Ülkemizde 32 *Aspergillus* izolatıyla yapılan bir mikrodilüsyon duyarlılık çalışmasında, MİK değerleri amfoterisin B için 0.125-2 µg/ml (MİK₅₀= 0.25 µg/ml), itrakonazol için 0.125-16 µg/ml (MİK₅₀= 1 µg/ml) olarak saptanmıştır [54]. Bu çalışma ile karşılaştırıldığında, bizim suşlarımızın MİK₅₀ değerleri, amfoterisin B (0,03- 16 µg/ml) ve itrakonazol (0,03- 16 µg/ml) için 0,03 µg/ml bulunmuştur. Ayrıca başka bir çalışmada da itrakonazol ile amfoterisin B'nin etkinliğini 198 *Aspergillus* türüne karşı değerlendirmişler ve MİK aralıklarını amfoterisin B için 0.12-4 µg/ml, itrakonazol için 0.25-8 µg/ml ; sırasıyla MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini ise amfoterisin B için 1 ve 2 µg/ml, itrakonazol için 1 ve 2 µg/ml olarak çalışmalarında kullanmışlardır [55].

Sonuç olarak, *Aspergillus* türleri, bağışıklık sistemi zayıf/baskılanmış hastalarda çoğunlukla akciğer enfeksiyonlarına neden olmasının yanı sıra, doğrudan inokulasyonlar yoluyla endokardit, paranasal sinus enfeksiyonu, keratit, endoftalmit , menenjit, osteomyelit ve mikoz gibi çok çeşitli enfeksiyonlara da neden olabilirler. Ülkemizde *Aspergillus* türlerine bağlı oluşan hastalık olgularının önceki yıllara göre daha fazla saptanmaya başlaması, ampirik tedavi protokollerinin oluşturulması için bölgemizdeki suşların antifungal duyarlılık sonuçlarının bilinmesinin ve bu amaçla da daha geniş klinik izolatların dahil edildiği çalışmaların yapılmasının gerekli olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızla *Aspergillus* türlerinin canlı vücuda girmeden de antifungal ajanlara karşı gösterdikleri direnç/duyarlılık durumları, en çok hangi mevsimde yoğun görüldükleri ve ekolojik durumları araştırılmıştır. Bağışıklık sistemi düşük, kötü yaşam koşullarına sahip, ekonomik durumu düşük, kötü beslenme alışkanlığı olan bireylerin bu fungusların sebep olduğu hastalıklara yakalanma riskinin yüksek olduğu unutulmamalıdır.

6. KAYNAKLAR

- [1] Sümer, S., Genel Mikoloji. Nobel Yayın Basımevi, Ankara. Türkiye, 2006, 1-337 s.
- [2] Madigan, M.T., ve ark., Brock Biology of Microorganisms. Eighth Edition. Prentice Hall, International, Inc. 1997, 1027-1035 p.
- [3] Kıvanç, M., Güven, K., Prokaryotlar, Protisler ve Funguslar. Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, 2009, 19-38 s.
- [4] Adrio, J. L., Demain, A. L., Fungal biotechnology. Ed: Timm Anke, International Microbiology, 2003, 6, 191-199 p.
- [5] Ghorai, S., ve ark. Fungal biotechnology in food and feed processing. Food Research International, 2009, 42, 577-58 p.
- [6] Moore, D. and Chiu, S. W., Fungal products as food. Fungal Diversity Press: Hong Kong, 2001, 233- 251 p.
- [7] Seidl, M., Industrial uses of fungi. The Environmental Reporter, 2009, 4(9), 17
- [8] Anonymous, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Sim Matbaası, Ankara, 2000, 3(13), 522 s.
- [9] CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved Standard-Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne ,PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- [10] Rokemi J. S., Industrial mycology. Biotechnology. The Hebrew University of Jerusalem Sample Chapters Biotechnology, İsrail, 1997, Vol 6.
- [11] Chazalet V, ve ark., Molecular typing of environmental and patient isolates of *Aspergillus fumigatus* from various hospital settings. J Clin Microbiol, 1998, 36, 1494-1500.
- [12] Wagner, G.E., Broncho-pulmoner Aspergillosis and Aspergilloma. İn: Mould Allergy, Y.Al-Doory, J.F. Domson, Lea Febiger, Philadelphia, 1988, 11(2), 93-104.

- [13] Asan A.,Ekmekçi S., Topraktan İzole Edilen Bazı *Aspergillus* Türlerinin Kolonial ve Morfolojik Özelliklerine Katkıları . Ortaokul On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 2004, 2(1), 12-15.
- [14] Domsch, K.H., ve ark. Compendium of soil fungi. Academic Press, London, 1980, Vol. 1., 77-124 p.
- [15] Sen B. and Asan, A. Airborne fungi in vegetable growing areas of Edirne, Turkey, 2001, 17, 69-75.
- [16] Oner, M. Soil microfungi of Turkey. Mycopathol. Mycol. Appl. 42,1970, 81-87.
- [17] Raper K. B, Fennell D. I., The Genus *Aspergillus*. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1965, 263-686 p.
- [18] Larone D. H., Medically Important Fungi A Guide to Identification. Washington DC: ASM Press, 1987, 196-203 p.
- [19] Mitchell TG. Mycology.ve ark. Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, USA: McGraw-Hill Companies Inc., 2013, 671-714 p.
- [20] Hosphental D. R, ve ark., Concentrations of airborne *Aspergillus* compared to the incidence of invasive aspergillosis: lack of correlation. Med Mycol, 1998, 36, 165-168.
- [21] Kwon Chung K. J, Bennett J.E., Medical Mycology. Ed: Lea&Fabinger, Philadelphia, 1992, 562- 573 p.
- [22] Samson RA, ve ark. Introduction to Food and Airborne Fungi. Ed: Centraalbureau voor Schimmelcultures- Utrecht, The Netherlands, 1995, 72-338 p.
- [23] Sentandreu, R, ve ark., The structure and composition of the fungal cell wall, Ed: San-Blas G, Calderone RA, Pathogenic Fungi, Structural Biology and Taxonomy. Caister Academic Press, Norfolk, 2004, 3-39 p.
- [24] Samson R.A., Pitt J.I., Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification, NATO ASI series, Plenum Press, New York, 1990, 452-478 p.
- [25] Ceruti, A., Ceruti, M., Funghi Cancerogeni Anticancerogeni dell'ambiente, degli Alimentie, dei Mangimi. Musumeci, Aosta, 1986.

- [26] Butel J.S., ve ark., Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. McGraw-Hill Companies Inc., USA, 2013, 671-714.
- [27] Verweij P.E., ve ark., In-host adaptation and acquired triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a dilemma for clinical management. Lancet Infect Dis. Netherlands, 2016, 16(11), 251-260. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30138-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30138-4)
- [28] Sutton P, ve ark., Immunosuppressive activity of gliotoxin, a metabolite produced by human pathogenic fungi. Infect Immun. Australian, 1994, 62, 1192-1198.
- [29] Denning D.W., Invazive aspergillosis. Clin Infect Dis. Philadelphia, 1998, 26, 781-805.
- [30] Richard U, ve ark., Virulance of an aspergillopepsin-deficient mutant of *Aspergillus fumigatus* and evidence for another aspartic proteinase linked to the fungal cell wall. J Med Vet Mycol. 1997, 35, 189-196.
- [31] Shah, A., Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Al-lergy Clin Immunol Int-J World Allergy Org. 2005, 17, 172-80.
- [32] Greenberger, P.A., Allergic bronchopulmonary aspergillo-sis. Ed: Middleton (Jr), CE Reed, EF Ellis, AN Franklin(Jr), JW Yunginger, WW Busse., Allergy: Principles and Practice. 5th ed. St Louis: Mosby, 1998, 981-93.
- [33] Akman M., Gülmezoğlu E., Tıbbi Mikrobiyoloji. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A15 3. Baskı, Ankara, 1980, 170-173 s.
- [34] Arda M., Mikoloji. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1980, 223-241 s.
- [35] Patterson TF., *Aspergillus* species. Ed: Dolin R, Mandell, Douglas and Bennett's, Principles and Practice of Infectious Diseases., 6th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005, 73-2958 p.
- [36] Arikan S, ve ark., Primary cutaneous aspergillosis in human immunodeficiency virus-infected patients: two cases and review. Clin Infect Dis, 1998; 27:, 3-641.
- [37] Denning D.W., Invasive aspergillosis. Clin Infect Dis, 1998, 26, 781-805.

- [38] Latge J.P., *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. Clin Microbiol Rev. 1999, 12, 50-310.
- [39] Alp, Ş., *Aspergillus* Cinsi Fungusların Olası Virülans Faktörleri Mikrobiyoloji Bülteni mikrobiyol Bült., 2006, 40(109), 119-109
- [40] Soubani A.O., Chandrasekar P.H., The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. Chest. 2002, 19, 99-121.
- [41] Tillie-Leblond I., Tonnel A.B., Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Allergy. 2005, 60, 13-1004.
- [42] <https://www.klimud.org/public/uploads/dosya/1356789080.pdf>
- [43] Yücel A, ve ark., Günümüzde Antimikrobik Tedavi. İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği. İstanbul, 1998, 12, 117-142.
- [44] Richardson M.D., Warnock D.W., Aspergillosis. In: Fungal Infection. Diagnosis and Management. Blackwell Science. London, 1997, 113-130.
- [45] Fang, Z., ve ark., Culturable airborne fungi in outdoor environments in Beijing., Sci Total Environ. China, 2005, 350(1), 47-58.
- [46] Asan, A., ve ark., Airborne fungi and actinomycetes concentrations in the air of Eskişehir City. Indoor Built Environ. Eskişehir, 2004, 13, 63-74.
- [47] Samson, R. A., Pitt, J. I., Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. ISBN Harwood Academic Publishers. Amsteldijk, 2000, 90(5823), 3-159.
- [48] Samson, R. A., ve ark., Introduction to food and airborne fungi, CBS Publication. Holland, 2004.
- [49] Kalmış E, ve ark., Evaluation of two wild types of *Pleurotus ostreatus* (MCC07 and MCC20) isolated from nature for their ability to decolorize Benazol Black ZN textile dye in comparison to some commercial types of white rot fungi: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus djamor* and *Pleurotus citrinopileatus*. Can. J. Microbiol., 2008, 54, 366-370.

- [50] Benkeblia, N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Lebensm Wiss Technol.* 2004, 37, 263-268.
- [51] Çetin, B., ve ark., Antibacterial activities of *Calendula officinalis* callus extract. *Int. J. Secondary Metabol.* 2017, 4, 257-263.
- [52] Dannaoui E, ve ark., Acquired itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *J Antimicrob Chemother.* 2001, 3, 333-340.
- [53] Kantarcıoğlu S, ve ark., Olgu bildiri: Bir akciğer aspergillozu olgusunun mikoloji yönünden izlenmesi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* İstanbul, 2003, 34, 194-203.
- [54] Ozkutuk A, ve ark., Comparison of disk diffusion, E-test and broth microdilution test in determination of susceptibility of *Aspergillus* species to amphotericin B, itraconazole and voriconazole. *J Chemother.* 2008, 20, 87-92.
- [55] Pfaller MA, ve ark., SENTRY Participants Group. Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of *Aspergillus* spp. and other filamentous fungi: report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program., 2000, *Antimicrob Agents Chemother.* 2002, 46(4), 7-1032.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

- **İsim:** Yağmur EKER
- **Doğum Yeri:** Fethiye
- **Doğum Tarihi:** 28.05.1988
- **Uyruğu:** TC
- **Medeni Durumu:** Bekar
- **Ehliyet:** B sınıfı (2009- Aktif Kullanıcı)
- **İletişim:** SBÜ Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahi Eğitim ve Araştırma Hastanesi /Klinik Biyokimya Laboratuvarı
yagmur_eker_88@hotmail.com
05063168141



ÖĞRENİM DURUMU

- 2002 – 2006 Çanakkale Sağlık Meslek Lisesi – Hemşirelik Diploma Notu : 4.56 /5.00
- 2009 – 2011 Adnan Menderes Üniversitesi Aydın Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu- Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Diploma Notu: 79,53/ 100
- 2012- 2015 Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi – Biyoloji Diploma Notu: 3.48 /4.00
- Ocak 2016- Temmuz 2017 Dokuz Eylül Üniversitesi Buca Eğitim Fakültesi – Pedagojik Formasyon Eğitimi Sertifikası
- 2017 - Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü – Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Diploma Notu: 3,75/4.00 Tez Aşaması
- 2019 Ege Üniversitesi Fen Fakültesi – Biyokimya – Devam ediyor

İŞ TECRÜBELERİ

- **Ekim 2006- Haziran 2007 Ali Nurettin GÜRSES Doktor Muayenehanesi - Hemşire**

- **Temmuz 2007 – Nisan 2017 T.C. Sağlık Bakanlığı SBÜ Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahi E.A.H (Kamu)**

Temmuz 2007- Ekim 2011 Göğüs Cerrahi Kliniği - Hemşire

Kasım 2011- Ağustos 2013 Göğüs Hastalıkları Kliniği - Hemşire

Eylül 2013- Mart 2013 Acil Servis Kliniği- Hemşire

Nisan 2013- Nisan 2017 Yoğun Bakım Ünitesi – Hemşire

- **Mayıs 2017- Haziran 2018 T.C Sağlık Bakanlığı Çiğli Bölge Eğitim Hastanesi (Kamu)**

Kalp Damar Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi - Hemşire

- **Temmuz 2018- Kasım 2018 T.C. Sağlık Bakanlığı Manisa Merkez Efendi Devlet Hastanesi (Kamu)**

Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı – Tıbbi Laboratuvar Teknikeri / Biyolog

- **Aralık 2018-Çalışıyor T.C. Sağlık Bakanlığı S.B.Ü Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahi E.A.H (Kamu)**

Klinik Biyokimya Laboratuvarı – Tıbbi Laboratuvar Teknikeri / Biyolog

YABANCI DİL VE DÜZEYİ

- Gramer : Orta Listening/Speaking : Başlangıç Reading: Başlangıç
Writing: Başlangıç

BİLGİSAYAR BECERİLERİ

- MS Ofis Programları (Word, Excel, Powerpoint, Outlook)

SERTİFİKALAR

- 13. Ulusal Dahili ve Cerrahi Bilimler Yoğun Bakım Kongresi/ 5. Avrasya Yoğun Bakım Toplantısı “ Yoğun Bakım Hemşireliğinde Mekanik Ventilasyon Uygulama Yöntemleri, Sedasyon ve Ağrının Değerlendirilmesi” Kurs Sertifikası, 2016
- T.C Sağlık Bakanlığı İzmir İl Sağlık Müdürlüğü ‘ Temel Yaşam Desteği ve İleri Hava Yolu Uygulamaları ‘ Kurs Katılım Belgesi, 2008
- 2B Diagnostik Sistemler San ve Tic. Ltd Şti ‘Kan Şekeri Ölçüm Sistemleri ‘ Sertifikası, 2008
- Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi ‘TS-EN ISO 17025 Kalibrasyon ve Laboratuvar Akreditasyon Yönetim Sistemleri’ Seminer Sertifikası, 2011
- T.C. Sağlık Bakanlığı S.B.Ü Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahi E.A.H ‘ Temel İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitimi’, 2014

KONGRE VE SEMPOZYUMLAR

- 13. Ulusal Dahili ve Cerrahi Bilimler Yoğun Bakım Kongresi/ 5. Avrasya Yoğun Bakım Toplantısı, 2016
- T.C Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi ‘2. Hemşirelik Sempozyumu’, 2012
- 18. Ulusal Vasküler ve Endovasküler Cerrahi Kongresi & 9. Ulusal Fleboloji Kongresi, 2017
- TÜBİTAK Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi ‘Fen Bilgisi ve Biyoloji Öğretmen Adaylarına Yönelik Bilim Danışmanlığı Çalıştayı’, 2015

- T.C Sağlık Bakanlığı İzmir Kuzey Kamu Hastaneleri Birliđi Genel Sekreterliđi ‘‘ İzmir Kuzey Hemşirelik Günleri Sempozyumu- Yoğun Bakım ve Palyatif Hemřireliđi Sempozyumu’’ , 2016
- T.C Sağlık Bakanlığı İzmir Kuzey Kamu Hastaneleri Birliđi Genel Sekreterliđi ‘‘ İzmir Kuzey Hemşirelik Günleri Sempozyumu- IV. Göđü Hastalıkları Hemřireliđi Sempozyumu’’ , 2016
- Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ‘‘ III. Uluslararası Lisansüstü Eğitim Kongresi’’ , 2018

BİLDİRİLER

- *Aspergillus* Türlerine Bağlı Gelişen Aspergilloma ve İnvaziv Aspergillozun Klinik Seyrinin Karşılaştırılması – CBU Sağlık Bilimleri Enstitüsü Derneği, 2018
- Vasküler Cerrahi Sonrası Ağrı Yönetimi- Damar Cerrahisi Dergisi,2017