

EYLÜL 2022

Yüksek Lisans Tezi-Biyoloji

HIBA MOHAMMED FAKHRI AL SHAHWANI

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Candida albicans'IN POTANSİYEL ALERJEN
PROTEİNLERİNİN EKSTRAKSİYONU VE
SAFLAŞTIRILMASI

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HIBA MOHAMMED FAKHRI AL SHAHWANI
EYLÜL 2022

***Candida albicans*'IN POTANSİYEL ALERJEN
PROTEİNLERİNİN EKSTRAKSİYONU VE
SAFLAŞTIRILMASI**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

İkinci Danışman

Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN

Hiba Mohammed Fakhri AL SHAHWANI

Eylül 2022



©2022[Hiba Mohammed Fakhri AL SHAHWANI]

***Candida albicans*'IN POTANSİYEL ALERJEN PROTEİNLERİNİN**

EKSTRAKSİYONU VE SAFLAŞTIRILMASI

başlıklı bu çalışma, **Hiba Mohammed Fakhri AL SHAHWANI** tarafından hazırlanmış ve yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde** Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet İshak YÜCE
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

Prof. Dr. Canan CAN
Biyoloji Bölüm Başkanı

.....

Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ
Danışman, Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN
İkinci Danışman, Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Sınav Tarihi: 07.09.2022

Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ
Danışman, Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ
Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi M. Tahir HUSUNET
Tıp Fakültesi
Gaziantep İslam Bilim Üniversitesi

.....

İgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Hiba Mohammed Fakhri AL SHAHWANI

ABSTRACT

EXTRACTION AND PURIFICATION OF THE POTENTIAL ALLERGEN PROTEINS FROM *Candida albicans*

AL SHAHWANI, Hiba Mohammed Fakhri

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN

September 2022

49 pages

Allergic reactions occur with the excessive reaction of the immune system against non-harmful substances. Allergens enter the body through the respiratory tract, oral or parenteral routes; Allergens that enter the body by respiratory, oral, or parenteral means may be from animals, plants, fungi, or small molecular weight chemical agents. The majority of allergic diseases develop through Ige-related mechanisms. The incidence of allergic diseases in 20-30% of the World has become one of the most researched diseases. Studies conducted in different parts of the world have identified major differences in the prevalence of asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis. In our country, lifetime prevalence of asthma in children is reported to be 4.9-14.1%. Fungi, which are abundant in soil and can develop and multiply rapidly on surfaces with organic matter and water, show a wide range of dispersion sprawl due to the effect of air movements. Inhalant allergens, which are the main causes of airway inflammation and airway overresponse in asthma, are increasing recently with the chemical and physical contamination of the air. *Candida* species are yeast fungi commonly found in nature and found in the normal flora of humans. *Candida albicans* is a polymorphic yeast fungus that can be found as a communal and opportunistic pathogen. Since we have a continuous relationship with *Candida* species in nature and human flora, it is very important to define the antigenic structures of this microorganism and to reveal their effects on the immune system. *C. albicans* produced in our laboratory was collected and allergen fungal protein was extracted. Protein samples were prepared from the prepared mushroom extracts and the total concentration of potential allergen proteins was determined by BCA method. As a result, it was determined that *C. albicans* had high protein concentration. Basic data were obtained in the preparation of mushroom extracts that help in the diagnosis of allergic diseases.

Key Words: Allergy, Fungal allergy, *Candida albicans*, Protein Extraction

ÖZET

***Candida albicans*'IN POTANSİYEL ALERJEN PROTEİNLERİNİN EKSTRAKSİYONU VE SAFLAŞTIRILMASI**

AL SHAHWANI, Hiba Mohammed Fakhri
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji
Danışman: Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ
İkinci Danışman: Doç. Dr. Sibel BAYIL
Eylül 2022
49 sayfa

İmmün sistemin zararlı olmayan maddelere karşı aşırı reaksiyonu ile alerjik reaksiyonlar oluşmaktadır. Solunum yolu, oral veya parenteral yollarla vücuda giren alerjenler; hayvan, bitki, mantar kaynaklı olabileceği gibi küçük molekül ağırlıklı kimyasal ajanlar da olabilir. Alerjik hastalıkların büyük çoğunluğu IgE'ye bağlı mekanizmalar aracılığı ile gelişmektedir. Alerjik hastalıkların Dünya'da %20-30 oranında görülmesi, en çok araştırma yapılan hastalıklardan biri haline getirmiştir. Dünya'nın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarla astım, alerjik rinit ve atopik dermatit prevalanslarında büyük farklılıklar belirlenmiştir. Ülkemizde ise çocuklarda yaşam boyu astım prevalansının %4,9-14,1 oranında olduğu bildirilmiştir. Toprakta bol miktarda bulunup, organik madde ve su bulunan yüzeylerde hızla gelişip çoğalabilen funguslar, hava hareketlerinin etkisi ile geniş yayılım alanı göstermektedirler. Astımda hava yolu inflamasyonunun ve havayolu aşırı cevaplılığının başlıca sebeplerinden olan inhalan alerjenler havanın kimyasal ve fiziksel kirlenmesiyle birlikte son zamanlarda giderek artmaktadır. *Candida* türleri doğada yaygın olarak bulunan ve insanların normal florasında yer alan maya mantarlarıdır. *Candida albicans* kommensal ve fırsatçı patojen olarak bulunabilen polimorfik maya mantarıdır. *Candida* türleri ile doğada ve insan florasında sürekli ilişki içerisinde bulunmamız nedeniyle bu mikroorganizmanın antijenik yapılarının tanımlanması ve bunların immün sistem üzerine olan etkilerinin ortaya konulması son derece önemlidir. Laboratuvarımızda üretilen *C. albicans* toplanarak alerjen mantar proteini ekstrakte edilmiştir. Hazırlanan mantar ekstratlarından protein numuneleri hazırlanarak BCA yöntemi ile potansiyel alerjen proteinlerin total konsantrasyonu tespit edilmiştir. Sonuç olarak *C. albicans*'ın yüksek protein konsantrasyonuna sahip olduğu saptanmıştır. Alerjik hastalıkların tanısına yardımcı mantar ekstratlarının hazırlanmasında temel veriler elde edilmiştir

Anahtar Kelimeler: Alerji, Mantar alerjisi, *Candida albicans*, Protein Ekstraksiyonu



‘Canım aileme’

TEŞEKKÜR

Bu alıŐma sűresince tűm bilgilerini benimle paylaŐmaktan kaçınmayan, her tűrlű konuda desteęini benden esirgemeyen ve tezimde bűyűk emeęi olan, Gaziantep Ŭniversitesi űęretim űyelerinden danıŐman hocam, sayın Prof. Dr İbrahim Halil KILIÇ'a;

ÇalıŐma sűresince tecrűbeleri ile beni aydınlatan ve desteęini hiç eksik etmeyen, Doç. Dr. Sibel BAYIL sonsuz minnet ve teŐekkűrlerimi sunarım.

Laboratuvar alıŐmaları sırasında bana yol gűsteren, desteklerini esirgemeyen Yűk. Biyo. Bekir ÇAKMAK'a;

Bu çalıŐmada maddi destek saęlayan Gaziantep Ŭniversitesi BAP Yűnetim Birimine (FEF.YLT.19.34 no'lu proje) teŐekkűrlerimi sunarım. ÇalıŐma sűresince beni hep destekleyen ve gűvenen tűm aileme sonsuz teŐekkűrlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	v
ÖZET	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	3
2.1 Alerji Nedir?	3
2.1.1 Alerji Tanı Testleri.....	4
2.2 Mantarlar	6
2.2.1 Hücre Yapısı	6
2.2.2 Mantarların çoğalması için gerekli koşullar	8
2.2.3 Küflerin yapısal özellikleri	10
2.2.4 Dimorfik Şeklindeki Mantarlar	10
2.2.5 Maya şeklindeki mantarlar	10
2.3 <i>Candida albicans</i>	14
2.3.1 <i>Candida</i> Türlerinin Genel Özellikleri ve Sınıflandırması	14
2.3.2 Hücre Duvarının Yapısı	16
2.3.3 <i>Candida albicans</i> 'ta Polimorfizmler	16

2.3.4 <i>Candida albicans</i> Biyofilmi.....	17
2.3.5 Antifungal Ajanlar Ve Aktiviteleri	19
2.3.6 Proteinler.....	19
2.3.7 Mannoproteinler.....	21
2.3.8 Epidemiyoloji.....	22
2.3.9 Mantarların neden oldukları sensivite rekasiyonları.....	23
2.4 Proteinlerin Nicel Analiz Yöntemleri.....	24
2.4.1 Warburg-Cristian Yöntemi	24
2.4.2 Biüret Yöntemi.....	25
2.4.3 Bradford Yöntemi	25
2.4.4 Lowry Yöntemi	25
2.4.5 2.4.5 BCA yöntemi	26
BÖLÜM III MATERYAL VE METOD.....	28
3.1 Materyal.....	28
3.1.1 Kullanılan Kimyasallar	28
3.1.2 Kullanılan Besiyerleri	28
3.1.3 <i>Candida albicans</i> Suşunun Temini.....	29
3.2 Metod.....	30
3.2.1 <i>C. albicans</i> Ekstrelerinin Hazırlanması	30
3.2.2 Total Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi	32
3.2.3 Prensip:	32
BÖLÜM IV BULGULAR	34
4.1 Protein Konsantrasyonları	36
BÖLÜM V TARTIŞMA VE SONUÇ	39
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ.....	49

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1 Gell ve Coombs'e göre aşırı duyarlılık reaksiyonlarının sınıflandırması ...	4
Tablo 2.2 <i>Candida albicans</i> 'ın etken olduğu Alerjik rahatsızlıklar ve sebep olan mantar türleri .	23
Tablo 4.1 Ticari <i>C. albicans</i> deri prick testi ekstrelerinin konsantrasyonuna göre yeniden hazırlanan mantar ekstresinin BCA testi ile ölçülen toplam protein konsantrasyon değerleri.....	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 CHROMagar ve SDA besiyerinde <i>C. albicans</i> kolonileri.....	9
Şekil 2.2 <i>Candida albicans</i> 'ın üç morfolojik formu	17
Şekil 2.3 <i>Candida Albicans</i> biyofilm oluşumunun aşamaları	18
Şekil 2.4 Bradford Yönteminin Prensibi.....	25
Şekil 2.5 Lowry Yönteminin Prensibi	26
Şekil 2.6 Biüret reaksiyonu sonucu, BCA ve bakır iyonları arasında oluşan mor renkli kompleksin yapı.....	27
Şekil 3.1 <i>C. albicans</i> (LOT 443-1071-1) ticari suşu.....	29
Şekil 3.2 <i>C. albicans</i> ekstralarının liyofilizasyonu	31
Şekil 3.3 BCA çalışma diyagramı.....	33
Şekil 4.1 Kanlı agar yetişen <i>C. albicans</i> koloni morfolojisi	34
Şekil 4.2 <i>Candida albicans</i> kolonilerinin özellikleri	34
Şekil 4.3 <i>Candida albicans</i> 'ın mikroskopik morfolojisi, 100X.....	35
Şekil 4.4 <i>Candida Albicans</i> 'ın liyofilize edilmiş ekstrakte ürün	35
Şekil 4.5 Protein standart grafiği Sığır Serum Albumin (Bovine Serum A Albumin,BSA) kullanılarak oluşturulmuştur ($R^2 = 0,998$).....	36
Şekil 4.6 <i>Candida albicans</i> 'ın BCA analiz sonuçları.....	38

KISALTMALAR LİSTESİ

SDA	Sabouraud Dextrose Agar
BCA	Bicinchanic acid
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
PBS	Phosphate Bufferol Saline
AIDS	Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu
CDNA	Sitozin Deoksiribo Nükleik Asit
PCR	Polimeraz Zincirleme Tepkimesi
IGE	İmmüoglobulin E
GPI	GlikosilFosfatidilinositol
PVPP	Poly (vinylpolypyrrolidone)
TCA	Trikarbosilik Asit
PBMC	iPeriferik Kan Mononükler Hücresi

BÖLÜM I

GİRİŞ

Alerji, toplum sağlığını önemli derecede etkileyen bağışıklık sistemi ile ilişkili bir hastalıktır. Vücudun alerjen olarak bilinen belirli bir antijene maruz kalmasının ardından ortaya çıkmaktadır. Aynı antijen ile yeniden uyarıldığında klinik semptomlar ile geçici ve kronik organ disfonksiyonuna sebep olan yanlış hedeflenmiş bir bağışıklık reaksiyonudur. Genellikle protein yapıda olan alerjen moleküller IgE sentezini uyurarak onunla etkileşmektedir. Alerjenler genellikle sinüsler, akciğerler başta olmak üzere cilt ve mukozal dokuları etkilemektedir (Wang vd., 2015). Dünya Alerji Örgütü'nün verilerine göre farklı ülkelerdeki alerji yaygınlığı %10-40 arasında değişmektedir. Alerjik hastalıklara mevsimsel veya yıl boyunca rastlamak mümkündür (Simsekli, 1994; Pawankar vd., 2013). Böceklerden sonra en fazla türe sahip olan mantarların, Dünya'daki biyokütlenin %90'ından fazlasını oluşturduğu tahmin edilmektedir. Polenler, mantarlar ve ev tozu akarları en yaygın alerjenlerdir. Alerjik reaksiyonların oluşmasında küf mantarlarına, polenler kadar sık rastlanmaktadır. Küf mantarları, IgE üretimini uyaran 40'dan fazla farklı protein üreterek alerjik reaksiyonları gerçekleştirmektedir (Frew, 2004; Kendrick, 2017). Gıda olarak tüketilen türlerinin yanı sıra insanlarda hastalık oluşturan türlerinin de olması sebebi ile zararlı organizmalardan olan mantarlar, ekosistemdeki organik maddelerin çürümesinde önemli bir yere sahiptir. Biyoteknolojinin gelişmesiyle bu organizmalar; biyoyakıt, enzim, ilaç etken maddelerinin sentezlenmesi gibi farklı alanlarda da kullanılarak hayatımızda daha sık yer almaktadır (Esch ve Codina, 2017; Kendrick, 2017). Son yıllarda, Dünya'da oldukça popüler olan aeromikoloji alanında çok sayıda araştırma yapılmış, ülkemizde ve yurt dışında birçok şehrin spor takvimi çıkarılmıştır. Atmosferik spor konsantrasyonları meteorolojik bültenlerle halka duyurulmaktadır (Ceter, 2008). Farklı çevresel koşullarda bulunabilen mantarlar veya mantar sporları, buldukları yerde hava akımının etkisi ile ortam atmosferinde uzun süre asılı kalabilmektedir (Cakir, 2001).

Alerjik reaksiyonlara ek olarak küf sporlarını toksisite, aktif enfeksiyon ve klinik semptomların kaynağı olarak görmek mümkündür (Hargreaves vd., 2003). Yıllardır sporları ve misel hücrelerinin sağlık problemi oluşturdukları bilinen mantarların yaklaşık %80'i solunum yolları ile ilgili alerjik hastalıklarla ilişkilidir. Alerjen sporlar az sayıda olsalar bile göz konjuktivası, deri, solunum ve burun mukozası gibi yollarla vücuda girerek astım, alerjik rinit, konjuktivit gibi hastalık semptomlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Celenk vd., 2009). Solunum yolu alerjisi ile ilişkilendirilmiş 80'den fazla mantar türü bulunmaktadır. Alerjik mantarlardan olan *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* ve *Mucor* türleri doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Ülkemizde 1994 yılında solunum yolu alerjisi olan 614 hastada yapılan çalışma ile *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton rubrum*, *Mucor* sp., *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger* ve *Alternaria tenuis*'a karşı alerjik reaksiyon geliştiği rapor edilmiştir (Güneser vd., 1994; Cetinkaya vd., 2005). Alerjik hastalıkların görülme sıklığındaki artış alerjik reaksiyonların alerjenlerin tanımlanmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu alerjenlerin tanımlanması, izolasyonu, biyokimyasal ve immünolojik karakterizasyonun belirlenmesi alerjenlerin etki mekanizmalarını anlamamız için oldukça önemlidir. Saflaştırılmış alerjenler tanı testlerinin standartlaştırılması ve geliştirilmesi için büyük önem taşımaktadır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 Alerji Nedir?

Alerji terimi ilk kez Von Pirquet tarafından kullanılmış olup Dünya Alerji Örgütü ve Avrupa Alerji ve Klinik İmmünoloji Birliği'ne göre spesifik immünolojik mekanizmaların etkisi ile başlatılan hipersensitivite reaksiyonu olarak tanımlanmaktadır (Johansson vd., 2004). Bu reaksiyonları başlatılmasında etkili olan polen, lateks, böcekler, ev hayvanları, küfler, yiyecekler ve ilaçlar en sık karşılaşılan alerjenlerdir. Çevrede sık karşılaşılan bu alerjenlere karşı yüksek oranda IgE grubunda antikor sentezleyebilme yeteneği veya alerjik rahatsızlıklara olan yatkınlık atopi olarak tanımlanmaktadır (Durham ve Church, 2001; Simpson vd., 2010). İmmün sistemin alerjik reaksiyonları oluşturmaya eğilimli olması, alerjenin ulaştığı organdaki alerjik bulguların hızlı bir şekilde ortaya çıkmasına sebep olmaktadır.

Alerjenleri 5 ana grupta toplamamız mümkündür: Bunlar aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır.

1.Çevresel (aero) alerjenler

2.Polenler

3.Mantarlar

4.Ev tozu akarı

5.Hayvan alerjenleri: böcek alerjenleri,besin alerjenleri,ilaç alerjenleri, mesleki alerjenler

Alerjik hastalıklar çevresel faktörler ve karmaşık bir gen grubunun etkileşimi sonucu oluşmaktadır (Warner, 2004). Alerjenler, immün sistemin kolayca tanıyabileceği protein yapıdaki organik maddelerdir. Protein ve glikoprotein yapıdaki birçok alerjen genellikle IgE düzeyinde artma, T helper 2 sitokin yanıtında aşırılık ve eozinofili şeklinde benzerlik göstermektedir (Liu vd., 1992).

Alerji, antikor veya hücre aracılı olmak üzere 2 farklı şekilde gelişebilmektedir. Alerjiler, patafizyolojik özellikleri dikkate alınarak Gell ve Coombs (1963) tarafından yapılan sınıflandırmaya göre (Tablo 2.1) incelenmektedir (Abbas vd., 2012).

Tablo 2.1 Gell ve Coombs'e göre aşırı duyarlılık reaksiyonlarının sınıflandırması

ÖZELLİK	Tip-I (Anafilaktik)	Tip-II (Sitotoksik)	Tip-III (İmmün kompleks)	Tip-IV (Hücrel tip)
Aktarım Şekli	Antikor	Antikor	Antikor	T-hücreleri
İmmün reaktant	IgE	IgM-IgG	IgM-IgG	Th1-Th2
Cevap süresi	15-30 dakika	Dakikalar / Saatler	3-8 saat	48-72 saat
Örnek	Alerjik astım, Saman nezlesi	Hemolitik transfüzyon reaksiyonları	Lupus	Kontakt dermatit

Atopik bireylerin saptanmasında standart bir yöntem olan deri prik testi yaygın olarak kullanılmaktadır. Deri prik testi sonuçlarına göre çocuk ve erişkin yaş grubunda, Dünya genelinde yaklaşık %3-10 oranında mantarlara karşı alerjik reaksiyonların geliştiği bildirilmiştir (Bush vd., 2001; Sancak 2003). Atopik bireylerde bu oranın %20-30 olduğu tahmin edilmektedir (Valenta, 2002).

2.1.1 Alerji Tanı Testleri

Alerjik hastalığın tanısında tedaviye rehberlik etmesi sebebi ile klinik öykünün belirlenmesi çok önemlidir. Alerjik semptomların alerjene maruz kaldıktan kısa bir süre sonra ortaya çıkması karşılaşılan alerjenle ilişkili olduğunu düşündürse de bu duruma farklı alerjenlerin de sebep olabileceği öngörülmektedir. Alerjik semptomların oluşmasında etkili olan alerjenin belirlenmesinde deri prik testi, laboratuvar temelli ve bağışıklama testleri gibi birçok test uygulanmaktadır (Williams vd., 2008).

2.1.1.1 Deri Testleri

Deri testleri alerjik hastalıkların tanısında vazgeçilmez bir yöntem olmasına rağmen solüsyonlardaki alerjenlerin stabilitesi, eş zamanlı kullanılan ilaçlarla etkileşimi, sistemik reaksiyon riski, küçük çocuklara uygulamada yaşanan zorluklar sebebi ile bazı hastalara uygulanamamaktadır (Yılmaz vd., 2009).

2.1.1.2 Prik Testi

Alerji tanısının desteklenmesinde en sık kullanılan testtir. Histamin (+ kontrol), salin (- kontrol) yanıtları ile beraber IgE aracılı duyarlılığın belirlenmesi amaçlanmaktadır. Duyarlı kişilerde alerjenin tatbik edilmesinin ardından mast hücrelerinden histamin deşarjı başlar. 15-30 dakika sonra ciltte eritem ve kabarıklık oluşur. Bu erken yanıtın değerlendirilmesi ile belirlenmektedir. Deri prik testi diğer alerji tanı testlerine göre ucuz, güvenilir, hemen sonuç verebilen, spesifikliğı yüksek, klinikle uyumlu, kolay uygulanabilir, intra dermal testlere göre ağrısız olmaları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedirler (Montaña vd., 1997; Etzel vd., 1998).

2.1.1.3 İntradermal Test

Prick testinden daha duyarlı olmasına rağmen eş zamanlı ilaçlarla etkileşimi sebebiyle yanlış pozitiflik ve sistemik yan etkileri, prik testine göre daha fazladır (Arsoy vd., 2018).

2.1.1.4 Yama Testi

Atopik ve kontakt dermatit ajanlarının belirlenmesi için sıklıkla tercih edilmektedir (Turjanmaa vd., 2006).

2.1.1.5 Nazal Provakasyon Testi

Alerjenin burundan verilmesi ile oluşan alerjik reaksiyonların değerlendirilerek tanının konulması amaçlanmaktadır (Ozcan, 2010).

2.1.1.6 Total IgE Ölçümü

IgE yüksekliğinin alerjik hastalıklar dışında birçok klinik tabloda da görülmesi, semptomlardan sorumlu alerjenin belirlenmesinde diğer alerji testleri ile birlikte değerlendirilmesini gerektirmektedir (Akoğlu, 2017).

2.1.1.7 Spesifik IgE Ölçümü

Alerjik hastalıkların tanı ve tedavi yaklaşımlarının planlanmasında alerjen ile ilişkili spesifik IgE'lerin tespitinde yaygın olarak kullanılan güvenilir bir testtir. Duyarlı olunan alerjene karşı oluşturulmuş IgE'lerin saptanmasında ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay), RAST (Radioallergosorbent test), FAST (Floresans allergosorbent test), MAST (multiple allergosorbent test) ve kemiluminesens yöntemleri gibi farklı yöntemler tercih edilmektedir. Pahalı bir yöntem olması sebebi ile deri testini tolere edemeyen, ağır dermografizm ve atopik dermatitli, antihistaminik ve beta bloker grubu ilaç kullananlarda uygulanmalıdır (Kınıklı ve Tokgöz, 1999; Akoğlu, 2017).

2.1.1.8 Eozinofil Sayımı

Periferik kandaki lökositlerin %1-5 kadarını oluşturan eozinofillerin periferik yaymadaki oranının %20'den fazla olması anlamlıdır. Alerjik yatkınlığı olan bireylerin eozinofil sayısı normal veya yüksek seviyelerde olabilmektedir. Eozinofili alerjik hastalıklar için spesifik değildir (Ovet, 2010).

2.2 Mantarlar

Doğada (hava, su, bozulan organik materyal üzerinde) yaygındırlar. Yeryüzünde yaklaşık 400.000 kadar farklı mantar tipi bulunmaktadır. Bunlardan yalnızca 200 kadarı hayvan ve insanlarda hastalık yapar. Bütün mantar infeksiyonlarının %90'ını 10-20 tür mantar oluşturur.

2.2.1 Hücre Yapısı

Hayvan hücreleri gibi mantarlarda ökaryot hücre yapısına sahiptir. Mantarlar, ökaryotik, gelişmiş hücre yapısına sahip kapsül (sadece bazı mantarlarda), hücre duvarı, hücre zarı, sitoplazma- çekirdek zarı- çekirdekçik- ER, mitokondri, golgi,

vakuoller gibi kısımlardan oluşmaktadır. Kapsülün kimyasal yapısı polisakkarit'tir. Fonksiyonlarına gelince önemli bir virülans faktörü, anifagositik etki gösterir. Bu yapı belirli mantar gruplarında görülür. Hücre duvarı antijeniktir. Yapısına bakıldığında çok tabakalı olduğu görülür. Polisakkaritler (~%90): hekzos ve hekzamin polimerleri (kitin, selüloz, glukan, mannan polimerleri) polisakkarit tipi ve miktarı türden türe değişir. Proteinler ve glikoproteinler ise takribi %10'u oluşturur.

Hücre duvarı mantarın kuru ağırlığının %90'ını oluşturur. Kimyasal yapısı bakteri ve bitkilerdekinden farklılık gösterir. Bakteride hücre duvarının esas maddesi ise peptidoglikandır. Bakteri hücre duvarına etkili antibiyotikler mantarlara etkisizdir. Bazı antifungaller mantar hücre duvarına etki eder. Hücre duvarı sağlamlığı sağlarken mantara şeklini verir, ozmotik şoklardan korur.

Hücre zarı çift tabakalı fosfolipitler ve sterollerden oluşmuştur. Sterol olarak ergosterol bulunur. İnsandaki hücre zarı yapısında ise başlıca sterol kolesteroldür. Hücre zarının başlıca fonksiyonları madde alışverişi yapmak, kapsül ve hücre duvarı sentezinin gerçekleştirilmesi gibi birçok önemli görevler üstlenmiştir. Amfoterisin gibi bazı antifungaller mantar hücresinde ergosterole bağlanarak etki gösterirler. Bu bağlanma ile hücrenin geçirgenliği artar böylece hücre ölümüne neden olurlar. Ayrıca amfoterisin konakçı immun sistemi üzerine stimüle edici etki gösterir.

Mantarların hücre zar yapıları insan hücre sitoplazma zarına benzerlik gösterdiğinden, mantar infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ilaçların çoğu, insan hücresi üzerine de toksik etki yapar. İnsan hücre zarında bulunmayan ergosterol ve zymosterol'ü hedef alan antifungal ilaçlar mantar enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Bu antifungaller insan hücresine zarar vermeden mantarlara etkili olabilmektedir. Mantar hücreleri klorofil bulundurmazlar bu yüzden fotosentez yapamazlar. Fotosentez yapamama özellikleri mantarları yüksek bitkilerden ayıran önemli bir farktır. Mantarların nesillerini sürdürebilmesi hayat siklusları spor oluşturarak gerçekleşir ve bu şekilde yayılım gösterirler. Mantarın üreme şekilleri sistematikte ve tanımlama da önemli bir kriterdir. Özellikle klinik mikolojide identifikasyonda sporların yapısı ve şekilleri önemli kriterler arasındadır.

2.2.2 Mantarların çoğalması için gerekli koşullar

Mantarların üremeleri için ihtiyaç duydukları sıcaklık ısısı 20-35⁰C'ler arasında olabilmektedir. Üremeleri ihtiyaç duyulan nem kritik öneme sahip bir kriterdir. Önemli çevresel faktörlerden birisi de ortamın asidite değeridir. En iyi üreyebildikleri pH değerleri 5- 7 arasında olur. Mantarlar üremeleri için gerekli olan atmosferik koşullar açısından oksijen ihtiyaçları bakımından zorunlu veya fakültatif aerob özelliktedirler. Bununla birlikte kemoheterotrof özellik gösterirler.

Mantarlarda generasyon süresi türlere göre ve çevre koşullarına göre farklılık göstermektedir. Maya şeklinde üreyen mantarlarda generasyon süresi 24-48 saat arasında iken küf şeklinde çoğalan mantarlar ise bu süre 4 ile 21 gün arasında olabilmektedir.

Mantarlar enzim bakımında zengin olduklarından organik bileşikleri hücre dışına salgıladıkları hidrolitik enzimleri sayesinde monomerlerine kadar parçalayabilirler. Monomere kadar parçalanan bileşikler difüzyon ile hücre içine alarak kullanılırlar. Canlılığını kaybetmiş özellikle canlı atıkları üzerinde çoğalarak yaşamlarını burada sürdürdüler. Yani doğal habitatları bu ortamlar olup saprofitler. *Candida albicans* bu açıdan bir istisnai tür olarak karşımıza çıkmaktadır. Mantarlar çoğalabilmeleri için inorganik madde ve tuzları ortamda mevcut olmalıdır. Mantarların yapısal özellikleri bakımından bakterilerle kıyaslandığında çevredeki fiziksel ve kimyasal değişimlere daha dayanıklıdır. Mantarların morfolojik özelliklerine göre tek hücreli mantarlar için maya, hifli ve iplikli çok hücreli yapıdakilere ise küf adı verilmektedir.

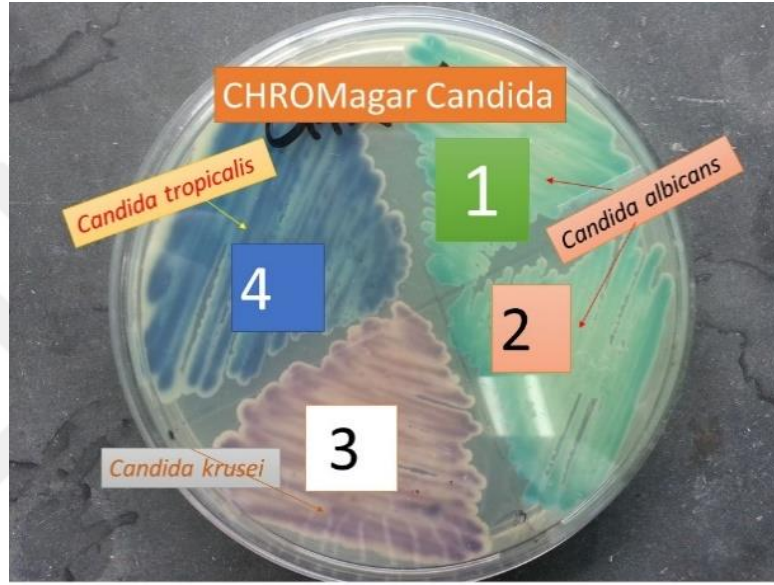
Çevre koşullarının değişmesi ile bu çevre koşuluna bağlı olarak maya şeklinde veya küf şeklinde gelişebilen mantarlar aynı tür mantarlar için **dimorfik mantarlar adı verilmektedir**. Dimorfizm oluşumu ısı, CO₂, besin gibi çevresel faktörlerle gelişir.

Termal dimorfizm: Bazı patojen mantarlar 35⁰C'de maya şeklinde gelişirken 25⁰C'de küf olarak çoğalırlar. Bu mantarlar dış ortamlarda küf şeklinde gelişirken canlı vücudunda ısı'ya bağlı olarak maya formunda olurlar.

Maya tek bir hücre şeklinde bulunan mantarlardır. Mayalar **ışık mikroskobu** altında yumurta şeklinde elips veya yuvarlak görünür çapları 3 -15 µm iken boyları 2 -50 µm arasındadır. Tomurcuklanma şeklinde çoğalırlar ve yeni oluşan yavru hücre

“blastokonidyum” şeklinde adlandırılır. Psödohif (yalancı hif) morfolojilerinde görünen yapısal formları oluşturabilirler. Blastokonidyum hücreler ana maya hücresinden ayrılmaz ve uzayarak hif görünümünü alırlar.

Makroskopik görünüm: Mayaların petri kutusunda besi ortamlarında oluşturdukları koloniler kremi bir görünümde dirler. Koloniler şekil ve yapı bakımından bakterilerin oluşturduğu kolonilere çok benzerlik gösterirler.



Şekil 2.1 CHROMagar ve SDA besiyerinde *C. albicans* kolonileri

2.2.3 Küflerin yapısal özellikleri

Küf şeklinde mantarların yapısı çok hücreli olup filamentler şeklinde gelişirler ve temel yapısal birim hif'tir.

Işık Mikroskopunda Görünüm: Mikroskop altında hif görüntüsü tüp şeklinde uzun hücreler şeklinde görünürler. Yaklaşık 2 -10 µm boyundaki hif yapıları bölmeli veya bölmesiz olabilirler. Bu durum mantar türüne göre farklılık göstermektedir. Hif şekilleri farklılıkları raket görünümlü, spiral görünümlü köksü görünümlü gibi adlandırılmaktadır. Bu hif şekilleri identifikasyonda kullanılan önemli özellikleridir.

Makroskopik görünüm: Bu mantarların gerek SDA gerekse PDA besiyerinde gelişen küf kolonileri pamuğumsu, yünümsü, kadifemsi şeklinde nitelendirilmekte olup koloni rengi petri kabının altından bakılarak belirlenmektedir. Küf yapıları tel yada iplik şeklinde çok hücreli yapılardır. Çok sayıda bulunan bu ipliksi yapıya misel tek bir tüp şeklindeki yapıya ise hif adı verilmektedir. Hif gelişimi boyuna uzama şeklinde olup bazıları septalı bazıları ise septasız olabilmekte olup bu durum mantarın türü ile alakalıdır.

2.2.4 Dimorfik Şeklindeki Mantarlar

Bu mantarlar çeşitli çevre koşullarının farklılaşmasına göre iki farklı morfolojik yapıda gelişen mantarlardır. Bu farklılık ısı ile alakalı ise termal dimorfizm olarak adlandırılır. Çevre koşul farkı mantarın maya veya küf oluşumunu belirler. Dimorfik durum geri dönüşümlüdür. Yani çevre koşullarının değişimi ile küf şeklinden maya şekline dönüşebildiği gibi bunun tersi de mümkündür.

2.2.5 Maya şeklindeki mantarlar

Bu şekildeki mantarlar aynen bakteriler gibi tek hücrelidirler. Taksonomide ise küflerle beraber fungus altında yer alırlar. Şu ana kadar tanımlanan yaklaşık 1000'den daha çok maya türü bulunmaktadır. Mayaların bir çok türü özellikle gıda, alkol ve ilaç sanayide yaygın olarak kullanılmakta olup önemli ekonomi kaynakları oluşturmaktadır. Doğada maya türleri yaygındır. Toprakta hatta bağ topraklarında çok daha yaygın olarak bulunurlar. Buralardan çeşitli yollarla mesela böceklerle üzüme birçok meyvelere taşınır ve meyvelerin üzerindeki çatlaklar sayesinde içeri girip orada çoğalabilirler. Mayalar fermantasyon ile kendilerine özgü bir aroma oluşturarak lezzet

konusunda etkin rol oynarlar. Endüstriyel alanda en yaygın kullanılan maya türü şarap, bira ve ekmek endüstrisinde kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* mayasıdır. Bununla beraber gıda endüstrisinde kontaminasyonlarla zararlara yol açmaktadır. Mayaların büyük bir bölümü Ascomycota divisio'sunda yer alırken bir kısmı ise Basidiomycota divisio'sunda yer almaktadır.

Atmosferik ihtiyaçları bakımından maya türleri mutlak aerop veya fakültatif anaerop özelliğindedir. Mutlak anaerob özellikte olan maya türü bulunmamaktadır. Oksijen olmadığı ortamlarda fermantatif yeteneğindeki maya türleri ihtiyaçları olan enerjiyi polisakkaritleri karbon dioksit ve etanol (alkol) veya laktik asit'e kadar parçalayarak elde ederler. Ekmek üretiminde oluşan etil alkol buharlaşarak ortamdan uzaklaşırken açığa çıkan karbon dioksit ise ekmeğin kabarmasına neden olur. Mayaları zengin enzimatik çeşitliliği onların biyoteknolojik çalışmalarda kullanılma sebebidir. Biyoteknolojik çalışmalarda farklı canlıların proteinleri ekonomik olarak mayalar tarafından üretilmektedir. Bu yöntemler kullanılarak İnsülin, interferon hepatit B yüzey antijenleri üretilen ürünler arasındadır. Tek hücrelidirler mikroskopta yuvarlak-elips şekilde, 3-15 µm çapında görülürler. Çoğalmaları tomurcuklanma (blast oluşumu) veya ortadan ikiye bölünme (binary fision) olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Bir maya hücresinin bir veya birkaç yerinden tomurcuklanma olur. Olgunlaşan yapı ana hücreden koparak yavru hücre oluşur, yavru hücreye blastokonidyum denir. Oluşan blastokonidyum mayaların bazılarında ana hücreden ayrılmadan kalır. Zincir şeklinde bir dizilim oluşturur (yalancı hif = psödohif). Mayalar genel olarak bakterilerden büyüklük ve şekil açısından fark gösterdikleri gibi küflerden de misel ihtiva etmemeleri ile ayrılmaktadır.

Gerçek maya hiflerinde, hücre duvarları birbirine paraleldir. Yalancı hifte tomurcuklanma bölgesine yakın bir yerde içe bükey bir yapı görülür. Bazı mayalar hem tomurcuklanma hem de ikiye bölünme ile çoğalırlar. Bu şekilde oluşan hücrelere artrokonidyum denir. *Cryptococcus neoformans* da olduğu gibi bazı mayalarda patojenite ve virulansta rol oynayan, maya hücresine antijenik özellik kazandıran kapsül vardır. Maya mantarları tomurcuklanma yoluyla eşeysiz veya askospor oluşumu yoluyla eşeyli olarak ürer. Eşeysiz üremesinde ana hücreden bir tomurcuk büyür ve yetişkin boyuta ulaştığında şartlar uygunsa ana hücreden ayrılır. Az besinli ortamda eşeyli üreyebilen mayalar askospor oluştururlar.

Mayalarda çoğalma şekilleri 4 farklı şekilde gerçekleşir.

I. Bölünerek

II. Tomurcuklanarak

III. Spor oluşturarak

IV. Eşeyli

I. Bölünerek çoğalma:

Schizosachharomyces cinsinde olduğu gibi bazı maya türleri bakterilerdekine benzer şekilde ikiye bölünerek çoğalmaktadır.

Hücre belli bir büyüklüğe erişince hafifçe uzamakta ve ortasından içeriye doğru bir girinti oluşturmaktadır.

Sonradan bu girinti yeni hücre duvarı şekline dönüşerek maya ikiye bölünmektedir.

Çoğalmanın çok hızlı olması halinde hücreler birbirlerinden ayrılmayarak, misel veya hücre zincirleri şeklini almaktadır.

II. Tomurcuklanma: (Vejetatif çoğalma)

Ana hücrenin uç tarafında önce bir şişkinlik oluşur, bu şişkinlik gittikçe büyüyüp tomurcuk halini alır. Tomurcuk (yavru hücre) ile ana hücre arasında bir kanal mevcuttur. Yavru hücre, ana hücre büyüklüğünü aldığı zaman bu kanal bir duvarla kapanır ve yeni bir hücre meydana gelir. Genellikle ana hücrenin yavru hücreyi meydana getirdiği uç, dış bükey ve yavru hücrenin buna karşı ucu ise iç bükeydir. Tomurcuklanma genellikle ana hücrenin bir ucunda olur. Ancak bazen ana hücrenin her iki ucunda da oluşabilir. Buna bipolar tomurcuklanma adı verilir. Sachharomyces cinsi mayalar tomurcuklanma ile çoğalabildikleri gibi sporlanma ile de çoğalabilir.

III. Sporla çoğalma:

Hakiki maya denilen Sachharomyces cinsi mayalar tomurcuklanma ile çoğalabildikleri gibi sporlanma ile de çoğalabilirler. Sporla çoğalmada maya hücresinin çekirdeğinde önce bölünmeler meydana gelir. Sonra bölünen çekirdeklerin etrafındaki protoplazma yoğunlaşarak spora dönüşür. Meydana gelen sporlar hücre

içinde kalır, işte sporların içinde kaldığı bu hücreye askus (ascus), sporlara ise askospor adı verilir. Askus içinde 1-8 spor bulunur. Sporlar uygun bir ortam bulduklarında çimlenip vegetatif hücre haline geçer. Bu vegetatif hücreler ise tomurcuklanma ile çoğalır. Laboratuvarlarda çeşitli metotlar kullanılarak vegetatif hücrelerin spor haline dönüştürülmesi mümkündür.

IV. Eşeyli çoğalma

Bu çoğalma tipinde iki hücre yan yana gelip birbirleriyle temas ettikten sonra arada bir kanal meydana gelir, bu iki hücreye gamet adı verilir. Gamet sonradan askus haline gelerek askosporlar oluşur. Uygun şartlarda sporlar açılarak vegetatif hücreleri oluşturur.

Seksüel kopulasyon;

İzogamik,

Heterogamik,

İntermedier,

Askospor kopulasyonu olarak 4 şekilde meydana gelir.

Maya kolonileri katı besi yerlerinde opak, macun kıvamında, 0.5-3 mm çapında bakteri kolonilerine benzer koloniler oluştururlar. Birkaç tür karakteristik pigment oluştursa da genellikle koloniler krem rengindedir. Laboratuvar tanısında direkt mikroskopik inceleme. Gram boyası %10-20 potasyum hidroksit (KOH) Laktofenol pamuk mavisi ve Çini mürekkebi ile boyanarak yapıla bilinmektedir. Gram boyama yöntemi genelde küflerde kullanılmamakta olup mayaların tanısında yararlıdır.

Mayalar Gram pozitif boyanırlar. Mantarların hücre duvarını boyamak için en iyi yöntemlerden biri Periyodik asit-schiff (PAS) boyası ve diğeri methanamid gümüş boyasıdır. Çini mürekkebi ile yapılan boyama, kapsüllü mayalar (Cryptococcus neoformans) için faydalı olabilir. Laktofenol pamuk mavisi mantar sporlarını görmek için faydalıdır. Kültürleri için zenginleştirilmiş besiyerleri olan beyin-kalp infüzyon agar ve malt ekstreli besiyerleri kullanılır. Seçici besiyeri olarak sabouraud dekstroz

agar, bakterilerin ve saprofit mantarların üremesini engellemek için antibiyotikler (siklohegzimid ve kloramfenikol... gibi) eklenerek hazırlanır.

2.3 *Candida albicans*

2.3.1 *Candida* Türlerinin Genel Özellikleri ve Sınıflandırması

Candida türleri Ascomycetes sınıfında yer alan aseksüel mayalardır. Sekiz kromozom varlığı ile genetik olarak diploid olup (Calderone ve Fonzi, 2001), tüm koşullarda tek hücreli olarak üreyen *Candida glabrata* farklı olarak haploiddir. *Candida* mayaları tek hücreli, boyutları 4-6 µm, küre, silindirik ya da oval, kapsülü olmayan, hareket etmeyen, gram pozitif, fakültatif aerob mayalardır (Vazquez ve Sobel, 2003; Koneman vd., 2006; Kiraz, 2011). *Candida* türlerinin hücre duvar yapıları bakterilerden farklıdır. Hücre duvarlarının içeriğinde polisakkaritler, mannan, gluklan ve kitin bulunmaktadır. Gluklan ve kitin komponentleri *Candida* hücre duvarı yapısının büyük bir kısmını oluşturmaktadır (McCullough vd., 1996). Hücre duvar yapılarının altında ana yapı elemanı ergosterol olan bir hücre membranı bulunmaktadır. Ergosterol bazı antifungal ilaçlar için hedef yapı özelliği taşımaktadır. *Candida*'ların sitoplazmasında diğer ökaryotik canlılarda olduğu gibi çeşitli organeller bulunmakta olup, *Candida*'ların sitoplazmasındaki en büyük organeller vakuollerdir. Bu vakuoller hücre içi proteinlerin taşınmasında, iyon konsantrasyonu ve osmotik basıncın düzenlenmesinde görev almaktadırlar (Reiss vd., 2012). *Candida* türleri tomurcuklanma ile çoğalmaktadır. Maya formunun dışında kültürlerde ve dokularda gerçek hif veya yalancı hif oluşturabilmektedirler. Tomurcuklanma ile oluşan yalancı hifler, oluşan uzantının ana kısımdan ayrılmaması ile meydana gelmektedir. Gerçek hifler apikal uzantılı, bölmeli, düzgün kenarlı bir yapıdır (Koneman vd., 2006). Tür tanımında, blastokonidyum, yalancı hif, klamidospore, askospore ve germ tüpün oluşumu önem arz eder. *Candida* türlerinin çoğu yaygın kullanılan mikolojik ve bakteriyolojik besi yerlerinde özel mantar besiyerlerine gerek duymadan kolaylıkla üreyebilme yeteneğine sahiptirler. Koloniler genellikle 48-72 saatte, özellikle patojen olan türler oksijenli/oksijensiz ortamda 25-37°C'de, saprofit türler daha az ısıda üremektedirler (Howell vd., 2015). *Candida* türleri SDA gibi primer izolasyon besiyerlerinde üreyip genellikle krem rengi veya kirli beyaz, yumuşak kıvamı ve tipik mayamsı kokuya sahip S formunda koloniler oluşturmaktadırlar (Cerikçioğlu, 2017). *Candida* kolonileri S formundan R formuna kendiliğinden dönüşebilme

yeteneğindedir. *Candida* türleri arasındaki morfolojik farklılıklar sadece spesifik besiyerlerindeki üreme özelliklerine göre tanımlanır. Bakterilerin ve küflerin üremesini önlemek için primer izolasyon besiyerinin bileşimine sikloheksimid, gentamisin, kloramfenikol gibi antibiyotikler eklenebilmektedir (Howell vd., 2015). *Candida* türlerinin üreyebilmeleri için besiyeri ortamında glikoz, amonyum tuzu, fosfat, biyotin gibi maddeler ile demir, çinko, kalsiyum gibi serbest metallerin bulunması ve ortam pH'sının 2 ila 8 arasında olmalıdır. Bu mayalar kemoheterotrof olduklarından organik azot ve karbon kaynağına ihtiyaç duymaktadır. Besinlerini buldukları ortamdan absorpsiyon yoluyla sağlamakta olup, bunu sağlayabilmeleri için ortamdaki nem oranının %95-100 arasında olması gereklidir. Oksijen varlığında karbonhidratları tek karbon kaynağı olarak kullanabilme yeteneğindedirler. *Candida* türleri fermantatiftir, CO₂ ve alkol açığa çıkarırlar. *Candida* türleri besin bakımından fakir bir ortam olan mısır unlu agarda, yedek besinler depolayan klamidosporeler oluşturmaktadırlar. Bu oluşumlar yuvarlak ve büyük olup, hiflerin içinde, kenarında ya da uçlarında gelişebilmektedir. Kalın duvarlı bu oluşumlar zorlu çevre şartlarına karşı hücreyi koruma yeteneğindedir. Mısır unu ve Tween 80 agar ortamında *C. albicans* dört değişik morfolojik yapı ile üremektedir. Bu morfolojiler; psödohif, blastospor (blastokonidyum), klamidospor oluşumdur. Ayrıca seyrek olarak da gerçek hif oluşumdur (Cerikcioğlu, 2017). Klamidospor yapısı *C. albicans*'ın en bariz özelliğidir. Ayrıca, *C. dubliniensis* ve *C. tropicalis* türlerinin bazı şuşları da klamidospor oluşturma yeteneğindedir. Bunun yanısıra bu şuşlara ait klamidospor yapıları farklı morfolojiler göstermektedir. *C. tropicalis* tekrarlayan pasajlarda klamidospor oluşturma yeteneğini kaybederken, *C. albicans* klamidospor oluşturma yeteneğini kaybetmemektedir (Cerikcioğlu, 2017). Heterojen cinse sahip olan *Candida* türleri Ascomycetes sınıfındaki Saccharomycetales ailesine aittir. *Candida* cinsi içerisinde 200'den fazla tür bulunmaktadır. Ancak bu türlerin belirli bir kısmı insanlarda enfeksiyona neden olabilmektedir. Hastalık etkeni olarak en sık izole edilenler; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*'dir. Daha az sıklıkla enfeksiyon etkeni olarak izole edilen türler ise; *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. lusitanae*, *C. stellatoidea* ve *C. dubliniensis*'tir. Bu türlerin içerisinde *C. albicans*, lokal ve sistemik enfeksiyonlara en sık yol açan ve klinik örneklerden en fazla izole edilen türdür. Ancak *C. albicans* dışı *Candida* (NAC) türlerinin sıklığı da günümüzde giderek artmaktadır (Richardson ve Warnock, 2012). Günümüzde maya taksonomisi sürekli olarak gelişmekte olup, mayalar DNA dizilimi ve filogenetik analiz yöntemleri

ile taksonomik kategorilere yerleştirilmektedir. Son 6 yılda fenotipik ve morfolojik olarak ayırt edilemeyen ancak belirli hedef dizilerde DNA dizileme analizine dayalı olarak ayrılabilen “şifreli türler” veya “tür kompleksleri” gibi organizma grupları tanımlanmıştır (Howell vd., 2015). *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata* gibi en önemli *Candida* türlerinin taksonomisinde önemli değişiklikler yapılmıştır ve bu türler artık “tür kompleksleri” olarak kabul edilmektedirler (Brandt ve Lockhart, 2012).

2.3.2 Hücre Duvarının Yapısı

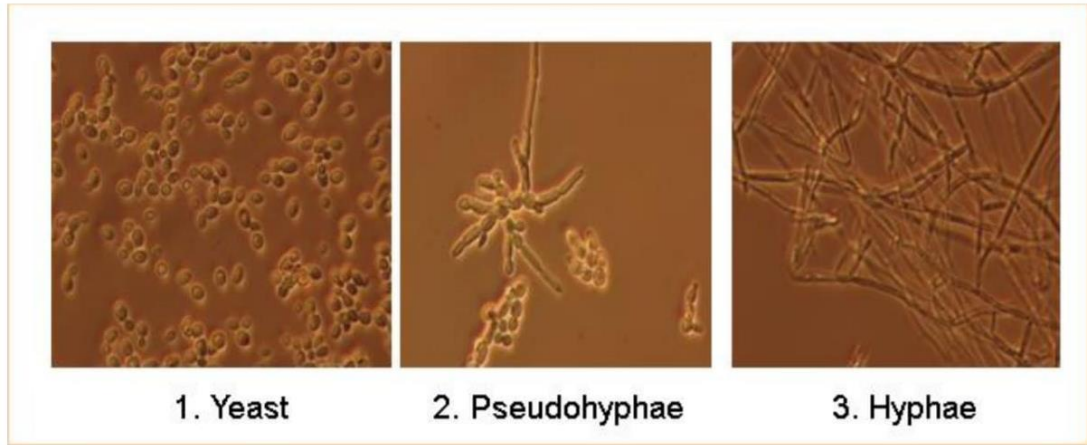
Bir mantar hücre duvarı farklı katmanlardan oluşur. İç kısım genellikle korunur. Diğer katmanlar bu katman üzerine inşa edilmiştir, bu katmanlar farklı ve mantar türüne bağlıdır. Farklı polisakkaritler arasında glukanlar en çok bulunan mantar hücre duvarının önemli yapısı olup mantar kuru ağırlığının yaklaşık % 50-60'ını oluşturur. Mantar plazmasında bulunan bir dizi kompleks enzim tarafından sentezlenir. Bu enzimlere glukan sentazlar denir. Kitin, mantar hücre duvarı polisakkaritlerinin bir diğer bileşenidir. Kitin içeriği, morfolojik duruma bağlı olarak değişkendir. Maya formunda mantar kuru ağırlığının %1-2'sini oluşturur, misel formunda iken %10-20'ye kadar ulaşabilir. (Silva, S,2012). Glikoprotein, mayanın kuru ağırlığının %30-50'sini oluşturur.

2.3.3 *Candida albicans*'ta Polimorfizmler

Genellikle dimorfik olarak bahsedilse de, *C. albicans* aslında genellikle pleomorfiktir. *C. albicans* standart kültürlerinde laboratuvarında üretildiğinde yumurta şeklinde "maya" hücreleri halinde gelişirler. Bununla birlikte, hafif çevresel değişimler olduğunda örneğin sıcaklık, CO₂, besin maddeleri ve pH faktörleri morfolojik farklılıklara sebep olabilirler. Filamentli maya hücreleri maya hücreleriyle pek çok benzerliğe sahiptir. Her iki hücre tipi de *C. albicans*'ın hayatta kalmasında ve patojenitesinde farklı, farklı rolleri bulunuyor gibi görünmektedir. Maya hücreleri kan dolaşımında yayılım için en uygun morfoloji gibi görünmekle beraber virulans faktörler açısından hifal hücreler daha güçlüdür. Hifal hücreler istilacıdır ve doku invazyonu, organizmaların kolonizasyonu ve hayatta kalması ve makrofajlardan kaçışında daha etkindirler. Maya formundan hif hücrelerine geçiş *C. albicans*'ın ana virülans faktörlerinden biri olduğu bilinmekle beraber bu durum mutlak gerekli bir durum değildir.

C. albicans hücreleri, insan vücudunun fizyolojik ortamına yakın bir kültür ortamında kültürü yapıldığında filamentli hücreler (hem gerçek hifler hem de yalancı hifler) olarak gelişirler. *C. albicans* klamidospor oluşturabilir, ancak bunların fonksiyonu bilinmemekle birlikte genellikle olumsuz koşullar altında oluştuklarından bu koşullarda hayatta kalabilmesini sağlayan önemli bir özelliktir.

Candida albicans'ın Maya formu mikroskopla incelendiğinde blastochnidium adı verilen büyük tomurcuklanan oval veya küresel şekillerde görülürler. Özel koşullar, maya formunu ya gerçek misel formuna dönüşümünü sağlayarak misel veya psödomisel şeklini alır. *Candida albicans* mısır agar besiyerinde kültürlendiğinde, klamidosporlar olarak geliştiği görülür. Oluşan mikro tüp maya formundan misel oluşumunun başlangıcını temsil eder.

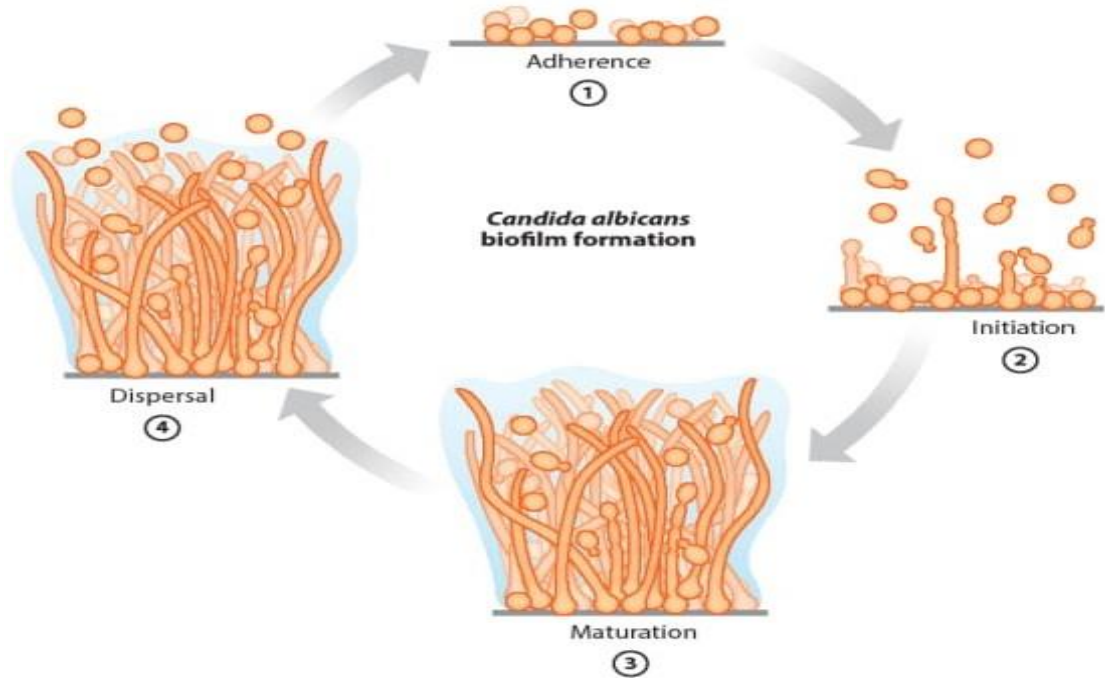


Şekil 2.2 *Candida albicans*'ın üç morfolojik formu

2.3.4 *Candida albicans* Biyofilmi

Candida albicans biyofilmleri esas olarak iki katmanlıdır. Alt katman genellikle yüzeye sıkıca tutturulmuş mayalardan oluşurken, üst tabaka genellikle hiflerden oluşur. Bununla birlikte, biyofilmler enerji için kullanılan alt tabakaya göre farklı olduğu gösterilmiştir. Biyofilm yapısının son halinin oluşumunda etken yetiştirme koşullarıdır. Bununla birlikte, in vivo veya in vitro ortamda biyofilmler benzer şekilde gelişir. *C. albicans* biyofilmlerinin in vivo modelleri göstermiştir ki daha hızlı olgunlaşma ve daha kalın duvarlar geliştirmektedir. *C. albicans*'ta biyofilm oluşumunda dört adım vardır, bunlar:

1. Yapışma; Bu adımda *C. albicans* hücrelerinin epitel ve endotel konak dokuları ile bağlanır
2. Kolonizasyon, proliferasyon ve invazyon; Maya hücreleri küçük koloniler oluşturarak çoğalır, bu koloniler dağılır ve büyür gerçek hif ve psödohifler oluşur. Hiflerin rolü bu aşamada aktif olarak görünür mantar saldırısına ve enfeksiyona neden olur
3. Olgun biyofilm; olgun biyofilm 48 saat sonra oluşur. Üç boyutu vardır. Maya hücreleri, gerçek hifler ve psödohyphae ve hücre dışı bir polimerik matriks. Olgunlaşma aşamasında biyofilm biyokütlesi genişler, hücre dışı matris birikir ve ilaç direnci artar. Biyofilm oluşumunun son aşamasında, ortamı kolonize etmek için maya benzeri hücreler salınır (dağılma). Biyofilmden türetilen maya hücreleri, artan virülans ve ilaç direnci dahil olmak üzere yeni özelliklere sahiptir.



Şekil 2.3 *Candida albicans* biyofilm oluşumunun aşamaları

2.3.5 Antifungal Ajanlar Ve Aktiviteleri

Antifungal ajanlar kandidiyaz üzerindeki etkilerine göre ayrılır.

2.3.5.1 Polinler:

Nistatin ve amfoterisin içerir. Polinler Aşağıdakilere müdahale eder mantar hücre duvarındaki ergosterol, hücre zarında bir değişikliğe yol açar perforasyonundan dolayı geçirgenlik, ardından dışarıdaki iyon difüzyonu hücre ölümüne son veren hücre (94).

2.3.5.2 Azoller:

Vardır; Fluconazol, İtraconazol ve Ketaconazol. Bu bileşikler reaksiyonları yoluyla hücre zarı ergosterol sentezine yardımcı olur enzim ile

2.3.5.3 Ekinaokandinler:

Kasporfungin ve Mikafungin içerir. Bunlar yarı sentetik bileşiklerdir mantar fermantasyonunun bir sonucu olarak üretilir. Bunlar bileşikler, aşağıdakilerin inhibisyonunda rol oynayan lipopeptitler oluşturur β -glukanların sentezi (96) β -1,3 ve β -1,6 glukanaz enzimleri (sentez için gerekli olan β -1,3 ve β -1,6 glukanların).

2.3.5.4 Piremidin analizleri:

Flukitosin (veya 5-Flukitosin) ile temsil edilir. Bunun etkinliği bileşik, hücre nükleik ile bağlanma kabiliyeti ile temsil edilir asitler (DNA ve RNA) bir dizi enzimatik reaksiyon yoluyla sona erdi bileşiğin fosforilasyonu ile, bu da RNA ile bağlanır, bu, protein sentezinin tahrip olmasına yol açar. Ayrıca 5-Flucytocin DNA ile etkileşime giren 5-flouroridin monofosfata aktarılır sentez. Önemli olarak kabul edilir enzim timidilat sentetaz inhibitörü, aşağıdakiler için gerekli enzim DNA sentezi ve hücre bölünmesi.

2.3.6 Proteinler

Tüm canlı organizmalar hücrelerden oluşur. Karmaşıklığa bakılmaksızın organizmaların tek hücreli çok hücreli olup olmadıkları, bu hücreler organizmaların tüm temel faaliyetlerini paylaşır ve RNA ile temsil edilen hücrelerin aynı temel bileşenleri, DNA ve proteinler. Hücrelerde, farklı protein türleri vardır, örneğin

Saccharomyces cerevisiae 6000 çeşit protein vardır. Bazı proteinlerin bir kopyası olabilir, diğeri binlerce kopyaya ulaşabilir. Protein ekspresyon seviyeleri tam olarak düzenlenir ve sürekli olarak farklı proteinlerin sentezi aşağıdaki faktörlerden devam eder. Farklı ortamlarda yaşarken bile benzer hücreler koşullar bu proteinler hücrede önemli bir rol oynamaktadır. Sinyal yollarının yapımı, düzenlenmesi gibi faaliyetler metabolik aktiviteler, hücre zarı boyunca seçici taşıma ve kimyasal reaksiyonların hızlanması.

Bu faaliyetlerin çoğunda, proteinler birlikte çalışır ve değişken boyutlarda agregasyonlar oluşturur mikro araçlar olarak belirli görevlerin yerine getirilmesi için. Bu proteinler hücre metabolizmasını, sinyal taşınımını, nükleik asit transkripsiyonunu ve translasyon, hasarlı nükleik asitlerin onarımı ve diğeri faaliyetler. Bu ilişkilerin belirlenmesi ve tanımlanması diğeri hücresel bileşenlere sahip bileşenler hücre fonksiyonlarının anlaşılması.

Yukarıda belirtildiği gibi, proteinler aşağıdakilerin en önemli bileşenleridir her canlı hücrede. Enzim stimülasyonunda işlevleri vardır, taşıma, depolama, mekanik destek, düzenli hareket, sinir impuls taşıma, immünolojik koruma, büyümenin kontrolü ve diğeri işlevler. Bu nedenle, proteinlerin incelenmesi birçok noktadan önemlidir örneğin, mekanizmanın etkisini göstermek için moleküler düzeyde veya endüstriyel düzeyde ve ürünün uygulama imkanı ticari olarak veya laboratuarda farklı proteinleri farklı analiz etmek çevre koşulları.1840 yılında Berzelius ilk olarak protein kelimesinden türetilmiştir. Birinci sınıf anlamına gelen proteuo (Yunanca kelime), bu yüzden bunu hak ediyor adaylık, çünkü bu bileşik olmadan hiçbir şey hayati değildir. Proteinlerin incelenmesinin amacı sadece bunları tanımlamak ve saflaştırmak değildir. Proteinler, ancak bu bileşikleri daha ileri çalışmalar için hazırlamak için hastalık tedavisinde uygulamaları da dahil olmak üzere farklı alanlarda gelecek ve farklı endüstriyel yönler. Proteinler tanı için önemlidir ve farklı hastalıkların tedavisi ve yeni ilaçların hazırlanması. Bu talepleri oluşturmak için, yapının yapısını incelemek gerekir. proteinin temel birimleri, yani amino asitler ve diziler protein molekülü, protein molekül ağırlığına ek olarak ve fiziksel özellikler.

Proteinlerin izolasyonu ve saflaştırılması teknikleri hücreler ve dokular, özellikle aşağıdakilerin varlığında hayati öneme sahiptir az miktarda protein. İzolasyon ve izolasyon ile ilgili konsantre çalışmalar proteinlerin saflaştırılması, sonuncusunun 60-

70' yüzyılları arasında yapılmıştır. *Candida albicans*'ın hücre duvarında bulunan en önemli proteinler bunlar mannopteinlerdir. Bu proteinler kırmızı hücre zarına saldırır bu hücrelerin hemolizine yol açan kan hücreleri (Rbc'ler) ve fagositoz süreci. *Candida albicans*'ın hücre duvarı 80-90% karbonhidratlar, %6-25 proteinler, %1-7 yağlar ve %8.5-9 kitin (48-100) tarafından *Candida albicans*'ın hücre duvarının aşağıdakilerden oluştuğu bildirilmiştir polisakkaritler. Bu polisakkaritler mannanlar, kitinler ve glukanlar. Mannanlar toplam polisakkaritlerin %40-85'ini oluşturur. *Candida albicans* konakçı dokularda Maya şeklinde bulunabilir veya hifal form, ancak Maya formu, mantarların morfolojisidir. Mantar kolonizasyonunun başlangıcı. Maya formu ve mikrop tüpü aynı hücre duvarı bileşenleri. Aşamadaki mannanların yüzdesi mayanın tomurcuklanması hifal formdan daha yüksektir.

2.3.7 Mannoproteinler

C. albicans hücre duvarında, mannopteinler iki kat halinde bulunur, biri iç tabaka ve diğeri hücre duvarının dış tabakasıdır. Mannoproteinler yüksek molekül ağırlıklı fraksiyona sahiptir, yani 260 KD ve düşük molekül ağırlığı fraksiyonu yani 50-60 KD. Mikrofibril polisakkaritler, glukanlar ve kitin, hücre duvarının iç tabakasında yoğunlaşır, hücre duvarı yüzeyini kaplarken reseptör görevi görür ve yapışma yeri. Peptidomannanların polimerleri dış tabakayı işgal etti molekül ağırlığı 290 KD olan hücre duvarının, Mannoproteinler endoplazmik retikulumda sentezlenir ve Golgi aparatı tarafından oluşturulan veziküller yoluyla hücre duvarı, plazma zarı boyunca (105). Fibril mannopteinleri var fagositozu önleme yeteneği, bu mantar olasılığını artırır konakçının kolonizasyonu ve enfeksiyonu Protein kısmının aksine bu mannopteinler bu mannopteinler moleküllerin, nişasta partiyon Rbc'lerin hemolizini etkiler. Hemolize hemoglobinin demiri *Candida albicans* beslenmesi için hayati kaynak. Bu rapor edilmiştir *C. albicans* tarafından normal bireyin enfeksiyonu sırasında, polisakkarit mannanlar mantar hücre duvarından ayrılır ve aşağıdakilerle birleştirilir immünoglobulin ve dolaşım sisteminden uzak tutulurken immün sistemi baskılanmış mantar mannanları, mannan antijeninin oluşumunu uyarır. Dahası, mannanlar etkili olarak kabul edilir antikor oluşumunu uyaran immünojen. Buna ek olarak vardır tarafından mannopteinin hücre aracılı bağışıklıkta T hücrelerini uyardığı bildirilmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi, *Candida albicans* hücre duvarı kitin içerir, katılaştırıcı ve mantarı mantardan koruyan glukanlar ve mannanlar. konakçı bağışıklık sistemi ve antifungal ilaçlara karşı saldırılar. Nedeniyle için

memelilerde (insan dahil) dokularda bu bileşenlerin bulunmaması, mevcut antifungal bileşiklerin geliştirilmesi için gerekli hale gelir. *Candida*'yı etkileyen yeni antifungal ilaçların kurulmasına ek olarak *C. albicans* ve diğer mantarlar.

2.3.8 Epidemiyoloji

Candida türü mayalar doğada yaygın görülmektedir. Pek çok bitki türünde, memeli sindirim kanalının olağan florasında, insanların deri ve mukozasında bulunmaktadır. Ayrıca, klinik numunelerden veya enfeksiyona neden olan etmenlerden de izole edilebilmektedirler. Normal mikrobiyota üyesi olan *Candida*'lar immünsüpresiflerde yaşama tehdit eden enfeksiyonlara da yol açabilmektedir (Howell vd., 2015). Cilt florasının nemli olan yerlerinde sıklıkla *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* yer almaktadır. Daha az sıklıkta ise *C. krusei* ve *C. tropicalis*'e ve nadiren *C. albicans*'a rastlanmaktadır. Dar giyinme ve bölgesel antibiyotik kullanımı da *Candida* türlerinin koloni oluşmasını arttırmaktadır (Edwards, 1995). Sindirim sisteminde yer alan *Candida* türlerinin sayısına beslenme biçimi, sindirim sisteminde yer alan bakteri florasının varlığı ve laktik asit düzenlenmesi etki göstermektedir. *Candida* türlerinin en önemli kaynağı sindirim sistemidir. *Candida* türleri sağlıklı kişilerin ağız florasında %30, bağırsaklarında %55, dışkılarında %60 oranda bulunmaktadır. Ağızda ise bulunma yüzdeleri *C. albicans*'ın 75, *C. tropicalis*'in 8, *C. krusei*'nin 6 ve *C. glabrata*'nın 2-6 oranındadır. *Candida* sayılarında artış genellikle bozulan ağız sağlığı, diş protez uygulaması, sigara gibi durumlar ve diyabetiklerde rastlanır. Ayrıca uzun süreli geniş spektruma sahip antibiyotikler de gastrointestinal kolonizasyonu arttıran etkenlerden birisidir. Anorektal ve dışkı florasında yer alan *Candida* türlerinin %50'si *C. albicans*, %20'si ise *C. tropicalis* ve *C. glabrata*'dır (Trier ve Bjorkmann, 1984). Gebe olmayanların %5-11'inde, gebe olmayan ve vajinal akıntısı olan kadınların %18'inde, oral kontraseptif kullanan kadınların %20-30' unda ve gebe kadınların %30'unda vajinal *Candida* kolonizasyonu mevcut olup, en çok izole edilen türü *C. albicans* oluşturur. *C. albicans*'ı sırasıyla *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* takip etmektedir (Gurcuoglu vd., 2010). *Candida* enfeksiyonları AIDS hastalarında, morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir. Bu hastalardaki en önemli belirtisi ise mukokutanöz kandidiazistir. AIDS hastalarında, *Candida*'ya bağlı orofaringitis %41.8 oranında ve özefajit ise %9.4 görülmektedir. Bu hastalarda *Candida* vajiniti de önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. İnvaziv veya hematogen diseminasyon nadir görülmektedir. Ayrıca nütropeni veya intravenöz kateter varlığında da meydana

gelebilmektedir. Nozokomiyal *Candida* enfeksiyonları, bireyin oral yada gastrointestinal sistemdeki *Candida*'ların fazla miktarda üremesi ile oluşmakta ve bu ana mekanizmayı oluşturmaktadır. ABD'de *Candida* türleri kan dolaşımı enfeksiyonlarının dördüncü en sık etkenidir. Son yıllarda kandidiyazis olgularında saptanan türlerde değişiklik gözlenmeye başlanmıştır. *C. albicans*, *Candida* enfeksiyonlarında en çok izolasyonu yapılan türdür. Son zamanlarda *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, gibi NAC'larda *C. albicans*'a göre bir artış mevcuttur. Yapılan birçok çalışmada invaziv *Candida* enfeksiyonlarının yarısından fazlasında etken NAC türleridir (Howell vd., 2015; Hazırolan, 2015). Özellikle antifungal profilaksiler ve azol türevlerinin yoğun kullanımları ile *C. albicans* ve *C. tropicalis* türlerinde azalma meydana gelmiş, buna karşın azollere dirençli *C. glabrata* ve *C. krusei* türlerinde artışlar ortaya çıkmıştır (Altıntop vd., 2019). *Candida* türlerinin dağılımı aynı zamanda yaşla da ilişkilendirilmiştir. Yeni doğan kandidemilerinde *C. albicans* ve *C. parapsilosis* baskın türlerken, *C. glabrata* ve diğer türler nadirdir. Erişkinlerde ise *C. albicans* ve *C. glabrata* en sık izole edilen türlerdir (Aygün ve Öztürk, 2006).

2.3.9 Mantarların neden oldukları sensivite rekasiyonları

Mantarların neden olduğu allerjik hastalıklar arasında, astım hastalığı, allerjik rinosinüzit tablosu ve allerjik bronkopulmoner mikoz gibi hastalıklar sayılabilir. Duyarlı kişiler mantar elemanları ile ve onların metabolit ürünleri allerjik rahatsızlıklara yol açabilir. (Esch ve ark., 2017).

Tablo 2.2 *Candida albicans*'ın etken olduğu Alerjik rahatsızlıklar ve sebep olan mantar türleri (Mazur, L. J.,2006).

Alerjik duyarlılık tipi	Etken mantar cins ve/veya türleri
Alerjik Bronkopulmoner Mikoz etkenleri	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Geotrichum</i>
Alerjik Atopik Dermatit (Egzema)	<i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus diffluens</i> , <i>Cryptococcus liquefaciens</i> , <i>Malassezia (Pityrosporum)</i>

Mantar ve ürünlerine maruziyet büyük oranda açık hava da olsa da rutubetli ortamlarda mantar metabolitlerinden proteazlar ve uçucu mantar ürünlerine maruz kalma önemli ölçüde açık havada gerçekleşse de, belirli koşullar altında iç mekanlarda da ortaya çıkabilir. Genellikle rutubetli evlerde mantar metabolitleri, özellikle proteazlar ve uçucu organik bileşenler alerjik duyarlılıklara neden olabilirler. Ancak bu duyarlılık spesifik IgE tepkisine neden olup olmadığı belirli değildir.

Parçalanmamış polenler burun mukoza yapısında kalma eğilimleri varken fungal sporlar daha çok alt solunum yollarına geçme eğiliminde olup kronik pulmoner inflamasyon ve astımı tablosunun oluşumunu tetikleyebilir. (Buczacki, S., 2012)

Küfler alerjik rinit, konjuktivit, alerjik astım gibi Ig E aracılı immünolojik reaksiyonlara sebebiyet verirler. Mikotiksisite, inhalasyon ateş, ve mukoz membran irritasyonu gibi durumlar herhangi bir immünolojik belirtilere neden olmazlar. (Krogh P. 1976). Alerjik rinit, tablosu nazal mukoza iltihabı şeklinde açıklanır. Nazal mukozanın alerjenlere maruziyeti genellikle IgE aracılı inflamasyon ile oluşan alerjik rinit, nazal hipersensitive belirtileri gösteren bir klinik tablodur. Alerjik rinit, etkeni küflere kalınan maruziyet sonucu burun ve gözdeki belirtilerle karakterize olan yaygın sağlık problemidir. Alerjik rinite neden olan fungal etkenler *Alternaria*, *Penicillum*, *Aspergillus*, *Cladosporium* türleridir. (Krogh P. 1976., Aliyeva, Z 2017) Küresel bir sağlık sorunu olan alerjik rinit tedavisi oldukça zor olabilen çocukları ve yetişkinleri tutan bir hastalıktır. (Johansson, M., 2004). Alerjik rinit hastalığının görülme sıklığı %10-25 oranında olduğu ve giderek artacağı rapor edilmektedir (Savilahti, R.,2002) Ülkemizde ise farklı şehirlerde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre bir yıldaki alerjik rinit kümülatif prevalansının %12,7-26,7 arasında olduğu rapor edilmiştir (Şenol, E. 2008)..

2.4 Proteinlerin Nicel Analiz Yöntemleri

2.4.1 Warburg-Cristian Yöntemi

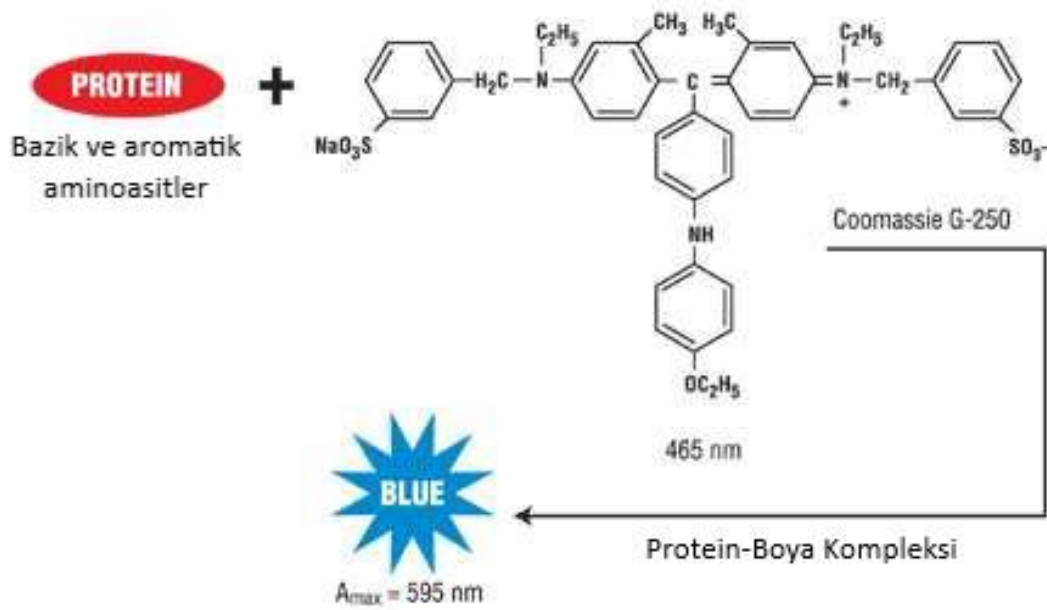
Birçok protein tirozindeki fenolik gruplar ve triptofandaki indolik gruplar sebebi ile 280 nm'de de maksimum absorpsiyon vermektedir. Bu durum dikkate alınarak sulu çözeltilerin protein miktarlarının belirlenmesinde, duyarlılığının düşük olmasına rağmen, hızlı sonuç vermesi sebebi ile bu yöntem sıklıkla kullanılmaktadır (Rosenberg, 2013).

2.4.2 Biüret Yöntemi

Duyarlılığı düşük olmasına rağmen, pratik olması sebebi ile kullanılmaya devam edilen bir yöntemdir. Reaksiyon belirteçteki bakır iyonlarının (Cu^{+2}) peptid bağlarındaki azotlara bağlanması şeklindedir. Alkali çözeltide oluşan renkli kompleksin 540-560nm'deki absorbandsından yararlanılmaktadır (Noble vd., 2009).

2.4.3 Bradford Yöntemi

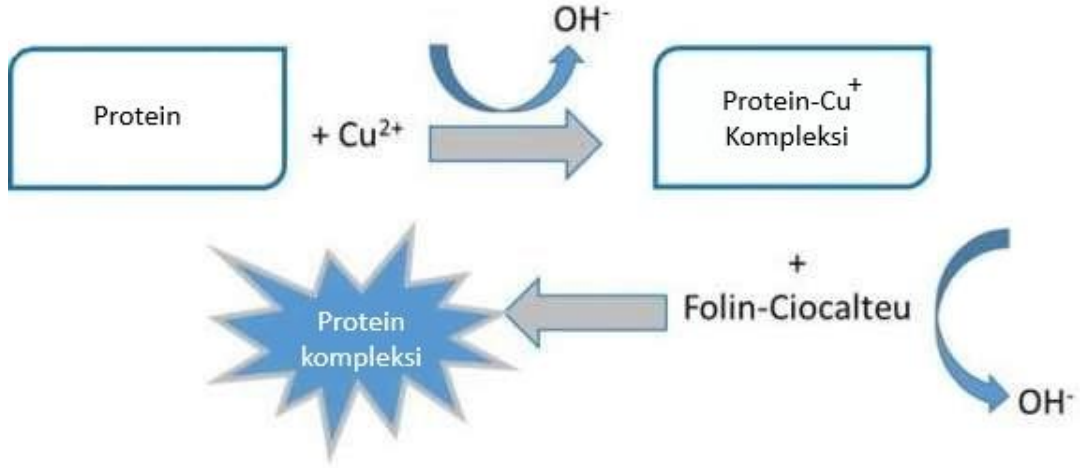
Bradford yönteminde, protein çözeltisine asidik bir boya olan Coomassie Brilliant Blue G-250 eklenmektedir. Coomassie mavisi boyasının bazik ve aromatik amino asitlere bağlanması ile renk oluşumu esasına dayanmaktadır (Şekil 2.1). Rengin şiddeti ile protein miktarı arasında doğru orantı vardır.



Şekil 2.4 Bradford Yönteminin Prensibi

2.4.4 Lowry Yöntemi

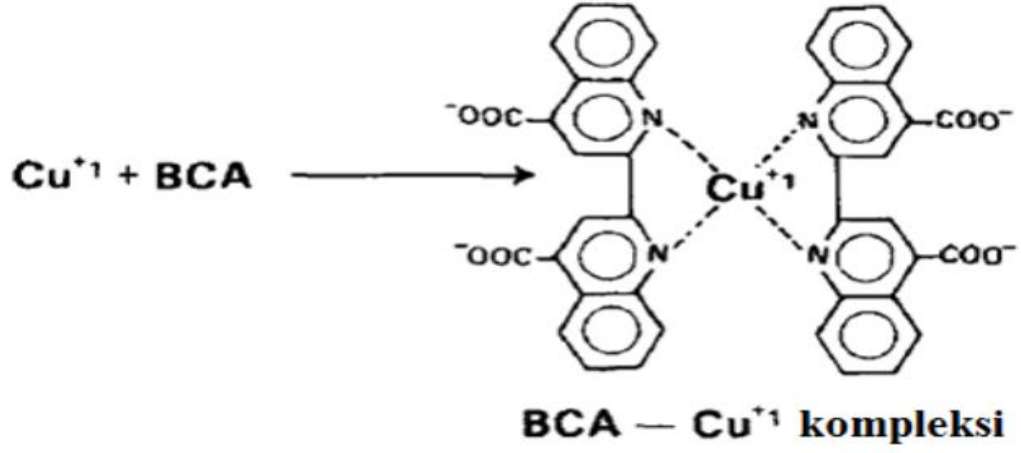
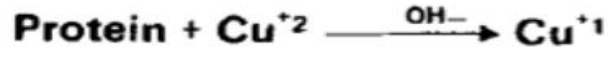
Fosfomolibdotungstik asit çözeltisinin (Folin-Ciocalteu belirteci) tirozinlerle reaksiyona girmesi sonucu mavi renk oluşması ile sonuçlanan bu yöntem, Şekil 2.2'de belirtildiği gibi iki aşamalı olarak gerçekleşmektedir. Bakır ile protein arasında bir kompleks oluşmaktadır. Bakır ile oluşan bu kompleks, folin belirtecindeki molibden ve tungsten ile birleşerek yeni kompleksin oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Lowry vd., 1951; Peterson, 1979).



Şekil 2.5 Lowry Yönteminin Prensibi

2.4.5 2.4.5 BCA yöntemi

Bikinkoninik asit (BCA), kullanım kolaylığı, yüksek duyarlılığı ve müdahale eden türlere toleransı nedeniyle protein konsantrasyonunu belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır. BCA'nın suda çözünen sodyum tuzu, alkalın bir ortamda bakır iyonları (Cu^{1+}) ile mor renkli kompleks oluşturan bir bileşiktir. BCA, Cu^{1+} iyonlarına karşı oldukça duyarlıdır. Bu duyarlılık; alkalın bakır iyonları (Cu^{2+}) ile proteinlerin biüret reaksiyonu sonucu oluşan bakır iyonlarının görünür hale gelmesini sağlar. Biüret reaksiyonu ile oluşan bakır iyonları ile BCA bağlanarak mor renkli bir kompleks oluşturur (Şekil 2.3). Reaksiyon sonucu oluşan mor renk uzun süre kalıcıdır ve protein konsantrasyonu arttıkça rengin yoğunluğu da artar (Smith, vd., 1985; Rosenberg, 2013).



Şekil 2.6 Biüret reaksiyonu sonucu, BCA ve bakır iyonları arasında oluşan mor renkli kompleksin yapısı

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılan Kimyasallar

Etanol (%96 Merck, Almanya)

Fenol (Sigma, ABD)

Fosfat Tamponlu Salin (Oxoid, İngiltere)

Kloroform (Merck, Almanya)

Metanol (Sigma, ABD)

Aseton (Merck, Almanya)

TCA (ISO LAB, Almanya)

β - mercaptoetanol (Merck, Almanya)

PVPP (Sigma, ABD)

SDS (Merck, Almanya)

3.1.2 Kullanılan Besiyerleri

3.1.2.1 Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Sabouraud Dextrose Agar (Sabouraud Dekstroz Agar) dermatofitlerin kültürünün yapılması için Sabouraud tarafından geliştirilmiş genel amaçlı bir besiyeridir. Yaklaşık 5,6'lık düşük pH mantarların, özellikle dermatofitlerin büyümesi için uygundur. Klinik örneklerde bakteriyel kontaminasyon için inhibe edicidir. Ancak, besiyerinin asidik pH'ı bazı fungus türlerini de inhibe edebilir. Antimikrobiyal maddelerin eklenmesi, bakteriler ve saprofitik fungiyle ağır şekilde kontamine olan örneklerden patojenik

funginin geri kazanımını geliştirir. *Candida* suşlarının üretilmesinde ve bu kültürlerin ileri çalışmalar için saklanarak stok kültürlerin hazırlanması amacı ile kullanılmıştır.

3.1.2.2 Kanlı Agar

Hazırlanan mantar ekstralarının sterilite kontrolleri kanlı agar üzerine yapılan ekimler ile belirlenmiştir.

3.1.3 *Candida albicans* Suşunun Temini

Çalışma kapsamında kullanılan *C. albicans* (LOT 443-1071-1) suşu ticari olarak liyofilize şekline satın alınarak temin edilmiştir.

3.1.3.1 *Candida albicans* Kültürlerinin Hazırlanması

Total protein konsantrasyonu belirlenmesinde alerjen mantarlardan olan *C. albicans* kullanılmıştır. Satın alınan liyofilize *C. albicans* (LOT 443-1071-1) suşu (Şekil 3.1), steril su içerisinde süspansiyon edilmiştir.



Şekil 3.1 *C. albicans* (LOT 443-1071-1) ticari suşu

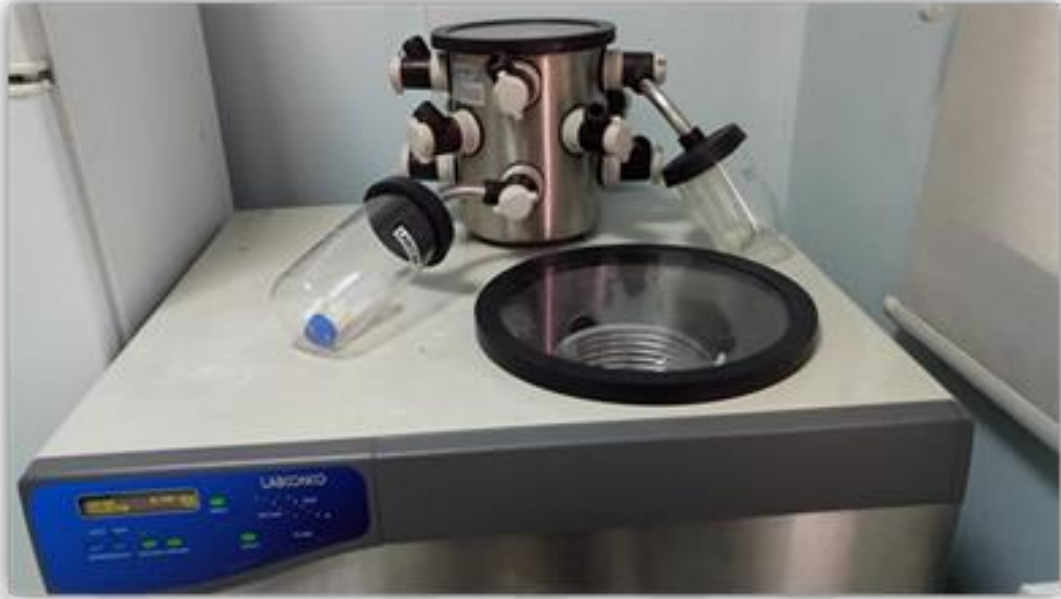
SDA (Sabouraud Dekstroz Agar) besi yerine ekimleri yapılarak 24°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası Petri kutularındaki üreme kontrolleri yapılmıştır. Gram boyama yöntemi ile boyama yapılarak ışık mikroskopunda doğrulama yapılmıştır. Saf kültürleri yapılarak +4 derecede saklanmıştır.

3.2 Metod

3.2.1 *C. albicans* Ekstrelerinin Hazırlanması

3.2.1.1 *C. albicans* Ekstresi

C. albicans örnekleri seri pasajlama yöntemi ile 20 SDA besiyerinde petriye inokülasyonları yapılmıştır. 24°C’de inkübasyona 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinde çoğalan *C. albicans* kolonileri eküvyon çubuk ile toplanarak 50 ml’lik steril falkon tüpler içerisine alınmıştır. Toplanan *C. albicans* örnekleri döner bir çalkalayıcıda 24 saat etanol içinde çalkalama işlemine tabi tutulmuştur. Çalkalama işlemi sonrasında kurutma kâğıdı üzerine alınarak 24 saat boyunca iyice kurutulmuş alkolden uzaklaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutulmuş örnekler sıvı azot içerisinde havaneli yardımı ile toz haline getirilmiştir. Tozlar koruyucu olarak %0,4 (a/h) fenol kristalleri içeren 1:50 (a/h) fosfat tamponlu salin (PBS) pH:8 içerisinde +4°C’de 72 saat çalkalanmıştır. 15000 rpm’de 30 dakika satrifüjleme işleminin ardından süpernatant +4°C’de %25 PBS’e karşı 6 saat boyunca diyaliz edilmiştir. Gece boyunca çift damıtılmış suya karşı tekrar diyalize tabi tutulan ekstreler liyofilize edilmiştir.



Şekil 3.2 *C. albicans* ekstralarının liyofilizasyonu

3.2.1.2 *C. albicans* Etken Maddelerinin Ekstre Edilmesi

Diyalizleri yapılan numunelerin liyofilize edilmiş *C. albicans* örneklerinden total proteinlerin ekstre edilmesinde Ziwei Li ve arkadaşlarının (Ziwei, vd., 2018) çalışmalarında belirttikleri metot kullanılmıştır.

- %100'lük aseton
- %10'luk TCA
- %2'lik β mercaptoetanol
- %1'lik PVPP

30 dakika oda ısısında uygulama sonrası örnekler -20°C 'de 12-24 saat derin dondurucuda bekletilmiştir. Derin dondurucudan alınan örnekler 15000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı atılmıştır. Elde edilen pelet üzerine %80'lik aseton ilave edilmiş her tekrarda aseton yenilenmiş 15000 rpm'de 20 dakika 7 tekrarlı santrifüj yapılmıştır. Üste kalan süpernatant kısmından ayrıştırılarak kalan peletten asetonun uzaklaştırılması beklenmiş ve kurutulmuştur. Bu şekilde elde edilmiş olan ekstralar 1:1 oranında Amonyum bikarbonat, PBS ve SDS (100 μ l %1SDS + 900 μ l PBS) içerisinde çözülerek protein konsantrasyonları belirlenmek üzere hazırlanmıştır.

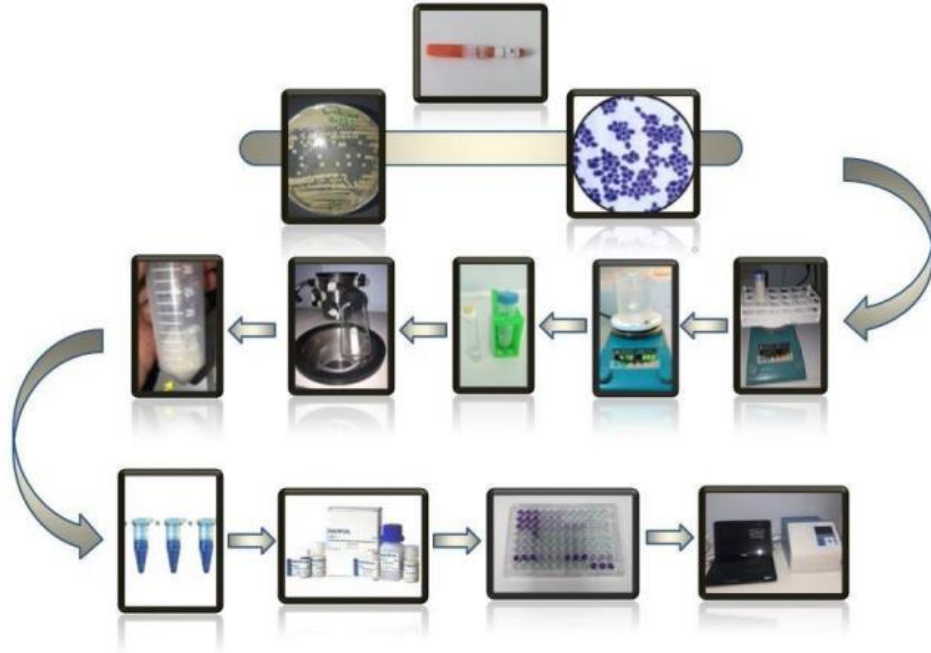
3.2.2 Total Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

3.2.2.1 BCA Yöntemi

3.2.3 Prensip:

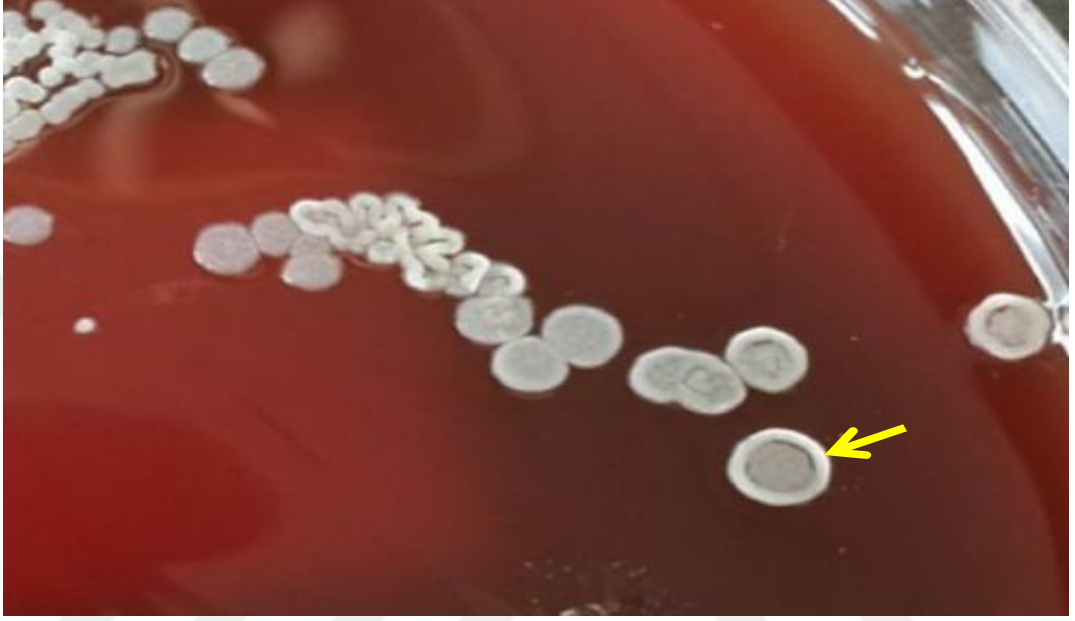
Smith ve ark. (1985), bikinkoninik asit (BCA), kullanım kolaylığı, yüksek duyarlılığı ve müdahale eden türlere toleransı nedeniyle protein konsantrasyonunu belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır. (Sapan CV, Lundblad RL, Price NC. “Colorimetric protein assay techniques” Biotechnol. Appl. Biochem. 1999;29:99– 108.)// (Walker JM. The Protein Protocols Handbook. New Jersey: Humana Press 22 Inc; 2002.) Bikinkoninik asitin (BCA) suda çözünen sodyum tuzu, alkalın bir ortamda bakır iyonları (Cu^{1+}) ile mor renkli kompleks oluşturan bir bileşiktir. BCA, Cu^{1+} iyonlarına karşı oldukça duyarlıdır. Bu duyarlılık; alkalın bakır iyonları (Cu^{2+}) ile proteinlerin biüret reaksiyonu sonucu oluşan bakır iyonlarının görünür hale gelmesini sağlar. Biüret reaksiyonu ile oluşan bakır iyonları ile BCA bağlanarak mor renkli bir kompleks oluşturur (Şekil 2.2.2.1). Reaksiyon sonucu oluşan mor renk uzun süre kalıcıdır ve protein konsantrasyonu arttıkça rengin yoğunluğu da artar (Smith ve diğ., 1985).

Mantar ekstratlarının total protein konsantrasyonlarının belirlenmesinde BCA yöntemi kullanılmıştır (Şekil 3.4). Total protein konsantrasyonu BCA Macro Assay Kit (Serva Electrophoresis GmbH) kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokole uygun olarak çalışılmıştır.



Şekil 3.3 BCA çalışma diyagramı

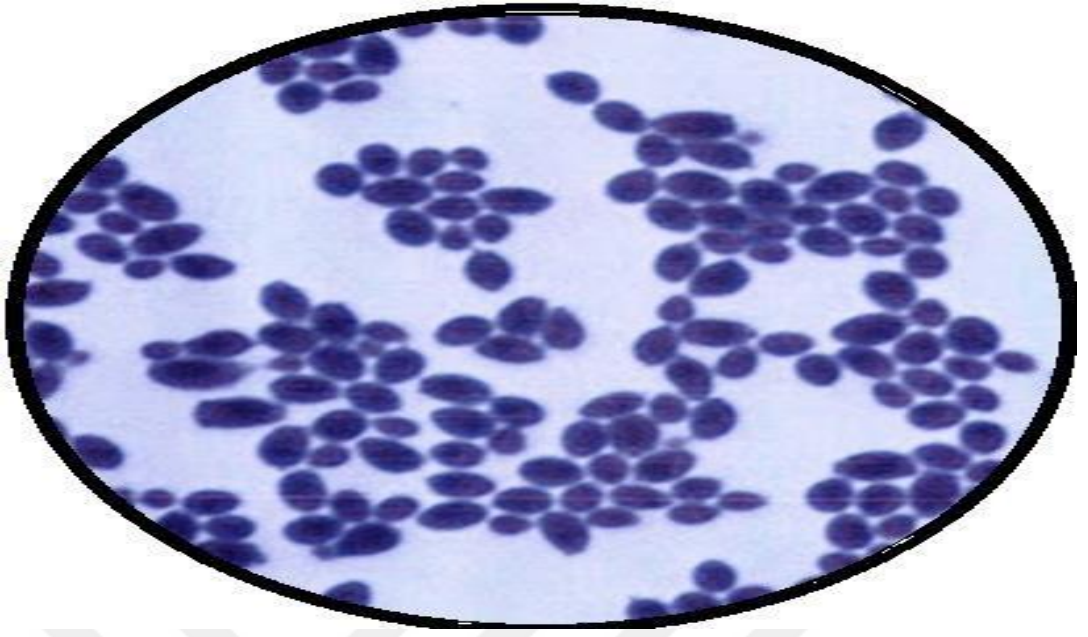
BÖLÜM IV
BULGULAR



Şekil 4.1 Kanlı agar yetişen *C. albicans* koloni morfolojisi



Şekil 4.2 *Candida albicans* kolonilerinin özellikleri



Şekil 4.3 *Candida albicans*'ın mikroskobik morfolojisi, 100X

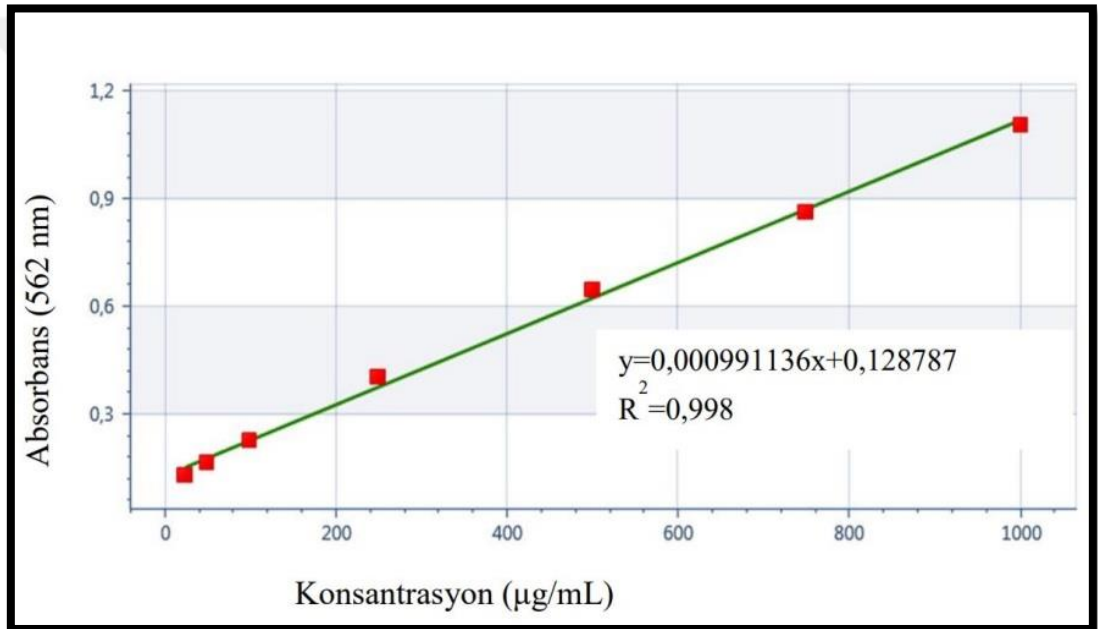


Şekil 4.4 *Candida albicans*'ın liyofilize edilmiş ekstrakte ürün

4.1 Protein Konsantrasyonları

BCA yöntemi kullanılarak protein konsantrasyonları belirlenmiştir. Bu amaçla ticari kit kullanılmıştır. Üretici firmanın BCA kiti protokolüne göre çalışılan *C. albicans* örneklerine ait protein miktarları Tablo 4,1’de verilmiştir. Analiz sonucu elde edilen bulgular önceki çalışmalarda rapor (Kustrzeba-Wójcicka., 2009) edilen protein miktarları referans alınarak değerlendirme yapılmıştır (Kustrzeba-Wójcicka I., 2009).

Standart grafiği oluşturmak için standart sığır albüminin 0.0313, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.5, 1 µg/mL derişimlerinde hazırlanmış ve alınan ölçüm sonuçları ile standart grafik oluşturulmuştur (Şekil 4.5).



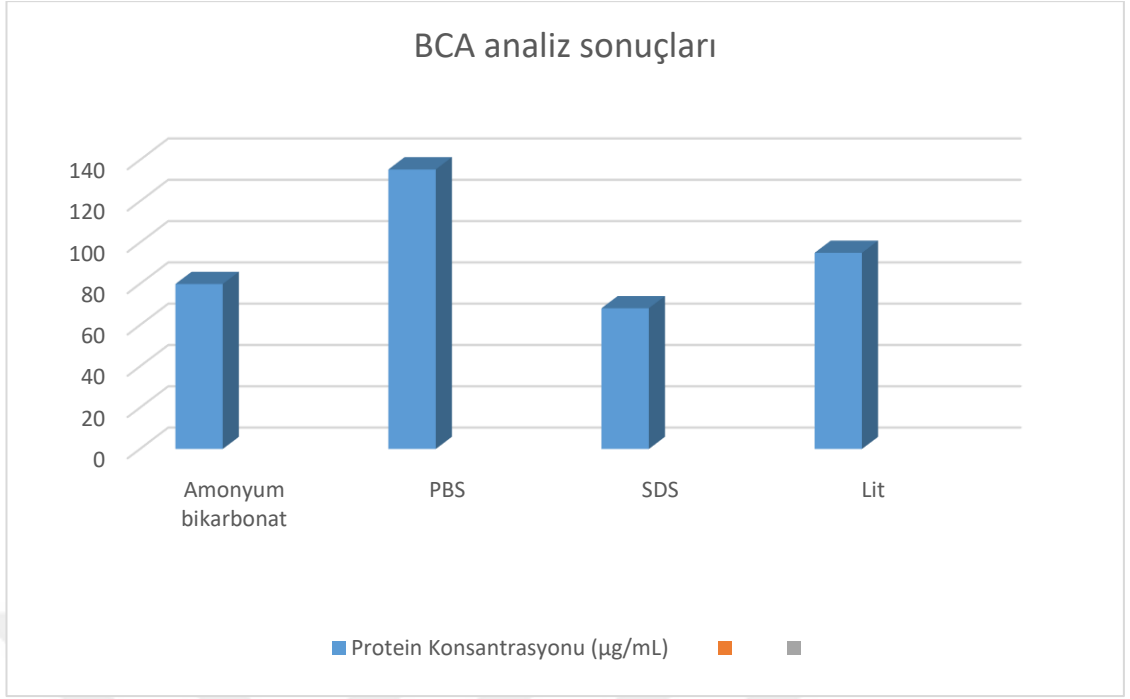
Şekil 4.5 Protein standart grafiği Sığır Serum Albumin (Bovine Serum Albumin,BSA) kullanılarak oluşturulmuştur (R2 = 0,998)

Ekstarkte edilen *C. albicans* protein ekstraktelerinin derişimi için örneğin absorbansı, elde edilen lineer grafik ve doğru denklemi kullanılarak protein miktarı belirlenmiştir

Ziwei Li ve arkadaşlarının çalışmaları referans alınarak hazırlanan *C. albicans* Amonyum bikarbonat, SDS ve PBS örnekleri BCA yöntemi kullanılarak protein konsantrasyonları saptanmış olup sonuçlar Tablo 4.1’ de verilmiştir.

Tablo 4.1 Ticari *C. albicans* deri prick testi ekstralarının konsantrasyonuna göre yeniden hazırlanan mantar ekstresinin BCA testi ile ölçülen toplam protein konsantrasyon değerleri

	Alerjen Adı <i>Candida albicans</i>	Absorbanslar (562 nm)	Ortalama Absorbans Değeri	Standart Sapma	Protein Konsantrasyon u (µg/mL)
<i>Candida albicans</i>	Amonyum bikarbonat	0,209	0,208	0,00208	79,9214
		0,210			
		0,206			
	PBS	0,262	0,263	0,00513	135,413
		0,269			
		0,259			
	SDS	0,190	0,196	0,01332	68,1504
		0,212			
		0,188			
Literatür					95



Şekil 4.6 *Candida albicans*'ın BCA analiz sonuçları

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE SONUÇ

Mantarlar; alg, böcek veya diğer yüksek bitkilerle birlikte simbiyotik ilişkiler kurarak yaşayabilmektedir. Bu ilişki sayesinde mantarlar; karbondioksit, azot, fosfor, potasyum, sülfür, demir, kalsiyum ve magnezyum gibi maddelerin doğadaki döngülerine katkı sağlanmış olurlar. Belirtilen kompleks biyolojik ilişki hem funguslara hem de onlarla birlikte yaşayan diğer canlılara faydalı olacağı gibi, üretilen mikrobiyal toksinler veya sekonder metabolitler sebebi ile bu ilişki diğer canlılar için faydalı olmayabilir (Dönel vd., 2012). Mantarlar çeşitli canlılar üzerinde parazit olarak da yaşamlarını sürdürdüklerinden hastalık veya ölümlere sebep olabilmektedirler. Mantarların büyük kısmı karasal bitkiler için parazit olup tahıl ürünleri üzerinde etkili olan hastalıklar sebebiyle, önemli ekonomik kayıplara neden olabileceği gibi insanlarda alerji başta olmak üzere birçok hastalığa da sebep olmaktadır (Madigan vd., 1997).

Küf mantarları sporlarının geniş yayılım alanına sahip olması ev içi ve açık alanlarda sıklıkla rastlanması kaçınılmazdır. Küf mantar elemanları spor çeşitleri alerjik duyarlılıklara sebebiyette önemli rol oynarlar. Bu durum dış ortamlardaki aeroallerjenlerin bina içlerine kadar girmesi ve bu alanların kolonizasyonlarının önlemesi, sağlıklı yaşam alanı açısından oldukça önem taşımaktadır (Etzetel, R 1998).

Alerjenlerin vücut giriş yolları farklılık göstermektedir. Bunlar doğrudan temas ederek deri yolu ile olabildiği gibi solunan hava ile solunum sistemi üzerinden de giriş gerçekleşebilmektedir. Bunların yanı sıra gıda tüketimi sonucu sindirim kanalı ile de alerjenlerin vücuda girmeleri mümkündür (Montaña, E.,1997).Gerek dünya’da gerekse ülkemizde alerji etkeni mantar sporlarının saptanması amacıyla amacıyla birçok aeropalinolojik araştırma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. (Flannigan et al., 1990).

Mantar sporlarının alerjiye sebep olduğunu gösteren ilk çalışma Van Leewan tarafından 1924 yılında yapılmıştır. Amerika’da ise Wodehouse tarafından 1935

yılında, İsveçli Nilsson 1982 yılında, Hollanda'da Spieksma 1980'de araştırmalar yaparak öncüllük etmişlerdir.

Ülkemizde bu alanda ilk olarak Ankara havasında mantarlarla ilişkili çalışmayı Özkaragöz ve Karamanoğlu 1967 yılında gerçekleştirmişlerdir. Petri kaplarını açık olarak havada bırakarak oluşan kolonileri teşhis ederek 14 farklı mantar identifiye etmişlerdir.

Ege bölgesinde yapılan bir araştırmada ise bronşial astım etkeni aeroallerjenleri deri testlerinde kullanmışlardır. Alerjilere neden olan küf mantarlarının *Monilia*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Pullularia*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Alternaria*, *Verticilium*, *Trichothecium*, *Aspergillus* cinslerine ait olduğu tespit edilmiştir.

Son yıllarda mantarların sebep olduğu alerji vaka sayılarında görülen artış doğada yaygın olarak bulunan mantarlardan alerjen proteinlerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar hız kazanarak popüler olmuştur. Alerjenin doğru saptanması insan sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Bu çalışma kapsamında alerjen mantarlardan olan *C. albicans* ticari olarak satın alınmış olup laboratuvarımızda çoğaltılarak kullanılmıştır. Farklı ekstraksiyon protokolleri kullanılarak hazırlanan ekstrelerin etken maddelerinin elde edilmesinin ardından total protein miktarları belirlenmiştir. Çalışmada deri prick testlerinde sıklıkla kullanılan amonyumbi karbonat, SDS ve PBS ekstreleri hazırlanarak BCA yöntemi ile protein miktarları belirlenmiştir. Elde edilen protein konsantrasyonları, daha önce Kustrzeba-Wójcicka tarafından belirlenen protein konsantrasyonu ile benzerlik göstermektedir. Alerjen tanısı için hazırlanan ekstreler alerjik reaksiyonların tedavisinde de kullanılmaktadır. İmmün sistemin güçlendirilmesi için uygulanan bu tedavi yönteminde, alerjik reaksiyonlara sebep olan mantar türünden hazırlanan ekstrelerin hastaya giderek artan dozlarda enjeksiyonu ile gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmadan elde edilen veriler alerji hastalarının tanı ve tedavisinde kullanılan ithal kitlere alternatif yerli kitlerin üretilmesine temel oluşturmaktadır. Alerjik hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılan ekstraktların alerjene spesifik olmayan proteinlere de sahip olduğu bilinmektedir. Elde edilen alerjen proteinlerin standardizasyonu sonrası klinikte kullanıma sunmayı hedeflemekteyiz. SDS-PAGE analizi ile moleküler boyutlandırması yapılarak, hangi moleköl büyüklüğündeki alt ünitelerin alerjik

reaksiyona neden olduğu belirlenerek; her bir fraksiyonun deri testinde denenmesinin ardından, ticari olarak total hücre ekstraktları şeklinde satılan deri prick testleri yerine ekstraktaki hedef proteini saflaştırarak, klinikte kullanılacak formda geliştirmeyi planlanmaktayız.



KAYNAKLAR

Abbas, A., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2012). Hypersensitivity, *Basic Immunology*, Elsevier, Philadelphia, USA. **4 (11)**, 207-224.

Akoğlu, H.A. (2017). Çocuk allerji-immunoloji kliniğine solunum yolu alerji semptom kliniği ile başvuran hastaların deri prick testi sonuçlarının değerlendirilmesi. *Tıpta Uzmanlık Tezi*. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul.

Aliyeva, Z., Erdem, H., Karakuş, A. K. Kalkanci, A. (2017). Klinik örneklerden havadan izole edilen küf mantarlarının in vitro virölans faktörlerinin *Galleria mellonella* larva ölüm hızlarının karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **47 (2)**, 67-77.

Altıntop, Y.A., Ergul, A.B., Koc, A.N., Atalay, M.A. (2019). Evaluation of *Candida* colonization use of the *Candida* Colonization Index in a paediatric Intensive Care Unit: a Prospective Observational Study, *Le Infezioni in Medicina*. **27 (2)**, 159–167.

Arsoy, G., Varis, A., Saloumi, L.M., Abdi, A., Basgut, B. (2018). Insights on Allergic Rhinitis Management from a Northern Cyprus Perspective Evaluation of the Impact of Pharmacist-Led Educational *Intervention on Patients' Outcomes*. *Medicina*. **54**. 83.cole

Aygün, G., Öztürk, R. (2006). Yoğun Bakım Ünitelerinde Mantar İnfeksiyonları. In: Akova, M., Akan, H. (editörler). İmmün Sistemi Baskılanmış Hastalarda İnvaziv Fungal İnfeksiyonlar, *1. Baskı*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi. 99-124.

Buczacki, S., Shields, C., Ovenden, D. (2012). The Most Complete Field Guide to the Mushrooms and Toadstools of Britain Ireland. *Collins Fungi Guide*. HarperCollins.

Bradford, M.M. (1976). A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254.

- Brandt, M.E., Lockhart, S.R. (2012). Recent taxonomic developments with *Candida* other opportunistic yeasts. *Current Fungal Infection Reports*, **6**, 170–177.
- Bush, R.K., Portnoy, J.M. (2001). The role abatement of fungal allergens in allergic diseases. *The Journal of Allergy Clinical Immunology*, **107** (3), 430–440.
- Cakir, M. (2001). Canlılar Bilimi. *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara, 311.
- Calderone, R.A., Fonzi, W.A. (2001). Virulence Factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, **9**, 327-335.
- Celenk, S., Bicakci, A., Akkaya, A., Malyer, H. (2009). Burdur atmosferindeki allerjen Cladosporium sp. ve Alternaria sp. sporları. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, **8** (4), 1-3.
- Cerikcioglu, N. (2017). *Candida* Türleri. Willke Topçu, A., Söyletir, G., Doganay, M (editörler), *Enfeksiyon Hastalıkları Mikrobiyolojisi Kitabı*. 4. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2115-2129.
- Ceter, T.Y. (2008). Kastamonu ili (merkez) atmosferik polen sporları bunların meteorolojik faktörlerle değişimi (Ocak 2006-Aralık 2007). Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Cetinkaya, Z., Fidan, F., Unlu, M., Hasenekoglu, I., Tetik, L., Demirel, R. (2005). Assessment of indoor air fungi in Western-Anatolia, Turkey. *Asian Pacific journal of allergy immunology*, **23** (2-3), 87–92.
- Donel, G., Algur, Ö.F., Doğan, S. (2012). Raphignathoid Akarların Vücut Yüzeyi Vücut İçi Mikrofungus Florasının Belirlenmesi, *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **5** (1), 25-42.
- Durham, S. R., & Church, M. K. (2001). Principles of allergy diagnosis. *Allergy*, **3**, 3-16).
- Edwards, J.E. (1995). *Candida* Species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds), *Principles Practice of Infectious Disease*. Vol 2. New York, Churchill Livingstone, 2289- 2306.

Esch, R. E., Codina, R. (2017). Fungal raw materials used to produce allergen extracts. *Annals of allergy, asthma immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, Immunology*, **118** (4), 399–405.

Gurcuoglu, E., Ener, B., Akalın, H., S, M., Evci, S., Akcaglar, S., Yilmaz, E., Heper Y. (2010). Epidemiology of nosocomial *Candidaemia* in a university hospital: a 12-year study. *Epidemiology and Infection*, **138** (9), 1328-1335.

Esch, R.E., Codina, R. (2017). Fungal raw materials used to produce allergen extracts. *Annals of allergy, asthma immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, and Immunology*, **118** (4), 399–405.

Etzel, R.A., Montaña, E., Sorenson, W.G., Kullman, G.J., Allan, T.M., Dearborn, D. G., Olson, D.R., Jarvis, B.B., Miller, J.D. (1998). Acute pulmonary hemorrhage in infants associated with exposure to *Stachybotrys atra* other fungi. *Archives of pediatrics and adolescent medicine*, **152** (8), 757–762.

Frew, A.J. (2004). Mold allergy: some progress made, more needed. *The Journal of Allergy Clinical Immunology*, **113** (2), 216–218.

Gell, P.G.H., Coombs, R.R.A. (1963). The classification of allergic reactions underlying disease. In: Coombs, R.R.A., Gells, P.G.H. (Eds.), *Clinical Aspects of Immunology*, Blackwell, Oxford.

Güneser, S., Atici, A., Köksal, F., Yaman, A. (1994). Mold allergy in Adana, Turkey. *Allergologia et immunopathologia*, **22** (2), 52–54.

Hargreaves, M., Parappukkaran, S., Morawska, L., Hitchins, J., He, C., Gilbert, D. (2003). A pilot investigation into associations between indoor airborne fungal non-biological particle concentrations in residential houses in Brisbane, Australia. *The Science of The Total Environment*, **312** (1-3), 89–101.

Hazırolan, G. (2015). Yatan Hasta Örneklerinden İzole Edilen *Candida* İzolatlarının Tür Dağılımlarının Antifungal Duyarlılık Profillerinin Değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. **72** (1), 17-26.

Howell, S.A., Hazen, K.C., Brandt, M.E. (2015). *Candida*, *Cryptococcus*, and Other Yeasts of Medical Importance. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A., Carroll, K.C., Landry, M.L., Funke, G., Richter, S.S., Warnock, D.W (eds). 11th Edition. Washington: ASM press. 1984-2014.

Johansson, M., Thune, A., Blomqvist, A., Nelvin, L., Lundell, L. (2004). Impact of choice of therapeutic strategy for acute cholecystitis on patient's health-related quality of life. Results of a randomized, controlled clinical trial. *Digestive Surgery*, **21** (5-6), 359–362.

Kendrick, B. (2017). *Eumycotan Fungi the Mainstream Others*, Hackett Publishing Company, Inc.Indianapolis, Cambridge, **5** (3), 43-49.

Kınıklı, G., Tokgöz, G. (1999). *Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonları*. Editör: Ustaçelebi Ş. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 211–9.

Kiraz, N. (2011). İnsanda Hastalık Yapan Mantarlar. İçinde: Kiraz N (ed). *Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Kitabı*. 2. Cilt. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi. 1367-1373.

Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M. (2006). Mycology. In: Koneman EW ed. *Koneman's Color Atlas Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th Edition. USA: Wolthers Kluver. 1069-1151.

Krogh P. (1976). *Epidemiology of mycotoxic porcine nephropathy*. Nordisk veterinaermedicin, **28** (9), 452–458.

Kustrzeba-Wójcicka, I. (2009). Enolase-mold panallergen: a comparative characterization of enolase as an allergen of chosen species of fungi. *DSc thesis*, *Wroclaw Medical University*, Wrocław, Poland [Polish].

Liu, X., Luo, X., Hu, W. (1992). Studies on the epidemiology and etiology of moldy sugarcane poisoning in China. *Biomedical Environmental Sciences: BES*, **5** (2), 161–177.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, **193** (1), 265-275.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. (1997) *Brock Biology of Microorganisms. 8th Edition*, Prentice Hall International, Inc., New York.

Mazur, L. J., Kim, J. (2006). Committee on Environmental Health, American Academy of Pediatrics. Spectrum of noninfectious health effects from molds. *Pediatrics*, **118 (6)**, 1909–1926.

McCullough, M.J., Ross, B.C., Reade, P.C. (1996). *Candida albicans*: A Review of Its History, Taxonomy, Epidemiology, Virulence Attributes Methods of Strain Differentiation. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery*. **25 (2)**, 136- 144.

Montaña, E., Etzel, R.A., Allan, T., Horgan, T.E., Dearborn, D.G. (1997). Environmental risk factors associated with pediatric idiopathic pulmonary hemorrhage hemosiderosis in a Cleveland community. *Pediatrics*, **99 (1)**, E5.

Noble, J.E., Bailey, M.J.A. (2009). *Quantitation of Protein. Methods In Enzymology Guide to Protein Purification*, 2nd Edition USA: Elsevier, **436 (8)**, 73-97.

Denizli il merkezinde bulunan ilköğretim okullarının hava örneklerinde küf mantarlarının araştırılması serumda alerjen spesifik IgE ölçümlerinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. *Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*, Denizli.

Ozcan, M. (2010). Allerjik rinitte tanı ayırıcı tanı. *Türkiye Klinikleri J Allergy-Special Topics*. **3 (1)**, 9-12.

Pawankar, R., Canonica, G.W., Holgate, S.T., Lockey, R.F., Blaiss, M. (2013). WAO white book on allergy, *World Allergy Organization*, **248**.

Peterson, G. L. (1979). Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Analytical biochemistry*, **100(2)**, 201-220.

Reiss, E., Shadomy, H.J., Lyon, G.M. (2012). *Fundamental Medical Mycology*. New Jersey: Wiley-Blackwell.

Rosenberg, I.M. (2013). Protein analysis purification: benchtop techniques. *Springer Science and Business Media*. 128-135.

- Savilahti, R., Uitti, J., Laippala, P., Husman, T., & Reiman, M. (2002). Immunoglobulin G antibodies of children exposed to microorganisms in a water-damaged school. *Pediatric allergy and immunology*, **13**(6), 438-442.
- Sancak, B. (2003). Alerjik Mantar Hastalıkları, Tanı ve Tedavi Yöntemleri. *T Klinik Mikrobiyoloji- Enfeksiyon* **2** (1), 52–60.
- Simpson, A., Tan, V.Y., Winn, J., Svensén, M., Bishop, C.M., Heckerman, D.E., Buchan, I., Custovic, A. (2010). Beyond atopy: multiple patterns of sensitization in relation to asthma in a birth cohort study. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, **181** (11), 1200–1206.
- Simşekli, Y. (1994). Bursa ilinin çeşitli semtlerinde ev dışı havasında bulunan funguslar. Yüksek Lisans Tezi. *Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı*, Bursa.
- Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., Klenk, D.C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, **150** (1), 76-85.
- Şenol, E. (2008). Zigomikozis. *Flora*, **13** (1), 5-12.
- Trier, J. S., & Bjorkman, D. J. (1984). Esophageal, gastric, and intestinal candidiasis. *The American Journal of Medicine*, **77**(4D), 39-43.
- Turjanmaa, K., Darsow, U., Niggemann, B., Rancé, F., Vanto, T., Werfel, T. (2006). EAACI/GA2LEN position paper: present status of the atopy patch test. *Allergy*, **61** (12), 1377–1384.
- Valenta, R. (2002). The future of antigen-specific immunotherapy of allergy. *Nature reviews. Immunology*, **2** (6), 446–453.
- Vazquez, J.A, Sobel, J.D. (2003). Candidiasis. Ed: Dismukae WE, Pappas PG, Sobel JD, *Clinical Mycology*. 1st edition. New York, USA: Oxford University Press. 143-187.
- Wang, J., Wu, J., Lai, H. (2015). Allergic Disease Epidemiology. Tao, A., Raz, E. (Ed.), *Allergy Bioinformatics*, **8** (2), 15-17.

Warner, J.O. (2004). The early life origins of asthma related allergic disorders. *Archives of Disease in Childhood*, **89** (2), 97–102.

Williams, P., Sewell, W. A., Bunn, C., Pumphrey, R., Read, G., Jolles, S. (2008). Clinical immunology review series: an approach to the use of the immunology laboratory in the diagnosis of clinical allergy. *Clinical experimental immunology*, **153** (1), 10–18.

Yılmaz, N., Can, D., Asilsoy, S., Gülle, S. (2009). The diagnostic value of specific IgE in allergic diseases. *Asthma Allergy Immunol* **7**: 111–7.

Ziwei, L., Rui, L., Yuexin, Z., Xiufeng, Y., Qiuying, P. (2018). Effective protein extraction from mycelium and fruiting body of *Auricularia auricula* for proteomics studies, *International Journal of Food Properties*, **21** (1), 2156-2166.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Hiba Mohammed Fakhri AL SHAHWANI

Fakülte: Fen Edebiyat Fakültesi

Bölüm: Biyoloji

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Kurum	Yıl
Yüksek Lisans	Gaziantep Üniversitesi- Biyoloji	2019-2022
Lisans	Gaziantep Üniversitesi- Biyoloji	2014-2018
Lise	Belkıs Lisesi (Yemen)	1998-2000