

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Prof.Dr. BÜLENT BAYSAL
ANABİLİM DALI BAŞKANI

TRICHOPHYTON RUBRUM SUŞLARININ HEMOLİTİK
AKTİVİTESİ VE ANTİFUNGAL İLAÇLARA İN VİTRO
DUYARLILIĞININ SAPTANMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. GÜLKAN SOLGUN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. DUYGU FINDIK

KONYA-2007

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. DERMATOFİTLERİN TARİHÇESİ.....	2
2.2. DERMATOFİTLERİN SINIFLANDIRILMASI.....	2
2.3. DERMATOFİTLER.....	5
2.3.1. <i>Epidermophyton</i> türleri	5
2.3.2. <i>Microsporum</i> türleri	6
2.3.3. <i>Trichophyton</i> türleri.....	7
2.3.4. <i>Trichophyton rubrum</i> (T. rubrum).....	9
2.4. DERMATOFİT İNFEKSİYONLARININ EKOLOJİK VE EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE RİSK FAKTÖRLERİ.....	10
2.5. VİRULANS FAKTÖRLERİ VE KONAK YANITI	12
2.5.1. Adezyon-Keratinositlere Bağlanma	13
2.5.2. Penetrasyon	13
2.5.3. Endo/Ekzoenzimler	13
2.5.4. Mannan.....	14
2.5.5. Konak Yanıtı	14
2.6. KLİNİK GÖRÜNÜMLER	16
2.6.1. Dermatofitid (id reaksiyonu).....	19
2.7. DERMATOFİTOZLARDA LABORATUVAR TANI.....	19
2.7.1. Örneğin alınması ve transportu	19
2.7.2. Direkt mikroskopik inceleme	20
2.7.3. Mikolojik Kültür	21
2.7.4. İdentifikasyon.....	22
2.8. ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ	23
2.8.1. AFDT uygulamasında başarısızlık nedenleri	25
2.9. TEDAVİ VE KORUNMA	25
2.9.1. Griseofulvin	26
2.9.2. Siklopiroks olamin	26
2.9.3. Azoller.....	27

2.9.4. Alilaminler	28
2.9.5. Tolnaftat	29
2.9.6. Butenafin	29
2.9.7. Diğer Topikal Antifungal Ajanlar	29
2.9.8. Korunma.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. ÖRNEKLERİN ALINMASI	31
3.2. TRİCOPHYTON <i>RUBRUM</i> SUŞLARININ TANIMLANMASI	31
3.2.1. Direkt Mikroskopi	31
3.2.2. Kültür	32
3.2.3. İdentifikasyon.....	32
3.3. TRİCHOPPHYTON <i>RUBRUM</i> SUŞLARININ HEMOLİTİK AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ:.....	34
3.4. TRİCHOPPHYTON <i>RUBRUM</i> SUŞLARININ MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ ÖLÇÜLMESİ.....	34
3.4.1. Kullanılan besiyeri	34
3.4.2. Antifungaller	35
3.4.3. İnokulum hazırlanması.....	37
3.4.4. MİK testinin uygulanması.....	37
3.4.5. İnkübasyon ısısı ve süresi.....	37
3.4.6. Sonuçların okunması.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. HEMOLİTİK AKTİVİTE BULGULARI	43
4.2. ANTİFUNGAL DUYARLILIK BULGULARI.....	45
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	48
6. ÖZET	57
7. ABSTRACT.....	58
8. TEŞEKKÜR	59
8. KAYNAKLAR	60

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Yüzeyel mikozlar primer olarak epidermis, kıl follikülleri ve tırnaklar gibi keratinize dokuları tutan infeksiyonlar olup, sıklığına göre dermatofitoz, yüzeyel kandidoz, tinea versikolor, tinea nigra ve piedra olarak sıralanmaktadır (1-4). Bu infeksiyonların majör etkeni olan dermatofitler, aerobik funguslardır ve keratini besin maddesi olarak kullandıklarından keratinin bol bulunduğu bölgeleri infekte eden, keratinofilik funguslar olarak adlandırılırlar (2, 3, 5-8).

Dermatomikozlar bildiriimi zorunlu hastalıklar olmadıklarından gerçek insidansları bilinmemektedir. Buna rağmen, genel olarak bakıldığında toplumun yaklaşık %20'sinde kronik dermatomikoz görülmektedir. Erişkin erkeklerin ortalama %90'ında yaşamları boyunca en az bir kez dermatomikoz görüldüğü bilinmektedir (4, 9).

Hemolizinin ökaryotik hücreler üzerine por oluşturuucu ve lizis etkisinin olduğu tanımlanmıştır. Fosfolipaz olarak adlandırılan sitoliziner bakteriler ve fungusların virulansında potansiyel etkiyi veren gliserofosfolipidler içindeki ester bağlarını hidrolize etme yeteneğini artırır. Lipaz ve fosfolipaz aktiviteleri farklı *Trichophyton* türleri tarafından gösterilmiştir (10).Dermatomikozların tedavisinde sistemik ve topikal etkili antifungal ilaçlar kullanılır, ancak bu infeksiyonların tedavisi relapslar, reinfeeksiyonlar ve tedavinin uzun sürmesinden dolayı zordur (9, 11).

Yeni antifungal ilaçların kullanıma girmesi ve ilaçlara dirençlerin görülmeye başlanması ile antifungal ilaçlara *in vitro* duyarlılık testlerinin önemi giderek artmaktadır. Mantar türlerine karşı antifungal maddelerin duyarlılıkları makro ve mikrodilüsyon, agar dilüsyon ya da disk diffüzyon yöntemleri ile belirlenebilmektedir. Ancak mantarlardaki morfolojik çeşitlilik, üreme hızı ve optimal üreme koşullarındaki farklılıklar yapılan invitro çalışmalarda kullanılan yöntemlerde standardizasyonu etkilemektedir(12).

Bu çalışmada hastanemizin dermatoloji polikliniğine başvuran dermatofitoz ön tanımlı hastaların saç, deri ve tırnak örneklerinden izole edilen *Trichophyton rubrum* suşlarının hemolitik aktivitesinin, ketokonazol, itrakonazol, sulkonazol, ekonazol, terbinafin'e duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DERMATOFİTLERİN TARİHÇESİ

Önceki yüzyıllarda hastalıkların etiolojisinde fungal etkenler düşünülmezken 19. yüzyılda hastalıklarla ilişkili mantarlar hakkında araştırmalar başlamış ve hastalık nedeni olarak mantar, ilk kez 1840'lı yıllarda bulunmuştur. Sabouraud ve diğer mikologlar, 1890'lı yıllarda yüzeysel mikoza neden olan etkenlerin kültür yöntemi, morfolojileri, sınıflandırmaları ve tedavileri hakkında yeni çalışmalar yapmışlardır (13).

Hastalıkların klinik görünümleri temel alınarak, etkenlerin kültürel ve mikroskopik görünümleri de kombine edilerek dermatofitler *Achorion*, *Epidermophyton*, *Microsporum* ve *Trichophyton* olmak üzere 4 cinste sınıflandırılmıştır (13). Chester Emmons tarafından, 1934 yılında Sabouraud ve arkadaşlarının sınıflandırmaları modernize edilmiş ve dermatofitler, makroskopik ve mikroskopik morfolojileri temel alınarak bugün kullanılan sınıflama tanımlanmıştır (12). Daha sonra yeni türler ve varyantlar bulunmuş ve sınıflama güncelleştirilmiştir (1,5).

2.2. DERMATOFİTLERİN SINIFLANDIRILMASI

Dermatofitler üç anamorfik (aseksüel ya da imperfect) türde sınıflandırılır; *Epidermophyton*, *Microsporum* ve *Trichophyton*. Bu türler konidyum oluşturmaları ve morfolojileri temel alınarak Deuteromycotina (fungi imperfecti)'nın Hyphomycetes anamorfik sınıfında bulunurlar. Ascus ve ascosporlar oluşturabilen dermatofitler, Ascomycotina alt dalında, Artrodermataceae ailesinde telemorfik cins Artroderma içinde sınıflandırılır. *Microsporum* ve *Trichophyton* türlerinin seksüel üreme yetenekleri varken, *Epidermophyton*'un eşeyli formu bilinmemektedir (5, 6, 8, 13, 14).

Dermatofitlerin ve benzeri türlerin sistematik sınıflandırmaları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1 . Dermatofit ve benzeri türlerde sistematik sınıflandırma(1).

Alem	-----	Mantar
Dal	-----	<i>Eumycotina</i>
Alt dal	-----	<i>Deuteromycotina</i>
Sınıf	-----	<i>Hyphomycetes</i>
Takım	-----	<i>Hyphomycetales</i>
Aile	-----	<i>Moniliaceae</i>
Cinsler	-----	<i>Epidermophyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Trichophyton</i>
Alt dal	-----	<i>Ascomycotina</i>
Sınıf	-----	<i>Ascohymenomyces</i>
Takım	-----	<i>Onygenales</i>
Aile	-----	<i>Arthrodermataceae</i>
Cins	-----	<i>Arthroderma</i>

Dermatofitler 100 yıldan daha fazla süredir identifiye edilmektedir. Anamorfik sınıfta bu üç cinse ait yaklaşık 42 dermatofit türü saptanmıştır. Bunların 22'si *Trichophyton*, 18'i *Microsporum* ve 2'si *Epidermophyton*'dur. Bunların 11 tanesi insanlar için patojendir (6, 15, 16).

Dermatofitler ayrıca ekolojik olarak doğada bulunuşları ve tercih ettikleri konağa göre 3 temel grupta sınıflandırılırlar :

- 1) Antropofilik türler: Hemen daima insanları infekte ederler. Hayvanları nadiren infekte ederler.
- 2) Jeofilik türler: Saprotit olarak toprakta bulunan ve saç, kıl, tırnak gibi keratinize materyallerle ilişkili organizmalardır. Hem insanlar hem de hayvanlar için infeksiyon nedeni olabilirler. Bazı türleri ise patojen değildir.
- 3) Zoofilik türler: Genellikle hayvanları, zaman zaman da insanları infekte eden organizmalardır (1, 5, 8, 13, 16, 17).

Dermatofit türlerinin ekolojik ve konak tercihleri ve endemik bulunuş özellikleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Konak tercihleri ve endemik bulunuş özelliklerine göre dermatofit türlerinin ekolojik sınıflandırılması (13).

Antropofilik türler (endemik alanı)	Zoofilik türler (konağı)	Jeofilik türler
<i>E.floccosum</i>	<i>M.canis</i> (kedi, köpek)	<i>E.stockdaleae</i>
<i>M.audouinii</i> (Afrika)	<i>M.equinum</i> (at)	<i>M.amazonicum</i>
<i>M.ferrugineum</i> (Doğu Asya, Doğu Avrupa)	<i>M.gallinae</i> (kümes hayvanı)	<i>Microsporum anamorfo</i> <i>A.cookieillum</i>
<i>T.concentricum</i> (Güneydoğu Asya, Malezya)	<i>M.persicolor</i> (tarla faresi)	<i>M.boullardii</i>
<i>T.gourvillii</i> (Orta Afrika)	<i>T.equinum</i> (at)	<i>M.cookei</i>
<i>T.kanei</i>	<i>T.mentagrophytes</i> (kemiriciler, tavşan, kirpi)	<i>M.gypseum</i>
<i>T.megninii</i> (Portekiz)	<i>T.sarkisorii</i> (deve)	<i>M.nanum</i>
<i>T.mentagrophytes</i>	<i>T.simii</i> (maymun,kümes hayvanı)	<i>M.praecox</i>
<i>T.raubitschekii</i> (Asya, Afrika,Akdeniz)	<i>T.verrucosum</i> (sığır, koyun, deve)	<i>T.racemosum</i>
<i>T.rubrum</i>		<i>M.ripariae</i>
<i>T.schoenleini</i>		<i>M.vanbreuseghemii</i>
<i>T.soudanense</i> (Afrika)		<i>T.ajelloi</i>
<i>T.tonsurans</i>		<i>T.flavescens</i>
<i>T.violaceum</i> (Kuzey Afrika, Ortadoğu, Akdeniz)		<i>T.gloriae</i> , <i>T.longifusum</i>
<i>T.yaoundei</i> (Orta Afrika)		<i>T.phaseoliforme</i> <i>T.terrestre</i> <i>T.vanbreuseghemii</i>

2.3. DERMATOFİTLER

Dermatofit, kelime anlamı olarak "deri bitkisi" anlamına gelir (1). Dermatofitler hiyalin septalı küflerdir. Bu fungal hücreler canlı hücreye girişi sağlayan keratinofilik proteazlar yaparak hifleri ile deri ve tırnağın stratum korneumuna penetre olurlar (15, 18). Dermatofitlerin neden olduğu enfeksiyona ya da kolonizasyona "dermatofitoz" denir. Maya ve non-dermatofilik küflerin neden olduğu keratinize dokuların enfeksiyonlarına ise "dermatomikoz" denir (2, 5, 16).

Dermatofitozda derinin tutulumu ile deride kepeklenme, vezikül oluşması ve bazen iltihaplanma; tırnakların tutulumu ile şekil bozukluğu; kıl ve saçların tutulumu ile bunların kırılması ve dökülmesi oluşup "tinea" denilen tipik lezyonlar oluşur. "Tinea" güve yeniği anlamında saçlı deri lezyonlarını tanımlarken, artık tüm deri enfeksiyonları için kullanılmaktadır. Deri lezyonları yuvarlak ve çevrelerinin belirgin olmaları nedeniyle "ringworm" kelimesi ile de tanımlanır (15, 16).

Rutin olarak laboratuvalarda dermatofitlerin tanımlanmasında anamorf formları temel alınır. Tanımlamada mikroskopik görünümleri, konidyum oluşumları, Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)'daki özellikleri ve pigmentasyonları primer kriterlerdir. Beslenme gereksinimleri, ısıya tolerans özellikleri, üre hidrolizi, saç perforasyonu gibi fizyolojik özellikler ise tanımlamada sekonder kriterlerdir (5, 19).

Dermatofitler iki tip hyalen konidyum oluşturabilir. Bunlar büyük, çok hücreli, düz ya da yuvarlak, ince ya da kalın duvarlı makrokonidyum ve daha küçük, tek hücreli düzgün duvarlı mikrokonidyumlardır. Bu iki konidyumun varlığına ya da yokluğuna göre üç tür tanımlanır; *Epidermophyton*, *Microsporum* ve *Tricophyton* (5, 6, 8). Mikroskopta bu iki temel konidyum dışında klamidosporeler, spiral, raket gibi taraksı boynuzsuz hifler ve nodüler cisimcikler de görülebilir (8).

2.3.1. *Epidermophyton* türleri

Epidermophyton türleri 1907 yılında Sabouraud tarafından tanımlanmıştır (1, 16). Mikrokonidyumları yoktur. Çomak ya da raket şeklinde, yuvarlak uçlu, düzgün ve ince duvarlı, sayısı 1-9 arasında değişen bölmeli makrokonidyumları vardır. Septalı hif boyunca tek tek ya da ikili, üçlü kümeler halinde dizilirler. *Epidermophyton floccosum*

(*E.floccosum*) ve *Epidermophyton stockdaleae* olmak üzere iki türü vardır. Sadece *E.floccosum* insanlarda patojendir. Saçsız deri ve tırnakta enfeksiyona neden olur. Üremesi yavaş olup, koloni yüzeyi hardal sarısı veya zeytin yeşili renkte ve kadifemsi şekildedir. Koloni tabanı portakal renginden kahverengiye kadar değişebilen renklerde olur ve koloni çevresinde bu renklerden oluşan bir sınır meydana gelir (2, 5, 13, 16, 20, 21).

2.3.2. *Microsporum* türleri

Microsporum türleri Gruby tarafından 1843 yılında tanımlanmıştır (1, 16). Hem makrokonidyum hem de mikrokonidyumları vardır, ancak tanısal değeri olan makrokonidyumlardır. Bunlar kalın, pürüklü yüzeyli duvarları olan sayıları 1-15 arasında değişen hücreli, iğsi, *Microsporum nanum*'da olduğu gibi yumurta şeklinde ya da *Microsporum vanbreseghenii*'de olduğu gibi silindirofusiform şeklinde görülen yapılardır. Saplı ya da sapsız şekilde hifa etrafında tek tek dağılan, genellikle armut şeklinde olan mikrokonidyumların tanıma değeri yoktur (5, 13, 16, 20, 21). En fazla saçlarda, daha az olarak da deride enfeksiyona neden olurken tırnakta enfeksiyona neden olmaz. Hasta saçlar sıklıkla Wood ışığında floresans verir. Bu cinste yaklaşık 15 tür bulunmaktadır (2).

Microsporum audouinii, tüm dünyada görülen, genellikle çocuklarda tinea kapitis ve ayrıca tinea korporise neden olan bir türdür. Erişkinlerde enfeksiyonu çok nadirdir. Yavaş ürer. Koloni yüzeyi fare tüyüne benzer şekilde grimsi veya ten rengindedir. Koloni tabanında şeftali renginde pigment görülür. Mikroskopik olarak konidyumları yoktur ya da nadirdir. Septalı hif uçlarında bu tür için özgün olan sivri uçlu klamidyosporları vardır. Ayrıca taraksı hifalar ve raket hifalar da görülebilir. Saçlarda ektotriks enfeksiyona neden olur (5, 8, 20, 21, 22).

Microsporum canis, tinea kapitis ve tinea korporis nedeni olabilen bir türdür. Kedi ve köpeklerde enfeksiyona neden olur ve bu hayvanlarla ilişkili olan insanlara bulaşabilmektedir. Üremesi hızlıdır. Beş günde kolonileri ortaya çıkar. Koloni yüzeyi yünsü görünümde, beyaz veya sarımsı renkte ve tabanı özgün olarak koyu sarı renktedir. Uzun, iğ şeklinde, 6-14 hücreli ve özgün olarak bir ucu kanca

gibi eğilmiş makrokonidyumları vardır. Saçlarda ektotriks enfeksiyona neden olur ve *in vitro* kıl delme deneyinde saçı deler (2, 5, 8, 20, 22).

Microsporum gypseum, toprak kökenli bir mantar olup toprakla ilişkili insanlarda enfeksiyona neden olur. Tinea kapitis ve tinea corporis nedenidir. Kolonileri pudramsı, süetimsi olup tarçınımsı kahverengidir. Septalı hifler üzerinde 4-6 hücreli, elipsoit biçimde makrokonidyumları vardır (2, 5, 8, 20, 22).

2.3.3. *Trichophyton* türleri

Trichophyton türleri Malmsten tarafından 1845 yılında tanımlanmıştır (1, 16). 22 türden oluşur (2). Hem mikrokonidyum hem de makrokonidyum oluştururlar. Hakim olan ve tanıda temel alınan spor formu tek hücreli mikrokonidyumdur (19, 23). Makrokonidyum çoğu türde yoktur ya da çok azdır (16). Makrokonidyumlar genellikle düzgün, ince duvarlı, silindirik ya da iğsi şekilde, kalem, puro ya da çomak biçiminde olan hücre sayısı 1-12 arasında değişen şekillerdir. Hifa üzerinde tek tek ya da demetler halinde bulunur. Mikrokonidyumlar, genellikle makrokonidyumdan daha çoktur. Yapıları yuvarlak, armut ya da lobut şeklinde olup, türe özgüdür. Hifin yanlarında saplı ya da sapsız, tek tek ya da üzüm salkımı şeklinde kümeler halinde bulunurlar (5, 13, 16, 20, 21).

Trichophyton türleri saç, deri ve tırnağı enfekte eder. Saç invazyonu hem endotriks hem de ektotriks tiptedir (2, 19). Ayak ve tırnaklardaki enfeksiyonun en önemli ve en yaygın nedenidirler (20). Bu cinste yaklaşık 22 tür bulunmaktadır (2).

Trichophyton mentagrophytes (*T. mentagrophytes*), ikinci en yaygın görülen dermatofit türüdür. Saçsız deri, saçlı deri ve tırnak enfeksiyonlarına neden olur. Hızlı üreyen kolonileri beyaz, krem, ten renginde, sarımsı ya da pembe görülebilir. Koloni yüzeyi tüylü, pudramsı, yıldızimsı biçimde görülür ve koloni etrafında uydu kolonileri olur. Septalı hifalar üzerinde uçlarında üzüm salkımı şeklinde küçük, yuvarlak mikrokonidyumlar ve dallanma gözlenir. Aynı zamanda bu tür için özgün olan spiral hifalar ve ince bir sap ile hifaya bağlanan, ve çoğunlukla zoofilik suşlarda puro şeklinde olan makrokonidyumlar görülebilir (2, 5, 8, 16, 20, 22). En iyi bilinenlerden birisi olan *T. mentagrophytes* var. *interdigitalis* ayak mikozlarından sıklıkla sorumludur (2).

Trichophyton tonsurans (*T. tonsurans*), daha çok çocuklarda tinea kapitisin epidemik formundan sorumludur. Zaman zaman erişkinlerde de bu infeksiyona neden olabilir. Saçta endotriks tip invazyona yol açar, kıl içini tümüyle dolduran zincirler biçiminde dizili sporlar görülür. Sporların baskısı ile saç patlar, kırılır ve saçlı deri kara noktalı (siyah noktalı ringworm da denilir) veya yolunmuş tavuk derisine benzer bir görünüm alır. İnfekte olan kıl Wood ışığında floresans vermez (2, 20). *T. tonsurans* kolonileri yavaş büyür ve değişik renklerde olabilir. Mikrokonidyumları gözyaşı damlası ya da çomak şeklinde olabilir. Ayrıca genişleyerek balon şeklinde de görülebilirler. Makrokonidyumlar pek görülmez. Hifa aralarında ya da uçlarında sıkça klamidosporeler görülür (2, 5, 8, 16, 20, 22).

Trichophyton verrucosum (*T. verrucosum*), başlıca sığırlarda ve sığırlarla ilişkili insanlarda dermatofit etkenidir. Ektotriks tipte mikoz yapar. Kolonisi yavaş ve en iyi 37°C'de ürer. Zincir yapmış klamidosporeler ve geyik boynuzu şeklinde sonlanan hifalar görülür. Bazen uzun, ince, düzensiz, fare kuyruğuna benzer makrokonidyumlar görülebilir (2, 5, 8, 16, 20, 22).

Trichophyton violaceum (*T. violaceum*), saçta endotriks tipte invazyon yaparak tinea kapitis nedeni olan diğer bir dermatofit türüdür. Kolonileri yavaş büyür. Kolonilerinde koyu mor lacivert pigment yapar (20).

Trichophyton schoenleinii (*T. schoenleinii*) insanlarda kellik (favus) etkenidir. Bu infeksiyon saçlı deriyi tutar. Endotriks tipte invazyon yapar ve infeksiyon alanında skutulom oluşumu, kabuklanma ve dökülen saç yerine ömür boyu saç çıkmaması ile karakterizedir. Geyik boynuzu şeklinde (favus şamdanları) hifaları tipiktir (2, 5, 8, 16, 20, 22).

Trichophyton türlerinin ayırımında bazı türlerin üremeleri için özel besiyerlerine gereksinim duymalarından da yararlanılır. Örneğin *Trichophyton concentricum* (*T. concentricum*), *T. violaceum*, *T. tonsurans*, tiamine; *Trichophyton equinum* (*T. equinum*), niasine; *Trichophyton megnii* (*T. megnii*), histidine; *T. verrucosum* ise hem tiamin hem de inositole gereksinim duyar (8, 23).

2.3.4. *Trichophyton rubrum* (T. rubrum)

Antropofiliktir ve dermatofit türlerinin en önemli ve en yaygın olanlarından biridir. Tüm dünyada yaygın olarak görülür ve özellikle saçsız deri ve tırnak infeksiyonları yapar. Tinea pedis, tinea corporis, tinea manum ve tinea unguium olgularında en sık izole edilen dermatofittir (16, 22). Morfolojik olarak en fazla değişkenlik gösteren dermatofit türüdür. Çeşitli farklı koloni formları oluşturur.

1. Downy (tüylü) form: En sık izole edilen formdur. Koloni yüzeyi beyaz, tüylü veya pamuk gibi ve tümsektir. Koloni ters yüzeyi başlangıçta koyu kahverengi, etrafı soluk kremi sınırla çevrilidir. Fakat 2-3 haftalık inkübasyondan sonra bu türlerin karakteristik pigmenti olan koyu kırmızı rengi alır. Mikroskopik olarak küçük gözyaşı şekilli, çomak gibi veya uzun mikrokonidyumları hiflerin kenarında yer alır. Bazı izolatlarında mikrokonidyum çok az olabilir. Tinea pedis ve tinea corporis'ten yaygın olarak izole edilir.

2. Melanoid form: Tüylü forma benzer. Fakat besiyeri içine yayılan kahverengi melanoid pigment üretir. Bu koloninin arka yüzündeki kırmızı pigmenti maskeler. Mikroskopik olarak küçük gözyaşı şekilli mikrokonidyumları hiflerin kenarında yer alır.

3. Dysgonik form: Koloni yavaş ürer. Koyu kırmızı kolonilerdir. Bu form stabil değildir. Kolaylıkla daha tipik tüylü forma döner.

4. Granüler form: Yüzeyi pudramsı veya granüler. Kremden pembeye değişir. Merkezde katlantılıdır. Arka yüzden görünümü kırmızı kahverengidir. Mikroskopik olarak çok sayıda düz, ince duvarlı, silindirik veya kalem şeklinde makrokonidyum yapar. Bazı makrokonidyumlar septalıdır.

5. Sarı form: Yüzeyi tüylü forma benzer veya düzgün, kayış gibi sert, sarı olabilir. Arka yüzden görünümü sarıdır. *T. rubrum*'un karakteristik kırmızı pigmenti yoktur.

T. rubrum'u *T. mentagrophytes*' den özellikle ayırt etmek gerekir. *T. mentagrophytes* in vitro kıl delme deneyi ile kılı deler ve 2-3 gün içinde Christensen's üre agarda üreaz aktivitesi gösterir. *T. rubrum*'un üreaz aktivitesi geç olur ve kılı delmez (24). Makrokonidyumlar üzerinden mikrokonidyumların gelişmesi *T. rubrum*'a özgüdür. %1 dekstrozlu cornmeal agar ve Patates Dekstroz Agar besiyerlerinde pigmentasyonu artar (2, 5, 8, 16, 20, 22, 25). *T. rubrum*'un özel vitamin veya aminoasit ihtiyacı yoktur(16).

2.4. DERMATOFİT İNFEKSİYONLARININ EKOLOJİK VE EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE RİSK FAKTÖRLERİ

Dermatofit infeksiyonları tüm dünyada yaygındır. Farklı bölgelerde farklı dermatofit floraları görülür. Bu floralar zamanla değişse de belli zamanlarda belli bölgelerde dermatofit floraları karakteristiktir (2, 9). *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* ve *E. floccosum* tüm dünyada yaygın iken *T. soudanense*, *T. gourvilli* ve *T. yaoundei* daha çok Afrika'da görülür. *M. Ferrugineum*'a ise Asya, Afrika ve Balkanlar'da rastlanmaktadır (2). *M. audouinii* ve *M. canis*, 50-100 yıl önce Batı ve Akdeniz Avrupa'sında, Amerika'da saçlı deri infeksiyonlarının en yaygın nedeni idi. Ancak bugün bu etkenlerin yerini *T. violaceum*, *T. tonsurans* ve *M. canis* almıştır ve ayrıca tinea kapitisin Avrupa'da insidansı da azalmıştır (14, 26, 17).

Türkiye'de de saçlı deri infeksiyonlarının etkenleri bölgelere göre değişmektedir. Tinea kapitis köylerde en çok *T. schoenleinii*, illerde ise *T. violaceum* ve *M. canis* ile oluşur (27). *T. verrucosum* Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde tinea kapitisin en sık nedeni iken, Ege Bölgesi'nde en sık etkenler *M. canis*, Akdenizde *T. violaceum* ve *T. schoenleinii*'dir. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de tinea kapitis ve inguinalis dışındaki dermatofitlerde en sık etken *T. rubrum*, ikinci sıklıkta ise *T. mentagrophytes*'tir. Tinea inguinaliste ise *E. floccosum* ilk sırada yer alır(27). Türkiye'de baskın dermatofitler Tablo 3'te özetlenmiştir. Dermatofitlerin yayılmasında ekolojik özellikleri de önem taşır. Antropofilik dermatofitler genellikle her ülkede bulunurken, jeofilik ve zoofilik türler belli bölgelerde genellikle sporadik infeksiyonlara neden olurlar (2, 7).

Tablo 3. Klinik tabloya göre Türkiye'de en sık görülen dermatofitler(27).

Tinea kapitis	<i>M. canis</i> <i>T. violaceum</i> <i>T. verrucosum</i>
Tinea corporis	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>M. canis</i>
Tinea inguinalis	<i>E. floccosum</i> <i>T. rubrum</i>
Tinea pedis	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes var. interdigitale</i> <i>E. floccosum</i>
Tinea unguium	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes var. interdigitale</i>

Antropofilik dermatofitler genellikle insandan insana direkt ya da elbise, tarak fırça veya çarşaf lar ile indirekt yolla bulaşabilir (8). Jeofilik türler bol miktarda konidyum üretirler. Zoofilik ve antropofilik türlerde ise konidyum üretimi azdır. *M. audouinii*, *T. rubrum*, *T. schoenleinii* ve *T. violaceum* gibi antropofilik dermatofitler kültürlerde yok denecek kadar az konidyum oluştururlar (16). Antropofilik dermatofitlerde bulaşıcılıkla ilgili olan en yaygın yapı, deri katları içinde ve infekte saçların içinde ya da dışında bulunan sporlar, artrokonidyumlar ya da klamidyosporlardır. Bu yapılar ısıya dirençlidirler ve çevrede yıllarca canlı kalabilirler (13, 16, 28). Bazı antropofilik türlerde artrokonidyumlar bazı vücut bölgelerinden alınan boynuzsu tabaka hücrelerine *in vitro* adhere olma eğilimindedir (13, 29). Bunlar deri hücrelerinden ayrılarak çevreye yayılırlar ve başka bir konağa bulaşabilirler (13).

Genel olarak zoofilik ve jeofilik dermatofitler şiddetli inflamatuvar lezyonlar oluştururlarken, antropofilik türler daha az şiddetli inflamatuvar lezyonlar oluştururlar (9, 16, 17). Jeofilik, zoofilik ya da antropofilik olarak türlerin belirlenmesinin majör önemi infeksiyon kaynağının belirlenmesidir. Örneğin, *M. audouinii* çocuklarda tinea kapitis neden olur ve temas sonucu diğer çocuklara da bulaş ile okullarda salgınlara yol açabilir. Bu nedenle infeksiyon kontrolü ve halk sağlığı açısından dermatofitlerin epidemiyolojisinin bilinmesi ve klinik örneklerden dermatofitlerin tür düzeyinde tanımlanması gerekir (13, 16).

Yaş, cins, sosyo-ekonomik koşullar, iklim dermatofit infeksiyonlarının sıklığını etkileyen diğer faktörlerdir (17). Tinea kapitis geniş ailelerde, kalabalık yerlerde yaşayanlarda ve düşük sosyo-ekonomik düzeydeki toplumlarda daha sıktır (3). Genellikle çocukluk çağı hastalığıdır ve puberteden sonra spontan olarak azalır. Bu epidermisteki proliferasyon hızındaki farklılığa ve yağ dokusundaki serbest yağ asitlerinin hem mantar hücresinin keratinositlere adezyonuna engel olmasına hem de antifungal aktivitesine bağlıdır (2, 7, 18). Bunun aksine tinea inguinalis genellikle erişkin erkeklerde, tinea pedis adölesanlarda ve genç erişkinlerde görülür. Özellikle kapalı ve havalanması iyi olmayan ayakkabı giyenlerde, askerlerde, spor salonları ve yüzme havuzları gibi ortak duş kullanılan yerlere gidenlerde görülür. Sıcaklık ve nem oranının arttığı mevsimlerde de tinea pedis sıklığında artma gözlenir (2, 13, 14, 30). Tinea pedis riski erkeklerde kadınlara oranla daha yüksektir (31, 17). Tinea inguinalis, dünyanın tüm bölgelerinde görülmesine rağmen tropikal bölgelerde daha sıktır. Ayrıca şişmanlık, ıslak mayo, dar giysiler infeksiyonu kolaylaştırıcı faktörlerdir (4, 5, 13, 16). Tinea barbae ise sıklıkla kırsal bölgelerde hayvanlarla uğraşan erkeklerde görülür (16).

Son yıllarda saçlı derinin dermatofit infeksiyonları azalmıştır. Bunun sebepleri köyden kente göç, her sporodik infeksiyonun hemen tedavi edilmesi ve yaşam koşullarının düzelmesi ile, tinea kapitisin sosyoekonomik düzeyi en düşük toplum kesimine sınırlanması ve bu hastaların sosyal güvenceleri olmadığı için üniversite hastanelerine gelememeleri olarak düşünülmüştür (32). Buna karşın tinea pedis ve sıklıkla ona eşlik eden onikomikoz sıklığının giderek arttığı görülmektedir (17). Bilgisizlik, temizlik koşullarına uyulmaması gibi nedenler dermatofit infeksiyonlarının yayılımını kontrol altına almayı zorlaştırır. Bu nedenle temizliğe dikkat etmek ve infekte materyallerin sterilizasyonu son derece önemlidir (2).

2.5. VİRULANS FAKTÖRLERİ VE KONAK YANITI

İnfektif organizmanın transferi esas olarak artrosporlar ile olur. Bu yapılar konağın dökülmüş saç ve epidermis artıklarından etrafa yayılır ve konak dışında 15 ay ya da daha uzun süre canlı kalabilirler (7, 33).

2.5.1. Adezyon-Keratinositlere Bağlanma

İnfeksiyöz artrokonidyumların fibriler materyali ile keratinositlere yapışması, invitro olarak temastan sonra yaklaşık iki saatte tamamlanmaktadır. Bu dönemde keratinositlerde çoğalma ve penetrasyon meydana gelir (3, 33, 34, 17).

2.5.2. Penetrasyon

Dermatofitler genellikle canlı olmayan keratinize deri, tırnak ve saça invaze olmaktadır. Canlı epidermis tabakalarına penetre olamamalarının nedeni normal serumun fungustatik etkisidir. Serum inhibitör faktörü olan doymamış transferrin dermatofitlere karşı korunmada önemlidir. İnvazyon esnasında mantar tarafından çeşitli proteolitik, musinolitik ve lipolitik enzimler salgılanır. Bu durum aynı zamanda mantara besin sağlar. Keratine özgül enzimler ve diğer proteinazların yanı sıra hifin uzaması ve çoğalması ile oluşan mekanik etkiler de rol oynar. Travma ve maserasyon penetrasyonu kolaylaştırmaktadır (33, 17).

2.5.3. Endo/Ekzoenzimler

Dermatofitozda patolojik reaksiyonların proteaz, keratinaz, üreaz, elastaz, deoksiribonükleaz, kollagenaz ve lipaz, fosfolipaz, glukozidaz, gibi enzimlerle ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bu enzimler arasında keratinaz konak dokusunun mantar tarafından invazyonuna yardımcı olmasıyla en önemli virulans faktörü kabul edilmektedir (3, 5, 7, 35, 33, 34, 10).

Proteazlar: Patojen mantarlarca aspartik proteazlar, serin proteazlar, metalloproteazlar salgılanır. *T. rubrum*'da bu proteazları kodlayan gen ailelerinin bulunduğu açıklanmıştır. Proteazlar konak kornifiye hücre yapısal proteinlerinin sindirilmesi yanında bağışıklık sistemi üzerine de tehlikeli etki yapabilmekte, ayrıca konağın diğer proteazlarını aktive ederek konağın peptidik proteaz inhibitörlerinin ve biyolojik peptidlerinin inaktivasyonuna neden olabilmektedirler (33, 34).

DNase aktivitesi: Bazı araştırmacılara göre dermatofitozun klinik özelliği ile ilişkilidir. Kronik dermatofitoz lezyonlarından izole edilen dermatofit suşları yüksek

DNase aktivitesi gösterirken, akut dermatofitoz lezyonlarından elde edilen türlerin DNase aktiviteleri düşük bulunmuştur (33, 34).

Elastaz : Bu enzimin salgılanması infeksiyonun daha inflamatuvar, akut olması ve virulansla ilişkilidir (34, 33)

Lipaz ve fosfolipaz üretimi: Bu enzimlerin mantar hücre membranının fonksiyonunda ve konak dokuya yayılmada yardımcı oldukları düşünülmektedir. DNase, elastaz, lipaz seviyelerinin çalışıldığı insan dermatofitozunda yüksek enzim seviyelerinin iltihabi yoğunluk ile paralel olduğu gösterilmiştir (33, 34).

Hemolizin: Ökaryotik hücreler üzerine por oluşturucu ve lizis etkisi gibi eritrositler ve fagositik hücreler üzerinde stotoksik etkisinin olduğu tanımlanmıştır. *Trichophyton* hemolizinlerinin gerçek etkilerinin ne olduğu bilinmemektedir. *T. rubrum*, *T. equinum*, *T. mentagrophytes* ve *T. verrucosum* gibi bazı türlerin koyun, at ve sığır kanlı agar besiyerlerinde hemoliz özellikleri araştırılmıştır. *T. rubrum*, *T. equinum*'un hem tam olmayan hem de tam hemoliz meydana getirdiği belirlenmiştir (34, 10)

2.5.4. Mannan

Mantar duvarındaki bir diğer major virulans faktörüdür. *T. rubrum* ile yapılan çalışmalarda konak bağışıklık cevabını baskıladığı gösterilmiştir. Mononükleer hücrelerle in vitro inkübe edildiğinde lenfoblast yapımını baskıladığı ve mitojenlerle diğer antijenik uyarıcılara karşı lenfosit proliferasyon cevabını inhibe ettiği saptanmıştır. Ayrıca keratinosit proliferasyonunu inhibe ederek epidermal deskuamasyonu yavaşlatmak suretiyle persistan ve kronik infeksiyonlar için zemin oluşturmaktadır (33, 34, 17)

2.5.5. Konak Yanıtı

Dermatofitozların patogenezinde fungal antijenlere karşı konağın immün yanıtı da önemli rol oynar. Konağın bu immünolojik cevabı infeksiyonun stratum korneum tabakasında sınırlı kalmasını sağlar (36). Mantar epiderminin alt tabakalarına geçince konağın savunma sistemleri harekete geçer, doymamış transferrin demir için yarışır ve progesteron mantar büyümesini inhibe edebilir. Bu noktada inflamasyonun derecesi yüksek oranda bağışıklık sisteminin aktivasyonuna bağlıdır. Mantarların neden olduğu dermatofitozlara karşı olan savunmada doğal ve kazanılmış bağışıklık mekanizmalarının

her ikisinde rol oynamaktadır. Bu savunma mekanizmaları arasında keratinaz inhibitörü α 2-makroglobulin, doymamış transferrin, epidermal deskuamasyon ve lenfosit, makrofaj, nötrofil ve mast hücreleri sayılabilir. Doymamış transferrin demir bağlama kapasitesinden bağımsız olarak, hifleri bağlayarak büyümeyi inhibe edebilmektedir. Yağ bezlerinden salgılanan yağ asitleri inhibitör etki gösterirler. Bir başka potansiyel faktör kommensal *Malassesia* mayalarının lipoliz yapma yeteneğidir. Bu da yağ asitleri havuzunu artırarak inhibitör aktiviteyi ortaya çıkarır (13, 36, 33)

Bazı mantarlar kemotaktik faktörler oluştururlar. Diğerleri kompleman sistemini aktive ederler ve kompleman türevi kemotaktik faktörler yaparlar. Bu durum *T. rubrum*'da gösterilmiştir. Keratinositler IL-8 salgılayarak, trikofitin gibi antijenlere cevap çıkartmak için kemotaksisi indüklerler (33, 17). Makrofajların birikmesi serbest radikal nitrik oksit yolu ile mantar üremesini inhibe eder. Mantar mannanları bu cevaba inflamasyon ve fagositozu inhibe ederek karşı cevap verir. Ayrıca dermatofitlerin ürettiği katalaz ve süperoksit dismutaz, fagosit miyeloperoksidaz sistemine karşı bir savunma mekanizması oluşturur (33, 17)

Dermatofitlerde glikopeptidler ve keratinazlar olmak üzere iki majör antijen sınıfı vardır. Glikopeptidlerin protein kısmı hücrel bağışıklığı, polisakkarit kısmı ise sıvısal bağışıklığı uyarmaktadır. Antikorların dermatofitlere karşı koruyucu olduğuna dair çok az kanıt vardır. Konakta dermatofit infeksiyonlarına karşı IgM, IgG, IgA, ve IgE antikorları oluşur. Kronik infeksiyonlu hastalarda bu antikorların yüksek titrelerde saptanması infeksiyonun eliminasyonunda rolleri olmayacağını düşündürmüştür. Sıvısal bağışıklığın büyük oranda etkisiz olmasının bir nedeni infeksiyon yerinin vasküler sistemden uzak olması şeklinde açıklanmıştır. Dermatofitlere karşı savunmada hücrel bağışıklık anahtar rol oynar. Tip IV veya geç tip aşırı duyarlılık yanıtı dermatofitozun iyileşmesinde önemli bir rol oynamaktadır (13, 15, 28, 36, 37, 38, 33)

Dermatofitozlu hastalar genellikle sağlıklıdırlar. Bununla birlikte kalıtsal ya da kazanılmış immun yetmezlikli hastalar ve ailesel endokrinopatili (Cushing's sendromu, diabet gibi) hastalar kronik dermatofitozise yatkındırlar (15, 16, 36, 33)

İnfeksiyonun yayılımı ve seyrinden tek bir faktör sorumlu değildir. Dermatofitlerin deriyi infekte etme yeteneğini birkaç faktör etkiler. Bunlar nemli ve sıcak ortam, stratum korneumun kimyasal yapısı, anatomik lokalizasyon, derinin hidrasyon

derecesi ve karbondioksit basıncı, epidermal yenilenme hızı, dermatofit cinsi, üreme hızı, sayısı, temas süresi, invaze olma yeteneği ve keratinaz üretim seviyesi, yaş, cinsiyet, genetik ve ırk faktörleri, endokrin ve metabolik faktörler, yarışmacı organizmalardır (6, 7, 13, 15, 36, 33, 34). İnfeksiyonun oluşabilmesi için mantar üreme hızının epidermal yenilenme hızından fazla ya da eşit olması gerekir (36, 37 , 17).

Zaman zaman immun yetmezlikli konakta lenf ödem, granüloma ile görülen derin dokulara invazyon, çoklu organ tutulumu hatta dermatofit infeksiyonlarına bağlı ölüm görülebilir (7, 39-41).

2.6. KLİNİK GÖRÜNÜMLER

Birçok dermatofit türü çeşitli klinik sendromlara neden olur. Aynı türler tuttukları anatomik lokalizasyonlara göre birbirinden tamamen farklı semptomlara neden olabildiği gibi, farklı türler de klinik olarak benzer lezyonlar oluşturabilirler. Dermatofiterin neden olduğu klinik tablolar, etkilenen vücut bölgesine “tinea” kelimesinin eklenmesiyle adlandırılır (2, 3, 5-7, 13). Bu klinik tablolar ve en sık etiyolojik ajanlar tablo 4’te gösterilmektedir.

Tinea kapitis, tüm dünyada görülen bir infeksiyon olmakla beraber erişkinlerde daha nadir görülür. En sık rastlanan etyolojik ajanlar *T. tonsurans*, *M. audouinii*, *M. canis*’tir (42). Klinik olarak, *M. audouinii* ve *M. ferrugineum*,’un yaptığı yüzeysel tip “Tinea kapitis süperficialis”, *M. canis* ve bazen *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *M.gypseum*’un sorumlu olduğu yangılı derin tip “Tinea kapitis profundus”, ve *T. tonsurans* ve bazen *T. violaceum*’un yaptığı siyah nokta tinea kapitisi biçimlerinde görülmektedir (4, 5, 7, 13, 32, 17, 42). Amerika’da tinea kapitiste en sık rastlanan etken *T. tonsurans*’tır. *T. tonsurans* insidansı artarken *M. audouinii* insidansı azalmaktadır (42). Hem deri yüzeyi hem de saçlar tutulur. Saçta ektotriks ve endotriks invazyon görülür (2, 6, 43, 17). Pullu, eritemli lezyonlar, alopesi, bazen derin, ülseratif, kerion benzeri döküntüler vardır. Konak savunması ve patojenin türüne göre noninflamatuvar ve inflamatuvar tip olmak üzere iki tür klinik görünüm mümkündür (2). Ülkemizde en sık saptanan etkenler *M. canis*, *T. violaceum*, *T. verrucosum*’dur (27).

Tablo 4. Klinik tablo, etkilenen bölge ve etiyolojik ajanları (16,42).

Klinik tablo	Etkilenen vücut bölgesi	En sık etiyolojik etken
Tinea kapitis	Kafa, kaş ve kirpik	<i>Microsporum spp.</i> <i>Tricophyton spp.</i>
Tinea favosa	Kafada favus nedeni	<i>T. schoenleinii</i>
Tinea barbae	Sakal ve bıyık	<i>T. mentagrophytes</i> <i>T. verrucosum</i>
Tinea corporis	Kılsız deri	<i>T. rubrum</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>M. canis</i>
Tinea cruris	Kasık, perianal bölge	<i>E. floccosum</i> <i>T. mentagrophytes var. interdigitale</i> <i>T. rubrum</i>
Tinea pedis	Ayak	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophyte</i> <i>E. floccosum</i>
Tinea manum	El	<i>T. rubrum</i>
Tinea unguium	El ve ayak tırnakları	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. violaceum</i> <i>E. Floccosum</i>
Tinea imbricata	Kılsız deri	<i>T. concentricum</i>

Tinea korporis, sıcak ve nemli iklimlerde fazla olmak üzere tüm dünyada, her yaşta ve her cinste görülebilir. Dermatofitlerin her üç türü de etken olabilir (2, 4, 5, 13). En sık görülen etkenler *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis*'dir. *T. tonsurans*'in tinea corporis nedeni olarak insidansı belirgin şekilde artmaktadır. Ülkemizde en sık rastlanan etken ise *T. rubrum*'dur (44, 27, 17, 42). Hastalığın başlangıcında annüler, eritematöz, papüloskuamöz lezyonlar ortaya çıkar. Lezyon hızla ekzantrik olarak yayılır. Kenarlar aktiftir ve iyi saptanan sınırları vardır (2).

Tinea inguinalis'in (Tinea kruris) Türkiye'deki en sık görülen etkeni *E. floccosum*, ikinci sıklıkta ise *T. rubrum*'dur (44, 27, 17). *E. floccosum*'un akut eritematöz ve kronik likenifiye, plak benzeri lezyonları vardır. *T. rubrum*'un akut formu eritem, vezikül, eksudasyon, ekskoriasyon gösterirken kuru tipi deskuamasyon ve likenifikasyon gösterir (2).

Tinea pedis, en yaygın görülen dermatofit infeksiyonudur (30). *T. rubrum*, *T. mentagrophytes var. interdigitale* ve *E. floccosum* neden olmaktadır (2, 30, 45.). Hastalığın üç klinik formu vardır: kronik intertriginöz, subakut vezikülöz, skuamöz veya kiperkeratotik “moccasin tip”. İntertriginöz tipte lezyon dört parmak arası bölgeye lokalizedir. Bölge epiteli beyaz, masere ve ıslaktır. Epidermis eritematöz, ıslak ve kırmızıdır. Vezikülöz tip veziküllerin ve püstüllerin varlığıyla karakterizedir. Veziküllerin içindeki sıvı sekonder infeksiyonlara kadar temiz ve yapışkandır. Skuamöz veya kiperkeratotik tip eritemli kalın yüzeye oturmuş, kepekli görünüştedir (2, 17).

Tinea manum ise tek başına nadir görülen bir infeksiyondur. Genellikle diğer alanların, özellikle de ayakların dermatofit infeksiyonu ile birlikte dir. En yaygın patojen *T. rubrum*'dur. El ayası ve parmak araları tutulur. Kuru, skuamlı hiperkeratotik lezyonlar oluşturur (2, 9, 13, 17).

Tinea barbae sıklıkla *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum* ve bazen *M. canis*'in boyun ve yüzün sakallı kısmında yaptıkları kronik infeksiyonudur. Süperfisiyel tipte pullu merkezi çevreleyen aktif vezikülopüstüler sınır vardır. Kıllar matlaşır ve kolay kırılır hale gelirler. Santral kısımda alopesi alanları gelişir. Derin tip infeksiyon ciddi inflamatuvar püstüler follikülit, apse formasyonu, nodüllerle karakterizedir (2, 13, 17, 42).

Onikomikoz terimi genel olarak tırnağın tüm fungal infeksiyonlarını tanımlamada kullanılır (13, 16). Tinea unguium ise spesifik olarak tırnak yüzeyinin dermatofit invazyonu olarak tanımlanır (13, 14). Onikomikoz en yaygın görülen tırnak bozukluğudur ve tüm tırnak hastalıklarının %40'ını, tüm kutanöz fungal infeksiyonların da %30'unu oluşturur (46). Özellikle kronik tinea pedis olanlarda görülme olasılığı fazladır (2, 16). Tırnağın fungal infeksiyonlarında en yaygın etyolojik ajan %80-90 oranında dermatofitlerdir (31, 32). Tırnak yüzeyine fungusun invazyonuna, klinik görünümüne ve neden olan etkene göre karakteristik onikomikoz tipi bilinir: i) Distal Subungual Onikomikoz (DSO) en yaygın tiptir, tırnak yüzeyinin alt yarafı ve tırnak yatağının invazyonu ile karakterizedir ve genellikle *T. rubrum* neden olur. ii) Proksimal Subungual Onikomikoz (PSO)'da organizma kütikül alanları aracılığıyla proksimal tırnak katı yoluyla invaze olur ve distale ilerler. Esas etkeni *T. rubrum*'dur. Genel popülasyonda onikomikozun en nadir türü olmasına rağmen, Acquired Immunodeficiency Sendrome (AIDS)'lu hastalarda yaygındır ve Human

Immunodeficiency Virus (HIV) infeksiyonunun erken klinik bir işareti sayılır. *iii*) White Superficial Onikomikoz (WSO), DSO'den daha az yaygındır, direkt olarak tırnak yüzeyinin süperfisiyel tabakasına invaze olur. Dış tırnak yüzeyinde çok belirgin opak "beyaz adacıklar"ın varlığı ile tanımlanabilir. En yaygın etyolojik ajanı *T.mentagrophytes*'dir. Tırnağın *Candida* infeksiyonları kronik mukakutanöz kandidozlu hastalarda meydana gelir ve en sık izole edilen maya *C.albicans*'tır. Organizma tüm tırnak yüzeyine invaze olur (14, 47, 42). Hem *Candida* dışı mayalar hem de *Scopulariopsis*, *Scytalidium*, *Acremonium*, *Aspergillus* ve *Fusarium* türleri gibi non-dermatofitik funguslar da onikomikoz etkeni olabilirler (7, 48, 49).

2.6.1. Dermatofitid (id reaksiyonu)

Dermatofitid reaksiyonu %4-5 hastada görülmektedir. Duyarlı kişilerde fungusun ya da bunun metabolik artıklarının sistemik olarak absorbe olması sonucu organizmada aşırı duyarlılık oluşur ve sekonder erupsiyonlar meydana gelir. Buna id reaksiyonu denir. İd reaksiyonu nadiren yayılır. Bir reaksiyona id reaksiyonu denilebilmesi için vücutta bir dermatofit infeksiyonunun bulunması, id lezyonu kabul edilen lezyonlarda mantar elemanının bulunmaması ve trikofitin antijeni ile yapılan deri testinin pozitif olması gerekir. En sık veziküler, ekzematik, kuru döküntülü tinea pedis ve başın inflamatuvar tineası ile birlikte dir. Vücutta en sık ellerde görülür ve esas infeksiyonun iyileşmesi ile geriler (2, 6, 7, 33).

2.7. DERMATOFİTOZLARDA LABORATUVAR TANI

Fungal infeksiyonların kendine özgü klinik görünümleri olmadığından çoğu zaman diğer hastalıkların klinik görünümleri ile karıştırılırlar. Bu nedenle mantar infeksiyonlarının kesin tanısı için etkenlerin izolasyonu gerekmektedir (2, 13, 50). İnfeksiyonlarda etyolojik etkenin izolasyonunda başarı sağlamak için, uygun örneğin alınması, laboratuvara hızlı transportu, örneğe uygun bir laboratuvar yönteminin uygulanması, uygun besiyerine ekim yapılması ve uygun ısıda inkübe edilmesi gerekir (51).

2.7.1. Örneğin alınması ve transportu

Tanıda doğru sonuca ulaşmak için örneğin steriliteye uyularak alınması gerekir. Direkt mikroskopik inceleme ve kültür için yeterli miktarda klinik örnek alınmalıdır.

Örneklerin alınması ve transportu için gerekli malzemeler; steril tırnak makası, deri kazıntısı almak için steril küretler, saçların epilasyonu için forsepsler ve cımbız, ağırlı alanların temizlenmesi için steril su, dezenfeksiyon için % 70'lik alkol, steril gazlı bez ve örneklerin konup transportu için temiz kutular ya da kağıt zarflardır. Siyah fotoğrafik kağıtlar örneklerin daha iyi görünebilmesi bakımından kullanışlıdır. Kapalı tüpler kontaminantların üremesini kolaylaştıracak nemi sağladığından örnek alımı için tercih edilmez. Saçlı deriden örnek toplanması için steril fırçalar tavsiye edilir. Saçlı deriden forseps ile saçlar alınabilir(5, 6).

Kılsız deri lezyonları ve kıvrım yerlerinden örnek almadan önce bu alanlar %70'lik alkol veya steril distile su ile silinmelidir. Bu işlem, lezyona bulaşmış olan diğer mikroorganizmaları ve daha önceden uygulanmış olabilen ilacı uzaklaştırır. Alan kuruduktan sonra künt bisturi ile lezyonun aktif kenarından kazınmalı, epidermal kazıntılar toplanmalıdır. Veziküler lezyonlarda vezikülün tepesi steril makas ile çıkarılarak örnek alınmalıdır (5, 13, 16).

Tırnak örneğini almadan önce olası kontaminantları uzaklaştırmak için temizlenmelidir. Onikomikozda invazyon alanı ve infeksiyonun lokalizasyonu farklı olduğundan farklı tiplerinde yaklaşım da farklıdır. DSO ve PSO'da en çok tırnak yatağı invaze olduğundan PSO'da sağlıklı tırnak yüzeyleri steril küçük küretlerle kazınıp atılmalı, DSO'da tırnak kısaca kesilmeli ve örnek canlı fungus konsantrasyonunun en fazla olduğu tırnak yatağından alınmalıdır.

Gri renkli, kırık saçlar ya da cımbız ile kolayca çekilebilen saçlar, skuamlar uygun örneklerdir (52). Endotriks tipte invazyon olan saçlar steril bisturi ucu ile kazınmalıdır. Çünkü infekte saçlar genellikle saçlı deri seviyesinde kırılırlar, etken mantar köklerde veya 1-2 mm kök üzerinde bulunmaktadır (5, 53, 52).

2.7.2. Direkt mikroskopik inceleme

Direkt mikroskopik inceleme, mantar infeksiyonlarının tanısında kullanılan en hızlı, ucuz ve etkili tarama testidir (5, 13). Lam üzerine konulan örneğe % 10-25'lik potasyum hidroksit (KOH) veya sodyum hidroksit (NaOH) solüsyonu eklenerek preparat hazırlanır. Bu şekilde hazırlanan preparat ile fungusun varlığı ya da yokluğu belirlenir, ancak özgül patojen identifikasyonu yapılamaz. Epitel veya tırnak kazıntı

örneklerinde maya hücreleri, bölmeli, dallanan ya da dallanma göstermeyen, artrospor yapan ya da yapmayan hifalar aranır (5, 13, 16, 17). Değerlendiren kişi tarafından yaklaşık %5-15 oranında yanlış negatif sonuç olabileceği de bilinmelidir (13).

Örnek ile KOH solüsyonu karışımı mikroskopta incelenmeden önce, alınan epidermal dokunun kolayca yayılabilir hale gelebilmesi için, örnek eriyene kadar alevde ısıtılır ve oda ısısında bir süre bekletilir. Daha çabuk sonuç alabilmek için modifikasyonları yapılmıştır. Lipidlerin emülsifikasyonu için %10-20 KOH ya da NaOH solüsyonuna %5-10 gliserin eklenebilir (gliserin özellikle tırnak örneklerinde KOH'in kristalize olmasını geciktirir), %20 KOH'e penetrasyonunu kolaylaştıran %36 dimetilsülfoksit eklenebilir ya da var olan hifanın daha iyi görülebilmesi için kitin spesifik Chorazol black E boyası ile boyanabilir. Bu işlem, mantar elemanın sayısı az ise veya yanlış yorumlanabilecek pamuk ya da elastik lifler gibi olası kontaminantları boyamaması nedeniyle değerlidir. Görünümü kolaylaştırmak için KOH preparasyonuna Parker superkrom mavi-siyah mürekkebi eklenebilir, ancak bu kitine özgül bir boya değildir. Ayrıca örnekler mantar hücrelerin belirlenebilmesi için Calcoflour beyazı ve Congo kırmızısı gibi floresan boyaları ile boyanarak ultraviyole (UV)-floresan mikroskopta incelenebilir (5, 13, 14, 16).

İnfekte saçların görünümü dermatofit türüne bağlıdır. Saçın endotriks, ektotriks ve favik tutulumunu direkt mikroskopik inceleme ile tanımak mümkündür. Ektotriks ve endotriks terimleri saçta artrosporların lokalizasyonunu gösterir. Ektotriks lokalizasyonda artrosporlar saç yüzeyinde mozaik bir kılıf ya da zincir şeklinde yapılar olarak görülürler (5, 17). İnfekte saçlar karanlık odada Wood ışığı ile (süzülmüş UV, dalga boyu 365 nm) incelenebilir. *M. canis*, *M. ferrugineum* ve *M. audouinii* gibi küçük sporlu ektotriks tipte invazyon yapanlar parlak yeşil renkte, *T. schoenleinii* koyu yeşil renkte floresan verirler. Diğer ektotriks ve endotriks tipler floresan vermezler (5, 17).

2.7.3. Mikolojik Kültür

Fungal etkenlerin izolasyonu için en yaygın kullanılan standart besiyeri Sabouraud Dekstroz Agardır (SDA). Bu besiyerine bakterilerin üremesini inhibe etmek için kloramfenikol ve gentamisin, saprofitik fungusların üremesini inhibe etmek için ise sikloheksimit eklenir (16, 17). Yüzeysel mikozlarda *C. albicans* ve diğer maya türleri ya da non-dermatofitik funguslar da etken olabilirler. Bu nedenle bu etkenlerin

izolasyonunda, bazı mayaların ve non-dermatofitik küflerin sikloheksimite duyarlı oldukları düşünülerek sikloheksimitsiz besiyerleri de kullanılmalıdır (49, 54).

Dermatofitlerin izolasyonunda bu besiyerlerine alternatif besiyerleride kullanılır. Primer izolasyon besiyeri olarak kullanılan Patates Dekstroz Agar (PDA), bazı dermatofitlerin pigment oluşumunu ve konidial gelişimini artırarak tanıyı kolaylaştırır (16, 24, 23, 17, 55). Diğer bir selektif besiyeri Dermatofit Test Medium (DTM)'dur. Bu besiyeri antibakteriyel olarak klortetrasiklin ve gentamisin, antifungal olarak sikloheksimit ve dermatofit varlığında sarıdan kırmızıya renk değişimine neden olan pH indikatörü fenol kırmızısı içerir. Dermatofitlerin üremesi ile ortama alkali metabolitler salınmasıyla 10-14 gün içinde pH'da artma ve bunun sonucunda besiyerinde renk değişimi gözlenmektedir. Ancak besiyerindeki antifungal ilacın inhibe edemediği non-dermatofitik funguslar ve bazı bakterilerde ürer fakat renk değişimi yapmazlar. Ayrıca besiyerinde oluşan renk nedeniyle koloni morfolojisini değerlendirmek güçleşir (5, 13, 23, 56, 17). DTM'deki bu sorunları gidermek için Dermatofit Identification Medium (DIM) geliştirilmiştir. Bu besiyerinde üreme duyarlılığı %99, özgüllüğü ise %95.7 olarak bildirilmiştir. Bu oranlar da antifungal ilaç konsantrasyonunun daha yüksek olması ve 37°C'de inkübe edilmesine bağlanmıştır (56). Bazı *Trichophyton* türlerinin üremeleri için mutlaka veya kısmen ihtiyaç duydukları vitamin ve amino asitler içeren özel besiyerleri, *Trichophyton* agarlar vardır (5, 22).

Besiyerlerine ekim batırarak örnek besiyeri içinde ve dışında kalacak şekilde yapılır (6). Ekilen kültürler genellikle 25-30°C ya da 37°C'de, mayalar 24-48 saat içinde ürediği halde küf mantarları daha geç ürediğinden 3-4 hafta bekletilmelidir (5, 16).

2.7.4. İdentifikasyon

Birçok fungusun idantifikasyonunda SDA gibi primer izolasyon besiyerindeki koloni özellikleri ve mikroskobik morfolojileri temel alınır (5, 16). Koloni karakteristikleri olarak; *i*) koloninin yüzey (havasal miçel gibi) ve taban rengi; *i*) yüzey yapısı (düz, yün gibi, pudramsı, mumsu, granüler, süetimsi, kadifemsi, tüylü, kabarık); *iii*) koloninin topografisi (düz, yassı, kabarık, ışnsal, beyinimsi ve krater şeklinde);

iv) üreme hızı değerlendirilir (5, 16, 22, 57). Üreyen etyolojik etkenlerin ince yapılarını incelemek için mısır unu agar ve Patates Dekstroz Agar besiyerlerinde lam kültürleri yapılabilir. Bu besiyerlerindeki pigmentasyon da identifikasyon için ayırıcıdır (6,16).

Üreyen etkenden besiyeri üzerinden bir öze veya selofant bant ile alınan koloni parçasında veya lam kültüründe oluşan fungal elemanların mikroskopik incelemeleri yapılır. Makro ve mikrokonidyumları, hif görünümleri tanı için önemlidir. Morfolojik yapıları daha iyi değerlendirmek için boya olarak laktofenol pamuk mavisi kullanılabilir (22, 58).

Dermatofitlerin tanısı, morfolojik özelliklerinin yanında kıl delme ve üre hidroliz deneyi gibi fizyolojik testlerle de doğrulanır (22). Kıl delme deneyi *T. mentagrophytes* ile *T. rubrum*'un ve *M. canis* ile *M. equinum*'un ayırt edilmesinde kullanılır. *T. mentagrophytes* ve *M. canis* kılı üçgen şeklinde deler, *M. equinum* ile *T. rubrum* delmez (5, 58, 27, 17, 55). Üre hidroliz deneyi, Christensen's üre agar ve brothu kullanılarak *T. rubrum*'un, üreaz aktivitesi bulunan *T. mentagrophytes* ve *T. megnii*'den ayırt edilmesinde kullanılır (58, 27, 17). Ayrıca özel besiyeri gereksinimleri, ısıya tolerans ve toleransın artırılması da kullanılan diğer fizyolojik testlerdir (5, 17).

Moleküler yöntemler kullanılarak da dermatofitlerin identifikasyonu yapılmaktadır. Tanımlama çalışmalarında 'Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD)', 'Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)', nükleotid dizi analizleri, özgül veya panfungal PCR, özgül prob hibridizasyonu sıklıkla kullanılan moleküler tekniklerdir (59, 60, 58, 61).

2.8. ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ

Mantar infeksiyonlarının insidansı 1980'lerden bu yana giderek artmaktadır. Bunun nedenleri AIDS, immun sistemi baskılayan yoğun tedaviler, uzun süren nötropeni, geniş spektrumlu antibiyotiklerin fazla kullanılması, hücresel yanıt bozukluğu, kemik iliği ve solid organ transplantasyonlarıdır (62, 63, 64). Bu hastalarda mantar infeksiyonu atipik, ağır ve yaygın seyretmektedirler. Son 10 yıl içinde, yeni, daha az toksik ve daha etkili antifungal ilaçların kullanıma girmesiyle birlikte

dermatofitozların tedavisinde de önemli aşamalar gerçekleşmiştir. Tinea kapitis ve tinea unguium dışında kalan ve sınırlı lezyonlarla seyreden olgularda topikal tedavi ile başarı sağlamak mümkün olmakta, yaygın infeksiyonlarda, tinea kapitis ve tinea unguium gibi lezyonlarda sistemik tedavi gerekli olmaktadır. Dermatofitozların sağaltımı için giderek artan sayıda antimikotik bulunmakla birlikte yine de sağaltıma yanıt alınamayan olgular ve relapslar izlenebilmektedir (65). Etken fungusa etkili olduğu bilinen antifungal ilaç ile tedavi sırasında dirençlerin görülmeye başlaması, alternatif ilaçların etkisinin araştırılması gerektiğinde *in vitro* ve *in vivo* uyumun belirlenmesi için yeni antifungal ilaçların *in vitro* duyarlılık testlerinin uygulanması gerekmektedir (12, 62, 63, 64, 61).

Ancak mantarlardaki morfolojik çeşitlilik, üreme hızı ve optimal üreme koşullarındaki farklılıklar yapılan *in vitro* çalışmalarda kullanılan yöntemlerde standardizasyonu etkilemektedir (12). Maya ve küf mantarları için antifungal duyarlılık testlerinin standardize edilmesi ile birlikte dermatofitler için de benzer şekilde referans yöntem oluşturma ve bu yöntemin klinik yanıtı yansıtma yönünden önemini belirleme ile ilgili çalışmalar dinamik bir sürece girmiştir (64).

Antifungal duyarlılık testleri (AFDT) günümüzde, yeni geliştirilen ilaçların *in vitro* etki spektrumlarını araştırmak, direnç oranlarına ilişkin epidemiyolojik veriler elde etmek ve antifungal ilaçlarla infeksiyon etkeni olan mantarların *in vitro* etkileşimlerini inceleyerek klinik yanıtla ilişkin öngörülebilir bulunabilmek amacıyla kullanılan testlerdir. Bu testlerin geliştirilmiş ve standardize edilmiş olması, *in vitro* aktivite, etki spektrumu ve direncin araştırılabilmesi açısından mikoloji alanında önemli bir adım olmuştur. 1982'de NCCLS("National Committee for Clinical Laboratory Standards") (yeni ismiyle "CLSI"- "Clinical and Laboratory Standards Institute") tarafından AFDT alt komitesi kurulmuştur. Komite; pek çok denemenin sonucu küf mantarlar için 1998' de M38-P ve yeni düzenlemesi ile 2002 de mikrodilüsyon yöntemi M38-A yayımlamıştır. Bu rehberde, testte kullanılacak inokulum miktarı, besiyeri içeriği, ısı ve inkübasyon süresi gibi değişkenlerin ve MİK (minimal inhibitör konsantrasyon) belirleyen son değerlerin standardizasyonu ortaya konmuştur. Bunun dışında disk difüzyon (NCCLS M44-A) ve E test gibi diğer yöntemler de mevcuttur(65, 66).

2.8.1. AFDT uygulamasında başarısızlık nedenleri

CLSI ile uyumlu, kolay uygulanabilir yeni testlerin üretilmiş olmasına karşın, halen literatürde AFDT ile klinik sonuç arası doğrudan bağlantıyı gösteren veriler yok denecek kadar azdır. Ancak, çapraz direncin giderek artması ve buna bağlı olarak tedavide başarısızlık olasılığının (%46) yüksek olması söz konusudur. Uygun olmayan antifungal tedavisinin, başarısız sonuç için bir belirteç olduğu gösterilmiştir. Bazı kurumlarda, sonuçların geç bildirilmesi (10 gün) ya da kayıt edilmemesi (%58) gibi nedenlerle AFDT' nin başarısız olduğu bildirilmiştir (61). Karşılaşılan önemli sorunlardan birisi de antifungal ilaçların duyarlılık ya da dirençlilik sınırlarının (break point) tam olarak belirlenememiş olmasıdır (67). Yerel antibiyogram yapılması (o bölgedeki / o merkezdeki) klinisyene ampirik kullanılan antitungalilerin seçiminde yardımcıdır (61).

2.9. TEDAVİ VE KORUNMA

Antifungal ilaçlar antibakteriyel ilaçlara göre daha toksik ilaçlardır. Bunun nedeni mantar hücrelerinin memeli hücreleri gibi ökaryotik olmalarıdır (68, 69). Yüzeysel infeksiyonların özellikle tinea kapitis ve tinea unguium dışındaki infeksiyonların tedavileri topikal ajanlarla olur. Bununla beraber onikomikozda topikal ajanlar genellikle tırnak ünitesine penetre olamadıklarından bu infeksiyonların ve tinea kapitis infeksiyonlarının tedavileri için sistemik etkili antifungaller kullanılır. Geniş ve kronik seyirli deri lezyonlarında ve topikal ajanlar ile sonuç alınmadığında da sistemik etkili antifungaller kullanılabilir (11, 14). Antifungalin infeksiyon alanında etkili kür sağlayabilmesi için yeterince uzun süre terapötik konsantrasyonlarda olması gerekmektedir. Deri lezyonlarının iyileşme süresi genellikle 2-4 hafta, el tırnakları için 3-6 ay, ayak tırnakları için 6-12 aydır. Mikolojik kontrol yapıldıktan sonra tedavinin kesilmesi güvenli bir yoldur (14). Antifungal ilaçlar ve etki ettikleri funguslar Tablo 5'de özetlenmiştir.

Tablo 5. Antifungal ilaçlar ve etki ettikleri funguslar(11, 68, 70).

Antifungal ilaç	Etki ettikleri funguslar
Polienler	
Nistatin	Kandida türleri
İmidazoller	
Klotrimazol	Dermatofitler, Kandida türleri, <i>M. furfur</i>
Ekonazol	Dermatofitler, Kandida türleri, <i>M. furfur</i>
Ketokonazol	Dermatofitler, Kandida türleri, <i>M. furfur</i>
Mikonazol	Dermatofitler, Kandida türleri, <i>M. furfur</i>
Sulkonazol	Dermatofitler, <i>M. furfur</i>
Oksikonazol	Dermatofitler
Triazoller	
Itrakonazol	Dermatofitler, Kandida türleri, <i>M. furfur</i>
Alilaminler	
Naftifin	Dermatofitler
Terbinafin	Dermatofitler, Kandida türleri
Benzilaminler	
Butenafin	Dermatofitler, Kandida türleri
Griseofulvin	Dermatofitler
Hidroksipridon	
Sikloproks olamin	Dermatofitler, Kandida türleri, <i>M. furfur</i>
Tiyokarbamatlar	
Tolnaftat	Dermatofitler, Kandida türleri

2.9.1. Griseofulvin

Griseofulvin oral yolla alınan sistemik etkili, fungistatik antifungaldir. Duyarlı mantar hücrelerindeki mikrotübüllerin proteinine bağlanıp mitozu önler ve bundan dolayı proliferatif hücrelere karşı etkilidir. Etki spektrumu dardır, yalnızca dermatofitlere etkilidir (11, 68, 71). Derinin keratin tabakasında birikir, ancak kısa süreli tedavi sırasında tırnak yüzeyinde terapötik düzeyde kalmaz. Bu nedenle tedavinin etkili olabilmesi için uzun süre alınması, özellikle tırnak infeksiyonlarında tırnak uzayana kadar tedaviyi devam ettirmek gerekir (14, 68).

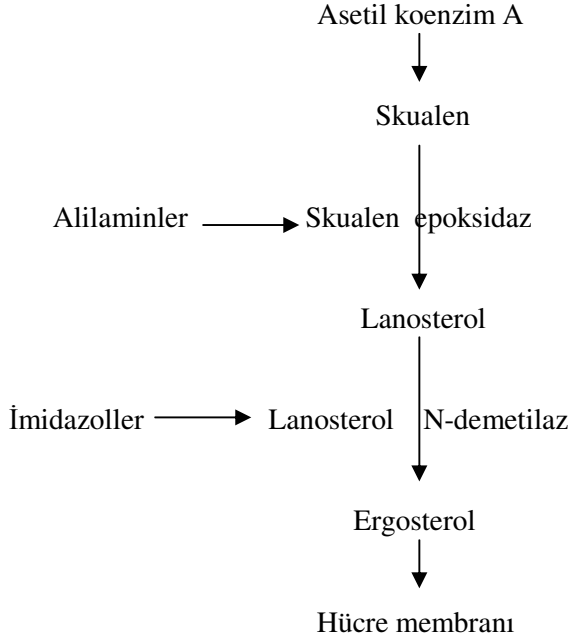
2.9.2. Siklopiroks olamin

Siklopiroks olamin, bir hidroksipridondur ve topikal olarak kullanılır. Düşük konsantrasyonlarda hücre membran protein sentezi için amino asitlerin hücre içine transportunu durdurur. Yüksek konsantrasyonlarda hücre membranını değiştirerek hücre içeriğinin kaybedilmesine neden olur (72, 11,73).

2.9.3. Azoller

Sitokrom p-450 enzim sisteminde yer alan ve lanosterolün ergosterole dönüşümünü sağlayan 14- α -demetilaz enzimini inhibe eder. Ergosterol fungal hücre membranının önemli bir bileşenidir ve membran bütünlüğü ve fungal üreme için gereklidir. Ergosterol biyosentez yolu Şekil 1'de gösterilmiştir (71). Azol antifungaller imidazol ve triazol olmak üzere 2 gruba ayrılır. İmidazol grubunda ketokonazol, mikonazol, ekonazol, sulkonazol, klotrimazol ve triazol grubunda ise flukonazol, itrakonazol bulunur (11, 69, 71, 74).

Şekil 1.Ergosterol biyosentez yolu (71)



Ketokonazol: Ketakonazol, lokal ve sistemik kullanılabilen bir azol türevidir. Ergosterol biyosentezini inhibe eder ve hücre membran permeabilitesini artırır. Dermatofitlere ve mayalara etki edebilen geniş spektrumlu bir imidazol türevidir (11, 68, 69).

Itrakonazol: Itrakonazol, sistemik etkili sentetik bir triazol türevi azoldür. Aktivitesinin geniş spektrumlu olması ve keratine yüksek affinitesi olmasından dolayı erken tedavi sağlar. Onikomikoz tedavisinde ilaç veriliminden 24 saat içinde infeksiyon alanına ulaşır ve tedavinin başlamasından sonra bir aydan çok geçmeden

distal tırnak yüzeyinde saptanabilir. Tırnakta flukonazol ya da terbinafenden daha uzun süre kalır ve 9 ay gibi uzun bir süre tespit edilebilir (14, 69).

Ekonazol: Mikonazol derivesidir. Geniş spektrumludur. Topikal uygulandığında stratum korneumdaki konsantrasyonu, dermatofitler için minimum inhibitör konsantrasyonunun (MIK) çok üzerine çıkar. İnhibitör konsantrasyonları dermisin orta bölgelerine kadar ulaşır. Etkinin başlaması daha hızlıdır. Tinea pedis tedavisinde %1 ekonazol krem etkilidir. (11).

Sulkonazol: Dermatofitlere karşı aktivitesi olan sentetik imidazol türevidir. Geniş spektrumludur. Tinea corporis, tinea pedis, tinea cruris tedavisinde kullanılır(11).

Mikonazol: Fungistatik, sentetik fenil imidazol türevidir. Hem sistemik hem de topikal olarak kullanılabilir. Cilde uygulandıktan sonra hızla stratum korneuma geçer ve 4 günden fazla süre orada birikir. Sistemik olarak tek kullanım endikasyonu invaziv *Pseudallescheria boydii* infeksiyonudur (11, 68, 69, 74).

Flukonazol: Flukonazol, sistemik etkili bir triazol türevi azoldür. *Candida*'lara daha etkili olmakla birlikte dermatofitoz tedavisinde de kullanılabilir. *T. tonsurans* kapitis küründe %89 etkilidir. Keratine affinitesi ve stratum korneumdaki konsantrasyonunu koruyabilmesi nedeniyle haftalık doz uygulamaları şeklinde kullanılır (69, 75, 17).

Bifonazol, flutrimazol, izokonazol, oksikonazol sertakonazol gibi topikal kullanılan azoller de vardır (11)

2.9.4. Alilaminler

Mantar hücresinde skualen epoksidaz enzimini inhibe ederek ergosterol sentezini erken basamakta engeller (Şekil 1). Ayrıca bu inhibisyon sonucu hücre içinde aşırı miktarda biriken skualen, hücre membranının işlevlerini ve hücre duvar sentezini bozarak mantar hücresinin ölümüne neden olur. Dermatofitlere karşı diğer antifungal ilaçların çoğundan farklı olarak fungusid etki gösteren, lipofilik ve keratinofilik bir ilaçtır. Griseofulvin ve azollere göre daha kısa sürede ve daha yüksek oranda etkilidir ve infeksiyonun tekrarlama oranı da düşüktür (10, 68, 69, 71). Dermatofitler ve bazı küflere karşı etkili olmasına rağmen *C. albicans* infeksiyonlarında aktivitesi daha azdır. Güçlü

lipofilik olmasından dolayı deri, yağ dokusu ve tırnakta iyi dağılır(14). Alilaminler'in tinea corporis, tinea cruris, tinea pedis'teki mikolojik kür oranları ve etkinliği yaklaşık olarak %80-90'dır. Terbinafin ve naftifin *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* ve *E. floccosum*'u içeren geniş bir spektruma karşı invitro antifungal aktivite sergiler. *M. canis*, *M. audouini* ve *M. gypseum* daha rezistandır. Fungusidal aktivitesine ek olarak anti-inflamatuvar özellikleri vardır(72, 11)

Naftifin: Allilamin sınıfından ilk kullanıma girendir. Kornifiye epitele yüksek afinitesi vardır, tek dozdan uygulamadan sonra dermatofitler için minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) birkaç katı 5 gün süreyle burada bulunur.(11)

Terbinafin:Terbinafin, allilamin sınıfında olan, hem topikal hem de sistemik kullanılabilen geniş spektrumlu bir antifungaldir. Lipofilik olması sebebiyle dermis, epidermis, stratum korneumda birikir (11, 68, 69, 71). Terbinafin'in tırnak yatağı ve tırnak matriksi yoluyla tırnak yüzeyine difüze olduğu görülür. Terapötik düzeyleri tedavi kesilmesinden 6 ay kadar uzun bir süre tırnaklarda saptanabilir (14).

2.9.5. Tolnaftat

Tolnaftat, tiyokarbonat grubu bir antifungal olup topikal olarak kullanılır. Skualen epoksidazı inhibe ederek mantar hücresinde sterol biyosentezini inhibe eder (11, 68).

2.9.6. Butenafin

Benzilamin grubundandır. Yapısal ve aktivite şekliyle alilaminlerle benzer. Skualenin epoksidasyonunun önlenmesi, hücre içinde skualen birikimi ile dermatofitlere karşı fungusidaldir. Dermatofitler için butenafin; naftifin, tolnaftat, klotrimazol ve bifonazol'den daha fazla fungusid ve fungustatiktir. Topikal kullanılır. İyi tolere edilir. Alilaminlere benzer olarak butenafinin'de antiinflamatuvar aktivitesi vardır (72, 11).

2.9.7. Diğer Topikal Antifungal Ajanlar

Whitfield merhemi :%6 Benzoik asit ve %6 salisilik asit içeren eski bir keratolitik, fungistatik ilaçtır. Bu asitler intertriginöz deri bölgelerini irrite eder. Keratinize epidermisin deskuamasyonu ile dermatofitlerin geliştiği bölgenin

sınırlandırılmasını sağlar. Hiperkeratotik kronik tineaların tedavisinde diğer topikal tedaviler yetmediğinde tam yardımcı olur (72, 11, 73).

Undesilenik asit :Ekiden beri kullanılan fungistatiktir. Etkinliği tolnaftata benzer. Tinea pedis, tinea cruris tedavisinde kullanılır (72, 11).

Üre merhemi:Keratolitikdir. Birlikte kullanıldığı antifungal ajanların dermatofitle infekte hiperkeratotik ayağa penetrasyonunu artırır (72, 11).

2.9.8. Korunma

İnsanlara hayvanlardan bulaşan dermatofitlerden korunmak için, kaynak olabilecek hayvanlar kontrol edilmeli, gerekirse tedavi edilmeli ve bu hayvanlarla ilgilenen kişiler koruyucu kıyafetler giymelidir (9, 13). Okul, yatakhane gibi insanların toplu buldukları yerlerde ve aile içinde bazı dermatofitler tinea kapitis salgınları yapabildikleri için, tarak, saç fırçası, yastık kılıfı, havlu gibi eşyalar ortak kullanılmamalıdır (6). Tinea korporis, tinea pedis, tinea inguinalis gibi dermatofitozları kolaylaştıracak faktörler olan terleme, dar iç çamaşırları, dar giysi ve ayakkabı giyilmesinden kaçınılmalıdır. Yaz aylarında açık ayakkabılar giyilmeli, başkasına ait çorap, terlik, ayakkabı gibi eşyalar kullanılmamalıdır. Dermatofitoz lezyonlarından otoinokülasyonu önlemek için el temizliğine dikkat edilmelidir (6).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Merkez Mikrobiyoloji Mikoloji ve Laboratuvarı'na 01.11. 2005 – 01.01. 2007 tarihleri arasında dermatofitoz ön tanısı ile mikolojik tetkik için gönderilen hastalardan alınan klinik örneklerden izole edilen dermatofitlerin identifikasyonu yapıldı. Bu örneklerden izole edilen 79 *Trichophyton rubrum* suşunun hemolitik aktivitesi ve antifungal ilaçlara in vitro duyarlılıkları incelendi.

3.1. ÖRNEKLERİN ALINMASI

Dermatoloji polikliniğinden dermatofitoz ön tanısı ile yollanan hastalardan örnekler mikoloji laboratuvarında alındı. Kılısız deri lezyonlarından ve kıvrım yerlerinden örnek almadan önce bu alanlar %70'lik alkol ile silindikten sonra steril bisturi ile lezyonun aktif kenarından deri kazıntıları alındı ve steril petri kutusu içinde toplandı. Tırnak örneği almadan önce tırnak ve çevresi %70'lik alkol ile silindi ve sonra steril bisturi ile tırnak kazıntıları alındı. Kazıntı örnekleri steril petri kutusuna toplandı. DSO ve PSO'da daha çok tırnak yatağı invaze olduğundan kalınlaşmış tırnakların yüzeyleri kazınıp atıldı ve tırnağın alt bölgelerinden örnek alındı. Kalınlaşmamış, tırnak yüzeyinde beyaz alanlar şeklindeki lezyonlardan da tırnak yüzeyi kazınarak örnek alındı. Saç örneklerinde ise lezyon alanı %70'lik alkol ile silindi. Daha sonra steril cımbız ile saçların kökleri ve lezyon alanları steril bisturi ile kazınarak alındı ve steril petri kutusuna toplandı.

3.2. TRICOPHYTON RUBRUM SUŞLARININ TANIMLANMASI

3.2.1. Direkt Mikroskopi

Alınan örnek direkt mikroskopi ve kültür için kullanılmak üzere ikiye ayrıldı. Direkt mikroskopi için lam üzerine alınan örneğin üzerine %10-15 potasyum hidroksit (KOH) ilave edildi. Alınmış olan epidermal doku kolayca yayılabilir hale gelinceye kadar oda ısısında inkübe edildi. Daha sonra ışık mikroskopunda lam-lamel arasında önce küçük (10x) sonra büyük büyütme (40x) ile tomurcuklanan ve tomurcuklanmayan mantar sporları ve artrospor yapan yada yapmayan hifleri

arandı. Bu mantar elemanlarının görülmesi ile sonuç "mantar elemanı görüldü" olarak rapor edildi (76).

3.2.2. Kültür

Kültür için steril petri kutusuna ayrılan örneklerin Mycobiotic Agar(Oxoid) ve SDA'lara (Oxoid) çift olarak ekimleri yapıldı. Ekimler her besiyerinde 4-5 inokülasyon olacak şekilde örnekler besiyerine yarı yarıya gömülerek ekildi. Besiyerleri 37 °C'lik ve 25°C'lik etüvlerde 3 hafta inkübe edildi. Kültürler inkübasyon esnasında haftada iki kez kontrol edildi ve üreme saptananlar daha ileri incelemeler için ayrıldı. Üç haftalık inkübasyon sonucunda üreme olmayan besiyerleri "mantar üremesi olmadı" olarak değerlendirildi.

Koloni yüzeyi beyaz, tüylü veya pamuk gibi ve tümsek, koloni ters yüzeyi koyu kırmızı kahverengi, etrafı soluk kremi sınırla çevrili koloniler laktofenol pamuk mavisi ile mikroskopta incelendi. Mikroskobik olarak hiflerin kenarında küçük gözyaşı şekilli, çomak gibi veya uzun mikrokonidyumları görülen, makrokonidyum görülmeyen kültürler *T. rubrum* olabileceği düşünülerek incelemeye alındı. Birbirlerine benzer konidyum üreten *Trichophyton spp.*'nin ayırımları üreaz deneyi, in vitro kıl delme deneyi, PDA'da (Oxoid) kırmızı pigmentasyonu kontrol edilerek tablo 6'ya göre yapıldı (16, 22, 24).

3.2.3. İdentifikasyon

Primer izolasyon besiyerindeki oluşan koloninin üreme hızı, yüzey yapısı (çıplak, mumsu, pudramsı, granüler, süet benzeri, kadifemsi ve tüysü), yüzey topografisi (düz, kabarık ve dağınık koloni şekli), koloninin büklüm tipi (ışınsal, beyin ya da krater görünümlü), yüzey boyası, koloni tabanında pigment olup olmadığı, iyi ürettiği ısı (25 - 37 °C'de üreyebilme), çözünebilir pigmentin varlığı incelendi. Mikobiyotik Agar 'da, 25 °C'de üreyen küf kolonileri laktofenol pamuk mavisi boyası ile boyanıp incelenerek preparatlarda hiflerin yapısı, makro ve mikrokonidyum varlığı araştırılıp fungal yapıların görünüm özellikleri kısık ışık ayarlı mikroskopta küçük (10x) ve sonra büyük (40x) büyütmele objektiflerle değerlendirildi. Üreyen koloninin pigment oluşumunu daha iyi gözlemleyebilmek ve saf kültürünü elde edebilmek için PDA'ya pasajı yapıldı ve 25 °C'de yaklaşık 28 gün inkübe edildi (24). Dermatofitlerin tanımlanması, morfolojik

ve üreme özelliklerinin yanında üre hidroliz deneyi, kıl delme reaksiyonu gibi fizyolojik testlerle de doğrulandı.

Tablo 6. Benzer konidyum üreten *Trichophyton* spp.'nin farklılıkları(16, 22, 24).

	Üreaz deneyi	İn vitro kıl delme deneyi	PDA'da kırmızı pigmentasyon
<i>T. mentagrophytes</i>	+	+	--
<i>T. rubrum</i>	--	--	+
<i>T. tonsurans</i>	+	--	--

+: pozitif; --: negatif

Patates Dekstroz Agar'da Pigment Üretimi

PDA steril tüplerin içine sterilite şartlarına uyularak 15'er ml dağıtıldı. Tüpler eğik olarak besiyerleri katılaştırıldı. *T. rubrum* inoküle edildikten sonra oda ısısında 28 gün inkübe edildi. Kültür 7 gün aralıklarla pigment üretimi için kontrol edildi. 28 gün içinde arka tarafta şarap kırmızısı pigment gelişmesi pozitif reaksiyon olarak kaydedildi (16, 24, 55).

Üre Hidroliz Deneyi:

Üre hidroliz deneyinde Christensen's üre agar (Oxoid) ve Christensen's üre broth (Merck) kullanıldı. Christensen's üre agar steril tüplerin içine steril koşullarda 15 ml dağıtıldı. Tüpler eğik tutularak katılaşması sağlandı. Christensen's üre broth steril tüplerin içine aseptik olarak 2 ml dağıtıldı. Mikroorganizma bu besiyerlerine ekimi yapıldıktan sonra 25 °C'de inkübe edildi. Her gün kontrol edilerek besiyerinin renginin pembeye dönüşüp dönüşmemesi gözlemlendi. Christensen's üre agar'da 14 gün içinde, Christensen's üre broth'da 4 gün içinde pembe rengin oluşması üreaz enzimi içermesi yönünden pozitif olarak kabul edildi (5, 24, 51).

Kıl Delme Deneyi:

Kıl delme deneyi için küçük çocuklardan alınan açık renkli 1 cm'lik saçlar 100 mm'lik petri kutularında otoklavda 120 °C'de 20 dk steril edildi. Petri kutuları soğutulduktan sonra 8-10 saç içeren petri kutusuna 25 ml steril distile su ve süzme ile steril edilmiş %10'luk hazırlanan maya özütünden (Oxoid) 100µl sterilite şartlarına

uyularak konuldu. Bunun üzerine üremiş olan küften miçel parçacıkları ekildi ve 25 °C'de yaklaşık 4 hafta bekletildi. 7, 14, 28. günler birkaç saç çıkarılıp laktofenol pamuk mavisi boyası içinde ve lam-lamel arasında mikroskopta incelendi. Saçı dikey ya da koni biçiminde delen mantar elemanları arandı. 28 gün içinde perforasyon tespit edilince test pozitif olarak kabul edildi (2, 5, 21, 51, 24, 77). Tiplendirilen *T. rubrum* suşlarının bir kısmı Saboraud-Dekstroz-Agar (SDA)'da +4 °C' de çalışmalar yapıncaya kadar saklandı, bir kısmı da hemen çalışmaya alındı.

3.3. TRICHOPPHYTON RUBRUM SUŞLARININ HEMOLİTİK AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ:

T. rubrum'un identifikasyonu yapıldıktan sonra hemolitik aktivitelerini saptamak için suşlar SDA'ya ekildi. Saflık ve identifikasyon için kontrol edildi. Daha sonra buradan *T. rubrum* suşları %5 kanlı Columbia agar'a ekildi (10).

Ekim noktalama tarzında, biraz besiyerine gömülerek yapıldı. Sonra petri kutuları 25 °C'de 7-14 gün, aerobik koşullarda inkübe edildi. Hemolizin görülmesinden sonra hemolitik aktivitenin artması için petriyerler 37 °C'ye 1-5 gün kalması için transfer edildi. Kültürler her gün kontrol edildi.

Hemolitik aktivite yarım ve tam hemoliz olarak kaydedildi. Hemolitik aktivitelerin gözlenmesinden sonra Columbia agar'a ve SDA'ya subkültürler yapıldı. SDA 25 °C'de 14 gün inkübe edildi ve her gün gözlemlendi. Bakteriyel kontaminasyonun olmadığı saptandı (78).

Hemolitik aktivite yapan ya da yapmayan koloniler lam lamel arasında serum fizyolojik ile hazırlanarak ışık mikroskopunda önce küçük (10x) sonra büyük büyütme (40x) ile incelendi. Hifalar ve mikrokondyumlar yapı ve saflık bakımından incelendiler.

3.4. TRICHOPPHYTON RUBRUM SUŞLARININ MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ ÖLÇÜLMESİ

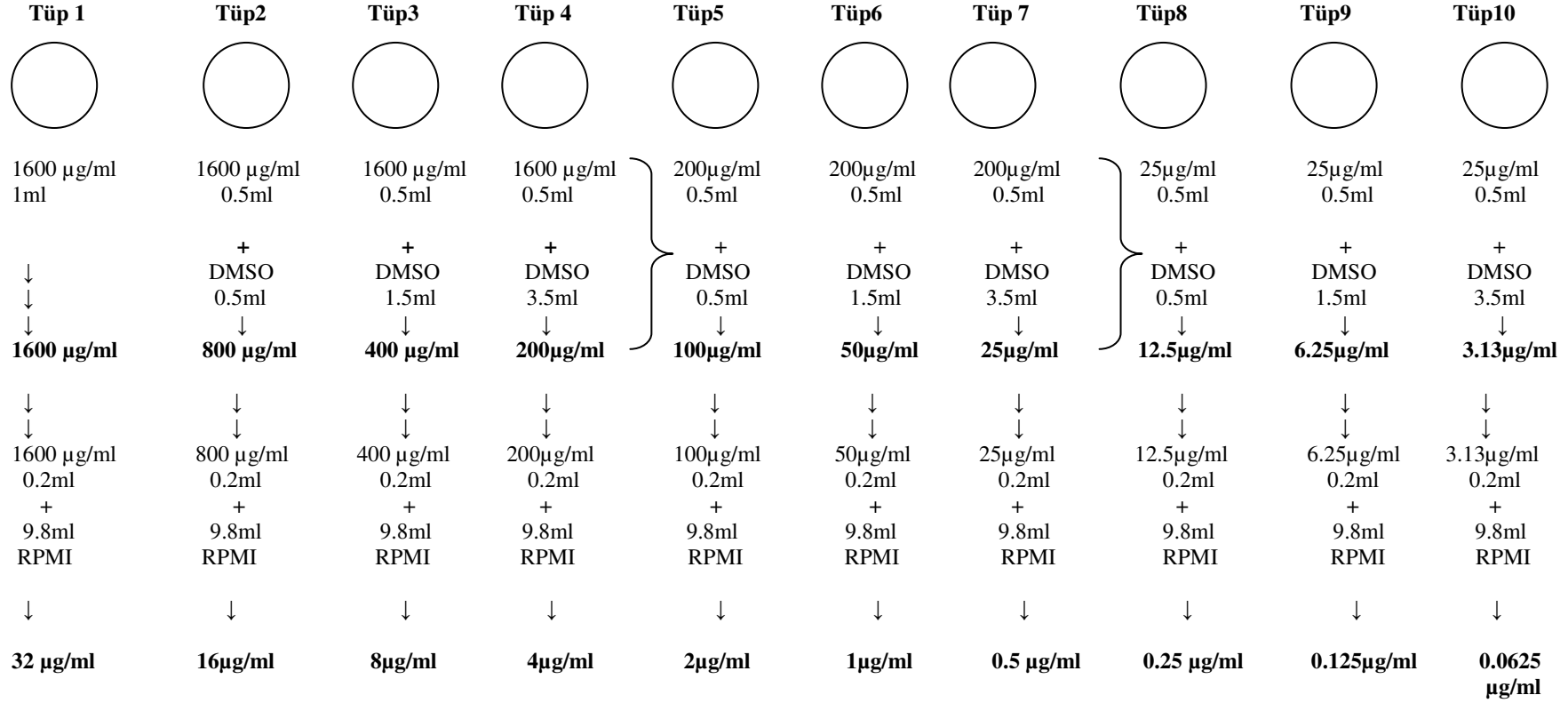
3.4.1. Kullanılan besiyeri

CLSI'nın mantarların duyarlılıkları ile ilgili standartlarında önerdiği 0.165 M MOPS (Merck) ile oda ısısında pH:7.0'a tamponlanan L- glutaminli, sodyum

bikarbonatsız, pH indikatörü olarak fenol red'li sentetik RPMI 1640 (Biological Industries) buyyonu kullanıldı (65, 79, 80, 81, 82, 83).

3.4.2. Antifungaller

Ketokonazol (Sigma), itrakonazol (Sigma), terbinafin (Santa-farma), ekonazol (Sigma), sulkonazol (Sigma) toz halde ticari olarak elde edildi. 4.8 mg antifungal toz 3ml DMSO'da (Merck) sulandırılarak 1600 µg/ml konsantrasyonda stok solüsyon elde edildi. Bu konsantrasyon teste gereken konsantrasyon aralığının üst sınırının 100 katı idi (gerekli konsantrasyon aralığı 16-0.0313 µg/ml idi). Bu stok solüsyondan tüp 1'e 1ml, tüp 2'ye 0.5 ml, tüp 3'e 0.5 ml ve tüp 4'e 0.5 ml alındı. Tüp 2'ye 0.5 ml, tüp 3'e 1.5 ml, tüp 4'e 3.5 ml DMSO ilave edildi. Tüp 1'de 1600 µg/ml konsantrasyon, tüp 2'de 800 µg/ml konsantrasyon, tüp 3'de 400 µg/ml konsantrasyon, tüp 4'de 200 µg/ml konsantrasyon elde edildi. Sonra tüp 5, tüp 6 ve tüp 7'ye tüp 4' teki (200 µg/ml) solüsyondan 0.5 ml alındı. Tüp 5'e 0.5 ml, tüp 6'ya 1.5 ml, tüp 7'ye 3.5 ml DMSO ilave edildi. Böylece tüp 5'de 100 µg/ml konsantrasyon, tüp 6'da 50 µg/ml konsantrasyon, tüp 7'de 25 µg/ml konsantrasyon elde edildi. Bir sonraki basamakta ise 25 µg/ml konsantrasyon elde edilmiş olan tüp 7'den tüp 8, tüp 9, tüp 10'a 0.5 ml konuldu. Tüp 8'e 0.5 ml, tüp 9'a 1.5 ml, tüp 10'a 3.5 ml DMSO ilave edildi. Böylece tüp 8'de 12.5 µg/ml konsantrasyon, tüp 9'da 6.25 µg/ml konsantrasyon, tüp 10'da 3.13 µg/ml konsantrasyon elde edildi. Sonuçta 3.13—1600 µg/ml konsantrasyon aralığında bir dilüsyon serisi hazırlanmış oldu. Daha sonra bu dilüsyon serisinin her birinden 0.2 ml alınıp üzerlerine 9.8 ml RPMI konularak RPMI'da 1:50 dilüe edildi. Bu son konsantrasyon teste kullanılacak olan final konsantrasyonunun 2 katı idi. Antifungal (final) test konsantrasyonları 0.0313-16 µg/ml olarak ayarlandı (79, 80, 81, 82, 83.) Mikrodilüsyon plate'inin (96 kuyucuklu) 1-10 kuyucuklarına dilüsyon sırasına uyularak (1. kuyucuğa 1. tüpten, 2. kuyucuğa 2. tüpten...) 100 µl dağıtıldı. Üzeri steril olarak kapatıldı. -60 °C altında saklamaya alındı. Kullanılacağı gün çıkarıldı. 1600 µg/ml konsantrasyondaki stok solüsyondan önce DMSO'da 3.13—1600 µg/ml konsantrasyon aralığında bir dilüsyon serisi hazırlanması ve sonra RPMI'da 1:50 dilüe edilmesi şekil 2'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. 1600 µg/ml konsantrasyondaki stok solüsyondan önce DMSO’da 3.13—1600 µg/ml konsantrasyon aralığında bir dilüsyon serisi hazırlanması ve sonra RPMI’da 1:50 dilüe edilmesi

3.4.3. İnokulum hazırlanması

Antifungal duyarlılık testleri çalışılacağı zaman +4°C'de stoklanan *T. rubrum* suşlarının PDA'ya pasajı yapıldı. İnokulum, PDA'da üretilen 35 °C'de 7 günlük kolonilerden hazırlandı. Kültürler üzerine 10 ml %0.85 NaCl eklendi. Ucu yakılarak steril edilmiş olan halka öze ile kolonilerin üzerine nazikçe dokunularak konidyum ve hifaların ayrılması sağlandı. Bu süspansiyon steril pipet ile dikkatlice toplandı. Daha sonra hif ve konidyum partiküllerini içeren karışım alınarak, steril bir tüpe transfer edildi. 3-5 dakika oda ısısında ağır partiküllerin çökmesi için bekletildikten sonra üstteki homojen süspansiyon alınıp, kapaklı steril tüpte 15 saniye vortekslendi. Bu karışımın bulanıklığı spektrofotometre (Analytic jena, Spekol 1300)'de 530 nm'de %0.85 NaCl kullanılarak optik dansite 0.15-0.17 (%68-70 transmittans) olacak şekilde ayarlandıktan sonra 0.2 ml süspansiyon 9.8 ml RPMI 1640 ile 1/50 dilüe edildi. 1/50 inokülüm dilüsyonu yaklaşık olarak ihtiyaç olan $0.4 \times 10^4 - 5 \times 10^4$ CFU/ml dansitesinin iki katı oldu. Kontrol suşu olarak *Candida crusei* ATCC 6258 ve *Candida parapsilosis* ATCC 22019 kullanıldı (65, 79, 80, 81, 82, 83)

3.4.4. MİK testinin uygulanması

Dermatofitler için CLSI M38-A standartlarına uygun olarak mikrodilüsyon yöntemi ile çalışıldı. Mikrodilüsyon plate'inin (96 kuyucuklu) 1-10 kuyucuğuna 100 µl dilüe inokulum süspansiyonu ve 100 µl dilüe ilaç solüsyonları eklendi. Her test plate için iki sıra ilaçsız kontrol; [bir sterilite kontrolü (yalnız besiyeri-12 nolu sıra), bir üreme kontrolü (100 µl inokulum süspansiyonu ve 100 µl medium-11 nolu sıra)] kullanıldı. Referans suşlar her antifungal için test edildi (65, 79, 80, 81, 82, 83)

3.4.5. İnkübasyon ısı ve süresi

Mikrodilüsyon plateleri 28 °C'de inkübe edildi ve inkübasyonun 7. gününde gözle okundu (65, 79, 80, 81, 82, 83, 84)

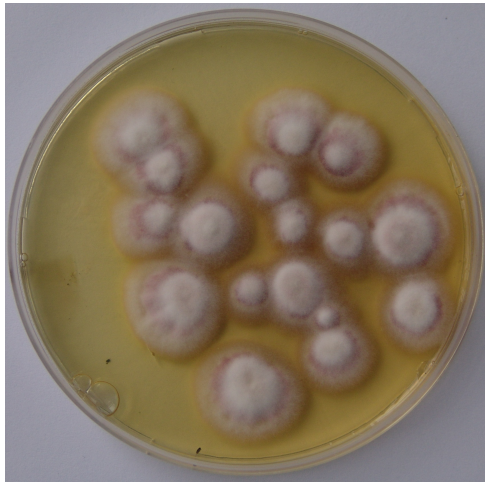
3.4.6. Sonuçların okunması

MİK organizmanın gözle saptanabilen üremesini inhibe eden bir antifungal ajanın en düşük konsantrasyonudur. İnkübasyon süresi sonrası gözle bakılarak, her bir MİK kuyucuğundaki üreme kontrol kuyucuğuyla karşılaştırıldı.

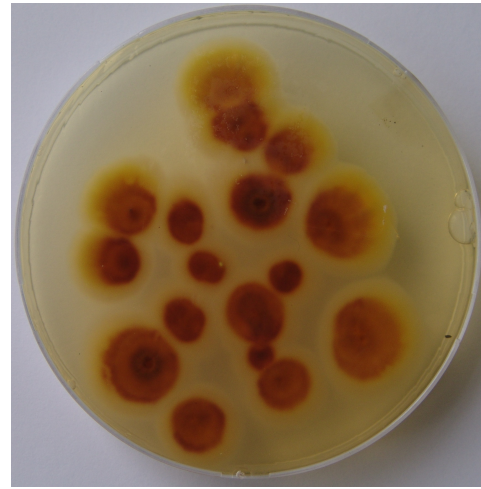
Üremenin durduğu en düşük antifungal konsantrasyonunun olduğu kuyucuk o antifungal için MİK değeri olarak saptandı (65, 79, 83, 85)

4. BULGULAR

Dermatofitoz ön tanılı hastalardan alınan örneklerden yapılan kültürlerde üreyen, hem görünüm olarak, (koloni yüzeyi beyaz, tüylü veya pamuk gibi ve tümsek, koloni ters yüzeyi koyu kırmızı kahverengi, etrafı soluk kremi sınırla çevrili kolonileri) hem de laktofenolle yapılan mikroskopik incelemede (hiflerin kenarında küçük gözyaşı şekilli, çomak gibi veya uzun mikrokonidyumların görülmesi) *T. rubrum* olduğu düşünülen 90 suş incelemeye alındı.(Resim 1)

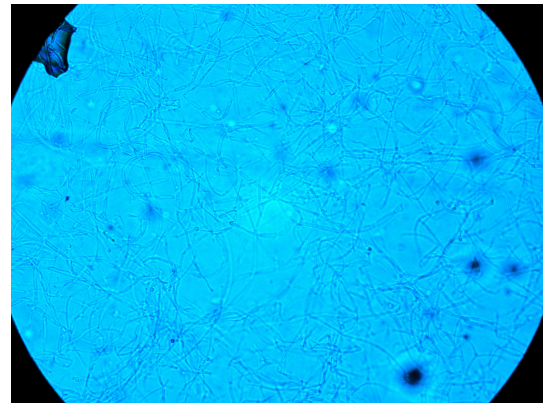
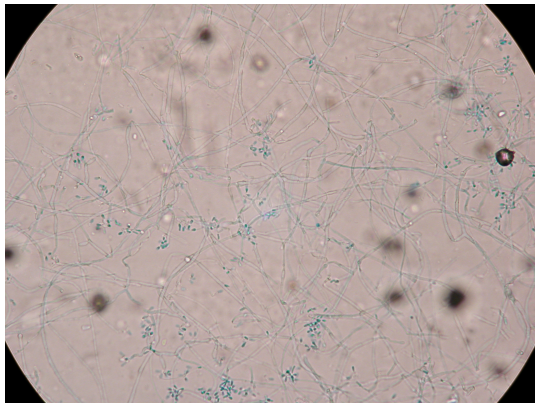


ön yüz



arka yüz

a. Mikobiyotik agar'da *T. rubrum* koloni görünüşü



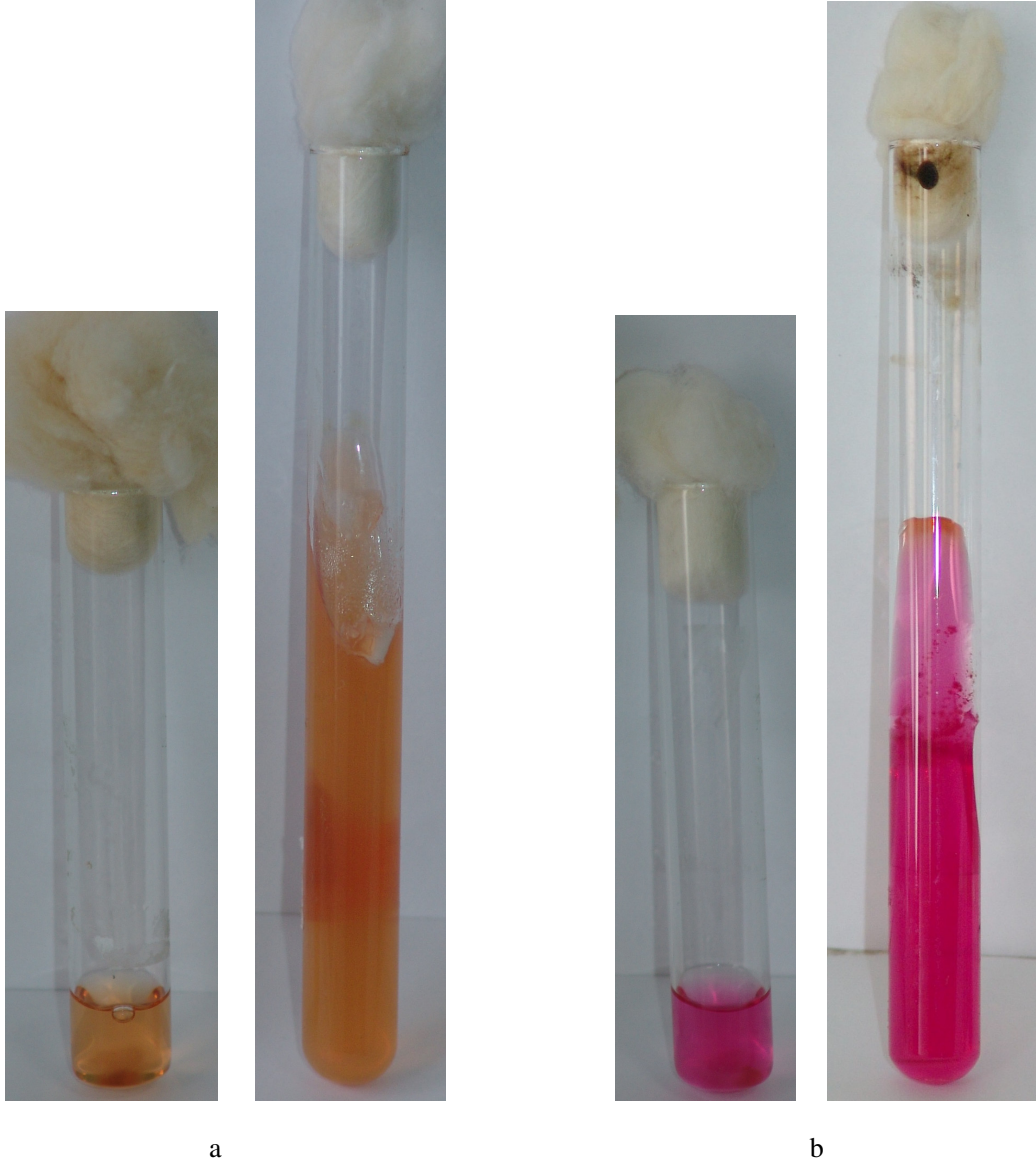
b. Laktofenol pamuk mavisinden

Resim 1. Mikobiyotik agar'da *T. rubrum* kolonisi ve mikroskopisi

Bunlarda üreaz aktivitesi, kıl delme, Patates Dekstroz Agar'daki pigmentasyon artımı gözlenerek yapılan incelemede 6 tanesi üreaz pozitif (Resim 2 b), kıl delme deneyi pozitif (Resim 3) ve PDA'da pigmentasyon yapmadı. 5 Tanesi üreaz pozitif, kıl delme deneyi pozitif. Böylece 11 suş *T. rubrum* olmadığı için çalışma dışı bırakıldı. 79 suş çalışmaya alındı.

Bu 79 *T. rubrum* suşunun hastadan ilk alınan örneklerden yapılan direk mikroskopik incelenmelerinde 75 tanesi Nativ (+), 4 tanesi nativ negatif olarak bulunmuştu.

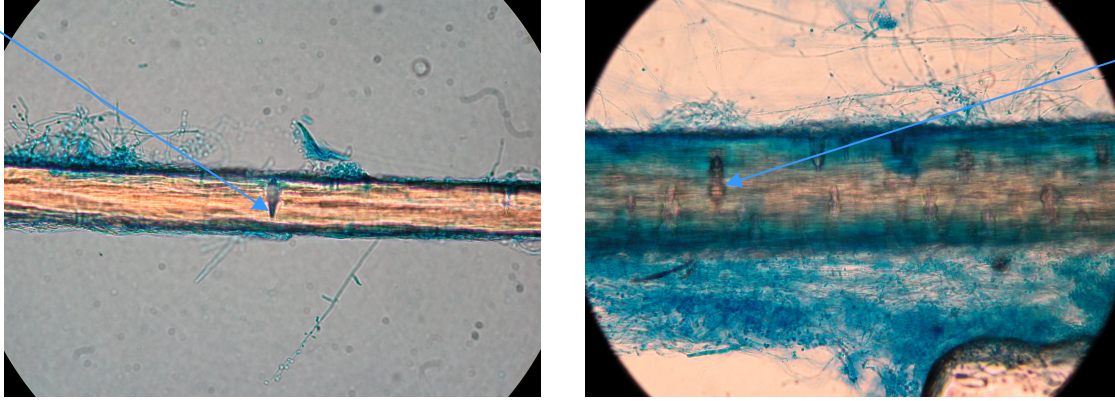
Resim 2'de Christensen's üre agar ve Christensen's üre brothda pozitif kontrol *T. mentagrophytes* ile karşılaştırmalı *T. rubrum*'un negatif üreaz aktivitesi (Resim 2 a), gösterilmektedir.



Resim 2.

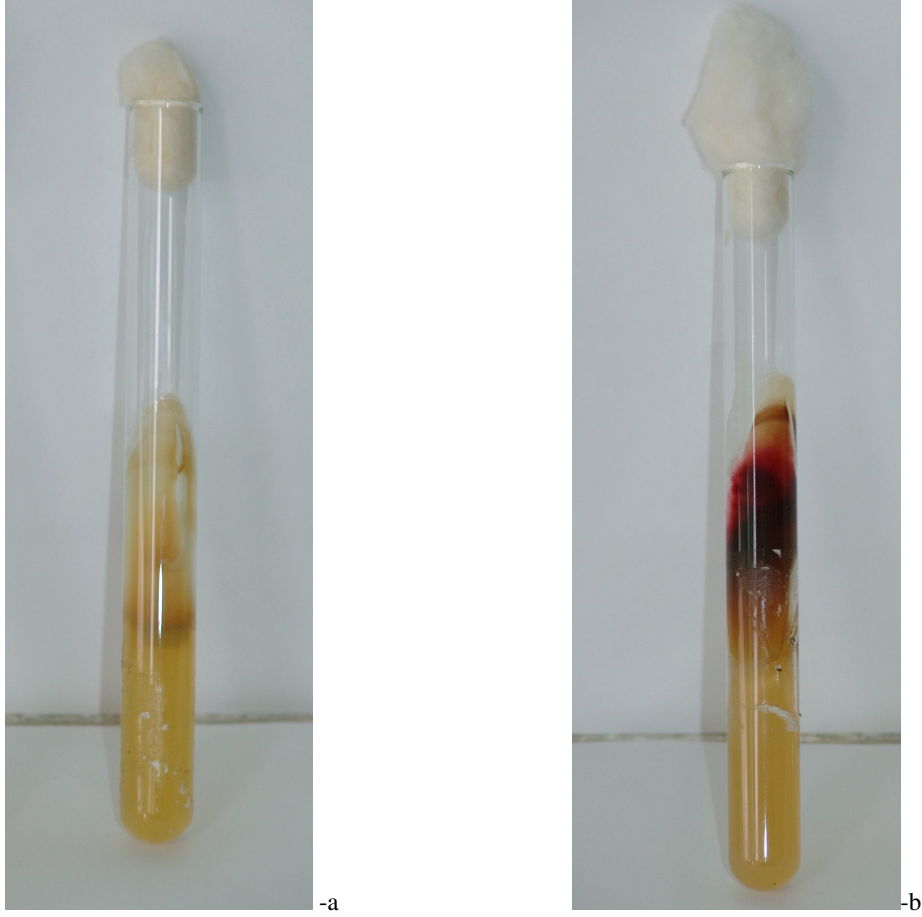
- a. Christensen's üre broth ve Christensen's üre agarda *T. rubrum*'un negatif üreaz aktivitesi
- b. Christensen's üre broth ve Christensen's üre agarda *T. mentagrophytes*'in pozitif üreaz aktivitesi

Kıl delme deneyinde 7. günden sonra *T. mentagrophytes* pozitif sonuç verirken, *T. rubrum* suşları negatif idiler. Resim 3'te pozitif kontrol gösterilmiştir.



Resim 3. Kıl delme deneyinde pozitif görüntüler (*T. mentagrophytes*)

Patates Dekstroz Agarda *T. rubrum*'a ait kırmızı pigmentasyon bariz şekilde artmıştı. *T. mentagrophytes* ise pigmentasyon göstermedi. Resim 4'te *T. rubrum*'un kırmızı pigmentasyonu gösterilmiştir.



Resim 4. PDA'daki pigmentasyon deneyi. (a)'da *T. mentagrophytes*, (b)'de *T. rubrum*'un görülüyor

Primer izolasyon besiyerindeki oluşan koloninin üreme hızı, yüzey yapısı, yüzey topografisi, koloninin büklüm tipi, yüzey boyası, koloni tabanında pigment olup olmadığı, çözünebilir pigmentin varlığı, laktofenol pamuk mavisi boyası ile hiflerin yapısı, makro ve mikrokonidyum varlığı, PDA'ya pasajında koloninin pigment oluşumu, üre hidroliz deneyi, kıl delme reaksiyonu gibi testlerle *T. rubrum* tanımlandı.

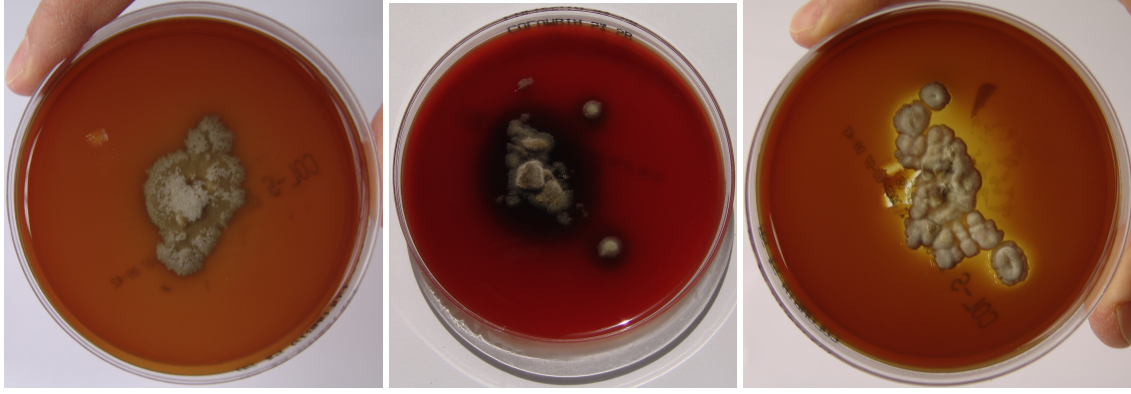
4.1. HEMOLİTİK AKTİVİTE BULGULARI

T. rubrum koyun kanlı Columbia agar'da 25 °C'de 3-7 günlük inkübasyondan sonra pamuksu koloni morfolojisi gösterdi. Genç kolonilerin ters tarafları koyu kahverengi ve etrafları şarap kırmızısı zon ile çevrili idi. 6-10 gün ileri inkübasyondan sonra ön tarafta tam olmayan hemoliz zonu saptandı.

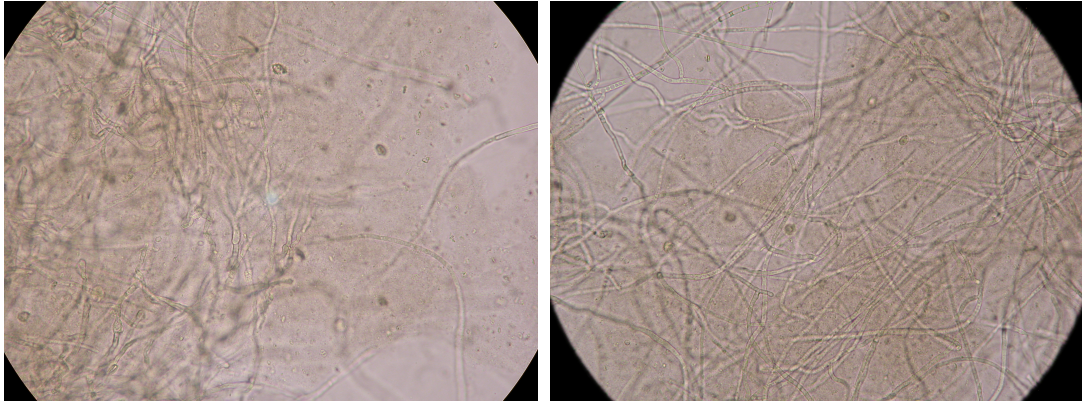
Hemolitik aktiviteyi arttırmak için suşlar 37 °C'de ilave 4-5 gün inkübe edildi. Kültürler, tam olmayan ve tam hemoliz oluşturdular. Bazı kolonilerde ise hemoliz zonu oluşmadı. Büyük kolonilerin daha geniş hemoliz zonu oluşturdıkları, küçük olanların ise daha küçük hemoliz zonu oluşturdıkları görüldü. Fakat koloninin daha da büyümesi yarım hemolizli kolonileri tam hemolizli hale döndürmedi.

T. rubrum suşları %5 kanlı Columbia agar'a yapılan ekimleri ile bakılan hemolitik aktivite de 50 suş tam olmayan hemoliz, 21 suş tam hemoliz gösterirken 8 tanesinde hemoliz görülmedi.

Resim 5 a'da makroskopik olarak hemolitik aktiviteler ve 5b'de mikroskopik olarak %5 kanlı Columbia agar'daki kolonilerden yapılan lam-lamel arası hifa ve sporlar görülmektedir.



5 a). Makroskopik olarak hemolizsiz, yarım ve tam hemolizli koloniler

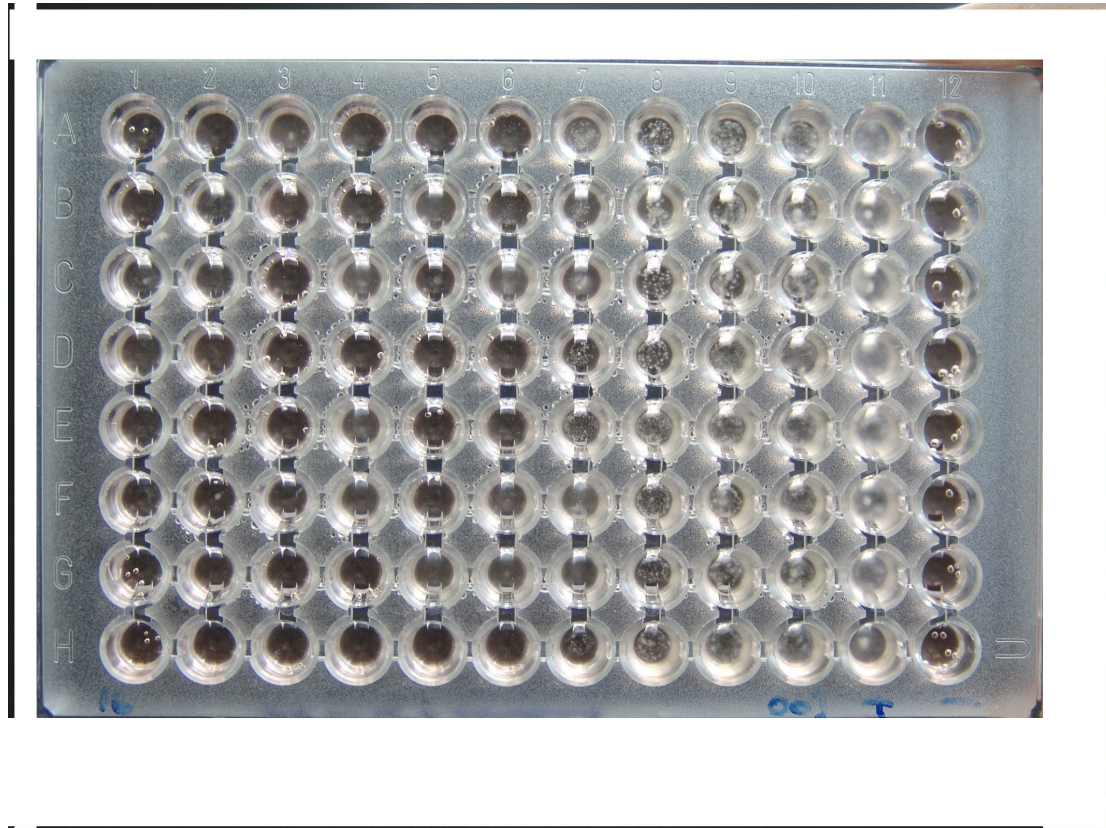


5 b). Columbia agar'daki kolonilerden yapılan serum fizyolojik ile lam lamel arası preparatının mikroskopik görüntüsü

Resim 5. *T. rubrum*'un hemolitik aktivitesi ve mikroskopisi

4.2. ANTİFUNGAL DUYARLILIK BULGULARI

79 *T. rubrum* suşunun sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile ketokonazol, itrakonazol, sulkonazol, ekonazol ve terbinafine için MİK değerleri araştırıldı. MİK aralıkları ketokonazol için 0.0125-4, itrakonazol için 0.0625-2, sulkonazol için 0.0313-4, ekonazol için 0.0313-0.125, terbinafin için 0.313-0.0313 olarak bulundu. Resim 6 'da mikrodilüsyon plağı gösterilmiştir.



Resim 6. Mikrodilüsyon plağı

T. rubrum'un bu 5 antifungale karşı duyarlılık durumları tablo 7'de özetlendi. *T. rubrum*'a en etkili antifungal terbinafin idi.

Sıklıkla kullanılan itrakonazol MİK değerlerinin beklenenden daha yüksek olduğu, bunun yanında ekonazol'un daha düşük MİK değerleri olduğu belirlendi.

Tablo 7. *T. rubrum*'un çeşitli antifungallere karşı duyarlılık durumları

İlaçlar	MİK aralıkları (µg/ml)	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Ketokonazol	0.125-4	0.5	2
Itrakonazol	0.0625-2	0.5	1
Sulkonazol	0.0313-4	0.25	1
Ekonazol	0.0313-0.125	0.0313	0.0625
Terbinafin	0.0313-0.0313	0.0313	0.0313

Alfa hemoliz yapan, beta hemoliz yapan ve hemoliz yapmayan *T. rubrum* suşlarının MİK değerleri karşılaştırıldı. Tablo 8'de ekonazolün, tablo 9'da sulkonazolun, tablo 10'da ketokonazolun, tablo 11'de itrakonazolun, tablo 12'de terbinafinin hemoliz ve MİK değerleri verilmiştir. Hemolizin MİK değerlerini etkilemediği görüldü.

Tablo 8. Ekonazolün hemoliz ve MİK değerleri

Ekonazol	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Alfa hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (49/79)	0.0313	0.625
Beta hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (22/79)	0.0313	0.0313
Hemoliz yapmayan <i>T. rubrum</i> suşları (8/79)	0.0313	0.0313

Tablo 9. Sulkonazolun hemoliz ve MİK değerleri

Sulkonazol	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Alfa hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (49/79)	0.25	1
Beta hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (22/79)	0.125	2
Hemoliz yapmayan <i>T. rubrum</i> suşları (8/79)	0.5	1

Tablo 10. Ketokonazolun hemoliz ve MİK değerleri

Ketokonazol	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Alfa hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (49/79)	0.5	2
Beta hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (22/79)	0.25	2
Hemoliz yapmayan <i>T. rubrum</i> suşları (8/79)	0.5	2

Tablo 11. İtrakonazolun hemoliz ve MİK değerleri

İtrakonazol	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Alfa hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (49/79)	0.5	2
Beta hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (22/79)	0.5	1
Hemoliz yapmayan <i>T. rubrum</i> suşları (8/79)	0.5	1

Tablo 12. Terbinafinin hemoliz ve MİK değerleri

Terbinafin	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Alfa hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (49/79)	0.0313	0.0313
Beta hemoliz yapan <i>T. rubrum</i> suşları (22/79)	0.0313	0.0313
Hemoliz yapmayan <i>T. rubrum</i> suşları (8/79)	0.0313	0.0313

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde en sık izole edilen dermatofit *T. rubrum*'dur (86, 87, 88, 89, 90) Dermatofitler vücudun sıklıkla kıvrım ve nemli bölgelerinde hastalık etkeni olabilmektedir. Aynı türler tuttıkları anatomik lokalizasyonlara göre birbirinden tamamen farklı semptomlara neden olabildiği gibi, farklı türler de klinik olarak benzer lezyonlar oluşturabilirler (2, 3)

Yüzeyel mikozun laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler, direkt mikroskopik inceleme ve kültürdür. Kültür sonuçlarının 2-3 haftada alınabilmesinden dolayı direkt mikroskopik inceleme erken tanıda bilgi vermesi açısından önemlidir. Direkt mikroskopik inceleme erken tanıda bilgi verse de kültür tanı oranını arttırır. Bizim yaptığımız çalışmada direkt mikroskopik inceleme negatif olduğu halde kültürde üreme saptama oranı %5'dir. Yurt dışında yapılan çalışmalarda %3.4 ile %5.5 arasında bulunmuştur (91, 92). Ülkemizde ise Tümerdem ve ark. (93) %23 bildirmiştir. Bu oran İstanbulda yapılan bir çalışmada (94) ise %40 bulunmuştur. Bu sonuçlar dermatomikoz olduğu düşünülen olguların örneklerinde her iki incelemenin birlikte yapılmasının gereğini vurgulamaktadır.

Çeşitli bakterilerde hemolizinler vertebralılarda infeksiyonun şiddetine yardımcı çok önemli virülans faktörlerden biridir. Lipaz ve fosfolipaz aktiviteleri farklı *Tricophyton* türleri tarafından gösterilmiştir. Dermatofitlerde hemolitik aktivite seviyelerinin klinik infeksiyonun kronikliği ve şiddeti ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Dermatofit enzimleri ve hemolizi hedefleyen çalışma günümüze kadar yoktur. Bundan dolayı *Tricophyton* hemolizinlerinin etkinlikleri tam olarak bilinmemektedir. *Tricophyton* türlerinin hemolitik aktivitesi, biyokimyasal ve sitolitik özellikleri hakkında daha fazla çalışma gerekmektedir. Fungusun metabolik ürünlerine karşı immünolojik reaksiyon humoral immünite ve mast hücresi, nötrofil, makrofaj, lenfositlerin deriye göçünden oluşan hücrel immünitedir. Bakteriyel hemolizinlerin bu hücrelere toksik olduğu iyi bilinir. *Tricophyton* türlerinin hemolizinleri de benzer şekilde konağın hücrel immünitesi ile immün cevabı azaltmak için fungusun yeteneği arasındaki dengede önemli rol alabilir (10).

%5 kanlı Columbia agar'a yapılan ekimleri ile bakılan hemolitik aktivite araştırmamızda *Tricophyton rubrum* kültürleri, tam olmayan ve tam hemoliz hemoliz

oluşturdular. Bazı kolonilerde ise hemoliz zonu oluşmadı. Büyük kolonilerin daha geniş hemoliz zonu oluşturdukları, küçük olanların ise daha küçük hemoliz zonu oluşturdukları görüldü. Fakat koloninin daha da büyümesi yarım hemolizli kolonileri tam hemolizli hale döndürmedi. 50 suş tam olmayan hemoliz, 21 suş tam hemoliz gösterirken 8 tanesinde hemoliz görülmedi. Alfa hemoliz yapan, beta hemoliz yapan ve hemoliz yapmayan *T. rubrum* suşlarının MİK değerlerini karşılaştırıldı. Hemoliz ile MİK değerleri arasında bir ilişkinin olmadığını görüldü.

Son yıllarda fungal infeksiyonların tedavisi için yeni antifungal ilaçlar geliştirilmiştir. İnfeksiyon etkeni olan mantar suşlarına karşı antifungal ilaçların duyarlılıklarını araştıran çalışmalar devam etmektedir (12, 95). Filamentöz mantarlar için, suşların yapısal farklılıkları, inokulum miktarı ve ölçüsü, besiyeri, kültürün inkübasyon ısısı ve süresi ve duyarlılık sonuçlarının değerlendirilmesindeki farklılıklar gibi faktörler standardizasyonu zorlaştırmaktadır (96, 97, 98). İlaçların *in vitro* ve *in vivo* etkinliklerinin belirlenmesinde standardizasyon sorununu ortadan kaldırmak için CLSI tarafından hazırlanan filamentöz mantarlar için standart antifungal duyarlılık testi prosedürleri kullanılmaktadır (79).

Biz çalışmamızı CLSI'nın M38-A kitapçığı önerilerine göre yaptık. Bizim çalışmamızda terbinafin MİK aralığı 0.0313 ve altında idi. MİK₅₀ 0.0313µg/mL, MİK₉₀ 0.0313µg/ml bulundu. Dermatofitler için yapılan duyarlılık çalışmalarından, Santos ve Hamdan'ın (80) 50 *T. rubrum* izolatında yaptıkları invitro duyarlılık araştırmasında RPMI besiyeri ve 7 gün inkübasyon periyodu kullanarak terbinafin MİK aralığını ve MİK₉₀'ı <0.031 µg/ml olarak bulmuşlardır. Terbinafin bir çok çalışmada (99, 100, 101) düşük MİK değerleri ile en etkili antifungal özelliğini devam ettirmektedir. Favre ve ark.(102) terbinafin'in dermatofitler için en potent ajan olduğunu bildirmişlerdir.Santos ve ark.(85) 92 klinik dermatofit izolatının terbinafine duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemi ile araştırmışlar; terbinafin MİK'i test edilen bütün izolatlar için <0.031µg/ml bulunmuştur.

Ghannoum ve Chaturvedi(81) 6 laboratuvarı içeren çok merkezli bir çalışmada dermatofitler için itrakonazolün MİK aralığını 0.001-0.5 µg/mL, terbinafin MİK aralığını 0.001- ≥0.5 µg/ml bulmuşlardır. Santos ve Hamdan'ın (80)50 *T. rubrum* izolatında yaptıkları invitro duyarlılık araştırmasında RPMI besiyeri ve 7 gün

inkübasyon peryodu kullanarak terbinafin MİK aralığını <0.031 µg/ml olarak bulmuşlardır.

Literatürlerde terbinafin MİK aralıklarını (<0.007-0.031 µg/ml) (99), ve (0.007-0.015 µg/ml) (103) çok küçük saptayan çalışmalar vardı. Çetinkaya ve ark.(104) (0.03-4 µg/ml) ve Fernández-Torres B ve ark. (105) (0.01-0.6 µg/ml) ise büyük rakamlar bildirmişlerdir. Bazı çalışmalarda MİK aralıkları 0.007-4 µg/ml (106) ve 0.003-16 µg/ml (107) gibi oldukça geniş bulunmuştur.

Norris ve ark. (108) mikrodilüsyon yöntemi ile 80 dermatofit suşuna, dört farklı besiyerinde, dört antifungal ilacın duyarlılıklarını incelediklerinde itrakonazol ve terbinafinin MİK değerlerinin inokulum büyüklüğünden etkilenmediğini göstermişlerdir. *T. rubrum* suşlarında itrakonazol için buldukları ortalama MİK 0.06µg/ml bizim sonucumuzdan daha düşük olmakla birlikte, terbinafin ortalama MİK'i <0.06µg/ml ile çalışmamızdan daha yüksek bildirilmiştir.

İtrakonazol MİK aralığını 0.0625-2µg/ml olarak bulduk Esteban ve ark. (82) dermatofitlerin antifungal duyarlılıklarını test için kullanılan broth mikrodilüsyon ve disk diffüzyon yöntemlerinin karşılaştırmasını yapmışlar, 10 *T. rubrum* izolatında itrakonazolün MİK aralığını 0.25-2 µg/ml bulmuşlardır. Ghannoum ve Chaturvedi (81) 0.001-0.5µg/ml MİK aralığı bulurken, Mock ve ark.(109) 40-80 µg/ml aralığında bulmuşlardır.

Dermatofitler için optimal antifungal duyarlılık test durumlarının değerlendirilen çok merkezli bir çalışmada (105)*T. rubrum* için itrakonazol MİK'i 0.06-2 µg/ml bulunmuştur. Bunu destekleyen diğer bir çok çalışmalar (110, 111, 112, 113) vardır. Çetinkaya ve ark.(104) 108 *T. rubrum*'da itrakonazol için MİK'i 0.06-8µg/ml bulmuşlar ve terbinafin'in *T. rubrum*'a karşı en potent ajan olduğunu rapor etmişlerdir(104). Bu iki çalışmadaki sonuçlar bizim sonucumuzla uyumludur.

Çalışmamızda sulkonazol MİK aralığı <0.0313-4 olarak değerlendirildi. Karaca ve Koç (114) 50 tanesi *T. rubrum* olan 56 dermatofitin sulkonazole duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle araştırmışlardır ve sulkonazol MİK aralığını <0.008 -4µg/ml olarak bulmuşlardır.

Dermatofitlerin 10 antifungal maddeye duyarlılıklarının mikrodilüsyon yöntemiyle araştırıldığı bir çalışmada (115) %67'si ketokonazol'e, %81'i sulkonazol'e duyarlı ve 12 *T. rubrum* suşunun 9'u ketokonazol'e (MİK aralığı 0.2-6 µg/mL), 11'i sulkonazol'e duyarlı bulunmuştur. Aşçı (116) Elazığ bölgesinde disk diffüzyon yöntemi ile 93 *T. rubrum* izolatında antifungal duyarlılığını araştırmış ve ketokonazol'e %60.22, sulkonazol'e % 49.46 oranında duyarlık gözlediği çalışmada ketokonazol'ün sulkonazol'e göre daha etkili antimikotik olduğu sonucuna varmıştır. Bizim yaptığımız çalışmamızda sulkonazol MİK aralığı <0.0313–4 ve MİK₉₀ 1 µg/ml ile ketokonazolden daha etkili idi.

Ekonazol MİK aralığını 0.0313 -0.125 µg/ml gibi iyi bir değerde bulduk. Favre ve ark. (102) 20 dermatofitin 17 antifungal ilaçla mikrodilüsyon baktıkları in-vitro duyarlılıklarında *T. rubrum*'da ekonazol için MİK aralığı 0.016-0.031µg/mL, MİK₅₀ 0.016µg/mL, MİK₉₀ 0.063µg/mL, MİK ortalama 0.032µg/ml değerleri bulunmuştur.

Ketokonazol MİK aralıkları 0.0125-4 µg/mL, MİK₅₀ 0.5µg/mL, MİK₉₀ 2 µg/ml bulundu. Beş antifungal ajana karşı 71 dermatofitte mikrodilüsyon yöntemiyle in vitro duyarlılığı araştıran Nweze ve ark.(117) *T. rubrum*'da ketokonazol için MİK'i bizimle aynı bulurken (0.125-4.0 µg/mL), itrakonazol için düşük MİK'i (0.03-1 µg/mL), terbinafin de biraz yüksek değer (MİK'i 0.03-0.25 µg/mL) bulmuşlardır.

Pujol ve ark.(118) mikrodilüsyon yöntemi ile 49 dermatofitin antifungal ajanlara duyarlılığını araştırmışlar, 8 *T. rubrum* suşunda ketokonazol için MİK aralığı 0.5-2µg/ml olarak gözlemişlerdir. Nimura ve ark.(119) 2001 yılında ve Cordeiro ve Brilhante (120) 2005'te yaptıkları çalışmada bu antifungal için oldukça yüksek MİK aralıkları bildirmişlerdir. Ketakonazolün MİK değerini 0.5-2 µg/ml olarak bulan Korting ve ark. (121) ise bu değerlerin dermatofitlerin eradikasyonu için yeterli aralıklarda olduğunu bildirmişlerdir. Macura'nın (122) 7 antifungal ilacı 80 dermatofit suşunda test ettiği çalışmasında ketokonazol'un MİK aralığı 0.1-100 µg/ml gibi geniş bir konsantrasyon aralığında bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda (123, 90) ketokonazol için çok düşük MİK aralıkları da elde edilmiştir.

Nimura ve ark. (119) 20 *T. rubrum*'da broth mikrodilüsyon yöntem ile terbinafin hidroklorid, butenafin hidroklorid, netikonazol hidroklorid ve ketokonazol duyarlılıklarını, Fernandez-Torres ve ark.(107) mikrodilüsyon yöntemi ile 508

dermatofitin 10 antifungal ilaca duyarlılığına bakmışlar. Bunlar içerisinde terbinafinin en aktif antifungal ve en düşük MİK'e sahip olduğunu bildirmişlerdir. Dermatofitlerin flukonazol, terbinafin, itrakonazol, griseofulvin'e duyarlılığını araştıran Jessup ve ark.(124) ortalama MİK'leri terbinafin için 0.002µg/mL, itrakonazol için 0.13µg/ml olarak dermatofitlere karşı en etkili olan antifungalın terbinafin olduğunu bildirmişlerdir.

Ketokonazol ve itrakonazol'e dermatofitlerin in vitro duyarlılığını araştıran Venugopal (125) *T. rubrum*'da itrakonazol'un daha etkili olduğunu açıklamıştır. Benzer çalışmalarda da (120) itrakonazol'ün ketokonazol'e göre daha etkili olduğunu göstermişlerdir.

Korting ve ark. (121) itrakonazol aktivitesini diğer azol derivelerinden daha yüksek bulmuşlardır. Santos ve ark.(126) mikrodilüsyon yöntemiyle 40 *T. rubrum* izolatında terbinafin, itrakonazol, ketokonazol için in vitro duyarlılık araştırmışlar ve en potent ajan olarak saptanan terbinafin'i itrakonazolün izlediğini bildirmişlerdir. Santos ve Hamdan (84) mikrodilüsyon yöntemiyle 32 *T. rubrum* izolatının ketokonazol, itrakonazol, griseofulvin, terbinafin'e duyarlılıklarını araştırırken itrakonazol için MİK'i ≤ 0.031 -1µg/ml, terbinafin MİK'i ≤ 0.031 µg/ml, ketokonazol için MİK'i 0.0625-2µg/ml bulmuşlardır. Terbinafin'in *T. rubrum*'a karşı en potent ajan olduğu, bunu itrakonazol ve ketokonazol'un takip ettiğini yayınlamışlardır. Terbinafin ve ketokonazol sonuçlarımız bu çalışma ile benzer olmakla birlikte bizim çalışmamızda en etkili antifungal olarak terbinafin bulundu ve bunu ekonazol ve sulkonazol izledi.

Soares ve Cury (103) tinea pedisli hastalardan elde edilen 25'i *T. rubrum* olan dermatofitlere karşı antifungal ve antiseptik ajanların in vitro aktivitesini agar dilüsyon metoduyla araştırmışlardır ve terbinafin MİK'i 0.007-0.015 µg/ml, ketokonazol için MİK'i 1-32 µg/ml bulmuşlardır. Böylece terbinafin'in ketokonazol'e göre daha etkili olduğunu göstermişlerdir. 68 Dermatofit suşunun 4 antifungale duyarlılığının araştırıldığı bir çalışmada (90) itrakonazol'ün ketokonazol'e göre daha etkili olduğu gösterilmiştir. Arısoy ve ark. (127) 55 *T. rubrum* suşunun in vitro antifungal duyarlılık araştırmışlardır ve ketokonazol'e %81.8, itrakonazol'e % 92.7 oranında duyarlı bulmuşlardır.

Bizim çalışma sonuçlarımıza göre de terbinafinin azollere göre daha düşük MİK değerleri ile dermatofit infeksiyonlarının en etkili antifungal olduğu, terbinafini sırasıyla ekonazol, sulkonazol ve itrakonazol'un takip ettiği görüldü.

Çalışmamızdaki bulgularımız ve literatürde bulunan *T. rubrum* ile ilgili diğer araştırmaların duyarlılık sonuçları tablo 13 - 18'de özetlenmiştir.

Yurt içi ve yurt dışı çalışmalar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamakta olup sonuçlar birbirleriyle uyumludur.

Sonuç olarak, gerek infeksiyonun yayılımının sınırlandırılmasında, gerekse kronikleşme eğilimindeki dermatomikozların başarıyla tedavisinin sağlanabilmesi için kültürle etkenin izolasyonu ve tür tanısı yapılmalıdır. Yüzeysel mikoz etkenleri için daha fazla çalışmalarla *in vitro* duyarlılık testlerinin standarize edilmesi ve *in vivo* uyumunun araştırılması gerekmektedir.

Tablo 13. Antifungallerin MİK Aralıkları

	Ketokonazol µg/ml	Sulkonazol µg/ml	Ekonazol µg/ml	Itrakonazol µg/ml	Terbinafin µg/ml
Bu çalışmada	0.125-4	0.0313-4	0.0313-0.125	0.0625-2	0.0313-0.0313
Santos ve Hamdan 2005 (80)	0.0625-2			<0.031-1.0	<0.031
Barros ve ark. 2006 (99)	0.062-1			0.031-0.25	<0.007-0.031
Santos ve ark.2006 (85)					<0.031
Fernández-Torres ve ark.2002 (105)				0.06-2	0.01-0.6
Ghannoum ve Chaturvedi 2004 (81)				0.001-0.5	0.001- ≥0.5
Santos ve Hamdan 2007 (84)	0.0625-2			≤0.031-1	≤0.031
Esteban ve ark. 2005 (82)				0.25-2	0.0078-0.06
Nimura ve ark. 2001 (119)	4-16				0.008- 0.063
Venugopal 1992 (125)	0.1-5			0.1-0.5	
Macura 1993 (122)	0.1-100				
Korting ve Rosenkranz 1989 (123)	0.1- 1				
Mock ve ark 1998 (109)				40-80	0.005-0.5
Soares ve Cury 2001 (103)	1-32				0.007-0.015
Venugopal 1994 (100)					0.001- 0.1
Fernández-Torres ve ark.2003 (111)	0.25-0.5			0.06-1	
Nweze ve ark.2006 (117)	0.125-4.0 µg			0.03-1	0.03-0.25
Favre ve ark. 2003 (102)	0.03- 0.13		0.016-0.031	0.25-0.5	0.002-0.004
Korting ve ark 1995 (121)	0.5- 2			0.1-2	0.001-0.05
Khan ve ark.2006 (110)				0.25-0.5	0.03 -0.25
Soares ve Cury 2001 (106)	0.031-16				0.007-4
Fernandez-Torres ve ark. 2001 (107)	0.01-8			0.01-8	0.003-16
Pujol ve ark. 2002 (118)	0.5-2			≤0.01-1	
Karaca ve Koç 2004 (114)	<0.008 ->4	<0.008 -4		<0.001 -1	≤0.001 -1
Özkütük ve ark.2007 (90)	0.03-1			0.03-0.06	
Çetinkaya ve ark.2005 (104)	0.03-8			0.06-8	0.03-4
Kibar ve ark.2001 (112)				0.01- 10	

Tablo 14. İtrakonazol MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri

	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Bu çalışmada	0.5	1.0
Favre ve ark. 2003 (102)	0.25	0.5
Nweze ve ark.2006 (117)	0.03	0.25
Santos ve Hamdan 2007 (84)	0.125	0.25
Jessup ve ark. 2000 (124)	0.13	0.5
Fernández-Torres ve ark.2002 (105)	0.25	1.0
Venugopal 1992 (125)	0.5	
Barros ve ark 2006 (99)	0.125	0.25
Fernandez-Torres ve ark 2001 (107)	0.125	0.5
Karaca ve Koç 2004 (114)	0.008	0.5
Çetinkaya ve ark.2005 (104)	0.25	0.5

Tablo 15. Ketokonazol MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri

	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Bu çalışmada	0.5	2
Nweze ve ark.2006 (117)	0.125	0.50
Favre ve ark. 2003 (102)	0.13	1.0
Santos ve Hamdan 2007 (84)	0.5	1.0
Fernandez-Torres ve ark.2001 (107)	0.125	0.5
Barros ve ark 2006 (99)	0.25	1.0
Karaca ve Koç 2004 (114)	0.25	1.0
Çetinkaya ve ark.2005 (104)	0.25	0.5

Tablo 16. Terbinafin MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri

	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Bu çalışmada	0.0313	0.0313
Nweze ve ark.2006 (117)	0.007	0.01
Santos ve Hamdan 2007 (84)	≤0.031	≤0.031
Jessup ve ark. 2000 (124)	0.001	0.002
Fernández-Torres ve ark.2002 (105)	0.03	0.03
Barros ve ark 2006 (99)	0.007	0.015
Fernandez-Torres ve ark. 2001 (107)	0.01	0.06
Venugopal 1994 (100)	0.01	
Favre ve ark. 2003 (102)	0.004	0.016
Karaca ve Koç 2004 (114)	0.002	0.008
Çetinkaya ve ark.2005 (104)	0.6	0.25

Tablo 17. Sulkonazol MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri

	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Bu çalışmada	0.25	1.0
Karaca ve Koç 2004 (114)	0.25	1.0

Tablo 18. Ekonazol MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri

	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Bu çalışmada	0.0313	0.0625
Favre ve ark. 2003 (102)	0.016	0.063

6. ÖZET

Bu çalışmada, yüzeysel mikoz infeksiyonu düşünülen hastalardan alınan örneklerden izole edilen 79 *T. rubrum* identifiye suşu seçildi. Bu suşların hemolitik aktiviteleri ve NCCLS'in M38-P sayısında belirtilen yöntemle göre mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak antifungal duyarlılıkları saptandı.

Örneklerin direkt mikroskopik incelemeleri, kültürleri, laktofenolle kültürden incelemeleri yapıldı. Kültürlerde izole edilen *T. rubrum* identifikasyonu, koloninin üreme hızı, yüzey yapısı, yüzey boyası, koloni tabanında pigment olup olmaması, çözünebilir pigmentin varlığı, Patates Dekstroz Agarda morfolojik yapısı ve üreaz aktivitesi, kıl delme reaksiyonu kullanılarak yapıldı.

T. rubrum için virulans faktörü olan hemolitik aktivite de bu çalışmada araştırıldı. Araştırmalar 79 suşun 50 sinde alfa hemoliz, 21 'inde beta hemoliz saptandı.

T. rubrum'da antifungallerin MİK aralıkları ketokonazol için 0.125-4 µg/ml, itrakonazol için 0.0625-2 µg/ml, sulkonazol için 0.0313-4 µg/ml, ekonazol için 0.0313-0.125 µg/ml, terbinafin için 0.0313-0.0313 µg/ml olarak bulundu. *T. rubrum*'a en etkili ilaç terbinafin idi. Ekonazol'un beklenenden daha düşük MİK değerleri olduğu belirlendi.

MIC değerleri ile hemolitik aktivite arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.

7. ABSTRACT

In this study we chose the 79 *Trichophyton rubrum* species isolated from the specimens of the superficial mycoses suspected patients. Haemolytic activities of these species were investigated and their antifungal activities were determined using a microdilution assay according to the NCCLS M38-P method.

Direct microscopic investigations, cultures and lactophenol-cotton blue investigations from the cultures of the specimens were done. The identification of *Trichophyton rubrum* was done according to the growth time of the colonies, surface color, pigmentation at the bottom of the agar plate, soluble pigment production, morphology on potato-dextrose agar, urease activity and bristle pierce examinations.

Hemolytic activity which is accepted as a virulence factor was also investigated in this study and 50 of the 79 *T.rubrum* species showed alpha hemolysis and 21 of them showed beta hemolysis.

The MIC's for five antifungals ranged between 0.125-4 for ketoconazole, 0.0625-2 for itraconazole, 0.0313-4 for sulconazole, 0.0313-0.125 for econazole and 0.0313-0.0313 for terbinafine. Terbinafine was the most active antifungal against *T.rubrum*. The MIC'S for econazole were lower than the expected values.

There was no significant relation between the hemolytic activity and MIC values.

8. TEŞEKKÜR

Uzmanlık eđitimim ve tez çalıőmam sűresince yakın ilgi ve desteklerini gűrdűđđm danıőman hocam Sayın Prof. Dr. Duygu FINDIK'a ve Anabilim Dalı Baőkanımız Sayın Prof. Dr. Bűlent BAYSAL'a, ayrıca yardımlarını esirgemeyen hocalarım Sayın Prof. Dr. E. İnci TUNCER'e, Sayın Prof. Dr. Mahmut BAYKAN'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet ŐZDEMİR'e ve bűtűn çalıőma arkadaşlarıma, bu sűre boyunca sabırlarıyla bana destek olan eőim Mehmet SOLGUN'a, kızım Bengisu SOLGUN'a ve bűtűn aile fertlerine en içten teőekkűrlerimi sunarım.

8. KAYNAKLAR

1. Matsumoto T, Ajello L. Current taxonomic concepts pertaining to the dermatophytes and related fungi (Review). Int J Dermatol 1987; 26: 491-499.
2. Macura AB. Dermatophyte infections. Int J Dermatol 1993; 32: 313-323.
3. Torres-Rodriguez JM, Lopez-Jodra O. Epidemiology of nail infection due to keratinophilic fungi. Rev. Iberoam. Micol 2000; 17: 122-135.
4. Rezabek GH, Friedman AD. Superficial fungal infections of the skin. Drugs 1992; 42: 674-682.
5. Weitzman I, Kane J, Summerbell RC. Trycophyton, Microsporum, Epidermophyton, and agents of superficial mycoses. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds), Manual of Clinical Microbiology (6th ed). ASM Pres, Washington DC 1995, p791-808.
6. Saniç A. Dermatofitler. Ustaçelebi Ş (ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara 1999, s 1031-1043.
7. Hay RJ. Dermatophytosis and other superficial mycoses. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglass and Bennett's Principles and Practice of Infections Diseases (5th ed). Churchill Livingstone, Philadelphia 1995, p 2375-2385.
8. Weitzman I, Padhye AA. Dermatophytes; gross and microscopic. Dermatologic Clinics 1996; 14: 9-22.
9. Tümbay E. Dermatofitler. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (ed'ler), İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara 2002, s1785-1797.
10. Schausuf P, Steller U. Haemolytic activities of *Tricophyton* species. Medical Mycology 2003; 41: 511-516.
11. Gupta AK, Einarson TR, Summerbell RC, Shear NH. An overview of topical antifungal therapy in dermatomycoses. Drugs 1998; 55: 645-674.
12. Mc Ginnis MR, Rinaldi MG. Antifungal drugs: Mechanism of action, drug resistance, susceptibility testing, and assays of activity in biologic fluids. In: Lorian V (ed), Antibiotics In Laboratory Medicine (4th ed). Williams & Wilkins 1996, p176-211.
13. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 240-259.

14. Elewski BE. Onychomycoses: Pathogenesis, diagnosis, and management. Clin Microbol Rev 1998; 11: 415-429.
15. Mitchell TG. Dermatophytosis and other cutaneous mycoses. In: Joklik WK, Willet HP, Amos DB, Wilfert CM (eds), Zinsser Microbiology (20th ed). Appleton&Lange 1984, p 1173-1181.
16. Rippon JW. Cutaneous infections: Dermatophytosis and dermatomycosis. In: Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes (3th ed). WB Saunders, Philadelphia 1988, p 169-275.
17. Nelson M M, Martin AN, Heffernan MP. Superficial fungal infections: Dermatophytosis, Onychomycosis, Tinea Nigra, Piedra. In: Fitzpatrick's Dermatology In General Medicine. McGraw-Hill Companies, 2003;1989- 2004.
18. Hay RJ. Fungal skin infections. Arch Dis Child 1992; 67: 1065-1067.
19. Greer DL. An overview of common dermatophytes. J Am Acad Dermatol 1994; 31: 112-116.
20. Glenn DR. Laboratory methods in basic mycology. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM(eds), Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology (9th ed). Mosby Year Book, St Louis 1994, p 689-775.
21. Koneman EW. Mycology. In: Koneman EW, Allen SD, Jando WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds), Color Atlas And Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott, Philadelphia 1992; p 791-861.
22. Larone DH. Medical important fungi: A guide to identification (2th ed). Washington DC 1993, p 117-137.
23. Aly R. Culture media for growing dermatophytes. J Am Acad Dermatol 1994; 31: 107-108.
24. Sinski JT, Avermaete DV. Analysis of tests used to differentiate *Tricophyton rubrum* from *Tricophyton mentagrophytes*. Journal of Clinical Microbiology 1981; Jan: 62-65.
25. Hay RJ, Moore M. Mycology. In: Rook / Wilkinson / Ebling Textbook of Dermatology. Blackwell Science Ltd, 1998; p1320-1321.
26. Sharma V, Hall JC, Knapp JF, Sarai S, Galloway D, Babel DE. Scalp colonization by *Tricophyton tonsurans* in an urban pediatric clinic. Arch Dermatol 1988; 124: 1511-1513.

27. İlkit M. Türkiye’de dermatofitlerin epidemiyolojisi. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi,12-16 Eylül 2006, Belek / Antalya.
28. Poyraz Ö. Özel Mikoloji. Genel ve özel Tıbbi Mikoloji. Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, 2006, s 88-136.
29. Aljabre SHM, Richardson MD, Scott EM, Rashid A, Shankland GS. Adherence of arthroconidia and germlings of anthropophilic and zoophilic varieties of *Tricophyton mentagrophytes* to human corneocytes as an early event in the pathogenesis of dermatophytosis. Clin Exp Dermatol 1993; 18: 231-235.
30. Masri-Fridling GD. Dermatophytosis of the feet. Dermatologic Clinics1996; 14: 33-40.
31. Perea S, Ramos MJ, Garau M, Gonzales A, Noriega AR, Palacio A. Prevalance and risk factors of tinea unguium and tinea pedis in the general population in Spain. J Clin Microbiol 2000; 38:3226-3230.
32. Dereli T. Sık Görülen Dermatofitozlar ve Tedavi Sorunları. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Eylül 2006, Belek / Antalya.
33. Kuştimur S, Dermatofitlerin patogenezi ve virulans faktörleri. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Sempozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar , 3-4 Haziran 2004, Kayseri.
34. Karaarslan A. Dermatofitlerde virulans faktörleri. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi,12-16 Eylül 2006, Belek / Antalya.
35. Brasch J, Zaldua M. Enzyme patterns of dermatophytes. Mycoses 1994; 37: 11-16.
36. Wagner DK, Sohnle PG. Cutaneous defenses against dermatophytes and yeasts. Clin Microbol Rev 1995; 8: 317-335.
37. Jones HE. İmmune response and host resistance of human to dermatophyte infection. J Am Acad Dermatol 1993; 28: 12-18.
38. Dahl MV. Dermatophytosis and immune response. J Am Acad Dermatol 1994; 31: 11-16.
39. Squeo RF, Beer R, Silvers D, Weitzman I, Grosman M. Invasive *Tricophyton rubrum* resembling blastomycosis infection in the immunocompromised host. Journal of the American Academy of Dermatology 1998; August:379-380.
40. Barson WJ. Granuloma and pseudogranuloma of skin due to *Microsporum Canis*. Arch Dermatol 1985; 121: 895-897.

41. Elewski BE, Sullivan J. Dermatophytes as opportunistic pathogens. *J Am Acad Dermatol* 1994;30: 1021-1022.
42. Odom RB, James WD, Berger TG. Diseases Resulting from and Yeasts. In: *Diseases of the Skin*. W. B. Sanders Company, 2000; 359-378.
43. Elewski BE. Tinea capitis: A current perspective. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 1-20.
44. Özel MF, Mete M, Mete Ö, Gül K, Suay A. Diyarbakır ve çevresinde dermatomikoz etkenleri. *İnfeksiyon Derg* 1996; 10: 275-278.
45. Leyden JL. Tinea pedis pathophysiology and treatment. *J Am Acad Dermatol* 1994;31: 31-33.
46. Rich P. Nail disorders. *Medical Clinics of North America* 1998; 82: 1171-1183.
47. Elewski BE. Diagnostic techniques for confirming onychomycosis. *J Am Acad Dermatol* 1996;35: 6-9.
48. Summerbell RC. Epidemiology and ecology of onychomycosis. *Dermatology* 1997; 194 (Suppl. 1): 32-36.
49. Summerbell RC, Kane J, Kraiden S. Onychomycosis, tinea pedis and tinea manum caused by non dermatophytic filamentous fungi. *Mycoses* 1989; 32: 609-619.
50. Richardson MD, Warnock DW. Laboratory Diagnosis of Fungal İnfection. In: *Fungal İnfection Diagnosis and Management*. Blackwell Publishing LTD, 2003;14.
51. Land GA, Stringfellow J. Collection and transport of specimens. In: Isenberg HD (ed), *Clinical Microbiology Procedures Hanbook*. ASM Pres, Washington DC 1992, vol : 1 p 6.1-6.2.
52. Tümbay E. Dermatomikozlarda Örnek alma ve Klinik- Laboratuar İşbirliği.2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Sempozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar , 3-4 Haziran 2004, Kayseri.
53. Tanaka S, Summerbell RC, Tsuboi R, Kaman T, Sohnle PG, Matsumoto T, et al. Advances in dermatophytes and dermatophytosis. *J Med Vet Mycol* 1992; 30 (suppl.1): 29-39.
54. Elewski BE, Greer DL. Hendersonula toruloidea and Scytalidium hyalinum. *Arch Dermatol* 1991; 127: 1041-1044.

55. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burdorf WHC. Fungal Disease. In : Dermatology. Springer- Verlag Berlin Heidelberg, 2000;313-338.
56. Salkin IF, Padhy AA, Kemna ME. A new medium for the presumptive identification of dermatophytes. J Clin Microbiol 1997; 35: 2660-2662.
57. Babel DE. How to identify fungi. J Am Acad Dermatol 1994;31: 108-111.
58. Toraman ZA. Doğrudan tanı yöntemleri ve önemi. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları Ve Klinik Mikoloji Kongresi, 27-30 Mayıs 2003, Bodrum.
59. Gräser M, El Fari M, Presber W, Sterry W, Jietz HJ. Identification of common dermatophytes (*Tricophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*) using polimerase chain reactions. British Journal of Dermatology 1998; 138: 576-582.
60. Hilmioğlu-Polat S. Dermatofitozların tanısında yenilikler. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Eylül 2006, Belek/ Antalya.
61. Çerikçioğlu N, Yeni identifikasyon yöntemleri. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları Ve Klinik Mikoloji Kongresi, 27-30 Mayıs 2003, Bodrum.
62. Espinel- Ingrof A, Pfaller MA. Antifungal agents and susceptibility testing. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds), Manual of Clinical Microbiology (7th ed). ASM Press, Washington DC 1995, p 1405-1414.
63. Kuştimur S. Antifungal duyarlılık testleri. Ustaçelebi Ş (ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara 1999, s 1159-1166.
64. Arıkan S. Dermatofitler Ve *Malassezia*: Antifungal İlaçlara İn Vitro Duyarlılık Profili Ve Duyarlılık Testleri İle İlgili Son Durum. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Sempozyumu: Dermatofitler ve Dermatofitler, 3-4 Haziran 2004, Kayseri.
65. Yücesoy M. Dermatofitlerde Antifungal Duyarlılık Testleri. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Sempozyumu: Dermatofitler ve Dermatofitler, 3-4 Haziran 2004, Kayseri.
66. Arıkan S. Antifungal duyarlılık testleri: yenilikler, sorunlar. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Eylül 2006, Belek / Antalya.
67. Ener B. İn vitro antifungal duyarlılık testleri: standardizasyon ve klinik önemi. Mikrobiyoloji Bülteni 1996; 30:419-425.
68. Kayaalp O. Antifungal antibiyotikler ve diğer antifungal ilaçlar. Rasyonel Tedavi yönünden Tıbbi farmakoloji. Hacettepe –TAŞ Kitapçılık, Ankara 2000, ss 291-300.

69. Lyman CA, Walsh TJ. Systemically administered antifungal agents. *Drugs* 1992; 44: 9-35.
70. Brennan B, Leyden JJ. Overview of topical therapy for common superficial fungal infections and the role of new topical agents. *J Am Acad Dermatol* 1997;36: 3-8.
71. Elewski BE. Mechanisms of action of systemic antifungal agents. *J Am Acad Dermatol* 1993;28: 28-34.
72. Kyle AA, Dahl MV. Topical therapy for fungal infections. *Am J Clin Dermatol* 2004;5(6):443-451.
73. Kalkancı A. Dermatomikozların tedavisinde kullanılan antifungaller. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları Ve Klinik Mikoloji Sempozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar , 3-4 Haziran 2004, Kayseri.
74. Dural EAÖ. Mikrobiyal hastalıkların kemoterapisi. Nobel tıp kitabevleri, 2002: 468-473.
75. Or E, Dokuzeylül B, Sistemik mantar hastalıklarının sağaltımında kullanılan ilaçlar. 4. Ulusal Mantar Hastalıkları Ve Klinik Mikoloji Kongresi, 3-6 Mayıs 2005, Konya.
76. Tümbay E. Mantar laboratuvarında uygulana yöntemler. *Pratik tıp Mikolojisi. Bilgehan Basımevi*, 1983:7-30.
77. Salkın IF, Hollick GE, Hurd NJ. Evaluation of human hair sources for the in vitro hair perforation test. *Journal of Clinical Microbiology* 1985;Dec:1048-1049.
78. Schaufuss P, Brasch J. Dermatophytes can trigger cooperative (CAMP-like) haemolytic reactions. *British Journal of Dermatology* 2005;153:584-590.
79. National Committee for Clinical Laboratory Standarts: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved Standard M38-A., NCCLS, Wayne (2002).
80. Santos DA, Hamdan JS. Evaluation of broth microdilution antifungal susceptibility testing conditions for *Tricophyton rubrum*. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; Apr:1917-1920.
81. Ghannoum MA, Chaturvedi V. Intra- and interlaboratory study of a method for testing the antifungal susceptibilities of dermatophytes. *Journal of Clinical Microbiology* 2004;July:2977-2979.

82. Esteban A, Abarca ML, Cabanes FJ. Comparison of disk diffusion method and broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. *Medical Mycology* 2005; 43:61-66.
83. Espinel-Ingroff A. Evaluation of broth microdilution testing parameters and agar diffusion Etest procedure for testing susceptibilities of *Aspergillus* spp. To caspofungin acetate. *Journal of Clinical Microbiology* 2003;Jan:403-409.
84. Santos DA, Hamdan JS. In vitro activities of four antifungal drugs against *Tricophyton rubrum* isolates exhibiting resistance to fluconazole. *Mycoses* 2007; 50 (4): 286–289.
85. Santos DA, Barros MES, Hamdan JS. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Tricophyton rubrum* and *Tricophyton mentagrophytes*. *Journal of Clinical Microbiology* 2006; 44(1):98-101.
86. Kuştimur S, El-Nahi H. Ankara'nın Balgat ve çevresindeki yerleşim bölgelerinden izole edilen dermatomikoz etkenleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1993; 23:116-118.
87. Fındık D, Mevlutoğlu İ, Kaya M, Arslan U, Yüksel A. 1994-2000 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi mikoloji laboratuvarında dermatofitoz ön tanılı olgulardan izole edilen etkenler. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2001;2(2):19-22.
88. Karaarslan A, Karaarslan F, Cengiz AT. Ankara'nın Keçiören Bölgesinden izole edilen dermatomikoz etkenleri. *İnfeksiyon Dergisi* 1998; 12 (1): 93-96.
89. Sürücüoğlu S, Yürker M, Üremek H, Ellidokuz H, Kıpıcı A. İzmir bölgesinde yüzeysel mantar infeksiyonuna neden olan 660 dermatofit ve maya türünün değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 1997; 11(1):63-65.
90. Özkütük A, Ergon C, Yuluğ N. Species distribution and antifungal susceptibilities of dermatophytes during a one year period at a university hospital in Turkey. *Mycoses* 2007; 50:125-129.
91. Manzano Gayosso P, Méndez- Tovar LJ, Hernández- Hernández F, López-Martínez R. Dermatophytoses in Mexico City. *Mycoses* 1994;37:49-52
92. Khosravi AR, Aghamirian MR, Mahmoudi M. Dermatophytoses in Iran. *Mycoses* 1994;37:43-48.
93. Tümerdem Y, Ayhan B, Şendir S, Yeğenoğlu Y, Saylan T. El – Ayak onikomikozları (Epidemiyolojik bir araştırma). *İnfeksiyon Dergisi* 1995; 9(1-2): 147-150.

94. Kiraz M, Yeğenoğlu Y, Erturan Z, Anđ Ö. The epidemiology of onychomycoses in İstanbul. *Mycoses* 1999;42:323-329.
95. Pfaller MA, Rex JH, Rinaldi MG. Antifungal susceptibility testing: Technical advances and potential clinical applications. *Clinical Infectious Diseases* 1997;24:776-84.
96. Espinel-Ingroff A, Kish CW, Kerkering RM, Fromtling RA, Bartizal K, Galgiani JN, et al. Collaborative comparison of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *Journal of Clinical Microbiology* 1992; 30(12):3138-3145.
97. Ghannoum MA, Rex JH, Galgiani JN. Susceptibility testing of fungi: Current status of correlation of in vitro data with clinical outcome. *Journal of Clinical Microbiology* 1996; 34(3): 489-495.
98. Pujol I, Guarro J, Sala J, Riba MD. Effects of incubation temperature, inoculum size, and time of reading on broth microdilution susceptibility test results for amphotericin B against fusarium. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1997; 41(4): 808-811
99. Barros MES, Santos DA, Hamdan JS. In vitro methods for antifungal susceptibility testing of *Tricophyton* spp. *Mycol Res.* 2006;110(Pt 11):1355-60.
100. Veugopal PV, Veugopal T. Disk diffusion susceptibility testing of dermatophytes with allylamines. *Int J Dermatol* 1994; 33:730-732.
101. Falahati M, Shabani M, Rodaki MMA, Jahani F, Bagheri KP, Ebrahimi SA. Interaction between ketokonazole, amphotericin B and terbinafin and three diazepamdiolates in concomitant uses against some fungal species. *Daru* 2006; 14(2): 87-92.
102. Favre B, Hofbauer B, Hildering KS, Ryder NS. Comparison of In vitro activities of 17 antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41(10): 4817-4819.
103. Soares MMSR, Cury AE. In vitro activity of antifungal and antiseptic agents against dermatophyte isolates from patients with tinea pedis. *Brazilian Journal of Microbiology* 2001;32 (2):130-134.
104. Çetinkaya Z, Kiraz N, Karaca Ş, Kulaç M, Çiftçi İH, Aktepe OC et al. Antifungal susceptibilities of dermatophytic agents isolated from clinical specimens. *Eur J Dermatol* 2005; 15(4):258-61.

105. Fernández-Torres B, Cabanes FJ, Carrillo-Munoz AJ, Esteban A, Inza I, Abarca L et al. Collaborative evaluation of optimal antifungal susceptibility testing conditions for dermatophytes. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 40(11):3999-4003.
106. Soares MMSR, Cury AE. *In vitro* activity of Antifungal and antiseptic agents against dermatophyte isolates from patients with tinea pedis. *Brazilian Journal of Microbiology* 2001; 32:130-134.
107. Fernandez-Torres B, Carrillo AJ, Martin E, Palacio A, Moore MK, Valverde A, Serrano M, Guarro J. *In vitro* activities of 10 antifungal drugs against 508 dermatophyte strains. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2001;45(9): 2524-2528.
108. Norris HA, Elwski BE, Ghannoum MA. Optimal growth conditions for the determination of the antifungal susceptibility of three species of dermatophytes with the use of a microdilution method. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40; 9-13.
109. Mock M, Monod M, Baudraz-Rosselet F, Panizzon RG. Tinea capitis dermatophytes: susceptibility to antifungal drugs tested *in vitro* and *in vivo*. *Dermatology* 1998; 197: 361-367.
110. Khan S, Singhal S, Mathur T, Upadhyay DJ, Rattan A. Antifungal susceptibility testing method for resource constrained Laboratories. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2006; 24(3): 171-6.
111. Fernández-Torres B, Carrillo-Munoz A, Ortoneda M, Pujol I, Pastor FJ, Guarro J. Interlaboratory evaluation of the Etest for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. *Medical Mycology* 2003; 41:125-130.
112. Kibar F, Köksal F, Acar A, Akbaba M, Yoldaşcan E. Çeşitli Dermatofitlerin Griseofulvin, Flukonazol ve İtrakonazol Duyarlılıklarının *In Vitro* Araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2001;35:299-305.
113. Kuzucu C, Rapino B, Mc Dermott L, Hadley S. Comparison of the Semisolid Agar Antifungal Susceptibility Test with the NCCLS M 38-P Broth Microdilution Test for Screening of Filamentous Fungi. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42(3):1224-1227.
114. Karaca N, Koç AN. *In vitro* susceptibility testing of dermatophytes : comparison of disk diffusion and reference broth dilution methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2004; 48: 259-264.

115. Kaya D, Kasımoğlu Ö, Kiraz M. Dermatofit suçlarının Antifungal Maddelere Duyarlılığı. *Aknem Derg* 1994;8(1):26-32.
116. Aşçı Z. Elazığ yöresinde izole edilen dermatofit etkenleri ve invitro duyarlılıklarının araştırılması (Doktora Tezi). Elazığ: Fırat Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1992.
117. Nweze EI, Ogbonna CC, Okafor JI. Microdilution in vitro susceptibility testing of 71 species of dermatophytes isolated from pediatric cases in Nigeria against five antifungal agents. <http://www.mejfm.com/journal/Nov2006/Microdilution.htm>.
118. Pujol I, Capilla J, Fernandez-Torres B, Ortoneda M, Guarro J. Use to sensititre colorimetric microdilution panel for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 40 (7): 2618-2621.
119. Nimura K, ve Niwano Y, Ishiduka S, Fukumoto R. Comparison of in vitro antifungal activities of topical antimycotics launched in 1990s in Japan. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2001;18: 173-178.
120. Cordeiro RA, Brilhante RSN, Rocha MFG, Rabenhorsch SHB, Moreira JLB, Grangeiro TB et al. Antifungal susceptibility and genetic similsrity of sequential isolates of *Tricophyton rubrum* from an immunocompotent patient with chronic dermatophytosis. *Clinical and Experimental Dermatology* 2005; 31: 122-124.
121. Korting HC, Ollert M, Abeck D. Results of german multicenter study of antimicrobiyal susceptibilities of *Tricophyton rubrum* and *Tricophyton mentagrophytes* strains causing tinea unguium. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 1995; 39(5): 1206-1208.
122. Macura AB. In vitro susceptibility of dermatophytes to antifungal drugs: a comparison of two methods. *Int J Dermatol* 1993;32:533-536
123. Korting HC, Rosenkranz S. In vitro susceptibility of dermatophytes from Munich to griseofulvin, miconazole and ketokonazole. *Mycoses* 1989; 33(3): 136-139.
124. Jessup CJ, Warner J, Ihsam N, Hasan I, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(1): 341-344.
125. Venugopal P, Venugopal T. In vitro susceptibility of dermatophytes to itrakonazole. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 1992; 58: 368-371.

126. Santos DA, Carvalho Araújo RA, Kohler LM, Machado-Pinto J, Hamdan JS, Cisalpino PS. Molecular typing and antifungal susceptibility of *Trichophyton rubrum* isolates from patients with onychomycosis pre- and post-treatment. International Journal of Antimicrobial Agents 2007;29:563-569.
127. Arısoy AS, Kurutepe S, Tünger Ö, Sürücüoğlu S, Özbakkalođlu B. *Trichophyton rubrum* Suşlarının Bazı Antifungal İlaçlara İn Vitro Duyarlılığı. İnfeksiyon Dergisi 2000; 14(1): 123-126.