

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**AKCİĞER ENFEKSİYONLU HASTALARDA ASPERGİLLUS SPP'NİN
MOLEKÜLER TANIMLANMASI (ITS GENİ)**

Sarah Abdalnaser Sabri SABRI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇANKIRI
2023**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sarah Abdulnaser Sabri SABRI tarafından hazırlanan “**Akciğer Enfeksiyonlu Hastalarda Aspergillus Spp'nin Moleküler Tanımlanması (ITS Geni)**” adlı tez çalışması 26/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ahmed Hamad SALEH

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Müslüm KUZU
Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı
Karabük Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Pınar ARSLAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Akciğer Enfeksiyonlu Hastalarda Aspergillus Spp'nin Moleküler Tanımlanması (ITS Geni)**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (26/01/2023).

Sarah Abdalnaser Sabri SABRI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AKCİĞER ENFEKSİYONLU HASTALARDA ASPERGİLLUS SPP'NİN MOLEKÜLER TANIMLANMASI (ITS GENİ)

Sarah Abdalnaser Sabri SABRI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ahmed Hamad SALEH

Aspergilloz, genellikle solunum sistemini etkileyen fırsatçı bir enfeksiyondur. Çevredeki ipliksi mantar *Aspergillus* sporlarının solunması sonucu oluşmaktadır. Sporlar filizlenmekte olup kan damarlarına giren ve nekroz ve hemorajik enfarktüse neden olan filamentler halinde gelişmektedir. Semptomları astım veya pnömonidir. *Aspergillus* türlerinin solunum yollarından moleküler yöntemle izole edilmesi ve teşhis edilmesi amacıyla tasarlanan çalışmada, solunum ve göğüs hastalıkları kliniklerinin özel laboratuvarlarından 181 balgam örneği elde edilmiştir. Örnekler %10 KOH solüsyonu içeren mikroskopta incelenmiş olup 92 pozitif, 89 negatif örnek bulunmuştur. Enfeksiyon oranı tespit edilen en yüksek sayı olan 38 (%41,3) idi. Bunu *Aspergillus flavus* 23 adet (% 25) ile takip etmektedir. 54 adet erkek hastada (% 58,7) 38 adet kadına (% 41,3) kıyasla anlamlı ($p \leq 0,001$) daha yüksek küf ve maya dağılımı mevcuttur. En yüksek enfeksiyon oranı 25 adet (% 65,8) erkek ve 13 adet (% 34,2) kadın ile *A. fumigatus* olarak kaydedilmiştir. *A. flavus*'un 14 adet (% 60,9) erkek ve 9 adet (% 39,1) kadın mevcuttur. Nijer'de 9 adet (% 56,3) erkek ve 7 adet (% 43,7) kadın mevcuttur; *Aspergillus* spp. 9 adet (% 60) erkek ve 6 adet (% 40) kadın mevcuttur. ITS1 genini ve bu genotip bölgesini (5,8S) çoğaltmak için moleküler ağırlığı (550) olan özel primerler kullanılarak *Aspergillus* mantarlarının DNA tanımlamasına yönelik moleküler sonuçlar kullanılmıştır. ITS1, incelenen mantarların taksonunda tanımlanmıştır. Mevcut çalışmadan *Aspergillus* enfeksiyonunun birkaç mantar solunum yolu enfeksiyonuna neden olduğu sonucuna varılmış olup ayrıca ITS1 hedef bölgesinin PCR kullanarak *Aspergillus* enfeksiyonunu doğrulamak için kullanılabileceği sonucuna da varılmıştır. Bu mantarlardan biri teşhis aracı olarak onaylanmıştır.

2023, 60 sayfa

ANAHTAR KELİMELE: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, KOAH, Solunum yolu enfeksiyonları

ABSTRACT

Master of Science Thesis

MOLECULAR IDENTIFICATION (ITS GENE) OF ASPERGILLUS SPP IN PATIENTS WITH LUNG INFECTION

Sarah Abdulnaser Sabri SABRI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Filiz SARIKAYA PEKACAR

Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Ahmed Hamad SALEH

Aspergillosis is an opportunistic infection that usually affects the respiratory system. It results from inhalation of spores of the filamentous fungus *Aspergillus* in the environment. The spores germinate and develop into filaments that enter blood vessels and cause necrosis and hemorrhagic infarction. Symptoms are asthma or pneumonia. The study was designed to isolate and diagnose *Aspergillus* species from the respiratory tract by molecular method, and 181 sputum samples were obtained from the special laboratories of the respiratory and chest diseases clinics. The samples were examined using a microscope containing a 10% KOH solution and 92 positive and 89 negative samples were found. The infection rate was 38 (41.3%), which was the highest number detected. It is followed by *Aspergillus flavus* 23 (25%). There was a significant ($p \leq 0.001$) higher distribution of mold and yeast for the 54 male patients (58.7) compared to the 38 females (41.3). The highest infection rate was recorded in *A. fumigatus* males with 25 (65.8) and 13 (34.2) females. *A. flavus* had 14 (60.9) males and 9 (39.1) females. *Niger* had 9 (56.3) males and 7 (43.7) females; *Aspergillus* spp. She had 9 (60) males and 6 (40) females. Molecular results for DNA identification of *Aspergillus* fungi using specialized primers with a molecular weight of (550) to amplify the ITS1 and this genotype region (5.8S) was used. ITS1 was identified in the taxon of fungi under study. It was concluded from the present study that *Aspergillus* infection causes several fungal respiratory infections, and we also concluded that the ITS1 target site can be used to confirm *Aspergillus* infection using PCR. One of these fungi has been approved as a diagnostic tool.

2023, 60 pages

Keywords: *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, COPD, Respiratory tract infections

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Her şeyden önce, Rahman ve Rahim olan Allah'a sonsuz şükürler olsun. Bu çalışmanın uygulanması sırasında, bana çok fazla zaman ayıran tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR hocama, sabrı, rehberliği, bilgisi ve anlayışı için, eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ahmed Hamad SALEH hocama ve beni bu aşamaya getiren ve kendilerinden sürekli olarak gördüğüm maddi ve manevi destekleri dolayısıyla babam, annem ve ailem ile akademik kariyerim boyunca edinmiş olduğum arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Sarah Abdalnaser Sabri SABRI

Çankırı, Ocak 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Çalışmanın Amacı.....	3
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1 Solunum Sistemi.....	4
2.2 Mantar Solunum Yolu Enfeksiyonları.....	4
2.2.1 <i>Aspergillus</i> spp.....	5
2.2.2 <i>Aspergillus fumigatus</i>	6
2.2.3 <i>Aspergillus flavus</i>	7
2.2.4 <i>Aspergillus niger</i>	7
2.2.5 <i>Aspergillus terreus</i>	8
2.2.6 <i>Aspergillus oryzae</i>	9
2.2.7 <i>Aspergillus tubingensis</i>	9
2.2.8 <i>Aspergillus parvisclerotigenus</i>	10
2.3 Bulaşıcı Yaşam Döngüsü	10
2.3.1 <i>Aspergillus</i> 'un sınıflandırılması	11
2.4 <i>Aspergillus</i> Tanımlama	11
2.5 Taksonomi	12
2.6 <i>Aspergillus</i> Türlerinin Akciğerde Hayatta Kalması	14
2.7 <i>Aspergillus</i> Türlerinin Neden Olduğu Hastalıklar	17
2.8 Alerjik Bronkopulmoner Aspergilloz (ABPA)	17
2.9 Aspergilloma.....	18
2.10 İnvaziv Aspergilloz (IA).....	18

2.11 <i>Aspergillus</i> Türlerinin Virülans Faktörleri	19
2.12 <i>Aspergilloz</i> Teşhisi için Kullanılan Yöntemler	20
3. MATERYAL VE METOT	22
3.1 Malzemeler	22
3.1.1 Ekipman ve aparatlar	22
3.1.2 Kültür medyası	23
3.2 Kültür Besiyeri	23
3.2.1 Patates dekstroza agar (PDA).....	23
3.2.2 Üre agarı	23
3.2.3 Sabouraud dekstroza agar	24
3.3 Çözeltiler ve Boyalar.....	24
3.3.1 Potasyum hidroksit çözeltisi %10 KOH	24
3.3.2 Laktofenol pamuk mavisini.....	24
3.3.3 RedSafe boyası	24
3.3.4 %40 Üre çözeltisi	25
3.4 Örnek Koleksiyon	25
3.4.1 Doğrudan muayene.....	25
3.4.2 Örnek kültürleme	25
3.4.3 Mantar izolatlarının laboratuvar teşhisi	26
3.4.4 Scotch bant hazırlığı	26
3.4.5 İzolatların korunması.....	26
3.5 Mantarların Virülans Faktörlerini Saptamak İçin Kullanılan Testler	26
3.6 Genetik Çalışma	27
3.6.1 Genomik DNA ekstraksiyonu	27
3.6.2 Genomik DNA konsantrasyonunun tahmini	27
3.6.3 Primer seçimi	27
3.7 İstatistiksel Analiz.....	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1 Enfekte Hastaların Alt Solunum Yollarından (LRT) Mantar İzolasyonu	30
4.2 Enfeksiyonların Yaşa Göre Dağılımı.....	30
4.3 Mantar Türlerine göre LRT ile Enfekte Hastalardan Mantar İzolasyonu	31
4.4 LRT'li Enfekte Hastalarda Cinsiyete göre Küf ve Maya Dağılımı	32

4.5 Mikroskopi ve Laboratuvar Teşhisi.....	32
4.5.1 <i>Aspergillus fumigatus</i>	32
4.5.2 <i>Aspergillus niger</i>	33
4.5.3 <i>Aspergillus flavus</i>.....	34
4.6 Virülans Faktörleri	35
4.6.1 Üreaz üretimi	35
4.6.2 Hemolizin üretimi	36
4.7 Genetik Çalışma	37
4.7.1 DNA ekstraksiyonu ve amplifikasyonu	37
4.7.2 Replikasyon sonucu elde edilen ürünlerin azotlu bazlarının analiz ve tayin sonuçları.....	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
5.1 Sonuçlar	44
5.2 Öneriler	44
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ.....	60

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
±	Artı, eksi
°C	Derece santigrat
µL	Mikrolitre
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre



KISALTMALAR DİZİNİ

ABPA	Alerjik bronkopulmoner aspergilloz
BLAST	Temel hizalama arama aracı
caM	Kalmodulin
COPD	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
CPA	Kronik pulmoner aspergilloz
DNA	Deoksiribo nükleik asit
ELISA	Enzim bağlantılı immünosorbent testleri
FDA	Gıda ve ilaç idaresi
IA	İnvaziv aspergilloz
IPA	İnvaziv pulmoner aspergilloz
ITS	Dahili kopyalanmış ara parçası
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
KOH	Potasyum hidroksit
LRT	Alt solunum yolu
NCBI	Ulusal biyoteknoloji bilgi merkezi
PDA	Patates dekstroza agar
RFLP	Kısıtlama parçası uzunluk polimorfizmi
RNA	Ribonükleik asit
RTI'ler	Solunum yolu enfeksiyonları
SBS	Hasta bina sendromu
SDA	Sahround dekstroza agar
SPSS	Sosyal bilimler istatistik paketi
SYE	Solunum yolu enfeksiyonu
TB	Tüberküloz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	<i>A. fumigatus</i> 'un bulaşıcı yaşam döngüsü (Dagenais and Keller 2009)	10
Şekil 2.2	Metil sitrat döngüsü	16
Şekil 2.3	<i>A. fumigatus</i> 'un özel yetenekler aracılığıyla solunum epiteli ile etkileşimi (Dagenais and Keller 2009)	20
Şekil 4.1	<i>A. fumigatus</i> 'un morfolojisi (solda) ve mikroskopik (sağda) özellikleri	33
Şekil 4.2	<i>A. niger</i> 'in morfolojisi (solda) ve mikroskopik (sağda) özellikleri.....	34
Şekil 4.3	<i>A. flavus</i> 'un morfolojisi (solda) ve mikroskopik (sağda) özellikleri.....	35
Şekil 4.4	<i>Aspergillus</i> 'un hemoliz testi sonuçları	37
Şekil 4.5	75 dakikalık bir süre boyunca 5 vol/cm oranında %1,5 Agaroze jel üzerindeki izolatlardan ekstrakte edilen ITS1 gen bölgesinin PCR ürünlerinin elektroforez sonuçları	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Ekipman ve cihazlar.....	22
Çizelge 3.2	Kültür medyası.....	23
Çizelge 3.3	<i>Aspergillus</i> spp.'nin ITS geninin primer dizileri ve ürün boyutları	28
Çizelge 3.4	ITS'yi tespit etmek için Singleplex PCR programı	28
Çizelge 3.5	<i>Aspergillus</i> spp. izolatının ITS genini saptamak için Singleplex PCR programı	28
Çizelge 4.1	Kabul edilen her iki tanı prosedürüne göre kültür pozitif ve negatif olguların dağılımı.....	30
Çizelge 4.2	Enfeksiyonların yaş gruplarına göre dağılımı.....	31
Çizelge 4.3	Pozitif sonuçların <i>Aspergillus</i> cins ve türlerine göre dağılımı.....	31
Çizelge 4.4	Pozitif örneklerin, mantar izolatlarının cinsiyete göre dağılımı	32
Çizelge 4.5	İzole örneklerin üreaz enzimi üretme yeteneği.....	35
Çizelge 4.6	İzole örneklerin hemolizin üretme yeteneği	36
Çizelge 4.7	Bu çalışmada izole edilen <i>Aspergillus</i> izolatlarının azotlu bazlarının, Ulusal Biyosafılaştırma Bilgi Merkezi NCBI'de kayıtlı aynı mantarın diğer izolatları ile sekans benzerlik oranının karşılaştırılması ve izolatlarda varyasyon ve mutasyonların meydana gelmesi.....	42

1. GİRİŞ

Solunum yolu enfeksiyonları (SYE) halk sağlığındaki gelişmelerin odak noktasıdır. Solunum yolu enfeksiyonlarının yaygın dağılımları ve dünya çapında bildirilen yüksek morbidite ve mortalite oranları göz önüne alındığında, bu enfeksiyonlar solunum sistemini tutan bulaşıcı etiyoloji hastalıkları olarak tanımlanmaktadır. Klinik spektrum asemptomatik veya hafif enfeksiyondan şiddetli veya ölümcül hastalığa kadar değişmektedir. Şiddeti üç faktör arasındaki etkileşimin sonucudur: etken madde, çevresel koşullar ve konakçı, bu enfeksiyonlar tipik olarak enfeksiyondan saatler ila günler sonra değişen ve ateş, öksürük, boğaz ağrısı, nezle, nefes darlığı, hırıltılı solunum ve/veya nefes almada zorluk gibi çeşitli semptomları içeren hızlı bir klinik başlangıcı olan akut hastalık olarak ortaya çıkmaktadır (WHO 2020).

Aspergillus enfeksiyonlarını edinmenin birincil yolu konidiaların solunmasıdır, solunum yolu bu nedenle *Aspergillus* spp. konidia'nın en yaygın giriş portalıdır. İnsanlar günde yaklaşık 200 filamentli mantar solumakta, bunların 7'si alveollere ulaşmakta olup bu konidia alveoler makrofajlar tarafından fagositoza uyanıp yok edilmektedir (Barnes 2016).

İnvaziv pulmoner aspergilloz (İPA) kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda, hafif immün yetmezlik ile birlikte astımlı veya kistik fibrozlu hastaları her zaman etkileyen ciddi bir hastalık olup aşırı duyarlılığın bir tezahürü olan bir akciğer hastalığıdır (Zmeili and Soubani 2007) ve sadece ciddi derecede bağışıklığı baskılanmış hastalarda bulunmaz, aynı zamanda hematolojik maligniteler, allojenik kemik iliği nakli, katı organ nakli ve kronik granülomatozlu hastalarda da sıklıkla görülmektedir (Meersseman *et al.* 2004).

Akciğerler için hava akışının sınırlandırılmasının gelişimi için en güçlü risk faktörü sigara içilmesidir (Buist *et al.* 2007). Diğer değişkenler, aile öyküsü ve alfa-1 antitripsin eksikliği, yaş, eğitim, tüberküloz ve mesleki maruziyetler dâhil genetikdir (Hooper *et al.* 2012).

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), akciğerlerin en yaygın bulaşıcı olmayan hastalığıdır. Hem önlenabilir hem de tedavi edilebilir ancak genellikle ilerleyici ve geri döndürülemez (Barnes 2016), KOAH'a bağlı ölümlerin çoğu az gelişmiş ülkelerde meydana gelmektedir. Yaşlanan bir nüfus, son yıllarda tüm dünyada KOAH hastalığı yükünde ve mortalitede artışa neden olarak, KOAH'ı ciddi bir küresel sağlık sorunu olarak vurgulamaktadır (Burney *et al.* 2015).

Hastalığın sıklığına ilişkin tahminler dünya üzerinde büyük farklılıklar göstermektedir (Mannino and Buist 2007). Bakteriler ve virüsler, KOAH alevlenmelerinin ana nedenidir, oysa mantarların rolü daha az anlaşılmıştır. *Aspergillus* cinsinin üyeleri, akciğer mantar enfeksiyonlarının çoğundan sorumludur (Bulpa *et al.* 2007). *Aspergilli*, invaziv aspergilloz (IA), aspergilloma dahil kronik pulmoner aspergilloz (CPA), aşırı duyarlılık pnömonisi ve alerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA) dahil olmak üzere bir dizi pulmoner duruma neden olma yeteneğine sahip, her yerde bulunan toprakta yaşayan mantarlardır. IA, erken teşhis edilip tedavi edilmezse neredeyse her zaman ölümcüldür (Finkel and Mitchell 2011, Brown *et al.* 2012, Fauci and Morens 2012).

Nötropeni, karaciğer hastalığı, diyabet, AIDS ve hematopoietik kök hücre nakli alıcıları gibi immünosupresif ilaçlar kullananların tümü, IA için altta yatan risk faktörleridir (Guinea *et al.* 2010, Brown *et al.* 2012, Riera *et al.* 2018).

IA'nın küresel insidansına ilişkin önceki tahminler yılda 200,000 ila 500,000 vaka arasında değişmektedir, ancak KOAH hastalarında IA'yı güvenilir bir şekilde belirlemedeki zorluklar, rakamlara bu sınıfın dahil edilmesi çabalarını engellemiştir (Guinea *et al.* 2010).

Son yayınlara göre (Jamieson *et al.* 2013, Connell and Shah 2020), *Aspergillus fumigatus*'a karşı alerjik duyarlılığı olan KOAH hastalarında daha fazla semptom ve alevlenme görülmüştür ve diğer çalışmalar astım şiddeti ile *Aspergillus* duyarlılığı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Chopra *et al.* 2017).

1.1 Çalışmanın Amacı

Irak'ta birçok hastada üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu sayısının yüksek olması ve solunum yollarında bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlar dahil olmak üzere birçok enfeksiyon nedeninin bulunması nedeniyle, bu çalışma, geliştirme amacıyla mantar besiyeri kullanılarak alt solunum yolu enfeksiyonlarından farklı *Aspergillus* türlerinin izole edilmesi ve tanımlanması amacıyla tasarlanmıştır. Bu çalışmanın amacı, akciğer dokusunda histolojik değişikliklere neden olan ve dolayısıyla hastayı etkileyen bu mantarın tehlike nedenlerinden biri olan *Aspergillus*'un bazı virülans faktörlerini (üre üretimi ve hemoliz üretimi) araştırmaktır. Çalışmada ayrıca, solunum yolu enfeksiyonu olan hastaların *Aspergillus* mantarı ile enfeksiyonunun doğrulanması amacıyla önemli bir teşhis özelliği olan *Aspergillus* mantarının ITS1 bölgesinin teşhisinde polimeraz zincir reaksiyonu tekniğinin kullanılması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Solunum Sistemi

Solunum sistemi fonksiyonel olarak iki bölgeye ayrılabilir; (burundan bronşiyollere) solunan gazların iletimi için bir yolu teşkil eden iletken bölgeler ve gaz değişiminin gerçekleştiği solunum bölgesi (alveolar kanaldan alveollere). Anatomik olarak üst solunum yolu (göğüs, burun, farenks ve gırtlak dışındaki organ) ve alt solunum yolu (göğüs trakeası, bronşlar, bronşiyoller, alveolar kanal ve alveoller içindeki organ) olarak ikiye ayrılmaktadır (Patwa and Shah 2015).

2.2 Mantar Solunum Yolu Enfeksiyonları

Yoğun Bakım Ünitesine (YBÜ) yatırılan hastalarda solunum örneklerinden izole edilen candida türleri ve daha düşük oranda *Aspergillus spp.* sıklıkla görülmektedir (Vincent *et al.* 2009). YBÜ hastalarından alınmış solunum örneklerinde yapılan izolasyonda mucorales, scedosporium, fusarium gibi filamentli mantarların daha az sıklıkla görülmektedir. YBÜ hastalarından alınmış solunum örneklerinde yapılan izolasyonda, Mucorales, Scedosporium, Fusarium gibi diğer filamentli mantarların izolasyonu çok daha az sıklıkta görülmesine rağmen bu mantarlar kritik hastalarda yüksek mortalite ile ilişkilidir. Fungal pulmoner tutulum, hastanın tedavisini zorlaştıran belirli özellikler sunmaktadır. Mantarların varlığı sıklıkla sadece solunum yollarının kolonizasyonu anlamına gelmesine rağmen gerçek bir enfeksiyonu temsil edebilir, bu da çok farklı bir tedavi ve prognoza yol açmaktadır. Kolonizasyon ve enfeksiyon arasındaki ayrım kolay olmayıp sıklıkla yan etkiler ve maliyetlerdeki artışla ilişkili olarak antifungal tedavi başlatılmaktadır (Garnacho-Montero *et al.* 2013). Öte yandan, mantar enfeksiyonları, tedaviye başlamanın geciktiği durumlarda yüksek mortalite ile bağlantılıdır. Son yıllarda, klinik uygulamaya yeni antifungaller ve antifungallerin bazıları için yeni uygulama yolları dâhil edilmiş olup bu nedenle tedavi eden klinisyenlerin tedavi seçimini zorlaştırmıştır. Son olarak, mantar kaynaklı solunum yolu enfeksiyonlarının (özellikle *Aspergillus spp.* durumunda) tanı ve tedavisine ilişkin mevcut bilgilerin çoğu, nötropenik onko-hematolojik hastalara yönlendirilmiştir (Tortorano *et al.* 2012, Paiva *et al.* 2018).

2.2.1 *Aspergillus spp*

Aspergilloz, bir tür küfün (mantar) neden olduğu bir enfeksiyondur. *Aspergillus* enfeksiyonunun neden olduğu hastalıklar genellikle solunum sistemini etkilemektedir.

Birkaçı, doğada bol miktarda bulunan yaklaşık 200 mantar türü olan mantarın sporlarını soluduklarında bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde, altta yatan akciğer hastalığında veya astımda ciddi hastalıklara neden olabilir. İlk olarak biyolog Pierre Antonio Micheli tarafından keşfedilmiştir (Patron *et al.* 2007).

Cins, hava, su, toprak, bitki atıkları, çürüten bitki örtüsü, talaş çöpü, yaprak çöpü, hayvan yemi, organik kompost dahil olmak üzere çok çeşitli habitatlara ve nişlere uyum sağlayan, gezegendeki en yaygın ve geniş çapta dağılmış mantar türlerinden biridir (János Varga *et al.* 2000).

A. fumigatus, *A. flavus*, *A. niger* ve *A. terreus* gibi en yaygın türler de dahil olmak üzere havada yayılan birkaç *Aspergillus* türü klinik olarak önemlidir.

Bu türler, hastaneler, okullar, depolar, un fabrikaları ve kümes hayvanları mezbahaları gibi kapalı hava habitatlarından izole edilmiştir. Sıklıkla solunum sorunları ve baş ağrılarını içeren zayıf iç mekân hava kalitesinin bir sağlık belirtisi olan hasta bina sendromu (SBS) (bina içerisinde harcanan zaman ile bağlantılı görünen bina sakinlerinin akut sağlık ve rahatsızlık etkileri yaşadığı durumları tarif etmek üzere kullanılmış olmasına rağmen herhangi belirli bir hastalık veya neden tanımlanamamaktadır) ile bağlantılıdır (Kalogerakis *et al.* 2005).

Bu türler potansiyel olarak *Aspergillus niger* mantarının neden olduğu herhangi bir hastalık veya enfeksiyona atıfta bulunan bir terim olan *aspergilloz* üretebilir (Klich 2002).

Buna rağmen *A. oryzae* ve *A. tamarii* gibi *Aspergillus* türleri enzim ve gıda üretiminde, *A. niger* asit kimyasal bileşiklerinin sentezinde ve *A. terreus* tıbbi bileşiklerin oluşturulmasında kullanılmaktadır (Klich 2002).

Öte yandan, tahıl taneleri, kabuklu yemişler, baharatlar, sebzeler, meyveler, süt ve yumurta gibi çeşitli türler, yem ve yemeklerin ortak kirleticileridir. *Aspergillus niger*, reçel ve jölelerin yanı sıra asitli, tuzlu ve kuru gıdalarda da bulunmuştur (Martin and White 1981, Sánchez-Hervás *et al.* 2008, Afsah-Hejri *et al.* 2013).

2.2.2 *Aspergillus fumigatus*

A. fumigatus, havadaki sporları (konidia) oluşturan her yerde bulunan saprofitik bir küftür. İnsanlar, ortalama olarak, bu bulaşıcı propagüllerin yüzlercesini günlük olarak solumaktadır. Bağışıklık yetkin konakçılarda, bu karşılaşmaların başka bir önemi yoktur. Konidia, pulmoner bağışıklık sisteminin hücreleri tarafından öldürülür ve temizlenir (Latgé 1999, Engel *et al.* 2019).

Bağışıklığı baskılanmış hastalarda, *A. fumigatus*, morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenini temsil etmektedir. Bu hasta popülasyonu, organ naklinin artan kullanımı, otoimmün ve neoplastik hastalıklar için immünosupresif ve miyeloablatif tedavilerin geliştirilmesi nedeniyle genişlemektedir (Denning 1998).

A. fumigatus bu hastalarda en sık görülen invaziv küf enfeksiyonu olup lösemi hastaları ve hematopoietik kök hücre nakli alıcıları gibi yüksek risk gruplarında ölüm oranları % 50'yi aşmaktadır (Lin *et al.* 2001). *A. fumigatus* antijenlerine duyarlılık, gelişmiş ülkelerde prevalansı artan astım ile ilişkili olmasına rağmen nedenselliği kanıtlamak zor olmuştur (Jaakkola *et al.* 2006). Ne olursa olsun, bu artan prevalans, kronik inflamasyon ortamında *Aspergillus* antijenlerine anormal tepkilerle ilişkili bir hastalık olan alerjik bronkopulmoner aspergilloza yatkın olan bireylerin sayısında paralel bir artışa neden olmaktadır. *A. fumigatus*'un neden olduğu invaziv, yarı invaziv ve alerjik hastalık spektrumu birkaç seçkin makalede gözden geçirilmiştir (Moss 2005).

2.2.3 *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus, invaziv aspergillozun (IA) *A. fumigatus*'tan sonra en sık görülen etiyolojik ajanıdır. Bununla birlikte, çoğu literatür, IA'yı *A. fumigatus* ile ilgili olarak veya diğer *Aspergillus* türleri ile birlikte tanımlamaktadır. *A. flavus* ve *A. fumigatus*'un neden olduğu IA'da belirli farklılıklar mevcut olup *A. flavus* enfeksiyonlarına yönelik çalışmalar artmaktadır (Rudramurthy *et al.* 2019). *A. flavus*, *A. fumigatus*'tan sonra en sık görülen aspergilloz nedenidir (Guarro *et al.* 2010). *A. flavus*'a bağlı enfeksiyon, muhtemelen diğer *Aspergillus* spp. ile karşılaştırıldığında sıcak ve kurak iklim koşullarında daha iyi hayatta kalma kabiliyeti nedeniyle Asya, Orta Doğu ve Afrika'da baskındır. *A. flavus*, insanlarda *A. fumigatus*'a benzer klinik sendromlara neden olmaktadır (Krishnan *et al.* 2009). Deneysel in-vivo çalışmalar, hem normal hem de bağışıklığı baskılanmış deney farelerinde ölüme neden olmak için gereken süre ve ilk inokulum açısından *et al.* 'un *A. fumigatus* ve diğer *Aspergilli*'den daha öldürücü olduğunu göstermiştir (Mosquera *et al.* 2001). IA dışında, *A. flavus*'a bağlı hastalıklar, alerjik sendromlar ile boşlukların ve sinüslerin saprofitik kolonizasyonu dahil olmak üzere çeşitli şekillerde ortaya çıkmaktadır (Pasqualotto 2009, Chakrabarti *et al.* 2011). Dünyadaki en tehlikeli on mantardan birisi olan *A. flavus*, insan hastalıklarına ek olarak, çeşitli mahsullerde hasat öncesi ve sonrası hastalıklara ve insanlarda ve hayvanlarda aflatoksin ile ilişkili toksisitelere (Hyde *et al.* 2018) neden olduğu için beşinci sıraya yerleştirilmiştir. *A. flavus*'un coğrafi dağılım, patojenik potansiyel ve antifungal direnç profili açısından *A. fumigatus*'tan farklı olduğu gösterilmiştir (Pasqualotto 2009).

2.2.4 *Aspergillus niger*

Sporlu olgun koloniler, çok sayıda siyah nokta içeren yapılar olarak görülmüştür. Hifler yedili ve hiyalindir. Konidial kafalar başlangıçta ışıma yapmış olup vade sonunda sütunlara ayrılmıştır. Tür iki sıralıdır (veziküller, konidiojen phialidler destekleyen metula olarak bilinen steril hücre üretir). Konidioforlar uzun, pürüzsüz ve hiyalin olup apekte koyulaşmakta ve küresel bir kesecik içinde son bulmaktadır. Metula ve phialides tüm keseciği kaplamıştır. Conidia kahverengi ile siyah, çok kaba, küreseldir (Manisha and Panwar 2012).

A. niger'in insan hastalığına neden olma olasılığı diğer *Aspergillus* türlerine göre daha düşüktür, ancak büyük miktarda spor solunursa ciddi akciğer hastalığı Aspergilloz oluşabilir. Aspergilloz, özellikle *A. niger* sporları açısından zengin olabilen turba ve tozu soluyan bahçecilik işçileri arasında sık görülmektedir. Ağrıya, geçici işitme kaybına ve ciddi vakalarda kulak kanalı ve kulak zarında hasara neden olabilen otomikozun (mantar kulak enfeksiyonları) en yaygın nedenlerinden biridir. *A.niger*, akciğerleri enfekte ettikten ve büyümeye başladıktan sonra sonunda akciğerlerde bir mantar topu oluşturmaktadır (Manisha and Panwar 2012).

2.2.5 *Aspergillus terreus*

A. terreus, bağışıklığı yeterli hastalarda kistik fibroz, aspergillomlar, spondilodiskit ve periprostetik kalça eklemi enfeksiyonu ve bağışıklığı baskılanmış bireylerde ölümcül invaziv hastalık gibi yaşamı tehdit eden durumlarla ilişkili tıbbi açıdan önemli bir patojendir (Dunne *et al.* 2015, Comacle *et al.* 2016, Bartash *et al.* 2017). İnvaziv aspergillozdan muzdarip transplant alıcılarında ölüm oranında % 74 – 92 arasında bir artış bildirilmiştir (Latgé and Chamilos 2019). Artık, invaziv aspergilloz hastalarının genellikle daha yüksek kanser ve organ nakli insidansına sahip olduğu anlaşılmaktadır; bu, *Aspergillus* enfeksiyonlarının diğer hastalıkların sıralı gelişimine yol açabileceğinin bir göstergesidir. *A. terreus*, tıptaki zararlı etkisi dışında, serum kolesterolünü düşürmek için kullanılan değerli ilaç lovastatinin tek kaynağıdır (Boruta and Bizukoje 2017). Modern tedavilerden bağımsız olarak, invaziv aspergilloz hastalarının ~ % 30 – 50'si geç tanı, beynin antimikotiklerle etkin bir şekilde tedavi edilmemesi ve ilaca direncin ortaya çıkması gibi nedenlerle ölmektedir (Denning and Bromley 2015, Taccone *et al.* 2015). Olası bir neden, *A. terreus* conidia'nın hayatta kalma mekanizmasının kısmen anlaşılması ve konak savunmasıyla iç içe geçmiş olması olabilir. Diğer bir sınırlama, mantar menenjitisi ile ilişkili bağışıklığı yeterli hastalarda *A. terreus*'un yaygın enfeksiyon bölgesinden, genellikle akciğerlerden, merkezi sinir sistemi gibi uzak bölgelere nasıl taşındığı olmuştur (Carrazana *et al.* 1991, Elsayy *et al.* 2015).

2.2.6 *Aspergillus oryzae*

Başlangıçta erişime kısıtlı olan *A. oryzae* genomu, Japon biyoteknoloji şirketlerinden oluşan bir konsorsiyum tarafından serbest bırakıldı (Machida *et al.* 2005). Sekiz kromozom, 37 milyon baz çifti ve 12 bin tahmin edilen gen içermektedir. *A. oryzae*'nin genomu, bu nedenle, genetik model organizma *A. nidulans* ve potansiyel olarak tehlikeli *A. fumigatus* olan iki ilişkili *Aspergillus* türünden üçte bir daha büyüktür (Galagan *et al.* 2005).

A. oryzae'de bulunan ekstra genlerin çoğunun ikincil metabolizmaya dahil olduğu tahmin edilmektedir. 1950'de izole edilen dizili suş, RIB40 veya ATCC 42149 olarak adlandırılır; morfolojisi, büyümesi ve enzim üretimi, sake demleme için kullanılan suşların tipik özelliğidir (Rokas 2009). *A. oryzae*, hemolizin (Nayak *et al.* 2013) ve hemolizin benzeri (Bando *et al.* 2011) kodlayan genlere sahip olup bu genlerden biri için yüksek aktiviteye sahip bir promotör bulunmaktadır. *A. oryzae* fırsatçı bir patojen olup sistemik enfeksiyon, etkilenen bağışıklığı baskılanmış bireylerde genellikle ölümcüldür (Guarro *et al.* 2010).

2.2.7 *Aspergillus tubingensis*

A. tubingensis ilk olarak 1934 yılında Raoul Mosseray tarafından keşfedilmiştir (Mosseray 1934). Konidyumlar yoğun şekilde pürüzlendirilmiş olup çapı 3 – 5 µm'dir (Silva *et al.* 2011). Çapı 0,5 – 0,8 mm arasında değişen beyazımsı ila pembe sklerotlar sıklıkla üretilmektedir. *A. tubingensis*, yalnızca aseksüel bir mantar olarak bulunmasına rağmen diğer sözde siyah *Aspergilli* ve *Petromyces* cinsindeki cinsel durumlarla filogenetik olarak yakından ilişkili olduğu anlaşılmaktadır (Samson *et al.* 2007). *A. tubingensis* ve *A. niger* benzer morfolojiye sahip olup daha gelişmiş yöntemlere başvurmadan ayırt etmek zordur. İki taksonu ayırt etmede faydalı olan hızlı bir test olan Ehrlich reaksiyonu, indol varlığını sorgulamaktadır. Bu testte, *A. niger*'in pozitif sonucunun aksine *A. tubingensis* negatif sonuç vermektedir. Calmodulin ve β-tubulin gibi protein kodlayan genlerin dizileri de iki taksonu güvenilir bir şekilde ayırt etmektedir. Fungal keratite (kornea enfeksiyonu), *A. tubingensis* de dahil olmak üzere siyah

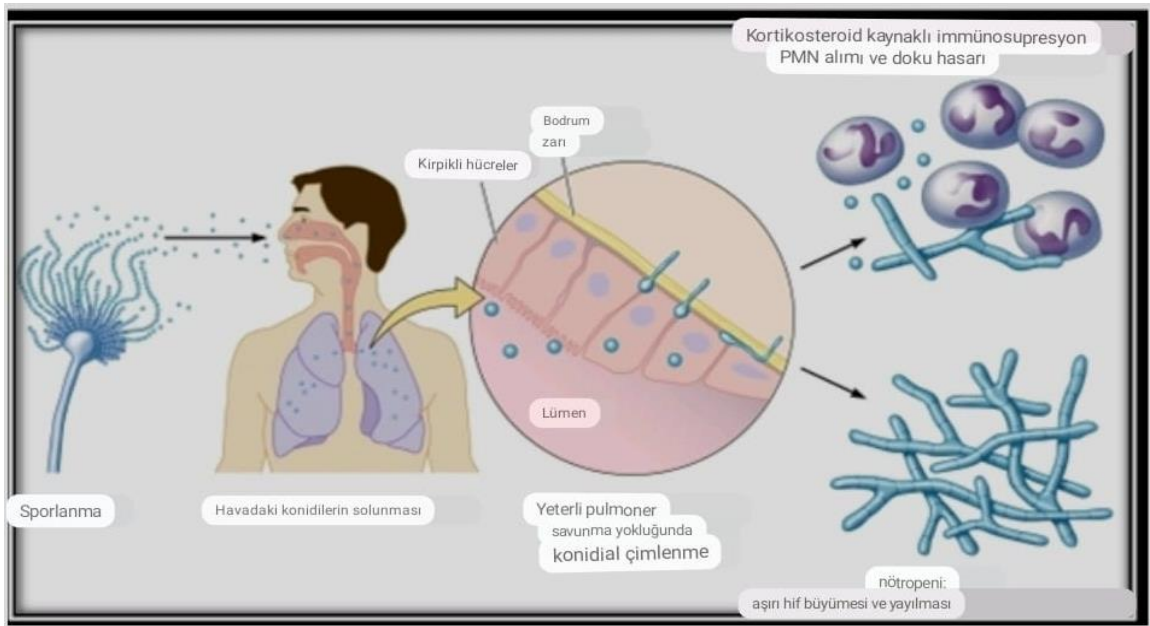
Aspergilli üyeleri neden olabilir (Kredics *et al.* 2009). *A. tubingensis* ayrıca diş çekimini takiben maksiller kemiğin enfeksiyonuyla da ilişkilendirilmiştir (Bathoorn *et al.* 2013).

2.2.8 *Aspergillus parvisclerotigenus*

Aspergillus parvisclerotigenus, *Aspergillus* cinsine ait bir mantar türüdür. Flavi bölümündendir. Tür ilk olarak 2005 yılında tanımlanmıştır. *A. parvisclerotigenus* Nijerya'da izole edilmiş olup aflatoksin B1, aflatoksin B2, aflatoksin G1, aflatoksin G2, aflatrem, aflavarin, aspiroklorin, siklopiazonik asit, kojik asit ve paspalin ürettiği bulunmuştur (Frisvad *et al.* 2005, Varga *et al.* 2011).

2.3 Bulaşıcı Yaşam Döngüsü

Aspergilli, ağırlıklı olarak çevredeki ölü veya çürüyen maddeler üzerinde büyüyen saprofitlerdir. *Aspergillus*'un bulaşıcı yaşam döngüsü, havaya kolayca dağılan ve hem iç hem de dış ortamlarda her yerde bulunmayı sağlayan Konidia (eşeysiz sporlar) üretimi ile başlamaktadır (Şekil 2.1) (Morris *et al.* 2000, Falvey and Streifel 2007).



Şekil 2.1 *A. fumigatus*'un bulaşıcı yaşam döngüsü (Dagenais and Keller 2009)

İnsan enfeksiyonunun birincil yolu, bu havadaki konidiaların solunması ve ardından bronşiyollerde veya alveolar boşluklarda konidyal birikimdir. Sağlıklı bireylerde, mukosiliyer klirens (mukusun taşınması yoluyla havayolunun yabancı mikroorganizmalardan ve bakterilerden temizlenme mekanizması) ile uzaklaştırılmayan konidia, akciğerin birincil yerleşik fagositleri olan epitel hücreleri veya alveolar makrofajlarla karşılaşmaktadır. Alveolar makrofajlar birincil olarak *Aspergillus* konidia'nın fagositozundan ve öldürülmesinden ve ayrıca nötrofilleri (bir tip polimorfonükleer hücre (PMN) enfeksiyon bölgesine toplayan bir proinflamatuvar yanıtın başlamasından sorumludur. Makrofaj öldürmeden kaçan ve filizlenen konidia, hifleri yok edebilen sızan nötrofillerin hedefi haline gelmektedir. IA geliştirme riski, esas olarak, bu pulmoner ortamda *A. fumigatus*'un hayatta kalmasına ve büyümesine izin veren mantar özellikleriyle birlikte bu konakçı savunmalarındaki bir işlev bozukluğundan kaynaklanmaktadır (Schaffner *et al.* 1982).

2.3.1 *Aspergillus*'un sınıflandırılması

- **Alem:** Mantarlar
- **Şube:** Ascomycota
- **Sınıf:** Eurotiomycetes
- **Takım:** Eurotiales
- **Aile:** Trichocomaceae
- **Cins:** *Aspergillus*

2.4 *Aspergillus* Tanımlama

Klinik laboratuvarlarda geleneksel küf tanımlaması, mikroskopik ve makroskopik morfolojik kriterlere dayanmaktadır (De Hoog and Guarro 1995). *Aspergillus* taksonomisi ayrıca ekstrolit karakterizasyonuna ve çoklu lokus dizi analizine dayanmaktadır (Samson *et al.* 2014).

İlki klinik laboratuvarlarda yapılmamasına rağmen, DNA dizileme tesislerinin genişlemesi nedeniyle çok lokuslu dizileme giderek daha fazla kullanılmaktadır. Son on yılın başından bu yana, *Aspergillus* izolatlarının DNA dizilimi-3 tabanlı tanımlaması, klinik literatürde *Aspergillus* bölümleri içindeki kardeş veya "şifreli" türlerin sıklıkla yanlış tanımlandığını vurgulamıştır (Balajee *et al.* 2005, Balajee *et al.* 2006). Alışılmadık derecede zayıf sporlanma ve antifungal direnç fenotipleri nedeniyle, daha önce *A. fumigatus* olarak tanımlanan klinik izolatlar, çoklu lokus dizi analizi kullanılarak yeniden tanımlanmıştır. DNA dizilimi, 'şifreli' türlerin ve *A. lentulus* olarak adlandırılan *Fumigati* bölümünün yeni bir türünün tanımlanmasını sağlamıştır (Balajee *et al.* 2014). Kısa bir süre sonra, aynı araştırmacılar, aynı *Fumigati* bölümünde *Neosartorya pseudofischeri*'yi (Balajee *et al.* 2005) tanımlamış olup bu bölüm şimdi 'tek mantar, tek isim' girişiminin ardından *A. thermomutatus* olarak anılmaktadır (Samson *et al.* 2014). *A. lentulus* ve *Neosartorya pseudofischeri*'ye ek olarak, bu yazarlar *Fumigati* bölümünün *A. udagawae*, *A. viridinutans*, *A. fumigatiaffinis* ve *A. novofumigatus*'u; Flavi bölümünün *A. Alliaceus*, Terrei kesitinden *A. carneus* ve *A. alabamensis*; Nigri bölümünden *A. tubingensis*, *A. awamori* ve *A. acidus*; Versicolores bölümünden *A. sydowii*; Circumdati bölümünden *A. westerdijkiae* ve *A. Persii*, Usti bölümünden *A. calidoustus*, *A. insuetus* ve *A. Keveii* olarak tanımlamışlardır. Ancak bu araştırmacılar, klinik bağlamın bu izolatların çok sınırlı bir kısmı için ayrıntılı olduğunu ve antifungal tedavi sonuçlarıyla ilgili verilerin daha da az olduğunu vurgulamışlardır (Nedel and Pasqualotto 2014).

2.5 Taksonomi

Aspergillus cinsini konidiosporların rengine göre gruplara ayırmıştır. Kahverengi ile siyah gölgeli sporlara sahip *Aspergilli*, *A. niger* grubuna aittir. Bu grubun üyeleri çok farklı olmasına rağmen, sadece birkaçı farklı türler olarak sınıflandırılacak kadar öne çıkmaktadır (örn. *A. carbonarius*, *A. japonicus*, *A. ellipticus*, *A. heteromorphus* ve *A. aculeatus*). Birkaçını belirtmek gerekirse, *A. ficuum*, *A. phoenicis*, *A. niger* ve *A. awamori* tespit edilmesi zor olan kahverengi ile siyah *Aspergilli* arasındadır. Bu tür kombinasyonu, pratikte *A. niger* van Tieghem olarak bilinmektedir. Raper and Fennel (1965), birkaç taksonu *A. niger* grubunun üyeleri içindeki nispeten küçük değişikliklere dayalı ayrı türler

olarak sınıflandırmasına rağmen, Al-Musallam (1980), onları *A. niger*'in varyantları olarak sınıflandırmıştır.

Kusters-Van Someren *et al.* (1991) *Aspergillus niger* grubunun suşlarından genomik sindirimlerin ribozomal bantlama modellerini ve hibridizasyon modellerini araştırmak için restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizini, hibridizasyon problemleri olarak pektin liyaz genlerini kullanmıştır. Raper and Fennel (1965) *A. niger* grubu için farklı ama daha güvenilir bir sınıflandırma önermiş olup tür sayısını 13'ten altıya indirmiştir, *A. carbonarius*, *A. japonicus*, *A. ellipticus*, *A. heteromorphus*, *A. niger* ve *A. tubingensis*, bunlardan ikincisi daha önce *A. niger* olarak sınıflandırılan suşları içermektedir.

A. niger ve *A. tubingensis* arasındaki fark, mitokondriyal DNA'ların ve ribozomal tekrar birimlerinin RFLP'sinin kullanıldığı daha sonraki çalışmalarda (Varga *et al.* 1993) ve aynı zamanda rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA'nın kullanıldığı çalışmalarda (Megnegneau *et al.* 1993) defalarca doğrulanmıştır (Gielkens *et al.* 1997, Malcok *et al.* 2009, Manisha and Panwar 2012).

A. niger ve *A. tubingensis* genetik olarak ayrılmış olmasına rağmen, iki tür arasında herhangi bir fenotipik farklılık gözlenmemiştir (Varga *et al.* 2000, Pařenicová *et al.* 2000). Bu durum, *A. tubingensis*'in neden mevcut *Aspergillus* türleri arasında listelenmediğini açıklayabilir (Pitt and Samson 2000).

A. niger isminden önce *A. phoenicis* ve *A. ficuum* isimleri gelir, ancak çoğu moleküler çalışmanın ima ettiği gibi, bu üç taksonun hepsinin türdeş olduğu kabul edilmiştir (Varga *et al.* 2000).

Bu iki isim artık yaygın olarak kullanılmadığından, İkinci Uluslararası Penicillium & Aspergillus Çalıştay'ında *A. niger* adının korunması ve *A. phoenicis* ve *A. ficuum* adlarının atılması istenmiştir (Kozakiewicz *et al.* 1992, Naglik *et al.* 2003, Muszkieta *et al.* 2013).

A. niger büyük ekonomik değere sahip bir tür olduğundan, yasal ve onay prosedürlerinin sürekliliğini sağlamanın yanı sıra pratik, bilgi erişimi ve maliyet hususları için de isim korunmuştur.

Buna rağmen, *A. phoenicis*, *A. awamori* ve *A. foetidus*, (Pitt and Samson 2000)'in mevcut tür cinsleri listesinde hala listelenmesine rağmen *A. tubingensis*, *A. acidus* ve *A. citricus* Amerika Birleşik Devletleri'ne özgü değildir (Kozakiewicz 1989). *A. niger*'in evcilleştirilmiş formu için *A. awamori* kelimesinin, *A. flavus*'un evcilleştirilmiş formu için *A. oryzae*, *A. parasiticus*'un evcilleştirilmiş formu için *A. sojae* ve *P. commune*'un evcilleştirilmiş formu için *Penicillium camemberti*'nin yanında tutulması gereken bir durum mevcuttur (Pitt and Samson 2000). Ancak *A. phoenicis* ve *A. foetidus*'in bu listeye dahil edilmesi şüphelidir. Suşların *A. awamori*, *A. ficuum*, *A. foetidus*, *A. phoenicis*, *A. pulverulentus*, *A. tubingensis*, *A. inuii* ve *A. usarii* olarak *A. niger* van Tieghem olarak sınıflandırılmasına ilişkin mevcut uygulama sürdürülmelidir.

A. niger ve *A. tubingensis* arasında fenotipik farklılıklar bulunursa, ikinci takson kabul edilebilir. Bazı moleküler kanıtlar, *A. foetidus*'un (Pařenicová *et al.* 2000) veya bir nomen nudum *A. brasiliensis*'in (Varga *et al.* 2000), fenotipik kanıtlar seyrek olmasına rağmen, ayrı türler olduğunu göstermektedir. Tablo 1, artık Nigri bölümünde izin verilen türleri listelemektedir. Gams *et al.* (1986), önerilen bir alt cins *Circumdati*'nin Nigri bölümünde koyu kahverengi ile siyah gölgeli konidialı tüm türleri gruplandırarak *Aspergillus* cinsi için en güncel türler üstü sınıflandırmayı önermiştir. Uluslararası *Penicillium* ve *Aspergillus* Komisyonu önerilerini kabul etmiştir (Samson 1994, Sole *et al.* 2005).

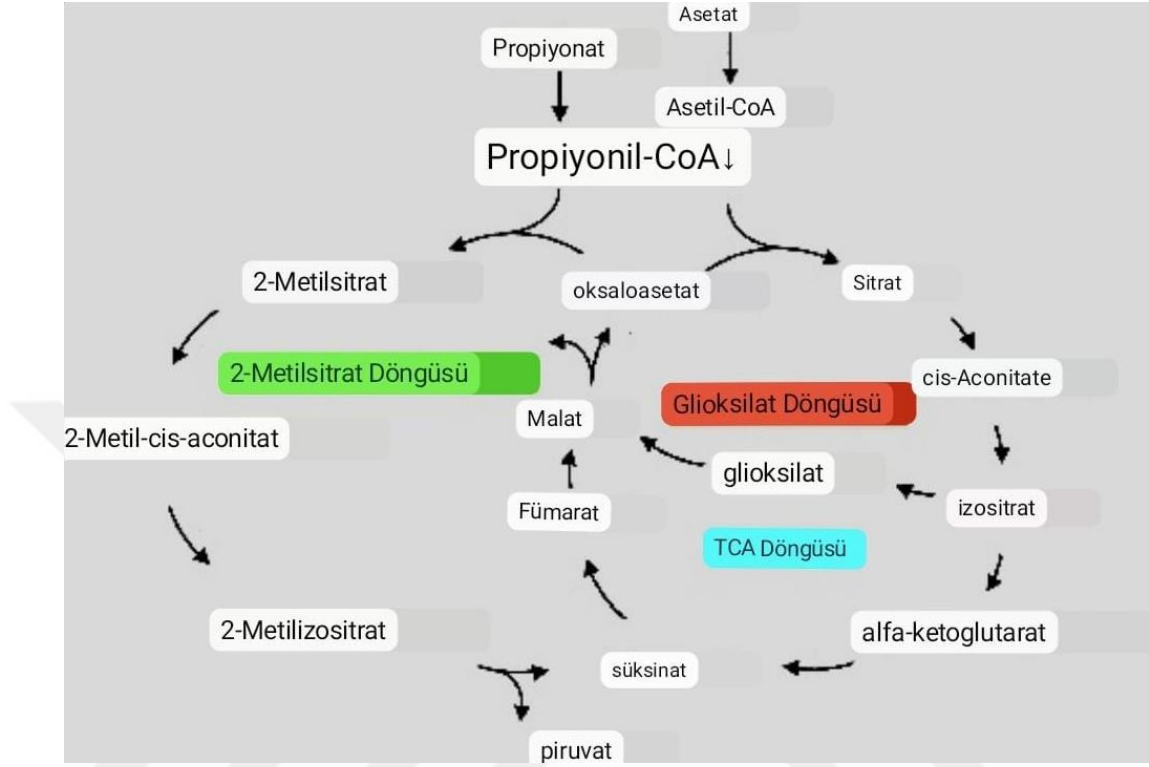
2.6 *Aspergillus* Türlerinin Akciğerde Hayatta Kalması

Daha önce de belirtildiği gibi, *Aspergillus* türü, çevreden besin almak için ayrışan maddeyi parçalayabilen bir saprobedir (Debeaupuis *et al.* 1997). Bu mantarların sporları konakçının akciğerlerini kolonize ettiğinde, besinlerin kıt olması muhtemeldir. Azot ve karbon kaynaklarının doğada olduğu kadar kolayca bulunamaması olasıdır. Sonuç olarak, mantar, yoksul ortamlarda gelişmesini sağlamak için belirli metabolik yollara güvenmektedir. Bu tür yolların diğer

patojenik türlerde patojeniteye dahil olduğu gösterilmiştir. Daha önceki araştırmalar *Candida albicans* ve *Mycobacterium TB* gibi patojenik organizmaların patojenite için lipid metabolizmasına güvendiğini göstermiştir (McKinney *et al.* 2000, Lorenz and Fink 2002, Muñoz-Elías and McKinney 2005). Glikoksilat döngüsü, bu organizmaların konakçılarından karbon elde etmelerini sağlamaktadır. İzositrat liyaz bu yoldaki ana enzim olup yokluğu *M. tuberculosis* ve *Candida albicans*'ın patojenitesini azaltmaktadır (Lorenz and Fink 2002, Muñoz-Elías and McKinney 2005). *Aspergillus* türlerinin izositrat liyazı üzerinde yapılan araştırmalar, bir izositrat liyaz mutantının bir fare modelinde yabani tip ile aynı virülansı gösterdiğinden, glioksilat döngüsünün bu organizmada virülans için çok önemli olmadığını bulmuştur. İkincisi, lipid metabolizmasının akciğer kaynaklarını kullanmak için yetersiz olduğu sonucuna yol açabilir (Schöbel *et al.* 2007, Ibrahim-Granet *et al.* 2008, Smith and Kauffman 2012).

Sonuç olarak *Aspergillus* türleri, besinleri farklı yollar ve enzimler aracılığıyla çevreden emmektedir. Büyük ölçüde kolajen gibi proteinlerden oluşan memeli akciğerleri, dengesiz bir beslenme ortamına sahiptir. Mantar, bu dokuları parçalamak için proteazlar gibi belirli enzimler gerektirir, bu da nitrojen ve karbon kaynakları olarak kullanılacak amino asitlerin mobilizasyonu ile sonuçlanır (Kogan *et al.* 2004). Mantar gelişimini teşvik etmek için serbest amino asitler alınmış olup çeşitli yollarla işlenmiştir. Metil sitrat döngüsü, karbon metabolizmasında temel bir mekanizmadır: izolösin, valin ve metionin amino asitleri, daha sonra bu sisteme aktarılabilen propionil Co-A'ya dönüştürülmektedir (Ibrahim-Granet *et al.* 2008). Şekil 2.2, bu metabolik yolda çok önemli bir enzim olan metilsitrat sentaz, mantar patojenitesinin azalmasına neden olarak devre dışı bırakılmıştır. Muhtemel bir açıklama, propionil Co-A'nın sindirilememesi ve dolayısıyla zehirli olduğu mantarda birikmesidir (Brock and Buckel 2004, Maerker *et al.* 2005, Ibrahim-Granet *et al.* 2008). Sonuç olarak, konak akciğerin genişlemesi yavaşlamaktadır. İstilacı büyüme sırasında, *Aspergillus* türleri için birkaç metabolik yol ile alakalı görünmektedir. Para-aminobenzoik asit, pirimidin ve lizin gibi kimyasalların üretiminde yer alan birincil metabolik yollar, konakçıda tam virülans ve proliferasyon için de gereklidir. Mantar, karbon ve nitrojene ek olarak demir gibi eser elementlere ihtiyaç duymaktadır. Diğer birçok hastalığın aksine, *Aspergillus* türlerinin konakçı demir kaynaklarını kullanmak için

özel bir yöntemi yoktur (Ramanan and Wang 2000, Ratledge and Dover 2000, Schrettl *et al.* 2004, Singh and Urhekar 2017).



Şekil 2.2 Metil sitrat döngüsü

Demir alımı için mantar iki sistem kullanır: indirgeyici demir asimilasyonu ve siderofor destekli demir mobilizasyonu (Leong and Winkelmann 1998, Haas 2012). Önceki araştırmalar, bir *Aspergillus* türü sideroforunun üretiminde yer alan sid A geninin, konağın gelişimi için kritik olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, demir absorpsiyon yolunda yer alan bir demir permeazını kodlayan ftr A geni, konakçının hayatta kalması için önemsiz görünmektedir (Schrettl *et al.* 2004). Mantar, sınırlı ve değişen çevresel koşullara uyum sağlamak için alım sistemlerini ve metabolik yolları tetikleyen özel sensörler ve düzenleyici proteinler gerektirir. Örneğin cAMP/protein kinaz sistemi, glikoz seviyelerindeki değişiklikleri tespit etmektedir (Ruijter and Visser 1997, Playford *et al.* 2008).

2.7 *Aspergillus* Türlerinin Neden Olduğu Hastalıklar

Aspergillus fumigatus, toprakta doğal bir yuva olarak yaşayan saprofitik filamentli bir mantardır. Ayrıca, bu mantar bir insan fırsatçı enfeksiyonu olabilir. Son yıllarda, *Aspergillus* türleri, genellikle solunum sistemini etkileyen bir hastalık olan *aspergilloza* yakalanma riskiyle birlikte bağışıklığı baskılanmış insanlar için en ölümcül mantar hastalıklarından biri olarak ortaya çıkmıştır (Dixon and Walsh 1992, Denning 1998, Latgé 1999, Kogan *et al.* 2004).

Üç tip Aspergilloz vardır: alerjik bronkopulmoner Aspergilloz (ABPA), Aspergilloma veya invaziv Aspergilloz (IA) formları.

2.8 Alerjik Bronkopulmoner Aspergilloz (ABPA)

A. fumigatus, alerjik akciğer hastalıklarının en şiddetlilerinden biri olan alerjik bronkopulmoner aspergilloza neden olmaktadır. Geleneksel astıma benzer şekilde mantara karşı T hücrelerinin immünolojik yanıtı mevcuttur (Patterson *et al.* 1982, Murali *et al.* 1997).

Bu tip aspergilloz en yaygın olarak astımı veya kistik fibrozu olan hastalarda bulunmakta olup ölümcül olan akciğer tahribatına yol açabilir (Rosenberg *et al.* 1977, Patterson *et al.* 1982).

Daha hafif evrelerinde, ciddi solunum hasarı olmayan bir astım hastalığı gibi görünür. Bu tür bir hastalığı teşhis etmenin en zor yönlerinden biri, mantardan etkilenmeyen yaygın astım formları ile *Aspergillus*'a bağımlı form arasında ayrım yapmaktır. Olağan tanı testleri, bir hastadan diğerine ve hastalığın evresine bağlı olarak değişmektedir. Sonuç olarak, ABPA teşhisi hala kısıtlı olup bu da tespit edilemeyen hastalığa ve "sessiz" ABPA fikrine neden olmaktadır (Schönheyder *et al.* 1988). ABPA'lı hastalar genellikle mantar önleyici ilaçlarla tedavi edilmelidir; en kötü senaryoda, tedavi edilmeyen hastalar solunum sistemi yetmezliği nedeniyle ölebilir (Latgé 1999).

2.9 Aspergilloma

"Mantar topu" terimi yaygın olarak bu tür aspergillozları tanımlamak için kullanılmaktadır (Shibuya *et al.* 2006). Akciğerin kistik fibrozu veya TB enfeksiyonu olan hastalar tipik hastalardır. Çoğu durumda, aspergilloma, invaziv gelişme göstermeyen küçük bir miselyum topudur. Bağışıklık sistemi baskılayıcı ilaçlar veya hastalık tarafından tehlikeye atıldığında, hiflerin invaziv olmayan proliferasyonu, invaziv bir aspergilloz tipine dönüşebilmektedir (Shibuya *et al.* 2006). Mantar, bağışıklığı yeterli kişilerde istilacı bir şekilde büyüme potansiyeline sahip olmadığı için, istilacı aspergillozun yayılması olası değildir.

2.10 İnvaziv Aspergilloz (IA)

Aspergillus niger, hastalığın en şiddetli formuna neden olmaktadır. Bu durumda, ölüm oranları % 30 ila % 90 arasında değişmekte olup hastalık, hayvanda istilacı mantar gelişimi ile kendini gösterir. Dört kategoriye ayrılır:

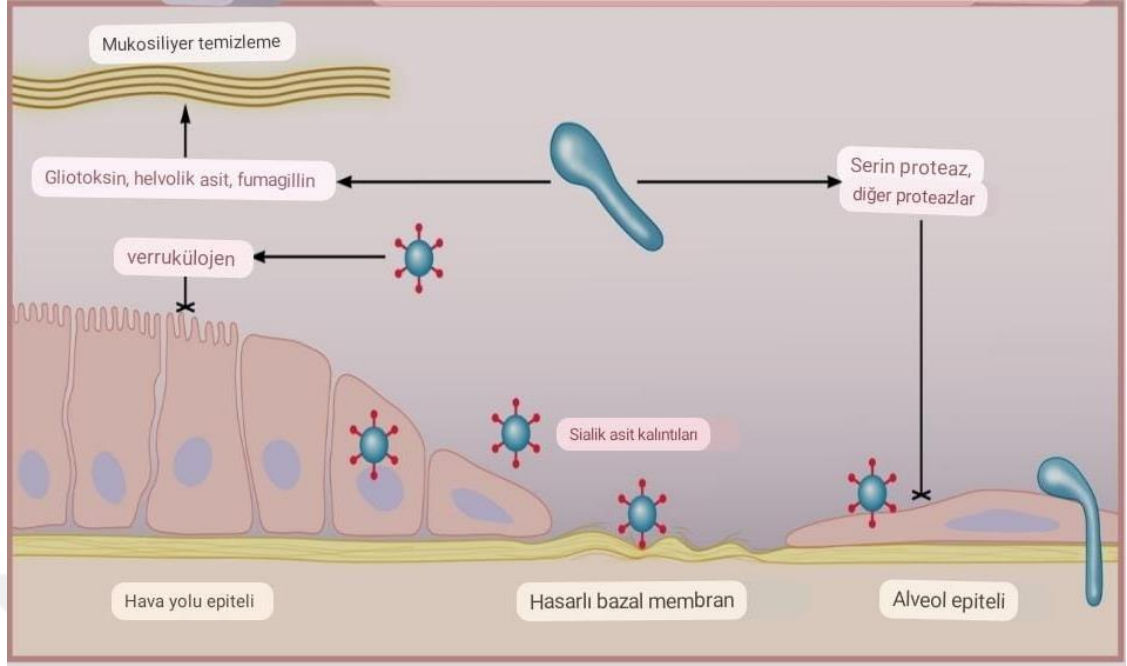
- Akciğerlerin akut veya kronik aspergillozisi (Latgé 1999).
- AIDS hastalarının trakeobronşit veya çeşitli derecelerde mukoza veya kartelaj invazyonu ve ayrıca psödomembran gelişimi ile obstrüktif bronşiyal hastalığa sahip olma olasılığı daha yüksektir (Nash *et al.* 1997).
- İnvaziv akut rinosinüzit (Savage *et al.* 1997).
- Konağın beynine ve diğer organlarına yayılmış bir hastalık (Ribaud *et al.* 1999).

Çapraz geçişli BT taramaları veya mikroskopi gibi standart prosedürleri kullanarak IA'nın erken aşamalarında bir enfeksiyonu tespit etmek son derece zordur. *İnvaziv aspergillozun* semptomları sıklıkla spesifik değildir. Sonuç olarak, çeşitli IA türlerini teşhis etmek için daha iyi bir teşhis rejimi gereklidir (Latgé 1999, Dagenais and Keller 2009).

2.11 *Aspergillus* Türlerinin Virölans Faktörleri

A. fumigatus, konakçıya girmek ve kalan bağışıklık sistemini yenmek için belirli nitelikler gerektirmektedir (Latgé 2001). Özel biyosentetik yolların kullanılmasını gerektirebilecek, besin açısından sınırlı bir ortamda gelişebilmelidir. *A. fumigatus*'un solunum epiteline yapışmasını sağlayan adezinlerin oluşumu, konakçı içinde gelişimin başlamasında önemli bir adımdır. Sonuç olarak, conidia hücre yüzeyindeki zarla ilişkili proteinlere bağlanabilir. Hem sporların hücre duvarı hem de konakçı proteinler arasındaki bu etkileşimler spesifik veya spesifik olmayabilir. Fibrinojen, laminin, fibronektin veya tip IV kollajen, mantar için yaygın bağlanma bölgeleridir (Gil *et al.* 1996, Peñalver *et al.* 1996).

İç ve dış hücre duvarı katmanları, karbonhidratları, protein moleküllerini ve glikoproteinleri içerebilen konak epitelinin proteinlerine yapışma için etkileşim kimyasalları veya molekülleri içermektedir. *A. fumigatus*, kuru conidia'nın yüzey tabakasında bulunan ve hidrofobik proteinlere bağlanmak için diğer mantar sporlarında da bulunabilen hidrofobinlere sahiptir. Tüm bu yapışıklıkların konakçıdaki mantar yapışması için çok önemli görünmesine rağmen, bunların patojeniteye katılımları veya katkıları bilinmemektedir (Thau *et al.* 1994). *A. fumigates* türlerinin hızlı büyüme hızı, termotolerans ve küçük konidial boyutu, onu verimli bir fırsatçı patojen yapan morfolojik ve fizyolojik özelliklerden bazılarıdır (Latgé 2001). Toksinler, enzimler, hücre duvarı bileşenleri, pigmentasyon ve hemolizin, virölansa katkıda bulunduğu bilinen ek faktörler arasındadır (Wilson *et al.* 2002, Hohl and Feldmesser 2007) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 *A. fumigatus*'un özel yetenekler aracılığıyla solunum epiteli ile etkileşimi (Dagenais and Keller 2009)

2.12 Aspergilloz Teşhisi için Kullanılan Yöntemler

IA'nın prognozu, çoğunlukla onu teşhis etmek için geçen süre, ayrıca hastalarda eşlik eden hastalıkların varlığı, birçok tıbbi uzmanlık alanında bilgi eksikliği ve normal mikrobiyolojik testlerin yapılmaması ile belirlenmektedir (Zmeili and Soubani 2007, Chowdhary *et al.* 2017). *Aspergillozun* tanımlanması için, özellikle yoksul ülkelerdeki çoğu klinik laboratuvar, doğrudan mikroskopik inceleme, histolojik analiz ve standart mikrobiyolojik kültürler gibi morfolojik özelliklere dayalı geleneksel yöntemler kullanmaktadır. MALDITOF-MS (matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş süresi-kütle spektrometrisi) yakın zamanda *aspergilloz* teşhisini önemli ölçüde iyileştirmiştir (Cassagne *et al.* 2016).

Kompleman fiksasyonu, immünodifüzyon, birkaç enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) ve Western blot, mevcut serolojik teknikler arasındadır (Ramanan *et al.* 2017). Aktif büyüme sırasında aspergilli tarafından üretilen bir mannan omurgası üzerindeki galaktofuranosil yan zincirlerinden oluşan bir polisakkarit olan galaktomannan antijeni, çoğu ELISA testinin odak noktasıdır. Nükleik asit amplifikasyon testi ise enfeksiyonları

erken aşamada tespit etmek için normal klinik laboratuvarlarda her gün kullanılabilen basit, hızlı, hassas ve kullanımı kolay bir teknolojidir (Arvanitis *et al.* 2014). *Aspergillus* spp.'nin rDNA dahili kopyalanmış aralayıcı (ITS) bölgesini hedefleyen primerler, PCR tabanlı prosedürlerin çoğunda kullanılmakta olup türlerin karmaşık düzeyinde tanımlanmasına izin vermektedir. -tubulin (benA) veya kalmodulin (caM) genleri gibi ikincil tanımlama belirteçleri, kompleks içindeki belirli türlerin tanımlanması için sıklıkla gereklidir (Pagano *et al.* 2005, Samson *et al.* 2014). Floresan etiketli probalar, elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometrisi, yerinde hibridizasyon probaları ve multipleks diziler, açıklanan ek moleküler tespit yaklaşımları arasındadır (Powers-Fletcher ve Hanson 2016).

Bildiğimiz kadarıyla, FDA tarafından aspergilloz teşhisi için hiçbir moleküler test onaylanmamıştır. Tıbbi görüntüleme, yukarıda bahsedilen yaklaşımlara ek olarak, akciğer enfeksiyonlarının teşhisinde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kritik öneme sahiptir.

Bu yaklaşımın sonuçları, diğer teşhis araçlarının sonuçlarıyla birleştirildiğinde, enfeksiyonu öngörebilir ve bu nedenle, özellikle invaziv pulmoner aspergilloz durumunda, invaziv pulmoner aspergillozun tanı ve tedavisine yardımcı olabilir. *Aspergillus* türlerinin antifungal duyarlılık testleri için birçok test mevcuttur. Altın standart veya referans teknik, et suyu mikrodilüsyonudur (CLSI M38–EUCAST). Bu yaklaşım, ilaç etkisini değerlendirmek ve sonuç olarak, özellikle bağışıklığı baskılanmış hastaların tedavisini yönetmek için kullanılabilir. Disk difüzyon testleri, Etest MIC strip kitleri, floresanla aktive olan hücre ayırma, Sensititre YeastOne kolorimetrik tahlil, MTT boya tahlilleri ve doğrudan oksijen tüketimi ölçümü, duyarlılık testi için şu anda mevcut veya önerilen tekniklerdir. Ayrıca, geleneksel yaklaşımlarla karşılaştırıldığında, lanosterol 14-demetilazı kodlayan cyp51A genindeki mutant bölgeleri hedefleyen moleküler araçlar, azol ilaçlarına karşı kazanılmış direncin daha hızlı ve daha doğru bir şekilde değerlendirilmesini sağlamaktadır (Taccone *et al.* 2015, Albarrag *et al.* 2011).

3. MATERİYAL VE METOT

Bu bölümde Aspergillus mantarlarının izolasyonu ve teşhisi amacıyla kullanılan yöntem ve materyaller anlatılmakta, ardından bu bölümde mantarın genetik teşhisi amacıyla kullanılan yöntem, materyal ve cihazlar anlatılmaktadır.

3.1 Malzemeler

Aşağıdaki paragraflar ve tablolar, mantar çalışmasında kullanılan materyalleri ve cihazları ve morfolojik ve genetik teşhisi için yöntemleri açıklamaktadır.

3.1.1 Ekipman ve aparatlar

Bu çalışma boyunca Çizelge 3.1’de gösterilen ekipman ve aparatlar kullanılmıştır:

Çizelge 3.1 Ekipman ve cihazlar

Ekipmanlar	Şirket	Menşei
Otoklav	Memmert	Almanya
Su banyosu	Memmert	Almanya
Santrifüj	Hettich	Almanya
Derin dondurucu	Sanyo	Japonya
Işık mikroskobu	Olympus	Japonya
PH ölçer	Crison Instruments	İspanya
Güç kaynağı	Consort	Almanya
Buzdolabı	Concord	Lübnan
Hassas terazi	Precisa	İsviçre
Otomatik çoklu parametre	Sysmex	Japonya

3.1.2 Kültür medyası

Kullanıma hazır kültür ortamları Çizelge 3.2’de paylaşılmıştır.

Çizelge 3.2 Kültür medyası

Medya	şirket	Menşei
Sabouraud dekstrozu Agar	Lab	Birleşik Krallık
CZapek ağar ortamı	Oxoid	Birleşik Krallık
Maya z medya	Oxoid	Birleşik Krallık
Patates dekstrozu ağarı	Oxoid	Birleşik Krallık

3.2 Kültür Besiyeri

Çalışmada 3 çeşit kültür besiyeri kullanılmıştır.

3.2.1 Patates dekstrozu agar (PDA)

Besiyeri reticinin talimatlarına göre 39 g beher 61 mL istile su içinde bir cam beher içinde eritilip pH’ı ayarlandıktan sonra hacmi distile su ile 1 litreye tamamlanarak hazırlanmıştır. 15 dakika sonra besiyeri biraz soğutuldu ve kültüre alınan örneklerde bakteri üremesini engellemek için 250 mg/L oranında antibiyotik Kloramfenikol eklenmiştir.

3.2.2 Üre ağarı

Üre besiyeri, üreticinin talimatlarına göre, 4.6 g besiyerinin 100 mL distile su içinde çözülmesiyle hazırlanmış olup bir oksitleyici ile 121°C sıcaklıkta ve 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir. 1,5 pound/in basınçta ve ortamı soğumaya bıraktıktan sonra steril koşullarda önceden hazırlanmış % 4’lk 15 mL üre çözeltisi ilave edilmiştir. Bu ilaveden sonra, ortamın renginin sarıdan pembeye değişmesi üreaz üretiminin kanıtıdır (Baron 1997).

3.2.3 Sabouraud dekstrozu agar

Bu besiyeri, üreticinin talimatlarına göre 10 g besiyerinin bir litre distile su içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Daha sonra 121°C sıcaklıkta ve 15 dakika otoklavda sterilize edilmiş olup daha sonra besiyeri biraz soğutulmuştur ve kültüre alınan örneklerde bakteri üremesini engellemek için 200 mg/L miktarında antibiyotik Kloramfenikol eklenmiştir.

3.3 Çözeltiler ve Boyalar

Çalışma süresince 4 çeşit çözelti ve boya kullanılmıştır.

3.3.1 Potasyum hidroksit çözeltisi %10 KOH

Bu çözelti, 10 g potasyum hidroksitin 10 mL distile su içinde çözülmesi ve ardından çözeltinin kristalleşmemesi ve numunenin kurumaması için bir ml kolesterol eklenmesi ile hazırlanmış olup daha sonra numune oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Bu çözüm, doğrudan mikroskopi amacıyla kullanılmaktadır.

3.3.2 Laktofenol pamuk mavisi

Bu boya, 20 g kristalli fenolün 20 mL laktik asit, 40 mL gliserol ve 20 mL damıtılmış su içinde çözülmesi ve ardından 0,075 g metilen mavisi boyasının eklenmesiyle hazırlanmıştır. Bu boya, mikroskopi amacıyla mantarları boyamak ve stabilize etmek için kullanılmaktadır.

3.3.3 Red Safe boyası

Bu leke bir stok solüsyonu olarak donatılmıştır. Opak bir pakete konulmuş olup oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Kullanıldığında, bu boyanın bir miktarı agaroz jele eklenmiştir.

3.3.4 % 40 Üre çözeltisi

Çözelti, 40 g üre tozunun 100 mL distile suda çözülmesiyle hazırlanmış olup delikli 0,22 mikrometre çapında mikro membran filtreler kullanılarak sterilize edilmiş ve bu çözelti üre besiyerinin hazırlanmasında kullanılmıştır (Baron 1997).

3.4 Örnek Koleksiyon

Mantarlar, göğüs ve solunum yolu hastalıkları için konsültasyon kliniğine başvuran ve uzun süredir inatçı balgamın eşlik ettiği öksürüğü olan ve tedaviye yanıt vermeyen 181 hastadan izole edilmiş örneklerdir. Sabah erken saatlerde ağız sterilize edilerek ve tuzlu su ile gargara yapılarak toplamaya başlanmış olup her hastadan numune alınarak steril cam şişelere konulmuştur. Mantar varlığı için ilk inceleme bir miktar potasyum hidroksit %10 KOH kullanılarak direkt mikroskopi ile takip edilmiş olup daha sonra, Sabouraud dekstroza agar içeren steril plastik veya cam Petri kaplarının yüzeyinden geçirilerek Swablar kullanılarak kültürlenmiştir.

3.4.1 Doğrudan muayene

Numuneler mikroskopik bir slayt üzerine konulmuş olup birkaç damla %10 KOH uygulanmıştır (lamel eklenmiş olup kaynama noktasının hemen altında hafif bir alev üzerinde ısıtılmıştır). Mantarları ve onların yedili hiflerini tespit etmek için slayt, düşük güçlü 40x ve yüksek güçlü 100x hedefleri altında görüntülenmiştir (Modler and Emmons 1977).

3.4.2 Örnek kültürleme

Balgam örnekleri, bakteri üremesini baskılamak için 0,04 mg/mL kloromfenikol kullanılarak SDA üzerinde ekilmiş olup ardından 28°C ve 37°C'de 10 gün süreyle inkübe ve analiz edilmiştir.

3.4.3 Mantar izolatlarının laboratuvar teşhisi

Teşhis, koloninin şekli, rengi, boyutu ve dokusu dahil olmak üzere kolonilerin fenotipik özelliklerine dayanıyordu. Mikroskopik özelliklere gelince, mantar ipliğinin şeklini ve rengini içeriyorlardı. Bu, bir cam slayt üzerinde steril bir vektör kullanılarak ve pamuk mavisi laktofenol boya kullanılarak mantar kolonisinin bir kısmının aktarılmasıyla yapılmış olup daha sonra gözlem için mikroskop altında miselyumun mikroskopik özellikleri incelenmiştir.

3.4.4 Scotch bant hazırlığı

Küçük bir parça şeffaf yapışkan bant ile bir mikroskop lamı yüzeyine bir damla laktofenol pamuk mavisi uygulanmıştır. Mikroskopik olarak, sporların şekli ve düzeni araştırılmıştır (Samson *et al.* 1994).

3.4.5 İzolatların korunması

İzolatların saf kültürleri, SDA ve PDA başlangıç ortamında tutulmuş olup gliserol ortamı, siyah kültürleme olarak 4°C'ye yerleştirilmiştir.

3.5 Mantarların Virülans Faktörlerini Saptamak İçin Kullanılan Testler

Hemolizin testi, mantarların hemoliz yeteneğini belirlemek için kullanılmıştır. Koyun kanı besiyeri kullanılmıştır. SDA, PDA besiyerine, koyun besiyerine 7 mm çapında ve 7 günlük yaştaki mantar kolonisinin kenarının bir kısmı yerleştirilmiş olup örnekler bir hafta süreyle inkübe edilmiştir. 5 gün ve 37°C sıcaklıkta, implantasyon bölgesi çevresinde şeffaf halelerin ortaya çıkması olumlu bir sonuçtur.

3.6 Genetik Çalışma

Genetik çalışmanın amacı, *Aspergillus* mantarında ITS1 bölgesinin dizilimini belirlemek olup, DNA ekstraksiyonu sürecinde aşağıda anlatılanlara göre ve ardından ITS1 bölgesinin primeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.6.1 Genomik DNA ekstraksiyonu

Aspergillus spp. kültürler, oda sıcaklığında ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$) 5-7 gün boyunca 100 mL patates dekstrozu suyu içeren 250 mL'lik erlenlerde büyütülmüştür. Miselyum, süzme yoluyla toplanmış olup daha sonra dondurularak kurutulmuştur.

DNA, (Liu *et al.* 2000)'nın kullandığı yöntem izlenerek, dondurularak kurutulmuş miselyumdan ekstrakte edilmiştir. DNA ekstraksiyon kiti (Quick DNA TM Fungal Miniprep Kit) üretici tarafından belirtilen ve tavsiye edilen prosedüre göre kullanılmıştır (Liu *et al.* 2000).

3.6.2 Genomik DNA konsantrasyonunun tahmini

Sonraki uygulamalar için numunelerin iyiliğini tespit etmek amacıyla, ekstrakte edilen DNA konsantrasyonunu tespit etmek için Quantus Fluorometer kullanılmıştır. 1 µL DNA için 199 µL seyreltilmiş Quant Flour Dye karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 5 dakikalık inkübasyonun ardından DNA konsantrasyon değerleri tespit edilmiştir.

3.6.3 Primer seçimi

Aspergillus spp. (ITS1-ITS4) geni için primerler Mohankumar *et al.* (2010)'a göre seçilmiştir. ITS1-ITS4 geninin primer dizisi ve ürün boyutları Çizelge 3.3, Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 *Aspergillus* spp.'nin ITS geninin primer dizileri ve ürün boyutları

Primerin adı	Primer dizisi	Ürün boyutu
ITS1 Forward	5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3'	≈600bp
ITS4 Reverse	5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3'	

Çizelge 3.4 ITS'yi tespit etmek için Singleplex PCR programı

Bileşik	Konsantrasyon	Miktar (µL)
Ana Karışım	X1	12,5
Forward primer	1 µm	1
Reverse primer	1 µm	1
Nükleaz içermeyen Su	-	8,5
DNA	10 ng/µL	2
TOPLAM	-	25

Çizelge 3.5 *Aspergillus* spp. izolatının ITS genini saptamak için Singleplex PCR programı

NO.	ADIMLAR	SICAKLIK	ZAMAN	DÖNGÜ SAYISI
1	İlk Denatürasyon	95°C	5 dakika	1
2	Denatürasyon	95°C	30 saniye	35
3	Bağlanma	55°C	30 saniye	
4	Uzama	72°C	45 saniye	
5	Son Uzatma	72°C	7 dakika	1

TAE tamponu içinde %1,3'lük bir agaroz jel üzerinde, PCR ürünleri ayrılmış olup etidyum bromür ile boyanmıştır ve UV ışığı altında görülmüştür. Elde edilen ürünlerin boyutları geleneksel 100 bp moleküler belirteçlerle karşılaştırılarak, elde edilen öğelerin uzunlukları belirlenmiştir. Nükleotid dizileri, AB1 13730XL® Terminator v3.1 döngüsü, otomatik DNA kullanılarak doğrudan dizi için Güney Kore'de Macrogencompany ticari olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, Gen Bankasında bulunan türlerle karşılaştırılmıştır. Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI), homoloji araştırması için kullanılacak temel hizalama arama aracı (BLAST) programını sunmuştur.

Buna göre ve Gen Bankası aracılığıyla, izole edilmiş diziler iki yolla analiz edilmiştir. İlk olarak, Clustal Omega yazılımı kullanılarak, gen bankasındaki ilk seçenek ile 8 dizisi karşılaştırılmıştır. İkinci yol, 5,8 ribozomal RNA geninin 21 rastgele seçilmiş dizisi ile

ITS tam dizisi ve büyük ribozomal RNA geninin dizisi, MH213344 dizisiyle genetik olarak karşılaştırmak için kullanılmış olup yalnızca bir örnek NCBI'de yeniden başlatıldı şeklinde belirlenmiştir. Nükleik asit dizisinin çoklu hizalanması için biyoinformatik yazılımı (Bio edit sürüm 7.0.9) kullanılmıştır. Homoloji matrisini ve filogenetik ağacı türetmek için komşu birleştirme yöntemi ve küme algoritması programı (Bio edit sürüm 7.0.9) ve daraltma filogenetik ağacı aracılığıyla MEGA 6 yazılımı kullanılmıştır. Filogenetik ağaçların bootstrap değerleri ile görüntülenmesi için PHYLIP formatı kullanılmıştır.

3.7 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz, SPSS 15.01 Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi ve Excel 2003 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Frekanslı tablolar için ki-kare testini ve ortalamaları ile standart sapmaları olan tablolar için bağımsız örnek t testi kullanılmıştır. Anlamlılık kriteri olarak 0,05 P değeri kullanılmıştır. Sonuçlar için tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart hata kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Enfekte Hastaların Alt Solunum Yollarından (LRT) Mantar İzolasyonu

Mevcut araştırmada solunum yolu enfeksiyonu olan bireylerden balgam örnekleri alınmıştır. 181 adet numune mikroskop altında %10 KOH solüsyonu kullanılarak analiz edilmiş olup 92 numune pozitif, geri kalan 89 numune ise negatif bulunmuştur (Çizelge 4.1). *Hyphae* ve *dikotom*, dallanma, konidial kafalar veya metula yokluğunda *phialid*lerden *basipetal* zincirler olarak görülürken, *konidia* ve vezikül zincirleri doğrudan doğmuştur.

Potasyum hidroksit alkali çözeltileri (KOH) kullanıldığında mantar örnekleri değişmeden kalacak olup diğer karışık bileşenlerden açıkça ayırt edilebilecektir (Modler and Emmons 1977). Hem mikroskopik inceleme hem de kültürleme yöntemleri aynı sonucu vermiştir.

Çizelge 4.1 Kabul edilen her iki tanı prosedürüne göre kültür pozitif ve negatif olguların dağılımı

Prosedürler	Örnekler	Pozitif örnekler	
		No.	%
%10 KOH ile doğrudan muayene	181	92	50,83
Kültürleme Prosedürü	181	92	50,83

4.2 Enfeksiyonların Yaşa Göre Dağılımı

Çizelge 4.2 mantar enfeksiyonuna maruz kalan en yüksek yaş grubunun 41–50, en düşük yaş grubunun ise 11–20 yaş olduğunu göstermektedir. 30 ile 60 yaş arasındaki yaş grupları arasında enfeksiyon oranının yüksek olmasının nedeni, en çok çalışan yaş grubu olması, en fazla üretim, hareketlilik ve farklı çevre koşullarıyla uğraşması nedeniyle işin doğasına bağlanmaktadır. 60 yaş üstü yaş gruplarında enfeksiyon nedenlerine gelince, yaşlılarda bağışıklığın zayıf olması, 30 yaşın altındaki yaş gruplarında ise genç olmaları, daha fazla enerjiye sahip olmaları, farklı sporlar yapmak ve bağışıklık sisteminin en güçlü aşamalarında ve aktivitesinde olmasıdır.

Çizelge 4.2 Enfeksiyonların yaş gruplarına göre dağılımı

YAŞ	ENFEKSİYON				TOPLAM
	Erkek		Kadın		
	Sayı	%	Sayı	%	
11-20	2	66,7	1	33,3	3 (%3,3)
21-30	4	66,7	2	33,3	6 (%6,5)
31-40	14	63,6	8	36,4	22 (%23,9)
41-50	19	55,9	15	44,1	34 (%36,9)
51-60	10	58,9	7	41,1	17 (%18,6)
≤61	5	50	5	50	10 (%10,8)
Toplam	54	(58.7)	38	(41,3)	92
	CS=3,028		P Değeri=0,426		

4.3 Mantar Türlerine göre LRT ile Enfekte Hastalardan Mantar İzolasyonu

Aspergillus fumigatus ile enfeksiyon, tespit edilen en yüksek kaydı temsil eden 38'ini (% 41,3) oluşturmuştur; bunu Çizelge 4.3'de gösterildiği gibi *Aspergillus flavus* 23 adet ile (% 25) takip eder.

Çizelge 4.3 Pozitif sonuçların *Aspergillus* cins ve türlerine göre dağılımı

Mantar Türleri	Pozitif İzolat Sayısı	
	%	Sayı
<i>A. fumigatus</i>	41,3	38
<i>A. flavus</i>	25	23
<i>A. niger</i>	17,4	16
<i>Aspergillus spp.</i>	16,3	15
Toplam	100	92

Mevcut çalışmanın sonuçları, (Al-Ameri and Azeez 2005) sonuçlarıyla birlikte *Aspergillus* ile en yüksek enfeksiyon oranının tip *A. fumigatus* için olduğu konusunda hemfikirdir. *Aspergillus* ile en yüksek enfeksiyon yüzdesinin tip *A. fumigatus*'a (% 29,9) ulaştığı belirtilirken, bunu *A. niger* (% 28,9) takip etmekte olup her bir *A. flavus*'un enfeksiyon oranlarının olduğu tespit edilmiştir. *A. terreus* (% 18,69 ve % 12,14) ulaşmış olup bu sonuçlar mevcut çalışmanın sonuçlarına çok benzerdir.

Mevcut çalışmanın sonuçları da (Wong *et al.* 2021), solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda *Aspergillus* ile en yüksek enfeksiyon oranının (%33,3) *A. fumigatus* için

olduğunu belirten bulguları ile uyumludur. Bunu % 16,7'ye varan enfeksiyon oranı ile *A. niger* izlemektedir.

4.4 LRT'li Enfekte Hastalarda Cinsiyete göre Küf ve Maya Dağılımı

Ortalama olarak, 57 adet (% 58,7) erkek hasta, 35 adet (% 41,3) kadın hastaya göre önemli ölçüde daha büyük bir küf ve maya dağılımına sahiptir ($p \leq 0,001$) (Çizelge 4.4). *A. fumigatus*'un 25 (% 65,8) adet erkek ve 13 (% 34,2) adet kadın; *A. flavus*'un 14 (% 60,9) adet erkek ve 9 (% 39,1) adet kadın; *A. niger*'de 9 (% 56,3) adet erkek ve 7 (% 43,7) adet kadın; *Aspergillus* spp. 9 (% 60) adet erkek ve 6 (% 40) adet kadın mevcuttur; *Aspergillus* spp. 9 (% 60) adet erkek ve 6 (% 40) adet kadın mevcuttur.

Çizelge 4.4 Pozitif örneklerin, mantar izolatlarının cinsiyete göre dağılımı

Mantar türleri	Cinsiyet		Toplam
	Erkek	Kadın	
<i>A. fumigatus</i>	25 (65,8)	13 (34,2)	38 (41,3)
<i>A. flavus</i>	14 (60,9)	9 (39,1)	23 (25)
<i>A. niger</i>	9 (56,3)	7 (43,7)	16 (17,4)
<i>Aspergillus</i> spp.	9 (60)	6 (40)	15 (16,3)
Toplam	57 (58,7)	35 (41,3)	92 (100)

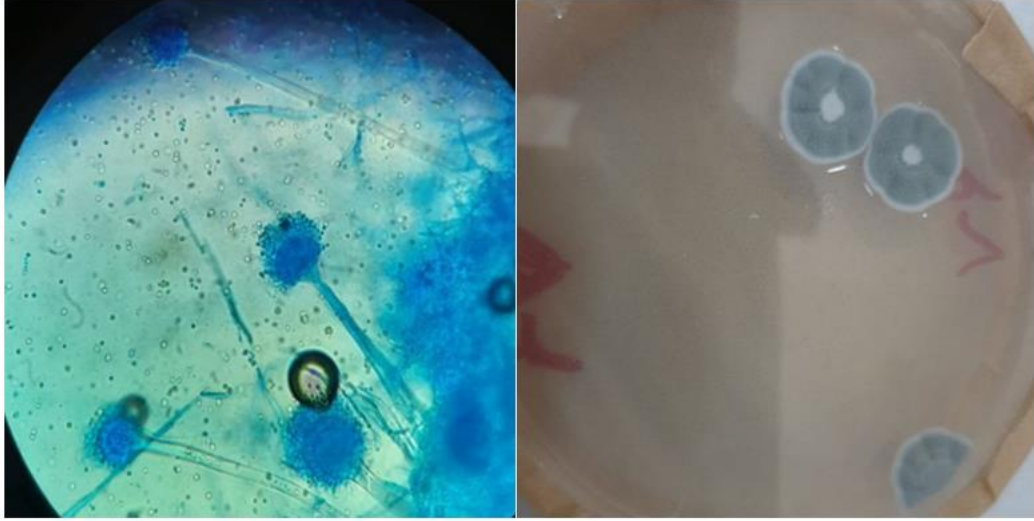
4.5 Mikroskopi ve Laboratuvar Teşhisi

Ellis *et al.* (2011)'e göre SDA kültür besiyeri 7 gün boyunca ve 30°C sıcaklıkta büyütme amacıyla kullanıldıktan sonra izole edilen solunum kanserli hastalardan örnekler (balgam) teşhis edilmiştir.

4.5.1 *Aspergillus fumigatus*

Morfoloji incelemesi: SDA besiyerinde koloniler hızlı büyümekte olup ön yüzü mavimsi yeşil, kenarları beyaz tüylü, koloni yüzeyi pürüzsüz toz, karşı taraf krem rengindeydi.

Mikroskopik muayene: Mantar hifleri, septumlu, konidia kısa, armut biçimli veziküllerle çevrili tek bir villus tabakası ve konidia küresel, konidyal başlı tek sıralı, kolumnar, zincirli veya ayrılmış ve dağılmış konidilerdi. Tek veya çift konidia maya hücrelerine benzeyebilmektedir (Şekil 4.1).

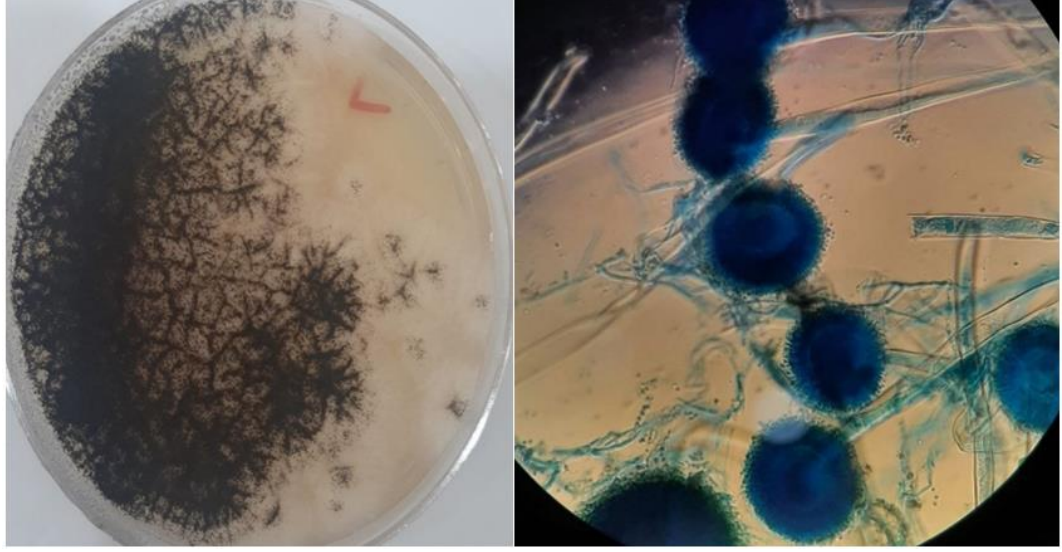


Şekil 4.1 *A. fumigatus*'un morfolojisi (solda) ve mikroskopik (sağda) özellikleri

4.5.2 *Aspergillus niger*

Morfoloji incelemesi ve mikroskopik muayene: Koloniler SDA besiyerinde hızlı büyümekte olup ön taraf beyazdan sarıya görünmüş ve yaşla birlikte siyaha dönmüş olup granüler pamuk görünümüne sahipken, karşı taraf beyazdır.

Septumlu fungal hifler, konidyumlar uzun, veziküller dairesel boyutta, villuslar radyal olarak düzenlenmiş olup konidyumlar yuvarlak ve koyu kahverengi renktedir. Konidyal başlı çift sıralı, zincirler halinde veya ayrılmış ve dağılmış konidia yaymaktadır. Tek veya çift konidia, şekildeki gibi maya hücrelerine benzeyebilir (Şekil 4.2).

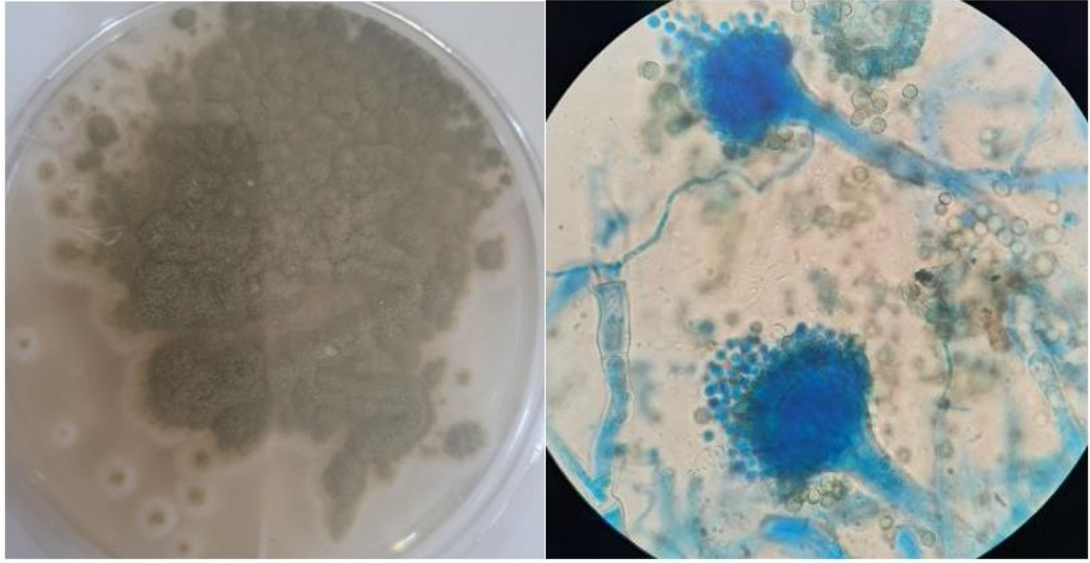


Şekil 4.2 *A. niger*'in morfolojisi (solda) ve mikroskopik (sağda) özellikleri

4.5.3 *Aspergillus flavus*

Morfoloji incelemesi ve mikroskopik muayene: *A. flavus* kolonileri, genellikle üst yüzeyde sarımsı-yeşil sporların ve alt yüzeyde kırmızımsı-altın rengi toz kütleleridir. Büyüme hızlıdır ve koloniler tüylü veya tozlu bir yapıya sahiptir.

A. conidiophores, renksiz, kalın duvarlı, pürüzlü ve vezikül içeren *flavus* izolatları *A* vezikülünün formuna sahiptir. *Flavus* izolatları küresel ila alt küresel şekillidir. Hücreler doğada tek sıralı veya iki sıralıdır. Fialidler, iki sıralı hücrelerde sadece metulalar üzerinde büyümesine rağmen tek sıralı hücrelerde veziküller üzerinde büyümemiştir. Metulalar çevrelenmiş ve veziküllerin yüzeyinden her yöne doğru yayılmıştır. Resimde görüldüğü gibi, konidyum küresel, ince duvarlı ve biraz pürüzlüdür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 *A. flavus*'un morfolojisi (solda) ve mikroskopik (sağda) özellikleri

4.6 Virülans Faktörleri

Virülans faktörler iki başlık halinde ele alınmıştır.

4.6.1 Üreaz üretimi

Çizelge 4.5, tüm *Aspergillus* izolatlarının üreaz enzimi üretme kabiliyetini, ancak farklı oranlarda göstermektedir. *A. fumigatus* % 100'lük bir oran göstermiş olup bunu % 87,5'lik bir oran ile *A. niger* izlemiştir. Üreaz üretiminin en düşük yüzdesi *Aspergillus spp.* ile olurken, % 73,3'e ulaşmıştır.

Çizelge 4.5 İzole örneklerin üreaz enzimi üretme yeteneği

İzole	Üreaz Üretimi				Toplam
	Pozitif		Negatif		
	Sayı	%	Sayı	%	
<i>A. fumigatus</i>	38	100	0	0	38
<i>A. flavus</i>	20	86,9	3	13,1	23
<i>A. niger</i>	14	87,5	2	12,5	16
<i>Aspergillus spp.</i>	11	73,3	4	26,7	15
Toplam	83	(58,7)	9	(41,3)	92

Mevcut çalışmanın sonuçları, çalışma sırasında izole edilen türlerin çoğunun üreaz üreticisi olduğunu ve tüm *A. fumigatus* ve *A. flavus* izolatlarının üreaz ürettiğini gösteren (Zohri *et al.* 2017) çalışmasıyla uyumlu olup *A. niger* tipi, üreaz sonuçlarının yüzdesi açısından izlenmiştir. İnsan vücudunda farklı hastalıklara neden olan birçok mikrop, üreyi amonyak ve karbamik aside dönüştüren üreaz enzimini üretilip salgılayarak, üreyi azot kaynağı olarak kullanma yeteneğine sahip olup bu da kendiliğinden amonyak oluşturmak üzere ayrılmaktadır (Julian *et al.* 2014).

4.6.2 Hemolizin üretimi

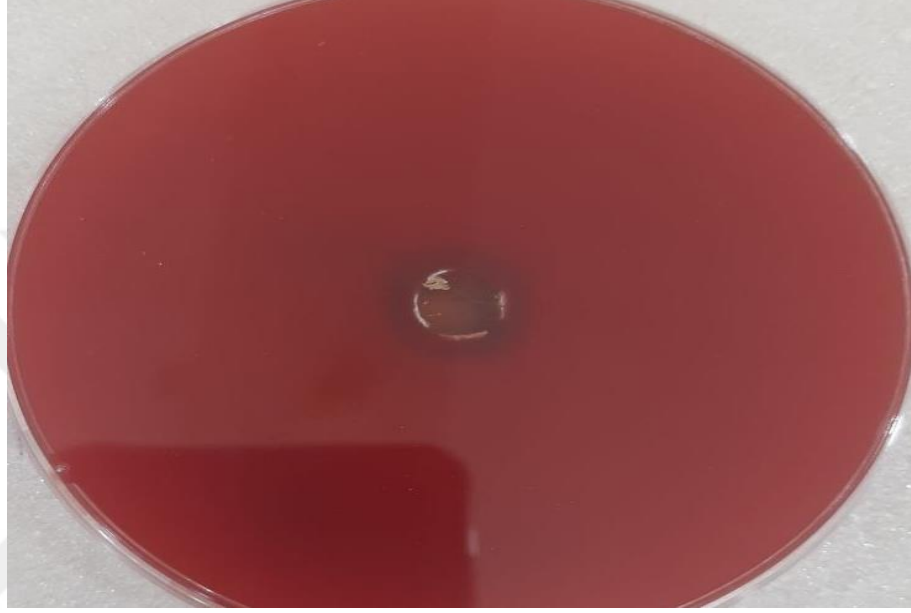
Çizelge 4.6, tüm *Aspergillus* izolatlarının farklı oranlarda hemolizin enzimi üretme kabiliyetini göstermektedir. *A. fumigatus* % 97,4'lük bir yüzde göstermiş olup bunu % 91,3'lük bir yüzde ile *A. flavus* izlemiştir. En düşük hemolizin üretim yüzdesi *Aspergillus* spp. ile olurken, şekilde görüldüğü gibi % 66,7'ye ulaşmıştır.

Çizelge 4.6 İzole örneklerin hemolizin üretme yeteneği

İzole	Hemolizin üretimi				Toplam
	Pozitif		Negatif		
	Sayı	%	Sayı	%	
<i>A. fumigatus</i>	37	97,4	1	2,6	38
<i>A. flavus</i>	21	91,3	2	8,7	23
<i>A. niger</i>	12	75	4	25	16
<i>Aspergillus</i> spp.	10	66,7	5	33,3	15
Toplam	80	(58,7)	12	(41,3)	92

Bazı mantarların in vitro hemoliz kapasitesi, enzimler veya zehirler gibi dokulara zarar verebilen ve insanlarda çeşitli hastalıklara neden olabilen virülans faktörlerinin varlığını açıklayabilir (AL-Hamdani *et al.* 2007). Hemoliz, bakterilerin eritrosit parçalayıcı enzimler olan hemolizinler yoluyla kırmızı kan hücrelerini parçalama kapasitesidir. Bazı bakteriler, kanlı agar kolonilerinde kültürlendiklerinde hemoliz oluşturma yeteneklerine göre sınıflandırılmaktadır. Kan hemoliz tespiti için bakteri üremesi için bir kültür ortamı ve kültür ortamı takviyesi olarak bir kan temini gereklidir. Hemoliz elde etmek için kan bazlı agar yerine hazırlanmış besiyeri kullanılmış veya kanla desteklenmiştir.

Mevcut çalışmanın sonuçları, koyun kanı besiyerinde yetiştirilen tüm *A. fumigatus* izolatlarının hemolizin ürettiğini doğrulayan (Zarrin and Ganj 2019) çalışmasıyla aynı fikirde olup bu, aynı çalışmada genin bimoleküler tespiti ile doğrulanmıştır. Farklı bir çalışmada, (Mezher and Bandar 2015), *A. fumigatus*'un % 62,5 oranında hemolizin ürettiğini belirtmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Aspergillus'un hemoliz testi sonuçları

4.7 Genetik Çalışma

Genetik çalışma iki başlık altında yapılmıştır.

4.7.1 DNA ekstraksiyonu ve amplifikasyonu

Mantar büyümesi, tek bir agar plakasının yüzeyinden önceden soğutulmuş (-20°C) steril seramik havana aktarılmış olup sıvı nitrojen eklenmiş ve karışım steril bir seramik havan tokmağı ile ince bir toz halinde ezilmiştir. Tozu süspanse etmek için, RNaz (200 mg/mL; Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo.) içeren iki mililitre G-2 tamponu (Genomic DNA tampon seti; Qiagen, Valencia, CA) ilave edilmiş olup süspansiyon temiz bir deney tüpüne aktarılmıştır. Süspansiyona toplam 45 mikrolitre proteinaz K solüsyonu (20

mg/mL stok solüsyonu; Sigma) ilave edilmiş olup daha sonra ara sıra çalkalanarak 58°C'de 3 saat inkübe edilmiştir. Çözelti 21,500/g'de 10 dakika santrifüjlenmiş olup süpernatant temiz bir test tüpüne aktarılmıştır ve DNA özütlenmiş olup üreticinin yönlendirdiği şekilde Qiagen's Genomictip 20/G kolonları kullanılarak saflaştırılmıştır. Elute edilen DNA, daha sonra normal izopropanol ve etanol teknikleri kullanılarak çöktürülen iki buçuk mikrolitre glikojen solüsyonu (20 mg/mL; Gentra Systems, Minneapolis, Minn.) ile işlenmiştir. DNA, 60 mL DNA rehidrasyon tamponu (Gentra Systems' PureGene kiti) içinde yeniden hidratlanmış olup ihtiyaç duyulana kadar – 20°C'de tutulmuştur.

Aspergillus'un bu amaç için özel ekipman kullanılarak çıkarımı ve agaroz jel ile elektroforez ve güvenli kırmızı boya kullanılarak tespiti ve ultraviyole ışınları altında inceleme sonuçları, bir moleküler boyutun olduğu esnada nasıl olduğunu göstermiştir.

Aspergillus'un yerel izolatlarından saflaştırılmış DNA'yı teşhis etmek amacıyla, bu bölgedeki (5,8S) farklı mantar izolatları ile ITS1'i *Aspergillus* izolatları arasındaki genetik verileri incelemek için onaylanmış bir taksonomik ve genetik indeks olarak ITS1 hedef bölgesini amplifiye etmek için global primerler kabul edilmiştir. PCR ürünleri, Şekil 4.5'te gösterildiği gibi deki gibi tüm örnekler için 550 baz çifti uzunluğundadır.



Şekil 4.5 75 dakikalık bir süre boyunca 5 vol/cm oranında %1,5 Agaroz jel üzerindeki izolatlardan ekstrakte edilen ITS1 gen bölgesinin PCR ürünlerinin elektroforez sonuçları

Bu sonucun ortaya çıkması, bir primerin ribozomal rDNA kromozomunun hedef bölgesi (5,8S) ITS1'i büyütmedeki başarısının kanıtıdır. Ribozomal rDNA kromozomunun ITS1'i ve bu, mantar izolatlarının DNA'sında bunları tamamlayabilen azotlu baz dizisinde ortak ve benzer dizilerin varlığının bir sonucu olarak bir moleküler ağırlıklı demetlerin görünümüne yansımıştır. Primerler ve monomerler arasındaki etkileşim, benzer boyutta DNA paketlerinin üretilmesine neden olmuştur. Bu sonuçlar, yakından ilişkili *Aspergillus* türleri arasındaki tanıya ve aralarındaki ayrımlara doğrudan katkıda bulunmakta olup bu tanı, aynı cinsin farklı türlerinin erken tanısında tıbbi öneme sahiptir (Sambrook *et al.* 1989).

4.7.2 Replikasyon sonucu elde edilen ürünlerin azotlu bazlarının analiz ve tayin sonuçları

Bu çalışma, akciğer enfeksiyonlarına neden olan asperjili daha kesin ve hızlı bir şekilde incelemek için moleküler tanımlama yöntemlerinin (ITS bölgeleri) geleneksel mikrobiyolojik yöntemlere göre yararlılığını araştırmıştır. Morfolojik tanımlamayı yeniden uyumlu hale getirmek için genel olarak tüm izolatlar için ITS dizilerinin kritik incelemeleri yapılmıştır. Ayrıca, ITS analizi ile ortaya çıkarılan nadir türler, ek gen lokuslarının ayrıntılı bir incelemesi ile doğrulanmıştır. Klinik laboratuvarlarda moleküler analiz yapılmamasına rağmen, *Aspergillus*'un alt türleri arasında ayırım yapmanın zorluğu, aralarındaki büyük benzerlik nedeniyle tanıda sık sık hatalara yol açtığı için mutlaka başvurulmalıdır (Balajee *et al.* 2005). Bu araştırmadaki ITS bölge 1 ve 2 tabanlı analizler, *A. fumigatus*'un önemli türler arası benzerlik sergilediğini ve bu izolatın dizisinin Avustralya'daki bir klinik kaynaktan izole edilen *A. fumigatus* WM 06,99 suşu ile %100 özdeşliğe sahip olduğunu ortaya koymuştur (Genbank'tan yayınlanmamış veriler). Kanbe *et al.* (2002), DNA topoizomerez II genini kullanarak *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. nidulans* ve *A. terreus* dahil olmak üzere tıbbi açıdan önemli beş *Aspergillus* türünü tanımlamak için çeşitli özel primerler kullanarak iç içe PCR kullanmıştır. Bu tür tanımlama yöntemleri, akciğer enfeksiyonlarının çoğunluğu da dahil olmak üzere daha geniş bir tür çeşitliliğinin saptanmasına olanak tanımaktadır. Bu araştırmalar, basitleştirilmiş PCR kitlerinin, laboratuvarlarda akciğer enfeksiyonlarını belirlemek için çok hassas ve spesifik teşhis yetenekleri sağlayabileceğini göstermiştir. Gerçek zamanlı PCR bu durumda da faydalı olabilir (Goebes *et al.* 2007). Bununla birlikte, PCR tabanlı tekniklerin genel olarak benimsenmesinin önündeki başlıca engeller, her ikisi de kritik ve geleneksel kültür tabanlı yaklaşımlardan daha yüksek olan beceri ve masraftır.

Ayrı PCR reaksiyonları ve türe özgü primerlerle nested PCR, *A. flavus*, *A. fumigatus* ve *A. niger* dahil olmak üzere üç birincil insan patojenik *Aspergillus* türü için başka bir araştırmada belgelenmiş olup daha sonra, PCR reaksiyonlarını ve iç içe PCR'yi türe özgü primerlerle ayırmıştır (Sugita *et al.* 2004). De Aguirre *et al.* (2004) tıbbi açıdan önemli yedi *Aspergillus* türünü ayırt etmek için rDNA'nın ITS2 bölgesine yönlendirilmiş DNA

problarını etkili bir şekilde oluşturmuştur. *A. fumigatus*, *A. Nidulans*, *A. niger*, *A. Terreus*, *A.ustus* ve *A. Versicolor* birbirinden ve diğer fırsatçı kũf ve mayalardan PCR-enzim immunoassay bazlı amplifikasyon ve tespit tekniği kullanılmıştır.

Bagyalakshmi *et al.* (2008) *A. niger* okũler izolatlarının genetik benzerliklerini araştırmışlardır. Flavus'un ITS bũlgesinin PCR-RFLP ve DNA dizilimi, inversiyonlar ve ikameler nedeniyle yeni bir nũkleotit polimorfizm modelinin yanı sıra tek nũkleotit değişiklikleri veya insersiyon ve delesyonlara bağlı kısa dizi çeşitliliğini ortaya çıkarmıştır.

Elektroforez ve dizi hizalamadan sonra *A. flavus* izolatı için molekũler saptama sonuçları, bu genlerin iki katına çıkarılması ve primerin DNA şablonunun tamamlayıcı dizisine bağlanması ve ITS1 primerlerini kullanan DNA zincir reaksiyonunun, DNA şablonunun tamamlayıcı dizisine bağlandığını ve molekũl boyutunun 550b'ye bağlı olarak tahmin edildiğini ortaya koymuştur. Aynı jel ũzerinde ve aynı koşullar altında DNA elektroforezi, bu genlerin iki katına çıkarılması ve primerin tamamlayıcı diziye bağlanması sũrecinden kaynaklanan ITS1 primerleri kullanılarak DNA zincir reaksiyonunu gũstermiřtir. Suş tespiti için de evrimsel sınırlamaların bir sonucu olarak tamamen değişmeyebilir ve tũrleri ve suşları bũyũk bir hassasiyetle ayırt etmek için kullanılabilir (Stoll *et al.* 2003, Stoll *et al.* 2005).

Ribozomal gen S18'deki ITS bũlgesi için nũkleotit dizisi, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi NCBI'deki diğer suş ũzerindeki nũkleotit dizisi verileriyle karşılaştırılmış olup Gen Bankası bulguları, BLAST programı kullanılarak izolat için yũzde 98 oranında bir eşleşme gũstermiřtir. Mevcut alışmada *A. niger* 3,4 tũrũ, MK263026.1 numaralı gen bankasında kaydedilen *A. niger* izolatları ile benzerlik gũstermiřtir. *A. flavus* 5,6 izolatları, gen bankasında MN856403.1 numarasıyla kaydedilen Irak'taki *A. flavus* izolatlarınıninki ile % 99 oranında çalışılan bũlgelerde genin azotlu bazlarının sekansına sahiptir.

Mevcut alışmada *A. fumigatus* 11, 12 tũrleri, gen bankasında MK070012,1 No ile kaydedilen *A. fumigatus* izolatları ile %97 benzerlik gũstermiřtir. Mevcut alışmada *A.*

fumigatus 13, 14, MN634626,1 numaralı gen bankasında kaydedilen *A. fumigatus* izolatları ile benzerlik oranı % 97 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 Bu çalışmada izole edilen *Aspergillus* izolatlarının azotlu bazlarının, Ulusal Biyosafılaştırma Bilgi Merkezi NCBI'de kayıtlı aynı mantarın diğer izolatları ile sekans benzerlik oranının karşılaştırılması ve izolatlarda varyasyon ve mutasyonların meydana gelmesi

Gen: 18s Ribozomal Rna Geni						
No.	İkame Türü	Konum	Nükleotid	Karşılaştırmalı sıra kimliği	Kaynak	Kimlikler
A5F	Transisyon	470	G\C	ID: MK263026.1	<i>A. niger</i> ³	99%
A5R	Transisyon	470	C\G	ID: MK263026.1	<i>A. niger</i> ⁴	99%
A6F	Transisyon	43	G\T	ID: MN856403.1	<i>A. flavus</i> ⁵	99%
A6R	Transisyon	43	C\A	ID: MN856403.1	<i>A. flavus</i> ⁶	99%
A11F	Transisyon	99	G\A	ID: MK070012.1	<i>A. fumigatus</i> ¹¹	97%
	Transisyon	113	C\G			
	Transisyon	118	T\A			
	Transversiyon	125	A\G			
	Transisyon	155	A\T			
	Transversiyon	171	A\G			
	Transisyon	201	G\C			
	Transversiyon	217	G\A			
	Transversiyon	378	G\A			
	Transversiyon	380	A\G			
	Transisyon	384	C\G			
	Transversiyon	385	A\G			
A11R	Transversiyon	385	T\C	ID: MK070012.1	<i>A. fumigatus</i> ¹²	97%
	Transisyon	384	G\C			
	Transversiyon	380	T\C			
	Transversiyon	378	C\T			
	Transversiyon	217	C\T			
	Transisyon	201	C\G			
	Transversiyon	171	T\C			
	Transisyon	155	T\A			
	Transversiyon	125	T\C			
	Transisyon	118	A\T			
	Transisyon	113	G\C			
	Transisyon	99	C\T			
A12F	Transisyon	501	T\A	ID: MN634626.1	<i>A. fumigatus</i> ¹³	99%
	Transisyon	519	G\C			
A12R	Transisyon	519	C\G	ID: MN634626.1	<i>A. fumigatus</i> ¹	99%
	Transisyon	501	A\T			

Ayrıca, Çizelge 4.7 aracılığıyla mevcut çalışmaya dahil edilen türler için iki tip mutasyon (geçiş ve transversiyon) bulunmuştur. Bu mutasyonlar, nitrojenli bir salının başka bir nitrojen bazını dönüştürdüğü farklı lokasyonlarda meydana gelmiş olup bu tipler:

*A. niger*3'e gelince, 470 bölgesinde, guaninin azotlu baz sitozin ile değiştirildiği tek bir transversiyon mutasyonu meydana gelmiştir. *A. niger*4, sitozinin azotlu baz guanin ile ikame edildiği 470 bölgesinde tek bir transversiyon mutasyonuna sahiptir. *A. flavus*5'e gelince, sitozinin azotlu baz guanin ile değiştirildiği 43. bölgede tek bir transversiyon mutasyonu meydana gelmiştir. *A. flavus*6, azotlu baz timin yerine guaninin ikame edildiği 43. pozisyonda tek bir transversiyon mutasyonuna sahiptir.

*A. fumigatus*11'e gelince, altısı transisyon tipinde olmak üzere, adenin'in nitrojenli baz guanin ile değiştirildiği 125 bölgelerinde ve adeninin nitrojenli baz guaninle değiştirildiği 171 bölgesinde on iki mutasyon meydana gelmiş olup guaninin azotlu baz adenin ile değiştirildiği 217 noktasında ve adeninin azotlu bazla değiştirildiği 378. bölgede, ve 380. bölge burada adenin azotlu baz guanin ile değiştirilmiş olup 385. bölge, burada adenin azotlu baz guanin ile değiştirilmiştir.

*A. fumigatus*13 için, tiaminin nitrojenli baz sitozin ile değiştirildiği 501 bölgesinde ve nitrojenli baz sitozin yerine guaninin ikame edildiği 519 bölgesinde bir çift transversiyon mutasyonu meydana gelmiştir. *A. fumigatus*14'e gelince, sitozinin nitrojenli baz guanin ile değiştirildiği 519 bölgesinde ve nitrojenli baz tiamin yerine adenin ikame edildiği 501 bölgesinde bir çift transversiyon mutasyonu meydana gelmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Solunum sistemi enfeksiyonu olan hastalarda yürütülen çalışmada 181 örnek (balgam) %10'luk KOH solüsyonu kullanılarak mikroskop altında incelenmiş olup 92 örnek pozitif, 89 örnek negatif çıkmıştır. Sonuçlar, mantar enfeksiyonuna en çok maruz kalan yaş grubunun, daha genç yaş gruplarına kıyasla düşük bağışıklık seviyeleri nedeniyle 41 – 50 yaş arasında değiştiğini göstermiştir. *Aspergillus fumigatus*'un neden olduğu yaralanmalar toplam yaralanmaların 38 adedini (% 41,3) oluşturmakta olup bu şimdiye kadar kaydedilen en yüksek sayıdır. Ortalama olarak, 54 adet erkek hasta (% 58,7), 38 adet kadın hastadan ($p=0,001$) (% 41,3) önemli ölçüde daha fazla küf ve maya dağılımına sahiptir. Polimerizasyon ürünlerinin, ITS1 geninin tüm demetleri için tek bir moleküler boyuta (550) sahip olduğu gözlenmiştir. Zohri *et al.* (2017), *A. niger* için üreaz sonuçlarının yüzdesini izlemiştir. İnsan vücudunda çeşitli hastalıklara neden olan birçok mikrop, üreyi amonyak ve karbamik aside dönüştüren üreaz enzimini üretmekte olup salgılamaktadır. Al-Hamdani *et al.* (2007), 181 örnek mikroskop altında %10 KOH çözeltisi ile incelenmiş olup 92 örnek pozitif, 89 örnek ise negatif bulunmuştur.

5.2 Öneriler

Ulaşılan sonuçlar ışığında bu çalışma, özellikle solunum sistemi ve diğer vücut sistemlerinde tehlikeli hasarların ana nedeni olarak kabul edilen *Aspergillus* mantarlarında virülans faktörlerinden sorumlu birkaç gendeki olası mutasyonların genel olarak incelenmesini önermektedir. Mevcut çalışma ayrıca, solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen bakteri ve mayaların, özellikle akış pompalarını kodlayan antibiyotiklere direncinin artmasının nedenlerini tespit etmek için çeşitli çalışmaların yapılmasını önermektedir, çünkü tehlikeli virülans faktörlerine sahip daha tehlikeli suşların antibiyotik direncindeki artış, gelişme nedeniyle insan hayatı için ciddi tehlike oluşturmaktadır. Ayrıca, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu tekniğini benimseyerek antibiyotik direnç genlerinin gen ekspresyonunu araştırmaktadır. Sonuç olarak, mevcut çalışma, sitokinler bağışıklık sisteminin ana itici gücü olduğundan ve

düşük seviyeleri olduğundan, vücudu mantarlara ve diğer mikroorganizmalara karşı savunmadaki önemleri göz önüne alındığında, mantar solunum yolu enfeksiyonlarından muzdarip hastalarda bazı sitokinlerin konsantrasyonlarının tahmin edilmesini önermektedir. İnsanlar mikroorganizmalarla enfekte olduğunda, bağışıklığın azalması ve dolayısıyla hayati tehlike anlamına gelen risk altındadır.



KAYNAKLAR

- Afsah-Hejri, L., Jinap, S., Hajeb, P., Radu, S. and Shakibazadeh, S. H. 2013. A review on mycotoxins in food and feed: Malaysia case study. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(6): 629-651.
- Al-Ameri, N. O. and Azeez, Z. F. 2014. Morphological effects of alcoholic extract of *Costus speciosus* Koen on *Aspergillus* sp. that causing pulmonary infections (III). *Journal of Natural Sciences Research*, 4(3): 98-101.
- Albarrag, A. M., Anderson, M. J., Howard, S. J., Robson, G. D., Warn, P. A., Sanglard, D. and Denning, D. W. 2011. Interrogation of related clinical pan-azole-resistant *Aspergillus fumigatus* strains: G138C, Y431C, and G434C single nucleotide polymorphisms in *cyp51A*, upregulation of *cyp51A*, and integration and activation of transposon *Atf1* in the *cyp51A* promoter. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(11): 5113-5121.
- Al-Hamdani, A. H., AL-Shammary, M. A. and Jabbar, R. S. 2007. Epidemiologic Study of Opportunistic Fungi Contaminating Soil of Schools, Mosques and Hotels in Diwaniya City-Iraq. *Al-Qadisiyah Medical Journal*, 3(4): 195-208.
- Al-Musallam, A. 1980. Revision of the black *Aspergillus* species. *Universiteitsbibliotheek*, 92 page, Groningen.
- Arvanitis, M., Anagnostou, T., Fuchs, B. B., Caliendo, A. M. and Mylonakis, E. 2014. Molecular and nonmolecular diagnostic methods for invasive fungal infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3): 490-526.
- Bagyalakshmi, R., Therese, K. L., Prasanna, S. and Madhavan, H. N. 2008. Newer emerging pathogens of ocular non-sporulating molds (NSM) identified by polymerase chain reaction (PCR)-based DNA sequencing technique targeting internal transcribed spacer (ITS) region. *Current Eye Research*, 33(2): 139-147.
- Balajee, S. A., Gribskov, J. L., Hanley, E., Nickle, D. and Marr, K. A. 2014. *Aspergillus lentulus* sp. nov., a new sibling species of *A. fumigatus*. *Eukaryotic Cell*, 4(3): 625-632.
- Balajee, S. A., Gribskov, J., Brandt, M., Ito, J., Fothergill, A. and Marr, K. A. 2005. Mistaken identity: *Neosartorya pseudofischeri* and its anamorph masquerading as *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(12): 5996-5999.

- Balajee, S. A., Nickle, D., Varga, J. and Marr, K. A. 2006. Molecular studies reveal frequent misidentification of *Aspergillus fumigatus* by morphotyping. *Eukaryotic Cell*, 5(10): 1705-1712.
- Bando, H., Hisada, H., Ishida, H., Hata, Y., Katakura, Y. and Kondo, A. 2011. Isolation of a novel promoter for efficient protein expression by *Aspergillus oryzae* in solid-state culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92: 561-569.
- Barnes, P. J. 2016. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(1): 16-27.
- Baron, E. J. 1997. *Bilophila wadsworthia*: a unique Gram-negative anaerobic rod. *Anaerobe*, 3(2-3): 83-86.
- Bartash, R., Guo, Y., Pope, J. B., Levi, M. H., Szymczak, W., Saraiya, N. and Nori, P. 2017. Periprosthetic hip joint infection with *Aspergillus terreus*: a clinical case and a review of the literature. *Medical Mycology Case Reports*, 18: 24-27.
- Bathoorn, E., Escobar Salazar, N., Sepehrkhoy, S., Meijer, M., De Cock, H. and Haas, P. J. 2013. Involvement of the opportunistic pathogen *Aspergillus tubingensis* in osteomyelitis of the maxillary bone: a case report. *BMC Infectious Diseases*, 13(1): 1-4.
- Boruta, T. and Bizukojc, M. 2017. Production of lovastatin and itaconic acid by *Aspergillus terreus*: a comparative perspective. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33: 1-12.
- Brock, M. and Buckel, W. 2004. On the mechanism of action of the antifungal agent propionate: Propionyl-CoA inhibits glucose metabolism in *Aspergillus nidulans*. *European Journal of Biochemistry*, 271(15): 3227-3241.
- Brown, G. D., Denning, D. W., Gow, N. A., Levitz, S. M., Netea, M. G. and White, T. C. 2012. Hidden killers: human fungal infections. *Science Translational Medicine*, 4(165): 165rv13-165rv13.
- Buist, A. S., McBurnie, M. A., Vollmer, W. M., Gillespie, S., Burney, P., Mannino, D. M. and BOLD Collaborative Research Group. 2007. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. *The Lancet*, 370(9589): 741-750.

- Bulpa, P., Dive, A. and Sibille, Y. 2007. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, 30(4): 782-800.
- Burney, P. G., Patel, J., Newson, R., Minelli, C. and Naghavi, M. 2015. Global and regional trends in COPD mortality, 1990–2010. *European Respiratory Journal*, 45(5): 1239-1247.
- Carrazana, E. J., Rossitch Jr, E. and Morris, J. 1991. Isolated central nervous system aspergillosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 93(3): 227-230.
- Cassagne, C., Normand, A. C., L'Ollivier, C., Ranque, S. and Piarroux, R. 2016. Performance of MALDI-TOF MS platforms for fungal identification. *Mycoses*, 59(11): 678-690.
- Chakrabarti, A., Chatterjee, S. S., Das, A. and Shivaprakash, M. R. 2011. Invasive aspergillosis in developing countries. *Medical Mycology*, 49(1): S35-S47.
- Chopra, V., Jain, H., Goel, A. D., Chopra, S., Chahal, A. S., Garg, N. and Mittal, V. 2017. Correlation of aspergillus skin hypersensitivity with the duration and severity of asthma. *Monaldi Archives for Chest Disease*, 87(3).
- Chowdhary, A., Sharma, C. and Meis, J. F. 2017. Azole-resistant aspergillosis: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(3): S436-S444.
- Comacle, P., Le Govic, Y., Hoche-Delchet, C., Sandrini, J., Aguilar, C., Bouyer, B. and Penn, P. 2016. Spondylodiscitis due to *Aspergillus terreus* in an immunocompetent host: case report and literature review. *Mycopathologia*, 181: 575-581.
- Connell, D. and Shah, A. 2020. The contribution of *Aspergillus fumigatus* to COPD exacerbations: a “sensitive” topic. *European Respiratory Journal*, 56(2).
- Dagenais, T. R. and Keller, N. P. 2009. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(3): 447-465.
- De Aguirre, L., Hurst, S. F., Choi, J. S., Shin, J. H., Hinrikson, H. P. and Morrison, C. J. 2004. Rapid differentiation of *Aspergillus* species from other medically important opportunistic molds and yeasts by PCR-enzyme immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(8): 3495-3504.

- De Hoog, G. S. and Guarro, J. 1995. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1126 page, Utrecht.
- Debeaupuis, J. P., Sarfati, J., Chazalet, V. and Latge, J. P. 1997. Genetic diversity among clinical and environmental isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Infection and Immunity*, 65(8): 3080-3085.
- Denning, D. W. 1998. Invasive aspergillosis. *Clinical Infectious Diseases*, 781-803.
- Denning, D. W. and Bromley, M. J. 2015. How to bolster the antifungal pipeline. *Science*, 347(6229): 1414-1416.
- Dixon, D. M. and Walsh, T. J. 1992. Human pathogenesis. *Biotechnology*, 23: 249-267.
- Dunne, K., Prior, A. R., Murphy, K., Wall, N., Leen, G., Rogers, T. R. and Murphy, P. 2015. Emergence of persistent *Aspergillus terreus* colonisation in a child with cystic fibrosis. *Medical Mycology Case Reports*, 9: 26.
- Ellis, T. K., Henrikson, J. C., King, J. B. and Cichewicz, R. H. 2011. Reappraising the structures and distribution of metabolites from black *Aspergilli* containing uncommon 2-Benzyl-4 H-pyran-4-one and 2-Benzylpyridin-4 (1 H)-one systems. *Journal of Natural Products*, 74(9): 1959-1964.
- Elsawy, A., Faidah, H., Ahmed, A., Mostafa, A. and Mohamed, F. 2015. *Aspergillus terreus* meningitis in immunocompetent patient: a case report. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1353.
- Engel, T. G., Erren, E., Driessche, K. S. V., Melchers, W. J., Reijers, M. H., Merkus, P. and Verweij, P. E. 2019. Aerosol transmission of *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis patients in the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*, 25(4): 797.
- Falvey, D. G. and Streifel, A. J. 2007. Ten-year air sample analysis of *Aspergillus* prevalence in a university hospital. *Journal of Hospital Infection*, 67(1): 35-41.
- Fauci, A. S. and Morens, D. M. 2012. The perpetual challenge of infectious diseases. *New England Journal of Medicine*, 366(5): 454-461.
- Finkel, J. S. and Mitchell, A. P. 2011. Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nature Reviews Microbiology*, 9(2): 109-118.
- Frisvad, J. C., Skouboe, P. and Samson, R. A. 2005. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(5): 442-453.

- Galagan, J. E., Calvo, S. E., Cuomo, C., Ma, L. J., Wortman, J. R., Batzoglou, S. and Birren, B. W. 2005. Sequencing of *Aspergillus nidulans* and comparative analysis with *A. fumigatus* and *A. oryzae*. *Nature*, 438(7071): 1105-1115.
- Gams, W., Christensen, M., Onions, A. H., Pitt, J. I. and Samson, R. A. 1986. Infrageneric taxa of *Aspergillus*. *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics*, 55-62.
- Garnacho-Montero, J., Olaechea, P., Alvarez-Lerma, F., Alvarez-Rocha, L., Blanquer, J., Galván, B. and Barberan, J. 2013. Epidemiology, diagnosis and treatment of fungal respiratory infections in the critically ill patient. *Spanish Society of Chemotherapy*, 26(2): 173-188.
- Gielkens, M. M., Visser, J. and de Graaff, L. 1997. Arabinoxylan degradation by fungi: characterization of the arabinoxylan-arabinofuranohydrolase encoding genes from *Aspergillus niger* and *Aspergillus tubingensis*. *Current Genetics*, 31: 22-29.
- Gil, M. L., Peñalver, M. C., Lopez-Ribot, J. L., O'Connor, J. E. and Martinez, J. P. 1996. Binding of extracellular matrix proteins to *Aspergillus fumigatus* conidia. *Infection and Immunity*, 64(12): 5239-5247.
- Goebes, M. D., Hildemann, L. M., Kujundzic, E. and Hernandez, M. 2007. Real-time PCR for detection of the *Aspergillus* genus. *Journal of Environmental Monitoring*, 9(6): 599-609.
- Guarro, J., Xavier, M. O. and Severo, L. C. 2010. Differences and similarities amongst pathogenic *Aspergillus* species. *Aspergillosis: from Diagnosis to Prevention*, 7-32.
- Guinea, J., Torres-Narbona, M., Gijón, P., Muñoz, P., Pozo, F., Peláez, T. and Bouza, E. 2010. Pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: incidence, risk factors, and outcome. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(7): 870-877.
- Haas, H. 2012. Iron—a key nexus in the virulence of *Aspergillus fumigatus*. *Frontiers in Microbiology*, 3: 28.
- Hohl, T. M. and Feldmesser, M. 2007. *Aspergillus fumigatus*: principles of pathogenesis and host defense. *Eukaryotic Cell*, 6(11): 1953-1963.
- Hooper, R., Burney, P., Vollmer, W. M., McBurnie, M. A., Gislason, T., Tan, W. C. and Buist, A. S. 2012. Risk factors for COPD spirometrically defined from the lower limit of normal in the BOLD project. *European Respiratory Journal*, 39(6): 1343-1353.

- Hyde, K. D., Al-Hatmi, A. M., Andersen, B., Boekhout, T., Buzina, W., Dawson, T. L. and Tsui, C. K. 2018. The world's ten most feared fungi. *Fungal Diversity*, 93: 161-194.
- Ibrahim-Granet, O., Dubourdeau, M., Latgé, J. P., Ave, P., Huerre, M., Brakhage, A. A. and Brock, M. 2008. Methylcitrate synthase from *Aspergillus fumigatus* is essential for manifestation of invasive aspergillosis. *Cellular Microbiology*, 10(1): 134-148.
- Jaakkola, M. S., Ieromnimon, A. and Jaakkola, J. J. 2006. Are atopy and specific IgE to mites and molds important for adult asthma?. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(3): 642-648.
- Jamieson, D. B., Matsui, E. C., Belli, A., McCormack, M. C., Peng, E., Pierre-Louis, S. and Hansel, N. N. 2013. Effects of allergic phenotype on respiratory symptoms and exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 188(2): 187-192.
- János Varga, F. K., Hamari, B. T. Z. and Téren, J. J. 2000. Genotypic and phenotypic variability among black aspergilli. Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. CRC Press, 524 page, Florida.
- Kalogerakis, N., Paschali, D., Lekaditis, V., Pantidou, A., Eleftheriadis, K. and Lazaridis, M. 2005. Indoor air quality—bioaerosol measurements in domestic and office premises. *Journal of Aerosol Science*, 36(5-6): 751-761.
- Kanbe, T., Yamaki, K. and Kikuchi, A. 2002. Identification of the pathogenic *Aspergillus* species by nested PCR using a mixture of specific primers to DNA topoisomerase II gene. *Microbiology and Immunology*, 46(12): 841-848.
- Klich, M. A. 2002. Identification of common *Aspergillus* species. Amer Society for Microbiology, 116 page, Washington.
- Kogan, T. V., Jadoun, J., Mittelman, L., Hirschberg, K. and Osharov, N. 2004. Involvement of secreted *Aspergillus fumigatus* proteases in disruption of the actin fiber cytoskeleton and loss of focal adhesion sites in infected A549 lung pneumocytes. *The Journal of Infectious Diseases*, 189(11): 1965-1973.
- Kozakiewicz, Z. 1989. *Aspergillus* species on stored products. CAB International Mycological, 161-188.

- Kozakiewicz, Z., Frisvad, J. C., Hawksworth, D. L., Pitt, J. I., Samson, R. A. and Stolk, A. C. 1992. Proposal for nomina specifica conservanda and rejicienda in *Aspergillus* and *Penicillium* (Fungi). *Taxon*, 109-113.
- Kredics, L., Varga, J., Kocsubé, S., Rajaraman, R., Raghavan, A., Dóczi, I. and Palanisamy, M. 2009. Infectious keratitis caused by *Aspergillus tubingensis*. *Cornea*, 28(8): 951-954.
- Krishnan, S., Manavathu, E. K. and Chandrasekar, P. H. 2009. *Aspergillus flavus*: an emerging non-fumigatus *Aspergillus* species of significance. *Mycoses*, 52(3): 206-222.
- Kusters-Van Someren, M. A., Samson, R. A. and Visser, J. 1991. The use of RFLP analysis in classification of the black *Aspergilli*: reinterpretation of the *Aspergillus niger* aggregate. *Current Genetics*, 19: 21-26.
- Latgé, J. P. 1999. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(2): 310-350.
- Latgé, J. P. 2001. The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. *Trends in Microbiology*, 9(8): 382-389.
- Latgé, J. P. and Chamilos, G. 2019. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1): e00140-18.
- Leong, S. A. and Winkelmann, G. 1998. Molecular biology of iron transport in fungi. *Metal Ions in Biological Systems*, 147.
- Lin, S. J., Schranz, J. and Teutsch, S. M. 2001. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clinical Infectious Diseases*, 32(3): 358-366.
- Liu, Q., Wang, L., Frutos, A. G., Condon, A. E., Corn, R. M. and Smith, L. M. 2000. DNA computing on surfaces. *Nature*, 403(6766): 175-179.
- Liu, D., Coloe, S., Baird, R., & Pedersen, J. 2000. Rapid mini-preparation of fungal DNA for PCR. *Journal of clinical microbiology*, 38(1), 471-471.
- Lorenz, M. C. and Fink, G. R. 2002. Life and death in a macrophage: role of the glyoxylate cycle in virulence. *Eukaryotic Cell*, 1(5): 657-662.
- Machida, M., Asai, K., Sano, M., Tanaka, T., Kumagai, T., Terai, G. and Kikuchi, H. 2005. Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae*. *Nature*, 438(7071): 1157-1161.

- Maerker, C., Rohde, M., Brakhage, A. A. and Brock, M. 2005. Methylcitrate synthase from *Aspergillus fumigatus*: Propionyl-CoA affects polyketide synthesis, growth and morphology of conidia. *The FEBS Journal*, 272(14): 3615-3630.
- Malcok, H. K., Aktas, E., Ayyildiz, A., Yigit, N. and Yazgi, H. 2009. Hemolytic activities of the *Candida* species in liquid medium. *The Eurasian Journal of Medicine*, 41(2): 95.
- Manisha, K. and Panwar, N. 2012. Morpho-pathological effects of isolated fungal species on human population. *Open Access Scientific Reports*, 1(11): 2-6.
- Mannino, D. M. and Buist, A. S. 2007. Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends. *The Lancet*, 370(9589): 765-773.
- Martin, M. V. and White, F. H. 1981. A microbiologic and ultrastructural investigation of germ-tube formation by oral strains of *Candida tropicalis*. *American Journal of Clinical Pathology*, 75(5): 671-676.
- McKinney, J. D., Zu Bentrup, K. H., Muñoz-Elías, E. J., Miczak, A., Chen, B., Chan, W. T. and Russell, D. G. 2000. Persistence of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages and mice requires the glyoxylate shunt enzyme isocitrate lyase. *Nature*, 406(6797): 735-738.
- Meersseman, W., Vandecasteele, S. J., Wilmer, A., Verbeken, E., Peetermans, W. E. and Van Wijngaerden, E. 2004. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 170(6): 621-625.
- Megnegneau, B., Debets, F. and Hoekstra, R. E. 1993. Genetic variability and relatedness in the complex group of black *Aspergilli* based on random amplification of polymorphic DNA. *Current Genetics*, 23: 323-329.
- Mezher, M. A. and Bandar, K. I. 2015. Identification study some virulence factors of invasive mold infections isolated from patients undergoing chemotherapy in Tikrit teaching Hospital. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 7(1): 1-11.
- Modler, H. W. and Emmons, D. B. 1977. Properties of whey protein concentrate prepared by heating under acidic conditions. *Journal of Dairy Science*, 60(2): 177-184.
- Mohankumar, M., Vijayasamundeeswari, A., Karthikeyan, M., Mathiyazhagan, S., Paranidharan, V. and Velazhahan, R. 2010. Analysis of molecular variability

- among isolates of *Aspergillus flavus* by PCR-RFLP of the ITS regions of rDNA. *Journal of Plant Protection Research*, 10(1): 2-5.
- Morris, G., Kokki, M. H., Anderson, K. and Richardson, M. D. 2000. Sampling of *Aspergillus* spores in air. *Journal of Hospital Infection*, 44(2): 81-92.
- Mosquera, J., Warn, P. A., Morrissey, J., Moore, C. B., Gil-Lamaignere, C. and Denning, D. W. 2001. Susceptibility testing of *Aspergillus flavus*: inoculum dependence with itraconazole and lack of correlation between susceptibility to amphotericin B in vitro and outcome in vivo. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(5): 1456-1462.
- Moss, R. B. 2005. Pathophysiology and immunology of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Medical Mycology*, 43(1): S203-S206.
- Mosseray, R. 1934. Matériaux pour une flore de Belgique famille des Papavéracéespapavéracées. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique*, 67(1): 78-95.
- Muñoz-Elías, E. J. and McKinney, J. D. 2005. Mycobacterium tuberculosis isocitrate lyases 1 and 2 are jointly required for in vivo growth and virulence. *Nature Medicine*, 11(6): 638-644.
- Murali, P. S., Kurup, V. P., Guo, J. and Fink, J. N. 1997. Development of Bone Marrow Eosinophilia in Mice Induced by *Aspergillus fumigatus* Antigens. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 84(2): 216-220.
- Muszkiet, L., Beauvais, A., Pähtz, V., Gibbons, J. G., Anton Leberre, V., Beau, R. and Latgé, J. P. 2013. Investigation of *Aspergillus fumigatus* biofilm formation by various “omics” approaches. *Frontiers in Microbiology*, 4: 13.
- Naglik, J. R., Challacombe, S. J. and Hube, B. 2003. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(3): 400-428.
- Nash, G., Irvine, R., Kerschmann, R. L. and Herndier, B. 1997. Pulmonary aspergillosis in acquired immune deficiency syndrome: autopsy study of an emerging pulmonary complication of human immunodeficiency virus infection. *Human Pathology*, 28(11): 1268-1275.
- Nayak, A. P., Green, B. J. and Beezhold, D. H. 2013. Fungal hemolysins. *Medical Mycology*, 51(1): 1-16.

- Nedel, W. L. and Pasqualotto, A. C. 2014. Treatment of infections by cryptic *Aspergillus* species. *Mycopathologia*, 178: 441-445.
- Pagano, L., Caira, M. and Fianchi, L. 2005. Pulmonary fungal infection with yeasts and pneumocystis in patients with hematological malignancy. *Annals of Medicine*, 37(4): 259-269.
- Paiva, J. A., Mergulhão, P. and Pereira, J. M. 2018. *Aspergillus* and other respiratory fungal infections in the ICU: diagnosis and management. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 31(2): 187-193.
- Pařenicová, L., Skouboe, P., Frisvad, J., Samson, R. A., Rossen, L., Ten Hoor-Suykerbuyk, M. and Visser, J. 2001. Combined molecular and biochemical approach identifies *Aspergillus japonicus* and *Aspergillus aculeatus* as two species. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(2): 521-527.
- Pasqualotto, A. C. 2009. Differences in pathogenicity and clinical syndromes due to *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus*. *Medical Mycology*, 47(1): S261-S270.
- Patron, N. J., Waller, R. F., Cozijnsen, A. J., Straney, D. C., Gardiner, D. M., Nierman, W. C. and Howlett, B. J. 2007. Origin and distribution of epipolythiodioxopiperazine (ETP) gene clusters in filamentous ascomycetes. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1): 1-15.
- Patterson, R., Greenberger, P. A., Radin, R. C. and Roberts, M. 1982. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: staging as an aid to management. *Annals of Internal Medicine*, 96(3): 286-291.
- Patwa, A. and Shah, A. 2015. Anatomy and physiology of respiratory system relevant to anaesthesia. *Indian Journal of Anaesthesia*, 59(9): 533-541.
- Peñalver, M. C., O'Connor, J. E., Martinez, J. P. and Gil, M. L. 1996. Binding of human fibronectin to *Aspergillus fumigatus* conidia. *Infection and Immunity*, 64(4): 1146-1153.
- Pitt, J. I. and Samson, R. A. 2000. Types of *Aspergillus* and *Penicillium* and their teleomorphs in current use. *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classific*, 51-72.

- Playford, E. G., Marriott, D., Nguyen, Q., Chen, S., Ellis, D., Slavin, M. and Sorrell, T. C. 2008. Candidemia in nonneutropenic critically ill patients: risk factors for non-albicans *Candida* spp. *Critical Care Medicine*, 36(7): 2034-2039.
- Powers-Fletcher, M. V. and Hanson, K. E. 2016. Molecular diagnostic testing for *Aspergillus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(11): 2655-2660.
- Ramanan, N. and Wang, Y. 2000. A high-affinity iron permease essential for *Candida albicans* virulence. *Science*, 288(5468): 1062-1064.
- Ramanan, P., Wengenack, N. L. and Theel, E. S. 2017. Laboratory diagnostics for fungal infections: a review of current and future diagnostic assays. *Clinics in Chest Medicine*, 38(3): 535-554.
- Raper, K. B. and Fennell, D. I. 1965. The genus *Aspergillus*. Lippincott Williams & Wilkins, 686 page, Philadelphia.
- Ratledge, C. and Dover, L. G. 2000. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1): 881-941.
- Ribaud, P., Chastang, C., Latgé, J. P., Baffroy-Lafitte, L., Natquet, N., Devergie, A. and Gluckman, E. 1999. Survival and prognostic factors of invasive aspergillosis after allogeneic bone marrow transplantation. *Clinical Infectious Diseases*, 28(2): 322-330.
- Riera, F. O., Caeiro, J. P. and Denning, D. W. 2018. Burden of serious fungal infections in Argentina. *Journal of Fungi*, 4(2): 51.
- Rokas, A. 2009. The effect of domestication on the fungal proteome. *Trends in Genetics*, 25(2): 60-63.
- Rosenberg, M., Patterson, R., Mintzer, R., Cooper, B. J., Roberts, M. and Harris, K. E. 1977. Clinical and immunologic criteria for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Annals of Internal Medicine*, 86(4): 405-414.
- Rudramurthy, S. M., Paul, R. A., Chakrabarti, A., Mouton, J. W. and Meis, J. F. 2019. Invasive aspergillosis by *Aspergillus flavus*: epidemiology, diagnosis, antifungal resistance, and management. *Journal of Fungi*, 5(3): 55.
- Ruijter, G. J. and Visser, J. 1997. Carbon repression in *Aspergilli*. *FEMS Microbiology Letters*, 151(2): 103-114.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2344 page, New York.

- Samson, R. A. 1994. Current systematics of the genus *Aspergillus*. *The Genus Aspergillus: from Taxonomy and Genetics to Industrial Application*, 261-276.
- Samson, R. A., Noonim, P., Meijer, M., Houbaken, J. A. M. P., Frisvad, J. C. and Varga, J. 2007. Diagnostic tools to identify black aspergilli. *Studies in Mycology*, 59(1): 129-145.
- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbaken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H. and Frisvad, J. 2014. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78(1): 141-173.
- Sánchez-Hervás, M., Gil, J. V., Bisbal, F., Ramón, D. and Martínez-Culebras, P. V. 2008. Mycobiota and mycotoxin producing fungi from cocoa beans. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3): 336-340.
- Savage, D. G., Taylor, P., Blackwell, J., Chen, F., Szydlo, R. M., Rule, S. A. J. and Goldman, J. M. 1997. Paranasal sinusitis following allogeneic bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplantation*, 19(1): 55-59.
- Schaffner, A., Douglas, H. and Braude, A. 1982. Selective protection against conidia by mononuclear and against mycelia by polymorphonuclear phagocytes in resistance to *Aspergillus*: observations on these two lines of defense in vivo and in vitro with human and mouse phagocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, 69(3): 617-631.
- Schöbel, F., Ibrahim-Granet, O., Avé, P., Latgé, J. P., Brakhage, A. A. and Brock, M. 2007. *Aspergillus fumigatus* does not require fatty acid metabolism via isocitrate lyase for development of invasive aspergillosis. *Infection and Immunity*, 75(3): 1237-1244.
- Schönheyder, H., Jensen, T., Høiby, N. and Koch, C. 1988. Clinical and serological survey of pulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *International Archives of Allergy and Immunology*, 85(4): 472-477.
- Schrettl, M., Bignell, E., Kragl, C., Joechl, C., Rogers, T., Arst Jr, H. N. and Haas, H. 2004. Siderophore biosynthesis but not reductive iron assimilation is essential for *Aspergillus fumigatus* virulence. *The Journal of Experimental Medicine*, 200(9): 1213-1219.

- Shibuya, K., Paris, S., Ando, T., Nakayama, H., Hatori, T. and Latge, J. P. 2006. Catalases of *Aspergillus fumigatus* and inflammation in aspergillosis. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 47(4): 249-255.
- Silva, D. M., Batista, L. R., Rezende, E. F., Fungaro, M. H. P., Sartori, D. and Alves, E. 2011. Identification of fungi of the genus *Aspergillus* section *nigri* using polyphasic taxonomy. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42: 761-773.
- Singh, G. and Urhekar, A. D. 2017. Virulence factors detection in *Aspergillus* isolates from clinical and environmental samples. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(7): DC13.
- Smith, J. A. and Kauffman, C. A. 2012. Pulmonary fungal infections. *Respirology*, 17(6): 913-926.
- Sole, A., Morant, P., Salavert, M., Pemán, J. and Morales, P. 2005. *Aspergillus* infections in lung transplant recipients: risk factors and outcome. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(5): 359-365.
- Stoll, M., Begerow, D. and Oberwinkler, F. 2005. Molecular phylogeny of *Ustilago*, *Sporisorium*, and related taxa based on combined analyses of rDNA sequences. *Mycological Research*, 109(3): 342-356.
- Stoll, M., Piepenbring, M., Begerow, D. and Oberwinkler, F. 2003. Molecular phylogeny of *Ustilago* and *Sporisorium* species (Basidiomycota, Ustilaginales) based on internal transcribed spacer (ITS) sequences. *Canadian Journal of Botany*, 81(9): 976-984.
- Sugita, C., Makimura, K., Uchida, K., Yamaguchi, H. and Nagai, A. 2004. PCR identification system for the genus *Aspergillus* and three major pathogenic species: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*. *Medical Mycology*, 42(5): 433-437.
- Taccone, F. S., Den Abeele, V., Bulpa, P., Misset, B., Meersseman, W., Cardoso, T. and Blot, S. I. 2015. Epidemiology of invasive aspergillosis in critically ill patients: clinical presentation, underlying conditions, and outcomes. *Critical Care*, 19(1): 1-15.
- Thau, N., Monod, M., Crestani, B., Rolland, C., Tronchin, G., Latge, J. P. and Paris, S. 1994. Rodletless mutants of *Aspergillus fumigatus*. *Infection and Immunity*, 62(10): 4380-4388.

- Tortorano, A. M., Dho, G., Prigitano, A., Breda, G., Grancini, A., Emmi, V. and ECMM-FIMUA Study Group. 2012. Invasive fungal infections in the intensive care unit: a multicentre, prospective, observational study in Italy (2006–2008). *Mycoses*, 55(1): 73-79.
- Varga, J., Frisvad, J. C. and Samson, R. 2011. Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Studies in Mycology*, 69(1): 57-80.
- Varga, J., Kevei, F., Fekete, C., Coenen, A., Kozakiewicz, Z. and Croft, J. H. 1993. Restriction fragment length polymorphisms in the mitochondrial DNAs of the *Aspergillus niger* aggregate. *Mycological Research*, 97(10): 1207-1212.
- Vincent, J. L., Rello, J., Marshall, J., Silva, E., Anzueto, A., Martin, C. D. and Epic II Group of Investigators. 2009. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama*, 302(21): 2323-2329.
- WHO, World Health Organization. 2020. World health statistics 2020.
- Wilson, L. S., Reyes, C. M., Stolpman, M., Speckman, J., Allen, K. and Beney, J. 2002. The direct cost and incidence of systemic fungal infections. *Value in Health*, 5(1): 26-34.
- Wong, S. S. W., Venugopalan, L. P., Beaussart, A., Karnam, A., Mohammed, M. R. S., Jayapal, J. M. and Aimananda, V. 2021. Species-specific immunological reactivities depend on the cell-wall organization of the two *Aspergillus*, *Aspergillus fumigatus* and *A. flavus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 42.
- Zarrin, M. and Ganj, F. 2019. Study of Hemolysin gene *aspHS*” and Its Phenotype in *Aspergillus Fumigatus*. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, (15): 2399-2403.
- Zmeili, O. S. and Soubani, A. O. 2007. Pulmonary aspergillosis: a clinical update. *Journal of the Association of Physicians*, 100(6): 317-334.
- Zohri, A. A., Moharram, A. M. and Abd El-Ghani, O. A. 2017. Antioxidant potentialities of some strains belonging to endophytic, entomopathogenic and saprophytic fungi. *European Journal of Biological Research*, 7(1): 76-85.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Sarah Abdalnaser Sabri SABRI

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-Halen
Lisans	Anbar Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü	2008-2012