

**KAHRAMANMARAŞ VE ÇEVRESİNDE DERMATOFİTOZİS  
ETKENLERİNİN BELİRLENMESİ VE *Trichophyton rubrum*,  
*Trichophyton mentagrophytes*'İN PROTEAZ AKTİVİTESİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**DETERMINATION OF DERMATOPHYTOSIS AGENTS IN  
KAHRAMANMARAŞ AND INVESTIGATION OF PROTEASE  
ACTIVITY OF *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton  
mentagrophytes***

**Hüseyin TANIŞ**

**Hacettepe Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak hazırlanmıştır**

**2008**

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne  
Bu çalışma jürimiz tarafından BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda  
DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye(Danışman) : Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR

Üye : Prof. Dr. Nazif KOLANKAYA

Üye : Prof. Dr. Nilüfer AKSÖZ

Üye (II.Danışman) : Prof. Dr. Zülal Aşçı TORAMAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Özlem Eren KIRAN

ONAY

Bu tez ..../...../2008 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen  
yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Erdem YAZGAN  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

# KAHRAMANMARAŞ VE ÇEVRESİNİN DERMATOFİTOZİS ETKENLERİNİN BELİRLENMESİ VE *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*'İN PROTEAZ AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Hüseyin TANIŞ

## ÖZ

Son yıllarda teknolojinin gelişmesi ile yaşam şeklinin değişmesi, immunosupresif ilaçların kullanılması gibi nedenlerden dolayı yüzeysel mantar hastalıklarında önemli artış görülmektedir. Dermatofitozis bildiri zorunlu hastalıklar arasında olmadığından mantar infeksiyonlarının çıkışı, yayılışı ve bunları etkileyen faktörlerin saptanması özellikle bulaşma ve yayılmanın önlenmesi açısından değer taşımaktadır.

Bu amaçla Kahramanmaraş bölgesinin dermatofitozis etkenlerinin belirlenmesi ve yaygın olarak görülen dermatofitozis etkenleri olan *Trichophyton rubrum* ve *Trichophyton mentagrophytes*'in proteaz aktivitesini araştırmayı amaçladık. Kahramanmaraş Devlet Hastanesi ve Yenişehir Devlet Hastanesi dermatoloji kliniğine başvuran ve mantar infeksiyonu şüphesi olan 338 olgudan deri ve tırnak kazıntı örnekleri alındı. Örnekler % 15'lik KOH ile muamele edilerek mikroskopta direkt inceleme yapıldı. Ayrıca Sabouraud dekstroz agar besiyerlerine ekimler yapılarak kültürleri gerçekleştirildi. Direkt mikroskopik inceleme sonucunda 338 olgunun % 44.67'sinde mantar elemanları saptandı. Bunlardan biri *Malasezia furfur* olarak tanımlandı. 187 (% 53.32)'inde mantar ise görülmedi. Kültürlerin tanımlanması sonucunda 64(% 18.99) örnekte dermatofit, 10(% 2.96) örnekte ise *Candida sp.* üremesi saptandı. 74(% 21.95) mantar 30(% 40.54)'u *Trichophyton rubrum*, 13(% 17.56)'u *T. mentagrophytes*, 11(% 14.86)'i *T. violaceum*, 10(% 13.45)'u *Candida sp.*, 4(% 5.40)'ü *Epidermaphyton floccosum*, 2(% 2.70)'si *Microsporum canis*, 1(% 1.35)'i *T. rubrum*+*T. violaceum*, 1(% 1.35)'i *T. rubrum*+*T. mentagrophytes*, 2(% 2.70)'si *T. rubrum*+*Candida sp.* olarak saptandı. İzole edilen *Trichophyton rubrum* ve *Trichophyton mentagrophytes* suşlarının kazeinolitik özellikleri incelendi. Kazeinolitik özellikleri pozitif olarak belirlenen Tr2, Tr3, Tr207, Tr319 ve Tm321 suşlarının proteaz aktivitesi araştırıldı.

Dermatofit suşları, enzim üretimi için belirli koşullarda 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. En yüksek proteaz aktivitesi Tr2'de 14 gün inkübasyon süresi sonunda 13.1 U/ml olarak, daha sonra Tr3 12.3 U/ml, Tr319 8.71 U/ml, Tm207 7.65 U/ml, Tm321 7.4 U/ml olarak elde edildi.

Anahtar Kelimeler: Dermatofit, Kahramanmaraş, proteaz aktivitesi

Danışman: Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü.

II. Danışman: Prof. Dr. Zülal Aşçı TORAMAN, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.B. D.

# DETERMINATION OF DERMATOPHYTOSIS AGENT IN KAHRAMANMARAŞ AND INVESTIGATION OF PROTEASE ACTIVITY OF *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*

Hüseyin TANIŞ

## Abstract

There is a significant increase in superficial fungal infection due to immunosuppressive agents and alteration in life style.

Since dermatophytosis is not a obligatory case to be reported, incidence, spread of fungal infections and inducing factor determination is an important factor to control and avoid infection spread. Therefore we aimed to determine the common dermatophytosis agents in Kahramanmaraş and to investigate the protease activity of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. The samples were collected from 338 patients' skin and nail scraps who applied to Kahramanmaraş and Yenişehir Public Hospital with infection suspicion.

The samples were treated with 15% KOH then microscopic examination and culturing was carried out on Saboraud Dextroz Agar. Total 44.67% of 338 patients fungal agents were determined by microscopic examination and one of them was determined as *Malassezia furfur*. On the other hand no fungal agents was detected on 187 patients (53.32%). As a result of culture identification, 64 samples (18.99%) were diagnosed as dermatophytes and 74 (18.99%) were *Candida sp.* Of the isolates, fungus, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. violaceum*, *Candida sp.*, *Epidermaphyton floccosum*, *Microsporium canis*, *T. rubrum+T. violaceum*, *T. rubrum+T. mentagrophytes*, *T. rubrum+Candida sp.* were identified as 74 (21.95%), 30(40.54%), 13(17.56%), 11(14.86%), 10(13.45%), 4(5.40%), 2(2.70%), 1(1.35%), 1(1.35%), and 2(2.70%), respectively. Among these *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*' caseinolytic properties were investigated. The casein positive strains, Tr2, Tr3, Tr207, Tr319 and Tm321, were tested for protease activity. The strains for enzyme production were incubated for 23 days. The highest protease activity was obtained at 13.1U/ml from the strain Tr2 after 14 days of incubation. Tr3, Tr319, Tm207, and Tm321 produced the enzyme activity as 12.3 U/ml, 8.71 U/ml, 7.65 U/ml, and 7.4 U/ml respectively.

Key word: Dermatophytosis, Kahramanmaraş, Protease activity

Advisor : Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR, Hacettepe University, Faculty of Science, Biology Department.

Co-Advisor: Prof. Dr. Zülal Aşçı TORAMAN, Fırat University, Faculty of Medicine, Microbiology Department .

## **TEŞEKKÜR**

Bu alıőma boyunca öneri ve yardımlarıyla daima desteğini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR'e teşekkür ederim. Laboratuvar çalıőmalarımı gerçekleőtirdiğim Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'na teşekkür borçluyum.

Laboratuvar çalıőmalarımnda örneklerin tanımlanması aşamasında büyük desteğini gördüğüm ikinci danışman hocam Prof. Dr. Zülal Aőcı TORAMAN'a teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvar çalıőmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Özlem Eren KIRAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez alıőması Prof.Dr. Nilüfer CİHANGİR yürütücülüğünde Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi araştırma fonunun 2007/1-4 no'lu araştırma projesi tarafından desteklenmiştir. Verdiği araştırma desteğinden dolayı araştırma fonuna teşekkürlerimi sunarım.

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	
DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. MİKOLOJİNİN TARİHÇESİ.....	3
2.2. FUNGUSLARIN YAPISI VE VİRULANS FAKTÖRLERİ.....	4
2.2.1. FUNGUSLARIN YAPISI.....	4
2.2.1.1. Funguslarda Üreme.....	5
2.2.1.1.1. Eşeysiz Üreme.....	5
2.2.1.1.2. Eşeyli Üreme.....	6
2.2.2. DERMATOFİTLER.....	7
2.2.2.1. Trichophyton.....	7
2.2.2.2. Microsporum.....	8
2.2.2.3. Epidermaphyton.....	8
2.2.3. FUNGUSLARDA PROTEAZLAR.....	9
2.2.4. FUNGUSLARDA VİRULANS FAKTÖRLERİ.....	10
2.2.5. MANTAR HASTALIKLARININ PATOGENEZİ.....	15
2.2.6. DERMATOFİTOZİS VE KLİNİK BULGULAR.....	18
2.2.6.1. Tinea capitis.....	18
2.2.6.1.1. Tinea capitis superficialis(Saçkıran, kurukel).....	19
2.2.6.1.2. Tinea capitis profunda (Cherion celsi).....	19
2.2.6.1.3. Tinea capitis favosa (Favus capitis=Kellik).....	19
2.2.6.2. Tinea corporis (T. globrosa).....	20

2.2.6.3. Tinea inguinalis.....	20
2.2.6.4. Tinea unguium.....	20
2.2.6.5. Tinea pedis et manum.....	20
2.2.6.6. İd-Reaksiyonları.....	21
2.3. DERMATOFİTLERİN TANISI.....	21
2.3.1. Direkt Mikroskopik İnceleme.....	21
2.3.2. Örneklerden Mantar Üretilmesi ve Üreyen Mantarın Tanınması İçin Yapılan İşlemler.....	22
2.3.2.1. Kolonilerin Makroskopik İncelenmesi.....	23
2.3.2.2. Kolonilerin Mikroskopik İncelenmesi.....	23
2.3.2.2.1. Koloninin Didilmesi ile Yapılan İnceleme.....	23
2.3.2.2.2. Selofan Band İncelemesi.....	23
2.3.2.2.3. Lam Kültürü (Mikrokültür) Yöntemi.....	23
2.3.2.3. İnvitro Kıl Delme Deneyi.....	24
2.4. DERMATOFİTLERİN EPİDEMİYOLOJİSİ.....	24
2.4.1. Antropofilik Dermatofitler.....	24
2.4.2. Zoofilik Dermatofitler.....	24
2.4.3. Geofilik Dermatofitler.....	25
2.5. DERMATOFİTLERİN İMMUNOLOJİSİ.....	28
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	29
3.1. Örneklerin Toplanması.....	29
3.2. Direkt Mikroskopik Olarak İnceleme.....	29
3.3. Örneklerin Ekilmesi ve Kültürü.....	29
3.3.1. Kültürde Üreyen Mantar Kolonisinin İdentifikasyonu.....	30
3.3.1.1. Koloninin Makroskopik İncelenmesi.....	30
3.3.1.2. Koloninin Mikroskopik İncelenmesi.....	30
3.3.1.2.1. Selofan Bant ile Yapılan İnceleme.....	30
3.3.1.2.2. Lam Kültürü.....	30
3.4. Enzimatik Aktivitelerin Belirlenmesi.....	31
3.4.1. Kazeinolitik Özelliklerin Belirlenmesi.....	31
3.4.2. Proteaz Aktivite Tayini.....	31
3.4.2.1. Sıvı Stok Kültürün Hazırlanması.....	31
3.4.2.2. Ekim ve Üretim.....	31
3.4.2.3. Optimum İnkübasyon Sıcaklığının Saptanması.....	32

3.4.2.4. Optimum İnkübasyon pH'sının Saptanması.....	32
3.4.2.5. Proteaz Miktarının Günlere Göre Değişimi ve Uygun İnkübasyon Süresinin Saptanması.....	32
3.4.2.6. Proteaz Aktivite Tayin Yöntemi.....	32
4. SONUÇLAR.....	34
4.1. Örneklerin İnfeksiyon Yerlerine Göre Dağılımı.....	34
4.2. Alınan Örneklerin Mikroskopik Olarak İncelenmesi.....	34
4.3. Örneklerin Kültür Ekimlerinin Yapılması.....	36
4.4. Kültürde Üreme Görülen Fungusların Tanımlanması.....	39
4.5. İzole Edilen Dermatofitlerin Cinsiyetlere Göre Dağılımı.....	40
4.6. İzole Edilen Dermatofit Türlerinin İnfeksiyon Yerlerine Göre Dağılımı.....	41
4.7. İzole Edilen Dermatofit Türlerinin Yaş Grupları Dağılımı.....	43
4.8. Direkt Mikroskopi ile Kültür Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	44
4.9. Dermatofitlerin Kazeinolitik Özelliklerinin İncelenmesi.....	45
4.10. Dermatofitlerin Üreme ve Enzim Üretim Süresinin Belirlenmesi.....	47
4.11. Sıcaklığın Enzim Aktivitesine Etkisi.....	50
4.12. Enzim Üretiminde Optimum pH'nın Belirlenmesi.....	51
5. TARTIŞMA.....	52
KAYNAKLAR.....	66
Ek 1. Kullanılan Çözeltiler.....	77
Ek 2. Kullanılan Besiyerleri.....	78
ÖZGEÇMİŞ.....	79



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.1. Fungusların Hif ve Sporlarının Mikroskoptaki Görünümü.....	35
Şekil 4.2. Dermatofitlerin Lam Kültürü ile Tanımlanması.....	36
Şekil 4.3.Kültürde Üreyen Dermatofitlerin Makroskobik Görünümü.....	37
Şekil 4.4. Dermatofitlerin Kazeinolitik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	46
Şekil 4.5. Tr2'nin Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi.....	48
Şekil 4.6. Tr3'ün Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi.....	48
Şekil 4.7. Tm207'nin Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi.....	49
Şekil 4.8. Tr319'un Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi.....	49
Şekil 4.9. Tm321'in Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi.....	50
Şekil 4.10. Tr2'de Sıcaklığın Enzim Aktivitesine Etkisi.....	51
Şekil 4.11. Tr2'nin Değişen pH'ya Bağlı Enzim Aktivitesi.....	51

Çizelge 2.1. Dermatofitlerin Çıkış Kaynaklarına ve Bölgelere Göre Dağılımı.....	25
Çizelge 4.1. Yüzeysel Mantar İnfeksiyonlu 338 Olgunun İnfeksiyon Yerlerine Göre dağılımı.....	34
Çizelge 4.2. 338 Örnekte Direkt Mikroskopik İnceleme Sonuçları.....	35
Çizelge 4.3.İncelenen 337 Örneğin Kültür Sonuçlarının Cinsiyetlere Göre Dağılımı.....	38
Çizelge 4.4. İncelenen 337 Olgunun Kültür Sonuçları.....	38
Çizelge 4.5. İzole Edilen Fungus Türlerinin Tüm Olgulara Göre Dağılımı.....	39
Çizelge 4.6. İzole Edilen 74 Dermatofit ve <i>Candida sp.</i> 'nin Dağılımı.....	40
Çizelge 4.7. İnfeksiyonlu Olgulardan İzole Edilen Dermatofit Türlerinin ve <i>Candida sp</i> 'nin Cinsiyetlere Göre Dağılımı.....	41
Çizelge 4.8. İzole Edilen Fungus Türlerinin İnfeksiyon Yerine Göre Dağılımı.....	42
Çizelge 4.9. 337 Olgudan İzole Edilen Dermatofit Türlerinin ve <i>Candida sp</i> 'nin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı.....	44
Çizelge 4.10. Direkt Mikroskopi ile Kültür Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	45
Çizelge 4.11. Dermatofitlerin Kazeinolitik Özelliklerinin İncelenmesi.....	47

## SİMGELER VE KISALTMALAR

- Tr : *Trichophyton rubrum*  
Tm : *Trichophyton mentagrophytes*  
IU : International Unit  
SAP : Secreted aspartil proteaz  
MAP : Metalloproteaz

## 1.GİRİŞ

Dünyada ve Türkiye’de günümüze kadar yapılan birçok araştırmada dermatofitozis etkenleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bir şehrin, bir eyaletin, bir ülkenin hatta bir kıtanın kendine özgü dermatofit florası vardır. Bazı türler dünyanın her yerinde bulunabilirler bazıları ise coğrafik bölge ile sınırlandırılmış olurlar. Bu flora, göç ile oluşan nüfus hareketleri, sağlık alışkanlıkları, yaşam standartları gibi faktörlere bağlı olarak statik olmaktan çok dinamik bir yapı gösterir.

Bir bölgeye özgü spesifik dermatofit türlerinin insidansı ve dermatofitlerin yayılışı zamana bağlı olarak göç, çalışma zorunluluğu, hijyen durumu, yeni terapötik ilaçların kullanılması, toplumların yaşam şekli, halkın sosyoekonomik durumu ve hayvanlarla temas gibi faktörlere bağlı olarak değişir. Tropik bölgelerde ve özellikle kapalı şekilde ayakkabı ve giysi giyen toplumlarda, ortak eşya ve ortak kullanım alanlarının olduğu yerlerde dermatofitozis etkenlerinin yayılması ve yerleşmesi daha hızlı olmaktadır(Fındık vd. 2001).

Doğada fungusların sayısının onbinlerce olduğu, fakat sadece 50-100 arasında fungusun insanlarda patojen olduğu belirlenmiştir(Fındık vd. 2001).

Birçok araştırmacı, günümüze kadar birçok bölgenin kendine özgü florasını çıkarmışlar, fakat bu araştırmalar belirli zaman aralıklarında tekrarlandığında bu floranın değişebildiğini göstermişlerdir. İnfeksiyonların kontrolü ve halk sağlığı açısından dermatofitlerin epidemiyolojisinin bilinmesi temel oluşturmaktadır(Fındık vd. 2001).Dermatofitlerin bölgesel florasının tür düzeyinde tanımlanarak zaman içinde değişimlerinin izlenmesi, tedavinin etkili yürütülmesi ve epidemiyolojik programlara yol göstermesi açısından önem kazanmıştır(Ergin, vd. 2000).

Flamentöz funguslar, hidrolitik enzimleri sentezler. Bu funguslardan bazıları endüstriyel olarak önemli olan enzimlerin üretiminde kullanılırlar. Keratinazlar, keratinlerin hidrolizini katalizleyen proteazların özel bir sınıfıdır. Bu enzimlere çoğunlukla deri ve deri uzantılarında infeksiyon etkeni olan dermatofitlerin sahip olduğu, birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır(Friedrich, et al. 1999; Takiuchi, et al. 1982, 1984; Plempel, et al. 1991; Yu, et al. 1968; Singh, et al. 1995).

Doğada keratinler keratinolitik enzimler sentezleyen mikroorganizmalar tarafından parçalanırlar. Bunlar arasında en iyi bilinenler keratin atıklarının parçalanması için kullanılan dermatofitozis ya da kandidozis etkeni olan patojenik funguslardır(Friedrich and Kern, 2003).

Dermatofitik fungusların proteolitik, keratinolitik ve lipolitik aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir. Dermatofitler tarafından sentezlenen ve salgılanan serin proteazların derinin fungal invazyonunda büyük bir rol oynadığı kabul edilmektedir(Kaufman, 2007).

Genel olarak dermatofitoziste salgılanan keratinazlar önemli bir virulans faktör olarak kabul edilirler(Monod, et al. 2002).Dermatofitlerin sahip olduğu proteazlar, hedef doku olan dış deri tabakasını parçalayarak besin sağlarlar ve buna bağlı olarak virulansda önemli rol oynarlar(Toprak, 2005).

Bu özel grup patojenik funguslar, keratin substratını en iyi parçalayan funguslardandır. Bu nedenle keratin hidrolizi gerektiren, tıp, kozmetik, deterjan, deri endüstrisi gibi farklı alanlarda uygulama alanı bulurlar (Frederich and Kern, 2003).

Keratinolitik funguslar, patojenitede önemli rol oynamasının yanı sıra aynı zamanda çevre kirlenmesine neden olan keratin atıklarının biodegradasyonunda da önemli rol oynarlar(Muhsin and Hadi, 2002).

Dermatofitler sıcak ve nemli bölgelerde daha hızlı yayılım göstermektedirler. Bu çalışmamızda, Kahramanmaraş bölgesinin sıcak ve nemli olması, çok hızlı bir şekilde sanayileşmenin olması ve buna bağlı olarak yoğun bir şekilde göç alması gibi önemli faktörlerin etkisi ile bölgemizdeki insanlarda saptanan dermatofitozis etkenlerinin belirlenmesinin yanı sıra, izole ettiğimiz etkenlerden *Trichophyton rubrum*(*T.rubrum*) ve *Trichophyton mentagrophytes*(*T. mentagrophytes*)'in önemli virulans faktörlerden sayılan proteaz enziminin hem potansiyel olarak varlığını belirlemek, hem de atık biodönüşümünde ve endüstriyel alanda üretimi sağlanarak farklı alanlarda kullanılabileceğini vurgulamak ve bu yöndeki ileri çalışmalara veri sağlamaya katkı yapmayı amaçladık.

## 2.GENEL BİLGİ

### 2.1. MİKOLJİNİN TARİHÇESİ

Tıbbi mikoloji, 19. yüzyıl ortalarında üç Avrupalı doktor olan Robert Remak, Johann L. Schönlein ve David Gruby tarafından başta oluşan dermatofit enfeksiyonu olan favusun etkeninin keşfedilmesi ile başlar. Seeliger'e göre Remak 1835'te favik lezyonlardan aldığı örneklerde çubuk ve tomurcuk şeklinde özel mikroskopik yapılar gözlemledi. Onun gözlemlerini 1837'de Xavier Hube geliştirdi ve yayımladı. David Gruby, 1841-1844 yılları arasında yaptığı çalışmalar ile dermatomikolojinin temellerini oluşturdu. Remak ve Schönleini hem klinik hemde mikroskopik olarak yaptıkları çalışmalarda favusun etkeninin bulaşıcı olduğunu saptadılar.Raimond Sabouraud 1890'larda dermatofitler ile ilgili yaptığı çalışmalardan dolayı en iyi bilinen mikologlardan biridir. Sabouraud yaptığı çalışmalar ile dermatofitlerin, morfoloji, sınıflandırma, kültür metodları ve dermatofitozisin tedavisine önemli katkılar yapmıştır.Dermatofitleri, hastalığın durumuna, kültür ve mikroskopik gözlemlerine göre *Achorion*, *Epidermaphyton*, *Microsporum* ve *Trichophyton* genuslarına ayırmıştır. Günümüzde onun geliştirdiği ve isminin verildiği Sabouraud besiyerleri kullanılmaktadır(Weitzman and Summerbell, 1995).

Chester Emmons, 1934'de dermatofitlerin sınıflandırmasını, spor morfolojisi ve diğer yapılarının temelinde güncelleştirmeler yaptı. Bu sınıflandırmada *Achreion* genusunu elimine ederek *Trichophyton*, *Epidermaphyton* ve *Microsporum* olarak üç genusdan oluşturdu(Weitzman and Summerbell, 1995).

Vanbreuseghem, 1952' de kıl delme tekniğini geliştirerek keratinofilik dermatofitleri izole etmiştir. Daha sonra 1959'da Dawson ve Gentles bu tekniği kullanarak birçok dermatofitin ve keratinofilik fungusun teleomorf ilişkisini hızlı bir şekilde tanımladılar (Weitzman and Summerbell, 1995).

Bu çalışmaların ardından dermatofitlere ek olarak başka mantarların da insanda hastalık etkeni olarak tanımlanması gelir. 1846'da Eichstedt *Malassezia furfur*(*M.furfur*)'u keşfetmiş; 1853'de Robin *Candida albicans*(*C.albicans*)'ı pamukçuklu şahısların lezyonlarında incelemiş ve basit bir kültürünü de elde

etmeyi başarmıştır. 1855 yılında Baerensprung, ekzema marginatum lezyonlarından elde edilen pullardan ayırdığı miselyum tarzında örgü yapan hifli mantara *Epidermophyton floccosum*(*E.floccosum*) adını vermiş; bu mantarın tam bir tarifi 1907'de Sabouraud tarafından yapılmıştır(Yücel, 1999).

Mikolojinin bugünkü duruma gelinceye kadar geçirdiği dönemler içinde Sabouraud, önemli bir dönüm noktası olmuştur. Mikolojinin tarihi gelişimini; 1835'de Bassi ile başlayan ilk çalışmalar dönemi, Sabouraud'nun 50 yıllık çalışmalarını kapsayan ve kendi ismiyle vurgulanacak olan Sabouraud dönemi ve son dönem olarak üç devrede gözden geçirmek uygun olacaktır. Sabouraud anormal trikofit lezyonlarına rastlandığında, bunlardan alınan materyallerle yeni kültürlerin kolaylıkla elde edilebileceği ve aynı oğudan gelen bütün kültürlerin de aralarında tam bir benzerlik göstereceğini düşünmüştü; fakat bunun için, üzerinde dermatofitlerin çok sayıda ve aktif bir şekilde üremesini sağlayacak bir besiyeri gerektiğinden, sabit ölçülerde hazırlanmış maddeler kullanarak bir besiyeri hazırlamıştır. Böylece Sabouraud ürettiği mantarları büyük bir titizlikle tarif etmiştir. Sabouraud'nun formülünü verdiği bu besiyeri, değişikliklere rağmen bugün de kullanılmakta; özellikle tıp mikolojisi bakımından önem taşıyan patojenlerin makroskopik görünüşleri halen bu besiyerinde geliştirdikleri koloni tipine göre tarif edilmektedir(Yücel, 1999).

## **2.2.FUNGUSLARIN YAPISI VE VİRULANS FAKTÖRLER**

### **2.2.1.FUNGUSLARIN YAPISI**

Funguslar, mikolojinin özelleşmiş sahasında heteretrofların değişik bir grubudur. Birçoğu organik atıkları ve ölü organik maddeleri sindiren saprofitlerdir. Bazıları organizmaların dokularından beslenen parazit funguslardır. Çoğu funguslar örneğin küfler ve şapkalı mantarlar çok hücrelidirler fakat mayalar tek hücrelidirler. Bir fungusun gövdesine tallus denir. Çoğunlukla çok hücreli funguslar birleşerek hif denilen ipliksi yapıları, hifler de birleşerek miçelyumları, miçelyumlar da tallusu oluştururlar. Miçelyum, bozulmuş organik madde, toprak veya canlı organizmanın dokularına gömülür. Miçelial hücreler beslendiği substradı sindiren enzimler salgılar ve küçük besin moleküllerini absorbe eder. Birkaç fungusun hücre duvarında selüloz vardır fakat çoğu örümcek ve kene gibi artropodların dış

iskeletinde bulunan bir polisakkarit olan kitini içerir. Bütün funguslar, hücreleri parçalayan ve konakçıya yerleşmesine yardımcı olan enzimlere sahiptir. Birçok fungus, polisakkarit, glikojen granüllerini sentezler ve depolar. Bazı funguslar plazmitlere sahiptir, bu plazmidler yabancı genlerin maya hücrelerine klonlanması için kullanılabilirler. Bu kullanım genetik mühendisliğinde büyük bir uygulama tekniğini oluşturmaktadır. Çoğu fungusların hifal hücreleri bir ya da iki çekirdeğe sahiptir ve birçok hifal hücre septa denilen bölmeler ile ayrılmıştır. Septadaki porlar hücreler arasında hem sitoplazmanın hem de çekirdeklerin geçmesine izin verir (Black, 2002 ).

#### **2.2.1.1. Funguslarda Üreme:**

Funguslarda üreme yeteneğinde olan hücreye spor denir. Birçok fungusda hem eşeyli hem de eşeysiz üreme görülür fakat birkaçı sadece eşeysiz üremeye sahiptir. Eşeysiz üreme mayalarda tomurcuklanma ile olur. Eşeyli üreme birkaç şekilde olur. Bunlardan ilkinde, haploid gametler birleşir ve plasmogami denen bir prosesde sitoplazmaları karışır. Bununla beraber çekirdek birleşmesi başarısız olursa dikaryotik hücre oluşur. Hatta çekirdekler diploid hücre yapmak için karyogami denen bir prosesle birleşirler. Böyle hücreler ya da onların oluşturduğu hücreler daha sonra yeni haploid hücreler oluştururlar. Bazı funguslar hayat döngüsünde dikaryotik faz sırasında üreyebilirler. Funguslar genellikle hayat döngülerinde, haploid, dikaryotik ve diploid fazları geçirirler. Fungus sporları bir ya da birkaç çekirdeğe sahip olabilen hem eşeyli hemde eşeysiz sporlar üretebilirler. Tipik olarak aquatik funguslar koruyucu, kalın duvarlı, hareket edebilen sporlar üretirler. Fungusların sporlarında o kadar farklılıklar görülür ki, sporlara ve sporlanma yapılarına göre tanımlanırlar ve geniş bir şekilde sınıflandırılırlar(Talaro, 2005).

**2.2.1.1.1.Eşeysiz Üreme:** Spor oluşumu, üreme hiflerinin yapı ve şeklinin temelinde iki tip eşeysiz spor vardır(Tortora, 2005).

**a) Sporangiosporlar:** Sporangium denilen bir kese içerisinde ard arda dizilirler. Daha sonra sporangium patladığında sporlar dağılırlar(Tortora, 2005).



**b) Konidiosporlar:** Bir spor kesesi ile çevrili olmayan tek veya çok hücreden oluşan serbest spordan oluşurlar. Bu sporlar ya çoğalabilen özel bir tipinden ya da önceden var olan vejetatif hifin bölünmesi ile bir zincir şeklinde gelişirler. Konidialar en yaygın eşeysiz üreme sporlarıdır. *Aspergillus* bu tür spor oluşturan funguslardandır. Bu sporların şu formları vardır(Tortora, 2005):

**1. Artosporlar:** Septalı hifler parçalara bölündüğünde dikdörtgen şeklinde sporlar oluşur(Tortora, 2005).

**2. Klamidosporlar:** Hifal hücre kalınlaştığında küresel konidium oluşur(Tortora, 2005).

**3. Blastosporlar:** Bir ana hücrenin bölünmesinden bir maya veya başka bir konidiospor oluşur(Tortora, 2005).

**4. Makro ve mikrokonidiosporlar:** Daha büyük ve daha küçük konidiumlar aynı fungus tarafından değişen şartlar altında oluşturulur. Mikrokonidia tek hücreli, makrokonidialar iki veya daha fazla hücrelidirler(Tortora, 2005).

**2.2.1.1.2.Eşeyli Üreme:** Spor oluşumu 3 şekilde olur(Talaro 2005):

**a) Zigosporlar:** Artı ve eksi uçlu hiflerin birleşmesi ile kalın duvarlı, güçlü, diploid çekirdekli sporlar oluşur(Talaro 2005).

**b) Askosporlar:** Genelde haploid olan sporlar çoğunlukla askus denilen bir kese içerisinde bulunurlar.Birçok türde erkek ve dişi organ birleşmesi sonucu diploid çekirdekli hücreler oluşur. Farklılaşma süresince askus oluşur ve askus içerisindeki diploid çekirdekli hücreler mayoz geçirerek haploid hale gelir, daha sonra mitoz geçirerek 4 ile 8 askospor oluştururlar(Talaro 2005).

**c) Bazidiosporlar:** Bazidium denilen tokmak şekilli hücrelerin dış tarafında haploid eşey sporları olan bazidiosporlar oluşur. Haploid sporların birleşmesi ile diploid çekirdekli hücreler oluşur, bu hücrelerin her biri gelişerek bazidiumu oluşturur,

daha sonra bu çekirdekler mayoz geçirerek dört haploid çekirdekli hücre oluşur bu hücre de bazidium ucunda bazidiosporları oluşturur (Talaro 2005).

Funguslar üreme özelliklerine göre ikiye ayrılırlar(Aşçı, 1992 ):

**I.Monomorfik funguslar:** Ya küf ya da maya şeklinde ürerler. Kendi aralarında ikiye ayrılırlar(Aşçı, 1992):

**a)Mayalar**

**b)Küfler:**Doğada iki şekilde bulunurlar

1. Dermatofitler(Patojen mantarlar)

2.Diğer küfler(Saprofit mantarlar) (Aşçı, 1992 )

**II.Dimorfik funguslar:** Ortam ve ısıya göre şekillenen funguslardır. Bunlar 37 °C' de ve vücutta maya şeklinde, invitro şartlarda ve oda sıcaklığında küf şeklinde üreme gösterirler. Funguslar düşük pH derecelerinde bile üreyebilirler ve böyle ortamlara adapte olabilirler.Bu sebeple bu organizmaların minimal ve maksimal pH limitleri 2-11 arasında değişmektedir. Nem fungusların üremesinde çok önemli bir faktördür. Yüksek orandaki nem üreme üzerine olumlu etki yapmaktadır. Nem oranı azaldıkça bu organizmaların üremeleri de sınırlanmaya başlanmaktadır(Aşçı, 1992 ).

## 2.2.2. DERMATOFİTLER

Dermatofitler, insan ve hayvanların deri, saç, kıl ve tırnak gibi yüzeysel keratinize dokularını infekte ederek besin kaynağını bu dokuları sindirerek elde eden filamentöz mantarlardır. Dermatofitler, sadece insan ya da hayvanları infekte ederek canlılığını devam ettiren mantar türleridir. Oluşturdukları enfeksiyona 'dermatofitozis" denir. Tinea ya da ringworm olarak bilinen hastalık, dermatofitlerin dokuyu parçalamak için salgıladıkları enzimlere karşı konakçının verdiği bir reaksiyonun sonucudur. Deri tutulumu ile deride kepeklenme, vezikül oluşumu ve bazen iltihaplanma; kıl ve saç tutulumu ile bunların kırılması, dökülmesi; tırnakların tutulumu ile şekil ve yapılarının bozulması söz konusu olup tinea denilen tipik lezyonlar oluştururlar. Bir kısmı doğada saprofit olarak bulunur, çeşitli yollarla insan ve hayvanlara bulaşır. Konidium oluşumlarına göre üç genusa ayrılırlar(Ustaçelebi, 1999; Aşçı, 1992; Laron, 2002).

**2.2.2.1. Trichophyton:** Katı ortamlarda üreyen kolonileri, pamuğumsu örgüde küf kolonileri oluşturur. Pigment üretimi tür ayırımında önemlidir. Mikrokonidiumlar genellikle bulunur ve tür ayırımında yardımcı olur. Şekilleri yuvarlak, armut veya lobut şeklindedir. Makrokonidiumları ince duvarlı olmakla beraber kalın duvarlı da olabilirler, hücre sayısı 1-12 arasında değişir. Genellikle silindir, uçları künt, bazen fuziform şeklindedir. Tek veya demetler halinde olabilirler. Ultraviyole ışığı altında floresans vermezler. Bu genusa ait mantarlar deri, saç ve tırnağı infekte ederler.

**2.2.2.2. Microsporum:** Gevşek yün görünümünde koloni oluştururlar. Mikrokonidiumlar hifin kenarları boyunca teker teker dizilmiş armut veya lobut şeklindedir. Makrokonidiumlar uçları sivri, hücre sayısı 1-15 arasında değişir. Bu genusun türleri saç ve deriyi infekte ederler.

**2.2.2.3. Epidermophyton:** Kıvrımlı küf kolonileri yaparlar, ortası tümsek yüzeyi ışınsal oluklar oluşturur. Oluşturduğu pigment sarıdan zeytin yeşiline kadar değişir. Mikrokonidium oluşturmazlar, makrokonidiumlar düz duvarlı lobut şeklindedirler. İkili üçlü kümeler oluştururlar, 1-9 bölmelidirler. *E. floccosum* genusun tek patojenidir. Deri ve tırnakları infekte eder, saçlı deride infeksiyon oluşturmazlar. Wood ışığı altında floresans vermezler.(Aşçı, 1992; Ustaçelebi, 1999.)

Dermatofitler, ortalama 22-26 °C de üreme gösterirler. Fakat *T. verrucosum* en iyi 37 °C de üreyebilmektedir. Geç ürerler (1-4 hafta). Üreme hızları dermatofit türüne göre değişmektedir. Optimal olarak pH:5.6'da ürerler. Üretilibilmeleri için özel besiyerlerine gereksinim duyarlar. En uygun besiyerleri Sabouroud Dekstroz agar(SDA), Patates dekstroz agar(PDA) ve Mycobiotik agardır. Bu besiyerleri, yüksek oranda şeker konsantrasyonu içerirler. Azot kaynağı olarak peptonu, karbon kaynağı olarak glukozu kullanırlar. Saprofit küfler dermatofitlerden daha hızlı üremektedir. Bundan dolayı besiyerlerine kontaminasyonu engellemek için antibiyotik ilave edilmesi gerekmektedir(Aşçı, 1992).

Dermatofitler infekte dokulardan alındığında mikroskopik incelemede hif parçaları ve artrosporlar şeklinde görülürler. İnvitro koşullarda ise ayırt edici yapı özellikleri ortaya çıkmaktadır. Bu yapılar, makrokonidiumlar, mikrokonidiumlar, raket hifler, spiraller, favus şamdani, klamidosporelar ve nodüllü organlardır(Aşçı, 1992).

### 2.2.3. FUNGUSLARDA PROTEAZLAR

Günümüzde azalan doğal kaynaklar nedeniyle mikroorganizmalar potansiyel bir enzim üretim alanı olarak görülmektedir ve bu konuda birçok çalışma yapılmaktadır. Küfler de mikroorganizmalar arasında önemli bir yer oluşturmaktadır. Küfler; primer metabolit olarak ürettikleri enzimlerle endüstriyel açıdan önemli enzim kaynağıdır(Topal vd., 2000).

Proteazlar, peptid bağlarını hidrolize eden kompleks bir gruptur. Mikrobiyal proteazlar, zamanla uygulama alanında bitki ve hayvanlardan elde edilen proteazların yerini almaya başladı. Funguslar, asit proteaz, nötral ve alkalin proteaz olarak üç tipte proteaz üretirler(Topal vd., 2000).

Flamentli küfler, saprofit veya patojen türleriyle hastalıklara ve önemli zararlara neden olabilmelerinin yanında geri kazanımlı ekosistemde çok etkin rollere de sahiptirler. Primer metabolizma ürünleri hem anabolik hem de katabolik biyokimyasal reaksiyonları içermektedir. Sekonder metabolitlerin üretim mekanizması ile bir tek kimyasal yapı grubu sentezlenemez, bu bakımdan her biri farklı bir metabolik döngünün ürünüdür. Küflerin enzim üretim yetenekleri önemli endüstriyel avantajlar sağlamaktadır. Proteazlar, uygulamada çeşitli endüstrilerde ve birçok farklı alanda önemli katkı maddesi olarak üretilirler(Topal vd.,2000).

Çalışmamızın konusunu oluşturan dermatofitler de keratinize dokularını parçalamak için proteaz enzimlerini salgılayan patojen küf mantarlarıdır(Topal vd., 2000).

Enzim kullanımı açısından gıda endüstrisi, tek başına %50'lik paya sahiptir. Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan enzimlerden proteaz; unlu ürünlerde, geleneksel fermente ürünlerinde, biranın soğukta olgunlaştırılmasında, peynir endüstrisinde koagülasyon amacıyla, et olgunlaştırmada, balık proteinin çözünürlüğünün artırılmasında, klinikte(sindirim kolaylaştırıcı, tanıda v.s.) ve biyokimyada (hücrel materyal saflaştırılmasında, peptid analiz ve sentezinde) yaygın olarak kullanımda olup özellikle mikrobiyal kaynaklı üretimler artmıştır (Topal vd., 2000).

Deri endüstrisinde, keratinolitik ve elastinolitik özelliğe sahip proteazlar tüylü derinin temizlenmesinde ve derinin işlenmesinde kullanılırlar. Bu enzimatik işlemler, kontrolünün kolay olması, daha kısa zaman harcanması ve atık yönetimine yardımcı olması nedeni ile ekonomiktir. Ayrıca istenmeyen pigmentlerin gideriminde ve deri yüzeyinin genişletilmesinde kullanılırlar(Malathi and Cahakrobotry, 1991).

Proteazların kullanım alanlarından biri de, deniz Crustacea atıklarının deproteinizasyonudur. Kimyasal işlemlerin üstesinden gelmek için mikroorganizmaların veya proteolitik enzimlerin kullanılması üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Kitin ve türevleri çok yönlü biyolojik aktiviteleri ve zirai-kimyasal uygulamalarından dolayı büyük ekonomik değere sahiptir. Deniz crusteaceaları ise kitin bakımından oldukça zengindir. Klasik olarak deniz atık maddelerinden kitinin hazırlanması güçlü asit ve bazları kullanarak deminerilizasyonu ve deproteinizasyonu gerektirmektedir. Bununla beraber kimyasalların kullanılması kitinin deasetilasyonunu kısmi olarak gerçekleştirmektedir. Kimyasal uygulamalar aynı zamanda atık sularda nötralizasyon ve detoksifikasyon yapılmasını gerektirmektedir. Bu nedenle kimyasal uygulamalardan doğan zararların üstesinden gelmek için alternatif olarak mikroorganizmaların kullanılması veya proteolitik enzimlerin kullanılması gündemdedir(Kıran vd., 2006).

#### **2.2.4. FUNGUSLARDA VİRULANS FAKTÖRLER**

Derin dokuların fungal infeksiyonları, 1980'li yıllardan sonra belirgin bir artış göstermiştir. Bu artış nedeni ile araştırmacılar çalışmalarını virulans faktörleri üzerinde yoğunlaştırmaya başlamışlardır. Bir buçuk milyondan fazla mantar türünün doğada bulunduğu bilinirken, bunlardan ancak 150 civarında tür memelilerde hastalık oluşturabilmekte, çok az bir kısmı da sık rastlanılan hastalık etkeni olmaktadır. Bakteri ve viruslarla karşılaştırıldığında dermatofit dışındaki mantarlar sağlıklı kişilerde nadiren infeksiyon oluşturabilmektedirler. Kommensal veya çevresel mantarların neden hastalık oluşturdukları, konak-mantar ilişkisi ve bu ilişkide hangi virulans faktörlerinin rol oynadığı sorularına yanıt aranmaya çalışılmıştır(Öğünç, 2005).

Virulans, infeksiyon etkeni ve konak arasındaki kompleks ilişkilerdir. Patogenez, infeksiyon etkeni ve konak faktörlerinin birbirine etkisini içerir. Bu özellikle fungal patogenez için doğrudur. Mantarların yüzeysel infeksiyonlardan derin doku infeksiyonlarına kadar geniş aralıkta infeksiyon oluşturmalarına yol açacak tek bir faktör bulunmamaktadır(Öğünç, 2005).

Fungal patojenler iki gruba ayrılmaktadır; Primer ve oportunistik patojenler. Primer patojenler çevre orijinlidir. Bu etkenlerle infeksiyon oluşabilmesi için konak yüksek dozda infeksiyon etkenine maruz kalmalıdır veya konakçı mantarlarla ilk kez karşılaşmış olup immun sistem için bu mantar yabancı olmalıdır. Oportunistik patojenler düşük veya immun yetmezlikli hastalarda infeksiyon oluştururlar. Bu mikroorganizmalar *Cryptococcus neoformans*(*C.neoformans*), *Aspergillus fumigatus*(*A.fumigatus*) gibi çevre kaynaklı veya *Candida* türleri gibi flora kaynaklı olabilirler(Öğünç, 2005).

Fungal patogenezin mekanizması bakteriyal patogeneze göre daha az anlaşılmıştır. Bakterilerle karşılaştırıldığında mantarların pek azı profesyonel patojendir. Büyük bir bölümü çevrede saprofit olarak veya kommensal olarak konakta herhangi bir hastalığa yol açmadan yaşarlar. Birkaçı sağlıklı bir bireyi infekte edip ciddi sistemik hastalıklar oluşturma yeteneğindedirler(Öğünç, 2005). Oportunistik fungal patojenler son 20 yıldan beri giderek artan bir öneme sahip olmuştur. Modern tıbbi yaklaşımlar ve tedaviler zayıf ve immun yetmezlikli hastaların yaşam sürelerini uzatmıştır. Bu hastalar *Candida sp*, *C.neoformans*, *A.fumigatus* ve diğer *Aspergillus* türleri ile Zygomycetes'ler gibi oportunistik patojenlere yüksek oranda duyarlıdırlar(Öğünç, 2005).

Potansiyel Virulans Faktörleri: Patogenezin kompleks bir süreç olduğu unutulmamalıdır, tek bir virulans faktörünün mantarı patojen yapmadığı bilinmekte, patogeneizde çeşitli özelliklerin birlikte rol oynadığı görülmektedir(Öğünç, 2005). Virulans faktörünün öneminin kanıtlanması, faktör kaybı ile virulansın kaybolması ve faktörün yeniden kazanılması ile virulans özelliğinin yeniden kazanılması sonucu kanıtlanmış olur(Öğünç, 2005).

Nekrotik faktörler; konağın invaziv infeksiyonları önlemede kullandığı yapısal bariyerleri, hücre ve dokuları hasara uğratan genellikle enzim yapısında proteinaz, fosfataz ve DNAses gibi maddelerdir. Üreaz enziminin varlığı *C.neoformans*'ın disemini infeksiyon oluşturmasında ve bu infeksiyonun devam ettirilmesinde önemlidir(Öğünç, 2005).

Secreted aspartyl proteinases (SAP) ve fosfolipazlar (PL) *C.albicans*'da olan iki önemli familyadır. Dört fosfolipazdan fosfolipaz B1'in virulans için gerekli olduğu gösterilmiştir. SAP ailesinden enzimler *C. albicans* dışında dermatofitler ve diğer türlerde de bulunmaktadır. *Chromoblastomyces immitis*(*C.immitis*)'te, sferül içindeki endosporların yerleşiminden, büyük olasılıkla infeksiyon bölgesinde doku hasarı ve infeksiyonun yayılımından sorumludur(Öğünç, 2005).

*Aspergillus fumigatus* en az iki proteinaz salgılar; bunlardan serin proteinaz elastaz aktivitesine sahip iken, diğer biri metalloproteinazdır(Öğünç, 2005).

Dermatofitler, stratum corneum veya epidermisin keratinize yapılarına yerleşerek deri lezyonlarına, saç ve tırnak infeksiyonlarına neden olurlar. Mantar konidyalarının stratum corneum ile ilk teması ve aktif lezyonun oluşmasından önceki olaylar hakkında sınırlı bilgiler mevcuttur. Dermatofitlerin infektivite ve patojenitelerinin araştırmasında, bir grup araştırmacı hayvan modellerinden yararlanırken, diğerleri de invazif olmayan yöntemler olarak stratum corneum parçalarını veya korneosit hücrelerini dermatofit infeksiyonu için deri yüzeyi olarak kullanmışlardır. Bu şekilde oluşturulan ve insandaki doğal infeksiyonu taklit eden modellerde, taramalı (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile yapılan çalışmalarla, deri parçaları üzerinde dermatofit sporlarının yayılması sonrasında özgül ve karmaşık olayların meydana geldiği gözlemlenmiştir. Patogeneizde ilk adım mantar artrokonidyasının teması ve deriye bağlanmasıdır. Hücrelerin arasına ve içine penetrasyonu takiben konak yanıtı gelişmeye başlar(Kuştimur, 2004).

Adezyon-Keratinositlere Bağlanma: İnfeksiyöz artrokonidyaların keratinositlere yapışması, invitro olarak temastan sonra yaklaşık olarak iki saatte tamamlanmaktadır. Bu dönemde keratinositlerde çoğalma ve penetrasyon meydana gelir. Mantar konidyalarının stratum corneum'daki substrada

bağlanmasından sonra 24 saat içerisinde germinasyonun geliştiği kabul edilmektedir. Ultra yapısal çalışmalar mikrokonidya ve stratum corneum hücreleri arasında polimerik bir materyalin varlığını göstermektedir. Ölü sporlarla yapılan uygulamada bu tür materyale rastlanılmamıştır. Köprü materyalleri bulunmayan kontrol mikrokonidyalardan çok azının hücrelere bağlanmaları, hücre dışı polimerik ipliklerin sporların deriye bağlanmasında önemli rolleri olduğunu düşündürmektedir. Bu polimerik bağlanma kimyasal olarak açıklanmamıştır. Ancak bazı araştırmacılar stratum corneum'a bağlanan *C.albicans* ve *Candida stellatoidea*(*C.stellotoidea*)'nın musin benzeri şekilsiz materyal olan fibrin iplikleri oluşturduklarını belirtmişlerdir. Bu da söz konusu köprünün mukopolisakkarit içerdiğini göstermektedir(Kuştimur, 2004).

Penetrasyon: Dermatofitler genellikle sadece canlı olmayan keratinize deri, tırnak ve saça invaze olmaktadır. Canlı epidermis tabakalarına penetre olamamalarının nedeni normal serumun fungustatik etkisidir. Serum inhibitör faktörü olan doymamış transferin dermatofitlere karşı korunmada önemlidir. TEM ile gösterildiği gibi, insan deri dokusunun kullanıldığı invitro modelde serum faktörleri mevcut olmadığı için hifler epidermin derin tabakalarına invaze olmuştur. İnvazyon esnasında çeşitli proteolitik musunolitik ve lipolitik enzimlerin mantar tarafından salgılanması olaya eşlik eder. Bu durum mantara aynı zamanda besin sağlar. Keratine özgül enzimler ve diğer proteinazların yanı sıra hifin uzaması ve çoğalması ile oluşan mekanik etkiler de rol oynar. Klinik olarak substrat heterojenliği önemli görülmektedir. Bütün dermatofit türleri derinin stratum corneum'una yayılabilirken saç ve tırnağa penetrasyonda farklı türler değişik kapasite gösterirler. *T.rubrum* saçı nadiren tutarken tırnağı sıklıkla infekte etmektedir. *E.floccosum* saça penetre olmazken tırnağı da bazen tutar. Travma ve maserasyon penetrasyonu kolaylaştırmaktadır(Kuştimur, 2004).

Dermatofitozlarda patolojik reaksiyonların keratinaz, elastaz, deoksiribonükleaz, kollagenaz ve lipaz gibi enzimlerle ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bu enzimler arasında keratinaz konak dokusunun mantar tarafından invazyonuna yardımcı olmasıyla en önemli virulans faktörü kabul edilmektedir(Kuştimur, 2004).



Dermatofitler tarafından üretilen proteazlar, mantar hastalığının patogeneğinde önemli bir rol oynarlar. Birçok araştırmacı mikroorganizmanın patojenitesi, stratum korneum gibi dokuları parazitize edebilme yeteneğini sağlayan proteaz ile ilgili olduğunu öne sürmüştür(Oyeka, 2000).

Proteazlar, mantarların beslenmeleri için proteinin kullanımında ve patogeneğinde konak deriye penetrasyonlarında gerekli olan enzimlerdir. Patojen mantarlarca salgılanan proteazlar pepsin ailesinin (A1) aspartik proteazları, subtilisin alt ailesini (S8A) serin proteazları ve iki farklı ailenin (M35 ve M36) metalloproteazlarından ibarettir. Birçok patojen mantar aspartik proteazları kodlayan gen ailesi içerirler. Metalloproteazlar döterolizinler (deuterolysins-M35) ve fungalizinler (fungalsins-M36) olmak üzere iki farklı aileye bağlıdır. M35 ailesindeki enzimler 20 kDa'luk nötral proteazlar olup pH 6-9 arasında aktiftirler. Fungalizinler sadece mantarlarda bulunmaktadır. *Microsporum canis*(*M.canis*), *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes* gibi dermatofitlerde proteazları kodlayan gen ailelerinin bulunduğu açıklanmıştır.

Subtilisin ailesine ait olan 28-30 kDa mol ağırlığındaki serin proteazlar pH 6-9 arasında optimal aktivite gösterirler. Bunlar genellikle Alp olarak kısaltılan alkalin proteazlar olarak adlandırılırlar. *A.fumigatus*'tan salgılanan iki serin proteaz Alp1 ve Alp2 olarak adlandırılmıştır. Dermatofit kültür supernatantlarından izole edilen keratinazların birçoğu serin proteaz olarak açıklanmış veya en azından birçok inhibitörün etkisinin bunların sözkonusu proteaz sınıfına ait olduğu görüşünü desteklediği belirtilmiştir. Ayrıca son zamanlarda bu proteazları kodlayan *M.canis* ve *T.rubrum* gen aileleri de izole edilmiştir. 31.5 kDa'lık subtilisin kodlayan diğer bir gende daha önce *M.canis* kültür supernatanından izole ve karakterize edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda gen ailesi tarafından kodlanan proteazların diğer mantar infeksiyonlarda virulans ilişkili oldukları gösterilmiştir. Örneğin *Candida albicans* ve *Candida tropicalis*(*C.tropicalis*)'in aspartil proteazları (SAP'lar) gibi(Kuştimur, 2004).

Son yıllarda yapılan çalışmalar dermatofitlerce salgılanan proteazların *Aspergillus* türleri ve diğer mantarların proteazlarına benzediğini ancak farklı substrat özgüllüğüne sahip olduklarını ve gen ailelerinde organize olduklarını göstermiştir. *Aspergillus canis*(*A.canis*)'in 31.5 kDa serin proteazı ve 43.5 kDa metalloproteazı keratin azuru sindirebilme yeteneğine sahiptir. İzole edilen genlerin intron-ekzon

yapısı *A.fumigatus* ve *Aspergillus oryzae*(*A.oryzae*)'den izole edilen homolog genlerle benzerlik göstermiştir. *Aspergillus* ve dermatofit türlerinin teleomorfları arasında benzerlik olması nedeni ile bu sonuç pek fazla şaşırtıcı değildir. *M.canis*'den MEP1, MEP2, MEP3 genleri izole edilmiştir. MEP3'ün 43.5 kDa keratinolitik metalloproteazı kodladığı bulunmuştur. MEP3 kollagenolitik, elastinolitik ve keratinolitik aktiviteleri göstermektedir. *T.mentagrophytes var. granulosum*'da üç farklı keratinaz salgılandığı bildirilmiştir(Kuştimur, 2004).

Dermatofitler tarafından salgılanan proteazların kornifiye hücre proteinlerini substrat olarak kullandığı açıktır. Proteazlar konak hücre yapısal proteinlerinin sindirilmesi yanında bağışıklık sistemi üzerine de tehlikeli etki yapabilmekte, ayrıca konağın diğer proteazlarını aktive ederek konağın peptidik protez inhibitörlerinin ve biyolojik peptidlerinin inaktivasyonuna neden olabilmektedir. Son zamanlarda proteazların değişik virulans faktörleri olarak rol oynadığı bilinse de, proteaz-substrat özgülüğü ile ilgili bilgilerimiz sınırlıdır(Kuştimur, 2004).

*Microsporum canis* suşları ile yapılan bir çalışmada, bütün suşlarda keratinaz üretimi gösterilmiştir. Yüksek miktarda enzim salgılayan suş kobaya inokule edildiğinde ciddi lezyon oluşumu, akut faz ve hızlı mikolojik temizlenme görülmüştür. Düşük seviyede keratinaz oluşturan suşda ise kronik lezyon oluşmuştur(Viani et al., 2001). Enzim üretiminin miktarı dermatofitozun klinik fazının bir belirleyicisi gibi görülmektedir(Kuştimur, 2004).

Enzim aktivitelerindeki değişiklikler ortamın pH ve ısısı ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada elastaz alkalen besiyerinde ve 26 °C de, proteaz nötral besiyerinde ve 29 °C de, lipaz, fosfolipaz ve keratinaz ise asidik besiyerinde 23°C de, lipaz 25 °C de, keratinaz 35 °C de optimal aktivite göstermişlerdir(Kuştimur, 2004).

## **2.2.5. MANTAR HASTALIKLARININ PATOGENEZİ**

Keratinaz üretme yeteneğinde olan dermatofitler deri ve deri eklentilerinde hastalık oluşturmaktadır ve infeksiyonun seyri mantarın metabolik ürünlerine karşı organizmanın gösterdiği reaksiyona, suşun virulansına, lezyonun anatomik lokalizasyonuna, lokal ve çevresel faktörlere bağlıdır. Hafif belirtilerden ciddi

bulgulara kadar değişen klinik tablolar gelişebilir. Nadiren de olsa kerion, miçetoma gibi benzeri olaylarda olduğu gibi subkutanöz dokuyu invade edebilirler. Dermatofitlerin, az da olsa sistemik infeksiyonlara neden olduğu görülmektedir(Tuğrul, 2003).

Toprak ve hayvan orijinli dermatofitlerin infeksiyonları akut seyirli olup ağır yangısal reaksiyonlar görölür. Hızlı ilerleyen ağrılı ve kaşıntılı reaksiyonlar ile karakterizedir. Bu tür mantarlar insan derisine iyi uyum göstermediği için mantarın metabolik ürünlerinin derinin daha derin katmanlarına gitmesine ve sonuçta Malpighi tabakasında daha kuvvetli alerjik reaksiyonların meydana gelmesine neden olmaktadır(Tuğrul, 2003).

Dermatofit infeksiyonları, sadece derinin ölü tabakası olan stratum corneum'da gelişen basit bir olay değildir. Serumdaki bazı moleküller, kompleman aktivasyonu, kemotaksis, yağ bezleri tarafından salgılanan yağ asitleri ve infekte derinin epidermisinin kendini daha hızlı yenilemesi dermatofit infeksiyonların oluşmasını, kronikleşmesini ve sistemik infeksiyona dönüşmesini önler. Ayak tabanında yağ bezlerinin bulunmaması ayakta kronik infeksiyonların gelişimini kolaylaştırır(Tuğrul, 2003).

Terleme ve uzun süre su ile temas derinin dolayısıyla stratum corneum'un yumuşaması, atopik dermatitlerde olduğu gibi, deri bariyerinin zayıflaması dermatofitlerin yerleşmesine zemin hazırlarlar. Dermatofit infeksiyonlarının eradikasyonunda hücrenel bağışıklık başlıca rolü oynar. Bu kişilerde aynı zamanda hücrenel aşırı duyarlılık gelişir. Trikofitin deri testi, hücrenel aşırı duyarlılığı dolayısıyla geçirilmiş veya geçirilmekte olan dermatofit infeksiyonunu gösterir. İd reaksiyonu dermatofitlere karşı deride görülen bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Sınırlı da olsa, hastalığın iyileşmesinde humoral bağışıklığın da rolü vardır. Spesifik antikorlar akut yangısal infeksiyonun ilk ayında görölmeye başlar ve üç ay sonra, en geç 6-12 ay sonra kaybolmaya başlar(Ustaçelebi, 1999). Mantarlar son zamanlarda sıklıkla bağışık yetersiz hastalarda öldürücü hastalıklar ve kronik artan insidansı ile önem kazanmaktadır. Bağışık yetersizlik, kanserlerin gelişimi sonucu ortaya çıkabileceği gibi, lösemili, solid tümörlü hastalarda, damar içi uyuşturuvcu ilaç kullananlar ile AİDS'lilerde ve ketoasidozlu diabetlilerde ortaya

çıkabilir. Başlıca cerrahi uygulanan, dolaşım yetersizliği ya da geniş yanıkları olanlar, uzun süre radyoterapi alanlar, hastanede yatan hastalar, kortikosteroid, sitostatik ya da antibiyotik alanlar da mantar infeksiyonlarına karşı duyarlıdırlar. Kemik iliği nakli yapılan hastalarda sık rastlanılmayan infeksiyonların sayısı hızlı bir şekilde artmaktadır. Mantarlar bu hastaların iyileşme şansını azaltırlar ve yaşam kalitelerinin iyileşmesini ciddi bir şekilde engellerler(Tuğrul, 2003).

Deri, mantar infeksiyonlarına karşı daima kendi kendine sınırlayıcıdır ve iyileşme reinfeksiyonuna karşı sınırlı belirgin dirençle ilgilidir. Direnç belirgin olarak hücresel bağışıklığa dayanır, çünkü hastalar mantar antijenlerine karşı geç tip aşırı duyarlılık tepkimesi geliştirirler ve kronik infeksiyonların ortaya çıkışı bu tepkimelerin olmayışı ile ilgilidir. T hücre bağışıklığı diğer mantar infeksiyonlarına karşı direnç işine katılmıştır, çünkü direnç bazen bağışık T hücreleri ile aktarılır. T yardımcı hücrelerinin mantarları yok etmek için makrofajları aktive eden sitokinleri salgıladıkları zannedilir. Solunum sistemi mantar hastalıklarında hastalığın aktivitesi leprada görülen aktivite spektrumuna kısmen benzer. Bağışıklık baskılayıcı ilaçlarla normal fizyolojinin bozulması ya da antibiyotiklerle normal floranın bozulması *Candida*'ların yayılmasına zemin hazırlayabilir. *Candida* infeksiyonları bağışık yetersizlik hastalıkları( ağır kombine bağışık yetersizlik, timik aplazi, AIDS gibi) sırasında da sıktır. Bu da, bağışıklık sisteminin mantarları normal kommensal yerlerinde tutmada görevli olduğunu gösterir(Tuğrul, 2003).

Mantar hastalıklarının patogenezleri bakteriyel hastalıklardan daha az anlaşılmıştır. Birkaç mantar tam anlamıyla patojen olduğu halde, büyük bir kısmı ya saprofit ya da kommensaldir. Birkaçı da sağlıklı kişileri infekte edip ağır sistemik hastalık oluşturma yeteneğine sahiptirler. Patojen mantarların dokulara yapışma mekanizmaları ve patogenezde yeni görüşlerin ortaya çıkması özellikle kandidiyazis'de aşı geliştirilmesi için yeni yaklaşımları ortaya koymuştur(Tuğrul, 2003).

*Candida albicans* % 35'lik ölüm oranı ile yaşamı tehdit eden başlıca patojendir ve saprofit maya şeklinden patojen filamentöz şekillere dönüşmesi düşünülen virulans faktörlerden biridir(Tuğrul, 2003).

Dendritik hücreler üzerindeki tanıma reseptörlerinin bilinmesi mantarın saprofit ya da patojen mi olduğunu belirlemeye yarar. Hif oluşturmayan *C.albicans* mutant kökenlerinin yaygın kandidiyazis oluşturmadaki fare modellerinde genellikle avirulan oldukları gözlenmiştir. Mantarların konağı tanıması değişik mekanizmalarla olur(Tuğrul, 2003).

Kolonizasyon ya da hastalığın ortaya çıkması için başlangıçta gerekli fakat zorunlu olan ilk olay mantarın konağa adherensidir. Mantarın konak yüzeyine yapışması ve temasın devamı için ligand ve reseptör arasındaki özgül bir tanıma kadar iyonik ve hidrofobik etkileşimler gibi özgül olmayan mekanizmalar da rol oynar(Tuğrul, 2003).

## 2.2.6. DERMATOFİTOZİS VE KLİNİK BULGULAR

Dermatofitlerin oluşturdukları infeksiyonlara 'dermatofitozis' denir. Dermatofitoz lezyonları tinea olarak adlandırılır. Lezyonlar buldukları anatomik bölgeye göre tanımlanırlar. Bunlar:

- 1.Tinea capitis
- 2.Tinea corporis
- 3.Tinea pedis et manum
- 4.Tinea inguinalis
- 5.Tinea unguium
- 6.İd-reaksiyonları(Talaro, 2005).

**2.2.6.1.Tinea capitis:** *Trichophyton* ve *Microsporum*'ların saçlı deride yaptıkları infeksiyonlardır. Çocuklarda çok yaygın olan tinea capitis, diğer çocuklardan, yetişkinlerden ve evcil hayvanlardan bulaşır. Belirtiler küçük pulsu parçacıklardan şiddetli inflamasyon reaksiyonlarına, saç foliküllerinin yıkımına ve saç kaybının devam etmesi arasında değişim gösterir(Talaro, 2005).

**2.2.6.1.1.Tinea capitis superficialis(Saçkıran, kuru kel):** Bu dermatofitozun etkenleri arasında *Trichophyton violaceum*(*Tviolaceum*), *Trichophyton tonsurans*(*T.tonsurans*), *T.mentagrophytes*, *M.canis* ve *Microsporum gypseum*(*Mgypseum*) vardır(Talaro, 2005).

Çoğunlukla geri kalmış bölgelerde salgınlar yapan, saçlı derinin ve saçların yangısal mantar hastalığıdır. Yangısal olanların dışında hastaya fazla rahatsızlık vermez. Kolay yayılan bir enfeksiyon olmasına karşılık çocukluk çağındaki nüfusun % 5'ten fazlası tutulmadığından, çocukların büyük bir kısmının hastalığa dirençli olduğu anlaşılmaktadır. Erkek çocukların saçlarının kısa olması nedeniyle sporlar saçlı deriye daha kolay ulaşabildiklerinden erkek çocuklarda kız çocuklara oranla 5-10 kat daha fazla sıklıkta görülür. Kırılmış saçlar, bölgesel saç dökülmesi ve deskuamasyon *Tinea capitis*in başlıca bulgularıdır. Hastalık çoğunlukla puberteden önce görülür, çok nadir puberteden sonra görülmektedir. Puberte döneminin başlaması ile yağ asitlerinin salgılanmasının artması, pH derecesinde olan değişmelere bağlanmaktadır. Hastalık saçlı deride en fazla yuvarlak ve daha az olarak oval veya biçimsiz plaklar oluşturur(Talaro, 2005).

**2.2.6.1.2. Tinea capitis profunda(Cherion celsi):** Bu dermatofitzun etkenleri, *T. verrucosum*, *T.mentagrophytes*, *Trichophyton schoenleini(T.shoenlei)*, *T.violaceum*, *M.canis* ve *M.gypseum* türleri sayılabilir. En sık keriona neden olan *Trichophyton verrucosum(T.verrucosum)*'dur. Hastalık *Tinea capitis superficialis* gibi başlar. Sonra etken kıl ağzı folikülünü içine alan yangılı bir folikülit yapar. Bir çok kıl folikülünün yangısı ile saçlı deride fındık, ceviz hatta elma büyüklüğünde nodüller oluşur. Tümör görünümündeki bu yangılı lezyona kerion celsi denir. Genellikle 15-20cm çapta olan bu lezyonlar deriden kabarık, ağrılı, üzeri püstüllü, pis kokulu, akıntılı, bir veya daha fazla sayıda plaklar halinde görülür. Gelişen bakteri enfeksiyonlarına bağlı olarak kellik oluşur. Tam olarak bilinmemekle birlikte bu klinik tablonun gelişmesine mantar elemanlarına karşı oluşan aşırı duyarlılık reaksiyonu sorumlu tutulmaktadır(Talaro, 2005).

**2.2.6.1.3. Tinea capitis favosa (Favus capitis=kellik):** Favus;*T.schoenleinii*, bazen de *T.violaceum* ile oluşur. Bir arada yaşama, kötü hijyen koşulları ve kötü beslenme predispozan faktörlerdir. Bu enfeksiyonla da genellikle puberteden önce başlar. Tedavi edilmezse yaşam boyunca sürer. Sürekli saç kaybı ve saçlı derinin atrofik bozulumu sık görülür. Baş saçlı derisinde kirli beyaz renkteki kabuklar önce folikül ağzı çevresinde oluşurlar ve zamanla birbirleriyle birleşip geniş alanları kaplayabilirler. Lezyon kaşıntılı ve kötü kokuludur. Kabuklar mantar hifleri, epitel

hücreleri ve nötrofillerden oluşmuştur. Kabuklar kaldırıldığında altında nemli, düz, parlak, gergin ve atrofik bir deri bulunduğu dikkati çeker. Uzun süreli infeksiyon kalıcı kel alanların ortaya çıkmasına neden olur. Favus tüm vücuda yayılabilir. Sebore, sifilis ikinci devir belirtileri, alopesi areata, psoriasis, konjenital ektodermal defektler, lupus eritematozis folikülit, kontak dermatit belirtilerinden ayırt edilmelidir(Talaro, 2005).

**2.2.6.2. Tinea corporis(T. glabrosa):** İnsanlarda son derece yaygın olan bu infeksiyon vücudun açık derisinde hemen hemen her yerde açığa çıkabilir. Başlıca bulaşma kaynakları, diğer insanlar, hayvanlar ve topraktır. Bu infeksiyonlar genellikle yüz, bacak, kol ve gövde üzerinde bir veya daha fazla kırmızı halkalar olarak ortaya çıkar(Talaro, 2005).

**2.2.6.3. Tinea inguinalis:** Bu infeksiyon erkeklerde başlıca kasıklarda perianal deride, skortum ve ara sıra peniste meydana gelir. Bu funguslar, bol terleme ya da tropikal iklimlerde oluşan nemli ve rutubetli şartlar altında gelişirler. Asıl olarak insandan insana bulaşan bu infeksiyon atletler ve içiçe yaşayan insanlar arasında yaygındır(Talaro, 2005).

**2.2.6.4. Tinea unguium:** El ve ayak tırnakları keratin doku olduğu için fungal kolonizasyonun ısrarla olduğu yerlerdir. İlk belirtiler genellikle tırnak yatağında beyaz beneklerdir. Daha fazla yayılma olduğunda tırnakta kalınlaşma, şekil bozukluğu ve kararmalara neden olur. Dermatofitlerin neden olduğu tırnak problemleri, tırnak yatağına giriş yolu sağlayabilen yapma tırnakları takan kadınlar üzerinde daha fazla artışa neden olmaktadır(Talaro, 2005).

**2.2.6.5. Tinea pedis et manum:** Tinea pedis atlet ayak, tabak küfü anlamına da gelir. Bu hastalık ayakkabı giyimi ile de açıkça bağlantılıdır. Çünkü çıplak ayakla gezme alışkanlığı olan yerlerde yaygın değildir. Nemli çevre, sıcak, kapalı ayakkabılar gibi koşullar infeksiyon olasılığını artırmaktadır. Tinea pedis eşya depoları, banyo oturakları gibi ortak kullanılan araç ve gereçlerden de bulaşabilir. İnfeksiyonlar ayak ve tırnaklardan başka kabuklanma, çatlaklar arasında yayılabilme ve parmaklar arasında kabarcıklar ile başlayabilir. Dermatofitler ile elin infeksiyonu hemen hemen ayak infeksiyonları ile birlikte olur. Lezyonlar genellikle

elin ayası ve parmaklar üzerinde küçük beyaz beneklerden derin fissürlere kadar çok değişirler(Talaro, 2005).

**2.2.6.6. İd-Reaksiyonları:** Mantar infeksiyonlu bireylerin bazılarında mantarların kendilerine ve metabolizma artıklarına karşı organizmada aşırı derecede duyarlılık oluşmasına id reaksiyonu denir. Dermatofitozlu bazı hastalarda bu alerjik reaksiyonlarla karşılaşılabilir. Bir reaksiyona 'id' denilebilmesi için vücutta bir dermatofit infeksiyonunun bulunması, id lezyonu olarak kabul edilen veziküllerde mantar elemanlarının bulunması, trikofitin antijeni ile yapılan deri testinin pozitif olması gerekmektedir. Dermatofit iyileşince id reaksiyonu kendiliğinden kaybolur. İd reaksiyonu vücudun her yerinde görülebilmekle beraber daha sık ellerde görülmektedir(Ustaçelebi, 1999).

### **2.3. DERMATOFİTLERİN TANISI**

Patojenik funguslar arasında tedavi değişken olabildiğinden genellikle tür seviyesinde tanımlama gereklidir. Hastanın görünen belirtilerine göre deri, saç ve tırnak parçalarından uygun örnekler alınmalıdır. Deri, tırnak ve saçlı deri infeksiyonlarından örnek alınmadan önce lezyon ve çevresi yüzde yetmişlik alkol ile iyice silinmelidir. Böylece lezyona bulaşmış olan çeşitli mikroorganizmalar ve önceden uygulanmış olabilecek ilaçlar uzaklaştırılmış olur. Lezyonlardan kazıntı örnekleri steril bistüri ve kıl örnekleri ise steril pens ile petri kaplarına alınmalıdır (Aşçı, 1992).

#### **2.3.1. Direkt Mikroskopik İnceleme**

Derinin, saçın veya tırnağın direkt mikroskopik incelenmesi lezyonun mantar kaynaklı olup olmadığının belirlenmesinde en kolay ve hızlı yöntem olup solusyon olarak % 10 luk KOH ile % 20 lik NaOH kullanılır. Deri kazıntı ve saç örnekleri 1-2 damla KOH damlatılmış lam üzerine konur ve üzerine lamel kapatılır, 20-25 dakika oda ısısında bekletilir. Tırnak için daha yoğun solusyona ve daha uzun süre bekletmeye gerek vardır. Bu bekletme süresinde vücuda ait artık maddeler eriyerek mantar elemanları belirgin hale gelir. Tüm preparasyonlar için ışık mikroskopunda önce küçük sonra büyük büyültmeli objektif ile taranmalı daha



sonra büyük büyültmeli objektif ile incelenmelidir. İnfekte deri ve tırnakların incelenmesi ile epitelyum hücreleri, bir kısmı dallanmış olmak üzere hif parçacıkları ve artrokonidium zincirleri görünür. İnfekte saçların görünümü etken dermatofitin türüne bağlıdır. Saçın endotriks, ektotriks ve favik tutulum olmak üzere üç tipini direkt mikroskopik inceleme ile görmek olanaklıdır(Ustaçelebi, 1999, Kane and Summerbel, 1999).

*Malassezia furfur* infeksiyonunun tanısında, deri kazıntısından yapılan örneklerin %15'lik KOH veya laktofenol pamuk mavisini preparasyonunun mikroskopik incelemesi yapılır. İncelemede kümeler halinde tomurcuklanmış sporlar ve kısa hifler görülür. Kültürde üretilmelerinde yüzeye sürülmüş zeytinyağlı SDA besiyeri kullanılmaktadır(Ustaçelebi, 1999, Kane and Summerbel, 1999).

### **2.3.2. Örneklerden Mantar Üretilmesi ve Üreyen Mantarın Tanınması için Yapılan İşlemler**

Kültür için uygun besiyeri Sabouraud Dekstroz Agar(SDA)'dır. Bakteri ve saprofit mantar kontaminasyonunu önlemek için bu besiyerine kloramfenikol, gentamisin ve sikloheksimit eklenebilir. Kloramfenikol ve gentamisin bakterileri, sikloheksimit ise saprofit mantarları inhibe eder. Sikloheksimidin çok yavaş üreyen dermatofitleri, *C.albicans* ve dermatofit dışı yüzeysel mantar etkenlerinin üremesini engelleyebileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle, yukarıda sayılan sikloheksimide duyarlı mantarları üretmek amacıyla bakteriyel kontaminasyon riski olan klinik örnek kültürleri için kloramfenikol veya gentamisinli SDA'nın da kullanılması önerilmektedir. Gentamisin ve kloramfenikol ilave edilmiş zenginleştirilmiş Littman Oxgal Agar besiyeri, sikloheksimide duyarlı küf ve maya izolasyonunda tırnak kazıntı örnekleri için rutin olarak kullanılabilir. Sığırın yaygın olduğu bölgelerde yaşayanlardan izole edilen örnekler için *T.verrucosum*'un kazeini hidrolize etme özelliği nedeniyle, üremeyi kolaylaştırdığı için, yüzde beş maya özütü sikloheksimit, kloramfenikol ve gentamisinli brom-krezol mavili milk solid agar, bu antibiyotikleri içeren SDA ya göre daha fazla tercih edilir. Patates dekstroz agar(PDA) bazı dermatofitlerin pigment oluşumunu ve konidyum gelişimini arttırarak mikroskopik tanıyı kolaylaştırır. Besiyerine ekim, çiçek eker gibi tek noktaya batırarak materyal besiyeri içinde ve dışında kalacak şekilde yapılır. Dip

kısından besin, yüzeyel kısından ise oksijen alış verişi olur. Bir tüpe 3-4 ekim yapılır. *T.verrucosum* ve bazı dermatofit dışı mantarlar en iyi 37 °C de üredikleri için rutin uygulamalarda biri oda ısısında (22-26 °C), diğeri 37 °C de bekletilmek üzere çift ekim yapılır ve 4 hafta süre ile bekletilir. Nemli ortamı sağlayarak besiyerinin kurumasını önlemek için etüv içine su bulunan kap konulmalıdır. Çoğunlukla hızlı üreyen mantarlar birinci haftanın ortasında veya sonunda, yavaş üreyenler ise ikinci ve üçüncü haftalarda koloni oluşturabilmektedir. Kolonilerde makroskopik ve mikroskopik inceleme yapılır(Kane and Summerbel, 1999).

**2.3.2.1. Kolonilerin Makroskopik İncelenmesi:** Koloninin alt ve üst yüzey rengi, büyüklüğü, yüzey yapısı(tozumsu, granüler, yünsü, pamuksu veya tüysüz), yüzey şekli(yükselteleri, katlantıları, kenar özellikleri) ve besiyerine yayılan renk mantarın tanısı için gereklidir(Kane and Summerbell, 1999).

**2.3.2.2. Kolonilerin Mikroskopik İncelenmesi:** Mikroskopik olarak makro ve mikrokonidiumların yapıları, hif görünümlerine göre tanımlama yapılır. Bu incelemede şu metodlar kullanılır(Kane and Summerbell, 1999):

**2.3.2.2.1. Koloninin Didilmesi ile Yapılan İnceleme:** Didme yöntemi çabuk olmakla birlikte spor ve hiflerin yapıları bozulduğundan nadir olarak kullanılmaktadır. Temiz bir lam üzerine bir damla laktofenol pamuk mavisi boyası ve koloni parçasından bir kısım konulur. Lamel kapatılır ve mikroskopta incelenir(Kane and Summerbell, 1999).

**2.3.2.2.2. Selofan Band İncelemesi:** Bu yöntem çabuk bir yöntemdir. Küf mantarlarının ince yapısı kolayca saptanabilmektedir. Lamdan daha küçük selofan band alınır. Yapışkan yüz koloninin üstüne iyice bastırılıp çekilir. Lama bir damla laktofenol pamuk mavisi damlatılır ve üzerine selofan band iyice yapıştırılır. Mikroskopta incelenir(Kane and Summerbell, 1999).

**2.3.2.2.3. Lam Kültürü(Mikrokültür) Yöntemi:** Uzun sürmekle birlikte mantarların en ince yapısının en iyi saptanabildiği yöntemdir. Bu yöntemde dermatofitin spor ve hiflerinin yapısı açıkca gözlenebilmektedir(Ustaçelebi, 1999, Aşçı, 1992).

**2.3.2.3. İnvitro Kıl Delme Deneyi:** Bu yöntem *T. mentagrophytes* ile *T. rubrum*'un ve aynı zamanda *M. canis* ile *M. equinum*'un atipik izolatlarını ayırd etmek için kullanılır. *T. mentagrophytes* ve *M. canis* ile infekte saçlarda kıl eksenine dik, koni biçiminde delinmeler görülür(Ustaçelebi, 1999).

## 2.4. DERMATOFİTLERİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Funguslar ve fungus sporları en çok hayvan ve bitkiler olmak üzere çok hücreli organizmalar üzerinde, toprak ve su gibi bütün çevrede gelişirler(Bauman, 2004). Dermatofitlerin doğal rezervuarları, diğer insanlar ve topraktır. İnfeksiyonların gelişiminde dermatofit sporlarının dayanıklılığı ve yakın temas önemli faktörlerdir. Çoğu infeksiyonlarda uzun bir inkübasyon periyodunu fungal proteince karşı allerjik reaksiyonlar ve lokalize inflamasyon takip eder. Dermatofitik funguslar bütün dünyada mevcuttur. Bazı türler endemik olmasına karşın seyahatler yolu ile endemik olmayan bölgelere doğru hızla yayılma eğilimindedirler. Fırsatçı patojenlerin aksine, nispeten sınırlandırılmış coğrafi bir bölgede özel iklim, toprak veya diğer faktörlerin uyumlu olması ile uygun bir biçimde dağılırlar(Talaro, 2002). Dermatofitozisin çıkışı, yayılışı ve bulaşması infeksiyonun esas kaynaklarına bağlıdır. İnsan ve hayvanlarda infeksiyon oluşturan dermatofitler orijinlerine göre üç gruba ayrılırlar(Talaro, 2002):

**2.4.1. Antropofilik Dermatofitler:** İnsanlarla temas ve ortak kullanılan eşyalar ile taşınırlar. Genellikle insanlarda hastalık oluşturlar, ancak çok nadir olarak hayvanlarda da hastalık oluşturlar. Dünyanın hemen hemen her yerinde bulunan en yaygın dermatofit *T.rubrum*'dur. Endemik olarak görülen diğer bir dermatofit *T.mentagrophytes*'dir. *E.floccosum* öncelikle sporadik olarak görülür. *T.violaceum*, Hindistan ve Ortadoğu gibi sıcak bölgelerde tinea capitis etkeni olarak yaygındır(Talaro, 2002).

**2.4.2. Zoofilik Dermatofitler:** Bu gruptaki dermatofitler genellikle hayvanlarda hastalık oluşturlar nadiren de insanlarda etken olurlar. Örneğin *Microsporum nanum*(*M.nanum*) sadece domuzda infeksiyona neden olmaktadır, diğer hayvanları ve insanları infekte etmemektedir. *T.mentagrophytes* kedi, köpek, at ve kemirgenleri nadiren de insanları infekte etmektedir. *T.verrucosum* sığırlarda,

*M.canis* ise kedi ve köpeklerde yaygın olarak görülür. Bu zoofilik türler hayvanlarla yakın temasda olan veya yün, deri gibi infekte hayvan ürünlerini kullanan insanlara bulaşarak infeksiyonlar oluştururlar(Talaro, 2002).

**2.4.3. Geofilik dermatofitler:** Bir kısım dermatofitler toprakta yaşarlar. İnsanların direk toprak ile teması veya tozlu hayvanlara teması ile bulaşırlar ve nadir olarak insanlarda hastalığa neden olurlar(Arda, 2000).

**Çizelge.2.1.** Dermatofitlerin Çıkış Kaynaklarına ve Bölgelere Göre dağılımı(Summerbell and Weitzman, 1995)

<b>Antropofilik Türler (Endemik bölgeler)</b>	<b>Zoofilik Türler (Tipik konakçıları)</b>	<b>Geofilik Türler</b>
<i>E.floccosum</i> <i>M.audouinii</i> (Afrika) <i>M.ferrugineum</i> (Doğu Asya, Doğu Avrupa) <i>T.concentricum</i> (Güneydoğu Asya) <i>T.gourvillii</i> (Merkezi Afrika) <i>T.kanie</i> <i>T.megninii</i> (Portekiz, Sardinya) <i>T.mentagrophytes</i> <i>T.raubitschekii</i> (Asya, Afrika) <i>T.rubrum</i> <i>T.schoenleinii</i> <i>T.soudanense</i> (Sahra Afrika) <i>T.tonsurans</i> <i>T.violaceum</i> (Ortadoğu, Kuzey Afrika) <i>T.youndei</i> (Merkezi Afrika)	<i>M.canis</i> (kedi, köpek) <i>M.equinum</i> (at) <i>M.gallinae</i> (kümes hayvanı) <i>M.persicolor</i> <i>T.equinum</i> (at) <i>T.mentagrophytes</i> (tavşan, kirpi, rodentler) <i>T.sarkisorii</i> (deve) <i>T.simi</i> (maymun) <i>T.verrucosum</i> (sığır, koyun)	<i>E.stockdaleae</i> <i>M.amazonicum</i> <i>M.boullardii</i> <i>M.cookei</i> <i>M.gypseum</i> <i>M.nanum</i> <i>M.praecox</i> <i>M.racemosum</i> <i>M.ripariae</i> <i>M.vanbreuseghemii</i> <i>T.ajelloi</i> <i>T.flavescens</i> <i>T.gloriae</i> <i>T.terrestre</i> <i>T.vanbreuseghemii</i> <i>T.phaseoliforme</i>

Mantarların bazıları, hastalık oluşturmeyen bir karaktere sahiptirler. Bunlar doğada toprakta insan ve hayvanların solunum ve sindirim sistemlerinde, deri ve mukozalarında, gübrelerde, çürümüş yapraklar, odunlar, ot, saman, yem, gıdalarda ayrıca sporları havada oldukça fazla bulunurlar. Bu nedenle toprak, mantarlar için çok iyi bir rezervuar oluşturmakta ve insan ve hayvanlara, özellikle, solunum sisteminden bulaşmaktadır(Arda, 2000).

Antropofilik ve zoofilik dermatofitlerin coğrafik dağılımı bir şehir; eyalet veya ülkenin sınırı içinde göç ile oluşan nüfus hareketleri, sağlık alışkanlıkları, yaşam standartları veya seyahat gibi etkenlerle çok değişken bir yapı gösterir. Örneğin 1900 yılından önce *Tinea capitis* nadirdi ve en sık etkeni *M.canis* olarak görülmekteydi. Bindokuzyüzden 1950'lerin ortalarına kadar *M.canis*'in yerini *M.audouinii* olarak ABD ile Kanada üzerine yayılmıştır. Bu etken Meksika ve Karayip'lerden göçmenlerle aktarılan *T.tonsurans* ile yer değiştirerek , günümüzde Kuzey Amerika'da en sık *Tinea capitis* etkeni durumuna gelmiştir. *T.tonsurans* ABD'de *T.rubrum*'dan sonra ikinci sıklıkta izole edilen dermatofittir. Bindokuzyüz yetmişlerde *tinea pedis* ve *tinea cruris*'in en sık etkenleri sırasıyla *T.mentagrophytes* ve *E.floccosum* iken; 1980'li ve 1990'lı yıllarda dünyanın çoğu bölgesinde bu suşlar *T.rubrum* ile yer değiştirmiştir. Tarihsel olarak *T.rubrum*, Afrika ve Güney-Doğu Asya'da kronik *tinea corporis* etkeni olarak endemikti. Ondokuzuncu yüzyıl sonlarında ise Avrupa'lı askerler ve sömürgecilerden oluşan ayakkabılı yeni bir populusyona bulaşmıştır. Kölelerin ve sahiplerinin bu etkeni Amerika'ya taşımış olması olasıdır. *T.rubrum* o zamandan beri dünyada yayılarak, bugün en sık rastlanan dermatofit haline gelmiştir. ABD'de en sık *Tinea corporis*, *Tinea cruris* ve *Tinea pedis* etkeni *T.rubrum* olmakla birlikte; Vietnam savaşı sırasında Amerika'lı askerlerde görülen her üç hastalıkta da en sık etkeninin *T.mentagrophytes* olduğu bildirilmiştir. Japonya'da ise yüksek yaşam standartlarının oluşmasıyla, *Microsporum ferrugineum*(*M.ferrugineum*)'a bağlı dermatofitozlar neredeyse kaybolmuştur. Dermatofitlerin dağılımını ve aktarımını etkileyen faktörlerden biri de enfeksiyonun kaynağıdır(Seebacher, 2003).

Zoofilik dermatofitlerin dağılımı genellikle hayvan konağının dağılımını yansıtır. Örneğin ondokuzuncu yüzyılda İngiltere'den Yeni Zelanda'ya kirpilerle taşınmış olan *Trichophyton erinacei*(*T.erinacei*) başlıca Avrupa ve Yeni Zelanda ile sınırlıdır. Bir başka endemik tür olan *Trichophyton simii*(*T.simii*) Hindistan ve Uzak Doğu'daki maymunlarla ilişkilidir ve insan enfeksiyonları sadece bu bölgede görülür(Seebacher, 2003).

Dermatofitlerin orijinal endemik bölgelerinden ayrıldıklarında, yeni coğrafik bölgelere yerleşebilme özellikleri de dağılımlarında önem taşımaktadır. *E.floccosum*, *M.audouinii*, *T.mentagrophytes* var *interdigitale*, *T.rubrum*,

*T.schoenleinii*, *T.tonsurans* ve *T.violaceum* kolayca yeni bölgelere yerleşebildiklerinden, tüm dünyada dağılmışlardır. Bazı antropofilik türlerin ise başka bölgelere yerleşmeleri zordur. *Trichophyton soudanense*(*T.soudanense*) Afrika göçmenleri ile düzenli olarak Britanya'ya ithal edildiği halde, yerli popülasyonun nadiren infekte olduğu gözlenmiştir. Uzak Doğu ve Kuzeybatı Afrika için endemik olan *M.ferrugineum* ikinci dünya savaşından sonra Polonya'ya ulaşan Kore göçmenlerinin çocuklarının etkilediği halde, Polonya'lı çocukların bu tür ile infekte olmadığı bildirilmiştir. Irklara göre coğrafik dağılımında etkili olup olmadığı anlaşılamamıştır(Seebacher, 2003).

Birçok ülkede özellikle son on yılda hastalık ve etken bakımından dermatofitoz spektrumunda majör değişiklikler olmuştur. Almanya'da *M.canis* ile sporadik olguların görüldüğü 20 yıllık sessiz bir dönemden sonra , günümüzde her yıl onbinden fazla olgu görülmektedir. Aynı ülkede *T.tonsurans* nesli tükenmiş olarak kabul edilirken, 1990 ortalarında ABD ve İsveç'ten gelen güreşçilerle getirilmesiyle tüm Alman Federal Güreş liginde yaygın hale gelmiştir (elFari, 2000). Yine ikinci dünya savaşından sonra, Almanya'da *T.rubrum* etkeninin devamlı olarak arttığını ve bunun onikomikoz, Tinea pedis olgularının çoğalmasıyla paralellik gösterdiği bildirilmiştir (Seebacher, 2003).

Dermatofit spektrumunda *T.rubrum*'un dominant hale gelmesi sadece Almanya'da değil, komşu ülkelerde de gözlenmiştir (Kuklova, 2001).

Başta Akdeniz'dekiler olmak üzere, birçok Avrupa ülkesinde evcil hayvanlarla ilişkinin artmasına bağlı olarak, infeksiyonların tekrar önem kazandığı bildirilmiştir. İspanya'da tinea capitis etkenlerinde antropofiliklerden zoofiliklere kayma olmuştur(Rubio-Calvo, 2001). Avusturya'da zoofilik etkenler tinea capitis olgularında dominant hale gelmiştir (Ginter, 2002). Bazı Avrupa şehirlerinde ise tam tersine bir kayma bildirilmiştir (Leeming, 1995). ABD'de *Microsporum audouinii*(*M.audouini*)'nin yerini *T.tonsurans* (Elewski, 2000), Kuzey-Batı Avrupa'da *T.schoenleinii*'nin yerini *T.violaceum* almıştır (Korstanje, 1994). Batı Afrika'da *T.violaceum*'un belirgin olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Menan, 2002). Hırvatistan'da savaş sonrasında *T.violaceum*'un yayılmaya başladığı ve sonraki beş yıl içinde üçüncü en sık dermatofit haline geldiği gözlenmiştir(Brajac, 2003).

Aynı dönemde Kuzey-Batı Avrupa'da Akdeniz bölgesinden gelen göçmenlerle *T.violaceum* sıklığında benzer bir artış saptanmıştır(Erturan, 2004).

## 2.5. DERMATOFİTLERİN İMMUNOLOJİSİ

Mantarlardan ileri gelen infeksiyonlarda vücut, mantar elementlerine karşı immunolojik bir yanıt verir. Bu cevap, bakteriyel antijenlere oranla zayıf olmakla beraber, kendini humoral ve hücrel tarzda belli eder. Mantar elementlerinin vücuda girmesi ile lenfoid sisteme ait retikuloendotelial sistem (RES) aktivite kazanır veya uyarılır. Hücrel veya sıvısal yanıtın derecesi ve bunlardan birine ait öncelik sırası, infeksiyonun türüne göre değişir. Bazı hastalıklarda ilk önce deri duyarlılığı oluşur ve bunu deri testleri ile ortaya koymak mümkün olabilir. Diğer bazı hastalıklarda da humoral yanıt önce belirir(Weitzman and Summerbell, 1995). Dermatofit kolonizasyonu karakteristik olarak stratum korneumun ölü keratinize dokusu ile sınırlıdır. Bu kolonizasyon ya hafif ya da şiddetli inflamasyon reaksiyonu ile sonuçlanır. Nasırlaşmış deri tabakasında eksik bir immun sistem olmasına rağmen yine de hem humoral hem de hücrel reaksiyonlar oluşur ve sonunda fungusun derin dokulara yayılmasını engeller. Bu savunma mekanizmasını; doymamış transferrin, epidermal deskuamasyon, lenfositler, makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri ve alfa 2-makroglobulin keratinaz inhibitörünün oluşturduğu ve bunların dermatofitlere karşı aktif olduğu düşünülmektedir (Weitzman and Summerbell, 1995).

### **3.YÖNTEM VE GEREÇLER**

#### **3.1. Örneklerin Toplanması**

Bu çalışmada 1 Haziran 2006-31 Ocak 2007 tarihleri arasında Kahramanmaraş Devlet Hastanesi ve Yenişehir Devlet Hastanesi dermatoloji kliniğine başvuran, mantar enfeksiyonu tanısı konulan 338 olgudan deri ve tırnak kazıntı örnekleri alındı. Deri lezyonlarından steril bistüri ile steril petri kaplarına alınan kazıntı örnekleri, tırnak lezyonlarında ise sağlam dokulara ulaşıncaya kadar alınan kazıntı örnekleri ve tırnak örneği parçaları incelendi. Alınan örnekler direkt mikroskopi ile incelendikten sonra SDA besiyerlerinde kültürleri yapıldı.

#### **3.2. Örneklerin Direkt Mikroskopik Olarak İncelenmesi**

Temiz bir lam üzerine % 15' lik KOH çözeltisinden bir iki damla damlatıldıktan sonra saç ve deri kazıntı örnekleri konularak lamel kapatıldı. Oda ısısında 20-25 dakika bekletildi, daha sonra mikroskopta önce küçük sonra büyük büyültmede hif parçaları, artrosporlar, tomurcuklanmış blastosporlar araştırıldı. Mikroskopda önce 10'luk sonra 40'luk büyütmede incelendi. Mantar elemanları gözlenen örnekler pozitif, görülmeyenler negatif olarak değerlendirildi. *M.furfur* olarak tanımlanan örnekler için kültür ekimi yapılmadı(Toraman, 2003).

#### **3.3. Örneklerin Ekilmesi ve Kültürü**

Sabouraud dekstroz agar besiyerlerine delme yöntemi ile üçlü ekim yapıldı. Kültürler inkübasyon sırasında haftada 2-3 kez kontrol edildi. Ekim yapılan kültürlerden ikisi oda sıcaklığında, biri 37 °C de en az 4 hafta bekledikten sonra değerlendirmeye alındı. Üreme tespit edilmeyen kültürler negatif olarak değerlendirildi( Tümbay, 1983).



### **3.3.1. Kültürde Üreyen Mantar Kolonisinin İdentifikasyonu**

Kolonilerin yapısı makroskobik ve mikroskobik olarak incelendi(Tümbay, 1983).

**3.3.1.1. Koloninin Makroskobik İncelenmesi:** Ekimi yapılmış kültürler inkübasyon süresi sonunda, yüzey(havasal miçel) ve taban rengi, yüzey örgüsü(çıplak, mumsu, pudramsı, granüler, süet benzeri, kadifemsi, tüylü, kabarık), topografisi(düz, kabarık, dağınık),koloninin büklüm şekli(ışınsal, beyin krater gibi) ve üreme hızına göre incelendi(Toraman, 2003).

**3.3.1.2. Koloninin Mikroskobik İncelenmesi:** Bu inceleme makrokonidyum ve mikrokonidyumların varlığının belirlenmesi hiflerin yapısının incelenmesi amacı ile yapıldı(Toraman, 2003).

#### **3.3.1.2.1. Selofan Band İle Yapılan Preparasyon**

Preparasyonda kullanılacak selofan band lamdan daha kısa kesilir. Selofan bandın yapışkan yüzü dışa gelecek şekilde U şeklinde kıvrıldı. Yapışkan yüz koloninin yüzeyine bastırılarak çekildi. Lam üzerine konulan bir damla laktofenol pamuk mavisi boyası üzerine selofan bant sıkıca yapıştırılarak mikroskopta önce küçük sonra büyük büyültmede incelendi(Toraman, 2003).

#### **3.3.1.2.2. Lam Kültürü**

Petri kabı içine V şeklinde olan bir cam çubuk yerleştirildi. Üzerine bir lam yerleştirildi ve steril edildi. Ortalama 3-4 cm kalınlığında hazırlanmış SDA'dan 1 cmx 1 cm ebadında kesilerek lam üzerine yerleştirildi. Steril iğne özne ile hif parçalarından alınarak besiyerinin kıyısının orta kısmına ekim yapıldı. Steril lamelden alınarak üzerine kapatıldı. Besiyerinin kurumasını engellemek için petri kabının içine 2 cm<sup>3</sup> steril distile su konuldu. Üreme görüldüğünde lamel pens ile alınarak bir damla laktofenol pamuk mavisi konulmuş lam üzerine kapatıldı. Preparat mikroskopta önce küçük sonra büyük büyültmede incelendi(Toraman, 2003)

### **3.4. Enzimatik Aktivitelerin Belirlenmesi**

#### **3.4.1. Kazeinolitik Özelliklerin Belirlenmesi**

*Trichophyton rubrum* ve *T. mentagrophytes*'in proteaz aktivitesini belirlemek için özgün bir besiyeri kullanıldı. Bunun için % 0.1 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, % 0.05 MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, %0.05 KCl, %1.6 agar su içinde çözündürülüp, 121 °C de 1.5 atm de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. 60 °C'ye kadar soğuduktan sonra üzerine son konsantrasyonu % 4.8 olacak şekilde distile su ile hazırlanmış ve aynı şartlarda sterilize edilmiş yağsız süttezu çözeltisi aseptik olarak ilave edildi. Bu karışım steril test tüplerine 10' ar ml olarak dağıtılıp, dik olarak donduruldu(Topal vd, 2000).

Kültürün enzim üretim yeteneğini test edebilmek için, hazırlanan bu özgün besiyerinin üzerine sıvı stok kültürden 0.1 ml inokule edilerek 26 °C de 7 güne kadar inkübasyona bırakıldı. Test kültürü proteaz üretebiliyorsa (proteaz pozitif ise), besiyerinde bulunan ve bulanıklığı sağlayan süt kazeinini parçalayarak berraklık oluşturmaktadır. Berraklık oluşmadıysa, kültür kazeini parçalayamadığı için besiyeri berraklaşmamıştır ve negatiftir. Testin değerlendirilmesi; oluşan şeffaflığın derinliği cetvel yardımı ile ölçülerek yapılmıştır. Bu ölçümde 7. günün sonunda 4 mm ve üzerinde ise proteaz yönünden pozitif, 4 mm'nin altında ise negatif olarak değerlendirilmiştir(Topal vd, 2000).

#### **3.4.2. Proteaz Aktivite Tayini**

##### **3.4.2.1. Sıvı Stok Kültürünün Hazırlanması**

Sabouroud dekstroz broth(SDB) besiyeri 100 ml'lik erlenmeyerlere 50 ml üretim ortamı olarak hazırlandı. Dermatofit stok kültürlerinden sıvı SDB besiyerlerine aşılama yapılarak 30 °C de 2 hafta inkübasyona bırakılarak sıvı stok kültürler elde edildi(Stainer, et al. 1980).

##### **3.4.2.2. Ekim ve Üretim**

Sıvı stok kültürden, enzim üretimi için hazırlanan 100 ml'lik Sabouraud dekstroz broth besiyerlerine 0.1 ml olarak steril koşullarda ekim yapıldı.

### **3.4.2.3. Optimum İnkübasyon Sıcaklığının Saptanması**

İnkübasyon sıcaklığının enzim aktivitesine etkisini incelemek amacı ile izole ettiğimiz dermatofit stok kültüründen hazırlanmış Sabouraud Dekstroz broth besiyerine ekim yapıldı. Kültürler 25 °C ile 60 °C'de değişen sıcaklıklarda 150 r.p.m. çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 14 gün süre ile inkübasyona bırakıldı.

### **3.4.2.4. Optimum inkübasyon pH'sının Saptanması**

Enzim aktivitesine inkübasyon pH'sının etkisini belirlemek amacı ile 4 ile 8 arasında değişen pH aralıklarında hazırlanan Sabouraud Dekstroz broth besiyerlerine dermatofit örneklerinden ekimler yapıldı. Kültürler 14 gün süre ile 30 °C de 150 r.p.m. çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda enzim aktivitesine bakıldı.

### **3.4.2.5. Proteaz Miktarının Günlere Göre Değişimi ve Uygun İnkübasyon Süresinin Saptanması**

Ekim yapılan besiyerleri yüksek proteaz verimi elde etmek için uygun inkübasyon süresini saptamak amacı ile 30 °C'de 150 r.p.m. çalkalama hızında 5, 8, 11, 14, 17, 20 ve 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı(Stainer, et al. 1980).

### **3.4.2.6. Proteaz Aktivite Tayin Yöntemi**

Proteaz aktivite tayininde Kunitz metodunun modifiye edilmesi ile oluşan Kazein-Folin yöntemi uygulandı(Boethling 1975; Cihangir 1987). Proteaz pozitif örneklerden 1ml örnek alınarak 100 ml olarak hazırlanmış Sabouroud dextroz broth besiyerine ekim yapıldı. Herbir dermatofit türü için 7 kültür hazırlanarak 30 °C de, 150 rpm çalkalama hızında 5, 8, 11, 14, 17, 20 ve 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı(Kebabcı, 2003).

Enzim kaynağı olarak üretim ortamının filtrasyonu ile elde edilen supernatan kullanıldı. Substrat olarak ise 0.1 M fosfat tamponu(pH:6.0) içinde çözülmüş % 1' lik kazein kullanıldı. 1 ml enzim ile 1 ml substrat deney tüpünde karıştırılarak 60 dk 30 °C de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası reaksiyonu durdurmak için % 10'luk Trikarboksilik asit (TCA) çözeltisinden 3 ml ilave edildi ve vorteksde karıştırılarak 30 dk sonra Whatman I filtre kağıdından süzüldü. Elde edilen filtrattan 1 ml alındı ve 5 ml Lowry C eklendi. Lowry A; 0.1 M NaOH içinde % 2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Lowry B<sub>1</sub>; % 1 CuSO<sub>4</sub> ve Lowry B<sub>2</sub>, % 2 sodyum potasyum tartarat hazırlandı. Lowry C ; A:B<sub>1</sub>:B<sub>2</sub> nin sırasıyla 100:1:1 oranında karıştırılması ile elde edildi(Lowry et. al., 1951).10 dk sonra 1:1 oranında sulandırılmış folin ayırıcından 0.5 ml ilave edilerek vorteksde karıştırıldı. Karışım 60 dakika oda sıcaklığında reaksiyona bırakıldı, süre sonunda spektrofotometrede(Janway) 700 nm'de okundu(Kebabcı, 2003).

Enzim aktivitesi internasyonel ünite (IU) olarak hesaplandı. Bir ünite enzim aktivitesi 1 saatlik inkübasyon süresinde inkübasyon karışımının optik yoğunluğundaki 0.1 birim artışı sağlayan enzim miktarı olarak tanımlandı (Tsuboi et al., 1989).

## 4.SONUÇLAR

### 4.1. Örneklerin İnfeksiyon Yerlerine Göre Dağılımı

Bu çalışmada yüzeysel mantar enfeksiyonu kuşkusu olan 338 olgudan deri ve tırnak kazıntı örnekleri alındı. Örnek alınan 338 olgunun; 200(%59.20) ü Tinea pedis, 74(%21.90) ü Tinea unguium, 29(% 8.60) u Tinea manum, 19(%5.60) u Tinea corporis, 15(%4.40) i Tinea inguinalis, 1(%0.30) i Tinea versicolor enfeksiyonu oluşturmaktadır(Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Yüzeysel Mantar İnfeksiyonlu 338 Olgunun İnfeksiyon Yerine Göre Dağılımı

YERLEŞME YERİ	n(%)
Tinea pedis	200(59.20)
" unguium	74(21.90)
" manum	29(8.60)
" corporis	19(5.60)
" inguinalis	15(4.40)
" versicolor	1(0.30)
<b>TOPLAM</b>	<b>338(100.00)</b>

### 4.2. Alınan Örneklerin Mikroskopik Olarak İncelenmesi

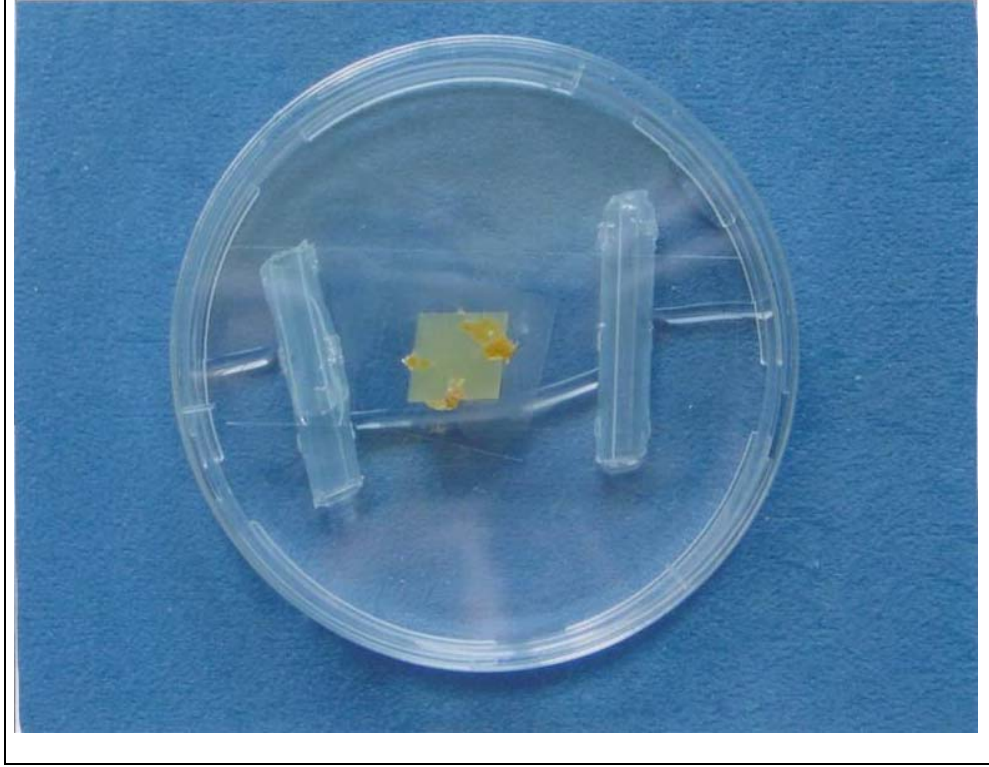
Hastalardan alınan 338 deri ve tırnak kazıntı örneklerinin %15 lik KOH ile direkt mikroskopik incelemesi yapıldı. Mikroskopik incelemede 150(%44.39) örnekte mantar hif ve sporları görüldü, 187(%55.31) örnekte görülmedi. Örneklerden 1(%0.30)'i direkt mikroskopide kümeler halinde tomurcuklanmış sporlar ve kısa hifler halinde görüldü. Mantar hif ve sporlarının mikroskoptaki görünüşleri Şekil 4.1. de , dermatofitlerin lam kültüründe tanımlanması Şekil 4.2. de, kültürde tanımlanan dermatofitlerin koloni görünüşleri Şekil 4.3. de, 338 örneğin direkt mikroskopik inceleme sonuçları Çizelge 4.2. de gösterildi.



**Şekil 4.1.** Mantar hif ve sporlarının mikroskoptaki görünümleri (10X40 büyütme).

**Çizelge 4.2.** 338 Örnekte Direkt Mikroskobik İnceleme Sonuçları

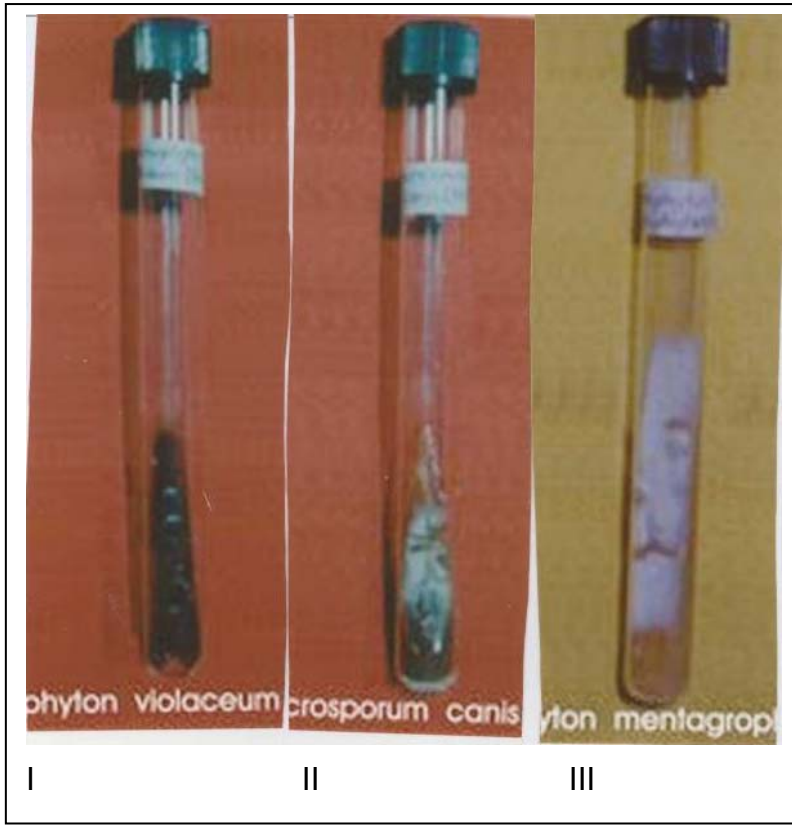
<b>DİREKT MİKROSKOBİ</b>	<b>N (örnek sayısı)</b>	<b>(%)</b>
Pozitif	151	(44.67)
<i>Negatif</i>	187	(55.33)
<b>TOPLAM</b>	<b>338</b>	<b>(100)</b>



**Şekil 4.2.** Dermatofitlerin Lam Kültürü ile Tanımlanması

#### **4.3. Örneklerin Kültür Ekimlerinin Yapılması**

337 örnekten SDA besiyerine ekim yapıldı. Ekimler, ikisi 26 °C, birisi 37 °C de olmak üzere 4 hafta inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda 74 (%21.95) örnekte üreme gözlemlendi, üreme olmayan 263 (%78.04) örnek ise negatif olarak değerlendirildi.



**Şekil 4.3.** Kültürde Üreyen Dermatofitlerin Makroskobik Görünümü, I. *T. violaceum* (SDA), II. *M. canis* (SDA), III. *T. rubrum* (SDA), IV. *T. mentagrophytes* (SDA), V. *E. floccosum* (SDA).



İncelenen 337 örneğin kültürleri değerlendirildiğinde; 74(%21.95)'ünde üreme saptanırken 263(% 78.04)'ünde üreme saptanamadı. Toplam 316 erkek hastadan alınan 324 örneğin 70(%20.77)'inde üreme görülürken 254(%75.37)'ünde görülmedi. Toplam 11 kadın hastadan alınan 13 örneğin 4(%1.18)'ünde üreme görülürken 9(%2.67)'unda görülmedi(Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3.** İncelenen 337 Örneğin Kültür Sonuçlarının Cinsiyete Göre Dağılımı

<b>KÜLTÜR</b>	<b>ERKEK n(%)</b>	<b>KADIN n(%)</b>	<b>TOPLAM</b>
Üreyen	70(20.77)	4(1.18)	74(21.95)
Üremeyen	254(75.38)	9(2.67)	263(78.04)
<b>TOPLAM</b>	<b>324(96.15)</b>	<b>13(3.85)</b>	<b>337(100)</b>

Ekimleri yapılan 337 örnekten 64 (%19.00)'ünde dermatofit, 10(%2.96)'unda *Candida sp.* ürerken, 263(%78.04)'ünde üreme saptanamadı(Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4.** İncelenen 337 Olgunun Kültür Sonuçları

<b>KÜLTÜR</b>	<b>N (Örnek sayısı)</b>	<b>(%)</b>
Dermatofit	64	(19.00)
<i>Candida sp.</i>	10	(2.96)
Üremeyen	263	(78.04)
<b>TOPLAM</b>	<b>337</b>	<b>(100)</b>

#### 4.4. Kùltùrlerde Üreme Görùlen Fungusların Tanımlanması

Kùltürde üreme görùlen 74 örneğın tüm olgulara göre dağılımında; 30(%8.87 )'unu *T.rubrum*, 13(%3.84)'ünü *T.mentagrophytes*, 10(%2.95)'unu *Candida sp.*, 11(%3.25)'ini *T.violaceum*, 4(%1.18)'ünü *E.floccosum*, 2(%0.60)'sini *M.canis*, 1(%0.30)'ini *T.violaceum+T.rubrum*, 1(%0.30)'ini *T.rubrum+T.mentagrophytes*, 2(%0.30)'ini *T.rubrum+Candida sp.* oluşturmaktadır(Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.5.** İzole Edilen Fungus Türlerinin Tüm Olgulara Göre Dağılımı

<b>FUNGUS TÜRÜ</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
<i>T.rubrum</i>	30	(8.87)
<i>T.mentagrophytes</i>	13	(3.84)
<i>T.violaceum</i>	11	(3.25)
<i>E.floccosum</i>	4	(1.18)
<i>M.canis</i>	2	(0.60)
<i>T.violaceum+T. rubrum</i>	1	(0.30)
<i>T.rubrum+T. mentagrophytes</i>	1	(0.30)
<i>T. rubrum+Candida sp.</i>	2	(0.60)
<i>Candida sp</i>	10	(2.95)
<i>M. furfur</i>	1	(0.30)
Üremeyenler	263	(77.81)
<b>TOPLAM</b>	<b>338</b>	<b>(100)</b>

337 örnekten izole edilen 74 mantar türünden 30(%40.55)' u *T.rubrum*, 13(%17.58)'ü *T.mentagrophytes*, 11(%14.86)'i *T.violaceum*, 4(%5.40)'ü *E.floccosum*, 2(%2.70)'si *M.canis*, 1(%1.35)'i *T.violaceum+T.rubrum*, 1(%1.35)'i

*T.rubrum*+*T.mentagrophytes*, 2(%2.70)'si *Candida sp.*+ *T.rubrum*, 10(%13.51)'ü *Candida sp.*, olarak tanımlandı (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.6.** İzole Edilen 74 Dermatofit ve *Candida sp.*' nin Dağılımı

Fungus Türü	n	(%)
<i>T.rubrum</i>	30	(40.55)
<i>T.mentagrophytes</i>	13	(17.58)
<i>T.violaceum</i>	11	(14.86)
<i>E.floccosum</i>	4	(5.40)
<i>M.canis</i>	2	(2.70)
<i>T. rubrum</i> + <i>T. violaceum</i>	1	(1.35)
<i>T. rubrum</i> + <i>T. mentagrophytes</i>	1	(1.35)
<i>T. rubrum</i> + <i>Candida sp.</i>	2	(2.70)
<i>Candida sp.</i>	10	(13.51)
<b>TOPLAM</b>	<b>74</b>	<b>(100)</b>

#### 4.5. İzole Edilen Dermatofitlerin Cinsiyetlere Göre Dağılımı

Dermatofitlerin ve *Candida sp.*'nin cinsiyetlere göre dağılımı çizelge 4.7'de verilmiştir. Erkeklerde; *T.rubrum* %8.95, *T.mentagrophytes* %3.08, *T.violaceum* %3.39, *E.floccosum* %1.23, *M.canis* %0.61, *T.rubrum*+*T.violaceum* %0.30, *T.rubrum*+*T.mentagrophytes* %0.30, *T.rubrum*+*Candida sp.* %0.61, *Candida sp.* %3.06 oranında saptandı. Kadınlarda ise; sadece *T.mentagrophytes* %23.07 ve *T.rubrum* %7.69 oranında saptandı. İstatistiksel olarak cinsiyetler arasındaki farkın, *T.rubrum*, *T.violaceum*+*T.rubrum* ve *T.rubrum*+*T.mentagrophytes* açısından anlamlı olmadığı; *Trichophyton mentagrophytes*, *T.violaceum*,

*E.floccosum*, *M.canis* ve *Candida sp.* açısından anlamlı olduğu saptandı (P>0.05)(P<0.05)(Çizelge 4.7).

**Çizelge 4.7.** İnfeksiyonlu Olgulardan İzole Edilen Dermatofit Türlerinin ve *Candida sp.*'nin Cinsiyetlere Göre Dağılımı

<b>FUNGUS TÜRÜ</b>	<b>ERKEK (n=324) n(%)</b>	<b>KADIN (n=13) n(%)</b>	<b>TOPLAM (n=337) n(%)</b>
<i>T.rubrum</i>	29(8.95)	1(7.69)	30(8.90)
<i>Tr.mentagrophytes</i>	10(3.08)	3(23.07)	13(3.85)
<i>T.violaceum</i>	11(3.39)	-	11(3.26)
<i>E.floccosum</i>	4(1.23)	-	4(1.18)
<i>M.canis</i>	2(0.61)	-	2(0.59)
<i>T. violaceum+T. rubrum</i>	1(0.30)	-	1((0.29)
<i>T.rubrum+T.mentagrophytes</i>	1(0.30)	-	1(0.29)
<i>T. rubrum+Candida sp.</i>	2(0.61)	-	2(0.59)
<i>Candida sp.</i>	10(3.06)	-	10(2.96)
<b>TOPLAM</b>	<b>70(21.53)</b>	<b>4(30.76)</b>	<b>74(21.95)</b>

#### 4.6. İzole Edilen Dermatofit ve Maya Türlerinin İnfeksiyon Yerine Göre Dağılımı

İzole edilen dermatofit türlerinin infeksiyon bölgelerine göre dağılımına bakıldığında; *T.rubrum*; 14(%6.96) Tinea pedis, 6(%10.95) Tinea unguium, 4(%13.33) Tinea manum, 3(%16.66) Tinea corporis, 1(%6.67) oranında Tinea inguinalis'li lezyonlardan alınan örneklerde saptandı.

*Trichophyton mentagrophytes*; 8(%3.48) Tinea pedis, 4(%5.47) Tinea unguium, 1(% 6.66) oranında Tinea inguinalis'li olgulardan saptandı.

*Trichophyton violaceum*; 5(% 2.50) tinea pedis, 2(% 2.73) Tinea unguium, 1(% 3.33) tinea manum, 2(%13.33) Tinea inguinalis lezyonlarından izole edildi.

*Epidermaphyton floccosum*'un tamamı 4(%1.99) Tinea pedis'ten izole edildi.

*Microsporum canis* 2(%0.99)'si Tinea pedis'li lezyonlardan izole edildi.

*Candida sp.*; 9(%4.47) Tinea pedis, 1(%1.36) Tinea unguium'lu olgulardan saptandı.

*Trichophyton rubrum*+*T.violaceum*, 1(%6.66)'i Tinea pedis'den, *T.rubrum*+*Candida sp*, 1(%0.49)'i Tinea pedis, 1(%6.66)'i Tinea inguinalisli olgulardan İzole edildi (Çizelge 4.8).

**Çizelge 4.8.** İzole Edilen Fungus Türlerinin Enfeksiyon Yerine Göre Dağılımı.

FUNGUS TÜRÜ	(n=201)	(n=73)	(n=30)	(n=18)	(n=15)	(n=337)
	T. pedis n(%)	T. unguim n(%)	T. manum n(%)	T. corporis n(%)	T. inguinalis n(%)	TOPLAM n(%)
<i>T. rubrum</i>	14(6.96)	8(10.95)	4(13.33)	3(16.66)	1(6.67)	30(8.90)
<i>T. ment</i>	8(3.48)	4(5.47)	1(3.33)	-	1(6.67)	13(3.85)
<i>T. violaceum</i>	5(2.50)	2(2.73)	1(3.33)	-	2(13.33)	11(3.26)
<i>E. floccosum</i>	4(1.99)	-	-	-	-	4(1.18)
<i>M. canis</i>	2(0.99)	-	-	-	-	2(0.59)
<i>T. viol.+T. rub.</i>	-	-	-	-	1(6.67)	1(0.29)
<i>T. rub.+T. ment.</i>	1(0.49)	-	-	-	-	1(0.29)
<i>T. rub.+Can.</i>	1(0.49)	1(1.36)	-	-	-	2(0.59)
<i>Candida sp.</i>	9(4.47)	-	-	-	1(6.66)	10(3.25)
TOPLAM	44(21.89)	15(20.54)	6(20.00)	3(16.66)	6(40.00)	74(21.95)

#### 4.7. İzole Edilen Dermatofit ve Maya Türlerinin Yaş Gruplarına Dağılımı

İzole edilen 74 dermatofit ve *Candida sp.*'nin yaş gruplarına göre dağılımı Çizelge 4.9' da gösterilmiştir. 0-15 yaş grubunda dermatofit izole edilemedi. *T.rubrum*; 16-30 yaş grubunda %10.81, 31-45 yaş grubunda %5.93, 46 ve üzeri yaş grubunda %13.76 oranında izole edildi. *T.rubrum* infeksiyonlarında, 16-30 ve 46 ve üzeri yaş grupları ile diğer yaş grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu; diğer yaş grupları arasında ise önemli olmadığı belirlendi( $P<0.05$ ,  $P>0.05$ ). *T.mentagrophytes*; 16-30 yaş grubunda %4.05, 31-45 yaş grubunda %1.69, 46 ve üzeri yaş grubunda ise %7.34 olarak izole edildi. *T.mentagrophytes* infeksiyonlarında, 46 ve üzeri yaş grubu ile diğer yaş grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu; diğer yaş grupları arasındaki farkın ise anlamlı olmadığı saptandı( $P<0.05$ ,  $P>0.05$ ). *T.violaceum*; 16-30 yaş grubunda %1.35, 31-45 yaş grubunda %5.08, 46 ve üzerinde %3.66 oranında izole edildi. *Trichophyton violaceum* infeksiyonlarında, 31-45 ve 46 ve üzeri yaş grupları ile diğer yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu; diğer yaş grupları arasında ise anlamlı olmadığı belirlendi( $P<0.05$ ,  $P>0.05$ ). *E.floccosum*; 16-30 yaş grubunda %1.35, 46 ve üzeri yaş grubunda %2.75 oranında saptandı. *E.floccosum*'da iki yaş grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi( $P>0.05$ ). *M.canis* sadece 46 ve üzeri yaş grubunda %1.83 oranında izole edildi. 46 ve üzeri yaş grubunda, *T.rubrum*+ *T.violaceum* %1.09 ve *T.rubrum*+ *Candida sp.*; 16-30 yaş grubunda %1.35, 46 ve üzeri gruptan %0.91 oranında izole edildi. *T.rubrum*+*Candida sp.* infeksiyonlarında iki grubun arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı( $P>0.05$ ). *Candida sp.* ; 16-30 yaş grubunda %2.70, 31-45 yaş grubunda %1.69, 46 ve üzeri yaş grubunda %5.50 oranında belirlendi. *Candida sp.* infeksiyonlarında, 46 ve üzeri yaş grubu ile diğer yaş grupları arasında istatistiksel olarak farkın anlamlı olduğu, diğer yaş gruplarının kendi aralarındaki farkın anlamlı olmadığı belirlendi( $P<0.05$ ,  $P>0.05$ ) (Çizelge 4.9).

**Çizelge 4.9.** 337 Olgudan İzole Edilen Dermatofit Türlerinin ve *Candida sp.*'nin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

FUNGUS TÜRÜ	YAŞ GRUPLARI				
	0-15(n=2) n(%)	16-30(n=74) n(%)	31-45 (n=118) n (%)	46 ve üzeri (n=109) n(%)	Toplam(n =337) n(%)
<i>T. rubrum</i>	-	8(10.81)	7(5.93)	15(13.76)	30(8.90)
<i>T. mentagrophytes</i>	-	3(4.05)	2(1.69)	8(7.34)	13(3.85)
<i>T. violaceum</i>	-	1(1.35)	6(5.08)	4(3.66)	11(3.28)
<i>E. floccosum</i>	-	1(1.35)	-	3(2.75)	4(1.18)
<i>M. canis</i>	-	-	-	2(1.83)	2(0.59)
<i>T. violaceum+T. rubrum</i>	-	-	-	1(0.91)	1(0.30)
<i>T. rubrum+T. mentag.</i>	-	-	-	1(0.91)	1(0.30)
<i>T. rubrum+Candida sp.</i>	-	1(1.35)	-	1(0.91)	2(0.59)
<i>Candida sp.</i>	-	2(2.70)	2(1.69)	6(5.50)	10(2.96)
TOPLAM		16(21.62)	7(14.40)	41(37.57)	74(21.95)

#### 4.8. Direkt Mikroskopi İle Kültür Sonuçlarının Karşılaştırılması

Mikroskobik incelemede hif ve sporları görülen 50 (%14.83) örnekte aynı zamanda kültürde üreme gözlemlendi, 24(%7.12) örnekte mikroskobik incelemede hif ve sporlar görülmemekle birlikte kültürde üreme gözlemlendi, 100 (%29.68) örneğin mikroskobik incelenmesinde mantar elemanları görülmesine rağmen kültürde üreme gözlenmezken, 163 (%48.37) örnek ise hem mikroskopi hemde kültür sonuçları negatif olarak değerlendirildi.(Çizelge 4.10).

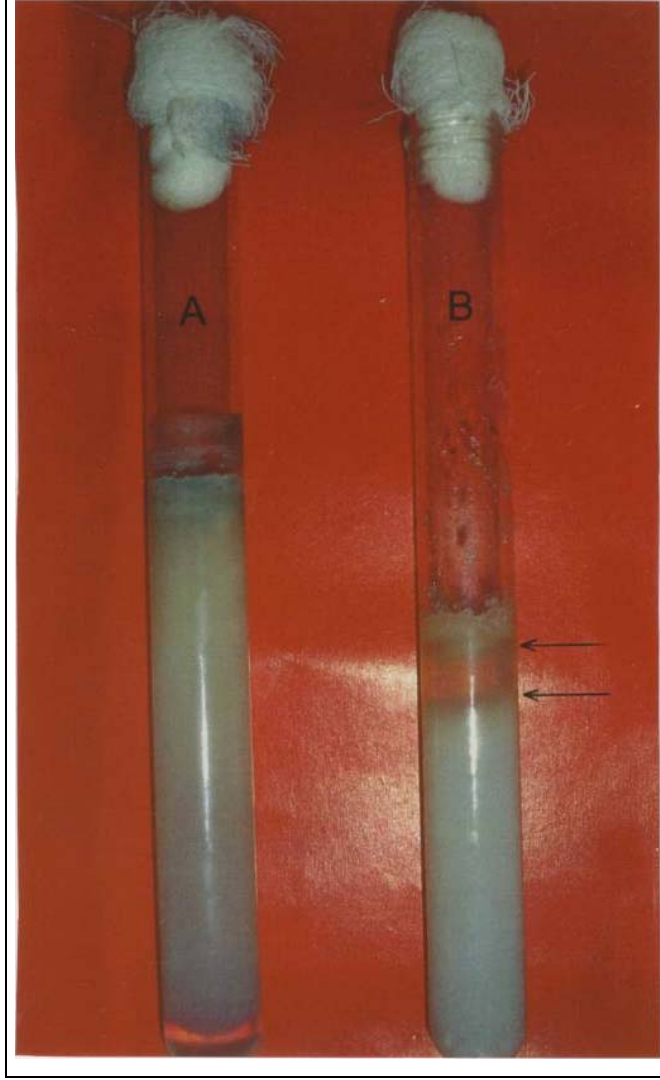
**Çizelge 4.10.** Direkt Mikroskopi ile Kültür Üreme Sonuçlarının Karşılaştırılması.

DİREKT MİKROSKOBİ	K Ü L T Ü R		
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	TOPLAM n (%)
Pozitif	50(14.83)	<b>100(29.68)</b>	<b>150(45.50)</b>
Negatif	24(7.12)	<b>163(48.37)</b>	<b>187(55.50)</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>74(21.95)</b>	<b>263(78.04)</b>	<b>337(100)</b>

#### 4.9. Dermatofitlerin Kazeinolitik Özelliklerinin İncelenmesi

İzole edilen dermatofit türlerinden *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes*'in kazeinolitik özelliklerini incelemek için stok kültürlerden, bölüm 3.4.1 de anlatıldığı gibi hazırlanan özgün besiyerlerine ekimler yapıldı. Kültürler 2 hafta süre ile 30 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında fungusun salgıladığı proteaz enziminin kazeni parçalaması sonucu besiyeri renginde açılma meydana geldi. Bu renk açılımının derinliği ölçülerek *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes* türlerinin kazeinolitik özellikleri değerlendirildi(Şekil 4.4). Kazeinolitik özelliklerini incelediğimiz dermatofitlerin, 3. ve 7.gün ölçümlerinin ortalaması 4 mm ve üzerinde olanlar pozitif, altında olanlar negatif olarak değerlendirildi. Kazeinolitik özellikleri incelenen Tr1, Tr4, Tr221, Tr237, Tr324 ve Tr329 negatif olarak değerlendirildi; Tr2, Tr3, Tm207, Tr319 ve Tm321 nolu dermatofitler pozitif olarak değerlendirildi(Topal vd., 2000) (Çizelge 4.11).





**Şekil 4.4.** Dermatofitlerin Kazeinolitik Özelliklerinin Belirlenmesi,  
A:Kontrol B: Pozitif

**Çizelge 4.11.** Dermatofitlerin Kazeinolitik Özelliklerinin İncelenmesi

İncelenen dermatofitler	3. gün ölçüm(mm)	7.gün ölçüm(mm)	Ortalama
Tr 1	1 mm	3 mm	2 mm
Tr 2*	4 mm	6 mm	5 mm
Tr 3*	4 mm	7 mm	6.5 mm
Tr 4	2 mm	3 mm	2.5 mm
Tm207*	7 mm	9 mm	8 mm
Tr 221	1mm	3 mm	2 mm
Tr 237	1 mm	5 mm	3 mm
Tr 319*	4 mm	6 mm	5 mm
Tr 333	1 mm	5 mm	3 mm
Tm 321*	5 mm	9 mm	7 mm
Tr 324	2 mm	5 mm	3.5 mm
Tm 327	0 mm	2 mm	2 mm
Tr 329	0 mm	6 mm	3 mm
Tr 332	0 mm	1 mm	0.5 mm

Tr : *Trichophyton rubrum*

Tm: *Trichophyton mentagrophytes*

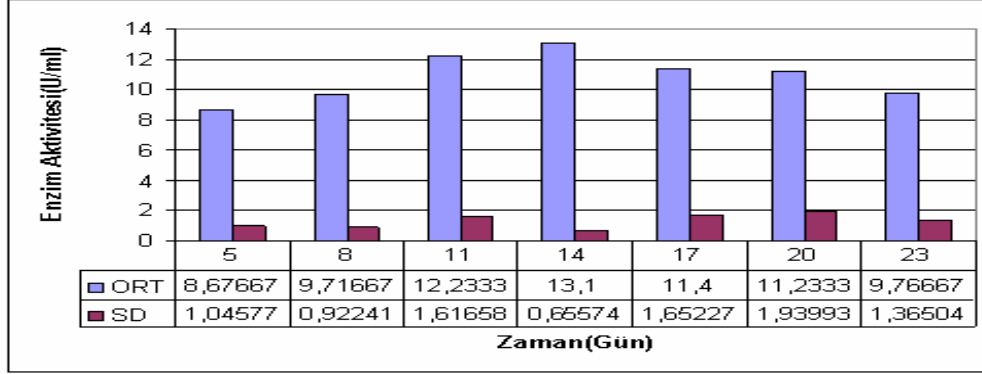
\* : Kazeinolitik özellik açısından pozitif olarak değerlendirilen örnekler

#### 4.10. Dermatofitlerin Optimum Üreme ve Enzim Üretim Süresinin Belirlenmesi

Kazeinolitik özellikleri pozitif olarak değerlendirilen Tr2, Tr3, Tm207, Tr319 ve Tm321 dermatofit suşları enzim aktivitesinin incelenmesi için ayrıldı. Her bir dermatofit türü Sabouraud broth besiyerlerine ekim yapılarak 5, 8, 11, 14, 17, 20 ve 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. Söz konusu süreler sonunda bölüm 3.4.2.3'de anlatıldığı gibi ağırlık artışı ve bölüm 3.4.2.7'de anlatıldığı gibi enzim aktivitelerine bakıldı. Sonuçlar grafiğe geçirildi.

Ekimi yapılan Tr2, 30 °C'de 150 r.p.m. çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 5, 8, 11, 14, 17, 20 ve 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. Her bir süre sonunda bölüm 3.2.5.5' de anlatıldığı gibi enzim aktivitesine bakıldı. Ölçümler sonucunda

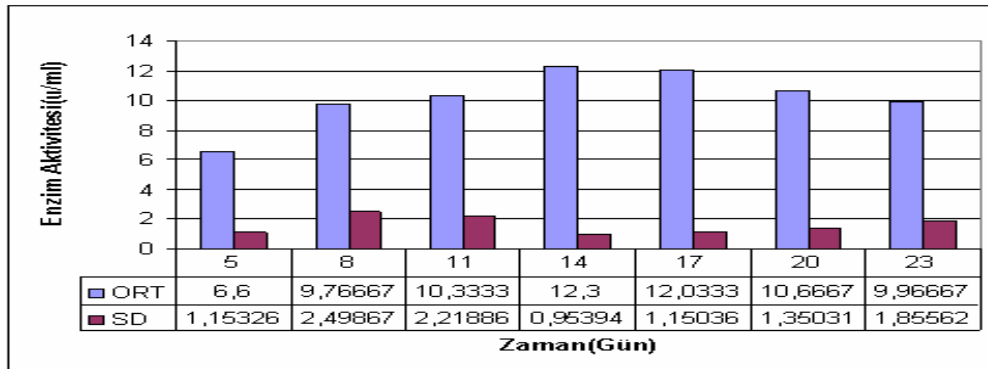
en yüksek aktivite 14. gün sonunda 13,1 U/ml olarak belirlendi. Sonuçlar üç çalışmanın orta lamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmiştir(Şekil 4.5).



**Şekil 4.5.** Tr2'nin Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi

-Üretimler başlangıç pH'sı 5.5 olan Sabouraud Dekstroz Broth besiyerinde 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 23 gün süre ile gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Ekimi yapılan 7 Tr3 örneği, 30 °C'de 150 rpm hızına ayarlı inkübatöre 5, 8, 11, 14, 17, 20 ve 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. En yüksek enzim aktivitesi 14. gün sonrasında 12.3 U/ml olarak elde edildi. Elde edilen sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır ve standart sapma ile birlikte grafikte verilmiştir (Şekil 4.6).

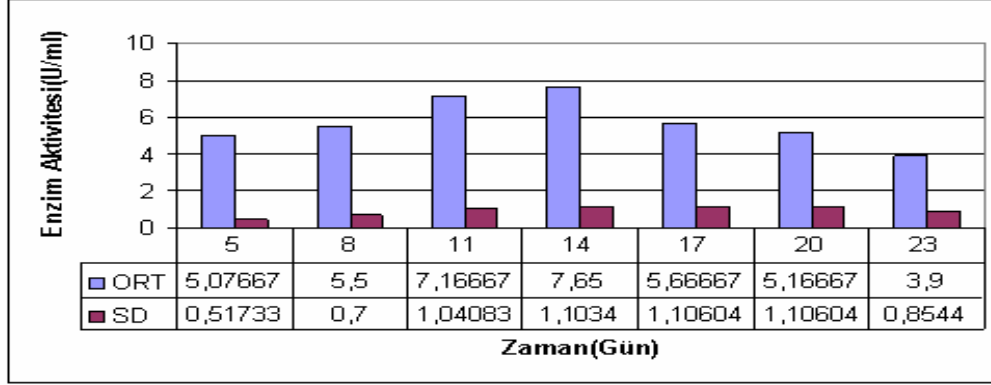


**Şekil 4.6.** Tr3'ün Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi

-Üretimler başlangıç pH'sı 5.5 olan Sabouraud Dekstroz Broth besiyerinde 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 23 gün süre ile gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Ekimi yapılan Tm207 30 °C'de 150 rpm hızına ayarlanmış inkübatörde, 5, 8, 11, 14, 17, 20 ve 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. En yüksek enzim aktivitesi 11.

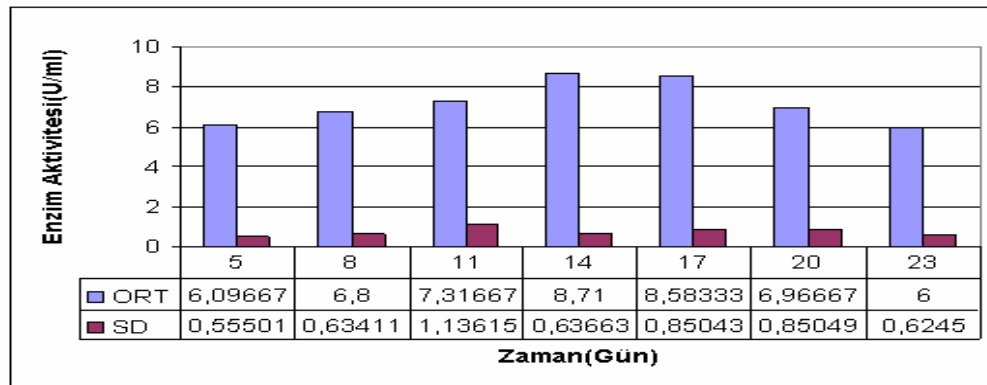
ve 14.günde 7.16 U/ml ve 7.65 U/ml olarak saptandı. Elde edilen sonuçlar üç çalışmanın ortalaması olarak alındı ve standart sapmaları grafik üzerinde gösterildi (Şekil 4.7).



**Şekil 4.7.**Tm207'nin Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi

-Üretimler başlangıç pH'sı 5.5 olan Sabouraud Dekstroz Broth besiyerinde 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 23 gün süre ile gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

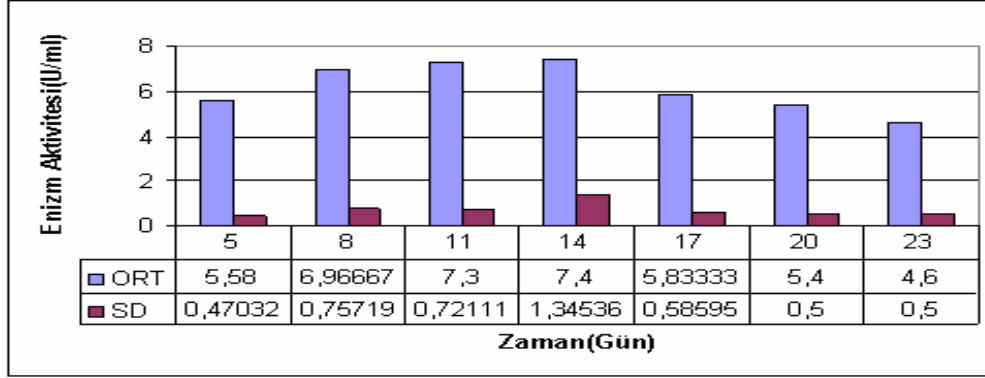
Ekimi yapılan Tr319 örnekleri 30 °C ve 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 5, 8, 11, 14, 17, 20 ve 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süreleri sonunda enzim aktivitelerine bakıldı. Elde edilen en yüksek aktivite 14. günde 8.71 U/ml ve 17. günde 8.58 U/ml olarak saptandı, sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak grafikte gösterildi(Şekil 4.8).



**Şekil 4.8.** Tr319'un Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi

-Üretimler başlangıç pH'sı 5.5 olan Sabouraud Dekstroz Broth besiyerinde 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 23 gün süre ile gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Ekimi yapılan Tm321 no'lu dermatofit örnekleri 30 °C ve 150 rpm çalkalama hızına ayarlı inkübatörde 5, 8, 11, 14, 17, 20 ve 23 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda enzim aktivitelerine bakıldı. Enzim aktivitesi en yüksek 11. günde 7.3 U/ml ve 14. günde 7.4 U/ml olarak saptandı. Elde edilen sonuçlar ortalama olarak standart sapma ile birlikte grafikte gösterildi(Şekil 4.9).

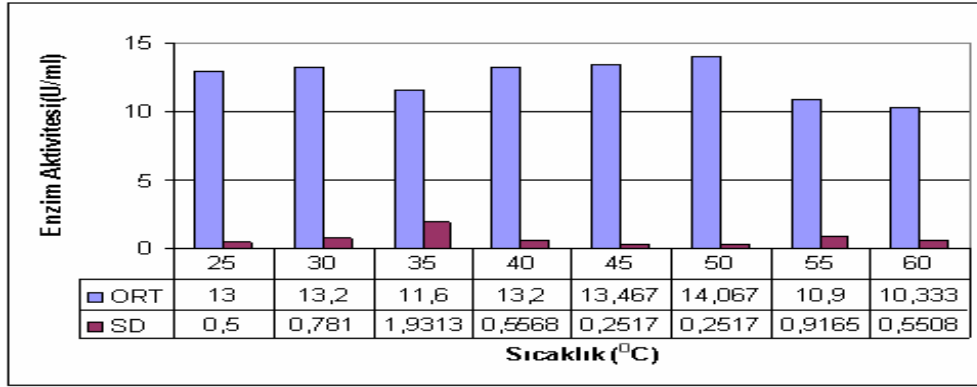


**Şekil 4.9.** Tm321'in Zamana Bağlı Enzim Aktivitesi

-Üretimler başlangıç pH'sı 5.5 olan Sabouraud Dekstroz Broth besiyerinde 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 23 gün süre ile gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

#### 4.11. Sıcaklığın Enzim Aktivitesine Etkisi

Ekimi yapılan ve inkübasyon sonunda enzim aktiviteleri çalışılan Tr2, Tr3, Tm207, Tr319 ve Tm321 no'lu dermatofit suşlarından en yüksek değer Tr2'de 14 gün inkübasyon sonrasında 13.1 U/ml olarak elde edilmiştir. Daha önceki deneylerimizde en yüksek aktiviteyi gösterdiği tespit edilen Tr2 suşu 25 °C ile 60 °C arasında değişen sıcaklıklarda 14 gün inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda enzim aktivitesi ölçüldü. Enzim üretimi optimum olarak 50 °C'de elde edildi. Elde edilen sonuç üç çalışmanın ortalaması olup standart sapmaları grafikte gösterildi (Şekil 4.10).



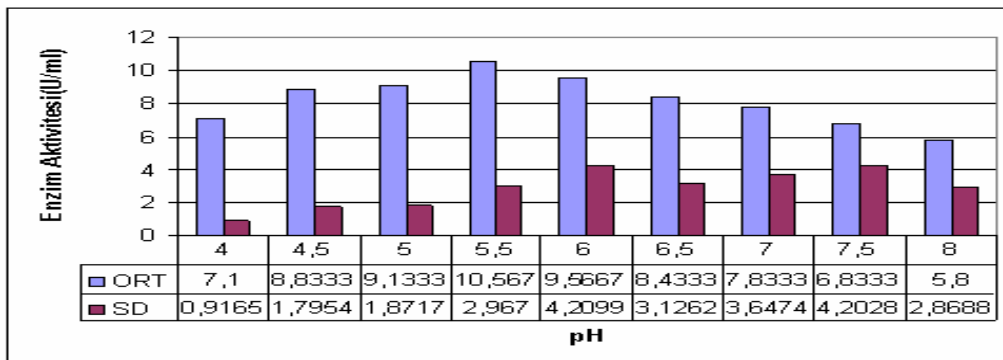
**Şekil 4.10.** Tr2' de Sıcaklığın Enzim Aktivitesine Etkisi

-Üretimler başlangıç pH'sı 5.5 olan Sabouraud Dekstroz Broth besiyerinde 25 ile 60 °C arasında 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 14 gün süre ile gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

#### 4.12. Enzim Üretiminde Optimum pH'nın Belirlenmesi

Enzim aktivitesi en yüksek olan Tr2'nin pH'sı 4 ile 8 arasında değişen besiyerlerine ekimi yapılarak 14 gün süre ile 30 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda enzim aktiviteleri ölçüldü. En yüksek değerler pH 5.5'de 10.56 U/ml ve pH 6'da 9.56 U/ml olarak elde edildi. Alınan sonuçlar üç çalışmanın ortalaması olarak grafikte gösterildi (Şekil 4.11).

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek aktivite Tr2 suşunun 14 gün inkübasyon süresi sonunda, optimum sıcaklık 50 °C'de ve optimum başlangıç inkübasyonu pH 5.5'da saptandı(Şekil 4.10).



**Şekil 4.11.** Tr2' nin Değişen pH'ya Bağlı Enzim Aktivitesi

-Üretimler başlangıç pH'sı 5.5 olan Sabouraud Dekstroz Broth besiyerinde 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 14 gün süre ile gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

## 5. TARTIŞMA

İnsanlarda dermatofit adı verilen küflerin oluşturduğu yüzeysel mantar hastalıklarına dermatofitozis denir. Dermatofitler insanda deri, kıl ve tırnaklarda yerleşerek infeksiyonlara neden olurlar. Dermatofitozisin insanlarda ortaya çıkışına neden olan faktörler arasında yaş, cinsiyet, iş, yaşam şekilleri ve coğrafi bölgeler önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, mantar infeksiyonlarının çıkış, yayılış ve bunları etkileyen faktörlerin saptanması, özellikle bulaşma ve yayılma yönünden, kısa bir süre içinde önlemlerin alınması açısından değer taşımaktadır(Arda, 2000; Aly, 1994).

Hastalığın kaynağını bulmak, etkeni izole ve tanımlamak, sağaltıma erken başlamak ve infeksiyonu etrafa yayılmadan söndürmek yönünden de çok büyük yarar sağlar(Arda, 2000; Aly, 1994).

Dermatoloji kliniklerine tanı ve tedavi amacıyla başvuran hastaların önemli bir kısmını dermatofitlerin neden olduğu infeksiyonların oluşturduğu ve bunların deri hastalıkları içindeki oranının %10 ile %18 arasında değiştiği bildirilmektedir. Son yıllarda hızla gelişen teknolojiye paralel olarak sentetik giysilerin, geniş spektrumlu antibiyotiklerin ve immunosupresiflerin kullanımının artması, hızlı şehirleşme ve ortak yaşam koşulları dermatomikozların artışına neden olmaktadır(Aşçı 1992; Monique S.C., 1992; Erbakan N., 1989; Şutman vd. 1990).

Dermatofitlerin neden oldukları hastalıkların bir bölümü kesin coğrafi dağılım gösterir. Bir bölümü ise tüm dünyaya yayılmıştır. Yapılan çalışmalarla her bölgenin kendine özgü dermatofit florasının olduğu ortaya çıkarılmıştır. Ancak bu flora zamanla değişebilmektedir. Bazı türlerin daha önce bulunmadıkları bölgelere doğru yayıldıklarını gösteren birçok araştırma yapılmıştır(Aşçı, 1992;Unat vd, 1995).

Bugüne kadar çeşitli çalışmalar ile yüzeysel mantar infeksiyonu yapan etkenler saptanmaya çalışılmıştır. Hemen hemen her çeşit deri hastalıklarına benzeyen belirtiler veren dermatofit infeksiyonlarının kesin tanısı ancak laboratuvar incelemeleri sonucu etkenin bulunması ile mümkün olmaktadır. Türkiye’de mantar

infeksiyonları oldukça yaygındır. Ancak mikoloji laboratuvarlarının az sayıda olmasına bağlı olarak, mantarların tanısı çoğu kez klinik tabloya veya örneklerin mikroskopik inceleme sonuçlarına göre konulmaktadır. Etken mantarın cins ve türü çoğunlukla saptanamamaktadır(Unat vd. 1995).

Yaklaşık 40 yıl önce Türkiye’de en sık izole edilen dermatofit etkenleri olarak *Trichophyton schoenleinii* ve *Trichophyton rubrum* bildirilmiştir(Erkmen 1967). Aksungur 1956’da Orta Anadolu’da yaptığı çalışmada onikomikozlarda izole ettiği birincil etkenin *E. floccosum* olduğunu, *T. rubrum*’un %1 oranında saptadığı bildirilirken, bundan 10 yıl sonraki çalışmasında ise en sık görülen etkenin *T. rubrum* olduğunu rapor etmiştir(Aksungur vd., 1966).

Günümüzde ise Türkiye’de dermatofit olgularının sıklık sırası değişmekle birlikte en sık izole edilen türler baş saçlı deri dermatofitozlarında, *M. canis*, *T. violaceum*, *T. mentagrophytes*, saçsız deri ve tırnak infeksiyonlarında ise, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* ve *E. floccosum*’dur(Özekinci vd. 2006). Ülkemizde yapılan çalışmalarda en sık *T. rubrum*, ikinci sırada *T. mentagrophytes* izole edilmiştir(Tümbay vd., 2002; Ergin, 2000; Yeğenoğlu, 1996; Sürücüoğlu, 1997).

Özhak ve arkadaşlarının Antalya’da yaptığı çalışmada, alınan örneklerden direkt mikroskopisi pozitif olanların kültür ekimi sonucu %60.7 dermatofit ve % 22.7 oranında maya izole edilmiştir. İzole edilen dermatofitlerin % 93.75’ini *T. rubrum*, % 6.25’ini *T. mentagrophytes* oluşturmaktadır(Özhak vd., 2004).

Özekinci ve arkadaşlarının Diyarbakır’da yaptıkları çalışmada, direkt mikroskopik incelemede % 19.70 pozitif olarak değerlendirilmiş olup, bu örneklerin kültür ekimi sonucunda % 13.94 oranında dermatofit izole edilmiştir. Bunlar arasında ilk sırayı % 69.2 ile *T. rubrum* ve daha sonra % 8 *T. mentagrophytes* ve % 8 *T. violaceum*’un aldığı görülmüştür(Özekinci vd., 2006).

Uslu ve arkadaşlarının Erzurum’da yaptıkları çalışmada, alınan örneklerin kültür ekimi % 43.33 oranında pozitif olarak değerlendirilmiştir. İzole ettikleri bu dermatofitlerin % 67.7’si *T. rubrum*, % 27.8’ini *T. mentagrophytes* ve % 1.5’unu



ayrı ayrı olarak *E. floccosum*, *T. violaceum* ve *T. tonsurans* oluşturmaktadır(Uslu, 2004).

Mert'in Gebze'de yaptığı çalışmada, % 55.9 *T. rubrum*, % 25.6 *T. mentagrophytes*, % 6.9 *E. floccosum*, % 4.7 *T. schoenleinii*, % 2.3 *T. verrucosum*, % 2.3 *T. tonsurans* ve % 2.3 *M. canis* olarak belirlenmiştir (Mert, 2003)

Zer ve arkadaşlarının Gaziantep'te yaptıkları çalışmada, mikroskopik incelemede % 55.85 oranında mantar elemanları görülmüştür. Kültür ekimi yapılan örneklerin %35.93'ünde dermatofit üremesi görülmüştür. Üreme görülen dermatofitlerin % 54.34'ünü *T. rubrum*, % 19.02'sini *T. mentagrophytes*, % 4.89'unu *E. floccosum*, % 2.17'sini *M. tonsurans*, % 1.63'ünü *M. gypseum*, %0.54'ünü *T. violaceum* ve %5.97'sini *C. albicans* oluşturmaktadır(Zer vd., 2004).

Fındık ve arkadaşlarının Konya'da yaptıkları çalışmada, alınan örneklerin kültür ekimi sonucunda % 21.9'unda dermatofit üremesi saptanmıştır. Dermatofitlerin % 65.2'sini *T. rubrum*, % 18.8'ini *T. mentagrophytes*, % 6.4'ünü *E. floccosum*, %3.6'sını *M. canis*, % 2.4'ünü *T. tonsurans*, % 2'sini *T. verrucosum*, % 0.8'ini *M. audini*, % 0.4'ünü *T. violaceum* ve % 0.4'ünü *T. schoenleinii* oluşturmaktadır(Fındık vd., 2001).

Dursun ve arkadaşlarının Konya'da yaptıkları çalışmada, örnek alınan hastaların % 39.5'unda mikroskopik inceleme pozitif olmakla birlikte kültürde üreme görülmemiştir. Kültür sonuçları % 49.9 pozitif, % 50.1 negatif olarak değerlendirilmiştir. Üreme görülen kültürlerin % 87.9'unda *T. rubrum*, % 8.7'sinde *T. mentagrophytes*, % 1'inde *T. tonsurans* saptanmıştır(Dursun vd., 2005).

Aşçı'nın Elazığ'da yaptığı çalışmada, direk mikroskopik incelemede örneklerin % 35.91'inde mantar elemanları pozitif olarak saptanmıştır. Mikroskopik incelemede örneklerin % 6.84'üne *M. furfur* ve % 1.08'ine *C. minutissima* tanısı konulmuştur. Kültür ekimi yapılan örneklerin % 22.10'unda üreme saptanmıştır. Kültür ekimi yapılan örneklerden izole edilen dermatofitlerin % 41.15'i *T. rubrum*, % 4.69'u *T. mentagrophytes*, % 1.08'i *E. floccosum*, % 0.78'i *M. canis*, % 0.59'u *T. violaceum*,

% 0.49'u *T. verrucosum* ve % 5.38'i *Candida sp.* olarak tanımlanmıştır(Aşçı, 1992).

Özkütük ve arkadaşlarının İzmir'de yaptıkları çalışmada, direk mikroskopide 201 örnekte(%26.19) mantar elemanları görülmüştür, 770 örneğin 106(%13.7)'sında dermatofit, 30(%3.9)'unda maya üremesi görülmüş, 634(%82)'ünde üreme görülmemiştir. Direk mikroskopik incelemede 12(%1.6)'sinde mantar elemanları görülmediği halde kültürde üreme olmuştur. Kültürde üreme sonuçlarına göre, 70(%70)'inde *T. rubrum*, 24(%24)'ünde *T. mentagrophytes*, 3(%3)'ünde *M. canis*, 3(%3)'ünde *E. floccosum* saptanmıştır(Özkütük, 1999).

Malezya'da yapılan bir çalışmada izole edilen dermatofitler, *T. rubrum* % 53.8, *T. mentagrophyton* % 36.1, *T. concentricum* % 3.5, *M. canis* % 3.1, *M. audouinii* % 1.1, *T. violaceum* % 1, *E. floccosum* % 0.7 ve *T. equinum* % 0.2 oranında saptanmıştır(Ng, 2002).

Bölgemizde daha önce yaptığımız çalışmada, kültürde üreme görülen örneklerin % 36.92'ünü *T. rubrum*, % 3.84'ünü *T. mentagrophytes*, % 3.07'sini *M. canis*, % 2.3'ünü *E. floccosum*, % 1.53'ünü *T. violaceum*, % 0.76'sını *T. verrucosum*, % 5.38'ini *Candida sp.*+ *T. rubrum* ve % 12.30'unu *Candida sp.* oluşturmuştur (Tanış, 1996).

Yaptığımız bu çalışmada, yüzeysel mantar infeksiyon şüphesi olan 338 olgudan alınan deri ve tırnak kazıntı örnekleri %15'lik KOH ile preparasyon yapılarak incelendi. İnceleme sonucunda 150(%44.50)'sinde mantar elemanları görüldüğünden pozitif olarak, 187(%55.50)'inde mantar elemanları görülmediğinden negatif olarak değerlendirildi. Örneklerin birinde *Malassezia furfur* belirlendi. 337 örneğin kültür ekimi yapıldı. Kültürlerden 70'i erkek, 4'ü kadın olmak üzere toplam 74(%21.95) örnekte üreme saptandı. 253'ü erkek, 11'i kadın olmak üzere toplam 263(%78.04) örnekte üreme görülmedi.

Direkt mikroskopik incelemede elde ettiğimiz sonuçlar, mikroskopi pozitif (% 45.50) Özekinci ve arkadaşlarınıninki (% 19.70) ve Özkütük ve arkadaşlarınıninkinden (%

26.19) daha yüksek, Zer ve arkadaşlarınıninkinden (% 55.85) daha düşük, Dursun ve arkadaşlarınıninki ile yakın orandadır (% 39.50).

İncelenen 337 olgunun 74 (%21.95)'ünde üreme görülürken, 263(%78.04)'ünde üreme saptanamadı. 74 mantar türünün 30(% 40.55)'unu *T. rubrum*, 13(% 17.58)'ü *T. mentagrophytes*, 11(%14.86)'i *T. violaceum*, 4(%5.40)'ü *E. floccosum*, 2(%2.70)'si *M. canis*, 1(%1.35)'i *T. violaceum+T. rubrum*, 1(1.35)'i *T. rubrum+T. mentagrophytes*, 2(% 2.70)'si *Candida sp.+ T. rubrum*, 10(% 13.51)'u *Candida sp.* olarak tanımlandı.

Bölgemizde daha önce yaptığımız çalışmanın üzerinden uzun bir zaman geçmesinden sonra elde ettiğimiz bu çalışmadaki sonuçlara baktığımızda, *T. rubrum* yine ilk sıradadır ve oranda artış görülmektedir(% 36.92, % 40.55), ikinci sırada *T. mentagrophytes* sıklık sırasını devam ettirmekle beraber oranda önemli miktarda yükselme görülmektedir (%3.84, %17.58). Bu çalışmamızda en önemli farklılıklardan birisi önceki çalışmamızdan ve diğer birçok çalışmalardaki sonuçlardan *T. violaceum*'un belirgin bir şekilde yüksek çıkmış olmasıdır(% 14.86). Kültür ekiminde elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde, kültürde üreme oranının(% 21.95), Özhak vd. (% 60.70) ve Dursun vd.(% 49.90) düşük, Özekinci(% 13.94) ve Özkütük'ünkinden(% 13.70) daha yüksek, Aşçı(% 22.10) ve Fındık'ın sonuçları(21.90) ile aynı oranda olduğu saptanmıştır.

Kültürde üreme görülen örneklerden izole edilen dermatofitlerin dağılımı açısından elde ettiğimiz sonuçlar, (% 40.55'ini *T. rubrum*, % 17.58'ini *T. mentagrophytes*, %14.86'sını *T. violaceum*, % 5.40'ını *E. floccosum*, %2.70'ini *M. canis*, %1.35'ini *T. violaceum+T. rubrum*, 1.35'ini *T. rubrum+T. mentagrophytes*) genel olarak Dursun ve arkadaşlarınıninkinden düşük olmakla birlikte(% 87.9'unda *T. rubrum*, % 8.7'sinde *T. mentagrophytes*), Aşçı(41.15'i *T. rubrum*, % 4.69'u *T. mentagrophytes*, % 1.08'i *E. floccosum*, % 0.78'i *M. canis*), Zer ve arkadaşları(54.34'ünü *T. rubrum*, % 19.02'sini *T. mentagrophytes*) ve Fındık ve arkadaşlarınıninki ile büyük oranda uyumluluk göstermektedir. Diğerlerinden önemli bir farklılık *T. violaceum*'un belirgin bir şekilde yüksek oranda çıkmasıdır. Bizim elde ettiğimiz oranın(% 14.86) Özekinci'nin Diyarbakır'daki çalışmasında elde ettiği *T. violaceum* oranına (% 8) en yakın olduğu görülmektedir.

Patojen dermatofitler, vücudun belirli bölgelerine yerleşerek çeşitli hastalık tablolarına neden olurlar. Dermatofitozisin dağılımını ve bulaşmasını etkileyen faktörler infeksiyonun esas kaynaklarına bağlıdır. Dünyanın her yerindeki insanlardaki en yaygın olan insancıl (antropofilik) dermatofitler, *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes*'dir. Özellikle ayaklarda ve çıplak deride yaygın infeksiyonlara sebep olurlar. Tropikal bölgelerde çok yaygındırlar. *E. floccosum* tinea inguinalis infeksiyonlarından sık olarak izole edilmektedir. Zoofilik(hayvancıl) dermatofitler ise öncelikle hayvanlara, daha az sıklıkta da insanlara bulaşabilirler. *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum* ve *M. canis* gibi dermatofitler hayvanlardan insanlara bulaşarak infeksiyonlara neden olmaktadır. Özellikle *M. canis* tropikal bölgelerde çok yaygın görülmektedir. *M. gypseum* gibi geofilik (toprakcıl) dermatofitler ise nadir olarak insanda infeksiyonlar oluşturabilmektedirler. Genellikle sporadik vakalar şeklinde görülürler(Aşçı, 1992, Arda, 2000; Aly, 1994).

Köktürk vd.'nin Mersin'de yaptıkları çalışmada tinea pedisli olgularda; *T. rubrum* %37.1, *T. mentagrophytes* % 9.7, *E. floccosum* % 4.8, *T.violaceum* %1.6 oranında saptamıştır. Tinea unguiumda; *T. rubrum* % 8.1, *E. floccosum* % 4.8, *T. rubrum* %3.2 oranında belirlenmiştir. Tinea corporis de; *T. rubrum* %8.1, *E. floccosum* %1.6 ve *T. mentagrophytes* %1.6 oranında saptanmıştır(Köktürk vd., 2002).

Metin'in Samsunda yaptığı çalışmada, Tinea pedis de; *T. rubrum* %30.51, *T. mentagrophytes* %22.88, *E. floccosum* % 0.85 oranında, Tinea unguium da; *T. rubrum* %15.25, *T. mentagrophytes* %9.32, Tinea inguinalisde; *T. rubrum* %3.39, *T. mentagrophytes* %1.69, *E. floccosum* %8.47 *T. rubrum* %37.1, *T. mentagrophytes* % 9.7, *E. floccosum* % 4.8, *T.violaceum* %1.6 oranında saptanmıştır(Metin, 1994).

Tomrukcu'nun aynı bölgede yaptığı çalışmada, tinea pedisde; *T. rubrum* % 52.67, *T. mentagrophytes* % 28.40, *E. floccosum* % 11.52, *T. violaceum* % 5.35, *T. tonsurans* % 1.65 oranında, T. unguiumda; *T. rubrum* % 56.04, *T. mentagrophytes* % 25.86, *E. floccosum* % 9.48, *T. violaceum* % 5.17, *T. tonsurans* % 3.45 oranında, t. inguinalisde; *E. floccosum* % 46.88, *T. rubrum* % 31.25, *T. mentagrophytes* % 13.54, *T. violaceum* % 8.33 olarak, tinea manumda; *T. rubrum*

% 53.57, *T. violaceum* % 21.43, *T. mentagrophytes* % 14.29, *T. tonsurans* % 7.14, *E. floccosum* % 3.57 olarak belirlenmiştir(Tomrukcu, 1995).

Bilgili vd. nin Eskişehir’de yaptıkları çalışmada, tinea pedisde; *T. rubrum* % 22, *T. mentagrophytes* % 22.8, *E. floccosum* % 1.69, *T. verrucosum* % 1.69, *M. nanum* % 0.85 olarak, tinea unguiumda; *T. rubrum* % 16.95, *T. mentagrophytes* % 13.56, *E. floccosum* % 0.85, *T. tonsurans* % 0.85 olarak, tinea inguinalisde; *T. rubrum* % 5, *T. mentagrophytes* % 2.54, *E. floccosum* % 1.69 olarak, tinea manumda; *T. rubrum* % 3.39, *T. mentagrophytes* % 2.54 olarak, tinea corporisde; *T. mentagrophytes* % 1.69, *E. floccosum* % 1.69 olarak belirlenmiştir(Bilgili, 2001).

Aşçı’nın yaptığı çalışmada, tinea pedisde; *T. rubrum* % 15.42, *T. mentagrophytes* % 5.23, *Candida sp.* % 7.16 oranında, tinea unguiumda, *T. mentagrophytes* % 6.76, *Candida sp.* % 7.52 oranında, Tinea manumda; *T. rubrum* % 11.32, *T. mentagrophytes* % 3.77, *Candida sp.* % 10.38 oranında, Tinea inguinalisde; *T. rubrum* % 8.46, *T. mentagrophytes* % 6.92 ve *E. floccosum* % 7.69 oranında izole etmiştir.

Bölgemizde daha önce yaptığımız çalışmada, tinea pedisde; *T. rubrum* % 41.95, *T. mentagrophytes* % 4.3, *M. canis* % 1.07, *E. floccosum* % 1.07, *Candida sp.*+ *T. rubrum* % 6.45 olarak, tinea inguinalisde; *T. rubrum* % 50, *E. floccosum* % 10, *Candida sp.* % 10 olarak, tinea unguiumda; *T. mentagrphytes* % 10, *E. floccosum* % 10 ve *Candida sp.* % 20 olarak, tinea manumda; *T. rubrum* % 14.30, *Candida sp.* + *T. rubrum* % 14.28, *Candida sp.* % 10 olarak izole edilmiştir.

Bu çalışmamızda ise tinea pedisde; *T. rubrum* 14(%6.96), *T. mentagrophytes* 8(3.48), *T. violaceum* 5(%2.98), *E. floccosum* 4(1.98), *M. canis* 2(%0.99), *T. rubrum*+*T. mentagrophytes* 1(%0.49), *T. rubrum*+*Candida sp.* 1(%0.49), *Candida sp.* 9(%4.47) oranında saptandı.

Tinea unguiumda; *T. rubrum* 8(%10.95), *T. mentagrophytes* 4(%5.47), *T. violaceum* 2(%2.73), *Candida sp.* 1(%1.36) oranında, tinea manumda; *T. rubrum* 4(%13.33), *T. mentagrophytes* 1(3.33), *T. violaceum* 1(%3.33), tinea inguinalisde; *T. violaceum* 2(%13.33), *T. rubrum* 1(%6.66), *T. mentagrophytes* 1(%6.66), *T.*

*rubrum*+*T. violaceum* 1(%6.66), *T. rubrum*+*Candida sp.* 1(%6.66) oranında, tinea corporisinde;3(16.66) oranında *T. rubrum* izole edildi.

Genel olarak lezyon lokalizasyonlarına göre izole ettiğimiz dermatofitler, oransal olarak(tinea pedisde; *T. rubrum* % 6.96, *T. mentagrophytes* % 3.48, *T. violaceum* %2.98, *E. floccosum* 1.98, *M. canis* %0.99, *T. rubrum*+*T. mentagrophytes* %0.49, *T. rubrum*+*Candida sp.* %0.49, *Candida sp.* %4.47), Köktürk vd.(tinea pedis, *T. rubrum* %37.1, *T. mentagrophytes* % 9.7, *E. floccosum* % 4.8, *T.violaceum* %1.6), Metin(tinea pedis, *T. rubrum* %37.1, *T. mentagrophytes* % 9.7, *E. floccosum* % 4.8, *T.violaceum* %1.6) ve Tomrukcu'nunkinden(tinea pedisde; *T. rubrum* % 52.67, *T. mentagrophytes* % 28.40, *E. floccosum*) düşük, Aşçı'ninkine(tinea pedisde; *T. rubrum* % 15.42, *T. mentagrophytes* % 5.23, *Candida sp.* % 7.16 oranında, tinea unguiumda, *T. mentagrophytes* % 6.76, *Candida sp.* % 7.52 oranında, Tinea manumda; *T. rubrum* % 11.32, *T. mentagrophytes* % 3.77, *Candida sp.* % 10.38 oranında, Tinea inguinalisde; *T. rubrum* % 8.46) yakın oranda çıkmıştır. Bizim sonuçlarımız farklı oranlarda olmakla beraber sıklık sırasına göre diğer araştırmalar ile benzerlik göstermektedir.

Tinea pedisli olgulardan izole ettiğimiz *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes* Köktürk vd., Metin ve Tomrukcu'nun araştırma sonuçlarından daha düşük bulunmuştur. Fakat bu düşüklük oranlamadaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Bizim yaptığımız oranlama, Aşçı'nın yaptığı oranlama gibi izole edilen örneklerin lokalizasyonlardan alınan tüm örneklerle göre dağılımıdır. Diğer araştırma sonuçlarında ise, bir lokalizasyonda izole edilen dermatofitlerin kendi arasında oranlaması yapılmıştır. Dolayısıyla diğer sonuçların bizim sonuçlardan çok yüksek olmadığı anlaşılmaktadır.

Tinea unguiumlu olgulardan izole ettiğimiz; *T. rubrum*(% 10.95), Tomrukcu'nun izole ettiğinden(% 56.04) düşük, Köktürk(% 8.1) ve Metin'in (% 15.25) sonuçlarına yakın orandadır. *Trichophyton mentagrophytes*, Metin ve Tomrukcu'nun elde ettiği oranlardan düşük, Aşçı'nın elde ettiği oran ile benzerlik göstermektedir. *T. violaceum* sözü edilen Tomrukcu'dan başka diğer araştırmalarda izole edilmemiştir. Bizim izole ettiğimiz *T. violaceum* oranı Tomrukcu'nun elde ettiği sonuca yakın orandadır.

Tinea manumlu olgulardan alınan örneklerden kültürde üreme görülen dermatofitler; *T. rubrum* Tomrukcu'nun sonuçlarından daha düşük, Aşçı'nınki ile yaklaşık aynı orandadır. Tinea manumda Köktürk vd. ve Metin'in araştırmasında dermatofit izole edilmemiştir, bizim izole ettiğimiz *Trichophyton mentagrophytes* Aşçı'nın sonucu ile benzerlik göstermektedir. Tinea manumda Metin, Köktürk vd., Tomrukcu ve Aşçı'dan farklı olarak bizim çalışmamızda (% 3.33) oranında *T. violaceum* izole etmiş olmamızdır.

Dermatofitozis etkenleri farklı yaş gruplarında farklı infeksiyonlar oluştururlar. Tinea capitis genellikle çocuklarda görülen bir infeksiyondur. Bu dönemden sonra çok az karşılaşılan bir hastalıktır. İnfeksiyonun görülmemesinin nedeni bu dönemden sonra yağ asiti salgılarının artması ve pH değişiklikleridir. Tinea pedis ise daha çok genç erkeklerde görülen bir infeksiyondur. Dermatofitlerin oluşturduğu diğer infeksiyonlar ise bütün yaşlarda görülebilir(Aşçı, 1992).

Aşçı'nın yaptığı çalışmada, 31-45 yaş grubunda *T. rubrum* (% 19.90), 16-30 yaş grubunda *T. mentagrophytes* (% 5.88), 0-15 yaş grubunda *T. violaceum* (% 2.42), 31-45 yaş grubunda *E. floccosum* (% 2.09) ve 31-45 yaş grubunda *Candida sp.* (% 8.90) yaygın olarak belirlenmiştir(Aşçı, 1992)

Alınan örneklerden kültür ekimi sonucunda üremesi görülen dermatofitlerin yaş gruplarına göre dağılımı çizelge 4.9.'de gösterilmiştir. En yüksek oranda; *T. rubrum*, 46 ve üzeri yaş grubunda % 13.76 oranında izole edildi. *T. mentagrophytes*, 46 üzeri yaş grubunda % 7.34, *T. violaceum*, 31-45 yaş grubunda % 5.08, 46 ve üzeri yaş grubunda % 3.66 olarak, *E floccosum*, 46 ve üzeri yaş grubunda % 2.75 oranında saptandı. *M. canis* sadece 46 ve üzeri yaş grubunda % 1.83 oranında izole edildi. 46 ve üzeri yaş grubunda, *T. rubrum*+ *T. violaceum* %1.09 ve *T. rubrum*+ *Candida sp.*, 16-30 yaş grubunda % 1.35 oranında izole edildi. *Candida sp.* 46 ve üzeri yaş grubunda % 5.5 olarak en fazla izole edilen yaş grubu oldu. *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. violaceum* ve *Candida sp.* infeksiyonlarında 31-45 ve 46 ve üzeri yaş grupları ile diğer yaş grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi(P<0.05). Bulduğumuz sonuçlar diğer araştırma sonuçları ile uygunluk gösterdiği belirlendi.

İzole edilen dermatofitlerin cinsiyetler arasında farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Yapılan bazı araştırmalarda *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* ve *E. floccosum*'un erkeklerde daha sık , kadınlarda ise daha az görüldüğü belirlenmiştir. Bazı araştırmalarda ise, *T. rubrum*, *M. canis* ve *E. floccosum* erkeklerden daha sık görülmüştür. Kadınlarda su ile fazla temasdan dolayı onychomycosis infeksiyonunun erkeklerden daha fazla görüldüğü saptanmıştır. Erkeklerde ise diğer dermatofitozislere daha sık rastlandığı gösterilmiştir(Aşıcı, 1992; Yeğenoğlu, 1986; Tümbay et al., 1986; Ginter, 1986).

Bu alışmamızda, erkeklerden *T. violaceum* % 3.39, *E. floccosum* % 1.23, *M. canis* % 0.61, *Candida sp.* % 3.06, *T. rubrum+Candida sp.* % 0.61, *T. violaceum+T. rubrum* %0.30 ve *T. rubrum+T. mentagrophytes* % 0.30 olarak daha sık; kadınlardan, *T. mentagrophytes* % 23.07, *T. rubrum* % 7.69 olarak daha fazla izole edildi. *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *E. floccosum* ve *Candida sp.*'nin infeksiyonları arasında cinsiyetler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı( $P<0.05$ )(izelge.4.7).

Mikolojide direkt mikroskopi ve kültür başlıca teşhis metodlarıdır. Hazırlanan % 15'lik KOH preparasyonunun mikroskopta değerlendirilmesi sonucunda etken mantarın belirlenmesi ile erken tanı konulabilmektedir. Bununla beraber incelenecek örneklerde kültür yöntemleri de uygulanarak etkenin belirlenmesi gerekmektedir. Direkt inceleme sonuçları ile kültür sonuçları genellikle birbirini desteklemektedir. Direkt incelemede pozitif sonuç örneklerde üremenin olmaması örneklerin iyi alınamamasına, epitel doku üzerinde canlı mantar hücresinin bulunmamasına veya yakın zamana kadar tedavi için antifungal ilaçların alınmasına bağlanmaktadır(Aşıcı, 1992).

Aldığımız örneklerden yaptığımız direkt mikroskobik incelemede pozitif olarak değerlendirdiğimiz örneklerin % 14.83'ünde üreme saptandı, % 29. 68'inde üreme görülmedi, negatif olarak değerlendirilen (% 7.12) nde üreme görüldü, (% 48.37)'ünde ise üreme görülmedi.



Sonuç olarak, bölgemizde dermatofitozisin oldukça yaygın olduğu ancak kültürde üreme oranının diğer araştırmacılarla karşılaştırdığımızda orta seviyelerde olduğu anlaşıldı. Üreme oranının düşük seviyede olamaması ile birlikte daha yüksek oranda olmaması örnek aldığımız hastaların bir kısmının yakın zamana kadar antimikotik tedavi almış olmaları ve bir kısmında lezyonlu bölgenin terleme ile ıslak olması gibi nedenlerle örnek alınırken mantar hif ve sporlarının yeterli derece alınamamış olması olasılığının önemli etkisinin olduğunu düşünmekteyiz.

Bölgemizde daha önce yaptığımız çalışmanın üzerinden uzun zaman geçmesinden dolayı dermatofitlerin sıklığında belirgin bir şekilde değişimler gözlenmektedir. Bunlardan en önemlisi *T. violaceum*'un önemli oranda artmış olmasıdır. Bunu, zoofilik bir tür olan *T. violaceum*'un çevre köylerde hayvancılığın yaygın olması ve merkezin çevreden göç alması sonucu artmış olabileceğini düşünmekteyiz. Bir diğer önemli değişim *M. furfur*'un etken olduğu tinea versicolor infeksiyonlarının çok önemli oranda düşmüş olmasıdır.

Son yıllarda, fungusların salgıladığı proteolitik enzimler potansiyel virulans faktör olarak çok dikkat çekmektedir. Genellikle dermatofitler tarafından salgılanan keratinazların dermatofitlerin virulansı için önemli olduğu kabul edilir. Dermatofitlerin keratinize olmuş dokuları invaze edebilme yeteneği dermatofitlerin biyolojik bir özelliğidir(Monod, et al. 2002).

Diğer taraftan enzimler, endüstriyel proseslerde geniş şekilde uygulama alanlarına sahiptirler. Proteazlar, gıda, ilaç ve diğer birçok endüstriyel alanda kullanıldığından dolayı bütün enzim pazarının yaklaşık % 60'ını oluşturur. Keratinaz üretimde aktif olarak tanımlanan fungus suşları tıp ve kozmetikte kullanılabilen keratinaz üretim potansiyeline sahiptirler(Friedrich, et al. 1999). Proteazlar, geniş bir şekilde keratinofilik funguslarda ve dermatofitlerde birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır(Kunert, 1989; Meevootisom and Niederpruem, 1979; Chesters and Mathison, 1963; Desmukh and Agrawal, 1982; Nigam and Kushwaha, 1989; Singh and Singh, 1995; Singh, 1997; Singh, 1999).

Proteaz aktivitesi ile ilgili literatüre baktığımızda, deri infeksiyonlarının etkenleri olan dermatofitlerden *Trichophyton*(Yu et al.1968; Siesenop and Böhm 1995) ve

*Microsporum* (Takiuchi et al.1982, 1984), bunun yanı sıra mayalardan *Candida sp.*'nin (Lin et al. 1993; Karam El-Din 1995) keratinolitik aktiviteleri çalışılmıştır. Keratin atıklarının biodönüşümünde kullanılmak amacı ile Noval ve Nickerson (1959) bakterilerin yanı sıra 18 fungusun kaz tüyleri üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve en etkili olarak, *Verticillium tenuipes*, *T. equinum* ve *T. mentagrophytes*'i bulmuşlardır(Jain and Agrawal, 1980). Başka bir araştırmada, tavuk tüyleri üzerinde en etkili mikroorganizmanın *T. simii* olduğu saptanmıştır(Singh et al. 1995).

Friedrich ve Kern tarafından yapılan araştırmada, *Doratomyces microsporus* fungusundan elde ettikleri keratinolitik proteazın farklı proteinleri hidrolize etme özelliği incelenmiştir. İnkübasyon sonunda enzimin hem fibrilli proteinler hem de globüler proteinleri parçaladığı belirlenmiştir. Keratinli substratı parçalama etkisini şu şekilde sıralamışlardır; deri keratini> tırnak keratini> saç keratini, keratinsiz substratta ise; kazein> BSA> elastin. Bu çalışmada elde edilen keratinazın farklı proteinleri farklı derecelerde degrade ettiği saptanmıştır. Keratinazın özellikle kazein ve BSA'yı degrade ettiği halde kollajen ve elastini degrade etmemesi özelliğinden dolayı deri endüstrisinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir(Friedrich and Kern, 2003).

Yapılan başka bir çalışmada, kanalizasyon atıklarından izole edilen 2 saprofit, 2 dermatofit türün keratinaz enzim aktivitesi araştırılmıştır. Sıvı kültürde keratinin parçalanması sonucu ağırlık kaybı ölçülmüş, keratini en fazla parçalama özelliği % 62 ile *Chrysosporum pannicola* ve daha sonra % 48 ile *Microsporum gypseum*'da bulunmuştur. 27 °C inkübasyon sıcaklığında, başlangıçta 6.5 olan pH'nın inkübasyon sonunda ortama salınan ürünler nedeni ile 7.8'e kadar değiştiği ve keratinaz aktivitesinin *T. mentagrophytes*'de 8 U/ml, *M. gypseum*'da 14 U/ml olduğu saptanmıştır(Muhsin and Hadi, 2002).

Fungusların keratinolitik özelliklerinin tarandığı bir çalışmada en yüksek aktivite *Aspergillus flavus* da 14. günde 30 °C pH 7 ile 8 arasında 781 mU/ml olarak bulunmuştur(Friedrich et al. 1999).

Singh tarafından yapılan bir çalışmada, organik atıklı bir yerden izole edilen *Chrysosporium keratinophilum* fungusunun potansiyel olarak proteaz üreticisi olduğunu belirlendi. En iyi enzim aktivitesi 15 gün inkübasyon süresinde, 40 °C'de, pH 8'de 18.6 U/ml olarak tespit edilmiştir( Singh, 2000).

Kumar et al. birçok bakteri ve fungusun proteaz üretebilme yeteneklerini test etmeleri sonucunda, peynir üretiminde kullanılan ticari enzimlerle karşılaştırıldığında *Rhizopus oryzae*'dan elde ettikleri enzimin, sütü daha iyi pıhtılaştırdığı ve daha iyi kalitede olduğunu saptamışlardır. Bu enzimin kazeinolitik özelliği incelenmiştir ve spesifik aktivitesi 8.4 U/mg olarak belirlenmiştir (Kumar et al., 2005). Moreira et al. (2007) yaptıkları çalışmada ilk kez funguslar arasında bir bitki patojeni olan *Myrothecium verrucaria*'nın kazeinolitik özelliklerini incelediklerinde, 40 °C'de ve pH 8 ile 9 arasında çok iyi derecede proteaz ürettiğini belirlemişlerdir. Bu proteazın, kirli atık tüylerin degradasyonunu insan saç ve tırnağından ve daha sonra koyun yününden daha iyi gerçekleştirdiğini saptamış, bu patojenik fungusun endüstriyel amaçlar için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmamızda izole ettiğimiz *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes* suşlarının ilk önce kazeinolitik özellikleri incelendi(Çizelge 4.11). Kazeinolitik özellikleri pozitif olan suşların proteaz enzim aktiviteleri çalışıldı. Bu çalışma sonucunda en yüksek enzim aktivitesini Tr2 (*Trichophyton rubrum* 2= 14.06 U/ml ) suşu gösterdi(Şekil.4.6).

Çalışmamızda en yüksek proteaz aktivitesi 50 °C inkübasyon sıcaklığında, pH 5.5 ile 6 arasında 14 U/ml olarak elde edildi. Aynı şartlar altında 30 C'de Tr3'de 12.3 U/ml, C'de Tm207'de 7.6 U/ml, Tr319'da 8.7 U/ml, Tm321'de 7.4 U/ml olarak elde edildi. Elde ettiğimiz sonuçlardan, Tm207(*T. mentagrophytes*) 7.6 U/ml ve Tm321 7.4 U/ml Singh tarafından *Chrysosporium keratinophilum*'dan elde ettiği proteaz aktivitesinden (18 U/ml), Muhsin ve Hadi'nin *T. mentagrophytes*'ten elde ettikleri proteaz aktivitesi ile uygunluk göstermektedir.

Görüldüğü gibi birçok araştırmada diğer funguslarla birlikte *Trichophyton* ve *Microsporum* genuslarına ait dermatofitler ile değişik metodlar kullanılarak yapılan

çalışmalarda patojenik ve non-patojenik fungusların salgıladıkları proteazların keratin ve kazein substradı üzerinde oldukça etkili oldukları gözlenmiştir.

Bu çalışmamızda çıkarılabilecek önemli sonuçlardan biri bölgede daha önce yapılan çalışmanın üzerinden uzun bir zaman geçmesine rağmen *T. rubrum*'un yine ilk sırada olması ve artış göstermesidir. İkinci sırada *T. mentagrophytes* sıklık sırasını devam ettirmekle beraber oranda önemli miktarda yükselme görölmektedir(% 3.84, % 17.58). Bu çalışmamızda en önemli farklılıklardan birisi önceki çalışmamızdan ve diğer birçok çalışmalardaki sonuçlardan *T. violaceum*'un belirgin bir şekilde yüksek çıkmış olmasıdır(% 14.86).

Dermatofitlerdeki proteolitik enzimlerin dermatofitlerin gelişmesi ve çoğalması için gerekli olan besini deri, tırnak ve saçın protein componentlerini parçalayarak konakçı dokusunun invazyonunda rol oynadığı bilinmektedir. Buna bağlı olarak, keratinolitik funguslar olan dermatofitlerin sahip olduğu proteaz enzimi önemli bir virulans faktörüdür. çalışmamızda görölme sıklığı açısından ilk iki sırada yer alan *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes*'in proteaz aktivitelerinin yüksek çıkmalarının virulans faktörlerinin potansiyelinin belirlenmesi açısından önemli olduğu kanısındayız.

Ayrıca dermatofitler sahip oldukları keratinolitik proteazlar ile kirli habitatlarda keratin substratlarının biodegradasyonunda da önemli rol oynarlar. Bu sonuç dermatofit enzimlerinin çevre biyoteknojisinde de kullanılabileceğini ortaya koyması açısından dikkat çekicidir.

## KAYNAKLAR

- Aksungur, L., Demirörs E., 1966, Orta Anadolu'da Onikomikoz Florası ve Bunların Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı. A.Ü Tıp Fakültesi Mec;19: 820-32
- Aly, R., 1994, Ecology and epidemiology of dermatophyte. J. Am. Acad. Dermatol 31:21-5.
- Arda, M., 2000, Temel Mikrobiyoloji 2. Baskı Medisan Yayınları. Ankara
- Aşçı, Z., 1992, Elazığ Yöresinde İzole Edilen Dermatofit Etkenleri ve İnvitro Duyarlılıklarının Araştırılması, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Elazığ.
- Bauman, R.W., 2004, Microbiology, Contributions by Elizabeth Machunis-Masuoka, PhD. University of Virginia, Ian Tizard, PhD. Texas A. & M. University s: 624-62
- Bilgili, M. E., Sabuncu, İ., Saraçoğlu, Z.N., Ürer, S. M., Kiraz, N., Akgün, Y., 2001, Kliniğimize Başvuran Dermatofitozlu Olgulardan İzole Edilen Dermatofitler, T. Klinik Dermatoloji,11: 185-190
- Black, J. G., 2002, Microbiology Principles and Explorations, 6. th Edition, Mrymount University. Arlington, Virginia s: 308-313.
- Boethling, R.S., 1975, Regulation of protease secretion in P. Maltophila, Journal of Bacteriology, 123, 954-961
- Brajac, I., Prpic-Massari, L., Stojnic-Sosa, L., Gruber, F., 2003, Dermatomycooses in the Rijeka area, Croita, befor, during and after the war 1990-1999, Mycoses, 46:213-217.

- Cihangir, N., 1987, Proteaz Enziminin Bakteriyel Kaynaklardan Safılaştırılması e Bazı Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi, Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Chesters, C.G.C., Mathison, G.E., 1963, The decomposition of wool keratin by *Keratinomyces ajelloi* Sabouraudia 2: 225-237
- Dursun, R., Arslan U., Fındık U., Mevlütoğlu İ., 2005, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Dermatoloji Polikliniğine Gelen Hastalardan İzole Edilen Dermatofitler. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 3-6 Mayıs 2005 Konya
- Deshmukh, S.K. and Agrawal, S.C., 1982, Degradation of human hair by some dermatophytes and other keratinophilic fungi. Mykosen 28: 463-466
- Elewski, B.E., 2000, Tinea capitis: a current perspective. J Am Acad Dermatol, 42: 1-20
- ElFari, M., Graser, Y., Presber, W., Teitz, H.J., 2000, An Epidemic of Tinea Corporis Caused by *Trichophyton tonsurans* Among Children (wertles) in Germany. Mycoses, 43:191-196
- Erbakan, N., 1989, Derinin Mantar Hastalıkları, Türkiye Klinikleri Yayınevi 1.Baskı Desen Yayınevi
- Ergin, Ç,Ergin Ş, Yaylı G, Baysal V., 2000, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Kliniğine Başvuran Hastalarda Dermatofitoz Etkenleri. Türk Mikrobiyol Cem Der 30: 121-124
- Erkmen, E., 1967, Mantar Hastalıklarının Memleketimizdeki Bugünkü Durumu ve Buna Bağlı Bazı Problemler, A. Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası 20: 503-512

- Erturan, Z., 2004, Dermatofitlerin Dünyada Dağılımı, 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Simpozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar 3-4 Haziran Kayseri
- Fındık, D., Mevlütoğlu İ., Kaya.M., Arslan U., Yüksel A., 2001, 1994-2000 Yılları Arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikoloji Laboratuvarında Ön Tanılı Olgulardan İzole Edilen Etkenler. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi Dergisi. 2(2):19-22
- Friedrich, J., Gradisar H., Mandin D., Chaumont J.P., 1999, Screening Fungi for Synthesis Keratinolytic Enzymes, Letters Applied Microbiology: 7-130
- Friedrich, J., Kern S., 2003, Hydrolysis of native proteins by keratinolytic protease of *Doratomyces microsporus*, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 21, 35-37
- Ginter-Hanselmayer, G., Stary, A., Messeritsch-Fanta., 2002, Current situation of tinea capitis in southeastern Austria. Clinic Dermatol, 20:183-186
- Ginter, G., 1986, Behaviour of Various Fungal Strain During The Past Decades. FEMS-Symposium On Dermatophyteses in Man and Animals. 233-250, İzmir.
- Hames, B.D. and Rickwood, D., 1996, Gel Electrophoresis of Proteins A Practical Approach. Oxford University Press, Oxford.383s
- Jain, P.C. and Agrawal, S.C., 1980, A note on the keratin decomposing capability of some fungi. Transactions of the Mycological Society of Japan 21, 513-517.
- Karam, El-Din, A.A., 1995, Productions of keratinolytic proteinase by pathogenic *Candida* species isolated from clinical specimens. African Journal of Mycology and Biotechnology 3, 101-107.

- Kane, J. K., and Summerbell, R. C., 1999, Trichophyton, Microsporum, Epidermaphyton, and Agents of Superficial Mycoses, Manual of Clinical Microbiology, 7. Ed.
- Kaufman, G., Horwitz B.A., Duek L., Ullman Y., Berdicevsky I., 2007, Infection stages of the dermatophyte pathogen Trichophyton: microscopic characterization and proteolytic enzymes. Medical Mycology, 45, 149-155
- Kebabcı, Ö., 2003, Yeni Mikrobiyal Kaynaklardan Proteaz Eldesi ve Özelliklerinin Saptanması, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji A. D. Bilim Uzmanlığı Tezi.
- Kıran, Ö. E., Çömlekciöğlu U., Dostbil N., 2006, Bazı Mikrobiyal Enzimler ve Endüstrideki Kullanım Alanları, K.S.Ü. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9 (1) s: 12-18.
- Köktürk, A., Delğaloğlu N., Kaya T.İ., Baz K., İkizoğlu , Demirseren D.D., Kanık A., 2002, Mersin İlinin Dermatofit Florası T. Klinik Dermatoloji,12:135-139.
- Kuklova, Kucerova, H., 2001, Dermatophytosis in Prague, Czech Republic between 1987 and 1998. Mycoses, 44:493-496
- Kumar, S., Sharma, N.S., Saharan, M.R., Singh, R., 2005, Extracellular acid protease from *Rhizopus oryzae*: purification and characterization. Process Biochemistry 40 1701-1705
- Kunert, J., 1989, Biochemical mechanism of keratin degradation by the actinomycete *Streptomyces fradiae* and the fungus *Microsporum gypseum*: A comparison J Microbiol 29: 597-604
- Kuştimur, S., 2004, Dermatofitlerin Patogenezi ve Virulans Faktörleri, 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Simpozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar, 3-4 Haziran 2004 Kayseri.



- Lambkin, I., Hamilton A. J., and Hay, R. J., 1994, Partial purification and characterization of a 235 000 M<sub>r</sub> extracellular proteinase from *Trichophyton rubrum*, *Mycoses* 37, 85-92
- Larone, D.H., 2002, *Medically Important Fungi, A Guide to Identification* 4. Ed. Washington DC:American Society for Microbiology, 113-210
- Leeming, J.G., Eliot, T.S., 1995, The emergence of *Trichophyton tonsurans* tinea capitis in Birmingham. U.K. *Br. J.*, 133: 929-931.
- Lin, X., Kelemen, D.W., Miller, E.S. and Shih, J.C.H., 1993, Nucleotide sequence and expression of *kerA*, the gene encoding a keratinolytic protease of *Bacillus licheniformis* PWD-1. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 1469-1474.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L.& Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* 193, 265-275
- Malathi S. and Chakraborty R., 1991, Production of alkaline protease by a new *Aspergillus flavus* isolate solide-substrate fermentation condition for use as a depilation agent. *Applied and Environmental Microbiology*. 57: 712-716
- Meevootisom, V., Niederpruem, D.J., 1979, Control of extracellular proteases in dermatophytes and especially *Trichophyton rubrum*, *Sabouraudia* 17: 91-106
- Menan, E.I.H., Zongo- Bonou, O., Rouet, F., Kiki-Barro, P.C., Yavo, W., Nevabi, G.F., Kone, M., 2002, Tinea Capitis in Schoolchildren from Ivory Coast (Western Africa). 1998-1999 Cross Sectional Study. *Int. J. Dermatol* 41:204-207

- Mert, İ., 2003, Gebze ve Çevresinde Dermatofitlerin İdentifikasyonu, Gebze İleri teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimler Enstitüsü Biyoloji A. D. Yüksek Lisans Tezi.
- Metin, A., 1994, Samsun ve Çevresinin Dermatofit Florası, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalı Uzmanlık Tezi, Samsun
- Monique, S.C., 1992, Superficial fungal infections. Sendrom 3:6-12
- Monod, M., Capoccia S., Lechenne B., Zaugg C., Holdom M., Jousson O., 2002, Secreted proteases from pathogenic fungi. International Journal of Medical Microbiol. 292, 405-419
- Moreira F.G., De Souza C.G.M., Costa M.A.F., Reis S., & Peralta R.M., 2007, Degradation of keratinous materials by the plant pathogenic fungus *Myrothecium verrucaria* Mycopathologia 163: 153-160
- Muhsin, T. M., and Hadi, R. B., 2002, Degradation of Keratin Substrates by Fungi İsolated From Sewage Sludge, Mycopathologia 154: 185-189
- Ng, K.P., Soo-Hoo, T.S., Na, S.L., & Ang, L.S., 2002, Dermatophytes İsolated from Patents in University Hospital, Kuala Lumpur, Malasia, Mycopathologia 155:203-206
- Nigam, N., Kushwaha, R.K.S., 1989, Decomposition of feathers and hairs by keratinophilic fungi. İndia J Microbiol 29: 241-244
- Noval, J.J. and Nickerson, W.J., 1959, Decomposition of native keratin by *Streptomyces fradiae*. Journal of Bacteriology 77, 251-263.
- Oyeka, C. A., 2000, Trichophyton mentagrophytes a keratinophilic fungus, Kuswha RKS, Guarro J. (Eds) Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi. s: 60-65 Bilbao.

- Öğünç, D., 2005, Mantarlarda Virulans Faktörleri, 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 3-6 Mayıs 2005 Konya
- Özekinci, T., Özbek E., Gedik M., Topçu M., Tekay F., Mete M., 2006, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Başvuran Hastalarda Dermatofitoz Etkenleri Dicle Tıp Dergisi cilt; 33: 1 (19-22)
- Özhak, B., Kaya, Ç., Öngöt, G., Yerebakan, ö., Öğünç, D., Mutlu, G, 2004, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Polikliniğine Gelen Hastalardan İzole Edilen Dermatofitler ve Tedavisi, 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Simpozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar 3-4 Haziran Kayseri
- Özkütük, A.A., 1999, Dermatomikoz Olgularından İzole Edilen Dermatofitlerin Tiplendirilmesi ve Antifungal Ajanlara Duyarlılıkları, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İzmir.
- Plempel, M., Bremm, K.D., and Gao, Z., 1991, Pathogenese-Faktoren von Dermatophyten. German Patent Application DE 40 07 927 Al.
- Rubio-calvo, C., Gil-Thomas, J., Rezusta-Lopez, A., Benito-Ruesca, R., 2001, The aetiological agent of tinea capitis in Zaragoza (Spain) Mycoses, 44: 55-58.
- Siesenop, U. and Böhm, K.H., 1995, Comparative studies on keratinase production of *Trichophyton mentagrophytes* strains of animal origin. Mycoses 38, 205-209
- Singh, C. J., Singh, B.G. and Singh, B.S., 1995, Biodegradation of certain keratin substrates in vitro by some keratinophylic fungi. Advances in Plant Sciences 8, 271-276.
- Singh, C. J., 1997, Characterization of an extracellular keratinase of *Trichophyton simii* and its role in keratin degradation. Mycopathologia 137: 13-16

- Singh, C. J., 1999, Exocellular proteases of *Malbranchea gypsea* and their role in keratin deterioration. *Mycopathologia*, 143: 147-150
- Stainer, R.Y., Adelberg, E. A., and Ingraham, J. L., 1980, *General Microbiology: Fourth ed.* MacMillan Pres Ltd. London, 280-285
- Sürücüoğlu, S, Türker M, Üremek H, Ellidokuz H, Kapıcı A., 1997, İzmir Bölgesinde İnfeksiyonlarına Neden olan 660 Dermatofit ve Maya türünün değerlendirilmesi. *İnf Derg* 11:63-65.
- Şutman, K., Gür A.R., 1990, Yüzeysel Mantar Enfeksiyonlarının Tanısında İNK+KOH Metodu. *Lepra Mecmuası*, 2(1):13-8
- Takiuchi, I., Highuchi, D., Sei, Y. And Koga, M., 1982, Isolation of an extracellular proteinase (keratinase) from *Microsporum canis*. *Sabouraudia* 20, 281-288.
- Takiuchi, I., Highuchi, D., Sei, Y., Takagi, H. And Negi, M., 1984, Partial charectization of the extracellular keratinase from *Microsporum canis*. *Sabouraudia : Journal of Medical and Veterinary Mycology* 22, 219-224
- Talaro, K.P., 2002, *Foundations in Microbiology . International edition, 4. Edition,* Pasadena City College s: 663-669
- Talaro, K.P., 2005, *Foundations in Microbiology Basic Principles. International edition, 5. Edition,* Pasadena City College s: 137-147
- Taniş, H., 1996, Kahramanmaraş ve Çevresinin Dermatofit Florası, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi

- Tomrukcu, E., 1995, Kliniğimize Müracaat Eden Dermatofitozis Olgularının İncelenmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji anabilim dalı Uzmanlık Tezi Samsun
- Topal, Ş., Pembeci, C., Batum, M., Borcaklı M., Çeltik, Ö., 2000, Türkiye'nin Tarımsal Mikroflorasının Endüstriyel Öneme Sahip Bazı Enzimatik Aktivitelerinin İncelenmesi-I: Amilaz, Proteaz, Lipaz. Turk J. Of Biol. TUBITAK 24, 79-93.
- Toprak, N. Ü., Demirçay Z., Çerikçioğlu N., Karavuş M., Johansson C., 2005, Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Dermatofitlerin Enzim Aktivitelerinin ApiZİM Yöntemiyle Tayini. Mikrobiyoloji Büteni, 39: 183-189
- Toraman, Z. A., 2003, Doğrudan Tanı Yöntemleri ve Önemi, 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi 27-30 Mayıs 2003 Bodrum
- Tortora, G.J., 2005, Microbiology an Introduction, 8.Edition, Bergen Community College s: 331-344
- Tsuboi, R., Ko, I. J., Takamori, K., and Ogawa, H., 1989, Isolation of a Keratinolytic Proteinase from Trichophyton mentagrophytes with Enzymatic at Acidic pH Infection and Immunity, 57:11 p:3479-3483
- Tuğrul, M., 2003, Mantar Hastalıklarının Patogenezi, 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, 27-30 Mayıs 2003 Bodrum
- Tümbay, E., 1983, Pratik Tıp Mikolojisi, İzmir-Bornova; Bilgehan Basımevi 1.Baskı s:3-30
- Tümbay, E., İnci R., Gezen, C., Karaman vd., 1986, Pattern of Dermatophytes In The Aegean Region of Turkey. FEMS-Symposium On Dermatophytes and Dermatophytoses In Man And Animals, 299-304

- Tümbay, E., 2004, Dermatomikozlarda Örnek Alma ve Klinik- Laboratuvar İşbirliği, 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Simpozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar, 3-4 Haziran 2004 Kayseri.
- Unat, E.K., Yücel A, Alta K, Samasti M., 1995, Tıp Parazitolojisi.5. baskı. İstanbul. İÜ Basımevi s: 769- 808.
- Ustaçelebi, Ş., 1999, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, s: 1016-1043 Güneş Kitabevi Ankara
- Uslu, H., Aktaş A.E., Ayyıldız A., Melikoğlu M., 2004, Farklı Klinik Tanılı Hastalardaki Dermatofitik Ayak Etkenleri Atatürk Üniversitesi Tıp Dergisi 36: 83-87
- Viani, F.C., Dos Santos, J.I., Paula, C.R., Larson, C.E., Gambale, W., 2001, Production of Extracellular Enzymes by *Microsporum canis* and Their Role in Its Virulence. Med. Mycol., 39: 463-68
- Weitzman, I., Smmerbell R., 1995, The Dermatophytes. Clinical Microbiology Reviews p: 240-259
- Wilson, K. And Goulding, K.H., 1986, A Biologist's Guide to Principles and Techniques of Practical Biochemistry. Edward Arnold, London.396s
- Yeğenoğlu Y., 1996, Kliniğimizde Dermatofitoz Etkenlerin Son Bir Yıla Ait Değerlendirilmesi. Türk Dermatol Derg. 30:16.
- Yu, R.J., Hormon, S.R. and Blank, F., 1968, Isolation and purification of an extracellular keratinase of *Trichophyton mentagrophyton*. Journal of Bacteriology 96, 1435-1436.
- Yücel, A., 1999, Tıp Mikolojisinin Dünü ve Bugünü, Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 30(2): 191-198

Zer, Y., Balcı İ., Erbağcı Z., İnci R., Orhan G., 2004, Gaziantep İlinde 4 Yatılı Okulda Dermatomikoz Etkenlerinin Araştırılması 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Simpozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar 3-4 Haziran 2004, Kayseri

## **Ek: 1**

### **Kullanılan Çözeltiler**

#### **4.1.1.1. %15'lik NaOH Çözeltisi(Tümbay, 1983)**

KOH 15gr

Distile su 100ml

15 gr KOH tartılır distile suya ilave edilir. Kristaller eriyene kadar karıştırılır.

#### **4.1.1.2. Laktofenol Pamuk Mavisi(Tümbay, 1983)**

Laktik asit 20 ml

Fenol kristalleri 20 gr

Gliserin 40 ml

Distile su 20 ml

Pamuk mavisi %1'lik 2 ml

### **Lowry C Solusyonu:**

Lowry A; 0.1 M NaOH içinde % 2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Lowry B<sub>1</sub>; % 1 CuSO<sub>4</sub> ve Lowry B<sub>2</sub>, % 2 sodyum potasyum tartarat hazırlandı.

A:B<sub>1</sub>:B<sub>2</sub> nin sırasıyla 100:1:1 oranında karıştırılması ile elde edildi(Lowry et. al., 1951).

### **2. Laktofenol Pamuk Mavisi:**

Laktik asit 20 ml

Fenol kristalleri 20 gr

Gliserin 40 ml

Distile su 20 ml

Pamuk mavis %1'lik 2 ml

Laktik asit ve gliserin, distile su içerisine karıştırılır ve bunun üzerine fenol kristalleri de eklenerek sıcak su banyosunda iyice eriyene kadar bekletilir. Bunun üzerine %1'lik pamuk mavisi solusyonundan 2 ml ilave edilerek karıştırılır.



## **Ek. 2**

### **Kullanılan Besiyerleri**

#### **2.1. Sabouraud Dekstroz Agar(Merck)**

Glukoz 20 gr

Pepton 10 gr

Agar 17 gr

Distile su 1000 ml

#### **2.2.Sabouraud Dekstroz Broth(Merck)**

Glukoz 20 gr

Pepton 10 gr

Distile su 1000 ml

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hüseyin TANIŞ

Doğum yeri : Mazgirt

Doğum yılı : 1966

Medeni hali : Evli

Eğitim ve mezuniyet durumu:

Lise : 1985 Gazi Endüstri Meslek Lisesi

Lisans : 1991 Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji  
Bölümü

Yüksek Lisans : 1996 Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi:

1993-2001 Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat  
Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2001- Hacettepe Üniversitesi Fen  
Bilimleri Enstitüsü

Bilimsel Çalışmalar:

## PROJELER

1. Kahramanmaraş Yöresinde Koyun ve Keçi Sütlerinden *Listeria* Türlerinin İzolasyonu K.S.Ü. Araştırma Fonu 1997/7 Kasım 1999 .
2. Kahramanmaraş ilindeki topraklarda bulunan mikroorganizmalarda Polihidroksibutirat(PHB) varlığının araştırılması K.S.Ü. Araştırma Fonu
3. Kahramanmaraş ve Çevresinin Dermatofitozis Etkenlerinin Belirlenmesi ve *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*'in Proteaz Aktivitesinin Araştırılması, K.S.Ü. Araştırma Fonu 2007/1-4

## MAKALELER

1. Dığrak, **M,Taniş** H, Uğuz, M T, Kahramanmaraş'ta tüketime sunulan dondurmalarda *Listeria*, *Salmonella*, *E.coli* Tip 1 ve *K.pneumoniae*'nin araştırılması GIDA DERGİSİ(2000 yılı 5.sayı)
2. Dığrak, M, İçlim, **A,Taniş**, H, Bağcı, E, Kahramanmaraş yöresinde yetişen bazı bitkilerin antimikrobiyal aktivitesi, Ot Sistemik Botanik Dergisi,(2000 5.sayısı)
3. **Taniş, H**, Aksoy, G, Aşçı, Z. 1999. The Dermatophytic Flora Ratio of Dermatophytes Turkish Journal of Medical Sciences,29,2,181-185.
4. Erdoğan, Ö.T. **Taniş, H**. Uğuz, M.T. 1998. Kahramanmaraş ilinde satışa sunulan çiğ inek sütünün mikrobiyolojik kalitesi K.S.Ü. Fen ve Mühendislik Dergisi Cilt 2, Sayı 1,1998.