

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***TRICHOSPORON TÜRLERİNDE BAZI VİRULANS  
FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI***

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. FEYZA DEMİR**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. SEMRA KUŞTİMUR**

**ANKARA  
NİSAN 2013**

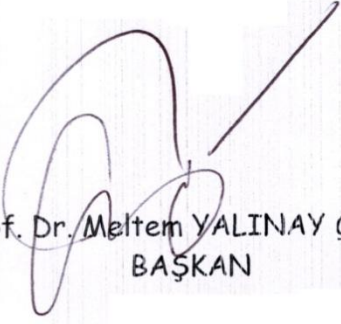
**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi**  
**Tez Sınav Tutanağı**

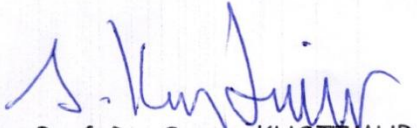
Adı Soyadı	Feyza DEMİR
Baba Adı	Mehmet ÇETİNKAYA
Doğum Yeri / Tarihi	Ankara/21.03.1983
Diploma Tarihi / Diploma No	05.11.2007/ 3926
Mezun Olduğu Fakülte	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı / Bilim Dalı	Tıbbi Mikrobiyoloji
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Yıl                      Ay: 8 ay
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

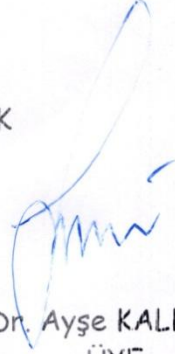
UZMANLIK TEZİNİN ADI: *Trichosporon türlerinde* bazı virulans faktörlerinin araştırılması

JÜRİ KARARI: Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı uzmanlık eğitimi sürecinde yapılmış olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir

JÜRİ ÜYELERİ

  
Prof. Dr. Meltem YALINAY ÇIRAK  
BAŞKAN

  
Prof. Dr. Semra KUŞTIMUR  
ÜYE

  
Prof. Dr. Ayşe KALKANCI  
ÜYE

## TEŐEKKÖR

Tezimin hazırlanmasında ve uzmanlık eğitimimde emeği geçen; danıőmanım olan Prof. Dr. Semra Kuştimur'a, değerli hocalarım Prof. Dr. Seyyal Rota, Prof. Dr. Nedim Sultan, Prof. Dr. Meltem Yalınay ırak, Prof. Dr. Kayhan ağlar, Prof. Dr. Ayşe Kalkancı, Doç. Dr. Gölendam Bozdayı, Doç Dr. Iőıl Fidan, Doç. Dr. Funda Doğruman Al, birlikte çalıőtıđım tÖm asistan arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan sevgili aileme, canım eőime ve biricik oğluma sonsuz teőekkÖrler.

## KISALTMALAR

<b>ABD</b>	: Amerik Birleşik Devletleri
<b>AIDS</b>	: Edinsel Bağışıklık Yetmezlik Sendromu
<b>BDG</b>	: $\beta$ -D-Glukan
<b>CRF</b>	: Coagulase-Reacting Faktor
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>5FC</b>	: 5-fluorocytosine
<b>GXM</b>	: Glukuronoksilomannan
<b>HIV</b>	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
<b>MİK</b>	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
<b>N-AHA</b>	: $\beta$ -N-asetilheksozaminidaz Aktivitesi
<b>PAM</b>	: Periyodikasit-methenamin Boyama
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>SAP</b>	: Salgısal Asit Proteinaz
<b>SDA</b>	: Saburoud Dekstrozu Agar
<b>SSAA</b>	: Sığır Serum Albumin Agar

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
KISALTMALAR .....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLO LİSTESİ .....	vii
ŞEKİL LİSTESİ .....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Tarihçe .....	3
2.2. Taksonomi .....	4
2.3. Morfolojik Yapısı .....	5
2.3.1. Makroskopik ve Mikroskopik Özellikleri.....	5
2.3.2. Biyokimyasal Özellikleri .....	6
2.4. Epidemiyoloji .....	6
2.5. Patogenez.....	7
2.6. Virulans Faktörleri.....	9
2.6.1. Salgısal Asit Proteinaz Enzimi (SAP).....	11
2.6.2. Fosfolipaz Enzimi .....	13
2.6.3. Esteraz Enzimi .....	14
2.6.4. Hemolitik Aktivite .....	15
2.6.5. Koagülaz Enzimi.....	16
2.7. Klinik .....	17
2.7.1. Yüzeysel Enfeksiyonlar .....	18
2.7.2. İnvazif Enfeksiyon .....	20
2.8. Tanı Yöntemleri.....	22
2.8.1. Fenotipik Tanı Yöntemleri.....	23
2.8.2. Antijen Arama.....	25
2.8.3. Moleküler Yöntemler .....	26
2.8.4. Histopatolojik Tanı .....	28

2.9. Tedavi .....	29
2.10. Antifungal Duyarlılık Testleri .....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	33
3.1. Gereçler.....	33
3.1.1. Besiyerleri, Ticari Kitler .....	33
3.1.2. Kimyasallar .....	33
3.1.3. Tamponlar ve Solüsyonlar .....	34
3.1.4. Kullanılan Araç ve Cihazlar.....	34
3.1.5. Çalışmada Kullanılan Kökenler .....	35
3.1.6. Standart Kökenler .....	35
3.2. Yöntemler .....	36
3.2.1. <i>Trichosporon Tür</i> Tanımlaması .....	36
3.2.1.1. Sabouraud dekstroz agar (SDA) hazırlanması .....	36
3.2.1.2. Mısır unu-tween 80 agar'ın (corn meal agar) hazırlanması .....	36
3.2.1.3. Karbonhidrat asimilasyon testi-ID 32 C sistemi .....	37
3.2.2. Salgısal Asit Proteinaz Deneyi.....	38
3.2.2.1. Besiyerinin hazırlanışı.....	38
3.2.2.2. Deneyin yapılışı.....	39
3.2.3. Fosfolipaz Deneyi .....	40
3.2.3.1. Besiyerinin hazırlanışı:.....	40
3.2.3.2. Yumurta sarısının hazırlanışı.....	40
3.2.3.3. Deneyin yapılışı.....	41
3.2.4. Esteraz Deneyi .....	42
3.2.4.1 Besiyerinin hazırlanışı.....	42
3.2.4.2. Deneyin yapılışı.....	43
3.2.5. Hemolitik Aktivite .....	43
3.2.5.1. Deneyin yapılışı.....	44
3.2.6. Koagülaz Deneyi.....	44
3.2.6.1. Deneyin yapılışı.....	44

4. BULGULAR .....	46
4.1. <i>Trichosporon Türlerinin</i> Tanımlanması .....	46
4.1.1. Klasik Yöntemlerle <i>Trichosporon Türlerinin</i> Tanımlanması .....	47
4.2. <i>Trichosporon Kökenlerinde</i> Virulans Faktörlerinin Değerlendirilmesi .....	50
4.2.1. Salgısal Asit Proteinaz ve Fosfolipaz Aktivite Değerlendirilmesi.....	50
4.2.2. Esteraz Aktivite Değerlendirilmesi.....	51
4.2.3. Hemolitik Aktivite Değerlendirilmesi .....	53
4.2.4. Koagülaz Enzim Aktivite Değerlendirilmesi.....	55
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇLAR .....	69
7. KAYNAKLAR.....	70
8. ÖZET.....	85
9. SUMMARY .....	87
10. ÖZGEÇMİŞ.....	89

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Trikosporoz enfeksiyon kaynağı, major ajan, ilişkili durum.....	18
<b>Tablo 2.</b>	<i>Trichosporon</i> , <i>Geotrichum</i> ve <i>Blastoschizomyces capitatum</i> ayrımı.....	24
<b>Tablo 3.</b>	Klinik önemi olan <i>Trichosporon</i> türlerinin fenotipik özellikleri .....	25
<b>Tablo 4.</b>	Kullanılan <i>Trichosporon</i> türleri, kökenlerin kaynağı.....	46
<b>Tablo 5.</b>	<i>Trichosporon</i> kökenlerinde esteraz enzim aktivitesinin günlere göre dağılımı.....	52
<b>Tablo 6.</b>	<i>Trichosporon</i> kökenlerinde hemolitik aktivitenin gösterilmesi.....	54
<b>Tablo 7.</b>	<i>Trichosporon</i> kökenlerinde insan plazması ve tavşan plazması kullanılarak koagülaz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi .....	56
<b>Tablo 8.</b>	Tüm deneylere ait sonuçlar.....	56

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Fosfolipaz aktivitesi için Pz değerinin hesaplanması.....	42
Şekil 2.	<i>Trichosporon asahii</i> ; SDA’da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü.....	48
Şekil 3.	<i>Trichosporon dermatis</i> ; SDA ‘da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü .....	48
Şekil 4.	<i>Trichosporon japonicum</i> ; SDA’da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü .....	48
Şekil 5.	<i>Trichosporon aquatile</i> ; SDA’da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü .....	49
Şekil 6.	<i>Trichosporon asteroides</i> ; SDA’da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü .....	49
Şekil 7.	<i>Trichosporon mucoides</i> ; SDA’da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü .....	49
Şekil 8.	1 nolu ok salgısal asit proteinaz negatif <i>Trichosporon kökeni</i> , 2 nolu ok salgısal asit proteinaz pozitif <i>Candida tropicalis</i> (NRRLY 12968) .....	50
Şekil 9.	1 nolu ok fosfolipaz negatif <i>Trichosporon kökeni</i> , 2 nolu ok fosfolipaz pozitif <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).....	51
Şekil 10.	1 nolu ok <i>Trichosporon kökeninde</i> pozitif esteraz enzim aktivitesi, 2 nolu ok <i>Candida glabrata</i> (ATCC 90030) negatif esteraz enzim aktivitesi .....	52
Şekil 11.	1 nolu ok <i>Trichosporon kökeninde</i> pozitif hemolitik enzim aktivitesi, 2 nolu ok <i>Trichosporon kökeninde</i> negatif hemolitik enzim aktivitesi .....	53
Şekil 12.	1 nolu ok <i>Trichosporon kökeninde</i> pozitif koagülaz enzim aktivitesi, 2 nolu ok <i>Trichosporon kökeninde</i> negatif koagülaz enzim aktivitesi .....	55

## 1. GİRİŞ

Son yıllarda mantar enfeksiyonlarının sıklığında ve öneminde dramatik olarak bir artış söz konusudur. Bunun nedeni olarak, kronik hastalığı olan kişilerin yaşam süresinin uzaması, tıpta yeni medikal veya cerrahi invazif girişimlerin uygulanmaya başlanması, malignitesi olan hastalarda etkin tedavi olanakları ile yaşamın uzatılması, geniş etkili antibiyotiklerin yoğun bir şekilde kullanılması ile konak savunma mekanizmalarının zayıflaması gibi risk faktörleri karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca, immün baskılanmış olarak tanımlanan hasta grubunda; yani hemotolojik maligniteli hastalar, kök hücre ya da kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalar ve solid organ transplant alıcılarında önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır (1).

Doğada bir milyondan fazla farklı mantar türü vardır ancak, bunlardan 500 kadarı insanlarda enfeksiyonla ilişkilendirilmektedir (2). Maya mantarları içerisinde insanda hastalık etkeni olarak *Candida albicans* en sık karşılaşılan tür olmakla birlikte, *Candida* dışı mantarlarında önemi giderek artmaktadır (3).

Nadir enfeksiyon etkeni olarak görülen *Trichosporon türleri* özellikle hematolojik malignitesi olan nötropenik hastalarda, flukonazol profilaksisi almaları nedeni ile artan sıklıkta izole edilmeye başlamıştır. Ayrıca antifungal ilaçlara nispeten dirençli olmaları nedeni ile önemi giderek artmaktadır (3,4,5).

*Trichosporon türlerinin* birçoğu doğada (toprak, su ve bitki) yaygın olarak bulunmakla birlikte; insanda deri, solunum yolları, gastrointestinal ve genitoüriner sistemde normal flora üyesi olarak da yer alabilir. *Trichosporon cinsi* içindeki 50

türden sadece sekizi (*T. asahii*, *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. inkin*, *T. mucoides*, *T. ovoides*, *T. japonicum*, *T. loubieri*) insanda enfeksiyon ve allerji etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (3,6).

Literatüre bakıldığında bu mantara bağlı gelişen enfeksiyonların patogeneğinde rol alabilecek olan fungal virulans faktörleri hakkında sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında, 2010-2012 yılları arasında kültür koleksiyonundan elde edilen *Trichosporon türlerinde* olası virulans faktörlerinden asit proteinaz, fosfolipaz, esteraz, koagülaz ve hemolitik aktivitelerinin araştırılması, *Trichosporon* enfeksiyonlarının patogeneğinde hangi virulans faktörü veya faktörlerinin rol oynayabileceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

*Trichosporon cinsi* mayalar; Basidiomycota sınıfındaki, Hymenomyces takımının, Tremelloidae alt takımının, Trichosporonales ailesinde yer almaktadırlar. Doğada tropik ve ılıman bölgelerde toprak, bitki, hava ve suda yaygın olarak bulunurlar. İnsanlarda ise bazen gastrointestinal ve genitoüriner kanalın normal flora üyesi veya geçici olarak deri ve solunum sistemine kolonize olabilirler (6,7,8).

### 2.1 Tarihçe

*Trichosporon cinsi* uzun ve tartışmalı bir tarihe sahip olup; *Trichosporon* kelimesi Yunanca'da (trichos) saç ve (sporon) spor kelimelerinin birleşimini temsil eder (6,8).

İlk kez 1865'de Beigel tarafından iyi huylu bir saç enfeksiyonunda tanımlanmıştır. Baş ve gövdede kıllarda düzensiz nodüller ile karakterize beyaz piedra olarak tanımlanan hastalığın etyolojik ajanı olarak yanlışlıkla bir alg olan *Pleurococcus beigelli* tanımlanmıştır. 1890'da bir adamın sakalında olan beyaz piedra *Trichosporon ovoides* olarak isimlendirilmiş, bundan itibaren diğer *Trichosporon türleri* bildirilmiştir. Vuillemin 1902'de artrospor içeren bir maya türü olarak *Trichosporon beigelii* tanımlamıştır. Beurmann ve arkadaşları tarafından 1909'da kaşıntılı bir deri lezyonundan *Oidium cutaneum* olarak tanımlanan mantar 1926'da Ota tarafından *Trichosporon cutaneum* olarak değiştirilmiştir. Diddens ve Lodder 1942'de *T. beigelii* ve *T. cutaneum*'un aynı tür olduğunu bildirmişlerdir. Bu iki isimden *T. beigelii* hekimler tarafından, *T.*

*cutaneum* ise çevre mikologları tarafından kullanılmaktadır (7,9,10). *Trichosporon*'a bağlı ilk sistemik enfeksiyon ise 1970'de bildirilmiştir (7,11).

## 2.2. Taksonomi

*Trichosporon cinsi* için morfolojik, ekolojik ve fizyolojik özelliklere dayanan geleneksel taksonomik sınıflama yapıldığı zaman aynı taksondaki izolatlarda bile heterojenite olduğu için tutarsız sonuçlar ortaya çıkabilir. Gueho ve arkadaşları 1992 yılında moleküler, biyokimyasal, fizyolojik ve morfolojik özelliklerine göre *Trichosporon cinsinde* ilk taksonomik sınıflamayı yapmışlardır. Taksonomik sınıflama, *Trichosporon türlerinin* nütrisyonel profillerine, DNA reasosiyasyon değerlerine, moleküler guanin/sitozin yüzdelerine ve 26S rDNA dizilerine göre yapılmaktadır (12). *Trichosporon cinsinin* yeniden sınıflandırılması için, septal porların ince yapısı, guanin-sitozin içeriği (mol%GC), 26Sbölgesinin ribozomal DNA analizi kriter olarak kullanılmıştır (11). Gueho ve arkadaşları *Trichosporon beigeli*'den sonra altı türün daha insan patojeni olabileceğini bildirmiştir. *Trichosporon cutaneum*, *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. mucoides*, *T. inkin* ve *T. ovoides* (13). Sugita ve arkadaşları 2002'de *Trichosporon cinsine* ait 25 tür olabileceğini bunların sekiz tanesinin ise insan da patojen olabileceğini bildirmiştir (*T. domesticum* ve *T. montevidense*) (14).Yapılan başka bir çalışmada *Trichosporon cinsinin* 36 tür içerdiği ve Brassicaceae, Cutaneum, Gracile, Ovoides, Porosum kümelerinden (clade) oluştuğu gösterilmiştir. Daha sonraki yıllarda yeni tanımlanan tür ve alt gruplara göre *Trichosporon cinsi* için dört serotip (serotip I, II, III, ve I-III) bildirilmiştir.

Serotip I (*T. cutaneum* ve *T. mucoides*) ve II (*T. asahii*, *T. asteroides*, *T. inkin* ve *T. ovoides*) patojenik türleri içerirken, serotip III ve I-III enfeksiyon etkeni olmayan türleri içermektedir. Günümüzde *Trichosporon cinsi* 50 tür ve beş farklı kümeden oluşmaktadır (12).

### 2.3. Morfolojik Yapısı

#### 2.3.1. Makroskobik ve Mikroskobik Özellikleri

*Trichosporon türlerinin* koloni morfolojisi; düzgünden buruşuğa kadar değişebilen, krem renginde, yumuşak kıvamlı ve parlak renktedir. İlk üremede koloniler krem renkli ve yumuşak iken, bekledikçe koloninin etrafında zarsı kısımda ışınal oluklanmalar ve düzensiz kıvrımlar oluşur (5).

*Trichosporon türleri* Sabouraud dekstroz agar (SDA) veya patates dekstroz agar (PDA) besiyerlerinde 5-7 gün içinde ürerler (15). Kültürden yapılacak morfolojik tiplendirme için %2'lik malt özütü agar kullanılabilir (13).

Mikroskobik incelemede morfolojik tiplendirme için kullanılan mısır unlu-tween 80'li agarda 25 °C de 72 saatlik inkübasyon sonrası, hiyalen septalı hifler ve yalancı hifler görülmektedir. Septalı hiflerin etrafında, oval veya köşeli 2-4 × 3-9 µm boyutlarında artrospor veya blastospor oluşturmaktadırlar (15). Tipik mikroskobik morfolojide tek hücreli ve genellikle kübik, fiçimsi veya uzun görünümlü artrokonidyumların varlığı önemli yer tutmaktadır. Bu özellikleriyle *Candida* 'lardan ve blastokonidyumlarıyla *Geotrichum türlerinden* ayırt edilirler (16).

Optimum üreme ısıları 30 °C olmakla birlikte, geniş bir ısı aralığında üreme yeteneğine sahiptir (25 – 40°C) (5).

### 2.3.2. Biyokimyasal Özellikleri

*Trichosporon türlerinde* görülen en tipik biyokimyasal özellik üreaz enzimlerinin pozitif olmasıdır. Ayrıca karbonhidratları fermente edemezken, bazı karbonhidratları asimile edebilirler (dekstroz, inozitol, ksiloz, maltoz, sükroz, galaktoz ve laktoz asimilasyonu gibi) (17). Potasyum nitratı asimile edemezler ve diazinium mavisi B tuzu ile olumlu reaksiyon verirler (5).

## 2.4. Epidemiyoloji

*Trichosporon türlerinin* yol açtığı enfeksiyonlara trikosporoz denmektedir. *Trichosporon türlerinin* yaptıkları enfeksiyonlar sistemik veya yüzeysel enfeksiyon olmak üzere sınıflandırılır. Beyaz piedra olarak tanımlanan yüzeysel enfeksiyonlarla klinikte sık karşılaşılmaktadır (3,18).

Trikosporoz nadir görülen, literatürde daha çok olgu bildirimleri şeklinde rapor edilen bir hastalıktır. Ancak *Trichosporon* enfeksiyonları hayatı tehdit eden, fırsatçı enfeksiyonlar olarak da karşımıza çıkmaktadır. Genellikle duyarlı hasta gruplarında, nütropenik ve hematolojik malignitesi olan immunsuprese hastalarda gelişir. Bunun dışında organ transplantasyonu, AIDS ve solid tümörü olan immün sistemi baskılanmış hastalar ile intravenöz ilaç bağımlıları, yüksek doz kortikosteroid kullanımı olan hastalarda gelişen olgular bildirilmiştir. Son yıllarda özellikle nütropenik kanserli hastalarda kemik iliği

nakil sonrası yoğun sitotoksik ve immünosupresif tedavilerin uygulanmasına bağlı olarak yüksek mortaliteyle seyreden *Trichosporon* enfeksiyonlarının sıklığı artmaktadır. Yine de bu hasta gruplarında enfeksiyon sıklığı %0.1'in altındadır (16). Kontoyiannis ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada trikosporoz olan 17 hastanın % 65'i akut lösemi, % 65'i nötropenik hasta, % 53'ü ise yüksek doz kortikosteroid kullanmış hastalar olup 30 günlük takipte mortalite oranı %53 olarak bildirilmiştir (19). *Trichosporon türlerine* bağlı invazif hastalık erkeklerde kadınlara oranla iki kat daha sık görülmektedir. Farklı olgu serilerinde erkek hastaların oranı % 67-70 arasında değişmektedir. Enfeksiyonlar büyük bir çoğunlukla erişkinlerde görülmekle birlikte literatürde neonatal invazif *Trichosporon* enfeksiyonları da bildirilmiştir (6,19).

*Trichosporon* enfeksiyonlarının coğrafi dağılımına bakıldığında, tüm dünyada yaygın olduğu görülmektedir. Literatürde 1965-2004 yılları arasında bildirilmiş *T.asahii*'yi de içeren *Trichosporon türlerine* bağlı gelişen invazif enfeksiyon olgularının dağılımı; Avrupa'da %27.6, Kuzey Amerika'da %33.9, Güney Amerika'da %2.1, Asya'da %32.9, Afrika'da %2.8 ve Avustralya'da %2.1 oranlarındadır (20).

## **2.5. Patogenez**

*Trichosporon türleri* doğada yaygın olarak, toprak, su, organik atıklar ve diğer ortamlarda bulunurlar. Aynı zamanda insan gastrointestinal, üriner ve solunum sistemlerinde kolonize olabilirler. Yine de bu mantar nadiren hastane ortamlarından izole edilir ve nozokomiyal yayılım sık değildir (16). Yüzeysel ve

derin yerleşimli *Trichosporon* enfeksiyonların kaynağı henüz net değildir. *Trichosporon türlerinin* doğada yaygın bulunması ve deri, solunum yolu, gastrointestinal kanal ve genitoüriner kanalın normal florasında yer alması enfeksiyona kaynak oluşturabilir (6).

Yüzeyel trikosporoz bulaşma yolu belirsizdir, ama kötü hijyen alışkanlıkları, kirli suda banyo, ve cinsel yol bulaş da rol oynayabilir. Beyaz piedra bulaş yolu üzerinde fikir birliği olmamasına rağmen, hasta ile yakın temas, nemli saç ve saç uzunluğu risk faktörleri olarak kabul edilmiştir (6).

Derin yerleşimli enfeksiyonda ise kaynak gastrointestinal kolonizasyon sonrası mukozadan mikrobiyal translokasyondur. Walsh ve arkadaşlarının invazif trikosporoz için yaptıkları hayvan modeli deneyinde *Trichosporon*'un bağırsaktan kana ve diğer organlara immunsupresyon durumunda trasloke olduğu gösterilmiştir (6,20).

Trikosporozun önemli bir kısmı ise eksojen kaynaklı olup, *Trichosporon* deriden kontamine olan perkütan venöz katater ile kana geçebilir. Kontoyiannis ve arkadaşları 17 trikosporozlu hasta ile yaptıkları çalışmada fungemi ataklarının %70'ini santral venöz katater ilişkili olarak bulmuştur (6,19).

Son olarak, çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde yenidoğanda sepsisin nadir bir nedeni olarak trikosporoz gelişebilir. Neonatal deri kolonizasyonu olabileceği gibi bu hastalara sağlık personelinden veya vajinal doğum ile bulaş olabilir. Kadınların %14'nün vajinal kanalında *Trichosporon* kolonize olarak bulunmuştur (6).

## 2.6. Virulans Faktörleri

Enfeksiyon hastalığı oluşması için, patojen mikroorganizmanın konak ile temasa geçmesi, konak hücrelerine tutunması, kolonize olması, hücre ve dokuların içine girmesi ve sonunda hasar oluşturması gereklidir. Konak ile mikroorganizma arası ilişkide konakçıya ait faktörler ve mikroorganizmaya ait faktörler rol almaktadır (21). Patojen konağa girdikten sonra genellikle epitel hücrelerine tutunur, çoğalır. Bu aşamada mikroorganizmanın virulans faktörleri hastalık oluşturma mekanizmasını belirler. Fungal enfeksiyon patogenezinde önemli rol alan bu virulans faktörleri, mikroorganizmaların konak savunma sistemleri tarafından elimine edilmelerini önlemek üzere oluşturulan mikrobiyal ürünlerdir. Bu kapsamda, fungal virulans faktörleri işlevlerine göre “kolonizasyonu başlatan ve ilerleten” ve “konağa zarar veren” ürünler olarak sınıflanabilir. Bu faktörlerden bazıları; hif oluşumu, yüzeyel antijenik yapılar, fenotipik ve genotipik değişim gösterebilmesi, yüzeyel hidrofobisite, adezinler, toksinler ve hidrolitik enzimler, kapsül, hücre duvarı bileşenleridir (22).

Hif oluşturabilme yeteneği mantara doku invazyonu ve fagositozdan kaçma imkanı sağlar. Ancak hif oluşumunu (% 5.5) CO<sub>2</sub>, pH (7.5-8.0), ısı (37 °C) gibi faktörler etkilemektedir. Hifal formdan maya forma dönüş daha düşük ısılarda, asidik pH'da, serum yokluğunda ve yüksek konsantrasyonda glukoz varlığında gerçekleşir. Mantar hücreleri hif oluşturarak doku veya plastik yüzeylere daha fazla yapışma özelliği gösterir (23,24).

Mantarlarda diğer bir önemli olan virulans faktörü ise fenotipik değişimdir; *C.albicans* kolonileri düzgün, halka, yıldız, çizgili, şapka, buruşuk,

tüylü gibi morfolojik değişimler gösterirler. Bu değişim, stres altında iken kendiliğinden gelişir ve hücre yüzeyi özelliklerinde ve kolonilerin görüntülerinde ayrıca metabolik, biyokimyasal ve moleküler özelliklerinde değişiklikler ortaya çıkar; tüm bu değişimler enfeksiyon sürecinde daha virülan ve etkin olmak üzere düzenlenmektedir (21,24).

Mikroorganizmaların enfeksiyon oluşturabilmesi için konak dokularına invazyonu yani öncelikle konak hücre ve dokularındaki çeşitli proteinlere bağlanması gerekmektedir. Maya hücresinin konak hücre yüzeyine tutunmasında, konağın hormonal ve immünolojik koşullarının yanısıra, mantarın yüzey özelliklerinin de önemi vardır. Bunlar genel olarak hücre duvarı ile ilişkili yüzey adezinleridir (24). Bu adezinler; Als (agglutinin like sequences) proteinleri, Hwp (hyphal wall protein) hifal hücre proteinleri, mannoprotein gibi protein yapılarıdır (21,24).

Biyofilm ise, mantarların canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda matriks bir tabaka içinde topluluk oluşturması olarak tanımlanabilmektedir. Biyofilmin taban kısımlarında mayalar, üst kısımlarında ise hifal formların yer aldığı saptanmıştır (24).

Mantar enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli yer tutan, proteinaz (salgısal aspartik proteinaz), fosfolipaz, asit fosfataz, esteraz, glukoamilaz gibi birçok enzim bulunmaktadır. Bunlardan bazıları mantarlar tarafından salgılanan proteinler olmakla birlikte, diğerleri hücre duvarı elemanı yada hücrenin kendiliğinden lizisi ile stoplazmadan salınmaktadır (21). Salgısal asit proteinaz (SAP) ve fosfolipaz *C. albicans* ve diğer bazı mantarlarda enfeksiyon

patogenezinde rol alabileceği gösterilmiş olup bununla beraber lipaz ve esteraz gibi başka hidrolitik enzimlerinde üretildiği gösterilmiştir (25).

Literatürde *Trichosporon türlerinde* virülans faktörlerini araştıran sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Ichikawa ve arkadaşları, 61 *T.asahii* izolatında olası virülans faktörlerini (fenotipik değişim ve ekstraselüler hidrolitik enzim aktivitesi) araştırmışlar ve bu izolatlarda dört farklı fenotip gözlemişlerdir. Fenotipik değişim sıklığı  $10^2$ - $10^4$  olarak tespit edilmiş ve bu değer *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* için bilinen fenotipik değişim sıklığına benzer bulunmuştur. İzolatlarda SAP ve fosfolipaz aktivitesine rastlanmazken, bir diğer ekstraselüler enzim olan  $\beta$ -N-asetilheksozaminidaz aktivitesi (N-AHA) tespit edilmiştir. Bu araştırmacılar, fenotipik değişimin ve N-AHA'nin *Trichosporon* enfeksiyonlarının patogenezinde rol alabileceğini düşünmüşlerdir (23).

#### 2.6.1. Salgısal Asit Proteinaz Enzimi (SAP)

Karboksil ya da asit proteinaz olarak da adlandırılan aspartik proteazlardır. Bunlar SAP 1-10 genlerince kodlanırlar. Salgısal asit proteinaz 1-8 hücre dışına salınan tiplerdir. Salgısal asit proteinaz 1, 2 ve 3 mayalarda bulunur ve pH 3.5'da aktif olup erken aderens, invazyon ve kutanöz enfeksiyonda rol alırlar. Salgısal asit proteinaz 4-6 ise hifal formlar tarafından üretilirler; pH: 5-7'de aktiftirler ve kolonizasyonda ve de farklı dokuların invazyonunda etkinlik gösterirler. Salgısal asit proteinaz 8 penetrasyonda rol almaktadır. Salgısal asit proteinaz 9 ve 10 ise salgısal olmayan ve glikozilfosfatidilinozitol kısımları ile mantar hücre yüzeyine bağlı olarak yer alan serin proteazlardır. Bunlar hem maya hem hifal formda

bulunurlar (23,25,26). İlk kez 1965'de Staib, salgısal asit proteinazı *C. albicans* kökenlerinde saptamıştır. Salgısal asit proteinaz; serum albumini, hemoglobin, kazein, fibronektin, keratin ve kollajeni parçalama yeteneğine sahiptir. Hidrolitik etkisini gösterdiği başlıca hedef bölgeleri arasında IgG1 ve IgA yer almaktadır, diğer hedef bölgeleri ise  $\alpha$ 2 makroglobulin, koagülasyon faktör X, anjiotensinojendir. Enzim aktivitesi için optimum pH 4.3 olup yüksek pH'da enzim aktivite gösteremez (26,27).

Klinik örneklerden en sık izole edilen maya etkeni, *C. albicans* ile yapılan çalışmalarda salgısal asit proteinaz virulans faktörü olarak tespit edilmiş olup bu hastaların serumlarında özgül antikorların bulunması, enzimin in-vivo olarak salgılandığını ve *Candida* enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli bir yere sahip olduğunu gösterilmiştir (27,28). Salgısal asit proteinaz enzim aktivite varlığı sadece *Candida albicans* ile sınırlı değil. *Candida albicans* dışı mayalarda da (*C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*) hücre dışı SAP üretimi gerçekleşmektedir. *Candida kefyr*, *C. krusei*, *C. glabrata* ve *C. guilliermondii* ise nadiren SAP enzimi üretilmektedir (25).

*Trichosporon türlerinin* bu enzimi üretip üretmediği yada enzimin enfeksiyon patogeneğinde ki rolü net değildir. Dağ ve arkadaşlarının 48 *T. asahii* kökeni ile yaptıkları çalışmada hiçbir kökende asit proteinaz enzim aktivitesine rastlamamışlardır (29).

Sun W ve arkadaşları 23 *T. asahii* kökeni ile yaptıkları çalışmada hiçbir kökende asit proteinaz ve fosfolipaz enzim aktivitelerine rastlamamışlardır (30).

Gülenç ve arkadaşları ise klinik örneklerden izole edilen maya türleri ile yaptıkları çalışmada iki tane *Trichosporon cutaneum* tanımlamış olup, bu iki suşu proteinaz aktivitesi pozitif olarak bildirmişlerdir (31).

#### 2.6.2. Fosfolipaz Enzimi

Fosfolipaz enzimi, insan hücre membranında bulunan gliserofosfolipidlerin ester bağlarını hidrolize eder ve epitel hücrelerine tutunmada ve invazyonda önemli role sahiptirler. Özellikle kandan izole edilen kökenlerin çoğunda fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. Fosfolipazlar, hidrolize ettikleri ester bağlarına özgül olarak A, B, C ve D olarak sınıflandırılırlar (23,25).

Fosfolipazlar ilk defa 1968'de Costa ve arkadaşları tarafından *C. albicans*'da gösterilmiştir. *Candida albicans* dışında diğer mayalarda ve *Listeria monocytogenes*, *Toxoplasma gondii*, ve *Entamoeba histolytica* gibi başka patojen mikroorganizmalar tarafından da fosfolipaz ürettiği gösterilmiştir (28).

Cafarchia ve arkadaşları güvercin dışkılarından izole edilen 163 maya da fosfolipaz aktivitesi araştırmışlar. Örneklerden ondört tanesi *T. beigellii* olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışma sonucu ondört izolatin altısında fosfolipaz enzim aktivitesi gösterilmiştir. Bu *Trichosporon* için ilk kez fosfolipaz aktivite varlığının gösterildiği çalışmadır, ancak genomda bu aktivite ile ilgili gen gösterilememiştir (32).

### 2.6.3. Esteraz Enzimi

Esteraz enzimi de lipazlar gibi triaçilgliserollerin ester bağlarını hidrolize etmektedir. Lipazlardan farkı suda çözünebilen, uzun zincirli yağ asidi içeren substratlara etki göstermesidir (33).

Bazı *Candida türlerinin*, fosfolipazın yanı sıra esteraz gibi enzimleri salgılayarak, lipolitik aktivite gösterdiği belirtilmiştir. İlk kez 1978'de Rudek *Candida türlerinde* esteraz aktivitesini, tween içeren katı besiyerinde opasite testi ile göstermiştir (34).

Ekstrasellüler esteraz enzimi ısıya duyarlı bir enzimdir. Maksimum esteraz aktivitesi, tek karbon kaynağı olarak tween 80 içeren besiyerinde, pH: 5.5'de görülmektedir. Ayrıca bir lipaz aktivatörü olan sodyum taurokolat eklenmesiyle esteraz aktivitesinin de uyarıldığı belirtilmiştir (33,34,35).

Esteraz enziminin substratları arasında yer alan ve insan derisinin stratum korneum tabakasında yüksek oranda bulunan triaçilgliserol ve monoaçilgliserol substratları lipolitik enzimlerin aktivitesi sonucunda parçalanmakta ve bunun neticesinde mikroorganizmanın invazyonu ve kolonizasyonu kolaylaşmaktadır. Esteraz enzimi üzerine yapılan araştırmalarda, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* gibi bazı bakteri türlerinin enfeksiyon esnasında bu enzimi ürettikleri belirtilmektedir (36). Yine *Penicillium marneffe*'nin de hem hif hemde maya formunda esteraz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (35).

*Trichosporon türleri* için esteraz enzim aktivite varlığı yönünden literatüre baktığımızda kısıtlı veri bulunmaktadır. Dağ ve arkadaşları 48 *T. asahii* suşları ile

yaptıkları çalışmada tüm suşların esteraz enzim aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir (29).

#### 2.6.4. Hemolitik Aktivite

Hemolitik aktivite, patojenik mikroorganizmaların demir kaynağı olarak demir bağlı proteinleri kullanarak konak içinde yaşamalarını sağlayan önemli bir faktördür. Hemoglobin bu mikroorganizmalar için önemli bir demir kaynağıdır. Hemolizinler ise patojen mikroorganizmaların elementer demiri kullanmak için hemi parçalamalarını sağlayan enzimlerdendir ve özellikle streptokok ve stafilokokların oluşturduğu enfeksiyonların patogeneğinde rol alan önemli virulans faktörleri olarak bilinirler. *Streptococcus gordonii*'deki alfa-hemolitik faktör olan hidrojen peroksitin *C. albicans*'ta varlığı gösterilmiştir. Bununla birlikte *Candida*'larda hemolizin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. *Candida albicans*'ın indüklediği komplemana bağlı hemoliz ilk olarak 1994 yılında Manns ve arkadaşları tarafından glikozla zenginleştirilmiş kanlı agar besiyerinde basit plak analiz yöntemi ile gösterilmiştir. Luo ve arkadaşları 2001 yılında bu metodu çeşitli klinik örneklerden elde edilen farklı *Candida türlerinin* hemolitik aktivitelerini değerlendirmek ve hemolizin üretiminde türlerin spesifik farklılıklarını karşılaştırmak amacıyla modifiye etmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmalarında, *Candida türlerinde* 24 saatlik sürede alfa hemoliz oluştuğu 48 saat sonra ise *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* suşlarında beta hemoliz oluştuğunu gözlemişlerdir. Aynı çalışmada hemolitik indeks

hesaplandığında türler arasında anlamlı bir farklılık izlenmiş, *C. albicans* ve *C. dubliniensis* 'te hemolitik aktivite yüksek bulunmuştur (37,38,39).

Literatürde *Trichosporon türlerinde* hemolitik aktivite varlığını araştıran kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sun W. ve arkadaşları 23 *T. asahii* kökeni ile yaptıkları çalışmada bazı kökenlerde hemolitik aktiviteye rastlamışlardır (30).

#### 2.6.5. Koagülaz Enzimi

Koagülaz, ekstrasellüler bir proenzimdir. Coagulase-Reacting faktor (CRF) ile birleşerek aktif duruma geçer ve plazmayı pıhtılaştırır, plazma fibrinojenini bağlayarak, organizmaların aglütinasyonuna ve plazmanın pıhtılaşmasına sebep olur. Serbest ve bağlı olmak üzere iki farklı koagülaz formu oluşabilir. Serbest koagülaz, organizmanın sıvı halinde kültürlerinde oluşan ekstrasellüler bir enzimdir. Kümeleştirme faktörü olarak da bilinen bağlı koagülaz ise organizmanın hücre duvarına bağlı kalır. Kümeleştirme faktörü üretmeyen izolatlar, ekstrasellüler koagülaz (serbest koagülaz) oluşturup oluşturamadıkları açısından test edilmelidir (40,41). *Staphylococcus aureus* için standart belirleyici olan koagülazla, patojen olan-olmayan stafilocok ayrımı yapılır. Koagülaz pozitif stafilocokların üzerinde oluşan kalın fibrin tabakasının, mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak, patojenliğe katkı sağladığı ileri sürülmektedir (40).

Plazmayı pıhtılaştırma yeteneğini gösteren koagülaz deneyi, *S. aureus*'u diğer stafilocoklardan ayırt etmede en yaygın olarak kullanılan ve en çok önem taşıyan identifikasyon kriteridir. *Staphylococcus*'un koagülaz üretebildiği, ilk kez 1903 yılında Loeb tarafından bildirilmiştir. İki farklı yöntemle koagülaz testi

yapılabilir. Birincisi stafilokokların besiyerine saldıkları serbest koagülazın araştırıldığı tüp testidir. İkincisi ise kümeleştirme faktörü olarak da bilinen bağlı koagülazın araştırıldığı lam deneyidir. Lam deneyi hızlı sonuç vermekle birlikte, *S. aureus* suşlarının %10-15'i bu yöntemle negatif sonuç verebilir (40,41,42).

*Candida*'larda koagülaz üretimi ilk kez Rodrigues ve arkadaşları tarafından 2003'de gösterilmiştir (43). Daha sonra Yiğit ve arkadaşları *Candida*'larda koagülaz aktivitesini göstermek için koyun, tavşan ve insan plazması kullanmış ve farklı duyarlılıklar bulmuşlardır. İnsan plazması ile hiçbir izolatta koagülaz aktivitesi gösterilemezken, koyun ve tavşan plazması ile koagülasyon gösterilmiştir. Koagülaz aktivitesini tespit için en uygun testin tavşan plazması olduğunu bildirmişlerdir (44).

Literatürde *Trichosporon türlerinde* koagülaz aktivitesi üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

## **2.7. Klinik**

*Trichosporon* insan vücudunun çeşitli bölgelerinde kolonize olabilen tıbbi öneme sahip bir cinstir. Bu maya benzeri patojen derin, mukoza ilişkili veya yüzeysel enfeksiyonlara sebep olabilir. Yüzeysel enfeksiyon ve allerjik pnömoni immunbağışık kişilerde görülürken, derin enfeksiyonlar ise hematolojik malignite gibi immunsupresyon durumlarında görülür (6,17). Tablo 1.'de *Trichosporon* enfeksiyonlarının kaynakları, major etyolojik ajan ve enfeksiyon ile ilişkili durumlar özetlenmektedir (6).

**Tablo 1.** Trikosporoz enfeksiyon kaynağı, major ajan, ilişkili durum (9)

<b>Enfeksiyon kategorisi</b>	<b>Enfeksiyon tipi</b>	<b>Major ajan</b>	<b>İlişkili durum</b>
İnvazif	Fungemi, idrar yolu enfeksiyonu, peritonit, endokardit, vs.	<i>T. asahii</i> , <i>T. mucoides</i> , <i>T. asteroides</i>	Kanser, vasküler-uriner katater, organ transplantasyonu, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
Allerjik pnömoni	Yaz tipi aşırı duyarlılık pnömonisi	<i>T. cutaneum</i>	Sıcak ve nemli hava, çevresel kontaminasyon
Yüzeyel	Beyaz piedra	<i>T. inkin</i> , <i>T. cutaneum</i> , <i>T. ovoides</i> , <i>T. loubieri</i>	Genç yaş, kadın cinsiyet, uzun saç, nem, kötü hijyen, saç bandı kullanılması

### 2.7.1. Yüzeyel Enfeksiyonlar

İnsanda *Trichosporon* enfeksiyonunun kliniği saçta düzensiz nodüller ile karakterize, beyaz piedra olarak adlandırılan, genellikle iyi huylu lezyonlardır. Bu nodüller gevşek, yumuşak bir dokuya sahip, saç gövdesine bağlı olan, beyaz veya açık kahverengi olabilir. Beyaz piedra çocukları ve erişkinleri tutan, tropik ve ılıman bölgelerde görülen bir hastalıktır. Beyaz piedra vakalarının çoğu, özellikle çocuklar ve genç erişkinlerde, özellikle kadınlarda bildirilmiştir. Saçlı deri, sakal, bıyık, kaş, koltuk altı ve özellikle genital kılları tutabilir. Etken anüs çevresini kolonize edebilir ve cinsel yolla bulaş söz konusu olabilir. *Trichosporon cutaneum*, *T. inkin*, *T. mucoides* ve *T. ovoides* türlerinin neden olduğu bir enfeksiyondur. *Trichosporon inkin* daha çok kasık bölgesinden, *T. ovoides* ise baş

bölgesinden izole edilir. Bunlara ek olarak, *T. loubieri* insanlarda yüzeysel enfeksiyona sebep olan bir tür olarak literatürde rapor edilmiştir (5,6,7,17).

*Trichosporon türlerinden* özellikle *T. cutaneum*, onikomikoz gibi diğer yüzeysel enfeksiyonlara da sebep olabilir. Meksikalı araştırmacılara göre tinea pedis-onikomikozlu hastaların %2.8-%42.8'den *Trichosporon türlerini* izole etmişlerdir (45).

Yüzeysel enfeksiyonlara ek olarak *Trichosporon cinsi* yaz tipi aşırı duyarlılık pnömonisine sebep olur. Bu hastalık *Trichosporon* artrokonidiyumlarının sürekli inhalasyonu ile ortaya çıkan tip III veya tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Yaz tipi aşırı duyarlılık pnömonisi sadece Japonya'da görülen bir hastalık olup genellikle yaz aylarında başlar ve sonbahar ortalarına kadar devam eder. Yaz tipi aşırı duyarlılık pnömonisi immunkompleks aracılığı ile akciğerde doku hasarı sonrası gelişen aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Pulmoner lezyonlardan yapılan biyopsilerde epitelmoit hücreler ve santral nekrozu olmayan granülomlar görülür. Fungusun granümatöz alveolite neden olan potent antijenik yapısı glukuronoksilomannan antijenidir (16,18).

Tüm aile bireylerinde görülebilir, hasta ev ortamından uzaklaştırılırsa semptomlar kaybolur ve ev provakasyon testi pozitifdir. Öksürük, dispne ve remitan ateş hastalığın klinik triyadıdır. Akciğer fonksiyon testlerinde bozulma, lökositoz ve akciğer grafilerinde yaygın nodüler tutulumlar saptanabilir. PPD testi negatiftir. En sık saptanan etiyolojik etkenler başta *T. cutaneum* olmak üzere, *T. dermatis*, *T. asahii*'dir (16).

### 2.7.2. İnvazif Enfeksiyon

Watson ve Kallichurum 1970’de ilk invazif *Trichosporon* enfeksiyonu olarak serebral absede etyolojik etken; *T. cutaneum* bildirmesinin ardından birçok farklı klinik tabloda invazif enfeksiyon tanımlanmıştır (7). Izumi K. 2009’da *Trichosporon asahii*’e bağlı gelişen endokardit olgusu yayınlamıştır (46). Usha ise 2010’da duodenal perforasyon sonrası *T. beigeli*’e bağlı peritonit bildirmiştir (47).

*Trichosporon* invazif enfeksiyonları genellikle gastrointestinal kanal kolonizasyonu sonrasında özellikle de santral venöz katater kullanımı ile ilgilidir. *Trichosporon türleri* hematolojik malignitesi olan hasta grubunda *Candida* enfeksiyonlarından sonra ikinci sıklıkta görülen etken olarak bildirilmiştir. Antifungal tedaviye rağmen %50-80 oranında mortalite görülmektedir (6).

Girmenia tarafından 2005’de hematolojik malignitesi olan hastalarda invazif trikosporoz için yapılan çok merkezli büyük bir çalışma yapılmıştır. 20 yıllık retrospektif taramada tüm dünyada 287 trikosporoz olgusu bildirilmiştir. Bunların büyük kısmı Kuzey Amerika’dan (33.9%), daha sonra Avrupa (27.6%) ve Asya (23.3%)’dan bildirilmiştir (6,48).

Suzuki ve arkadaşları 2010’da retrospektif olarak 33 *Trichosporon* fungemili hastayı klinik açıdan değerlendirmişler. Hastaların %82’si akut lösemi, %85’i nötropenik ve % 90’nı ise en az beş gün süre ile antifungal terapi almıştır. Oniki hastada deri lezyonları, ondokuz hastada ise pnömoni bildirilmiştir. On gün içinde fungemiye bağlı mortalite %67- %76 oranında görülmüştür (6,49).

*Trichosporon* hemotolojik yayılım ile genellikle fungemi ve ateşe neden olurken daha az olmakla birlikte organa spesifik enfeksiyon olguları da bildirilmektedir. Pnömoni, yumuşak doku lezyonları, peritonit, endoftalmi, endokardit, beyin apsesi, menenjit, artrit, özofajit, lenfadenopati, karaciğer, dalak apsesi gibi olgular görülmektedir (6).

Peritonit; *Trichosporon*'a bağlı periton diyaliz sonrası gelişen en yaygın peritoneal enfeksiyondur. Fungal peritonit daha önce bakteriyel peritonit öyküsü olan hastalarda; ateş, karında dolgunluk ve bulanık periton diyaliz sıvısı semptomları ile karakterizedir (6).

*Trichosporon*'a bağlı endokardit nadir olarak görülsede, doğal veya prostetik kapaklarda bildirilme sıklığı artmıştır. Hastalarda sıklıkla büyük vejetasyonlar gelişip aort, alt ekstremitte veya beyne embolizasyon gerçekleşmektedir. Bu hastalarda kapak replasmanı zorunlu olmasına karşın nüksler görülmekte ve antifungal terapi yetersiz kalmaktadır (6,7).

İdrar yolu enfeksiyonu da bu patojene bağlı olarak genellikle üriner obstrüksiyon, üriner kataterizasyon ve yoğun antibiyoterapi ile ilişkili olarak gelişir. Böbrek hasarı ve böbrek disfonksiyonuna sebep olabilir (6).

Dissemine enfeksiyonda moleküler yöntemler ile etyolojik ajan olarak en sık *T.asahii* izole edilmiştir (6,7).

İnvazif trikosporoz çoğunlukla kanser, diyabet, nütropenik hastalar gibi immunsuprese kişilerde bildirilmiştir. Ancak, Rastogi ve arkadaşları flukonazol tedavisi ile iyileşen immün bağışık bir hastada *T. asahii*'e bağlı gelişen

meningoensefalit ve pnömoni olgusu bildirmiştir. Bu *Trichosporon türlerinin* insandaki patojenik rolünü göstermiştir (50).

## 2.8. Tanı Yöntemleri

European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infection Cooperative Group (EORTC/IFICG)'a göre invazif trikosporoz aşağıdaki gibi tanımlanmaktadır;

- 1- "Kanıtlanmış invazif trikosporoz": en az bir kriterin gösterilmesi:
  - (i) Kan kültüründe *Trichosporon türleri* üreyen hastalarda eş zamanlı klinik belirti ve bulguların olması
  - (ii) Beyin omurilik sıvısı (BOS) kültürlerinde *Trichosporon türlerinin* üremesi,
  - (iii) Kültürü pozitif ve mevcut biyopsi örneklerinde *Trichosporon türleri* ile uyumlu mantar elemanlarının histopatolojik olarak kanıtlanması
- 2- "Muhtemel invazif trikosporoz":
  - (i) En az bir ana faktör varlığı (immunsupresif ilaç kullanımı, nötrojeni, devam eden ateş, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı)
  - (ii) Bir mikrobiyolojik ölçüt (şüpheli bir biyolojik materyalde *Trichosporon türleri* ile uyumlu kültür üremesi)
  - (iii) Bir major klinik kriter (görüntüleme veya sitobiyokimyasal bulgu) (51).

Yüzeysel ve invazif trikosporoz mikrobiyolojik tanısı klasik kültür bulguları ile direk bakı ve biyopsi örneklerinde *Trichosporon türleri* ile uyumlu mantar elemanlarını (hif, pseudohif, artrokonidia, blastokonidia) tanımlamaya dayanmaktadır. İnvazif enfeksiyon tanısı için doku ve kültürden sonuç elde etmek altın standart olsada bazı hastalar için biyopsi örneklerinden izolasyon zor olabilir (5,6,16).

### 2.8.1. Fenotipik Tanı Yöntemleri

*Trichosporon türlerini* tanımlamak için morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemler gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Genel Mikrobiyoloji laboratuvarlarında *Trichosporon türlerini* tanımlamak için fenotipik yöntemlerin rutin kullanımı daha uygun olmasına rağmen sınırlı sonuç vermektedir. Moleküler yöntemler tür tanımlamasında daha duyarlı ancak rutin laboratuvar kullanımı için pahalı yöntemlerdir (6).

Kutanöz lezyonların incelemesinde %10 KOH ile hazırlanan ıslak preparatlarda psöдохif, hif, blastokonidyum ve artrokonidyum görülebilir. *Trichosporon türleri* tipik olarak blastokonidyalı artrokonidyalı iki köşesinden de çıkarır ve tavşan kulağı görünümü verirler (52). Morfolojik birçok özelliği ile *Blastoschizomyces capitatum* ile benzerlik gösterir. Her iki tür de septalı hifler, psöдохif ve artrospor oluştururlar. Morfolojik olarak birbirinden ayrılmayan bu iki tür fizyolojik ve diğer testlerle birbirinden ayrılabilir. Her ikisinde nonfermentatif mikroorganizmalardır. En önemli farkları *B. capitatum*'un üreaz aktivitesinin olmamasıdır (3). Aynı şekilde *Geotrichum türleri* de

artrokonidia üretebilmektedir. *Geotrichum* ve *Trichosporon* fenotipik olarak benzer özellikler gösterebilirler bile genotipik yapıları farklı iki türdür. ITS nükleotid sekans analizine göre %80'den az benzer yapıdadırlar. Spesifik PCR yöntemleri ile bu iki cinsin ayrımı yapılabilir (6).

**Tablo 2.** *Trichosporon*, *Geotrichum* ve *Blastoschizomyces capitatum* ayrımı (3)

	<i>Trichosporon</i>	<i>B. capitatum</i>	<i>Geotrichum</i>
Artrospor	+	+	+
Blastospor	+	+	-
Annelospor	-	+	-
Üreaz aktivitesi	+	-	-
<i>C.neoformans</i> lateks aglütinasyonu	+	-	-

Direk bakı sonrası kesin tanı *Trichosporon*'un kan, doku, idrar, solunum yolu örnekleri, periton gibi örneklerin kültüründe üretilmesi ile konur. İnhibitör olduğu için sikloheksimit olmayan SDA kullanılmalıdır. Geniş bir ısı aralığında (25-40°C) üreme yeteneğinde olsalarda optimum üreme ısıları 30°C'dir. Rutin kültür besiyerinde 5-7 gün içinde ürerler; gençken koloniler krem renkli yumuşak koloniler şeklindedir. Daha sonra membranöz, radyal oluklanmalar ve kıvrımlar oluşur (3).

*Trichosporon* türlerinin fenotipik yöntemlerle tanımlanması kolonilerin biyokimyasal profil gibi mikromorfolojik karakterinin belirlenmesi temeline dayanmaktadır (tablo 3). Artrokonidia aramak için slayt mikrokültürü hazırlamak *Trichosporon* türünü belirlemede çok faydalı bir yöntemdir (6). Lam kültür

yönteminde *T. loubieri* ve *T. mycotoxinivorans* füsiform dev hücreler oluşturur (17). Ancak, diğer morfolojik ve biyokimyasal testler tür seviyesinde *Trichosporon* izolatlarını tam tanımlamaya izin vermez. Bu nedenle, maya türünün belirlenmesinde kullanılan klasik yöntemlerin *Trichosporon türleri* için sınırlı doğruluk ve tekrarlanabilirliğe sahip olduğu söylenebilir. Sınırlamalara rağmen *Trichosporon*'u tanımlamak için kullanılan manuel - otomatik sistemler geliştirilmiştir. Manuel sistemlerden ID 32C (bioMe'rieux, Mercy Etoile, France), API 20C AUX (bioMe'rieux, Mercy l'Etoile, France) sadece *T. asahii*, *T. inkin*, *T. mucoides*'i tanımlayabilmektedir (3,6).

**Tablo 3.** Klinik önemi olan *Trichosporon türlerinin* fenotipik özellikleri (17)

Özellik	<i>T.asahii</i>	<i>T.asteroides</i>	<i>T.cutaneum</i>	<i>T.inkin</i>	<i>T.ovoides</i>	<i>T.mucoides</i>
Melibiyoz asimilasyonu	-	-	+	-	-	+
L-arabinitol	+	+	+	-	-	+
Sorbitol	-	V	+	-	-	+
Rafinoz	-	-	+	-	V	+
37°C'de üreme	+	V	-	+	+	+
42°C'de üreme	-	-	-	V	-	-
%0.1 sikloheksimit	-	V	-	-	-	+
Üreaz	+	+	+	+	+	+
Füsiform dev hücre	-	-	-	-	-	-

### 2.8.2. Antijen Arama

*Trichosporon türlerinin* hücre duvarında *Cryptococcus*'a benzer olarak glukuronoksilomannan (GXM) bulunmaktadır (6). Benzer yüzey antijen

bulundurması nedeni ile serum kriptokok antijeni için geliştirilen lateks aglütinasyonu sıklıkla invazif trikosporoz olgularında da pozitif sonuç verir. Bu test *Trichosporon* enfeksiyonlarının erken tanısında hızlı, kolay uygulanabilir ve ucuz olması nedeniyle kullanılmaktadır. Antifungal tedavi sırasında *Trichosporon türlerinin* hücre duvarındaki hızlı değişiklikler nedeniyle test sonuçları negatifleşebilmektedir. Bu olgularda antifungal tedaviye yanıt alındığı düşünülerek tedavi sonlandırılmamalıdır (16).

1,3-β-D-glukan (BDG) fungal hücre duvarı için özel bir polisakkarit bileşeni olup ve invazif mantar enfeksiyon tanısı alan hastaların kanında tespit edilir. Serum BDG *Candida* ve *Aspergillus* fungemilerinde yükselir, *Cryptococcus* ve *Zigomicetes* enfeksiyonlarında ise nadiren yükselebilir. Bu nedenle invazif fungal enfeksiyon erken tanısı ve antifungal kemoterapi takibinde BDG kullanılabilir. Nakase ve arkadaşları retrospektif olarak hematolojik hastalarda *Trichosporon* fungemisi görülen 28 hastayı incelemiştir. Bu hastaların 16'sında (%57) β-D glukan testi yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu hastalar arasında BDG negatif olanlarda erken ölüm, BDG pozitif olanlara göre daha fazla olmuştur (45).

### **2.8.3. Moleküler Yöntemler**

Yakın zamanda invazif trikosporoz tanısı için PCR tabanlı moleküler yöntemler ve flow sitometri yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler klinik rutin uygulama için yeterli standardizasyona sahip olmamasına rağmen gelecekte klinik doğrulama için önemli bir yere geleceklerdir (6).

Sano ve arkadaşları kan kültüründe *T. asahii* tanımlanan üç otopside farklı dokular olarak 30 doku örneği üzerinde çalışmışlardır. Türe özgü primer ile 170 bp, 259 bp ve 412 bp farklı rDNA boyutlarında nested PCR kullanmışlardır. Test edilen 30 örnekten 20 tanesi hematoksilin- eosin (H &E) boyama ile pozitif, 22 tanesi ise Grocott boyama ile pozitif bulunmuştur. 170 bp fragmanda 22 pozitif örneğin 20 tanesi pozitif bulunmuş, 259 bp fragmanda ise 22 örnekten 12 pozitif varken 412 bp fragmanda hiç pozitif bulunamamıştır (53).

*Trichosporon* vücut sıvılarında PCR ile tanımlanabilmektedir. Nagai ve arkadaşları histopatolojik olarak trikosporoz tanısı alan hastaların serumunu nested PCR kullanarak *T. asahii* araştırmışlardır. İncelenen onbir örneğin yedi tanesi PCR ile altı tanesi ise GXM antijen ile pozitif bulunmuştur (54).

Sugita ve arkadaşları *T. asahii* tanısı için rDNA bölgesini çoğaltmak için nested PCR kullanmışlardır. Yedi farklı invazif trikosporoz tanısı otopsi ile kesinleşmiş hastadan onbir serum örneğinden PCR ve lateks aglütinasyon ile *Trichosporon* tanımlaması çalışmışlardır. Onbir örnekten dokuzunda PCR ile *T. asahii* DNA'sı saptamışlardır, lateks aglütinasyon ile ise onbir örnekten yedi tanesini pozitif olarak bulmuşlardır (55).

Sugita ve arkadaşları *Trichosporon türlerini* spesifik olarak tanımlamak için TRF ve TRR primerlerini dizayn etmiştir. Bu oligonükleotid dizileri *Trichosporon* dışında patojen olan diğer mayaların ribozomal gen bölgelerini çoğaltmamıştır (7,56). ITS gen bölgesi kullanılarak evrensel primerler ITS1, ITS4 ile *Trichosporon türleri* önemli sayıda tanımlanmıştır. Ancak bu gen bölgesi *T. domesticum* ve *T. montevideese* gibi yakın türleri ayırt edememiştir. IGS1 gen

bölgesi kullanılarak *Trichosporon* spesifik 26F,5SR primerler ile tüm türler tanımlanabilmiştir (14). Diaz ve arkadaşları Luminex 100 flow sitometri ile 26S (D1/D2), ITS ve IGS1 gen bölgelerini kullanarak türe özgü proplar ile birbirine yakın türler olan *T. asahii*, *T. japonicum* ve *T. asteroides*'i ayırt etmişlerdir (57). Tür tanımlamasında fenotipik yöntemler yerine IGS1 gen bölgesi gibi spesifik DNA analizleri kullanılması gerekir. İzolatlar tanımlama için moleküler yöntemlerin kullanıldığı referans laboratuvarlara gönderilmelidir (7).

#### 2.8.4. Histopatolojik Tanı

*Trichosporon* enfeksiyonlarında enfekte dokular 0.5-1.0 cm arasında değişebilen, kırmızı renkli dokuyla çevrili mikronodüller içerir. Gastrointestinal sistemde ülserler ve hemorajik infarkt içeren erozyonlar saptanabilir. Nodüllerin mikroskopik incelemesinde fungal elementler içeren nekrotik merkezli odaklar ya ışınal formda veya tamamen şekilsiz olabilir. Fungal elementler vasküler yapıları istila edebilir. Blastokonidiya, artrokonidiya ve hifaların görünümü invaziv *Trichosporon* enfeksiyonu tanısını destekler. Fungal elementlerin etrafını saran hücresel inflamasyon nadiren görülen hemorajiler nedeniyle değişken olabilir. Multinükleer dev hücreler içeren granümatöz inflamasyonda rapor edilmiştir (16,58).

Obana ve arkadaşları dokuz otopside elde ettikleri doku kesitlerinde *Trichosporon* hücrelerini Grocott boyası ile göstermişlerdir. Doku kesitlerinde *Candida* ve *Aspergillus* bulunamadığında musikarmin boyası ile *Trichosporon* aramışlardır. Periyodikasit-methenamin-gümüş (PAM) boyası ile doku

kesitlerinde *Trichosporon* elemanları iyi tanımlamışlardır. Doku kesitlerinde *Candida* ve *Trichosporon* ayrımı yapabilmek için Grocott boyası ve PAM boyası kullanmışlar; bu şekilde hifal boyut farkı ve hücre duvarında gümüş granül birikimini göstererek ayırım yapmışlardır (59).

## 2.9. Tedavi

Beyaz piedra kılıların traş edilmesiyle nodüller ortadan kaldırılabilir. Medikal tedavide ekonazol gibi bir azolle topikal tedavi veya oral ketokonazol tedavisiyle başarılı sonuçlar alınmakla birlikte nüks sıktır (5,16).

Yaz tipi aşırı duyarlılık pnömonisinin tedavisinde antifungal ilaçların yeri yoktur. Hastanın *Trichosporon* antijen inhalasyonunu engellemek için yaşadığı ortamdan uzaklaştırılması yeterlidir. Herhangi spesifik bir tedavi vermeden sadece ev ortamından uzaklaştırılmakla bile semptomlar birkaç gün içinde kaybolur. Ağır olgularda sistemik kortikosteroid tedavisi önerilmektedir (16).

Amfoterisin B, flukonazol ve itrokonazol trikosporoz tedavisinde kullanılan antifungallerdir, ancak invazif enfeksiyonlarda in-vivo etkinliklerinin yetersiz olması nedeniyle bu enfeksiyonların mortalitesi halen yüksektir. İnvazif trikosporozda en önemli sorunlardan biri etkenin morfolojik olarak *Candida* türleriyle karıştırılmasıdır. Bu tür karışıklıklar genellikle *Trichosporon* enfeksiyonları için yetersiz antifungal tedavilerin verilmesi ve tedavi başarısızlıklarıyla sonuçlanmaktadır. Çünkü invazif mantar enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde kullanılan amfoterisin B ile klinik yanıt oranları düşüktür ve tedavi başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Bu mantarların mikonazol, flukonazol,

itrakonazol gibi azollere in-vitro duyarlılıkları genellikle iyi olmakla birlikte klinik başarısızlıklar da bildirilmiştir. İtrakonazol, amfoterisin B veya kaspofungin profilaksisi verilen olgularda *Trichosporon türlerine* bağlı fungemiler gözlenmiştir. Yüksek doz amfoterisin B (1-1.5 mg/kg/d) + flukonazol (800-1600 mg/gün) veya flusitozin kombinasyonları ile başarılı sonuçlar bildirilmekle birlikte bu yaklaşım henüz tam olarak kabul görmemektedir (6,12,16).

Vorikonazol, posakonazol ve ravukonazol gibi yeni azollerle *Trichosporon türlerine* karşı invitro olarak mükemmel sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen kısıtlı klinik deneyimler de bu sonuçları desteklemektedir. Lipozomal amfoterisin B ile tedavisi başarısızlıkla sonuçlanan bir olguda *Trichosporon* fungemisi vorikonazolla başarılı bir şekilde eradike edilmiştir (6,16,60).

5-fluorocytosine'in (5FC) trikosporoz tedavisindeki rolü ile ilgili olarak, elde edilen veriler sınırlı olmakla birlikte in vitro veriler *Trichosporon* suşlarının büyük bir kısmının 5FC'e daha az duyarlı veya dirençli olabileceğini düşündürmektedir (61).

Ekinokandin grubu antifungal ilaçlar, *Trichosporon türlerinde* in vitro sınırlı ve yetersiz aktivite göstermektedir. Literatürde ekinokandin grubu antifungal ilaç ile tedavi altında iken gelişen *Trichosporon* enfeksiyonları bildirilmiştir (62,63). Bu nedenle *Trichosporon* enfeksiyonlarının tedavisinde ekinokandinler önerilmemektedir. Triazol grubu antifungal ilaçlar en çok önerilen ilaçlar olmakla birlikte *Trichosporon* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak optimal antifungal ilaç henüz kesinlik kazanmamıştır (8).

Kan kültür pozitifliği sebat eden olgularda uygulanan antifungal tedaviye direnç olasılığı nedeniyle mutlaka tedavi değişikliğine gidilmelidir. Kateter ilişkili enfeksiyonlarda periton diyaliz kateteri ve kalıcı intravasküler kateterler de dahil olmak üzere tüm kateterler çıkarılmalıdır. Trikosporozda diğer invazif mantar enfeksiyonlarında olduğu gibi belirli bir antifungal tedavi süresi olmamakla birlikte, klinik durumda düzelme, ateşin düşmesi ve mantar eradikasyonu elde edilinceye ve tüm viseral lezyonlar kayboluncaya kadar tedaviye devam edilmelidir (6).

Trikosporozda diğer fırsatçı enfeksiyonlarla benzer şekilde konak faktörleri başarılı klinik sonuçlar elde edilmesi için çok önemlidir ve in vitro antifungal duyarlılık tedavi başarısını belirleyen tek faktör değildir. Febril nötropenik olgularda immünitinin düzelmesi ve özellikle nötrofil sayısının artış klinik yanıt için belirleyicidir. Bu nedenle nötropenik olgularda granülosit koloni uyarıcı faktörlerin antifungal tedaviye eklenmesi klinik başarı şansını artırabilir. Benzer şekilde steroid ve diğer immünsupressif ilaçların dozunun mümkün olduğunca azaltılmasında nötropeninin düzelmesine katkıda bulunacaktır. Lokalize veya kütanöz enfeksiyonlarda antifungal tedaviyle birlikte cerrahi debritleme de yapılmalıdır (12,16).

## **2.10. Antifungal Duyarlılık Testleri**

The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) mayalar için açıkladığı antifungal duyarlılık testlerinde *Trichosporon cinsi* için özel bir döküman bildirmemektedir. Mevcut çalışmalarda *Trichosporon* için uygulanan

antifungal duyarlılık testleri *Candida* ve *C. neoformans* için 2008'de standardize edilmiş ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (6,8,64).

*Trichosporon türlerinin* duyarlılıklarıyla ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. İnvazif trikosporozlu nötropenik hastalardan izole edilen *T. Beigelii* suşlarında amfoterisin B direnci pek çok çalışmada bildirilmiştir. Bu suşlarda amfoterisin B'nin minimum fungisidal konsantrasyonunun (MFK) minimum inhibitör konsantrasyonlarından (MİK) dikkate değer şekilde yüksek olduğu ve amfoterisin B'ye tolerans geliştiği gösterilmiştir. Bu izolatların yeni sınıflamaya göre hangi türe ait oldukları tam olarak bilinmemektedir, ancak invaziv hastalığın *T. asahii* ve *T. mucoides* ile oluştuğu düşünülürse amfoterisin B'ye toleransın bu suşlarda olduğu varsayılabilir. Benzer şekilde, flukonazol bazı *Trichosporon* izolatlarına karşı yüksek MİK düzeylerine sahiptir. İtrakonazol ve posakonazol için MİK değerleri nispeten daha düşüktür. Vorikonazol ise in vitro olarak itrakonazol gibi diğer azollere göre en potent antifungal olarak gözükmektedir. Terbinafinin tek başına ya da azollerle kombinasyonu *Trichosporon* izolatlarına karşı in vitro aktiviteye sahiptir. Kaspofungin, anidulafungin ve FK463 gibi bütün ekinokandinlerin MİK değerleri çok yüksektir ve bu ilaçların *Trichosporon* izolatlarına karşı etkinliği yoktur (8,16)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Besiyerleri, Ticari Kitler

- Sabouraud Dekstroz Agar (Oxoid, İngiltere)
- %5-10 Koyun Kanlı Sabouroud Dekstroz Agar (ORBAK)
- Corn Meal Agar (HIMEDIA, Hindistan)
- Pepton (Oxoid, İngiltere)
- Sabouraud Dekstroz Broth (Sigma, ABD)
- Agar (HIMEDIA, Hindistan)
- Agaroz (Applichem, Almanya)
- ID 32 C (bioMérieux, Fransa)

##### 3.1.2. Kimyasallar

- Dekstroz (Merck, Almanya)
- Glukoz (Fluka)
- Sığır Serum Albumin Fraksiyonu V (BSA) (Sigma, ABD)
- NaCl (Merck, Almanya)
- KCl (Merck, Almanya)
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck, Almanya)
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Merck, Almanya)
- $\text{CaCl}_2$  (Merck, Almanya)
- $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Lachema)
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck, Almanya)

### 3.1.3. Tamponlar ve Solüsyonlar

- Sitrik asit-disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisi

1)  $C_6H_8O_7H_2O$  21.01 gr / 1000 ml distile su (0,1 M)

2)  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  35.6 gr / 1000 ml distile su (0,2 M)

pH 4.2 olan tampon çözelti hazırlanması için 1 ve 2 numaralı çözeltiler uygun miktarda karıştırılmıştır.

- % 0,9 NaCl çözeltisi
- İnsan Plazması
- Tavşan Plazması; Bactident Coagulase (Merck, Almanya)

### 3.1.4. Kullanılan Araç ve Cihazlar

- Terazî (Kern, Almanya)
- Etüv (Elektro-Mag, M5040BP, Türkiye)
- Derin Dondurucu, - 20 °C (Uğur, Türkiye)
- Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
- Derin Dondurucu, -80 °C (New Brunswick Scientific, ABD)
- Otoklav (Sanyo, Japonya)
- Soğutmalı Mikrosantrifüj (Labconco, ABD)
- Vorteks Cihazı (VELP, Scientifica, Almanya)
- pH Metre (Fisher Scientific, ABD)
- Mc Farland Dansitometre (DEN1 Biosan, Türkiye)
- Işık Mikroskobu ve Dijital Fotoğraf Makinesi CX31 (Olympus, Japonya)

- Sınıf 2 Biyogüvenlik Kabini (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)
- Mikropipetler ve Uçları (Expell, Meksika-Beta Pette™, ABD)
- Filtre (0.2 µm 'lik membran filtre, corning)
- Enjektör 5, 10 ml
- Eküvyon
- Petri Kapları, Tüpler, Mezur, Pipet Uçları, Sporlar

### 3.1.5. Çalışmada Kullanılan Kökenler

2010 - 2012 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikoloji laboratuvarına maya tiplendirmesi için gelen kültür örneklerinden, *Trichosporon türü* olarak sonuçlanan 20 köken, Dr. Takashi Sugita'dan (Japonya) elde edilen on *Trichosporon asahii* ve on farklı *Trichosporon türü* çalışmaya alınmıştır.

### 3.1.6. Standart Kökenler

- *Candida albicans* (ATCC 10231)
- *Candida tropicalis* (NRRLY 12968)
- *Candida glabrata* (ATCC 90030)
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

## 3.2. Yöntemler

### 3.2.1. *Trichosporon TÜR* Tanımlaması

#### 3.2.1.1. Sabouraud dekstroz agar (SDA) hazırlanması

Alınan klinik örnekler, mantarların üretilmesinde kullanılan bir genel üretim besiyeri olan SDA (Oxoid, İngiltere) besiyerine ekilmiştir.

100 ml besiyeri için;

- Sabouraud Dekstroz Agar 6.5 gr
- Agaroz 0.5gr
- Distile su 100 ml

Besiyeri karışımı otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilerek 9 cm çapında steril petri kaplarına kalınlığı 4 mm olacak şekilde 25’er ml dökülerek katılaşıncaya kadar bekletildi ve kullanılıncaya kadar +4°C’de buzdolabında saklandı.

#### 3.3.1.2. Mısır unu-tween 80 agar’ın (corn meal agar) hazırlanması

100 ml besiyeri için:

- Mısır unu agar 1.7gr
- Agar 5 gr
- Tween 80 1ml
- Distile su 100ml

Otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilip ve steril petri kaplarına döküldü. SDA’da üremiş 24 saatlik koloniden öze ile alınarak mısır unlu tween 80 agara çizgi ekim yapıldıktan sonra ekim çizgilerinin üzerine steril edilmiş lamel

kapatıldı. Petriler oda ısısında 72 saat inkübasyona bırakılıp mikroskop altında incelendi.

### 3.3.1.3. Karbonhidrat asimilasyon testi-ID 32 C sistemi

Biyokimyasal özelliklerine göre identifikasyon için yarı otomatize ID 32C (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France) sistemi kullanıldı. Striplerde, 32 kuyucuk olup kontrol kuyucuğu hariç her birinde bir dehidrate karbonhidrat maddesi bulunur ve mayaların üremesine göre değerlendirme yapılmaktadır.

ID 32C stribinde D-galaktoz, actidione (sikloheksimid), D-sakkaroz, N-asetil glukozamin, laktik asit, L-arabinoz, D-sellobiyoz, D-rafinoz, D-maltoz, D-trehaloz, potasyum 2-keto-glukonat, metil- $\alpha$ -D-glukopiranozit, D-mannitol, D-laktoz, inozitol, D-sorbitol, D-ksiloz, D-riboz, gliserol, L-ramnoz, palatinoz, eritritol, D-melibiyoz, sodyum glukuronat, D-melezitoz, potasyum glukonat, levulinat, D-glukoz, L-sorboz, glukozamin, eskülin ve kontrol kuyucukları bulunmaktadır.

C besiyerinden 135  $\mu$ l alınarak kontrol kuyucuğuna konuldu. SDA'daki 24-48 saatlik maya kolonilerinden steril bir öze ile alınarak, bulanıklığı 2 McFarland olacak şekilde süspansiyon medyum (%0,85 NaCl) içerisinde karıştırılıp, bu süspansiyonun 250  $\mu$ l'si kit içerisinde olan C besiyeri içine aktarıldı. Bu karışımdan, stribin her kuyucuğuna 135  $\mu$ l dağıtıldı. Stribin kapağı kapatılarak 30°C'de, nemli ortamda, 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. API ID32 C ile mayaların karbonhidrat asimilasyon yetenekleri, 24-48. saatlerde değerlendirildi.

Gözle; bulanık olan kuyucuklarda üreme pozitif kabul edilirken, negatif kontrolde üremenin olmamasına dikkat edildi.

### 3.2.2. Salgısal Asit Proteinaz Deneyi

Salgısal asit proteinaz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi için, *Trichosporon kökenleri* %1'lik sığır serum albumini içeren Sığır Serum Albumin Agar (SSAA)'a ekildi (31,65).

#### 3.2.2.1. Besiyerinin hazırlanışı

100 ml SSAA için;

- Dekstroz 2 gr
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1gr
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05gr
- Agar 2gr
- Distile su 100ml

Besiyeri karışımı otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilerek, sitrik asit tamponu ile pH 5.0'e ayarlandı ve besiyeri içerisindeki agarın donmaması için 50 °C'lik su banyosuna konuldu (65).

Temel besiyerine eklenen protein çözelti;

- Sığır serum albumin (Fraksiyon V) 1 gr
- Distile su 100 ml

Sığır serum albumini distile su içerisinde çözüldükten sonra 0.2 µm'lik membran filtre kullanılarak steril edildi. Sığır serum albumini ile hazırlanan

protein çözültüsü temel besiyerine % 20 oranında eklenerek, 9 cm çapında steril petri kaplarına kalınlığı 4 mm olacak şekilde 25'er ml dökülerek katılaşıncaya kadar bekletildi ve kullanılıncaya kadar +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

#### 3.2.2.2. Deneyin yapılışı

Salgısal asit proteinaz aktivitesi belirlenecek kökenler SDA'ya pasajlanarak, 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Üreyen kolonilerden steril serum fizyolojik kullanılarak 0.5 Mc Farland 'a göre süspansiyonlar hazırlandı. SSAA üzerlerine 10 µl maya süspansiyonundan damlatıldı ve 37°C'de altı gün süreyle inkübasyon işlemi uygulandı.

Üreme sürecinde besiyerinde opaklaşma meydana gelir. Proteinaz aktivitesi sonucunda koloni çevresinde bulunan proteinlerin yıkımına bağlı olarak, bu bölgelerde şeffaf bir lizis zonu oluşur. Testin değerlendirilmesinde, bu lizis zonun mm cinsinden genişliği ölçülerek proteinaz aktivitesinin düzeyi belirlendi. Eğer koloni çevresinde lizis zon oluşumu yok ise negatif (-), koloni çevresindeki lizis zonu 1-2 mm ise orta derece pozitif (+), 3-5 mm ise kuvvetli pozitif (++) olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak, salgısal asit proteinaz üreten standart *C. tropicalis* (NRRLY 12968) kökeni kullanıldı ve deney her bir köken için 3 kez tekrar edildi (65,66).

### 3.2.3. Fosfolipaz Deneyi

Fosfolipaz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi için *Trichosporon kökenleri* içerisinde yumurta sarısı bulunan, pH: 4,2 olarak ayarlanmış katı besiyerine ekim yapıldı (34,39,67).

#### 3.2.3.1. Besiyerinin hazırlanışı:

100ml besiyeri için;

- Sabouroud Dekstroz Agar 6.5 gr
- NaCl 5.84gr
- CaCl<sub>2</sub> 0.55 gr
- Distile su 100ml

Besiyeri karışımı otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilerek, besiyeri içerisindeki agarın donmaması amacıyla 50°C’lik su banyosuna konuldu (39,67).

#### 3.2.3.2. Yumurta sarısının hazırlanışı

Temel besiyerinde kullanılacak yumurtalar öncelikle sulandırılmış çamaşır suyunda bir dakika bekletildikten sonra steril gazlı bezle kurulandı. Yumurtalar daha sonra kırılarak sarısı, steril edilmiş bir mezüre aktarıldı.

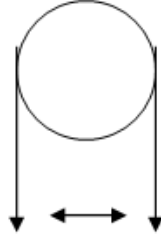
100 ml temel besiyeri için 8ml yumurta sarısı ölçülerek 50°C’lik su banyosunda bekleyen besiyerinin içine eklendi. Hazırlanan besiyeri 70 mm çaplı petrilere 10’ar ml döküldü.

### 3.2.3.3. Deneyin yapılışı

Fosfolipaz aktivitesi saptanacak kökenlerin SDA'da 37°C de 18-24 saatlik inkübasyonu sonrası üreyen kolonilerinden steril serum fizyolojik kullanılarak Mc Farland 0.5'e göre süspansiyonlar hazırlandı. Her bir petriye maya süspansiyondan 10 µl alınarak besiyeri yüzeyine ekimler yapıldı ve 37°C'de 4 gün inkübe edildi (39,68). Pozitif kontrol olarak *C. albicans* (ATCC 10231) kökeni kullanıldı. Deney her köken için üç kez tekrarlandı.

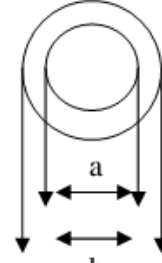
Fosfolipaz enzim aktivitesi değerlendirilirken, kolonilerin etrafında oluşan belirgin halka şeklindeki presipitasyon zonu (Pz) esas alınmıştır. Fosfolipaz aktivitesi, koloni çapının (a), koloni ile birlikte presipitasyon halkasının toplam çapına (b) oranı (a/b) olarak hesaplanmıştır (Şekil 1). Bu durumda, Pz değeri 0.9 - 1.00 olanlar (+) pozitif; 0.89 - 0.8 olanlar (++) pozitif; 0.79 - 0.7 olanlar (+++) pozitif; <0.69 olanlar (++++) pozitif grubu oluşturmaktadır. Bu değerlendirmeye göre Pz değeri küçüldükçe fosfolipaz aktivitesi artmakta, Pz=1.00 değeri ise negatif fosfolipaz aktivitesini göstermektedir (66,69).

Negatif



a  
Pz =1

Pozitif



Pz < 1

$$Pz = \frac{\text{Koloni \u00e7ap\u0131}}{\text{Koloni + Presipitasyon zonu \u00e7ap\u0131}} = \frac{a}{b}$$

**Şekil 1.** Fosfolipaz aktivitesi için Pz değerinin hesaplanması (68)

#### 3.2.4. Esteraz Deneyi

Esteraz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi için, *Trichosporon k\u00f6kenleri* tween 80 i\u00e7eren ve pH's\u0131 6,8 olan kat\u0131 besiyerine ekildi (34,67).

##### 3.2.4.1 Besiyerinin hazırlanışı

100 ml besiyeri i\u00e7in;

- Pepton 1 gr
- NaCl 0.5 gr
- CaCl<sub>2</sub> 0.01 gr
- Agar 1.5 gr
- Distile su 100 ml

Besiyeri karışımı otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi. Besiyerinin donmaması için 50 °C’lik su banyosuna konuldu. Bu işlemlerden sonra besiyeri içerisine 5 ml steril tween 80 eklendi ve sitrik asit-disodyum hidrojen fosfat tamponu ile pH 6.8’e ayarlandı (35,70).

#### 3.2.4.2. Deneyin yapılışı

Test edilecek kökenler SDA’ya pasajlanarak 24 saat 37°C’de inkübe edildi ve besiyerinde üreyen kolonilerden steril eküvyon yardımıyla tween 80 agara 10 mm çapında daire biçiminde ekim yapıldı. 30°C’de 10 gün inkübe edilerek plaklar her gün arkadan ışık vermek suretiyle incelendi. Esteraz enziminin etkisiyle ester bağları hidrolize edilir ve yağ asitleri serbest kalır. Bunun sonucunda serbest kalan yağ asitleri besiyerinin içeriğinde bulunan kalsiyum iyonları ile birleşerek çözünmeyen kalsiyum kristalleri oluşturur. Bu kristallerin koloni çevresinde görünür opak kristaller halinde çökmesi durumunda esteraz aktivitesi pozitif olarak değerlendirilir (33,35,70). Esteraz deneyi her köken için üç kez tekrarlandı.

Kullanılan tween 80 besiyerinde *Candida- Trichosporon* suşları tarafından salgılanan yağ asitleri ortamdaki kalsiyuma bağlanmakta ve kalsiyum kompleksi inokülasyon noktasının etrafında çözünmeyen kristaller olarak izlenmektedir (34).

#### 3.2.5. Hemolitik Aktivite

*Trichosporon türlerinde* hemolitik aktiviteyi belirlemek için %5-10 Koyun Kanlı Sabouroud Dekstroz Agar (ORBAK) kullanıldı (37).

#### 3.2.5.1. Deneyin yapılışı

Hemolitik aktivitesi saptanacak kökenler SDA besiyerine pasajlanarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Üreyen kolonilerden steril serum fizyolojik kullanılarak 0.5 Mc Farland'a göre süspansiyonlar hazırlandı. Bu süspansiyonlardan 10 µl'lik miktar alınarak besiyerine 5 mm çap oluşturacak şekilde ekim yapıldı. Plaklar 37°C'de 48 saat süre ile %5'lik CO<sub>2</sub>' li etüvde inkübe edildi. Koloniler etrafında oluşan ışığı geçiren saydam halkalar hemoliz zonu olarak belirlendi. Hemolitik aktivite; koloni çapının, koloni çapı ile şeffaf zonun toplamına oranı ile belirlendi ve Hz olarak ifade edildi. Hz değeri 1.0 ise negatif; 0.9-1 ise 1+; 0.89-0.8 ise 2+; 0.79-0.7 ise 3+ ve < 0.69 ise 4+ olarak değerlendirildi (37,38,39,71).

#### 3.2.6. Koagülaz Deneyi

*Trichosporon türlerinde* koagülaz aktivitesini belirlemek için insan plazması ve tavşan plazması kullanıldı.

#### 3.2.6.1. Deneyin yapılışı

Koagülaz üretimi saptanacak kökenler SDA pasajlanarak 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Steril tüplere 300 µl insan plazması ve tavşan plazması konuldu. Üreyen kolonilerden bir öze dolusu alınarak tüplerdeki plazma ile süspansiyon edilerek 37°C'de inkübe edildi. Pıhtılaşma varlığı 2, 4, 6 ve 24. saatlerde araştırıldı. Pozitif kontrol olarak, koagülaz üreten standart *S. aureus*

(ATCC 25923) kökeni kullanıldı ve deney her bir köken için 3 kez tekrar edildi  
(44,72,73).

## 4. BULGULAR

### 4.1. *Trichosporon* Türlerinin Tanımlanması

Çalışmaya alınan 40 *Trichosporon* türünün; 24 tanesi (%60) *Trichosporon asahii*, altı tanesi (%15) *Trichosporon inkin*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon aquatile*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon asteroides*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon coremiiforme*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon cutaneum*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon dermatitis*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon faecale*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon japonicum*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon montevidense*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon mucoides*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon ovoides* olup tablo (4)'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Kullanılan *Trichosporon* türleri, kökenlerin kaynağı

TÜR	SAYI	KÖKEN KAYNAĞI
<i>Trichosporon asahii</i>	24 (%60)	10 köken Dr.Takashi Sugita (Japonya)'dan elde edildi. 14 köken Gazi Tıp Fakültesi Mikoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonu
<i>Trichosporon inkin</i>	6 (%15)	Gazi Tıp Fakültesi Mikoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonu
<i>Trichosporon aquatile</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon asteroides</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon coremiiforme</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon cutaneum</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon dermatitis</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon faecale</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon japonicum</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon montevidense</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon mucoides</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.
<i>Trichosporon ovoides</i>	1 (%2,5)	Dr. Takashi Sugita'dan elde edildi.

#### 4.1.1. Klasik Yöntemlerle *Trichosporon Türlerinin* Tanımlanması

Çalışmaya Gazi Tıp Fakültesi Mikoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan alınan 20 *Trichosporon kökeni*; mısır unu tween 80 agar besiyerindeki morfolojileri ve ID32C (bioMérieux, Fransa) sistemi sonuçlarına göre değerlendirildi. Diğer 20 köken Dr. Takashi Sugita (Japonya)'dan temin edilmiş olup dizi analizi ile tür ismi belirlenmiştir; 10 köken *Trichosporon asahii*, bir tane *Trichosporon aquatile*, bir tane *Trichosporon asteroides*, bir tane *Trichosporon coremiiforme*, bir tane *Trichosporon cutaneum*, bir tane *Trichosporon dermatis*, bir tane *Trichosporon faecale*, bir tane *Trichosporon japonicum*, bir tane *Trichosporon montevidense*, bir tane *Trichosporon mucoides*, bir tane *Trichosporon ovoides*.

*Trichosporon asahii* ve *T. inkin* kökenleri SDA'da buruşuk, zeminden kabarık, beyaz veya krem rengi koloniler oluşturmuştur (Şekil 2,3,4,5,6,7). *Trichosporon* kökenlerinin mısır unu tween 80 agar'da psödohif ve hif oluşturduğu, değişik şekilli blastokonidyumlar ile kübik, uzun görümlü artrokonidyalı oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 2,3,4,5,6,7). ID 32C sistemi ile 14 köken %95.9-99.9 oranında *T. asahii*, altı köken ise %95.9-98.7 *T. inkin* olarak tanımlanmıştır.



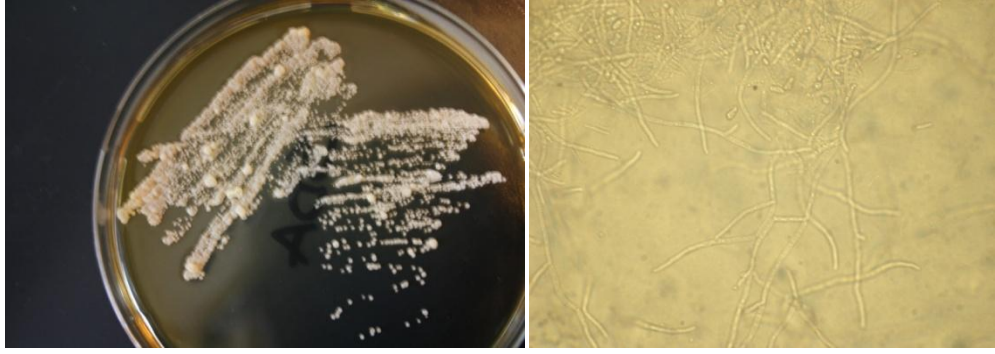
**Şekil 2.** *Trichosporon asahii*; SDA'da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü



**Şekil 3.** *Trichosporon dermatis*; SDA 'da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü



**Şekil 4.** *Trichosporon japonicum*; SDA'da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü



Şekil 5. *Trichosporon aquatile*; SDA'da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü



Şekil 6. *Trichosporon asteroides*; SDA'da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü



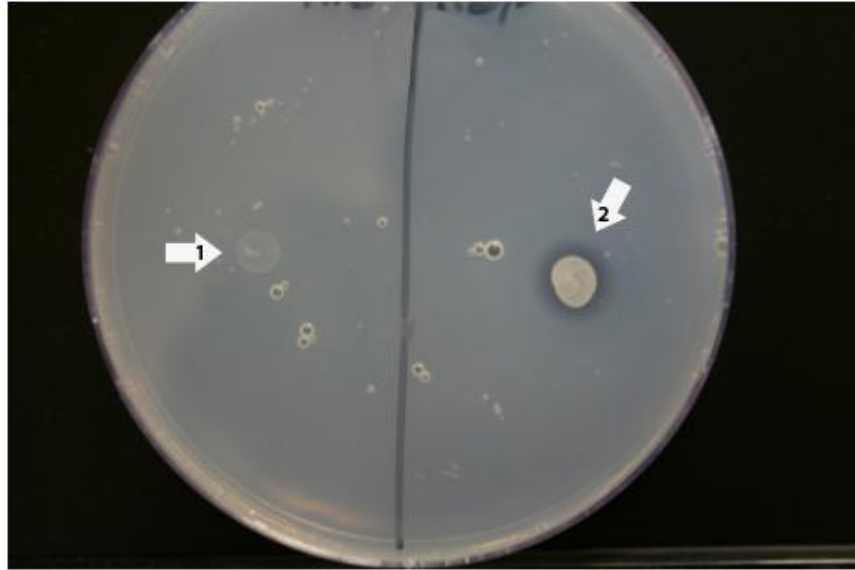
Şekil 7. *Trichosporon mucoides*; SDA'da koloni morfolojisi ve tween 80 mısır unu agarda görünümü

## 4.2. *Trichosporon* Kökenlerinde Virulans Faktörlerinin Değerlendirilmesi

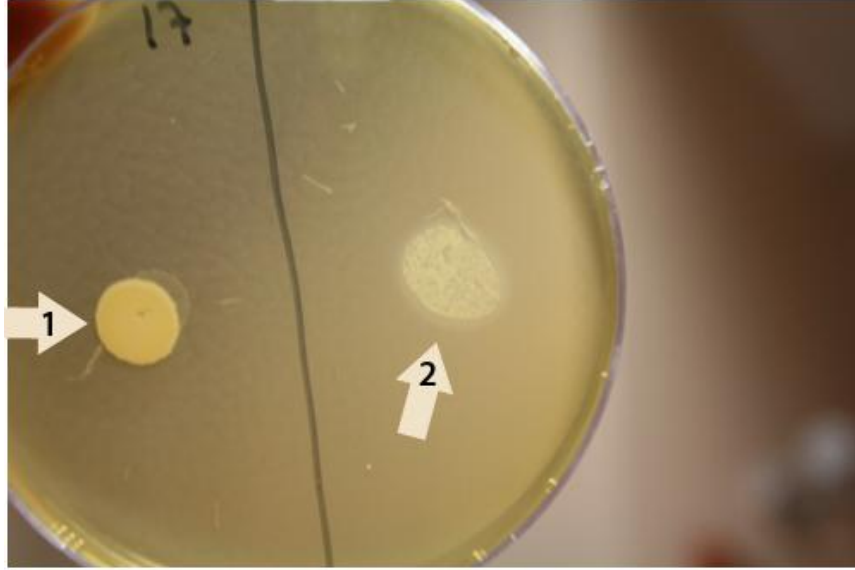
Çalışmaya alınan 40 *Trichosporon* kökeninde; salgısal asit proteinaz, fosfolipaz, esteraz, koagülaz enzimlerinin üretimi ve hemolitik aktivite araştırılmıştır.

### 4.2.1. Salgısal Asit Proteinaz ve Fosfolipaz Aktivite Değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 40 *Trichosporon* kökeninde salgısal asit proteinaz ve fosfolipaz enzim üretimine rastlanmadı (tablo 8, şekil 8, 9).



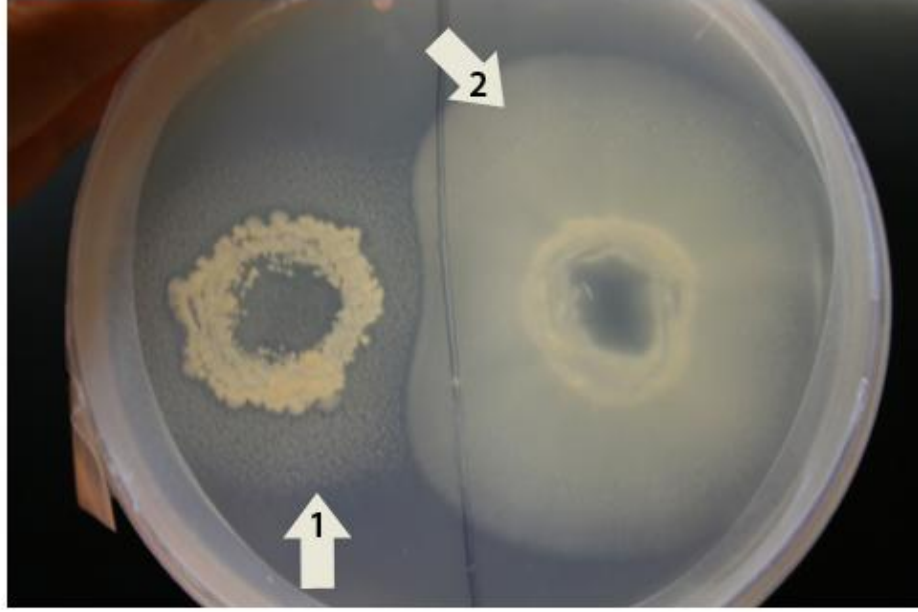
**Şekil 8.** 1 nolu ok salgısal asit proteinaz negatif *Trichosporon* kökeni, 2 nolu ok salgısal asit proteinaz pozitif *Candida tropicalis* (NRRLY 12968)



**Şekil 9.** 1 nolu ok fosfolipaz negatif *Trichosporon kökeni*, 2 nolu ok fosfolipaz pozitif *Candida albicans* (ATCC 10231)

#### 4.2.2. Esteraz Aktivite Değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 40 *Trichosporon kökeninden* üçü 1. gün (%12,5), 18'i 2. gün (%50), 12'si 3. gün (%25) ve yedisi 4.gün (% 12,5) esteraz aktivitesi gösterdi (tablo 5,8). *Candida glabrata* (ATCC 90030) esteraz aktivitesi negatif olarak çalışmada kullanıldı (şekil 10).



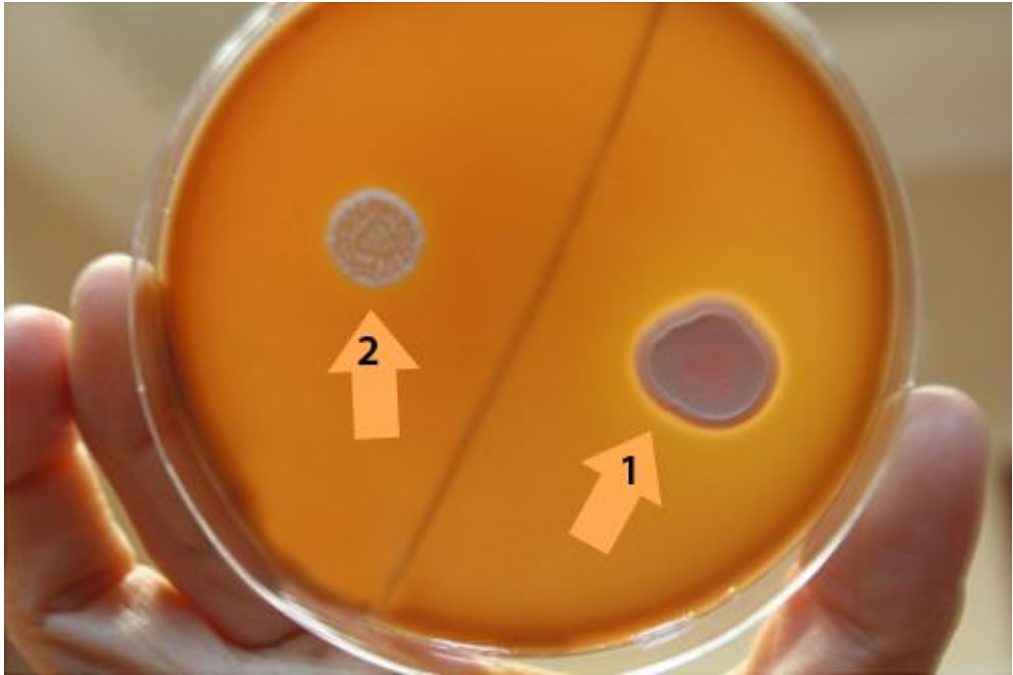
**Şekil 10.** 1 nolu ok *Trichosporon* kökeninde pozitif esteraz enzim aktivitesi, 2 nolu ok *Candida glabrata* (ATCC 90030) negatif esteraz enzim aktivitesi

**Tablo 5.** *Trichosporon* kökenlerinde esteraz enzim aktivitesinin günlere göre dağılımı

TÜR	1.GÜN	2.GÜN	3.GÜN	4.GÜN
<i>T. asahii</i>	3 Pozitif (%12,5)	12 Pozitif (%50)	6 Pozitif (%25)	3 Pozitif (%12,5)
<i>T. inkin</i>		4 Pozitif (%66,6)	2 Pozitif (%33,3)	
<i>T. aquatile</i>			Pozitif	
<i>T. asteroides</i>		Pozitif		
<i>T. coremiiforme</i>			Pozitif	
<i>T. cutaneum</i>				Pozitif
<i>T. dermatis</i>				Pozitif
<i>T. faecale</i>				Pozitif
<i>T. japonicum</i>		Pozitif		
<i>T. montevideense</i>				Pozitif
<i>T. mucoides</i>			Pozitif	
<i>T. ovoides</i>			Pozitif	
TOPLAM	3 (%7,5)	18 (%45)	12 (%30)	7 (%17,5)

#### 4.2.3. Hemolitik Aktivite Değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 40 *Trichosporon* kökeninden üçünde (%7,5) hemolitik aktivite 0.71-0.75 (+++), onikisinde (%30) 0.83- 0.88 (++) , yirmibeşinde (%62,5) ise (-) sonuç bulundu (tablo 6,8, şekil 11).



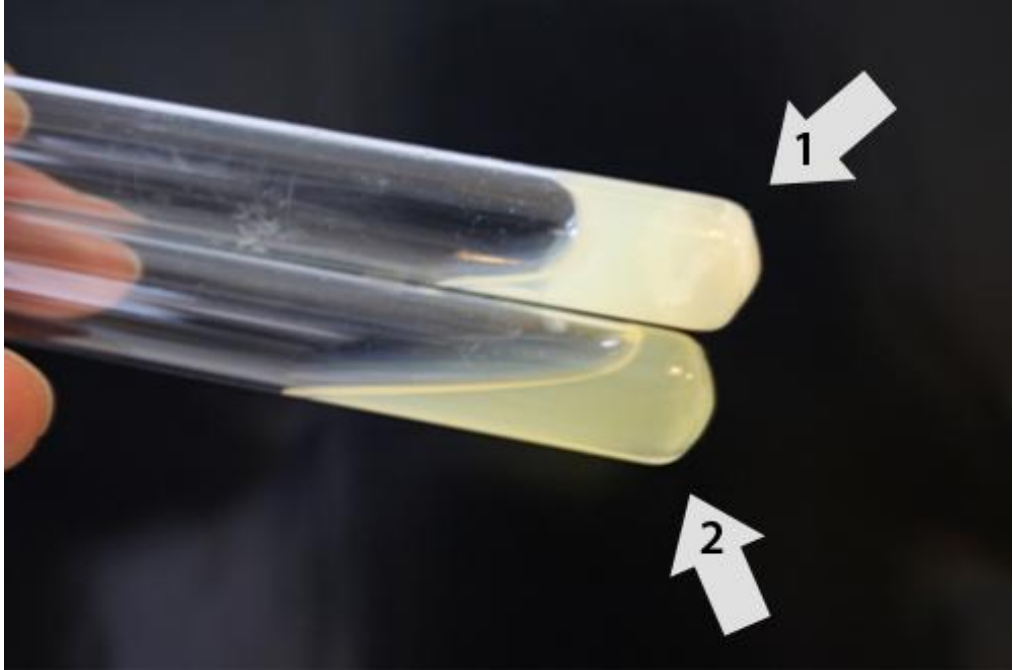
**Şekil 11.** 1 nolu ok *Trichosporon* kökeninde pozitif hemolitik enzim aktivitesi, 2 nolu ok *Trichosporon* kökeninde negatif hemolitik enzim aktivitesi

**Tablo 6.** *Trichosporon* kökenlerinde hemolitik aktivitenin gösterilmesi

NO	TÜR	Hz (Hemolitik aktivite oranı)	NO	TÜR	Hz (Hemolitik aktivite oranı)
1.	<i>T. asahii</i>	1(-)	21.	<i>T. asahii</i>	1(-)
2.	<i>T. asahii</i>	1 (-)	22.	<i>T. asahii</i>	1(-)
3.	<i>T. asahii</i>	<b>0.71(+++)</b>	23.	<i>T. asahii</i>	<b>0.88(++)</b>
4.	<i>T. asahii</i>	1(-)	24.	<i>T. asahii</i>	<b>0.88(++)</b>
5.	<i>T. asahii</i>	1(-)	25.	<i>T. inkin</i>	1(-)
6.	<i>T. asahii</i>	1(-)	26.	<i>T. inkin</i>	<b>0.88(++)</b>
7.	<i>T. asahii</i>	<b>0.88(++)</b>	27.	<i>T. inkin</i>	1(-)
8.	<i>T. asahii</i>	1(-)	28.	<i>T. inkin</i>	1(-)
9.	<i>T. asahii</i>	<b>0.88(++)</b>	29.	<i>T. inkin</i>	1(-)
10.	<i>T. asahii</i>	<b>0.88(++)</b>	30.	<i>T. inkin</i>	1(-)
11.	<i>T. asahii</i>	<b>0.85(++)</b>	31.	<i>T. aquatile</i>	1(-)
12.	<i>T. asahii</i>	<b>0.75(+++)</b>	32.	<i>T. asteroides</i>	<b>0.83(++)</b>
13.	<i>T. asahii</i>	1(-)	33.	<i>T. coremiiforme</i>	1(-)
14.	<i>T. asahii</i>	1(-)	34.	<i>T. cutaneum</i>	1(-)
15.	<i>T. asahii</i>	1(-)	35.	<i>T. dermatis</i>	1(-)
16.	<i>T. asahii</i>	<b>0.88(++)</b>	36.	<i>T. faecale</i>	1(-)
17.	<i>T. asahii</i>	<b>0.83(++)</b>	37.	<i>T. japonicum</i>	<b>0.71(+++)</b>
18.	<i>T. asahii</i>	1(-)	38.	<i>T. montevideense</i>	<b>0.83(++)</b>
19.	<i>T. asahii</i>	<b>0.88(++)</b>	39.	<i>T. mucoides</i>	1(-)
20.	<i>T. asahii</i>	1(-)	40.	<i>T. ovoides</i>	1(-)

#### 4.2.4. Koagülaz Enzim Aktivite Değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 40 *Trichosporon kökeninden* onbirinde (%27,5) tavşan plazmasında koagülaz aktivitesi pozitif olarak bulundu, 29'unda (%72,5) ise koagülaz aktivitesi negatif bulundu, insan plazması kullanıldığında ise iki (%5) kökende koagülaz aktivitesi pozitif olarak bulundu (tablo 7,8, şekil 12).



**Şekil 12.** 1 nolu ok *Trichosporon kökeninde* pozitif koagülaz enzim aktivitesi, 2 nolu ok *Trichosporon kökeninde* negatif koagülaz enzim aktivitesi

**Tablo 7.** *Trichosporon* kökenlerinde insan plazması ve tavşan plazması kullanılarak koagülaz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi

NO	TÜR	İNSAN PLAZMASI	TAVŞAN PLAZMASI	NO	TÜR	İNSAN PLAZMASI	TAVŞAN PLAZMASI
1.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	21.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif
2.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	22.	<i>T. asahii</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>
3.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	23.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif
4.	<i>T. asahii</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>	24.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif
5.	<i>T. asahii</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>	25.	<i>T. inkin</i>	Negatif	Negatif
6.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	26.	<i>T. inkin</i>	Negatif	Negatif
7.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	27.	<i>T. inkin</i>	<b>Pozitif</b>	<b>Pozitif</b>
8.	<i>T. asahii</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>	28.	<i>T. inkin</i>	Negatif	Negatif
9.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	29.	<i>T. inkin</i>	Negatif	Negatif
10.	<i>T. asahii</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>	30.	<i>T. inkin</i>	Negatif	Negatif
11.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	31.	<i>T. aquatile</i>	Negatif	Negatif
12.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	32.	<i>T. asteroides</i>	Negatif	Negatif
13.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	33.	<i>T. coremiiforme</i>	Negatif	Negatif
14.	<i>T. asahii</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>	34.	<i>T. cutaneum</i>	Negatif	Negatif
15.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	35.	<i>T. dermatis</i>	Negatif	Negatif
16.	<i>T. asahii</i>	<b>Pozitif</b>	<b>Pozitif</b>	36.	<i>T. faecale</i>	Negatif	Negatif
17.	<i>T. asahii</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>	37.	<i>T. japonicum</i>	Negatif	Negatif
18.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	38.	<i>T. montevidense</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>
19.	<i>T. asahii</i>	Negatif	Negatif	39.	<i>T. mucoides</i>	Negatif	Negatif
20.	<i>T. asahii</i>	Negatif	<b>Pozitif</b>	40.	<i>T. ovoides</i>	Negatif	Negatif

**Tablo 8.** Tüm deneylere ait sonuçlar

DENEY	ASİT PROTEİNAZ	FOSFO- LİPAZ	ESTERAZ	HEMOLİTİK AKTİVİTE	KOAGULAZ	
					İNSAN PLAZMASI	TAVŞAN PLAZMASI
POZİTİF	0	0	40 (%100)	15 (%37,5)	2 (%5)	11 (%27,5)
NEGATİF	40 (%100)	40 (%100)	0	25 (%62,5)	38 (%95)	29 (%72,5)
TOPLAM	40	40	40	40	40	40

## 5. TARTIŞMA

Kronik hastalığı olan kişilerin yaşam süresinin uzaması, tıpta yeni medikal veya cerrahi invazif girişimlerin uygulanmaya başlanması, geniş spektrumlu antimikrobiallerin veya sitotoksik kemoteropetiklerin yoğun bir şekilde kullanılması ile konak savunma mekanizmalarının zayıflaması son yıllarda mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığının artmasına neden olmuştur. Ayrıca, immün baskılanmış olarak tanımlanan hasta grubunda; yani hemotolojik maligniteli hastalar, kök hücre ya da kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalar, ve solid organ transplant alıcılarında önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır (74,75).

Nötropenik hastalarda mantar enfeksiyonları özellikle son 20 yılda önemli bir oranda artış göstermiştir. Bu hastalarda kemoterapiklerin yaygın kullanımı sonrasında gelişen nötröpeninin neden olduğu immünyetmezlik ve sitotoksik ajanların yol açtığı doku harabiyetleri, intravenöz kalıcı katater uygulamaları sonucu mikroorganizmaların vücuda girmesi ve yerleşmesi için uygun ortamın ortaya çıkması, hastanede uzun süre yatma nedeniyle patojenlerle karşılaşma olasılığının artması, uzun süreli antibiyotik kullanımının neden olduğu flora baskılanması ile birlikte mantar kolonizasyonu ve kolonizasyon sonrasında translokasyon gibi birçok faktör mantar enfeksiyonları için zemin hazırlar (74,75,76).

*Trichosporon*, *Fusarium*, *Alterneria*, *Geotrichum* gibi cinsler önceleri kontaminant veya kolonizasyon olarak değerlendirilirken günümüzde bu cinsler

duyarlı hasta gruplarında, yaşamı tehdit eden ciddi enfeksiyonlara yol açmaları nedeni ile önem kazanmıştır (3,4,77).

Duyarlı hasta gruplarında; hematolojik malignitesi olan nütropenik hastalarda nadir olarak enfeksiyona yol açan, antifungal ilaçlara dirençli mantarlar artan sıklıkta izole edilmeye başlamıştır. *Trichosporon türleri* de bu grupta değerlendirilebilir, duyarlı hasta gruplarında sıklıkla karşımıza çıkmakta ve tedavi güçlükleri nedeni ile mortalite oranı yüksek olarak görülmektedir (8,78).

Doğada yaygın olarak bulunan *Trichosporon türleri* insanda deri, tırnak, gastrointestinal sistem ve genitoüriner sistemin normal flora üyesi olarak da yer almaktadır. *Trichosporon türleri* sistemik ve lokal enfeksiyonlara neden olabilirler özellikle son yıllarda etken olarak izole edilen olgu sayılarında artış gösterilmiştir (79).

Global antifungal surveyans programında (ARTEMİS), 2007; kandida dışı mayalar içinde *Trichosporon türü* üçüncü sırada yer almaktadır; 8821 izolat içinde %10.7 *Trichosporon türü* izole edilmiştir (80,81).

Global antifungal surveyans programında (ARTEMİS), 2009; kandida dışı mayalar içinde *Trichosporon türü* üçüncü sırada yer almaktadır; 8717 isolatın %32.9 *Cryptococcus*, %11.7 *Saccharomyces*, %10.6 *Trichosporon*, ve %4.1 *Rhodotorula* olarak tanımlanmıştır (82).

Oliveira ve arkadaşlarının çalışmasında 67 onikomikozlu hastadan izole edilen mayaların tür dağılımı; %35 *Candida parapsilosis*, %23 *C. tropicalis*, %13 *C. albicans*, %7 *Trichosporon türü* olarak gösterilmiştir (83).

Girmenia C. ve arkadaşları İtalya'da çok merkezli olarak yaptıkları çalışmada, hemotoloji kliniklerinde görülen 52 *Trichosporon* - *Geotrichum* olgusunun 17'sini *Trichosporon türü* olarak tanımlamış ve bu olguların 11'i (%64.7) ölümle sonuçlanmıştır (20).

Lohmann C. ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 2009-2010 yılları arasında klinik örneklerden izole edilen 312 maya türü MALDI-TOF spektrofotometri ile tanımlanmış ve 249'u *Candida spp.* (19 *C. albicans* ve 230 non-albicans), 63'ü ise *Candida* dışı maya olarak belirlenmiştir (20 *Saccharomyces*, 8 *Rhodotorula*, 8 *Cryptococcus*, 7 *Trichosporon*, 7 *Pichia*, 12 *Geotrichum* ve 1 *Sporopachydermia cereana*) (84).

Parlakay A. ve arkadaşları 2013 de yayımladıkları makalede Ewing sarkomu olan bir çocukta *Trichosporon asahii*'ye bağlı gelişen sepsis olgusunun amfoterisin B tedavisine rağmen öldürdüğünü ve postmortem yapılan nazal kemik doku kültürlerinde ise *Trichosporon asahii* ürediğini bildirmişlerdir (85).

Sugita ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışma klinik örneklerden izole edilen 39 *T. asahii* kökeni dahil etmişler. Çalışmada klinik örnek dağılımı: idrar (%38.1) oranla ilk sırada yer almakta, bunu sırası ile kan (%28,6), dışkı (%9.52), balgam (%7.14), plevra (%4.77), asid sıvısı (%4.77), deri (%4.77), akciğer (%2.33) örnekleri izlemektedir (86).

Ichikawa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada klinik örneklerden izole edilen 61 *Trichosporon asahii* kökeninin dağılımında kan en yüksek oranla (%49.2) ilk sırada yer almakta, daha sonra bunu, idrar (%42.2) akciğer (%7) ve dışkı (%1.6) örnekleri izlemektedir (23).

Dağ ve arkadaşlarının 48 *Trichosporon asahii* ile yaptıkları çalışmada çalışma kapsamına alınan toplam 48 suşun 43'ü idrar, biri periton sıvısı, biri dil sürüntüsü, biri kan, biri nefrostomi örneği ve ayrıca biri de tırnaktan saprofit olarak izole edilmiştir (29).

Günümüzde mantarlar için; fenotipik değişiklik, konak dokuya yapışma, toksinler ve enzimler virülans faktörleri olarak kabul edilmektedir. Salgılanan hidrolitik enzimlerin (salgısal asit proteinaz, fosfolipaz), konak dokuda oluşan doku yıkımına ve mantarın konak dokuya invazyonuna katkıda bulunduğu bilinmektedir (39).

Bu enzimlerden salgısal asit proteinaz ve fosfolipazın *C. albicans*'ın virülansından önemli derecede sorumlu olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (39,65,66,69).

Maya hücresinin epitel hücrelerine girerek derin dokulara invazyonunda rol oynayan fosfolipaz ve esteraz gibi lipolitik enzimlerde, önemli virülans faktörleri arasındadır (33).

Ekstrasellüler fosfolipazlar, çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilen önemli bir enzim grubu olup fosfolipitleri parçalayarak konak hücre membranında hasara yol açabilmektedir. Ekstrasellüler esteraz ise fosfolipazdan farklı bir enzim olup, sadece karbon kaynağı olarak tween içeren bir ortamda bu enzimin indüklendiği bildirilmiştir (33,39).

Patojenik mikroorganizmaların, hayatta kalabilmeleri ve enfeksiyon oluşturabilmeleri için elementer demire ihtiyaçları vardır. İnsan vücudunda serbest demir olmadığı için, patojen mikroorganizmalar demir ihtiyacını

genellikle demir içeren bileşikleri (hemoglobin gibi) parçalayarak indirekt yolla sağlamaktadır (87,88).

Ekstrasellüler proenzim olan koagülaz enzimi ise CRF ile birleşerek aktif duruma geçer ve plazmayı pıhtılaştırır, plazma fibrinojenini bağlayarak, organizmaların aglütinasyonuna ve plazmanın pıhtılaşmasına sebep olur. Koagülaz pozitif stafilokokların üzerinde oluşan kalın fibrin tabakasının, mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak, patojenliğe katkı sağladığı ileri sürülmektedir (40).

Çalışmamızda hidrolitik ve lipolitik özelliği olan salgısal asit proteinaz, fosfolipaz ve esteraz enzimleri, hemolitik aktivite ve pıhtılaşma faktörü olan koagülaz aktivitesi araştırılmıştır.

Salgısal asit proteinaz enzim aktivitesi çalışmamızda *Trichosporon asahii* ve diğer *Trichosporon türlerinde* tespit edilmemiştir (tablo 8).

Literatür tarandığında *Trichosporon türlerinde* virulans faktörlerinin araştırıldığı sınırlı sayıda yayın olması nedeni ile yaptığımız çalışmayı maya etkenlerinden öne çıkan *Candida türleri* ile kıyaslama yapıldı.

Asit proteinazların, mukozalara kolonizasyonunun erken dönemlerinde rol aldığı, invazyon sırasında *Candida*'ların etrafında lokalize olduğu ve epitele adherensi kolaylaştırdığı veya sitopatik etki ile invazyona yardımcı olduğu düşünülmektedir (89,90). Ayrıca proteinaz salgılayan suşların, fagositoza ve hücre içi öldürmeye karşı daha dirençli oldukları gösterilmiştir. *Candida* asit proteinazının IgA'yı sindirme yeteneğinden dolayı gastrointestinal sistem ve mukozal yüzeylerde kolonizasyonu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (65,89,90).

Yenişehirli G. ve arkadaşlarının 147 *C. albicans* izolatu ile yaptıkları çalışmada salgısal asit proteinaz enzim aktivitesi pozitif olan izolat oranı %81 olarak bulunmuştur (39).

İnci M. ve arkadaşları 45 izolat (20 *Candida albicans* ve 25 non -albicans *Candida*) ile yaptıkları çalışmada; 25 (%55,6)'inde salgısal asit proteinaz enzim aktivitesini pozitif bulmuşlardır. *Candida albicans*'da 19/20 (% 95) oranında, non-albicans'da 6/25 (%24) oranında pozitiflik saptamışlardır(67).

Ichikawa ve arkadaşlarının 61 *Trichosporon asahii* kökeni ile yaptıkları çalışmada kökenlerin hiçbirinde salgısal asit proteinaz enzim aktivitesi bulunmamıştır (23).

Sun W. ve arkadaşlarının 23 *Trichosporon asahii* kökeni ile yaptıkları çalışmada suşların hiçbirinde salgısal asit proteinaz enzim aktivitesi bulunamamış olup bu sonuçlar çalışmamızla uyumlu bulunmuştur (30).

Gülenç ve arkadaşları ise klinik örneklerden izole edilen maya türleri ile yaptıkları çalışmada, iki tane *Trichosporon cutaneum* tanımlamış olup, bu iki kökünde proteinaz aktivitesini pozitif olarak bildirmişlerdir (31).

Melville P. ve arkadaşları 2011'de yaptıkları çalışmada 220 farklı maya türünde salgısal asit proteinaz aktivitesi araştırmışlar, onbir *Trichosporon türünün* sekiz tanesinde proteinaz aktivitesi pozitif olarak bulmuşlardır (91).

Çalışmamızda değerlendirilen ikinci virulans faktörü olan fosfolipaz aktivitesi 40 *Trichosporon kökeninde* %100 oranında negatif olarak bulunmuştur (tablo 8).

Fosfolipazlar epitelyal hücre membranını parçalayarak hifal yapının sitoplazmaya girmesini sağlarlar (90,92). İlk zamanlar yapılan yumurta sarısı bazlı testler yalnızca *C. albicans*'ın ekstraselüler fosfolipaz ürettiğini göstermiş olmakla birlikte, son zamanlarda yapılan çalışmalarda albicans dışı türlerinde fosfolipaz ürettiği fakat *C. albicans*'la kıyaslandığında salgılanan fosfolipaz miktarının belirgin derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (34,90).

Luca ve arkadaşları 2012'de 66 izolat ile yaptıkları çalışmada (32 *C. albicans*, 17 *C. glabrata*, 12 *C. parapsilosis*, 3 *C. tropicalis*, 2 *C. guillemontii*) tüm *C. albicans* suşlarında ve bir *C. parapsilosis* suşunda fosfolipaz aktivitesini pozitif olarak bulmuşlardır (93).

Gürcan Ş. ve arkadaşlarının 85 *Candida* izolatı ile yaptıkları çalışmada *C. albicans*'da 26/31 (%84) oranında fosfolipaz aktivitesi, 28/31 (%90) oranında proteinaz aktivitesi, *C. parapsilosis*'de 0/33 (%0) oranında fosfolipaz aktivitesi, 28/33 (%85) oranında proteinaz aktivitesi, *C. tropicalis*'de 0/11 (%0) oranında fosfolipaz aktivitesi, 2/11 (%18) oranında proteinaz aktivitesi, *C. krusei*'de ise 0/10 (%0) oranında fosfolipaz aktivitesi, 1/10 (%10) oranında proteinaz aktivitesi bulmuşlardır. *Candida albicans* dışında fosfolipaz aktivitesi gösteren köken bulamamışlardır (94).

Sun W. ve arkadaşlarının 23 *Trichosporon asahii* kökeni ile, Dağ A. ve arkadaşlarının 48 *Trichosporon asahii* kökeni ile yaptıkları çalışmalarda kökenlerin hiçbirinde fosfolipaz enzim aktivitesi bulunamamış olup çalışmamızla uyumlu bulunmuştur (29,30).

Melville P. ve arkadaşları 2011’de yaptıkları çalışmada 220 farklı maya türünde fosfolipaz aktivitesi araştırmışlardır. Çalışmaya alınan onbir *Trichosporon* türünün yedi tanesinde fosfolipaz aktivitesi pozitif olarak bulunmuştur (91).

Junqueira J. ve arkadaşları 2012’de HIV pozitif hastalardan izole edilen 64 maya türlerinde salgısal asit proteinaz ve fosfolipaz aktivitesi araştırmışlardır. *Candida albicans* 33/33 salgısal asit proteinaz ve fosfolipaz aktivitesi pozitif, *C. glabrata* 10/10 salgısal asit proteinaz ve fosfolipaz aktivitesi negatif, *C. tropicalis* 4/4 salgısal asit proteinaz negatif, 4/4 fosfolipaz pozitif, iki *Trichosporon mucoides* fosfolipaz aktivitesi kuvvetli pozitif, salgısal asit proteinaz negatif olarak bulunmuştur (95).

Çalışmamızda değerlendirilen üçüncü virulans faktörü olan esteraz aktivitesi 40 *Trichosporon kökeninde* %100 pozitif olarak bulunmuştur (tablo 5,8).

İnsanda derisinin stratum korneum tabakasında yüksek oranda esteraz enziminin substratları olan monoaçilgliserol- triaçilgliserol içermesi bu enzimin mantar enfeksiyonların patogeneğinde rol alabileceğini düşündürmektedir (96).

Slifkin ve arkadaşları tween 80 opasite testini kullanarak *Candida* türlerinde esteraz aktivitesini araştırmışlar; *C. albicans* 15/15’de, *C. tropicalis* 10/10’da iki – üç gün içerisinde esteraz aktivitesi pozitif olarak, *C. dubliniensis* 0/16’de, *C. famata* 0/15’da, *C. glabrata* 0/15’da, *C. kefyr* 0/5’de, *C. krusei* 0/10’de, *C. lusitaniae* 0/2’da esteraz aktivitesi negatif olarak saptamışlardır. *Candida dubliniensis* kökenlerinin *C. albicans*’dan ayrılmasında da kullanılabileceğini belirtmişlerdir (97).

Dolapçı ve arkadaşları 252 farklı *Candida* izolatında tween 80 opasite testi kullanarak esteraz aktivitesi araştırmışlar; 182 *C. albicans*, 21 *C. tropicalis*, bir *C. rugosa* ve iki *C. famata* tween 80 mediumda 10 gün içerisinde koloni etrasında halo üretmişler (esteraz aktivitesi pozitif), 8 *C. albicans*, 12 *C. glabrata*, 6 *C. dubliniensis*, 8 *C. kefyr*, 5 *C. guilliermondii* ve 3 *C. spherica* da ise esteraz negatif olarak bulmuşlardır (98).

Pekintürk ve arkadaşları *C. albicans* kökenlerinde enfeksiyon - kolonizasyon ayrımını değerlendirdikleri bir çalışmada; enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve kontrol grubundaki *C. albicans* suşlarının esteraz aktiviteleri arasında anlamlı fark bulunmamış; 4-7, 8-10. günlük inkübasyonlar sonunda, her iki grupta da esteraz aktivitesi %98 pozitif olarak bulunmuştur (68).

Dağ ve arkadaşlarının 48 *Trichosporon asahii* kökeni ile yaptıkları çalışmada tüm kökenlerde esteraz enzim aktivitesi gösterilmiş olup bu sonuç çalışmamız ile uyumlu bulunmuştur (29).

Çalışmamızda değerlendirilen diğer virulans faktörü hemolitik aktivite 40 *Trichosporon kökeninin* onbeşinde (%37,5) pozitif olarak bulunmuştur (tablo 6,8). Onbir *Trichosporon asahii* 'de hemolitik aktivite pozitif (dokuz tanesi ++ (%37), 2 tanesi +++(%8,3)), bir *T. inkin* (++) , bir *T. asteroides* (++) , bir *T. japonicum* (+++), bir *T. mentevideense* (++) pozitif olarak bulunmuştur (tablo 6,8). *Trichosporon asahii* türü ile *Trichosporon non-asahii* türleri arasında hemolitik aktivite varlığı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Luo ve arkadaşlarının, *Candida türlerinde* hemolitik aktiviteyi göstermesi sonrası, Watanabe ve arkadaşları *C.albicans*'ın beta-hemoliz oluşturmasının,

hücre duvarında bulunan mannopteinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Tüm *Candida türlerinin* hücre duvarında mannoptein bulunmasına rağmen, hemolitik aktiviteleri incelendiğinde 14 *Candida türünden* altısının beta-hemoliz yapmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun, *Candida türleri* arasında hücre duvarı mannoptein içeriğinin farklı olmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (38,39,99).

Yiğit ve arkadaşları 104 *Candida türünde* hemolitik aktivite varlığı araştırmışlar; *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. kefyr* ve *C. krusei* türleri ekimden 48 saat sonra beta hemoliz oluşturmuş, üç *C. guilliermondii* ve üç *Geotrichum candidum* kökeni alfa hemoliz yapmış ve dört *C. parapsilosis* kökeni ekimden 48 saat sonra ve daha uzun sürede hemoliz oluşturmamıştır (37).

Yenişehirli ve arkadaşları klinik örneklerden izole edilen 146 *C. albicans* kökeninde hemolitik aktivite varlığı araştırmışlar ve dokuz kökenin (+), 52 kökenin (++) , 59 kökenin (+++) ve 26 kökenin ise (++++) hemolitik aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir (39).

Sun W. ve arkadaşlarının 23 *Trichosporon asahii* kökeni ile yaptıkları çalışmada *Trichosporon kökenlerinde* değişen derecelerde hemolitik aktivite varlığı gösterilmiş olup bu sonuç çalışmamızla uyumlu bulunmuştur (30).

Çalışmamızda değerlendirilen son virulans faktörü ise koagülaz enzim aktivitesi olup *Trichosporon kökenlerinde* insan plazması kullanılarak yapılan testlerde bir *Trichosporon asahii* (%2,5) ve bir *Trichosporon inkin* (%2,5) pozitif aktivite göstermiştir. Tavşan plazması kullanılarak yapılan testlerde ise dokuz (%22,5) *Trichosporon asahii*, bir (%2,5) *Trichosporon inkin*, bir (%2,5)

*Trichosporon montevidense* pozitif aktivite göstermiştir (tablo 7,8). *Trichosporon asahii* türünde koagülaz enzim aktivitesi açısından diğer türlerle arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Fisher's Exact Test  $p>1$ ). *Trichosporon türlerinin* koagülaz enzim aktivitesine yönelik literatürde herhangi bir yayıncı yapmadığımız için kıyaslama olanağımız olmamıştır. Ancak koagülaz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi için tavşan plazmasının kullanılması gerektiğine karar verilmiştir.

Rodrigues ve arkadaşları 161 *Candida* kökeninde tavşan plazması kullanarak koagülaz enzim aktivitesi araştırmışlar ve 70 *C. albicans*'da %88.5 oranında, 23 *C. tropicalis*'de %82.6 oranında, 25 *C. glabrata*'da %20, 29 *C. parapsilosis*'de %34.5 oranında ve üç *C. guilliermondi*'de %33.3 oranında pozitif aktivite bulunurken, 11 *C. krusei* kökeninin hiçbirinde koagülaz enzimi gösterilememiştir (43).

Yiğit ve arkadaşları *Candida*'larda koagülaz aktivitesini göstermek için koyun, tavşan ve insan plazması kullanmış ve farklı duyarlılıklar bulmuşlardır. 125 klinik izolat kullanılarak yapılan testlerde tavşan plazması ile 24 saatlik inkübasyon sonrası 29 / 64 (45.3 %) *C.albicans* izolatlarında ve 23/61 (37.7%) *C. non-albicans* izolatlarında pozitiflik tespit edilmiştir. Koyun plazması ile 20/64 (31.2%) *C. albicans* izolatlarında ve 6 /61 (9.8 %) *C.non-albicans* izolatlarında pozitiflik tespit edilmiştir. İnsan plazması ile hiçbir izolatda koagülaz aktivitesi gösterilememiştir. Koagülaz aktivitesini tespit için en uygun testin tavşan plazması olduğunu bildirmişlerdir (44).

Yiğit ve arkadaşları başka bir çalışmada 48 klinik örnekten izole edilen *Candida izolatlarında* tavşan plazması ile koagülaz aktivitesi araştırmışlar ve onbir (64.7%) *C. albicans*, üç (30.0%) *C. glabrata*, iki (22.2%) *C. krusei*, üç (42.8%) *C. kefyr* ve iki (40.0%) *C. parapsilosis* koagülaz aktivitesi pozitif olarak bulunmuştur (72).

Sonuç olarak çalışmamızda *Trichosporon türlerinde* patojenitede rol alabilecek olası virulans faktörlerinden salgısal asit proteinaz ve fosfolipaz enzim aktivitesi hiçbir kökünde saptanmamıştır. Ancak literatüre baktığımızda *Trichosporon türlerinde* çok az olmakla birlikte salgısal asit proteinaz ve fosfolipaz pozitif kökenlerde bildirilmiştir (31,91,95).

Esteraz aktivitesi tüm kökenlerde saptanmış ve hemolitik aktivite ile koagülaz enzim aktivitesi değişen düzeylerde saptanmış olup bu faktörlerin *Trichosporon* enfeksiyonlarında patogeneze rol alabileceği düşünülmüştür.

## 6. SONUÇLAR

Çalışmamıza Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında 2010-2012 yılları arasında kültür koleksiyonundan elde edilen 20 *Trichosporon kökeni* ile Dr. Takashi Sugita'dan elde edilen 20 *Trichosporon kökeni* olmak üzere toplam 40 köken dahil edilmiş olup kökenlerde asit proteinaz, fosfolipaz, esteraz, koagülaz ve hemolitik enzim aktiviteleri araştırılmıştır.

Salgısal asit proteinaz enzim aktivitesi hiçbir kökende tespit edilememiştir.

Fosfolipaz enzim aktivitesi hiçbir kökende tespit edilememiştir.

Esteraz enzim aktivitesi tüm *Trichosporon kökenlerinde* pozitif olarak tespit edilmiştir.

Hemolitik enzim aktivitesi 40 *Trichosporon kökenin* 15'inde (%37,5) pozitif olarak bulunmuştur. Onbir *Trichosporon asahii*'de hemolitik aktivite pozitif (dokuz tanesi ++ (%37), iki tanesi +++ (%8,3)), bir *T. inkin* (++) , bir *T. asteroides* (++) , bir *T. japonicum* (+++), bir *T. montevideense* (++) pozitif olarak bulunmuştur.

Koagülaz enzim aktivitesi 40 *Trichosporon kökende* insan plazması kullanılarak yapılan testlerde bir *Trichosporon asahii* (%2,5) ve bir *Trichosporon inkin* (%2,5) pozitif olarak bulunmuştur. Tavşan plazması kullanılarak yapılan testlerde ise dokuz (%22,5) *Trichosporon asahii*, bir (%2,5) *Trichosporon inkin*, bir (%2,5) *Trichosporon montevideense* pozitif olarak bulunmuştur.

Çalışmamızın sonuçlarına bakarak *Trichosporon türlerinin* de *Candida cinsi* gibi virulans faktörlerine sahip olduğu ve hastalıkların patogenezinde bu virulans faktörlerinin rol aldığı düşünülmüştür.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Nader DN, Zadeii GR. An overview of systemic *Candida* infections in perioperative period and intensive care. *The Internet Journal of Anesthesiology* 1998; 12(3).
- 2- Richard A, Fonzi C, Fonzi W. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology* 2001;9(3): 27-33.
- 3- Ustaçelebi Ő. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. In: Ustaçelebi Ő, Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Tũmbay E, Mete Ő (Edt). Nadir gũrũlen fırsatçı mikozlar. Ankara: GũneŐ Kitabevi, 1999.
- 4- Kalkanci A, Sugita T, Arikan S. Molecular identification, genotyping, and drug susceptibility of the basidiomycetous yeast pathogen *Trichosporon* isolated from Turkish patients. *Med Mycol* 2010; 48(1): 141-146.
- 5- Ustaçelebi Ő. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. In: Ustaçelebi Ő, Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Tũmbay E, Mete Ő (Edt). Derinin yũzeyel mantar infeksiyonları. Ankara: GũneŐ Kitabevi, 1999.
- 6- Colombo AL, Padovan AC, Chaves GM. Current knowledge of *Trichosporon spp.* and trichosporonosis. *Clin. Microbiol Rev* 2011; 24(4): 682-700.
- 7- Chagas-Neto TC, Chaves GM, Colombo AL. Update on the genus *Trichosporon*, *Mycopathologia* 2008; 166(3):121–132.

- 8- Gülşen H. *Trichosporon asahii* ve enfeksiyonlarına genel bakış. Mikrobiyol Bul 2012; 46(4): 707-715.
- 9- Gueho E, Hoog GS, Smith MT. Neotypification of the genus *Trichosporon*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1992; 61(4):285–8.
- 10- Gueho E, Smith MT, Hoog GS, Billon-Grand G, Christen R, Batenburgvan der Vegte WH. Contributions to a revision of the genus *Trichosporon*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1992; 61(4):289–316
- 11- Basiri K, Meidani M, Rezaie F, Soheilnader S, Fatehi F. A rare case of *Trichosporon* brain abscess, successfully treated with surgical excision and antifungal agents. *Neurol Neurochir Pol* 2012; 46(1): 92-5.
- 12- Tyler EW, Burke AC. *Trichosporon* infection. Last updated 2012; <http://emedicine.medscape.com/article/230705>
- 13- Gueho E, Improvisi L, de Hoog GS, Dupont B. *Trichosporon* on humans: a practical account. *Mycoses* 1994; 37(1–2):3–10.
- 14- Sugita T, Nakajima M, Ikeda R, Matsushima T, Shinoda T. Sequence analysis of the ribosomal DNA intergenic spacer 1 regions of *Trichosporon* species. *J Clin Microbiol* 2002; 40(5):1826–30.
- 15- Larone DH. *Medically Important Fungi. A guide to identification*. New York, 4th.ed.s. 2002.

- 16- Yıldız O. Önemi artan bir infeksiyon etkeni: *Trichosporon*. İnfeks Derg 2006;133-140.
- 17- Başustaoğlu A. Klinik Mikrobiyoloji. In: Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M (Edt). *Candida* ve tıbbi önemi olan diğer mayalar. 2.cilt, 9.baskı, Ankara: Atlas Kitapçılık, 2009.
- 18- Sugita T, Ikeda R, Nishikawa A. Analysis of *Trichosporon isolates* obtained from the houses of patients with summer-type hypersensitivity pneumonitis. J Clin Microbiol 2004; 42(12):5467-71.
- 19- Kontoyiannis DP, Torres HA. Trichosporonosis in a tertiary care cancer center: risk factors, changing spectrum and determinants of outcome. Scand J Infect Dis 2004; 36(8):564-9.
- 20- Walsh TJ, Lee JW, Melcher GP, Navarro E, Bacher J, Callender D, Reed KD. Experimental *Trichosporon* infection in persistently granulocytopenic rabbits: implications for pathogenesis, diagnosis, and treatment of an emerging opportunistic mycosis. J Infect Dis 1992; 166: 121–133
- 21- Abacı Ö, Halıkı A. *Candida albicans*'ın virulans faktörleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji 2004; 2(9): 1-8
- 22- Huffnagle GB, Herring AC, Traynor TR. Role of fungal virulence factors in evasion of host defences. ARBS Ann Rev Sci 2000; 2:77-90.

- 23- Ichikawa T, Sugita T, Wang L, Yokoyama K, Nishimura K, Nishikawa A. Phenotypic switching and beta-N-acetyl-hexosaminidase activity of the pathogenic yeast *Trichosporon asahii*. *Microbiol Immunol* 2004; 48(4): 237-42.
- 24- Çerikçioğlu N. Mantarlarda virulans faktörleri, *ANKEM Derg* 2012; 26(Ek 2):261-269.
- 25- Topçu Willke A. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. In: Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M (Edt). *Candida türleri*. 2. Cilt, 3.Baskı, İstanbul: Nobel Kitabevi, 2008.
- 26- Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Pathogenicity determinants of *Candida*. *Cerrahpaşa J Med* 2000; 31 (3): 172-186.
- 27- De Luca C, Guglielminetti M, Ferrario A, Calabr M, Casari E. Candidemia: species involved, virulence factors and antimycotic susceptibility. *New Microbiol* 2012;35(4): 459-68.
- 28- Monod M, Zepelin M. Secreted proteinases and other virulence mechanisms of *Candida albicans*. *Chem Immunol* 2002;81:114-28.
- 29- Dağ A, Çerikçioğlu N. Hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen *Trichosporon asahii* suşlarında bazı virulans faktörlerinin araştırılması. *Mikrobiyol Bül* 2006; 40: 225- 235.

- 30- Sun W, Su J, Xu S, Yan D. *Trichosporon asahii* causing nosocomial urinary tract infections in intensive care unit patients: genotypes, virulence factors and antifungal susceptibility testing. *J Med Microbiol* 2012; 61(12):1750-7.
- 31- Gülenç S, Karadenizli A, Kolaylı F. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen maya türlerinde slime faktörü ve proteinaz aktivitelerinin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2002;32: 235-238.
- 32- Cafarchia C, Romito D, Coccioli C, Camarda A, Otranto D. Phospholipase activity of yeasts from wild birds and possible implications for human disease. *Med Mycol* 2008; 46(5): 429–434.
- 33- Yücesoy M, Marol S. *Candida türlerinin* esteraz aktivitesinin belirlenmesi. *Mikrobiyol Bült* 2003; 37: 59-63.
- 34- Yücesoy M, Karaman M, Yuluğ N. Oral kandidozlu ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *Candida albicans* türlerinde fosfolipaz ve esteraz aktivitesinin incelenmesi. *İnfeks Derg* 2003; 17(4): 483-486.
- 35- Keçeli S, Budak F. *Candida türlerinde* esteraz aktivitesi. *Mikrobiyol Bült* 2004; 38: 99-103
- 36- Hube B, Stehr F, Bossenz M, Mazur A, Kretschmar M, Schafer W. Secreted lipase of *Candida albicans*: cloning characterization and expression analysis of a new gene family with at least ten members. *Arch Microbiol* 2000;174: 362-374.

- 37- Yiğit N, Aktaş E. *Candida Türlerinde* hemolitik aktivite araştırılması. İnfeks Derg 2008;22(2): 91-96.
- 38- Luo G. *Candida species* exhibit differential in vitro hemolytic activity. J Clin Microbiology 2001;39(8): 2971–2974.
- 39- Yenişehirli G, Bulut Y, Tunçoğlu E. Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* suşlarının fosfolipaz, proteinaz ve hemolitik aktiviteleri, Mikrobiyol Bul 2010; 44: 71-77.
- 40- Kutlu S. Çeşitli klinik materyallerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direnci ve E – test ile vankomisin MIC değerlerinin araştırılması, uzmanlık tezi. İstanbul: Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim Araştırma Hastanesi, 2006.
- 41- Bayliss BG, Hall ER. Plasma coagulation by organisms other than *Staphylococcus aureus*. J Bacterial 1965;89: 101-104.
- 42- Loeb L. The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. J Med Res 1903;10: 407-419.
- 43- Rodrigues AG, Pina-Vaz C. Expression of plasma coagulase among pathogenic *Candida species*. J Clin Microbiol 2003;41:5792 – 5793.
- 44- Yiğit N, Aktaş E, Ayyıldız A. Detection of coagulase activity in pathogenic *Candida species*. J Int Med Res 2008;36: 1378 – 1382.

- 45- Kazunori N, Kei S. Is elevation of the serum  $\beta$ -d-glucan level a paradoxical sign for *Trichosporon* fungemia in patients with hematologic disorders? International J Infec Dis 2012;16(1): 2-4.
- 46- Izumi K, Hisata Y. A rare case of infective endocarditis complicated by *Trichosporonasahii* fungemia treated by surgery, Ann Thorac Cardiovasc Surg 2009;15(5): 350-3.
- 47- Kalawat U, Sharma KK. Trichosporon peritonitis following duodenal perforation Saudi J Gastroenterol 2010;16(1): 43–45.
- 48- Girmenia C, Girmenia C, Pagano L, Martino B, D'Antonio D, Fanci R, Specchia G, Melillo L. Invasive infections caused by *Trichosporon species* and *Geotrichum capitatum* in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature J Clin Microbiol 2005;43:1818–1828.
- 49- Suzuki K, Nakase K, Kyo T, Kohara T, Sugawara Y, Shibazaki T. Fatal *Trichosporon* fungemia in patients with hematologic malignancies. Eur J Haematol 2010;84: 441–447.
- 50- Rastogi VL, Nirwan PS. Invasive trichosporonosis due to *Trichosporon asahii* a non-immunocompromised host:a rare case report. Indian J Med Microbiol 2007;25(1): 59–61.
- 51- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for

Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group Clin Infect Dis 2008;46: 1813–1821.

- 52- Topçu Willke A. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. In: Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M (Edt). *Cryptococcus neoformans* ve Diğer Maya Formundaki Mantarlar. 2. Cilt, 3.Baskı, İstanbul: Nobel Kitabevi, 2008.
- 53- Sano M, Sugitani M, Ishige T, Homma T, Kikuchi K, Sunagawa K. Supplemental utility of nested PCR for the pathological diagnosis of disseminated trichosporonosis. *Virchows Arch* 2007;451: 929–935.
- 54- Nagai, H, Yamakami Y, Hashimoto A, Tokimatsu I, Nasu M. PCR detection of DNA specific for *Trichosporon species* in serum of patients with disseminated trichosporonosis. *J Clin Microbiol* 1999;37: 694–699.
- 55- Sugita T, Nakajima M, Ikeda R, Niki Y, Matsushima T, Shinoda T. A nested PCR assay to detect DNA in sera for the diagnosis of deep-seated trichosporonosis. *Microbiol Immunol* 2001;45:143–148.
- 56- Sugita T, Nishikawa A, Shinoda T. Rapid detection of species of the opportunistic yeast *Trichosporon* by PCR. *J Clin Microbiol* 1998;36(5):1458–60.

- 57- Diaz MR, Fell JW.. High throughput detection of pathogenic yeasts of the genus *Trichosporon*. J Clin Microbiol 2004;42(8): 3696–706.
- 58- Maves RC, Hale BR. *Trichosporon* Infections. Last Updated:September 29, 2006. <http://www.emedicine.com/med/topic2310.htm>
- 59- Obana Y, Sano M, Jike T, Homma T, Nemoto N. Differential diagnosis of Trichosporonosis using conventional histopathological stains and electron microscopy. Histopathology 2001;56: 372–383.
- 60- Hosokawa K, Yamazaki H, Mochizuki K, Ohata K, Ishiyama K. Successful treatment of *Trichosporon* fungemia in a patient with refractory acute myeloid leukemia using voriconazole combined with liposomal amphotericin B. Transpl Infect Dis 2012;14(2): 184-7.
- 61- Chagas-Neto TC, Chaves GM, Melo AS, Colombo AL. Bloodstream infections due to *Trichosporon spp.*: species distribution, *Trichosporon asahii* genotypes determined on the basis of ribosomal DNA intergenic spacer 1 sequencing, and antifungal susceptibility testing. J Clin Microbiol 2009;47: 1074–1081.
- 62- Bayramoglu G, Sonmez M, Tosun I, Aydin K, Aydin F. Breakthrough *Trichosporon asahii* fungemia in neutropenic patient with acute leukemia while receiving caspofungin. Infect Dis 2008;36(1): 68-7.

- 63- Matsue K, Uryu H, Koseki M, Asada N, Takeuchi M. Breakthrough trichosporonosis in patients with hematologic malignancies receiving micafungin. *Clin Infect Dis* 2006;42(6): 753-7.
- 64- Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard. Doc. M27-A3, 2008.
- 65- Yücesoy M, Karaman M. Sağlıklı bireylerden ve oral kandidiazisli olgulardan izole edilen *Candida albicans* türlerinde proteinaz aktivitesinin incelenmesi. *Mikrobiyol Bült* 2001;35: 443-50.
- 66- Uğur A, Fındık G. Klinik Örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (Proteinaz, Slime ve Fosfolipaz) in -vitro araştırılması. *İnfeks Derg* 2003;17(4): 471-481.
- 67- İnci M, Atalay M, Koç A, Yula E. Investigating virulence factors of clinical *Candida isolates* in relation to atmospheric conditions and genotype. *Turk J Med Sci* 2012;42(2): 1476-1483.
- 68- Pekintürk N, Değerli K, Özkütük N, Eçemiş T. *Candida albicans* suşlarının fosfolipaz, esteraz ve slime aktivitelerinin enfeksiyon-kolonizasyon ayırımındaki rolleri. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2012;32(1): 171-6.
- 69- Yücel A, Kantarcıoğlu AS. *Candida albicans* kökenlerinde bazı virulans faktörlerinin (fosfolipaz, proteaz, çimlenme borusu ve aderens) ve aralarındaki korelasyonun belirlenmesi. *İnfeks Derg* 2001;15: 517-25.

- 70- Akyol V, Çerikçioğlu N. *Candida parapsilosis* klinik izolatlarının morfolendirmesi, genotiplendirmesi ve farklı morfolendilerde bazı virulans faktörlerinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2010;44: 605-617.
- 71- Ekşi F, Sözen E, Bayram A, Karşılıgil T, Balcı İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarında slime üretimi ve hemolitik aktivitenin araştırılması, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2008;38(1): 27-32.
- 72- Yiğit N, Aktaş E, Dagistan S Ayyıldız A. Investigating biofilm production, coagulase and hemolytic activity in *Candida species* isolated from denture stomatitis patients, EAJM 2011;43: 27-32.
- 73- Rodrigues A. Expression of plasma coagulase among pathogenic *Candida species* J Clin Microbiology 2003;41(12): 5792–5793.
- 74- Akova M. İmmün Sistemi Baskılanmış Hastalarda İnvaziv Fungal İnfeksiyonlar. In: Akova M, Akan H(Edt). İnvaziv fungal infeksiyonların değişen epidemiyolojisi. 1.Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2006.
- 75- Pfaller MA. Clinical Mycology. In: Pfaller MA, Anaissie EJ, McGinnis MR (Edt).The epidemiology of fungal infections. 1 st, Philadelphia: Elsevier Science, 2003.
- 76- Walsh TJ, Pizzo PA. Evolving risk faktors for invasive fungal infections– all neutropenic patients are not the same. Clin Infec Dis 1994;18: 793-8.

- 77- Akova M. İmmün Sistemi Baskılanmış Hastalarda İnvaziv Fungal İnfeksiyonlar. In: Akova M, Akan H (Edt). İnvaziv fungal infeksiyonların güncel önemi. 1.Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2006.
- 78- Taj-Aldeen SJ, Al-Ansari N, El Shafei S. Molecular identification and susceptibility of *Trichosporon* species isolated from clinical specimens in Qatar. J Clin Microbiol 2009;47(6): 1791-9.
- 79- Wolf DG, Falk R. Multidrug-resistant *Trichosporon asahii* infection of non granulocytopenic patients in three intensive care units. J Clin Microbiol 2001;39: 4420.
- 80- Pfaller A. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study, 1997 to 2005: an 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida species* and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. J Clin Microbiol 2007;1735–1745.
- 81- Miceli M, Díaz J, Lee S. Emerging opportunistic yeast infections, Lancet Infect Dis 2011;11: 142–51.
- 82- Pfaller A. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study, 1997 to 2007: an 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida species* and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. J Clin Microbiol 2009; 117–123.

- 83- Oliveira A, Shinobu CS, Longhini R, Franco SL, Svidzinski TI. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions, Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 2006;101(5): 493-497
- 84- Lohmann C, Sabou M, Moussaoui W, Prévost G, Delarbre JM, Candolfi E. Comparison between the Biflex III-Biotyper and the Axima-SARAMIS systems for yeast 2 identification by MALDI-TOF mass spectrometry. J Clin Microbiol 2013;51(4): 1231-6.
- 85- Parlakay A, Oncel E. *Trichosporon asahii* sepsis in a patient with pediatric malignancy, J Microbio Immuno Infect 2013;1-4.
- 86- Sugita T, Ichikawa T, Matsukura M, Sueda M, Takashima M. Genetic Diversity and Biochemical Characteristics of *Trichosporon asahii* Isolated from Clinical Specimens, Houses of Patients with Summer-Type-Hypersensitivity Pneumonitis, and Environmental Materials, J Clin Microbio 2001;39(7): 2405–11.
- 87- Bullen JJ. The significance of iron in infection. Rev Infect Dis 1981;3(6):1127-38.
- 88- Belanger M, Begin C, Jacques M. Lipopolysaccharides of *Actinobacillus pleuropneumoniae* bind pig hemoglobin. Infect Immun 1995;63: 656-62.
- 89- Kuştimur S. *Candida* patogenezinde rol oynayan faktörler. Mikrobiyol Bült 1994; 28: 175-181.

- 90- Aynalı A. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde izole edilerek tiplendirilen *Candida*'larda virulans faktörlerinin araştırılması ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi. Uzmanlık Tezi, Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi, 2010.
- 91- Melville P, Benites N. Proteinase and phospholipase activities and development at different temperatures of yeasts isolated from bovine milk. J Dairy Res 2011;7(8): 385 – 90.
- 92- Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. Clin Microbiol Rev 2000;13(1): 122-143.
- 93- Luca C, Guglielminetti M. Candidemia: species involved, virulence factors and antimycotic susceptibility New Microbiologica 2012;35: 459-68.
- 94- Gürcan Ş, Alver O. Çeşitli *Candida türlerinde* virülansın değerlendirilmesi: in vitro ve in vivo çalışma. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2010;30(5): 1493-502.
- 95- Junqueira J, Vilela S. Oral colonization by yeasts in HIV-positive patients in brazil. Rev Inst Med Trop 2012;54(1): 17-24.
- 96- Tsuboi R, Komatsuzaki H, Ogawa H. Induction of an extracellular esterase from *Candida albicans* and some of its properties. Infect Immun. 1996;64(8): 2936-40.

- 97- Slifkin M. Tween 80 opacity test responses of various *Candida species*. J Clin Microbiol 2000;38: 4626-8.
- 98- Dolapçı I, Tekeli A. Evaluation of the Tween 80 opacity test for detection of the lipolytic activity of various *Candida species* and its utility in differentiation of *C. albicans* and *C.dublinsiensis*. Mikrobiyol Bul 2004;38(4): 429-33.
- 99- Wenzel RP, Genning C. Bloodstream infections due to *Candida species* in the intensive care unit. Clin Infec Dis 2005;41: 389-93.

## 8. ÖZET

*Trichosporon türlerinin* birçoğu doğada (toprak, su ve bitki) yaygın olarak bulunur. Ayrıca insanda deri, solunum yolları, gastrointestinal ve genitoüriner sistemde normal flora üyesi olarak da yer alabilir. *Trichosporon türlerinin* duyarlı hasta gruplarında, özellikle immunsuprese, sitotoksik kemoterapi alan ve organ transplantasyonu uygulanan hastalarda yaşamı tehdit eden ciddi enfeksiyonlara yol açmaları ve antifungal tedaviye göreceli olarak daha dirençli olmaları nedeni ile önemi giderek artmaktadır.

*Trichosporon kökenlerinin* enfeksiyon patogeneğinde rol oynayan olası virulans faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2010 - 2012 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Mikoloji laboratuvarına maya tiplendirme için gelen kültür örneklerinden, *Trichosporon spp.* olarak sonuçlanan 20 köken ve Dr Takashi Sugita'dan temin edilen 20 köken çalışmaya alınmıştır. 40 *Trichosporon kökeninde* salgısal asit proteaz, fosfolipaz, esteraz, hemolitik aktivite ve koagülaz enzim aktivite varlığı araştırılmıştır.

Çalışmaya alınan 40 *Trichosporon kökeninin*; 24 tanesi (%60) *Trichosporon asahii*, altı tanesi (%15) *Trichosporon inkin*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon aquatile*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon asteroides*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon coremiiforme*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon cutaneum*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon dermatis*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon faecale*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon japonicum*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon*

*montevideense*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon mucoides*, bir tanesi (%2,5) *Trichosporon ovoides* dir.

Çalışmaya alınan 40 kökenin hiçbirinde salgısal asit proteinaz ve fosfolipaz enzim aktivitesi tespit edilememiştir. Tüm kökenlerde esteraz enzim aktivitesi pozitif olarak tespit edilmiştir. Hemolitik enzim aktivitesi 15 kökende (%37,5) pozitif olarak bulunmuştur. *T. asahii* türü ile *Trichosporon non-asahii* türleri arasında hemolitik aktivite varlığı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Koagülaz enzim aktivitesi, insan plazması kullanılarak yapılan testlerde iki kökende (%5), tavşan plazması kullanılarak yapılan testlerde ise 11 kökende (%27,5) pozitif olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak *Trichosporon türlerinin* hastalık oluşturma patagenezinde esteraz, hemolizin ve koagülaz enzimlerinin rol alabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** *Trichosporon*, virulans faktör, patogenez

## 9. SUMMARY

*Trichosporon species* are widely distributed in nature (soil, water and vegetation). They are members of human normal flora located in skin, respiratory tract, gastrointestinal tract and genitourinary tract. The importance of *Trichosporon species* are increasing with the increase of susceptible groups such as immunocompromised patients, undergoing cytotoxic chemotherapy for organ transplantation or bone marrow transplantation.

Fungal virulence factors were investigated for the pathogenesis of trichosporonosis.

A total number of 40 *Trichosporon* strains including 20 isolated belong to culture collections of Gazi University school of Medicine, department of Mycology and 20 strains obtained from Dr. Takashi Sugita.

The distribution of *Trichosporon species*; 60% (24) *Trichosporon asahii*, 15% (6) *Trichosporon inkin*, 2,5% (1) *Trichosporon aquatile*, 2,5% (1) *Trichosporon asteroides*, 2,5% (1) *Trichosporon coremiiforme*, 2,5% (1) *Trichosporon cutaneum* 2,5% (1) *Trichosporon dermatis*, 2,5% (1) *Trichosporon faecale*, 2,5% (1) *Trichosporon japonicum*, 2,5% (1) *Trichosporon montevideense*, 2,5% (1) *Trichosporon mucoides*, 2,5% (1) *Trichosporon ovoides*.

None of the strains presented secretory acid proteinase and phospholipase enzyme activity. However esterase enzyme activity were found in all of the strains. Hemolytic activity were found in 15 strains of 40 strains (37,5 %). There is no difference between *T.asahii* and *non asahii* strains in terms of hemolytic activity. Coagulase enzyme activity were found in two strains when

human plasma as used, while it was found positive in 11 strains when rabbit plasma was used.

Esterase and coagulase production and hemolytic activity were considered had a role in the pathogenesis of trichosporonosis.

**Key words:** *Trichosporon*, virulence factors, pathogenesis

## 10. ÖZGEÇMİŞ

**Adı** : Feyza

**Soyadı** : Demir

**Doğum yeri – tarihi** : Ankara – 21.03.1983

**Eğitimi** : 01.12.2008 tarihinde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak göreve başladım. 2007 yılında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi’den mezun oldum. 2001 yılında Beypazarı Anadolu Lisesi’nden mezun oldum.

**Yabancı Dili** : İngilizce

**Üye olduğu bilimsel kuruluş** : Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlar Derneği

### **Bilimsel etkinlikleri:**

### **Yayımlar:**

1. Biter G, Özyeğen S, Yalçın B, Aydın M, Fouad A, **Demir F**, Kalkancı A, Kuştimur S. *Candida albicans* DNA’sını saptamaya yönelik gerçek zamanlı PCR testi ve testin maliyet analizi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 41(1):9-14, 2011.

2. **Demir F**, Aydın M, Adıyaman G, Doğruman-Al F, Kuştimur S, Özkan S. Kist hidatik şüpheli hastalarda anti-*Echinococcus* IgG seropozitifliğinin ELISA yöntemiyle belirlenmesi. Altıncı Ulusal Tanısal ve Moleküler Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara, 2010.
3. Biter G, Jabban I, Aydın M, Özyeğen S, Fouad A, **Demir F**, Yalçın B, Kalkancı A, Kuştimur S. *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi tanısında gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu kullanılması. Altıncı Ulusal Tanısal ve Moleküler Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara, 2010.