

**T.C**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİĞİRLARDAN İZOLE EDİLEN *TRICHOPHYTON VERRUCOSUM***  
**SUŞLARININ KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE İDENTİFİKASYONU VE**  
**MALDI TOF-MS İLE DOĞRULANMASI**

**Özcan BALIBAY**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Osman Yaşar TEL**

**ŞANLIURFA**

**2019**

**T.C**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİĞİRLARDAN İZOLE EDİLEN *TRICHOPHYTON VERRUCOSUM***  
**SUŞLARININ KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE İDENTİFİKASYONU VE**  
**MALDI TOF-MS İLE DOĞRULANMASI**

**Özcan BALIBAY**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Osman Yaşar TEL**

**Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18179 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ŞANLIURFA**

**2019**

T. C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

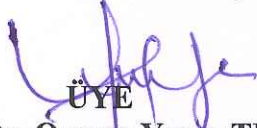
Özcan BALIBAY'ın hazırladığı “Sığırlardan *Tricophyton verrucosum* izolasyonu ve MALDI-TOF MS ile doğrulanması” başlıklı çalışması 28/06/2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Mikrobiyoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak kabul edilmiştir.



BAŞKAN

Prof. Dr. Oktay KESKİN

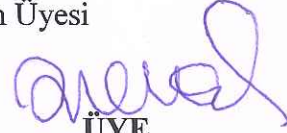
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi



ÜYE

Prof. Dr. Osman Yaşar TEL

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi



ÜYE

Doç. Dr. Neval Berrin ARSERİM

Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 18./07/2019 tarih ve 2019/12/15..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmam sırasında öneri ve yardımlarıyla büyük desteklerini gördüğüm Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Osman Yaşar TEL'e, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Oktay KESKİN'e, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Sevil ERDENLİĞ GÜRBİLEK'e, MALDI TOF-MS analizi için yardımlarını esirgemeyen Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Neval Berrin ARSERİM ve Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Uz. Dr. Nida ÖZCAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı sayın Arş. Gör. Ayfer GÜLLÜ YÜCETEPE'ye numune toplamamda yardımcı olan değerli mesai arkadaşlarım Veteriner Hekim Nuran DİP'e ve Veteriner Hekim Barış ÇAPIK'e teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında çevirilerde yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sayın Arş. Gör. Murat AÇIK'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Veteriner Hekim Özcan BALIBAY

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLO DİZİNİ.....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Genel Bilgiler.....	1
1.2. Mikolojinin Tarihçesi.....	2
1.3. Mantarların Yapısı .....	5
1.4. Mantarlarda Üreme .....	7
1.5. Dermatofitler.....	9
1.5.1. Microsporum Cinsi .....	11
1.5.2. Trichophyton Cinsi.....	11
1.5.3. Epidermatophyton Cinsi.....	13
1.6. Dermatofitlerin Epidemiyolojisi.....	13
1.7. Patogenez.....	15
1.8. Klinik Belirtiler.....	16
1.9. Dermatofitlerin Tanısı.....	16
1.9.1. Ultraviolet Wood Işığı Altında Muayene.....	17
1.9.2 Direkt Mikroskopi.....	19
1.9.3 Kültür.....	19
1.9.4. Moleküler Teknikler.....	20
1.9.5. Kütle Spektrometrisi-Maldi Tof.....	23
1.10. Tedavi.....	24
1.11. Koruma .....	25
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	26
2.1. Gereç.....	26

2.2.Yöntem.....	28
2.2.1. Direkt Mikroskopi.....	28
2.2.2. Kültür.....	28
2.2.3. Kütle Spektrometrisi-MALDI TOF MS.....	29
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>31</b>
3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları.....	31
<b>4. TARTIŞMA.....</b>	<b>39</b>
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>44</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>45</b>
<b>7. EKLER.....</b>	<b>53</b>
7.1. Etik Kurul Onayı.....	53
7.2. Tez Çalışması Orijinallik Raporu ve Beyan Belgesi.....	54
7.3. Turnitin Raporu.....	55
7.4. Tez Veri Giriş Formu.....	56

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Mantar Hücresinin Yapısı.....	6
Şekil 1.2. Artrospor Oluşumu .....	8
Şekil 1.3. Konidiospor, Blastospor, Klamidospor .....	8
Şekil 2.1. Dematofitoz İnfeksiyonlu Sığırlar.....	26
Şekil 3.1. Direkt Mikroskopi %15'lik KOH X40 Objektif Görüntüsü.....	32
Şekil 3.2. Direkt Mikroskopi %15'lik KOH X40 Objektif Görüntüsü.....	32
Şekil 3.3. <i>T. verrucosum</i> 26 °C'deki SDA'da Koloni Önden Görüntüsü.....	34
Şekil 3.4. <i>T. verrucosum</i> 26 °C'deki SDA'da Koloni Önden Görüntüsü.....	34
Şekil 3.5. <i>T. verrucosum</i> 26 °C'deki Laktofenol Pamuk Mavisini Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.....	34
Şekil 3.6. <i>T. verrucosum</i> 26 °C'deki Laktofenol Pamuk Mavisini Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.....	34
Şekil 3.7. <i>T. verrucosum</i> SDA'da Koloni Önden Görünümü.....	35
Şekil 3.8. <i>T. verrucosum</i> SDA'da Koloni Arkadan Görünümü.....	35
Şekil 3.9. <i>T. verrucosum</i> SDA'da Koloni Önden Görünümü.....	35
Şekil 3.10. <i>T. verrucosum</i> SDA'da Koloni Arkadan Görünümü .....	35
Şekil 3.11. <i>T. verrucosum</i> 37 °C'de Laktofenol Pamuk Mavisini Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.....	36
Şekil 3.12. <i>T. verrucosum</i> 37 °C'de Laktofenol Pamuk Mavisini Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü .....	36
Şekil 3.13. <i>T. verrucosum</i> SDA'da Koloni Önden Görünümü.....	36
Şekil 3.14. <i>T. verrucosum</i> SDA'da Koloni Arkadan Görünümü.....	36
Şekil 3.15. <i>T. verrucosum</i> PDA'da Koloni Görünümü.....	37
Şekil 3.16. <i>T. verrucosum</i> TA'da Koloni Görünümü.....	37
Şekil 3.17. <i>T. verrucosum</i> 37 °C'de Laktofenol Pamuk Mavisini Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.....	37
Şekil 3.18. <i>T. verrucosum</i> 37 °C'de Laktofenol Pamuk Mavisini Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.....	37
Şekil 3.19. <i>T. verrucosum</i> 'un MALDI-TOF Spektrum Görünümü.....	38

## TABLO DİZİNİ

<b>Tablo 1.1.</b> Microsporum, Trichophyton, Epidermophyton Cinslerinin Genel Morfolojik Özellikleri.....	10
<b>Tablo 1.2.</b> Dermatofitlerin Ekolojik Açıdan Sınıflandırılması.....	14
<b>Tablo 1.3.</b> Wood Işığı Altında İnfekte Kılımlarda Floresans Durumu.....	18
<b>Tablo 2.1.</b> Materyallerin Kaynak ve Sayıları.....	26
<b>Tablo 3.1.</b> İncelenen Materyallerin Yaş ve Cinsiyetlere Dağılımı .....	31
<b>Tablo 3.2.</b> Direkt Mikroskopi ve Kültür Sonuçlarının Karşılaştırılmalı Bulguları.....	32
<b>Tablo 3.3.</b> Kültür Yöntemi İzolasyon Sonuçları.....	32



## **SİMGELELER ve KISALTMALAR**

**ÇBT :** Çimlenme Borusu Testi

**DIM :** Dermatofit İdentifikasyon Medium

**DTM :** Dermatophyte Test Medium

**ITS :** Internal Transcribed Spacer

**KOH :** Potasyum hidroksit

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**PCR-EIA:** Polymerase Chain Reaction-Enzyme Immunoassay Detection

**PDA:** Patates Dextrose Agar

**PFGE:** Pulsed-Field Gel Elektroforezisi

**RFLP:** Restriction Fragment Length Polymorphism

**SDA:** Sabouraud Dekstroz Agar

**TA:** Trichophyton Agar

## ÖZET

# SİĞİRLARDAN İZOLE EDİLEN *TRICHOPHYTON VERRUCOSUM* SUŞLARININ KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE İDENTİFİKASYONU VE MALDI TOF-MS İLE DOĞRULANMASI

Özcan BALIBAY

Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

*Trichophyton verrucosum*, sığır dermatofitozuna neden olan en önemli etkindir. Deri lezyonları, genç sığırlarda gelişmede gerileme, süt sığırlarında sütte azalma, derinin ekonomik değerinin azalması gibi önemli sorunlara neden olmaktadır. Etken tanımlamada direkt mikroskopik inceleme ve kültür, geleneksel konvansiyonel yöntemlerdir. Standart konvansiyonel yöntemler zaman alıcı olması ve kesin sonuçlar vermemesinden dolayı duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı yeni tanı yöntemlerine ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmada sığırlardan *Trichophyton verrucosum* izolasyonu ve MALDI TOF-MS ile doğrulanması amaçlanmıştır. Dermatofitoz şüpheli 100 adet sığırdan alınan deri kazıntısı ve kıl örnekleri direkt mikroskopi yöntemi ile incelenmiş ve 52 (%52)'si pozitif bulunmuştur. Numunelerin kültür yöntemi ile incelenmesi sonucunda 63(%63)'ünde dermatofit izole edilmiş ve bunların 52 (%52)'si *T.verrucosum* olarak tanımlanmıştır. Bütün *Trichophyton verrucosum* izolatlarının 7950-7954 arasında MALDI TOF-MS spektrum pikleri saptanarak, doğrulanmıştır. Sonuç olarak, Şanlıurfa bölgesinde sığırlarda *T. verrucosum*'un yaygın olduğu, MALDI TOF-MS tekniğinin *T.verrucosum*'un teşhisinde geleneksel yöntemlere göre başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirlendi.

**Anahtar kelimeler:** *Trichophyton verrucosum*, sığır, MALDI TOF-MS

## ABSTRACT

### IDENTIFICATION of *TRICOPHYTON VERRUCOSUM* STRAINS ISOLATED FROM CATTLE BY CULTURE TYPE and VALIDATION BY MALDI-TOF MS

Özcan BALIBAY

Department of Veterinary Microbiology, Master Thesis

*Trichophyton verrucosum*, is the most important causative agent for cattle dermatophytosis. It causes skin lesions, growth retardation in young cattle, decline in milk production, reduction economic value of leather. Direct microscopy and culture are conventional methods for agent identification. Standard conventional methods are time consuming and they might not be very definitive and therefore it is needed the new and fast diagnostic techniques that have high sensitivity and specificity. In this study, the isolation of *Trichophyton verrucosum* from cattle and confirmation with MALDI TOF-MS of the isolated strains were aimed. Skin scrapings and hair samples collected from 100 were examined by direct microscopy and 52 (52%) of them were found as positive. At the end of cultural studies, 63 (63%) dermatophytosis agents were isolated and 52 of them were identified as *T.verrucosum*. All *Trichophyton verrucosum* isolates showed MALDI TOF-MS peaks between 7950 and 7954 and these results confirmed the *Trichophyton verrucosum* isolation.

As conclusion, it was determined that *Trichophyton verrucosum* infection was common in Şanlıurfa Region and MALDI TOF-MS technique could be used successfully compared to conventional techniques for diagnosis of *T.verrucosum*.

**Keywords:** *Trichophyton verrucosum*, cattle, MALDI TOF-MS

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Genel Bilgiler

Dermatofitoz, evcil hayvanlar ve çiftlik hayvanların en sık görülen mantar infeksiyonlarıdır. İnsan sağlığında zoonotik olmalarından dolayı önemli rol oynamaktadır (1). Dermatofitlerin 38'den fazla türü bilinmekte olup, bunlar arasında hayvanlarda infeksiyonlara sebep olan ve zoonoz karakterde olanları genellikle *Microsporum* ve *Trichophyton* cinsleridir (2, 3). Dermatofitler, deri, kıl ve tırnak yatağının yüzeysel keratinize tabakasına yerleşmek suretiyle infeksiyon oluştururlar. İnsan ve hayvanlarda yaptıkları infeksiyona Ringworm'da denilmektedir (4).

Çevre faktörleri ve yatkınlık hastalığın oluşmasında önemli faktörlerdir. Ortak yaşam alanları, infekte hayvanlardan fungal sporların çevreye yayılması, hayvanların birbiriyle teması, bunların infekte ettiği materyaller ve asemptomatik hayvanlar bulaşmada önemli rol oynar (5).

İnsanların kültürel, duyuşsal ve psikolojik ihtiyaçları sonucu pet hayvanlarının evde beslenmesindeki artış, artan gıda ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla çiftliklerdeki aşırı hayvan kalabalığı bulaşma konusunda önemli sağlık ve epidemiyolojik sonuçlar doğurmaktadır (1). İnsanlarda dematofitoz infeksiyonları, kırsal kesimlerde %80'inin hayvanlardan bulaştığı ve kentlerdeki infeksiyonun ise %20'sinin, evde beslenen kedi, köpek ile temas sonucu bulaştığı belirtilmiştir (6).

Hastalığa neden olan mantar infeksiyonları etkenin türüne göre değişmektedir. Klinik olarak infeksiyonun yoğunluğuna bağlı lokal kıl dökülmeleri ve pul şeklinde kabuklanmış, hafifçe kalkmış yuvarlak alanlar görülmektedir (7).

Sığır trikofitozisi, çoğunlukla zoofilik dermatofiton olan *Trichophyton verrucosum* (*T. verrucosum*)' dan kaynaklanır (8). Deri lezyonları, genç sığırlarda gelişmede gerileme, süt sığırlarında sütte azalma, derinin ekonomik değerinin azalması gibi önemli sorunlara neden olmaktadır (9).

Mantar infeksiyonlarının son yıllarda önemi giderek artmaktadır. Hastalık etkeni olan mantarların tanısı, tür tayini, tiplendirilmesi ve antifungal ilaçlara karşı dirençle ilgili çalışmalar daha da hız kazanmıştır. Etken tanımlamada direkt mikroskopik inceleme ve kültür, geleneksel konvansiyonel yöntemlerdir. Standart konvansiyonel yöntemler zaman alıcı olması ve kesin sonuçlar vermemesinden dolayı duyarlılığı ve

özgüllüğü yüksek, hızlı yeni tanı yöntemlerine ihtiyaç bulunmaktadır. Moleküler yöntemlerin tanıda giderek artan oranda kullanılması, bu güçlüklerin aşılmasında önemli bir adımdır (10, 11). Bununla birlikte, dermatofit etkenlerinin tanımlanması doğru antifungal tedaviyi seçmek, epidemiyolojik kökeni saptamak ve uygun önleyici tedbirleri başlatmak açısından önemlidir (12).

MALDI TOF- MS teknolojisi, bakteri ve mantarların rutin tanısı için çok önemli hale gelmiştir (13). Ancak MALDI TOF-MS tarafından güvenilir tür tespiti için yeterince geçerli bir referans spektrum veri tabanı gerekecektir (14).

## 1.2. Mikolojinin Tarihçesi

Berkley (1834) tarafından Mikoloji terimi mantar bilimi olarak tanımlanmıştır. Tıp veya veteriner mikolojisi insanlar veya hayvanlarda mantar ve mantar kökenli hastalıklarının araştırılmasını kapsamaktadır. Mycosis terimi patojenik mantarların insan, hayvan, kuş ve bitkilerde mantarların oluşturdukları hastalık durumunu tanımlamaktadır. Besinlerde var olan mikotoksinlerin alınması sonucu oluşan hastalık durumuna ise mikotoksikozis adını vermişlerdir. Mantarların konakçının vücudunda in-vivo toksin üreterek hastalık oluşturmasını 'Mycetism' olarak tanımlanmaktadır (16).

Mantar infeksiyonlarının ilk tanımları Hindistan'ın eski Sanskrit yazıtlarında (MÖ 2000-1000), yer almaktadır. Hindistan'da 17. yy.'da Alman bir hekim (Engelbert Kaempfer), ilk kez insanda klinik mycetoma vakalarını bildirmiştir. Fungal bitki hastalıkları M.Ö. 1200 yıllarında kaydedilmiştir. Hipokrat ilk kez *Pseudomembranous candidiasis* türünü bildirmiş ve 'aphthae (pamukçuk) alba' olarak tanımlamış ve sonraki dönemlerde Galen, Hipokrat'ı (M.Ö. 130-200 ) desteklemiştir. Lord Buddha (M.Ö. 400) pirinç ve şeker kamışında fungal hastalıklar gözlemlemiş ve tedavi için rahipleri görevlendirmiştir (16).

Dermatofitozun ilk tanımı De Re Medicina Celsus'da (M.S. 30) kaydedilmiştir. Micheli (1729), *Aspergillus*, *Mucor* gibi genel mantar türlerini Nova Genera Plantarum kitabında yazmıştır. Bu mantarların hayvan ya da insanlardaki patojenik etkilerine değinilmemiştir. Robert Hook (1665), *Phragmidium mucronatum* mantar türünün patojenik etkilerinden 'Micrographia' kitabında söz etmiştir. Reaumur 1749 yılında, ilk olarak kuşlarda avian aspergillozunu tanımladı ve bunu bir ördekteki infeksiyon takip etti (Montagu, 1813). Agostino Bassi 1835 yılında ipek böceğindeki mantar

infeksiyonunu keşfetmiştir ve bir mikrobun bu enfeksiyona neden olduğunu bildirmiştir (16).

Robert Remak (1837-1841) ilk kez insanlarda mycosis'i tanımlamıştır. Gruby (1844) ilk olarak tinea endothrix'in etiyolojik faktörünü tanımlamış, daha sonra *Trichophyton tonsurans* olarak adlandırılmıştır. Remak ve Gruby'nin çalışmaları, mikolojinin tıbbi bilimlerin ayrı bir dalı olarak kurulmasını sağlamıştır. Tıp öğrencisi olan Alejandro Posadas ve patolog Robert Wernicke 1892 yılında, ilk kez bir askerin derisinde nükseden *Coccidioides*'i tanımlamıştır (16).

*Aspergillus fumigatus* ilk kez 1863 yılında Fresenius tarafından bildirilmiştir. Ayrıca neden olduğu solunum yolu hastalığı için "aspergilloz" terimini kullanan ilk kişi olmuştur. Atlarda Epizootik lenfanjitin (*Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*) etkeni ilk olarak Rivolta (1873) tarafından bildirilmiştir (16).

İnsandaki histoplazmozun ilk kez Amerikalı bir patolog olan Darling (1906) tarafından bildirilmiştir. Raymond Jacques Adrien Sabouraud (Fransa), dermatofitlerin (*Trichophyton*) tanımını, yapay kültürdeki gözlemine dayanan Les Teignes (1910) adlı kitabında derlemiştir. Bu kitap tıbbi mikolojinin gelişimini başlatmıştır (16).

Mantar hücrelerini mikroskopik olarak gözlemlemek için Gomori (1946) ilk kez boyama yöntemi geliştirmiştir. Grocott tarafından bu yöntem 1955 yılında modifiye edilmiştir. Kligman (1951), mantarların histolojik olarak görünebilmesi için Periyodik Asit Schiff boyamayı kullanmıştır. Daha sonra Gridley (1953) PAS boyamasını geliştirmiş ve bu da dokularda hem hifleri hem de maya hücrelerini açığa çıkarabilmiştir (16).

Whittaker tarafından 1969 yılında canlıları sınıflandırmıştır. Canlılar Monera, Protista, Hayvanlar, Mantarlar, Bitkiler ve olmak üzere beş ayrı alemde toplanmıştır. Monera alemi prokaryot olarak tanımlanmıştır. Protista, Hayvanlar, Bitkiler, Mantarlar ökaryot olarak tanımlanmıştır. Yapılan sistematikte mantarlar uzun zamandan beri bu beş alemin bir parçası olarak düşünülmüştür (17).

Mantarlar alemini bazı mikologlar *Myxomycota* ve *Eumycota* olarak iki bölüme ayırmışlardır. *Myxomycota* bölümünde yer alan mantarlar uygun şartlarda saprofit olarak yaşayan ve uygun olmayan durumlarda spor oluşturan mantarları, *Eumycota* bölümüne ise diğer mantarları almışlardır. Bu bölümde yer alan mantarlar *Zygomycotina*, *Mastigomycotina*, *Ascomycotina*, *Deutromycotina* ve *Basidomycotina* olarak alt

bölmelerden oluşmaktadır. *Zygomycotina*; *Mucorales* takımını, *Mastigomycotina*; *Chytridiomycete*'leri *Ascomycotina*; *Saccharomyces*leri, *Basidiomycotina*; yüksek mantarları içerir, *Deuteromycota* ise patojen ve fırsatçı küf veya mayaları içine alacak şekilde düzenlenmiştir (18).

Yeni bir sistematikte *Myxomycota* bölümü ve *Mastigomycotina* alt bölümü Protistalara dahil edilmiş ve böylece mantarlar alemi *Ascomycota*, *Zgomycota*, *Basidiomycota* ve *Deuteromycota* olarak dört bölüme ayrılmıştır (19). Sabouraud mantar kültürlerinin yapılabileceğini, Pasteur'un mantarların saf kültürünü yapabilmek için bulduğu metodlardan önce yazmıştır. Saccardo, 1880 yılına kadar mantarlar üzerine yapılmış araştırma ve incelemeleri "Sylooge Fungorum" adlı eserde 25 cilt halinde toplamış ve bu eserde 80.000 mantar türünü bildirmiştir (20).

Avrupalı 3 hekim 19. yüzyılın ortalarında favusun etiyolojik ajanını bulmuşlardır. Birbirinden bağımsız olarak Remak, Schönlein ve Gruby (1841-1844) favusu incelemiş ve hastalığa bugün *Trichophyton schoenleinii* adı verilen mantar türünün neden olduğunu bulmuşlardır. Bu alandaki başarılı çalışmalarından dolayı Gruby, mikolojinin kurucusu olarak bilinmektedir (16).

Sabouraud, mikoloji alanında en iyi tanınan ve çalışma yapmış mikologlardan biridir. Mantarların taksonomisi, kültür metodları ve dermatofitozisin tedavisi üzerine önemli çalışmaları vardır. Mikoloji tarihi 1835'te Bassi'nin çalışmalarıyla başlayarak Sabouraud'un kendi adıyla anılan Sabouraud dönemi ve son dönem olarak 3 dönemde incelenmektedir. Bugün mantarların üretilmesi için kullanılan Sabouraud glukoz agar ismini Sabouraud'dan almıştır (21).

Dermatofitlerin tedavi edilebilmesi için 1958'de griseofulvin geliştirilerek tedavide önemli bir adım atılmıştır. Daha sonraki dönemlerde Blank ve ark. yüzeysel mantar infeksiyonlarda griseofulvinin lokal uygulanabilmesini sağlayarak tedavide önemli bir gelişme sağlamışlardır (22). Emmon spleomorfizm ve değişimler üzerine çalışmış ve *Monosporium apiospermum*'un eşeyli şeklinin *Allescheria boydii* olduğunu 1944'e kadar iki ayrı mantar olarak bilinen şeklin aynı türe ait olduğunu göstermiştir. Emmons 1934'te taksonomik ve terminolojik kurallarını tekrar incelemiştir. Dermatofit türlerini bir araya toplamış, spor morfolojisini ve diğer yapısal özelliklerini temel almış ve günümüzdeki klasifikasyonu yapmıştır. Sadece *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Trichophyton* cinslerini tanıyarak *Achorion* cinsini çıkarmıştır (20).

Castellani, insanlardan *Trichophyton rubrum*'u izole etmiştir. Vanbreuseghem saç perforasyon testini geliştirmiştir. Virchows, Aspergillosis'i ilk olarak tanımlamış medikal terminolojiye 'Mycosis'i dahil etmiştir (19). Osmanlı İmparatorluğu döneminde Celalettin Muhtar 1982 yılında el ve ayak dermatofitleri hakkında ilk makale yayınlanmıştır. 1908'de Talad,, favus konusunda yayın yapmıştır. Prof. Dr. Ekrem Kadri Unat ilk olarak ülkemizdeki dermatofit listesini hazırlamıştır (21).

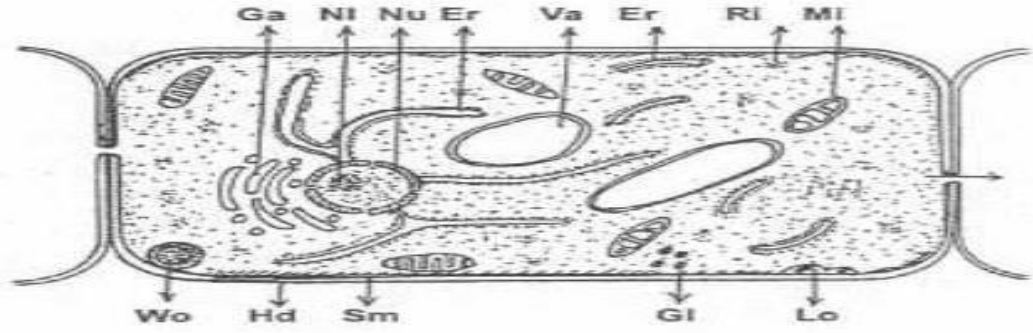
### 1.3. Mantarların Yapısı

Mantarlar, maya ve küfler olarak ikiye ayrılırlar. Fotosentetik olmayıp ökaryotik hüce yapısına sahip ve genellikle hareketsizdirler. Mayaların üremeleri küremsi yapıda ve tek hücre şeklindedir. Küfler ise iplikçikler halinde filamentöz şeklinde ve çok hücreli olarak ürerler. Çoğunlukla çok hücreli mantarlar birleşerek hifa denilen ipliksi yapıları oluştururlar. Hifalar filamentöz yapıdadırlar. Mantar kolonilerinde hifalar genellikle ince, uzun, ve saydam mikroskobik filamentlerden oluşmuşlardır. Hifaların mantar türüne bağlı olarak uzunlukları değişmekle beraber 1-3 cm (daha uzun da olabilmektedirler) çapları ise 5 ile 10 mikrometre arasında olabilmektedir. Bazı hifalar branşsız ince borucuk tarzında bazıları ise branşlaşma gösterirler. Hifaları dallanması ve birbirlerine sarılması bazen de birleşmesi ile miselyumları oluştururlar. Miselyumlar vejetatif gövdeyi oluştururlar. Mantar kolonisi içerisinde bazı hifalar beslenmeyi sağlamak üzere üzerinde yaşadığı substratın içine doğru uzanmışlardır. Bunlar beslenmeyi sağlar ve vejetatif hifa olarak adlandırılırlar. Dışarıda kalan diğer bölümüne ise (aerial hifa) kendilerine özel organizasyonlar oluşturarak çoğalmada görev alırlar. Bunlara ise reproduktif hifa veya fertil hifa denir (23).

Miselyal hücreler salgıladıkları enzimler sayesinde substratı sindiriler ve böylece oluşan küçük besin moleküllerini absorbe ederler. Mantarlar bir takım enzimlere sahiptir. Bu enzimler ile hücreleri parçalayarak konakçıya yerleşirler. Birçok mantar polisakkarit ve glikojen granüllerini sentezleyerek depolarlar. Birçok mantarların hifaları septum denilen bölmelere ayrılmıştır. Septumlar arasında bulunan porlar sayesinde hücreler arasında sitoplazma ve çekirdek geçişi sağlanmış olur (24).

Mantar hücresi ökaryotik yapıda ve yapısında; Golgi aparatı, Endoplazmik retikulum, Nükleus, Ribozom, Mitokondria, Nükleolus, Vakuol, Woronin cisimciği, Hücre duvarı, Glikojen granülü, Lomasom ve sitoplazmik membran bulunur (Şekil 1.1).





Şekil 1.1. Mantar Hücresinin Yapısı (23).

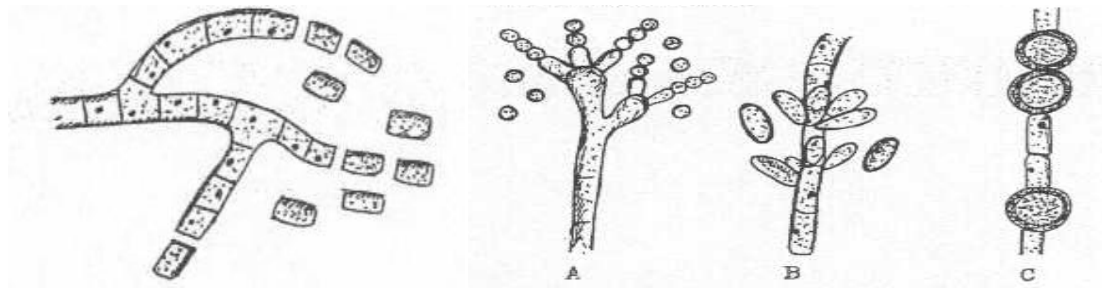
Hücre duvarı, septumlu hifalarda bulunur ve hücre duvarı giderilir ise protoplastlar oluşur. Yapısında lipid, protein, polisakkaridlerin yanı sıra melanin derivatları, fosfatlar, inorganik elementler ve aminopolisakaridler bulunur. Hücre duvarı çok katlı, fibriler özelliktedir ve hücreyi olumsuz çevre şartlarından korur, antijenik yapıya sahip olmasıyla birlikte bünyesinde bazı enzimleri de içerir. Septum, hücre duvarı ile aynı kimyasal yapıdadır. *Zygomycetes* ve *Oomycetes* sınıfı mantarlar hariç diğer filamentöz mantarlarda bulunmamaktadır. İki tip septuma fazlaca rastlanmaktadır. Basit septum (*Ascomycetes* ve *Deuteromycetes*) bu tür septumlarda ortada veya ortaya yakın yerde bir delik mevcuttur ve deliği gerektiğinde kapatan bir veya daha fazla sayıda Woronin cisimciği bulunur. Dolipor septum, *Basidiomycetes* sınıfında yer alan mantar hücrelerinde bulunur. Septumun ortasında çok dar bir delik yer alır ve etrafı yaka ile çevrilidir. Bu delik dışarıdan ince ve delikli bir zar ile sarılıdır. Bu tip septum sitoplazmanın geçişine izin verirken çekirdeğin geçişine izin vermez. Septumların yapısı genetik bir özellik taşımasına karşın tek başına tür tayini için yeterli değildir (23).

Sitoplazmik membran, permeabilite özelliği gösterir, sekresyon ve absorpsiyonda rahatlık sağlar. Yapısında protein, fosfolipid ve steroller bulunur. Permeaz Enzimlerini proteinler oluşturur ve bunlar substratların geçişinde önemli fonksiyonları üstlenirler. Lomasom, bazı mantar türü hücrelerinde sitoplazma ile hücre duvarı arasında bulunur. Fonksiyonları tam olarak bilinmemekle beraber sitoplazmanın sentezinde ve salgısal aktivitelerde görev aldığı açıklanmaktadır. Endoplazmik retikulum, lipoprotein yapısındadırlar. Protein sentezi ve hücredeki metabolik faaliyetler için gerekli substratları taşımasında önemli rol oynarlar. Vakuol, mantar hücrelerinin dejenerasyonunda sayıları artmaktadır. Olgun mantar hücrelerinde daha fazla

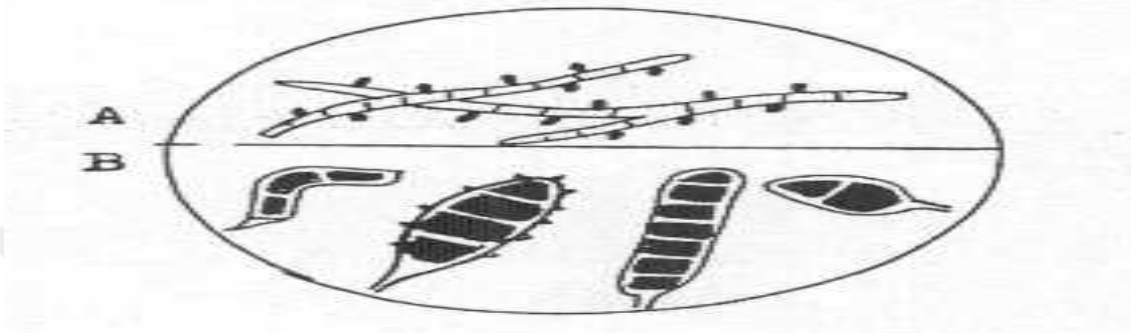
bulunurlar. İçlerinde kristal, pigment, amorf şeklinde bazı maddeler taşır ve etrafları ünitembranla sarılıdır. Vesikül, golgi aparatından köken alırlar. Büyümekte olan hifalarda daha fazla sayıda bulunurlar. Hücre duvarının sentezinde ve lizisinde etkinlikleri olan enzim, polisakkarit, lipid ve inorganik elementler gibi gerekli substratları bulundurup gerektiğinde hücre duvarına bunları taşırlar. Çekirdek ve Çekirdekçik, nükleusları küçük ve giemsa ile boyandıklarında kolayca görülebilirler. Her hücrede bir tane bulunmakla beraber çabuk üreyen ve genç hücrelerde birden fazla sayıda bulunabilirler. Çekirdekte bulunan kromozom DNA yapısındadır. Kromozomları ökaryotik ve prokaryotik hücrelerin kromozomlarına benzerlik gösterir. Nükleer membranda delikler bulunur ve bu delikler aracılığı ile sentezlenen mRNA sitoplasmaya geçer ve endoplazmik retikulumların traslasyonunu sağlar. Translasyon ve transkripsiyon olayları ökaryotik hücrelerdeki gibidir. Hücrelerde çekirdekçik bir veya daha fazla bulunabilmektedir. Yapısında %80 RNA'dan oluşur ve ayrıca proteinde bulunur. Mitokondrium, hücrenin enerji merkezleri olarak görev yaparlar. Yapısında protein ve DNA bulunur. Bir mantar hücresi çok sayıda mitokondrium taşır ve üremekte olan hifalarda daha aktif ve sayıca fazla bulunurlar. Krebs siklusunda ve fosforilasyonda önemli görevler üstlenir ayrıca respirasyon fonksiyonlu enzimleri de yoğun olarak bulundururlar. Ribozom, protein sentezinde görev alır. Yapısında RNA ve protein bulunur. Bir hücrede binlerce bulunabilmekte, sitoplasmada serbest olarak bulunabilmekle beraber endoplazmik retikulum ve mitokondriumlarda da bulunurlar. Golgi aparatı, genellikle her hücrede bir tane bulunur ve sentez olaylarında rol alırlar (23).

#### **1.4. Mantarlarda Üreme**

Mantarlar eşeyli (seksüel) ve eşeysiz (aseksüel) üreme olmak üzere iki temel yolla çoğalırlar. Mantarlarda üremeyi sağlayan hücreye spor denir. Eşeyli üremede zigospor, basidiyospor, askospor, ve oospor oluştururlar; Eşeysiz üremede ise artrospor, klamidiospor, blastospor, ve konidiospor oluşturarak ürerler (23).



Şekil 1.2. Artrospor oluşumu A) Konidiospor B) Blastospor C) klamidospore (23).



Şekil 1.3. Konidiosporlar A) Mikrokonidium, B) Makrokonidium (23).

Eşeyli (seksüel) olarak üreyen mantarlara, tam (perfect) mantarlar denir ve bazılarının eşeysiz olarak da üreyebildikleri görülür. *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* ve *Zygomycetes* sınıflarındaki bazı türler tam mantarları oluşturmaktadır. Eşeysiz olarak spor oluşturma yetenekleri; tam olmayan mantarları, tam olanlardan ayırmaktadır. Sporlar hiflerin uçlarında ve duvarlarında serbest bir şekilde tomurcuklanma veya bölünme ile oluşmaktadır. Bu spora konidiyum denir. Mantarların üreme döngüleri konidiyumlarda gerçekleşir (25).

Üreme özelliklerine göre mantarlar Monomorfik mantarlar ve Dimorfik mantarlar olarak ikiye ayrılırlar. Monomorfik mantarlar küf ya da maya şeklinde üreme gösterirler. Küfler doğada patojen mantarlar (dermatofitler) ve saprofit mantarlar olarak iki şekilde bulunurlar. Dimorfik mantarlar buldukları ortam ve ısıya göre şekillenirler. 37 °C'de ve vücutta maya gibi oda sıcaklığında ve in vitro şartlarda ise küf şeklinde üreme özelliğini gösterirler. Mantarlar düşük pH'da bile üreme gösterebilir ve adapte olabilirler. Mantarların minimal ve maksimal pH aralıkları 2 ile 11 arasında değişmektedir. Mantarların üremesinde nem önemli bir faktördür. Yüksek nem üremede olumlu etki gösterirken; nem oranının azalması üremeyi yavaşlatır (26).

Patojen mantarlar besi yerlerinde ürediklerinde 5 tip koloni gözlenir. Bu değişiklikler mantar hücresinin genetik yapısına bağlı olmakla birlikte kültürün eskiliği,

çevre koşulları, besi yerinin kimyasal yapısı gibi durumlara da bağlıdır. Bu koloniler; Miselyal koloniler, Maya benzeri koloniler, Membranöz koloniler, Granüler koloniler ve Pleomorfik koloniler olmak üzere 5 tip olarak gözlenir (23).

*Trichopyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton* cinslerine ait türler miselyal koloniler oluşturarak ürerler, bazı sistemik mikozislere neden olan türler de (*B. dermatitidis*, *H. capsulatum*, *C. Immitis* vs. ) oda ısısında üretilmiş kültürleri ile saprofitik olan birçok mantar kolonileri de miselyal koloniler halinde ürer. Miselyal koloniler yuvarlak, oval ve bazen de düzensiz şekil gösterirler (23).

*Sacchromyces* sınıfı mantarlar ve sistemik mikozislere neden olan dimorfik mantarlar 37 °C'de genellikle maya benzeri koloniler oluştururlar. Bu koloniler mukoid kıvamda yumuşak, nemli ve kabarık görünüşte olup yuvarlak ve ovaldirler. 25 °C'de ise miselyal koloniler şekillendirirler (23).

### **1.5. Dermatofitler**

Dermatofitler özel bir küf mantarıdır. Asıl kaynakları topraktır. Hayvan ve insanlarda kıl, tırnak, deriyi infekte ederler ve dermatofitoz olarak adlandırılırlar. Çeşitli kutanöz infeksiyonlara sebep olurlar. Dermatofitlerin insan ve hayvanlarda oluşturdukları infeksiyonlar 'Ringworm' olarak da adlandırılır. İnfeksiyon cansız kornifiye dokularla sınırlı olmakta ve çoğunlukla kutanözdür (25, 27).

Dermatofitoz etkenlerin tanısı zordur ve oluşturdukları infeksiyonlar çoğu zaman diğer dermatofitoz etkenleri ile karıştırılır. Klinik formları infeksiyon oluşturdukları bölgeye, etkenin türüne göre ve konağın immun yanıtına göre değişmektedir. Dermatofitozlar stratum korneumda yüzeysel kalabilirler veya dermisin tutunduğu ve keriyon olarak adlandırılan derin infeksiyonlara da neden olabilirler. Bu derin infeksiyonlar supuratif lezyonlar oluşturabilir (28).

Dermatofitler morfolojik olarak *Trichophyton*, *Microsporum* ve *Epidermophyton* olarak üç gruba ayrılmışlardır (29).

**Tablo 1.1.** *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* Cinslerinin Genel Morfolojik Özellikleri (29).

<b>Cins</b>	<b>Koloni yapısı</b>	<b>Mikrokonidiyum</b>	<b>Makrokonidiyum</b>
<i>Microsporum</i>	Gevşek, yün görünümünde küf kolonileri yapar.	Hifin kenarları boyunca teker teker dizilmiştir. Armut veya lobut şeklindedir. Az sayıda bulunmakla beraber ayırıcı tanıda önemleri yoktur.	Makrokonidiyumları ayırt edici karakterdedir. Mekik formunda olup kalın, tüberkülü geniş hücreduvarlarına sahiptir. Uçları sivridir. Hücre sayısı 1-15 arasında değişir. Büyüklükleri 6-16 x 6-25 µm arasında değişir. Çok sayıda makrokonidiyuma sahiptir.
<i>Trichophyton</i>	Pamuğumsu örgüde küf kolonileri oluşturur. Pigment üretimi tür ayırımında önemlidir.	Genellikle çok sayıda mikrokonidiyum bulunur. Yapısı türiçin karakteristiktir. Yuvarlak, armut veya lobut şeklindedir.	Genellikle ince duvarlı olmakla beraber kalın duvarlı da olabilir. Hücre sayısı 1-12 arasında değişir. Genellikle, silindir uçları, bazen fusiform şeklindedir. Tek veya demetler halinde olabilir. Büyüklükleri 8-86x 4-14 µm arasındadır. Makrokonidiyumları yok ya da az sayıdadır.
<i>Epidermophyton</i>	Kıvrımlı küf kolonileri yapar. Ortası tümsek, yüzeyi ışımsal olukludur.	Mikrokonidiyum oluşturmaz.	Çok sayıda makrokonidiyuma sahiptir. Makrokonidiyumları düz duvarlı, lobut şeklindedir. İkili üçlü kümeler yapabilir. 1-9 bölmelidir. 20-60x4-13 µm boyundadır. <i>Epidermophyton floccosum</i> cinsin tek patojenidir.

### 1.5.1. Microsporum Cinsi

Bu cins çok katlı, kalın veya ince duvarlı makrokonidialar üretmekle beraber mikrokonidialar da üretirler. Bu cins içindeki türler hücre duvarının dikenli, pürtüklü olmasıyla ayırt edilir. Hücre duvarının şekli ve kalınlığı türlere bağlıdır. Mikrokonidia 2 µm ile 3 µm boyutunda ve pyriformdur (30).

İnkübasyon süresi yaklaşık olarak 7 ile 10 gün arasındadır. Kolonileri *Trichophyton* cinsinin oluşturduğu kolonilere benzer görünüme sahip olabilirler. Oluşturdukları kolonilerin yüzey rengi beyaz, sarımsı kahverengi, gri, sarı veya bazen de pembemsi renkte olabilirler. Koloninin arka yüzey rengi bazı türler için ayırt edici olup değişkendir. Mikrokonidyumları gözyaşı damlası veya armut şeklindedir ama bunun ayırıcı tanıda önemi yoktur (3).

*M. canis* cinsinin makrokonidyumları fiçi şeklinde, bir ucu sivri, ve çok hücrelidir. *M. gypseum*'un makrokonidyumlarının ise uçları yuvarlaktır ve 6'dan az olmak üzere çok bölmelidir. *M. audouinii* çoğu kez makrokonidyum oluşturmaz. Mikrokonidyumlar nadiren gelişir ve diğer türlere benzerlik gösterir. Bu türlerde taraksı hifler ve merkezi klamidokonidyumlar sık sık gözlenir (29). Wood lambası ile parlak floresans verir (27).

### 1.5.2. Trichophyton Cinsi

*Trichophyton* dünya çapında yayılım göstermektedir. Kuzey ve Orta Avrupa'da tırnak ve ayak mantarına yol açan *T. mentagrophytes* ve *T. verrucosum*'un görülme sıklığı insanlarda İkinci Dünya Savaşı'ndan önce en yüksek orana sahip olduğu bildirilmiştir. *T. rubrum*'un görülme sıklığı 1948-1950 yılları arasında insanlarda düzenli olarak arttığı bildirilmiştir. Güney Avrupa ve Arap ülkelerinde, *T. verrucosum* gibi zoofilik dermatofitler en sık izole edilen türlerdir. Amerika Birleşik Devletleri ve Meksika'da, insandan *T. rubrum* izolasyonunun sıklığını *T. mentagrophytes* ve *T. tonsurans* takip ederken, *T. simii*'nin Hindistan'da yaygın olarak toprak, kümes hayvanları ve diğer hayvanlardan izole edildiği için Hint alt kıtasında endemik olduğu bildirilmiştir. Hindistan'da yapılan diğer çalışmalar *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* ve *T. rubrum*'un evcil köpeklerde yaygınlığını ve bunun sahiplerine bulaştırdıklarını bildirmişlerdir (16).

*Trichophyton* cinsi; tırnak, deriyi infekte edebilmektedirler. Makrokonidia ve mikrokonidialar görülür. Mikrokonidiaları armut şeklinde ve 2-3 µm'dir. Makrokonidiaları kalem gibi, mekik biçiminde ve ince duvarlıdır. Makrokonidialar bazı türlerde nadiren üretilir. Üzüm salkımı şeklinde veya tek olarak bulunur (30). İnkübasyon süresi 7 ile 10 gün arasındadır. Koloni yüzeyi krem-beyaz tüyümsü yapıda olmakla beraber, tabanı ise sarı, kırmızı-kahverengi renge sahiptir (4, 30).

Dermatofitlerin optimum üreme ısısı genellikle 22-26 °C arasındadır. Fakat *T. verrucosum* 37 °C'de daha iyi üremektedir. Üreme hızı dermatofit türlerine göre değişmekle beraber genellikle 1-4 hafta arasında üreme gösterirler. Optimal pH'ları 5.6'dır. Azot ihtiyacını karşılamak için peptonu, karbon ihtiyacını ise glukozdan karşılarlar. Üremeleri için Sabouroud Deksroz agar, Patates deksroz agar ve Mycobiotik agar gibi özel besi yerlerine ihtiyaç duymaktadırlar. Bu besi yerlerinde şeker konsantrasyonu yüksektir. Saprofit mantarlar dermatofitlerden daha hızlı üremektedirler. Saprofitlerin üremesini ve bakteriyel kontaminasyonu engellemek için bu besi yerlerine sikloheksimit, kloramfenikol ve gentamisin eklenmektedir (19).

Antropofilik *Trichophyton mentagrophytes* tipi sabouraud dekstroz agarda ürerken düz tüylü, saçaklı beyaz ve krem renginde koloniler oluşturur. Patates deksroz agarda ise yıldız şeklinde koloniler geliştirdiği görülür. Zoofilik tipi sabouraud dekstroz agarda 7-10 günde ürer. Düz, krem rengi, saman sarısı, sarımtrak veya kahverengi görünüşte ve orta hızda büyüyen çoğunlukla ışınal kenarlı koloniler oluşturur. Saç kılına in vitro olarak ekilen *T. mentagrophytes* suşlarının mikroskopik olarak saç perforasyonları oluşturur ve bu özellikleri ile de *T. rubrum*'dan ayrımları yapılabilir (18).

*T. mentagrophytes*'in oluşturduğu üzüm salkımı şeklindeki mikrokonidiyumlar karakteristiktir. Makrokonidiyumları farklı şekillerde ince ve düz duvarlıdır. Genelde, oluşumları puroya benzer bir şekildedir (31).

*Trichophyton terrestre*'nin deneysel olarak hayvanlarda infeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir. İnsanlarda patojen olarak kabul edilmemektedir (30). Bu türün koloni yüzeyi, beyaz, kırmızı ya da solgun sarı görünümünde ve düz, granüler yapıdadır. Koloni tabanı ise sarı, sarımsı kahverengi ya da kırmızı görünüme sahiptir. Mikrokonidiyumlar armut şeklindedir. Bazı suşlarda makrokonidiyumlar kalem şeklinde görülür (18).

*T. verrucosum*, optimum büyüme için tiamin ve inositol gerektirir. DTM ayrıca *Trichophytonun* gelişimi sırasında ortamın rengini sarıdan kırmızıya değiştiren fenol kırmızısı göstergesi de içerir. Proteoliz, amonyum iyonunu serbest bırakan büyüme sırasında ortaya çıkar ve ortam pH'sını alkaliye dönüştürür. Optimum üreme ısısı 37°C'dir. İnkübasyon süresi 2 haftadır ve 3-6 hafta sonra büyüme yokluğu negatif olarak kabul edilir. Sabouraud dekstroz agarda, *T. verrucosum* kolonileri yavaş büyüyen, küçük, disk şeklinde, beyazdan krem rengine dönüşen bir haldedir ve kadifemsi bir yüzey, yükseltilmiş bir merkez ve düz bir çevreye sahiptir. Koloni yüzey pigmentasyonu beyaz-gri, pembe, tutkal veya soluk sarı renktedir ve ters pigment pigmentersizden pembe/sarıya kadar değişebilir (16).

### **1.5.3. Epidermophyton Cinsi**

*Epidermophyton* cinsine ait *E. floccosum* ve *E. stockdaleae* türleri bilinmektedir ve sadece *E. floccosum* türü patojeniktir (1). Makrokonidiumlar lobut veya tenis raketi biçiminde, demetler halinde kümelenmiş ve 0-9 bölmeli, 20-60 µm x 4-13 µm büyüklüğündedirler. Mikrokonidium üretmezler. *E. floccosum* tırnağı ve saçsız deriyi infekte edebilmektedir. İnkübasyon süreleri 10 gündür. Kolonilerinin görünüşleri süetimsi, sarı ve yeşil renkte, tabanları ise kahverengidir (16).

### **1.6. Dermatofitlerin Epidemiyolojisi**

Dermatofitler doğal yaşam kaynaklarına göre antropofilik, zoofilik ve jeofiliktir (geofilik) olmak üzere 3 ekolojik gruba ayrılırlar (32).

Dermatofitik mantarlar bütün dünyada mevcuttur. Doğal rezervuarları, çoğunlukla hayvan ve insanlardır. İnfeksiyonun oluşumunda yakın temas ve sporların dayanıklılığı önemli etkenlerdir. İnfeksiyon uzun bir inkübasyon periyodunun ardından, fungal proteinlere karşı oluşan alerjik reaksiyonlar ve lokal inflamasyonlara neden olur (33).



**Tablo 1.2.** Dermatofitlerin Ekolojik Açıdan Sınıflandırılması (29).

<b>Antropofilik</b>	<b>Zoofilik</b>	<b>Geofilik</b>
<i>Epidermophyton floccosum</i>	<i>M. canis var. canis</i>	<i>M. fulvum</i>
<i>Microsporum audouinii</i>	<i>M. canis var. distortum</i>	<i>M. gypseum</i>
<i>Trichophyton concentricum</i>	<i>M. equinum</i>	<i>M. nanum</i>
<i>T. gourvilli</i>	<i>M. gallinea</i>	<i>M. persicolor</i>
<i>T. kanei</i>	<i>T. equinum</i>	<i>M. praecox</i>
<i>M. ferrugineum</i>	<i>T. mentagrophytes var.</i>	<i>M. racemosum</i>
<i>T. megninii</i>	<i>erinacei</i>	<i>M. vanbreuseghemii</i>
<i>T. mentagrophytes</i>	<i>T. mentagrophytes var.</i>	
<i>var. interdigitale</i>	<i>mentagrophytes</i>	
<i>T. raubitschekii</i>	<i>T. mentagrophytes var.</i>	
<i>T. schoenleinii</i>	<i>quinckeanum</i>	
<i>T. soudnense</i>	<i>T. simii</i>	
<i>T. tonsurans</i>	<i>T. verrucosum</i>	
<i>T. violaceum</i>		
<i>T. yaoundei</i>		
<i>T. rubrum</i>		

Antropofilik dermatofitler insan kaynaklıdır ve bu dermatofit türleri hastalık da oluşturabilir. İnsanlarda elin kıllı veya kılsız derisinde, ayaklarda infeksiyon oluşturmakla beraber insandan insana bulaşma direkt ya da indirekt yolla olur (30).

Antropofilik dermatofitler tırnağın keratin kısmında, kılda ve stratum korneumda infeksiyon oluştururlar. Yaptıkları infeksiyonlar ağır seyirli değildir. Derin dokulara nüfuz etmezler. En yaygını *Trichophyton rubrum* olduğu bildirilmiştir. Etken dünyada yaygın olarak görülmektedir. Özellikle sıcak dönemlerde tinea cruris ve tinea pedis an fazlaca karşılaşılan nedenidir (34).

Zoofilik dermatofitler hayvanlarda genellikle infeksiyon oluştururlar (32). Bu dermatofitler klinik veya subklinik infeksiyonlar oluşturabilmektedir. Hayvanlarda klinik lezyon oluşturanlar insanlarda da ringworma neden olabilirler. İnsanların el, yüz, baş ve kollarında infeksiyonlara neden olurlar. Oluşturdukları lezyonlar çok yangılıdır. İrinleşme görülebilir (34).

Jeofilik dermatofitlerin virulent olanları temelde *M. gypseum*, *M. fulvum*'dur. Toprak kaynaklı dermatofitlerdir. Keratinize dokularda kolonize olurlar ve hayvanlarda klinik lezyonlara neden olabilmektedirler. Toprakta bulunan sporlar ile temas sonucu bulaşma olur. İnsan-insan veya hayvan-hayvan arasında bulaşma nadir olarak bildirilmiştir (30).

*Trichophyton*'un jeofilik türleri daha çok toprakta bulunur. Yaşamlarını idame etmek için toprakta bulunan bakterilerden antibakteriyel maddeler üretirler. Zoofilik ve antropofilik türleri keratini kullanabilir, insan ve hayvanların derilerinde, kıllarında ve tüylerinde barınırlar. Deri pullarından, kıllarda ve tüylerde gömülü olarak toprağa yerleşebilirler. İnfeksiyonun yaygın olarak görüldüğü hayvan barınaklarında tekrarlayan infeksiyonlara neden olurlar. Konidiyumlar, yüksek nem ve düşük sıcaklıkta yaşayabilirler. Ayrıca infekte hayvanların iyileşmeleri sonrasında deri ve kıllarda canlı olarak kalırlar (16).

### **1.7. Patogenez**

Dermatofitozlar, etkeni taşıyan hastalar, çevreye epitel döküntüleri ve kılları ile bol miktarda artrospor saçarlar ve bunlar ile temas sonucu bulaşma görülür. Artrosporlar çok dayanıklıdır ve çevrede canlılıklarını aylarca sürdürebilirler. Artrosporlar bulaştıkları yeni konakta keratonisitlere yapışır ve germinasyon gösterip infeksiyon oluşturmaya başlarlar (35).

Dermatofitlerin oluşturdukları infeksiyonun şiddeti metabolik ürünlerinin konakta meydana getirdikleri reaksiyon, infeksiyona neden olan suşun virulensi, metabolik yerleşimi ve çevre şartları belirler (16). Dermatofitlerin elastin, keratin ve kollajen gibi bağ doku bileşenlerini parçalayan keratinaz, elastaz ve kollajenaz gibi bazı enzimleri vardır (16). Subkutan dokularda nadiren lezyon oluşturmaktadırlar (16). Sistemik infeksiyon oluşturmaları hakkında çok az sayıda çalışma vardır (16, 30). Dermatofitlerin oluşturdukları infeksiyonlar sonrası özellikle hücresel bağışıklık şekillenir ve sonrasında bu bağışıklık aşırı duyarlılığa neden olabilmektedir. Çok az miktarda humoral bağışıklık da şekillenmektedir (30).

### 1.8. Klinik Belirtiler

Klinik belirtiler dermatofitoza neden olan türe göre değişebilir. *Trichophyton* türlerinin oluşturduğu infeksiyonların klinik belirtileri genelde *Microsporum* türlerinden daha şiddetlidir (36). *Trikofitonların* neden olduğu infeksiyonlar klinik olarak kıl dökülmeleri ve kabuklanma gibi inflamasyonlara neden olan kabartılar gözlenir (37).

İnfeksiyonun yoğunluğuna bağlı olarak lokal kıl dökülmeleri ve pul şeklinde kabuklanmış hafifçe kalkmış yuvarlak alanlar görülmektedir. *M. canis*'in neden olduğu infeksiyonlar kedi ve köpeklerde düzensiz lezyonlar oluştururlar ve asemptomatik olarak da seyredebilirler. Uzun tüylü ırklar bu infeksiyona daha yatkındır (7).

Köpeklerde dermofit etkenli infeksiyonların %70'inden *M.canis*'in sorumlu olduğu ve %5'inde etkeni asemptomatik olarak taşıdığı bildirilmiştir (38).

Sığırlarda dermatofitlerin neden olduğu lezyonlar klinik olarak genellikle baş bölgesine lokalize olmuşlardır. Sıklıkla göz çevresi, alın, burun, yanak ve kulak çevresinde bulunmakla beraber boyun ve sağrı bölgesinde hatta vücudun tüm bölgelerine yayılabilmektedir. Lezyonlar başta kıl dökülmeleri daha sonrasında kepeklenme, tebeşir tozu, gri beyaz renkte kabuklanma şeklinde görülür. Lezyonlar yuvarlak şekilli olmakla beraber düzensizde olabilmektedir (39).

Kedilerde daha çok baş, kulak ve vücudun distal bölgelerinde infeksiyon görülür. *Trichophyton* infeksiyonları; kedilerde tüy kaybı, kabuklanma, eksudasyon ve eriteme neden olabilir (40). *Microsporum* infeksiyonları köpeklerde; kısmi tüy kaybının sebep olduğu lokal yuvarlak alanlar, kül benzeri kepeklenme ve kıllarda kırılmalara sebep olabilir. Lezyonlar, eritramatöz kenarlı olabilir. Diğer türlerin neden olduğu infeksiyonlar genelde daha şiddetlidir (40).

### 1.9. Dermotofitlerin Tanısı

Mantar infeksiyonlarına neden olan etkenlerin tanısı, tür tayini, tiplendirilmesi ve antifungal ilaçlara karşı dirençle ilgili çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Etken tanımlanmasında direkt mikroskopik inceleme ve kültür geleneksel konvansiyonel yöntemlerdir. Fakat standart konvansiyonel yöntemlerin gerek zaman alıcı olması, zaman zaman olumlu sonuç vermemeleri, bazı mantarlar türleri için zor uygulanabilir ve yorumlanabilir olması bu yöntemlerin dışında duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı

yeni tanı yöntemleri geliştirilmektedir. Moleküler yöntemlerin tanıda giderek artan oranda kullanılması, bu güçlüklerin aşılmasında önemli bir adımdır (10, 11).

Matrix yardımcı lazer desorpsiyon iyonizasyonu uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI TOF-MS) teknolojisi, bakteri ve mantarların rutin tanısıl diferansiasyonu için çok önemli hale gelmiştir (13).

Dermatofitler, suşun cinsine bağlı olarak, üzerinde yaşadıkları konakçının genellikle belli bölgelerine yerleşirler. *Microsporum* cinsi; kıllı deri, kıl ve deriyi, *Trichophyton* cinsi kıl, tırnak, kıllı deriyi; *Epidermatofiton* türleri ise genellikle tırnağı infekte ederler (41).

Mantar infeksiyonlarının oluşturdukları lezyonların dış kenar tabakalarında mantar spor ve hiflerine daha çok rastlanılır. Materyal alınırken lezyon kenarları seçilmeli veya deri kazıntısı şeklinde alınmalıdır. Materyal alınmadan önce bölgenin alkolle temizlenmesi önerilir. Materyal alırken bistüri, tırnak kesici, makas ya da uygun çift yüzlü bıçaklar kullanılabilir (16).

Materyal olarak deri döküntüsü ve kıl örneği alırken bazı temel kurallara uymakta fayda vardır. Bu temel kurallar; infekte kılların alımında steril pens kullanımı, *Trichophyton* cinsi türlerde lezyonun kenarlarındaki kıllar toplanır. Eğer infeksiyon siyah benekler oluşturmuş ise epidermal tabakanın alt yapısındaki, deformasyona uğramış ve kırılmış kökleri çıkarmak gerekir. Numune alımında lezyonun dış kenar tabakaları seçilmelidir (16, 29).

### **1.9.1. Ultraviolet Wood Işığı Altında Muayene**

Bu yöntem infekte kılların saptanmasında kullanılır. Dermatofitlerin bazı türleri ile infekte olan kıllar, ultraviolet ışığında sarı-yeşil ya da yeşil-mavi bir parıltı verir. Wood lambası altında görülen floresans, mantarların oluşturdukları metabolik atıklardan ileri gelir. Bu parıltının olmaması infeksiyonun olmadığını ifade etmez. Bu nedenle floresans versin vermesin mikroskopik muayene ve ekimlerin yapılması gereklidir. Bu yöntemin spesifitesini, kıl veya deri kazıntılarına yapışmış olan organik veya inorganik maddeler azaltmaktadır. Wood lambası ile muayene karanlık ortamda yapılmalıdır. Petri kutusuna alınan örnekler ışığın altında tutularak floresans yönünden kontrol edilebilirler (23).

Wood lambası taşınabilir ultraviyole ışık kaynağıdır. Karanlık odada yapılan incelemede bazı dermatofit türlerinin parıldama verdiği görülür. *M. canis* ve *M. audouinii* tarafında sentezlenen metabolitlerden dolayı sarımsı yeşil parıldama verdiği bildirilmiştir. Bazı kimyasal maddelerin de floresansa neden olabileceği bildirilmiştir (23).

*M. canis* ve *M. audouinii* türlerinin sentezlediği metabolitler sarımsı-yeşil parıldama verir. *M. canis* suşlarının %60'ına yakınının ürettiği zaman triptofan metabolitleri açığa çıkar ve bundan dolayı wood lambası altında yapılan muayenesinde parıldama verdiği bildirilmiştir (40, 42).

**Tablo 1.3.** Wood Işığı Altında İnfekte Kılılarda Floresans Durumu (23).

<i>E.floccosum</i>	Kılları infekte etmez.
<i>M.audouinii</i>	Parlak sarı-yeşilimsi floresans
<i>M.canis</i>	Parlak sarı-yeşilimsi floresans
<i>M.cookei</i>	floresans yok
<i>M.distortum</i>	Parlak sarı-yeşilimsi floresans
<i>M.ferrugineum</i>	Parlak sarı-yeşilimsi floresans
<i>M.gypseum</i>	floresans yok veya çok açık yeşil
<i>M.nanum</i>	floresans yok veya çok açık yeşil
<i>M.vanbreuseghemii</i>	floresans yok veya çok açık yeşil
<i>T.concetricum</i>	Kılları infekte etmez.
<i>T.equinum</i>	floresans yok
<i>T.gourvilii</i>	floresans yok
<i>T.megninii</i>	floresans yok
<i>T.mentagrophytes</i>	floresans yok
<i>T.rubrum</i>	floresans yok
<i>T.schoenleinii</i>	floresans yok
<i>T.simii</i>	Yeşil floresans
<i>T.soudanese</i>	floresans yok veya çok hafif
<i>T.tonsurans</i>	floresans yok veya çok hafif
<i>T.verrucosum</i>	floresans yok veya çok hafif

### 1.9.2. Direkt Mikroskopi

Direkt mikroskopik muayenenin duyarlılığı düşüktür. Avantajı, hızlı sonuç almakla beraber ucuz olmasıdır. Bulgular yüksek olasılıkla tanıyı sağlar ve bir saatten kısa bir sürede sonuçlanır (25).

Kıl ve tüylerin muayenesinde %10-20 KOH solüsyonu kullanılır. KOH kılların üzerindeki bazı materyalleri eritir ve incelemeyi kolaylaştırmaktadır. Uzun süre etkimesi sonucu veya yüksek yoğunlukta bulunması dermatofit elementlerini yumuşamasına ve dağılmasına neden olabilir (25).

Deri kazıntıları için, lam üzerine 1-2 damla KOH solüsyonuna damlatılır ve lamelle üzeri kapatılır. Hidrolizasyonu hızlandırmak için alttan çok hafifçe ısıtılır (50-60°C). Bunun yerine metilen mavisi de kullanılabilir. 30-60 dakika sonra preparat mikroskopta incelenir. Mikroskopta hifa ve sporlar aranır (23).

Deri kazıntıları için hazırlanan preparatlarda mantar hifleri uzun, dallanan, bölmeli ve kıvrımlı iplikçikler görülebilir. İyi hazırlanmış preparatlarda çeşitli organelleri, yağ damlalarını, miselyumları ve çekirdekler görülebilir (43).

### 1.9.3. Kültür

Etkenin kültürü yapılarak ancak cins ve tür tayini yapılabilir. Şüpheli klinik örnekler Sabouraud dekstroz agar ekilir. Sabouraud dekstroz agar hazırlanırken sikloheksimit ve uygun antibiyotik eklenir. Kültürler 22-26° C'lik etüvde 4-8 hafta veya oda ısısında 4-8 hafta inkübasyona bırakılır ve haftada bir veya iki defa kontrol edilir. *T. verrucosum* diğer dermatofitlerden ayrı olarak üremesi 37° C'de daha iyidir. Etkenin yapılan kültürü sonucu üreyen mantarların cins ve türleri; koloni özellikleri, mikroskopik yapı özellikleri gibi morfolojik ve metabolik incelemeler sonucu ortaya konur (44).

Kültür yapılırken uygun besi yerlerine özel iğneler yardımı ile besiyerlerine ekimler gerçekleştirilir. Materyaller besi yerlerine bol miktarda ve yüzeyi geniş olacak biçimde ekilmelidir. Kültürlere saprofit mantarların üremesini engellemek amacıyla 0.4 µg/ml aktidion eklemek yeterlidir. Ayrıca antibakteriyel olarak gentamisin veya kloramfenikol kullanılmalıdır (45).

Dermatofitlerin üremesine bazen fırsatçı küf mantarlarında eşlik ederler bunun önlenmesi için yapılan çalışmalar sonucu seçici ilk izolasyon besi yerleri geliştirilmiştir. Dermatofit Test Besiyeri (DTM) bunlardan biridir (46).

DTM'de fenol red (Ph indikatörü) bulunur. Dermatofitlerin besi yerinde üremeleri sonucu rengi kehribardan kırmızıya döner. Dezavantajı ise pek çok mantar ve bakterinin üreme sırasında Ph değişimine neden olması ve kolonilerin taban kısmında oluşan pigmentasyonun renk değişikliğinden dolayı görülmemesidir. Pariser (1990) ve Davise (1996) bu test yönteminin %95 oranında güvenilir olduğunu bildirmişlerdir. Bu yöntemde yaşanan sorunların aşımı için (DIM) Dermatofit İdentifikasyon Medium geliştirilmiş, %99 oranında duyarlılık, %95,7 oranında ise özgüllüğü bildirilmiştir (47).

Dermatofitlerin koloni ve mikroskopik morfolojilerine göre identifikasyon yapılır. Dermatofitlerin makroskopik ve mikroskopik incelemeleri mantar atlaslarından yararlanmak suretiyle identifikasyona gidilir. Besi yerlerinde şekillenen kolonilerin ön ve arka yüzeylerinin pigmentasyonu göz önünde bulundurularak makroskopik olarak kayıt edilir. Kültürden hazırlanan preparatlar laktofenol pamuk mavisi ile boyanarak mikroskopik olarak incelenir ve kolonilerdeki, hifa, makrokonidiyum, mikrokonidiyum, artrospor, klamidospore ve blastospore morfolojilerine bakılarak identifikasyonu yapılır (31).

#### **1.9.4. Moleküler Teknikler**

Dermatofitoların tanısı için sıklıkla kullanılan laboratuvar yöntemleri; Direkt mikroskopik inceleme ve kültürdür. Direkt mikroskopik inceleme ve mantar kültürü yöntemlerinin dezavantajları yalancı negatif sonuçlar verebilmeleri ve tür tayininin yapılmasının güç olmasıdır (48).

Dermatofitlerin inkübasyon sürelerinin uzun olması (1-4 hafta), saprofit mantarların besi yerlerini kontamine edebilmeleri, mantar elemanlarının alınan örneklerde az sayıda bulunması ile yalancı negatif sonuç vermesi gibi özellikler mantar kültürünün olumsuz yönleridir. Bununla beraber üreyen mantarların tanımlanabilmesi için zaman alıcı ve zahmetli bir takım kesin tanı vermeyen testlere de ihtiyaç duyulmaktadır (49).

Dermatofit türlerinin saptanmasında moleküler yöntemlerin, klinik numunelerden direkt olarak saptanmasında ve kültürde üreyen türlerin tanısında klasik yöntemlerden daha kısa sürede ve doğru sonuçlar verdiği bildirilmiştir (48).

Moleküler yöntemlerle klinik mantarların tanımlanması yanı sıra tür tayini, epidemiyolojik tiplendirmeler ve salgınlar ile ilaç direncini izleme amacıyla da kullanıldığı bildirilmiştir (50).

Mikolojide ilk moleküler yöntemlerin uygulanması (ilk PCR) 1990 yılında White ark. tarafından yapılmıştır. PCR için farklı birkaç dizi olmasına rağmen, rRNA genleri tüm DNA'ları çoğaltabilen yüksek oranda korunmuş olan bölgeleri ve tür düzeyinde tanımlamayı sağlayan korunmuş bölgeler içerdikleri için en uygun hedef bölgelerdir. Avantajı rRNA genlerinin PCR'ın hassasiyetini artıran yüksek kopya sayısının olmasıdır (51).

Moleküler yöntemler; gen spesifik PCR, PCR-RFLP analizi, PCR fingerprinting, DNA hibridizasyon kitin sentaz ve rRNA bölgelerinin sekanslanmasıdır (52-54).

### **Kültürlerde Dermatofit Türlerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması**

Kültürlerden dermatofit türlerinin morfolojik olarak tanımlanması bir izolattan diğerine çeşitlilik ve türler arası benzer karakterlerden dolayı bazen zor ya da belirsizdir. Dolayısıyla DNA sekansları doğru tespit için çok yararlıdır. 5.8S rDNA'yı kodlayan DNA sekansını çevreleyen dahili olarak transkripsiyona tabi tutulan izleyiciler ITS1 ve ITS2'nin farklı dermatofit türlerinin ayırımı için çok hassas ve güvenilir olduğu bildirilmiştir (55, 56).

Ayrıca 28s rDNA sekanslarının dermatofit türlerinin tanımlanması için uygundur (57). Fakat bunun daha az ayırt edici olduğu bildirilmiştir (58). Dermatofitlerin tür düzeyinde belirlenmesinde Topoizomeraz II ve Kitin sentaz I kodlayan genler hedef olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (59, 60).

Halka açık NCBI veri tabanını sekans karşılaştırılmasıyla dermatofit türlerin identifikasyonunda kullanılması sıklıkla problem arz eder. Örnek olarak *Trichophyton mentagrophytes*'in çok fazla özdeş sekanslara sahip olması gibi. Sekans araştırmacılar tarafından daha önce tanımlanan suşlarda yanlışlıklar tespit edildiği bildirilmiştir. Bunun çözümü Centraalbureauvoor Schimmel Cultures Dermatophyte web sitesinde



(<http://www.cbs.knaw.nl/dermatophytes/>) bulunan ITS sekans veri tabanını kullanmak veya laboratuvar için veri tabanı oluşturmaktır (61, 62).

### **Mantarların Moleküler Yöntemlerle Doğrudan İdentifikasyonu**

Toplanan numunelerdeki mantarın doğrudan tanımlanması için PCR yöntemleri, DNA ekstraksiyon yöntemleri, PCR primerleri ve PCR ürünlerinin analiz yöntemleri araştırmadan araştırmaya farklılık göstermiştir. Kullanılan primerler, yalnızca bir dermatofit türünü, pan-dermatofit primerleri (dermatofit türlerini saptamak için dermatofit-spesifik primerler) ve pan-fungal primerleri (mantar türlerini tespit etmek için primerler) tespit etmek için spesifik primerlerdir. ITS ve 28S rDNA sekansları ve topoizomera II'yi kodlayan genler ve kitin sentaz hedef olarak kullanılmıştır.

Dermatolojik numunelerde doğrudan mantar tanımlaması için geliştirilen çeşitli moleküler yöntemler iki gruba ayrılabilir: bunlar geleneksel PCR ve gerçek zamanlı PCR teknikleridir. Tarif edilen yöntemler, dermatofit tespiti ve tür tanımlamaya odaklanmıştır (63, 64).

### **Geleneksel PCR Teknikleri**

Birçok metod özel primerlerle belirli bir türü tespit etmeyi amaçlar. Agaroz jeldeki belirli boyuttaki amplicansyon ürünleri, tırnaktaki *Trichophyton rubrum*'un identifikasyonunu insan ve hayvan derisinde daha fazla analize gerek kalmadan identifikasyonunu sağladığı bildirilmiştir (65, 66).

Multiplex PCR, aynı PCR karışımına türlere özgü primer çiftleri ekleyerek gerçekleştirilmiştir. Herhangi bir dermatofit türünün tespiti için pan-dermatofit primerler eklenmiştir (67-69).

Bir veya birkaç Post-PCR basamağı dermatolojik numunelerdeki dermatofit algılama hassasiyetini arttırmayı ve infeksiyöz fungalların amplicanslardan tür seviyesinde pan-fungal primerlerle bulmayı sağlamıştır. Post-PCR analizinin dezavantajları, daha fazla manipülasyon, PCR ürünlerinin işlenmesiyle ilişkili bulaşma riski ve teşhis yanıtı alma süresinin uzun olmasıdır. Bulaşma riski yüksek olan mantar bulgularının duyarlılığını arttırmak için basit bir yöntem, nested veya seminested PCR yapmak olduğu bildirilmiştir (70-72).

Dermatolojik numunelerde seçilen infeksiyöz mantar türlerinin ayırt edilmesi ve tanımlanması için polimorfizm fragman uzunluğu (RFLP) yapılmış ve bu teknik *Trichophyton spp.* ve *Scytalidium spp.* (73, 74) veya *Trichophyton spp.* *Fusarium spp.* ve *Aspergillus spp.* tanımlamak için kullanılmıştır (75, 76). Karışık tırnak infeksiyonlarında iki farklı türün tanımlanması, agaroz jell bant profillerinin yorumlanmasıyla mümkün olmuş ve alternatif olarak, sekanslamanın onikomikozdaki infeksiyöz ajanın belirlenmesi için çok etkili olduğu ortaya çıkmıştır (72, 76). Enfekte cilt ve tırnaklarda dermatofit bulgularının duyarlılığını arttırmak için PCR-ELISA yöntemi geliştirilmiştir (77). PCR amplifikasyonları, beş ortak dermatofitin topoizomeras II genini (beş farklı reaksiyon) hedef alan, beş türe özgü digoksigen-etiketli primerler kullanılarak gerçekleştirilmiş ve PCR ürünleri daha sonra 5'-biotinilatlanmış türe özgü oligonükleotid proplar ile hibridize edilmiştir. ELISA tabanlı tespit, geleneksel jel elektroforezinden on kat daha duyarlı bulunduğu bildirilmiştir (78).

### **Gerçek Zamanlı PCR Tekniği Real-Time PCR**

Klinik örneklerde bir veya birkaç dermatofit tanısını belirlemek için çeşitli gerçek zamanlı testler geliştirilmiştir. Gerçek zamanlı PCR analizlerin avantajı reaksiyon sonuçlarının otomasyonu ile kapalı tüp sisteminin kullanılmasıdır. Bu şekilde, post-PCR analizi kullanılmadan kontaminasyon riski azaltılmış olur. İlk geliştirilen test ise sadece onychomycosis' de *T. rubrum*' u teşhis ettiği bildirilmiştir (79).

### **1.9.5. Kütle Spektrometrisi – MALDI TOF-MS**

MALDI TOF-MS klinik mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından, mikroorganizmaların hızlı, düşük maliyetli ve doğru tanımlanması ihtiyacına karşı giderek daha fazla kullanılmaktadır. Birkaç araştırma ekibi son zamanlarda bakterilere, daha sonra maya tanımlamasına adapte edilmiş MALDI TOF-MS kullanarak spektrumları belirlemeyi başarmıştır (80).

MALDI TOF-MS'nin son yıllarda birçok mikroorganizmanın hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanmasını sağladığı bildirilmiştir. MALDI TOF-MS ilk olarak bakterilerin tanımlanması için uyarlanmıştır (81). Teknik daha sonra maya için ayarlanmıştır.

Son zamanlarda, çeşitli mikolojik araştırma ekipleri tarafından yapılan çabalar, yeterli referans spektrum kütüphanelerinin kurulması ve rutin laboratuvarlar için mevcut olması koşuluyla, yöntemin filamentöz mantarların tanımlamasına başarıyla uyarlanabileceğini göstermiştir.

İzolatlar MALDI plaklarının üzerine sürülür, matriks solüsyonu ile havada kuruması sağlanır. Matrikste bulunan mikroorganizmalar lazer ışını ile ısıtılıp buharlaşması ve iyonlarına ayrılması sağlanır. Matriksten iyonlaşan moleküllerin yüzeyden ayrılışından dedektöre kadar uçtuğu sırada geçen süre hesaplanır. Daha sonra cihazda oluşan spektrum daha önceden bilinen referans spektrumlar ile karşılaştırılır. Örnek spektrum referans spektruma olan benzerliğine bağlı olarak, mikroorganizma tanımlaması yapılmaktadır (80,81).

Özcan ve ark. (82) MALDI TOF MS ile *Candida* türlerini saptamaya çalıştıkları çalışmalarında *Candida* türlerini MALDI Biotyper kütle spektrometresi kullanarak tanımlamayı amaçlamışlardır. Çalışmaya 297 *Candida* türü dahil edilmiş ve Çimlenme Borusu Testi (ÇBT) ile albicans ve albicans dışı ayrımı yapılmış 179 izolat (%60,3) ÇBT pozitif kaydedilmiş ve MALDI TOF-MS ile *C. albicans* olarak tanımlanmıştır. Ferreira ve ark. (83) yaptıkları çalışmalarında konvensiyonel yöntemler ile MALDI TOF-MS'nin uyumluluğu hakkında cins düzeyinde tanımlamanın %100, tür düzeyinde ise %99,2 olarak bildirmiş ve sonucunda MALDI TOF-MS'nin geleneksel yöntemlere kıyasla daha hızlı, ekonomik ve güvenilir olduğunu vurgulamışlardır. Yaman ve ark. yaptıkları çalışmada 281 *Candida spp.* İzolatını geleneksel yöntem, moleküler yöntem, VITEK 2 otomatize sistemi ve MALDI TOF-MS yöntemi ile teşhisini yapmışlardır ve MALDI TOF-MS'nin %100 oranında doğru tanımladığı sonucunu bildirmişlerdir (85). Bartosch ve ark. tarafından yapılan; *T. verrucosum*'un diğer dermatofitlerden kütle spektrometresi ile ayırt edilmesini sağlamak ve kütle spektrumunun ayırt edici özelliklerini tanımlamak amacıyla yaptıkları çalışmalarında; *T. verrucosum*'un MALDI TOF-MS'nin *T. verrucosum*'u tanımlamak için güçlü ve güvenilir bir araç olduğu bildirilmiştir (84).

## 1.10. Tedavi

Günümüzde Veteriner Hekimliğinde başlıca kullanılan antifungaller; azoller (ketakonazol, enilkonazol, itrakonazol, mikonazol, klotrimazol, ekonazol, tiabendazol,

flukanazol), poliyenler (amfoterisin B, nistatin, natamisin), allilaminler (terbinafin), griseofulvin, lufenuron olarak gruplandırılabilir (86, 87).

Etki mekanizmasına göre antifungaller dörde ayrılırlar: DNA veya RNA sentezini inhibe edenler (flusitozin), hücre zarı yapısını bozanlar (amfoterisin B) ve ergosterol biyosentezini inhibe edenler (ekinokandinler) (88). Vorikanozol ve posakonazol daha etkin olduğu çalışmalarla bildirilmiştir (86, 89).

Profilaksi ve terapi için, iki zayıflatılmış canlı aşı (LTF-130 ve TV-M- 310) ve bazı inaktive aşılar şu anda Avrupa'daki sığır trikofitozisinde kullanılmaktadır (15). Türkiye'de de sığır trikofitozisinde zayıflatılmış canlı aşılar profilaksi ve tedavide kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmalar sonucu (in vitro ve in vivo) topikal tedavide Lime sülfür, miconazole, ve enilconazole'un kullanımının uygun olduğu bildirilmiştir. Bunlardan birin hayvanın tamamına haftada 2 kez uygulanması önerilmektedir. Povidine iodine ve chlorhexidine infekte olan spor ve kıllara etkisi olmadığından topikal kullanımı önerilmemektedir (90).

### **1.11. Koruma**

Birçok ülkede *Trichophyton* aşısı 1970'ten beri kullanılmaktadır. *T. verrucosum*'un (LTF-130 suşu) dondurarak kurutulmuş konidiyumlarını ve hif elemanlarını içeren adjuvantlı olmayan canlı bir aşıdır. İntramusküler yoldan enjekte edilen önleyici ve aynı zamanda tedavi edici bir aşıdır. Buzağılarda tavsiye edilen aşılama yaşı 2–4 haftadır. Bağışıklık ömür boyu sürer ve yıllık tekrara ihtiyaç duyulmaz. Aşılama, 4-6 günlük buzağılarda gerçekleştirilirse enjeksiyon bölgesinde saç dökülmesi ile birlikte orta boyutta bir lezyon (1-2 cm) ortaya çıkabileceği ve bu da muhtemelen aşı etkeninin virülansı nedeniyle birkaç hafta sonra meydana gelebileceği bildirilmiştir (16).

Kütle spektrometrisi (MALDI TOF-MS) teknolojisi, bakteri ve mantarların rutin tanısı için çok önemli hale gelmiştir (13). Bu çalışmada deri lezyonu bulunan dermatofitoz şüpheli sığırlardan *T.verrucosum*'un kültür yöntemi identifikasyonu MALDI TOF- MS ile doğrulanması amaçlandı.

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Gereç

Bu çalışmada Şanlıurfa; Eyyübiye, Bozova, Hilvan ilçelerinden dermatofitoz şüpheli 100 adet sığırdan alınan deri kazıntısı ve kıl örnekleri materyal olarak kullanıldı. Örneklerin kaynakları ve sayıları Tablo 2.1’de gösterilmiştir. Dermatofitoz şüpheli olarak alınan 100 adet materyal Harran Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına getirilerek dermatofit varlığı yönünden incelendi.

Tablo 2.1. Materyallerin Kaynak ve Sayıları.

Materyellerin Kaynakları	Sığır
Eyyübiye/Şanlıurfa	15
Bozova/Şanlıurfa	50
Hilvan/Şanlıurfa	35
<b>Toplam</b>	<b>100</b>



Şekil 2.1. Dermatofitoz İnfeksiyonlu Sığırlar

Dermatofitozlu hayvan lezyonlarının; yerleşim yeri, şekli, büyüklüğü yayılma durumu ve meydana getirdikleri bozukluğun derecesi gibi önemli noktalar göz önünde bulundurularak, lezyon ve çevresi %70’lik alkol ile iyice silindi. Lezyonun çevresinden başlamak üzere steril bir bistüri ile deri döküntüleri kazınarak, steril bir pens yardımı ile

de kıllar çekilerek steril petrilere alındı. Alınan numuneler en kısa süre içerisinde laboratuvara ulaştırılarak, laboratuvar incelemeleri yapıldı.

### **Kullanılan Besiyerleri**

#### **Sabouraud Dekstroz Agar (SDA, Merck, VM259638)**

Dekstroz	40 g.
Pepton	10 g.
Agar	15 g.
Distile su	1000 ml

#### **Trichophyton Agar**

Trichophyton agar 3 (TA, Difco, Le Pont de Claix/France)

Vitamin assay Casamino Acids	2.5g/L,
Dextrose	40g/L,
Monopotassium Phosphate	1.8g/L,
Magnesium Sulfate	0.1g/L,
Agar	15g/L,
Inosito	50mg/L,
Thiamine HCl	200µg/L

#### **Patates Dekstroz Agar (PDA, LAB M, LAB098 )**

Patates Ekstrakt	4 g
Dekstroz	20 g
Agar No.1	15 g
Distile su	1000 ml

Yukarıda içerikleri ile birlikte verilen besi yerleri kullanma talimatına göre 500 ml distile su ile karıştırılıp eritildikten sonra 121<sup>0</sup>C'de 15 dk. otoklavda steril edildikten sonra 50 <sup>0</sup>C'ye kadar soğutuldu. Sabouraud agar'a siklohekzimit ve kloramfenikol katıldı. Steril petrilere döküldü. Kullanılıncaya kadar besiyerleri buzdolabında saklandı.

#### **%15'lik KOH**

KOH	15 gr
Distile Su	

100 ml'lik falkon tüpüne 15 gr KOH tartılarak konuldu.  zerine distile su eklenerek 100 ml'ye tamamlandı.

### **Laktofenol Pamuk Mavisi (Merck, 0B328897)**

Laktik asit	20 ml
Fenol Kristalleri	20 g
Gliserin	40 ml
Distile su	20 ml
Pamuk mavisi	2 ml

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Direkt Mikroskopi**

Alınan numuneler laboratuvara getirilerek az bir miktarı lam üzerine alındı ve üstüne %15'lik KOH  zeltisi damlatıldı. Hazırlanan preparatın üzerine bir lamel kapatıldı ve hafifçe ısıtılarak 15-20 dakika oda ısısında bekletildi. Preparat ışık mikroskopunda önce 10X, sonra 40X objektifiyle incelendi. Preparatta mantar spor ve hif yapıları arandı ve sonuçlar kaydedildi.

### **2.2.2. Kültür**

Laboratuvara ulaştırılan numuneler Sabouraud Dektroz Agar (SDA)'a ekimleri yapıldı. *T. verrucosum*  retilmesi amacıyla Sabouraud Dektroz Agar (Merck, Darmstadt, Germany)'a thiamine (4 mg /ml), inositol (100 mg/ml), cycloheximide (0.5 mg/ml) ve chloramphenicol (0.1 mg/ml), katılarak kullanıldı. Laboratuvara getirilen örneklerden (SDA)'a ekimler yapıldı. Ekimi yapılan besiyerleri 26<sup>0</sup>C'lik etüve konularak dört hafta inkübasyona bırakıldı. Oluşan üremeler 3-4 günde bir kontrol edildi. Inkübasyon sonunda oluşan koloniler steril bir öze ile alınarak lam üzerine konuldu.  zerine Laktofenol Pamuk Mavisi damlatıldı ve üstü lamel ile kapatılarak mikroskopun önce 10X sonra 40X objektifi ile incelendi. Üreme görülen mantar kolonilerinin; koloni yüzey renkleri, taban pigmentleri, üreme hızları ve mikroskopik olarak hiflerin yapısı, mikrokonidyumlar, makrokonidyumların varlığı göz önüne alınarak mantar atlası yardımı ile identifikasyonları gerçekleştirildi (31).

Trichophyton Agar ve Patates Dekstroz Agara (PDA) konidiyum gelişimini ve pigment oluşumunu arttırmasından dolayı üreme görülen besiyerlerinden subkültürleri yapıldı. Besiyerleri 37 °C'lik etüve konularak 4-6 hafta inkübasyona bırakıldı. Üreyen koloniler önce makroskobik özellikleri kaydedildi. Sonra kolonilerden steril bir öze yardımı ile az bir miktar alınarak lam üzerine konuldu ve üzerine Laktofenol Pamuk Mavisı damlatılarak üzeri bir lamel ile kapatıldı. Hazırlanan preparat mikroskobun önce 10X, sonra 40X objektifleriyle mikroskobik özellikleri incelenerek mantar atlası yardımı ile identifiye edildi.

### 2.2.3. Kütle Spektrometrik Analizi- Maldi Tof-Ms

Kütle spektrometrik analizi Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı. Analiz için Biotyper Microflex LT modeli (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Almanya) kullanıldı. Numunelerin hazırlanması ve işlenmesi imalatçı tarafından önerilen şekilde yapıldı (84).

Bir koloni çevresinden üç eşit parça (1 mm x 1 mm) bir inokülasyon iğnesi ile toplandı ve Sabouraud broth içine aktarıldı. Daha sonra, tüpler 48 ° C'de doğrusal çalkalayıcıda inkübe edildi.

Mantar içeren sıvı kültürler eppendorf tüplerine aktarıldı ve 10 µl% 10 Tween 80 çözeltisi eklenerek vortekslendi ve 9520 g'da 10 dakika santrifüj edildi.

Süpernatant dikkatli bir şekilde çıkarıldı ve peletler 1 ml deiyonize steril su ile yıkandı. Vorteksleme, santrifüjleme ve süpernatanın uzaklaştırılması gerçekleştirilerek yıkama işlemi tekrarlandı. Peletler 200 µl deiyonize steril su ve 600 µl mutlak etanol ile karıştırıldı. Numuneler, -80 ° C'de 12 saat süreyle donduruldu.

Çözünme işleminden sonra, numuneler santrifüjlendi ve süpernatant bir kez daha uzaklaştırılarak, 28 ° C'de 30 dakika kurutuldu. Daha sonra, tortu içine 50 µl% 70 formik asit ve 50 µl asetronitril ilave edildi. Santrifüjden sonra, 2 µl süpernatant bir MALDI hedef plakasına (MSP 96 BC zemin çelik hedefi, Bruker Daltonik GmbH) aktarıldı ve 28 ° C'de kurutuldu (84).

*T. verrucosum* suşları için, Sabouraud kültüründe süpernatanın 12 noktası ölçüldü. Son olarak, numuneler birlikte kristalleştirme için doymuş a-siyano-4-hidroksi sinamik asit çözeltisi (HCCA matrisi, Bruker Daltonik GmbH, her bir nokta için 1 µl) ile üzerine bindirildi.



Kütle spektrometrik ölçüm, bir kütle içinde doğrusal pozitif iyon modunda yapıldı 2000-20,000 Da aralığı, Spektrumların temel düzeltme, pürüzsüzleştirme ve tepe filtreleme Bruker Daltonik GmbH yazılım paketiyle (flex Analysis Version 3.4.76) yapıldı.



### 3. BULGULAR

Bu çalışmada, Şanlıurfa ili Eyyübiye, Bozova, Hilvan ilçelerinden dermatofitoz şüpheli 100 adet hayvandan örnek alındı. Numune alınan hayvanların 37 (%37) adedi dişi 63 (%63) adedi ise erkek olarak belirlendi. Ayrıca incelenen sığırların 34(%34)'ü 0-6 aylık, 53(%53)'ü 6ay-1 yaş, 13(%13) 'ü ise 1 yaşından büyük olduğu kaydedildi (Tablo 3.1).

Yaş aralıklarına göre infeksiyonun görülme oranı SPSS 16.0 programı kullanılarak yapıldı. İnfeksiyon oranının 1 yaşından küçük sığırlarda diğer yaşlara oranla daha yüksek görüldüğü ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya konuldu ( $P < 0,05$ ).

**Tablo 3.1.** İncelenen Materyallerin Yaş ve Cinsiyetlere Dağılımı.

Materyal Kaynakları	Yaş Grupları			Cinsiyet		Toplam
	0-6 ay	6 ay- 1 yaş	1 yaş ve üzeri	Erkek	Dişi	
Hilvan	14	21	-	13	22	35
Bozova	7	30	13	44	6	50
Eyyübiye	13	2	-	6	9	15
<b>Toplam (%)</b>	34 (%34)	53(%53)	13(%13)	63(%63)	37(%37)	100

#### 3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

Direkt mikroskopik incelemede, 100 materyalin 52 (%52)'sinde mantarlara ait hifa ve/veya sporlar görüldü. Direkt mikroskopide pozitif olarak saptanan 52 materyalin yapılan kültür sonucunda 50'sinde dermatofit izolasyonu gerçekleştirildi. Direkt mikroskopide negatif olan 48 numunenin yapılan kültürü sonucunda 24'ünde kontaminant mantar üredi. 11'inde üreme saptanmazken 13'ünde dermatofit üremesi görüldü (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2.** Direkt Mikroskopi ve Kültür Sonuçlarının Karşılaştırılmalı Bulguları.

		Kültür		Toplam
		Pozitif (n=63)	Negatif (n=37)	
Direkt mikroskopi	Pozitif	50	2	52
	Negatif	13	35	48
Toplam		63 (%63)	37(%37)	100 (%100)



**Şekil 3.1.** Direkt Mikroskopi %15'lik KOH X40 Objektif Görüntüsü.

**Şekil 3.2.** Direkt Mikroskopi %15'lik KOH X40 Objektif Görüntüsü.

İncelenen 100 adet materyalin yapılan kültürü sonucunda 63 (%63)'ünde dermatofit izolasyonu gerçekleştirildi. Ayrıca 24 (%24)'inde saprofit mantar izole edildi. İzole edilen 63 adet dermatofitlerden 52 (%82.53)'sinde *T.verrucosum* izole edildi.

**Tablo 3.3.** Kültür Yöntemi İle İzolasyon Sonuçları.

Türler	Kültür	
	Sayı	Yüzde (%)
<i>T.verrucosum</i>	52	52(%52)
Diğer dermatofitler	11	11(%11)
Kontaminasyon	24	24(%24)
Üreme saptanmayan	13	13(%13)

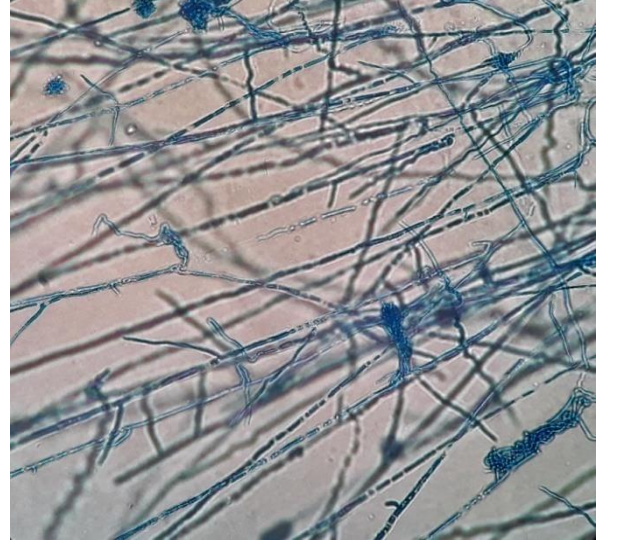
Dermatofitoz şüpheli olgularda en yüksek oranda *T. verrucosum* 52 (%52)'sinde izole edildi (Tablo 3.3). Yapılan kültür sonucunda 2 (%2)'sinde *T. rubrum*, 4 (%)'ünde *T. tonsurans*, 5 (%5)'inde ise *T. mentagrophytes* izole edildi. Kontaminant mantarlardan

ise *Aspergillus spp.* 10 (%10)'unda, *Pseudallescheria boydi* 4 (%4)'ünde, *Penicillium spp.* 7 (%7)'sinde ve *Candidia spp.* ise 3 (%3)'ünde izole edildi. Direkt mikroskopide mantarlara ait hifa ve spor görülmeyen 48 adet numuneden kültür sonucunda 13'ünde dermatofit izole edildi.





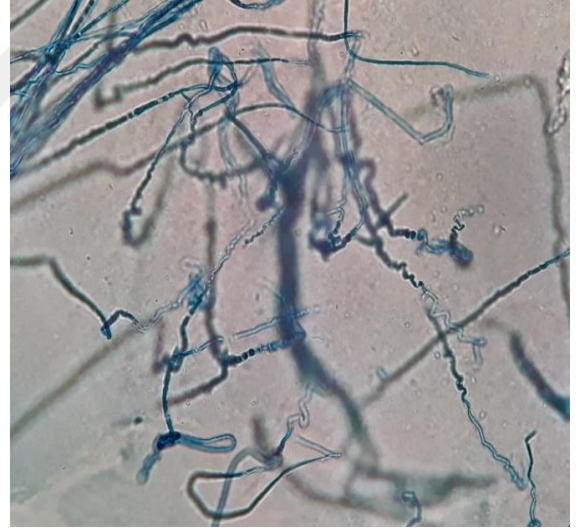
**Şekil 3.3.** *T.verrucosum* 26 °C'deki SDA'da Koloninin Önden Görünümü.



**Şekil 3.5.** *T.verrucosum* 26 °C'deki Laktofenol Pamuk Mavisi Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.



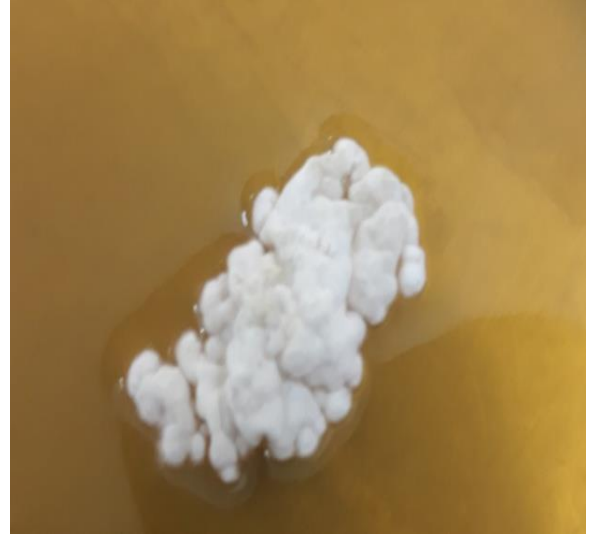
**Şekil 3.4.** *T. verrucosum* 26 °C'deki SDA'da Koloninin Önden Görünümü.



**Şekil 3.6.** *T.verrucosum* 26 °C'deki Laktofenol Pamuk Mavisi Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.



Şekil 3.7. *T.verrucosum* SDA'da Koloninin Önden Görünümü.



Şekil 3.9. *T.verrucosum* SDA'da Koloninin Önden Görünümü.



Şekil 3.8. *T.verrucosum* SDA'da Koloninin Arkadan Görünümü.



Şekil 3.10. *T.verrucosum* SDA'da Koloninin Arkadan Görünümü.





Şekil 3.11. *T. verrucosum* 37 °C'de Laktofenol Pamuk Mavisi Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.



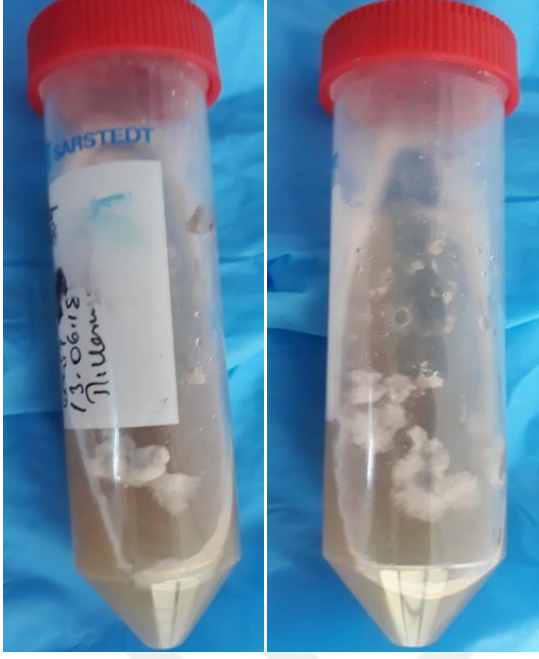
Şekil 3.13. *T. verrucosum* SDA'da Koloninin Önden Görünümü.



Şekil 3.12. *T. verrucosum* 37 °C'de Laktofenol Pamuk Mavisi Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.



Şekil 3.14. *T. verrucosum* SDA'da Koloninin Arkadan Görünümü.



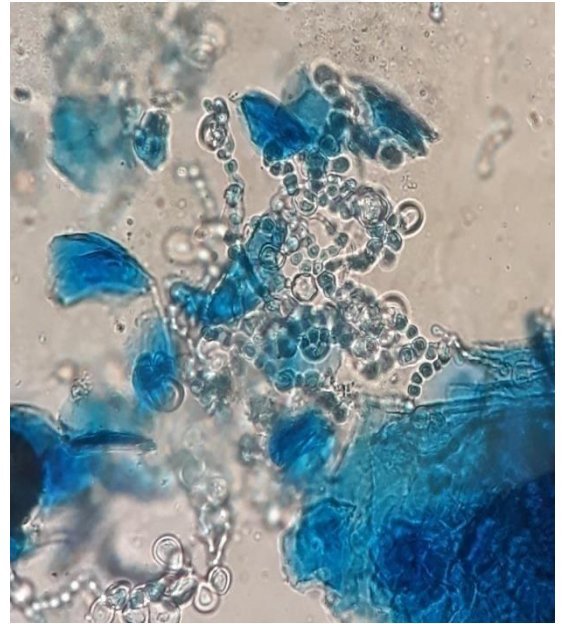
Şekil 3.15. *T. verrucosum* PDA'da Koloninin Görünümü.



Şekil 3.17. *T. verrucosum* 37 °C'de Laktofenol Pamuk Mavisi Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.



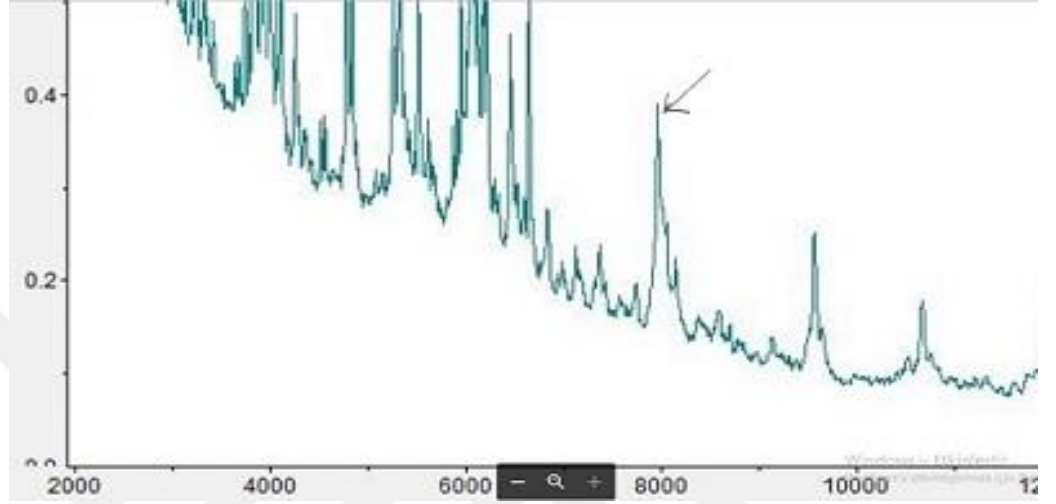
Şekil 3.16. *T. verrucosum* TA'da Koloninin Görünümü.



Şekil 3.18. *T. verrucosum* 37 °C'de Laktofenol Pamuk Mavisi Boyama X40 Objektif Mikroskopik Görüntüsü.



Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında izole edilen 52 adet *T. verrucosum* izolatu MALDI TOF-MS ile doğrulanması Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı. Analiz için Biotyper Microflex LT modeli (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Almanya) kullanıldı.



Şekil 3.19. *T. verrucosum*'un MALDI TOF-MS spektrum görünümü.

Spektrum görüntüsünde *T. verrucosum*'a ait izolatların 7950-7954 m / z'de karakteristik bir pik gösterdiği görüldü. Görülen MALDI TOF-MS spektrumları bütün izolatların *T. verrucosum* olduğunu doğruladı.

#### 4. TARTIŞMA

Sığır trikofitozisi, çoğunlukla zoofilik bir tür olan *T.verrucosum* tarafından oluşturulur (8). Trikofitozis, deri lezyonları, genç sığırların gelişmesinde gerileme, süt sığırlarında sütte azalma, derinin ekonomik değerinin azalması gibi önemli sorunlar yaratan hastalıktır (9). Sığırlar bu etkenin doğal rezervuarıdır. Sığırlar arasındaki yakın temas, dermatofitoz infeksiyonunun oluşmasına katkıda bulunan önemli faktörlerden biridir. Sığır dermatofitozu, tahriş edici kaşınıtı ile deride lezyonlara neden olabilir. Etkilenen hayvanlar birbirine, tahta sütunlara, çit ve ağaçlar gibi diğer nesnelere sürtünmek durumunda kalır. Bu sürtünmenin, infeksiyonun hayvanlarda arasında yayılmasına ve insanlara da bulaşmasına neden olabileceği bildirilmiştir (91). Hastalık etkeni, Japonya, İspanya, İran, Çin ve diğer bölgelerden de izole edilmiştir (92).

Mantar infeksiyonlarının son yıllarda önemi giderek artmaktadır. Hastalık etkeni olan mantarların tanısı, tür tayini, tiplendirilmesi ve antifungal ilaçlara karşı dirençle ilgili çalışmalar daha da hız kazanmıştır. Etken tanımlamada direkt mikroskopik inceleme ve kültür; geleneksel konvansiyonel yöntemlerdir. Standart konvansiyonel yöntemler zaman alıcı olması ve kesin sonuçlar vermemesinden dolayı duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı yeni tanı yöntemlerine ihtiyaç bulunmaktadır. Moleküler yöntemlerin tanıda giderek artan oranda kullanılması, bu güçlüklerin aşılmasında önemli bir adımdır (10, 11).

Dermatofitoz infeksiyonlarına kış aylarında daha çok rastlanılmaktadır. Gençler, erginlere oranla infeksiyona daha duyarlıdır. Dermatofitlerin yayılım ve taşınmasını etkileyen faktörler büyük ölçüde hayvan, toprak, insan gibi infeksiyon kaynaklarına bağlıdır. Hayvanlardaki dermatofitoz etkenleri infekte hayvanlar nedeniyle sürekli olarak popülasyonda bulunmaktadır. Direkt temas bulaşmanın en yaygın şeklidir. Ancak infeksiyon rodentler ve kirpiller gibi canlı, toprak, altlık, tımar ve koşum takımları gibi cansız araçlarla bulaşabilir (23).

Çalışmamızda 100 adet dermatofitoz şüpheli sığırlardan aldığımız numunelerin direkt mikroskopi incelemesi sonucunda 52 (%52)'sinde pozitiflik saptandı. Bağdat Üniversitesi Veteriner Fakültesinde 50 adet sığırın, dermatofitoz yönünden incelendiği çalışmada, direkt mikroskopide 40 (%80) adedinde pozitiflik bulunmuştur (93). İran'daki bir çalışmada, dermatofitoz şüpheli 380 sığırın direkt mikroskopi ile

incelenmesi sonucunda, 338 (%88,9)'inde pozitiflik saptanmıştır (94). Erzurum yöresinde bir çiftlikten getirilen klinik olarak dermatofitoz şüpheli 8 adet buzağıdan direkt mikroskopide 5 (62.5%)'inin pozitif olduğu belirlenmiştir (95). Şanlıurfa'da yapılan bir çalışmada, dermatofitozisli 84 sığırdan kıl ve deri kazıntıları alınmış direkt mikroskopi ve kültür yöntemleriyle incelenmiştir. Direkt mikroskopi yöntemi ile 84 numunenin 23'ünde (%27.3) pozitiflik saptanmıştır (96). Elde ettiğimiz bulgular Erzurum bölgesinde yapılan çalışmaya benzer olarak görülürken diğer çalışmalardan daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeninin nem oranı gibi bölgesel farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada dermatofitoz şüpheli 100 sığırdan alınan materyallerden kültür mikroskopi yöntemiyle %52 oranında *T.verrucosum* izole edildi ve numune toplanan hayvancılık işletmelerin %100'nün *T.verrucosum* ile infekte olduğu görüldü. Aghamirian ve Ghiasian (94) tarafından yapılan bir çalışmada 6789 sığır incelenmiştir. Dermatofitoz şüphesi olan 380 sığırdan örnek alınmıştır. Sonuçta dermatofitoz şüpheli 380 sığırdan 352 (%92.6)'sinde *T.verrucosum* izole edilmiştir. Ayrıca incelenen çiftliklerin tamamında *T. verrucosum* izole edilmiştir. Papini ve ark. İtalya'da yaptıkları çalışmada, 20 çiftlikte inceledikleri 294 sığırdan % 87.7 oranında *T. verrucosum* izole ettiklerini ve çiftliklerin % 100'ünün *T. verrucosum* ile infekte olduğunu bildirmişlerdir (9). Bu çalışmada da numune aldığımız hayvancılık işletmelerin tamamının *T. verrucosum* ile infekte olduğu görüldü. Gösterilen referans çalışmalar bu durumu destekler niteliktedir.

Bu çalışmada *T. verrucosum* izolasyon oranı yukarıda verilen referans çalışmalara göre nispeten daha düşük çıkmıştır. Çünkü bu çalışmada incelenen materyallerde farklı kontaminant mantarlarda (*Aspergillus spp. Pseudallescheria boydii, Penicillium spp, Candidia spp.*) izole edildi. 100 adet sığırdan alınan numunelerden kültür sonucunda kontaminant olarak 10 (%10)'unda *Aspergillus spp.* 4 (%4)'ünde *Pseudallescheria boydii*, 7 (%7)'sinde *Penicillium spp.* ve 3 (%3)'ünde ise *Candidia spp.* izole edildi. Ayrıca dermatofitoz şüpheli alınan numunelerden 13 adedinde inkübasyon süresi sonunda üreme görülmediği için negatif olarak kaydedilmiştir. Toprak orjinli saprofitler sağlıklı hayvanların deri, kıl ve tüyelerine bulaşabilmektedir. Bazı örneklerden patojen dermatofit ve saprofit mantarların aynı anda izole edilmiş olması yapılan bazı çalışmalarda elde edilen bulgularla benzerlik

göstermektedir (97, 98). Mohammed ve ark. (93)'nın Bağdat Üniversitesi Veteriner Fakültesinde 50 inek ve 50 adet koyunu dermatofitoz yönünden inceledikleri çalışmada, bazı materyallerde besi yerinde siklohesimid olmasına rağmen dermatofit kolonilerinin ortaya çıkmasını önleyen saprofitler ürediğini bildirmişlerdir. Ayrıca yapılan çalışmalarda *T. verrucosum* izolasyon oranlarında farklılık gösterebilmektedir. Yahyaraeyat ve ark. (99) tarafından yapılan çalışmada dermatofitoz şüpheli 28 sığırdaki kültür mikroskopi metodu ile 18 (%64.2)'inde *T. verrucosum* izole edilirken, İran'da Khosravi ve Mahmoudi (100) deri lezyonu olan sığırların % 85'inden *T. verrucosum* izole etmişlerdir. Yıldırım ve ark. (101)'nin Kırıkkale bölgesinde yaptıkları çalışmada klinik olarak dermatofitoz lezyonları gösteren 50 ineğin % 44'ünden *T. verrucosum* izole etmişlerdir. Tel ve ark. (96)'nın Şanlıurfa'da yaptıkları bir çalışmada, *T. verrucosum*'u büyükbaş hayvanlardan izole etmek için dermatofitozisli 84 sığırdan kıl ve deri kazıntıları alınmış direkt mikroskopi ve kültür yöntemleriyle incelenmiştir. Direkt mikroskopi yöntemi ile 84 numunenin 23'ünde (%27.3) pozitiflik saptarken, kültür yöntemi ile numunelerin 25'inde (%29.7) *T. verrucosum* izole etmişlerdir. Özkanlar ve ark. (95) Erzurum yöresinde bir çiftlikten getirilen klinik olarak dermatofitoz şüpheli 8 adet buzağının kültür mikroskopisinde 8 (100%) adet *T. verrucosum* izole etmişlerdir. Irak'ta 50 sığır dermatofitoz yönünden incelediği çalışmada kültür mikroskopisinde 10 (%28.6)'unda *T. verrucosum* izole edilmiştir (93). Van ve yöresindeki dermatofitozis şüpheli 54 sığırdan alınan numunelerin kültür yöntemiyle incelendiği başka bir çalışmada, örneklerin dermatofit pozitif 18 (%33.3)'numunenin, 9 (%16.6)'unda *T. verrucosum* izole edilmiştir (98). Prevalans saptamak için yapılan çalışmalarda ülkeler arasında büyük farklılıklar görülebilmektedir. İran'da %5.6, İtalya'da %19, Çin'de %20, İsveç'te %29 ve İsviçre'de %74 oranında dermatofitoz prevalansı bildirilmiştir (94, 102-105). *T. verrucosum* izolasyon oranlarının bölgeden bölgeye farklılık göstermesinin bölgeler arasında nem ve barınma koşulları gibi etkenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada dermatofitoz şüpheli sığırların 87 (%87)'sinin bir yaş ve altında olduğu görülmüştür. Aghamirian ve Ghiasian (94) tarafından yapılan çalışmada sığırlarda dermatofitoz vakalarının %57.5'i bir yaş ve altında olduğu bildirilmiştir. Oldenkamp (106) tarafından yapılan çalışmada 12 aylığın altındaki sığırlarda yüksek

oranda dermatofitoz vakası görülmüştür. Bu çalışmada da genç hayvanlarda yüksek oranda dermatofitoz saptanmıştır. Yaşla beraber derinin pH değeri azaldığı bilinmektedir ve böylece genç hayvanlarda derinin yüksek pH'sına bağlı olarak düşük immüniteyle beraber dermatofitoza daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (88). Yaş aralıklarına göre infeksiyonun görülme oranı 1 yaşından küçük sığırlarda diğer yaşlara oranla daha yüksek görüldüğü ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya konuldu ( $P < 0,05$ ).

MALDI TOF-MS ilk olarak bakterilerin tanımlanması için uyarlanmıştır (81). Teknik daha sonra maya için kullanılmıştır (82). Mikolojik araştırma ekipleri tarafından yapılan çabalar, yeterli referans spektrum kütüphanelerinin kurulması ve rutin laboratuvarlar için mevcut olması koşuluyla, yöntemin filamentöz mantarların tanımlamasına başarıyla uyarlanabileceğini bildirilmiştir (83).

Packeu ve ark. (107) tarafından yapılan bir çalışmada *Trichophyton mentagrophytes* kompleksi türlerinin MALDI TOF-MS ile tanımlamaya çalışmışlardır. Bu komplekse ait 6 farklı türden 17 suş ile veritabanı oluşturulmuştur. Test edilen suşların %89'unu tespit edilebilmiş ve MALDI TOF-MS'nin *T. mentagrophytes* ile yakından ilişkili türleri arasında ayırım yapabildiğini, dermatofitlerin tanımlanmasında hızlı ve güvenilir bir araç olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda geleneksel yöntemlerle izolasyonunu yaptığımız *T. verrucosum* izolatları MALDI TOF-MS ile doğrulandı. MALDI TOF-MS ile *T. verrucosum* suşları 7950-7954 arasında karakteristik bir pik gösterdi. Bartosch ve ark. (84) tarafından yapılan; *T. verrucosum*'un diğer dermatofitlerden kütle spektrometrisi ile ayırt edilmesini sağlamak ve kütle spektrumunun ayırt edici özelliklerini tanımlamak amacıyla yapılan çalışmada; *T. verrucosum*'un MALDI TOF-MS tanımlaması için ticari Bruker'ın veri tabanının yetersiz olduğunu belirtmişlerdir. MALDI-TOF MS, ile bu patojenin tanımlanması için üretici veri tabanı, sığır ve insan kaynaklı 13 *T. verrucosum* suşu ile genişletilmiştir. Araştırmacılar, genişletilmiş ve onaylanmış veri tabanını kullanarak, sığırların tüm izolatlarını MALDI TOF-MS ile diğer dermatofitlerden başarılı bir şekilde ayırt ettiklerini bildirmişlerdir. Genişletilmiş veri tabanı ile MALDI TOF-MS analizi, çalışmada incelenen 45 *T. verrucosum* izolatu tanımlanması sağlanmış ve bu örnekler ITS sekanslaması ile doğrulanmıştır. Ek olarak, çalışmaya *T. benhamiae*, *T. verrucosum*'un veteriner ve insan izolatlarının yanında 10 insan ve 2 aşı suşu da dahil

edilmiştir. Çeşitli *T. verrucosum* spektrum piklerinin analizi, 7950-7954 m/z'deki spesifik bir pikin, *T. verrucosum* ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu pik, araştırılan başka herhangi bir dermatofitin spektrumunda saptanmamıştır. MALDI TOF-MS ve sekans analizi ile elde edilen sonuçların tam olarak uyumu, MALDI TOF-MS'nin, diğer dermatofitlerde de geçerli olarak *T. verrucosum*'u tanımlamak için güçlü ve güvenilir bir araç olduğu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kültür yöntemi ile izole edilen *T. verrucosum* izolatları MALDI TOF-MS ile doğrulanmıştır. MALDI TOF-MS'den alınan spektrumda 7950-7954 arası pik göstermiş ve gösterilen referans çalışma da bu durumu destekler niteliktedir (84). MALDI TOF-MS'nin referans spektrumun veri tabanında olmasıyla MALDI TOF-MS'nin *T. verrucosum*'u başarılı bir şekilde ve geleneksel yöntemlerden daha kısa zamanda tanımlayabilecektir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Şanlıurfada yapılan bu çalışmamızda elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- Sığırlara ait toplam 100 adet materyalin incelenmesi sonucunda 63(%63)'ünde dermatofit yönünden üreme saptandı. Materyallerin 52 (%52)'sinde *T. verrucosum* izole edildi.
- Numune alınan hayvancılık işletmelerinin %100'ünün *T. verrucosum* ile infekte olduğu saptandı.
- Çalışmamızda klinik olarak dermatofitoz şüpheli sığırların 87 (%87)'sinin 1 yaş ve altında olduğu ve dermatofitoz infeksiyonunun bir yaş altı sığırlarda görülme sıklığının daha yüksek olduğu saptandı. Yaş aralıklarına göre infeksiyonun görülme oranı 1 yaşından küçük sığırlarda diğer yaşlara oranla daha yüksek görüldüğü ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya konuldu ( $P < 0,05$ ).
- Direkt mikroskopi ve kültür sonuçları karşılaştırıldığında direkt mikroskopinin erken teşhiste kullanılabileceği fakat duyarlılığının düşük olduğu,.
- Dermatofitoz şüpheli sığırlardan en sık olarak *T. verrucosum*'un izole edildiği,
- Sığırlarda kültür yöntemi ile izole edilen *T. verrucosum*'un doğrulanması amacıyla Türkiye'de ilk kez MALDI TOF-MS kullanıldı ve bu tekniğin *T.verrucosum*'un teşhisinde geleneksel yöntemlere kıyasla daha başarılı bir şekilde kullanılabileceği,
- Bu çalışmada sığırlarda zoonotik önemi olan *T. verrucosum*'un yaygın olduğu ve infeksiyonun ülke hayvancılığına verdiği zarardan dolayı infeksiyon ile mücadele için gerekli koruma ve kontrol önlemlerinin alınması gerektiği sonucuna varıldı.

## 6. KAYNAKLAR

1. Moretti A, Agnetti F, Mancianti F, Nardoni S, Righi C, Moretta I, et al. Epidemiological, clinical and zoonotic aspects. *G Ital Dermatol Venereol* 2013;148:563-72.
2. Kristensen S, Krogh HV. A study of skin diseases in dogs and cat. VII. Ringworm infection. *Nordisk veterinærmedicin* 1981;33(3):134-40.
3. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. 1995;8(2):240-59.
4. Tel OY, Akan M. Kedi ve köpeklerden dermatofitlerin izolasyonu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2008;55:167-71.
5. Hasegawa M, Iida Y, Yano T-a, Takaiwa F, Iwabuchi M. Phylogenetic relationships among eukaryotic kingdoms inferred from ribosomal RNA sequences. *Journal of Molecular Evolution* 1985;22(1):32-8.
6. Richard J, Debey M, Chermette R, Pier A, Hasegawa A, Lund A, et al. Advances in veterinary mycology. *Journal of medical and veterinary mycology* 1994;32(sup1):169-87.
7. Koneman EW, Allen SD, Janda W, Schreckenberger P, Winn WC. *Diagnostic microbiology*. hiledelphia: Lippincott-Raven Publishers 1997:253-320.
8. Neji S, Trabelsi H, Hadrich I, Cheikhrouhou F, Sellami H, Makni F, et al. Molecular characterization of strains of the *Trichophyton verrucosum* complex from Tunisia. *Sabouraudia* 2016;54(8):787-93.
9. Papini R, Nardoni S, Fanelli A, Mancianti F. High infection rate of *Trichophyton verrucosum* in calves from Central Italy. *Zoonoses and public health* 2009;56(2):59-64.
10. Susever S, Yeğenoğlu YJMB. İnvazif Mantar Enfeksiyonlarının Tanımlanmasında Moleküler Yöntemlerin Öneminin Konvansiyonel Yöntemler ile Karşılaştırılarak Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2011;45(2):325-35.
11. Valente P, Ramos J, Leoncini O. Sequencing as a tool in yeast molecular taxonomy. *Canadian journal of microbiology* 1999;45(11):949-58.
12. Ahmadi B, Mirhendi H, Shidfar M, Nouripour-Sisakht S, Jalalizand N, Geramishoar M, et al. A comparative study on morphological versus molecular identification of dermatophyte isolates. *Journal de Mycologie Medicale* 2015;25(1):29-35.
13. Kallow W, Erhard M, Shah HN, Raptakis E, Welker M. MALDI-TOF MS for microbial identification: Years of experimental development to an established protocol. *Mass spectrometry for microbial proteomics* 2010:255-76.



14. Becker PT, de Bel A, Martiny D, Ranque S, Piarroux R, Cassagne C, et al. Identification of filamentous fungi isolates by MALDI-TOF mass spectrometry: clinical evaluation of an extended reference spectra library. *Medical mycology* 2014;52(8):826-34.
15. Lund A, Bratberg A, Solbakk IJVd. In vitro release of interferon- $\gamma$  by trichophylin-stimulated whole blood cell cultures from ringworm-vaccinated and control calves experimentally inoculated with *Trichophyton verrucosum*. *Veterinary dermatology* 2001;12(2):75-80.
16. Samanta I. *Veterinary mycology*. In: Samanta I, Editor. Berlin: Springer; 2015. p.1-22.
17. Nelson PE, Dignani MC, Anaissie EJ. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical microbiology reviews* 1994;7(4):479-504.
18. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. In: Murray PR, Editor. *Bacteriology*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2015. p. 106-348.
19. Tanış H, Aksoy G, Aşçı Z. The Dermatophytic Flora Ratio of Dermatophytes. *Turkish Journal of Medical Sciences* 1999;29(2):181-6.
20. Espinel-Ingroff A. History of medical mycology in the united states. *Clinical microbiology reviews* 1996;9(2):235-272.
21. Yücel A. *Medical mycology: Yesterday and Today*. *Cerrahpasa J Med* 1999; 30(2): 191-198.
22. Goldman L, Schwarz J, Preston RH, Beyer A, Loutzenhiser J. Current status of griseofulvin: report on one hundred seventy-five cases. *Journal of the American Medical Association* 1960;172(6):532-8.
23. Arda M. *Temel Mikrobiyoloji;" Genişletilmiş İkinci Baskı*. 2000(46).
24. Black J. Antimicrobial therapy the resistance of microorganisms In *Microbiology principles and explorations*. Wiley and Sons, NY; 2002: 342-343.
25. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi: Nobel Tıp*; 2002.
26. Uslu H, Aktaş Ae, Ayyıldız A, Melikoğlu M. Farklı Klinik Tanılı Hastalardaki Dermatofitik Ayak Etkenleri. *AÜTD* 2004; 36: 83-87.
27. Quinn P, Markey B, Carter M, Donnelly W, Leonard F. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Artmed Editora; 2005.
28. Kurtaran B. *Mikroskobik İnceleme. İç Hastalıkları Dergisi* 2006; 13(4):201-206.

29. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji: Güneş kitabevi; 1999.
30. Simpanya MF. Dermatophytes: their taxonomy, ecology and pathogenicity. *Rev Iberoam Micol* 2000;17:1-12.
31. Larone DH, Larone DH. Medically important fungi: a guide to identification: Citeseer New York: Elsevier 1987: 2-10.
32. White TC, Oliver BG, Gräser Y, Henn MRJ. Generating and testing molecular hypotheses in the dermatophytes. *Eukaryotic cell* 2008;7(8):1238-45.
33. Talaro KP, Chess B. Foundations in microbiology: McGraw-Hill; 2018.
34. Özkütük AA. Dermatomikoz olgularından izole edilen dermatofitlerin tiplendirilmesi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi; 1999.
35. Uçkan Ş, Özbilge H. Derinin Yüzeysel Mantar İnfeksiyonları.
36. Verrier J, Monod J. Diagnosis of dermatophytosis using molecular biology. *Mycopathologia* 2017;182(1-2):193-202.
37. Pintori G, Cubeddu G, Giola L, Pellegrini M. Dermatomycosis of the cat and dog. *Bollettino Associazione Italiana Veterinari per Piccoli Animali* 1986;25:307-12.
38. McDonald B, Foil C, Foil LD. An investigation on the influence of feline flea allergy on the fecundity of the cat flea. *Veterinary Dermatology* 1998;9(2):75-9.
39. Gül, Y. "Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları (Sığır, Koyun-Keçi). II." Baskı. Medipres Matbaacılık Ltd. Şti., Malatya (2006): 452-454
40. Thomsett L. Fungal diseases of the skin of small animals. *British Veterinary Journal* 1986;142(4):317-25.
41. Derincegöz Z, Parın U. Kedi ve Köpeklerde Deri Lezyonlarından Dermatofit Etkenlerinin İzolasyonu. *Animal Health Prod and Hyg* 2016;5(1):410-415.
42. Noble S, Forbes RC, Stamm PL. Diagnosis and management of common tinea infections. *American Family Physician* 1998;58(1):163-74, 77-8.
43. Miller W. Muller and Kirk's Small Animal Dermatology: Elsevier Health Sciences; 2013.
44. Tümbay E. Dermatofitle. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (ed), İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 2002;1785-1797. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
45. Hainer B. Dermatophyte infections. *Annals of medicine* 2003;67(1):101-10.

46. Rabinowitz PM, Gordon Z, OdoFin L. Pet-related infections. *American family physician* 2007;76(9):1314-1322.
47. Salkin IF, Padhye AA, Kemna M. A new medium for the presumptive identification of dermatophytes. *Clinical Dermatology Review* 1997;35(10):2660-2.
48. Panasiti V, Borroni R, Devirgiliis V, Rossi M, Fabbri L, Masciangelo R, et al. Comparison of diagnostic methods in the diagnosis of dermatomycoses and onychomycoses. *Mycoses* 2006;49(1):26-9.
49. Robert R, Pihet M. Conventional methods for the diagnosis of dermatophytosis. *Mycopathologia* 2008;166(5-6):295-306.
50. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. Aspergillus Cinsı Mantarlar ve İnvaziv Aspergilloz: Mikoloji, Patogenez, Laboratuvar Tanımı, Antifungallere Direnç ve Duyarlılık Deneyleri. 2003;34(3):140-157.
51. Abacı Ö, Haliki A. Fungal tanıda polimeraz zincir reaksiyonu. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2005;3(10):1-9.
52. Kamiya A, Kikuchi A, Tomita Y, Kanbe T. PCR and PCR-RFLP techniques targeting the DNA topoisomerase II gene for rapid clinical diagnosis of the etiologic agent of dermatophytosis. *Journal of dermatological science* 2004;34(1):35-48.
53. Gräser Y, Kuijpers A, El Fari M, Presber W, De Hoog G. Molecular and conventional taxonomy of the *Microsporum canis* complex. *Medical mycology* 2000;38(2):143-53.
54. Fari E. Development of an oligonucleotide probe specific for *Trichophyton rubrum*. *British Journal of Dermatology* 1999;141(2):240-5.
55. Gräser Y, El Fari M, Vilgalys R, Kuijpers A, De Hoog G, Presber W, et al. Phylogeny and taxonomy of the family Arthrodermataceae (dermatophytes) using sequence analysis of the ribosomal ITS region. *Medical Mycology* 1999;37(2):105-14.
56. Symoens F, Jousson O, Packeu A, Fratti M, Staib P, Mignon B, et al. The dermatophyte species *Arthroderma benhamiae*: intraspecies variability and mating behaviour. *Journal of medical microbiology* 2013;62(3):377-85.
57. Ninet B, Jan I, Bontems O, Léchenne B, Jousson O, Panizzon R, et al. Identification of dermatophyte species by 28S ribosomal DNA sequencing with a commercial kit. *Journal of clinical microbiology* 2003;41(2):826-30.
58. Verrier J, Krähenbühl L, Bontems O, Fratti M, Salamin K, Monod M. Dermatophyte identification in skin and hair samples using a simple and reliable nested polymerase chain reaction assay. *British Journal of Dermatology* 2013;168(2):295-301.

59. Kanbe T, Suzuki Y, Kamiya A, Mochizuki T, Kawasaki M, Fujihiro M, et al. Species-identification of dermatophytes *Trichophyton*, *Microsporum* and *Epidermophyton* by PCR and PCR-RFLP targeting of the DNA topoisomerase II genes. *Journal of dermatological science* 2003;33(1):41-54.
60. Kano R, Hirai A, Muramatsu M, Watari T, Hasegawa A. Direct detection of dermatophytes in skin samples based on sequences of the chitin synthase 1 (CHS1) gene. *Journal of veterinary medical science* 2003;65(2):267-70.
61. Nenoff P, Erhard M, Simon JC, Muylowa GK, Herrmann J, Rataj W, et al. MALDI-TOF mass spectrometry—a rapid method for the identification of dermatophyte species. *Medical mycology* 2013;51(1):17-24.
62. Kinumi T, Saisu T, Takayama M, Niwa H. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry using an inorganic particle matrix for small molecule analysis. *Journal of clinical microbiology* 2000;35(3):417-22.
63. Ebihara M, Makimura K, Sato K, Abe S, Tsuboi R. Molecular detection of dermatophytes and nondermatophytes in onychomycosis by nested polymerase chain reaction based on 28S ribosomal RNA gene sequences. *British Journal of Dermatology* 2009;161(5):1038-44.
64. Li X-f, Wei T, Hong W, Hui C, Shen Y-n, Lv G-x, et al. Direct detection and differentiation of causative fungi of onychomycosis by multiplex polymerase chain reaction-based assay. *European Journal of Dermatology* 2011;21(1):37-42.
65. Brillowska-Dabrowska A, Nielsen SS, Nielsen HV, Arendrup MC. Optimized 5-hour multiplex PCR test for the detection of *tinea unguium*: performance in a routine PCR laboratory. *Sabouraudia* 2010;48(6):828-31.
66. Brasch J, Beck-Jendroschek V, Gläser RJM. Fast and sensitive detection of *Trichophyton rubrum* in superficial tinea and onychomycosis by use of a direct polymerase chain reaction assay. *Mycoses* 2011;54(5):313-317.
67. Dhib I, Fathallah A, Yaacoub A, Hadj Slama F, Said M, Zemni R. Multiplex PCR assay for the detection of common dermatophyte nail infections. *Mycoses* 2014;57(1):19-26.
68. Mehlig L, Garve C, Ritschel A, Zeiler A, Brabetz W, Weber C, et al. Clinical evaluation of a novel commercial multiplex-based PCR diagnostic test for differential diagnosis of dermatomycoses. *Mycoses* 2014;57(1):27-34.
69. Brillowska-Dąbrowska A, Saunte DM, Arendrup MC. Five-hour diagnosis of dermatophyte nail infections with specific detection of *Trichophyton rubrum*. *Journal of clinical microbiology* 2007;45(4):1200-4.
70. Gupta A, Zaman M, Singh J. Fast and sensitive detection of *Trichophyton rubrum* DNA from the nail samples of patients with onychomycosis by a double-round

polymerase chain reaction-based assay. *British Journal of Dermatology* 2007;157(4):698-703.

71. Yang G, Zhang M, Li W, An L. Direct species identification of common pathogenic dermatophyte fungi in clinical specimens by semi-nested PCR and restriction fragment length polymorphism. *Mycopathologia* 2008;166(4):203-8.

72. Verrier J, Bontems O, Baudraz-Rosselet F, Monod M. Oral terbinafine and itraconazole treatments against dermatophytes appear not to favor the establishment of *Fusarium* spp. in nail. *Dermatology* 2014;228(3):225-32.

73. Machouart-Dubach M, Lacroix C, de Chauvin MF, Le Gall I, Giudicelli C, Lorenzo F, et al. Rapid discrimination among dermatophytes, *Scytalidium* spp., and other fungi with a PCR-restriction fragment length polymorphism ribotyping method. *Journal of clinical microbiology* 2001;39(2):685-90.

74. Menotti J, Machouart M, Benderdouche M, Cetre-Sossah C, Morel P, Dubertret L, et al. Polymerase chain reaction for diagnosis of dermatophyte and *Scytalidium* spp. onychomycosis. *British Journal of Dermatology* 2004;151(2):518-9.

75. Bontems O, Hauser P, Monod M. Evaluation of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay for dermatophyte and nondermatophyte identification in onychomycosis. *British Journal of Dermatology* 2009;161(4):791-6.

76. Monod M, Bontems O, Zaugg C, Léchenne B, Fratti M, Panizzon R. Fast and reliable PCR/sequencing/RFLP assay for identification of fungi in onychomycoses. *Journal of medical microbiology* 2006;55(9):1211-6.

77. Beifuss B, Bezold G, Gottlöber P, Borelli C, Wagener J, Schaller M, et al. Direct detection of five common dermatophyte species in clinical samples using a rapid and sensitive 24-h PCR-ELISA technique open to protocol transfer. *Mycoses* 2011;54(2):137-45.

78. Savin C, Huck S, Rolland C, Benderdouche M, Faure O, Noacco G, et al. Multicenter evaluation of a commercial PCR-enzyme-linked immunosorbent assay diagnostic kit (Onychodiag) for diagnosis of dermatophytic onychomycosis. *Journal of clinical microbiology* 2007;45(4):1205-10.

79. Alexander C, Shankland G, Carman W, Williams C. Introduction of a dermatophyte polymerase chain reaction assay to the diagnostic mycology service in Scotland. *British Journal of Dermatology* 2011;164(5):966-72.

80. Cassagne C, Normand AC, L'ollivier C, Ranque S, Piarroux R. Performance of MALDI-TOF MS platforms for fungal identification. *Mycoses* 2016;59(11):678-90.

81. Seng P, Rolain J-M, Fournier PE, La Scola B, Drancourt M, Raoult D. MALDI-TOF-mass spectrometry applications in clinical microbiology. *Future microbiology* 2010;5(11):1733-54.
82. Özcan N, Ezin Ö, Akpolat N, Bozdağ H, Mete M, Gül K. Klinik örneklerde saptanan *Candida* türlerinin MALDI-TOF MS ile tiplendirilmesi. *Dicle Medikal Journal* 2016; 43(3): 390-394.
83. Rodriguez S, Ferreira L, Gonzalez M, Garcia MI, Vega S, Butrago JMG, et al. Identification of fungal clinical isolates by matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry. *Rev Esp Quimioter* 2013;26:193-197.
84. Bartosch T, Heydel T, Uhrlaß S, Nenoff P, Müller H, Baums CG et al. MALDI-TOF MS analysis of bovine and zoonotic *Trichophyton verrucosum* isolates reveals a distinct peak and cluster formation of a subgroup with *Trichophyton benhamiae*. *Medical mycology* 2017; 56(5): 602-609.
85. Yaman G, Akyar I, Can S. Evaluation of the MALDI TOF-MS method for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2012; 73(1): 65-67.
86. Kablan ANM, Mehmet Erman O, Uysal A. Veteriner Pratiğinde Geniş Antifungal Spektrumlu Yeni Triazol: Vorikonazol. 2009;23(3):149-53.
87. Rochette F, Engelen M, Vanden Bossche H. Antifungal agents of use in animal health—practical applications. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 2003;26(1):31-53.
88. Eliopoulos GM, Perea S, Patterson T. Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clinical Infectious Diseases* 2002;35(9):1073-80.
89. Pfaller M, Diekema D, Messer S, Boyken L, Hollis R, Jones R, et al. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and four licensed systemic antifungal agents against *Candida* species infrequently isolated from blood. *Journal of clinical microbiology* 2003;41(1):78-83.
90. Moriello KA. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. *Veterinary dermatology* 2004;15(2):99-107.
91. Radostits O, Blood D, Gay C. *Veterinary Medicine* 8th ed Baillier. 1997:381-90.
92. Seebacher C, Bouchara J-P, Mignon B. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. *Mycopathologia* 2008;166(5-6):335-52.
93. Faraj MK, Mohammed S. A survey of dermatophytes isolated from cows and sheep in Iraq. *The Iraqi journal of veterinary medicine* 2011;35(2):40-5.

94. Aghamirian MR, Ghiasian SAJM. Dermatophytes as a cause of epizoonoses in dairy cattle and humans in Iran: epidemiological and clinical aspects. *Mycoses* 2011;54(4):52-56.
95. Ozkanlar Y, Aktas MS, Kirecci E. Mycozoonosis associated with ringworm of calves in Erzurum Province, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009;15:141-4.
96. Tel OY, Bozkaya F, Yiğın A, Gürbilek SE, Keskin OJPVJ. Isolation and Molecular Characterization of Bovine *Trichophyton verrucosum* Strains Based on Sequence Analysis of Internal Transcribed Spacer Region (ITS1) and Microsatellite Loci. *Pakistan Veterinary Journal* 2018;38(2):189-193.
97. Mbata TI. Dermatophytes and other skin mycoses found in featherless broiler toe webs. *Internet J Dermatol* 2009;7(2):399-402.
98. İlhan Z. Isolation of dermatophytes from cattle, sheep, goats and Van cats in Van and its around. *Van Veterinary Journal* 2015;26(1):1-5.
99. Yahyaraeyat R, Shokri H, Khosravi A, Soltani M, Erfanmanesh A, Nikaein D. Occurrence of animals dermatophytosis in Tehran, Iran. *World J Zool* 2009;4(3):200-4.
100. Khosravi A, Mahmoudi M. Dermatophytes isolated from domestic animals in Iran. *Mycoses* 2003;46(5-6):222-5.
101. Yildirim M, Cinar M, Ocal N, Yagci B, Askar V. Prevalence of clinical dermatophytosis and oxidative stress in cattle. *Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi* 2010;9(14):1978-82.
102. Moretti A, Boncio L, Pasquali P, Fioretti DP. Epidemiological aspects of dermatophyte infections in horses and cattle. *Journal of Veterinary Medicine* 1998;45(1-10):205-8.
103. Ming PX, Ti YLX, Bulmer GS. Outbreak of *Trichophyton verrucosum* in China transmitted from cows to humans. *Mycopathologia* 2006;161(4):225-8.
104. Carlsson JJSV. Risken för ringorm hos nötkreatur och människa. *Svensk Veterinartidning* 1993;45:467-.
105. Haab C. Epidemiologie der Trichophytie beim Mastkalb (Inaugural: Dissertation). Switzerland, Zurich: University of Zurich; 1991.
106. Oldenkamp EP. Natamycin treatment of ringworm in cattle in the United Kingdom. *The Veterinary Record* 1979;105(24):5554-6.
107. Packeu A, Hendrickx M, Beguin H, Martiny D, Vandenberg O, Detandt M. Identification of the *Trichophyton mentagrophytes* complex species using MALDI-TOF mass spectrometry. *Medical mycology* 2013; 51(6): 580-585.

## 7. EKLER

### 7.1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 17/05/2018-E.20398

		<b>T.C.</b> <b>HARRAN ÜNİVERSİTESİ</b> <b>HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI</b> <b>(HRÜ-HADYEK)</b>	
<b>Oturum No</b>	<b>Karar</b>	<b>Tarih / Saati</b>	<b>Yeri</b>
2018/003	01-02	26.03.2018/ 15:00	HADYEK Toplantı Salonu

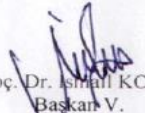
**KARAR 2018/003/01:** 13/03/2018 tarih ve 6729 sayılı Etik Kurul başvuru dosyası incelendi. İnceleme sonucunda; Yürütücülüğünü Prof. Dr. Osman Yaşar TEL' in yapacağı *“Sığırlardan izole edilen Tricophyton verrucosum suşlarının kültür yöntemi ile identifikasyonu ve maldi-tof ms ile doğrulanması.”* isimli çalışmaya Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığınca 13/12/2011 tarihli ve 28141 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan “Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmeliğin” 2. maddesi ikinci fıkrasında belirtilen “Bu yönetmelik deneysel olmayan tarımsal ve klinik veterinerlik uygulamalarını... kapsamaz.” hükmü gereği;

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün 19.02.2018 tarih ve 59855012-325.04.02-E.519337 sayılı yazısı ile yönetmeliğin 2. maddesi ikinci fıkrası, kapsam dışı olduğundan Etik kurul iznine gerek olmadığına;

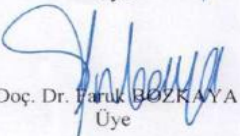
Oy çokluğuyla karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet AVCI  
Başkan  
(Toplantıya katılmamıştır.)

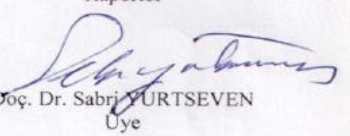
  
Prof. Dr. Mustafa DENİZ  
Üye

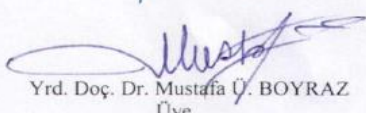
  
Yrd. Doç. Dr. İsmail KOYUNCU  
Başkan V.

  
Doç. Dr. Füsün TEMAMOĞULLARI  
Raportör

  
Doç. Dr. Faruk BOZKAYA  
Üye


  
Yrd. Doç. Dr. Evren BÜYÜKFIRAT  
Üye


  
Doç. Dr. Sabri YURTSEVEN  
Üye

  
Yrd. Doç. Dr. Mustafa Ü. BOYRAZ  
Üye

  
Yrd. Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ  
Üye

  
Şahin APAYDIN  
Üye

  
Arş. Gör. Egemen E. ÖZTÜRK  
Üye

  
Ahmet Mehmet BALIKCI  
Üye



EK- 4: TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ



T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

**Öğrencinin**

Numarası :175326004  
Adı, Soyadı :Özcan BALIBAY  
Anabilim Dalı (Bölümü) :Veteriner Mikrobiyoloji  
Programı :  Yüksek Lisans  Doktora  
Tezin Adı: Sığırlardan izole edilen *Trichophyton verrucosum* suşlarının kültür yöntemi ile identifikasyonu ve maldı-tof ms ile doğrulanması.

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans Tez çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam **54** sayfalık kısmına ilişkin **30.05/2019** tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı %9'dür.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından kabul edilen lisansüstü orijinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntıların bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden herhangi birisinin yer almadığını, etik ihlal tespiti halinde, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. **30.05/2019**

**Tezi Hazırlayan Öğrencinin**

Adı-Soyadı: Özcan BALIBAY

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım. **30.05/2019**

**Danışmanın**

Unvanı-Adı-Soyadı: Prof. Dr. Osman Yasar TEL

İmzası:

### 7.3. Turnitin Raporu



#### Turnitin Orjinallik Raporu

**trichophyton** Özcan Balıbay tarafından  
trichophyton (yüksek lisans) den

30-May-2019 10:24 +03' de işleme  
kondu  
NUMARA: 1137771049  
Kelime Sayısı: 11825

Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik
%9	İnternet Sources: %8 Yayımlar: %4 Öğrenci Ödevler: N/A

#### kaynaklar:

- 1 3% match (07-May-2019 tarihli internet)  
<http://adudspace.adu.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11807/671/MERVE%20YAVUZ.pdf?isAllowed=y&sequence=1>
  - 2 2% match (11-Kas-2015 tarihli internet)  
[http://pharmacy.erciyes.edu.tr/ckfinder/userfiles/files/bitirmeler/Seyda\\_%C3%9C%C3%A7kan\\_Tez.pdf](http://pharmacy.erciyes.edu.tr/ckfinder/userfiles/files/bitirmeler/Seyda_%C3%9C%C3%A7kan_Tez.pdf)
  - 3 1% match (23-Haz-2015 tarihli internet)  
[http://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu\\_folder/2011-02/html/2011-45-02-325-335.htm](http://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu_folder/2011-02/html/2011-45-02-325-335.htm)
  - 4 1% match (yayımlar)  
[SUSEVER, Serdar and YEĞENOĞLU, Yıldız. "İnvazif mantar enfeksiyonlarının tanımlanmasında moleküler yöntemlerin öneminin konvansiyonel yöntemler ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi". Mikrobiyoloji Demeği, 2011.](#)
  - 5 1% match (22-Haz-2015 tarihli internet)  
[http://infeksiyon.dergisi.org/pdf/pdf\\_INF\\_248.pdf](http://infeksiyon.dergisi.org/pdf/pdf_INF_248.pdf)
  - 6 < 1% match (16-Haz-2011 tarihli internet)  
<http://www.ctf.istanbul.edu.tr/dergi/online/1999v30/s2/99s2r1f.htm>
  - 7 < 1% match (yayımlar)  
[ÖZCAN, Nida, EZİN, Özür, AKPOLAT, Nezahat, BOZDAĞ, Hasan, METE, Mahmut and GÜL, Kadri. "Klinik örneklerde sapta Candida türlerinin MALDI-TOF MS ile tanımlanması". Dicle Üniversitesi, 2018.](#)
  - 8 < 1% match (yayımlar)  
[ÇOBANOĞLU, Ufuk and YALÇINKAYA, İrfan. "Toraks yaralanmaları". Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Demeği, 2010.](#)
  - 9 < 1% match (18-Ağu-2015 tarihli internet)  
[http://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu\\_folder/2015-02/2015-49-2-201-209.pdf](http://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu_folder/2015-02/2015-49-2-201-209.pdf)
  - 10 < 1% match (05-Ağu-2015 tarihli internet)  
[http://vfdergi.yyu.edu.tr/archive/2015/26-1/2015\\_26\\_\(1\)\\_1-5.pdf](http://vfdergi.yyu.edu.tr/archive/2015/26-1/2015_26_(1)_1-5.pdf)
- < 1% match (06-Eyl-2017 tarihli internet)

T.C.  
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10276834
Yazar Adı / Soyadı	ÖZCAN BALIBAY
T.C.Kimlik No	10270501602
Telefon	5375787471
E-Posta	ozcnblby@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	Siğirilerden izole edilen Trichophyton verrucosum suşlarının kültür yöntemi ile identifikasyonu ve maldi-tof ms ile doğrulanması.
Tezin Tercümesi	Identification of Trichophyton verrucosum strains isolated from cattle by culture type and validation by maldi-tof ms
Konu	Veteriner Hekimliği = Veterinary Medicine ; Mikrobiyoloji = Microbiology
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Mikrobiyoloji (Veterinerlik) Anabilim Dalı
Bilim Dalı	
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	64
Tez Danışmanları	PROF. DR. OSMAN YAŞAR TEL
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	

30.07.2019

İmza:.....