

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**



**KLİNİK VE ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLMİŞ
ASPERGİLLUS FUMİGATUS SUŞLARINDA VİRULANS
FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Esmira AHMADOVA

Danışman

Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ

Bu çalışma PYO.TIP.1904.22.017, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Esmira AHMADOVA tarafından, Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ danışmanlığında hazırlanan “KLİNİK VE ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLMİŞ ASPERGİLLUS FUMİGATUS SUŞLARINDA VİRULANS FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Demet Gür Vural Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Mustafa Kerem ÇALGIN Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒

Hayır ☐

22/06/2023
Esmira AHMADOVA

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : KLİNİK VE ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLMİŞ ASPERGİLLUS FUMİGATUS SUŞLARINDA VİRULANS FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 22.06.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 3

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

22/06/2023
Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ

ABSTRACT

INVESTIGATION OF VIRULENCE FACTORS IN *ASPERGILLUS FUMIGATUS* STRAINS ISOLATED FROM CLINICAL AND ENVIROMENTAL SAMPLES

Esmira AHMADOVA
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Medical Microbiology
Master, August/2023
Supervisor: Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ

As a versatile saprophytic fungus, *Aspergillus* species thrive ubiquitously, occupying soil, decaying organic matter, and even food, vital for carbon and nitrogen recycling. Paradoxically, they also underlie the menacing global health concern of aspergillosis. Notably, *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus terreus*, frequently linked to invasive aspergillosis, leverage their potent enzyme activities as significant contributors to disease development.

Our study delved into enzymatic attributes (phospholipase, acid proteinase, and elastase) within *A. fumigatus* isolates from clinical and environmental sources. Our investigation involved 33 environmental isolates from Uludağ University and 37 clinical isolates from Ondokuz Mayıs University. Enzyme activities were assessed using specialized growth media: phospholipase on egg yolk agar plates, acid proteinase on bovine serum albumin agar plates, and elastase on rose bengal-elastin agar plates.

Among clinical isolates, 75.7% (28 of 37) exhibited acid proteinase activity, with 24.3% (9 of 37) lacking it. Conversely, environmental isolates showed 81.9% (27 of 33) with active acid proteinase and 18.1% (6 of 33) devoid of it.

Regarding phospholipase, clinical isolates displayed 94.6% (35 of 37) enzymatic activity, with only 5.4% (2 of 37) devoid of it. Environmental counterparts demonstrated 94% (31 of 33) enzymatic activity, while 6.06% (2 of 33) lacked it.

Elastase activity was prominent in 75.7% (28 of 37) clinical isolates, in contrast to 24.3% (9 of 37) where it was absent. Among environmental isolates, 72.7% (24 of 33) exhibited elastase activity, while 18.2% (6 of 33) did not. Notably, a subset of environmental isolates (9.1% or 3 of 33) failed to grow on rose-bengal elastin agar.

Our comprehensive analysis sheds light on the intricate enzymatic landscape of *A. fumigatus* isolates, unraveling potential implications for disease mechanisms and diagnostic advancements.

Keywords: *Aspergillus fumigatus*, Acid proteinase, Phospholipase, Elastase

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca yaptığım çalışmaların her aşamasında bilgisini ve desteğini benden esirgemeyen değerli tez danışmanım Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bilgi ve birikimi ile bana yol gösteren, hep desteğini gördüğüm değerli hocam Doç. Dr. Kemal BİLGİN'e minnettarlığımı sunarım.

Araştırmalarım boyunca bilgi, ilgi ve desteğini gördüğüm değerli hocalarım Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI ve Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜR VURAL'a minnettarlığımı sunarım.

Yüksek lisans süresince yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistanları, doktora ve yüksek lisans arkadaşlarıma, aynı zamanda laboratuvar çalışanlarına çok teşekkür ederim. Tez süresince benden bilgi ve yardımını hiç esirgemeyen Arş.Gör. İlknur BIYIK'a teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans arkadaşım Gülşen ÇETİN'e çalışmalarımda hep destek verdiği için teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca hep yanımda olan ve beni hep destekleyen sevgili arkadaşım Elvina ZEYNALOVA'ya teşekkürlerimi sunarım. Bu süreç boyunca maddi manevi desteklerini benden hiç esirgemeyen Seroloji laboratuvar çalışanları sağlık teknisyeni Resul SIVACI'ya ve biyolog Burcu ÖZYURT'a teşekkürlerimi sunarım.

Hem maddi hem de manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, hayatımın her bir anında yanımda olan annem Farida AHMADOVA'ya ve babam Nadir AHMADOV'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma PYO.TIP.1904.22.017, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından proje numarası ile desteklenmiştir.

Esmira AHMADOVA

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORUBEYANI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Aspergillus</i> Türlerinin Sınıflandırmadaki Yeri	3
2.2. <i>Aspergillus</i> Türlerinin Özellikleri	4
2.2.1. Makroskobik Özellikler	5
2.2.2. Mikroskobik Özellikler	5
2.2.3. Virülans Faktörleri	6
2.2.4. Antijenik Özellikler	9
2.3. Patogenez	10
2.4. Epidemiyoloji.....	10
2.5. <i>Aspergillus</i> Türlerinin Klinik Önemi	11
2.5.1. İnvaziv Sendromlar	11
2.5.2. İnvaziv Olmayan Sendromlar	12
2.5.3. Aşırı Duyarlılık Sendromları	12
2.6. Tanı Yöntemleri	13
2.6.1. Direkt Tanı Yöntemleri.....	13
2.6.2. İndirekt Tanı Yöntemleri	17
3. MATERYAL VE METOT.....	20
3.1. <i>Aspergillus fumigatus</i> Suşları	20
3.2. Suşların Üretilmesi.....	20
3.3. İnokulum Hazırlığı.....	20
3.4. Asit Proteinaz Aktivitesinin Araştırılması	20
3.5. Fosfolipaz Aktivitesinin Araştırılması	21
3.6. Elastaz Aktivitesinin Araştırılması	22
3.7. Üreyen Kolonilerin Cins ve Tür Düzeyinde Değerlendirilmesi.....	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	25
4.1. Örnek Dağılımı.....	25
4.2. Asit Proteinaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi.....	25
4.3. Fosfolipaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi.....	29
4.4. Elastaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi.....	32
5. SONUÇ.....	37
KAYNAKLAR.....	38

EKLER.....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	45



SİMGELER VE KISALTMALAR

ABPA	:Allerjik Bronkopulmoner aspergilloz
ATCC	: American Type Culture Collection
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
BG	: Beta-glukan antijeni
EIA	: Elastaz enzim aktivitesi
EIA	: Enzimimmünoassay yöntemi
FAB-MS	: Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry
FDA	: Food and Drug Administration
GM	: Galaktomannan antijeni
IA	: İnvaziv aspergilloz
LA	: Lateks aglütinasyon
PZR	: Polimeaz zincir reaksiyonu
RIA	: Radioimmünassay yöntemi
TAK	: Trakeal aspirat kültür
ml	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Aspergillus fumigatus</i> ve <i>Aspergillus niger</i> koloni görünümü.....	5
Şekil 3.1. <i>Aspergillus fumigatus</i> 'un mikroskopik görünümü.....	24
Şekil 4.1. <i>Aspergillus fumigatus</i> suşlarının örnek türlerine göre dağılımı.....	26
Şekil 4.2. Asit proteinaz aktivitesi saptanan <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatının sığır serum albumin agarında görünümü.....	28
Şekil 4.3. Asit proteinaz aktivitesi saptanmayan <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatının sığır serum albumin agarında görünümü.....	28
Şekil 4.4. Şekil 4.4. Fosfolipaz enzim aktivitesi saptanan <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatının yumurta sarılı agarda görünümü.....	31
Şekil 4.5. Elastaz enzim aktivitesi saptanan <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatının rose bengal elastin agarda görünümü.....	34
Şekil 4.6. Elastaz enzim aktivitesi saptanmayan <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatının rose bengal elastin agarda görünümü.....	34

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Klinik açıdan önemli <i>Aspergillus</i> türlerinde isimlendirme değişikliklerinin özetі.....	4
Tablo 4.1. Klinik <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatlarında asit proteinaz aktiviteleri.....	27
Tablo 4.2. Çevresel <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatlarında asit proteinaz aktiviteleri.....	27
Tablo 4.3. Klinik <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatlarında fosfolipaz aktiviteleri.....	31
Tablo 4.4. Çevresel <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatlarında fosfolipaz aktiviteleri.....	31
Tablo 4.5. Klinik <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatlarında elastaz aktiviteleri.....	33
Tablo 4.6. Çevresel <i>Aspergillus fumigatus</i> izolatlarında elastaz aktiviteleri.....	34



1. GİRİŞ

Aspergillus'lar doğada yaygın olarak bulunan, toprak, yiyecek, hava gibi birçok farklı ortamda spor oluşturarak enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenlerdir. Klinik ve çevresel *Aspergillus fumigatus* izolatlarının arasında genetik açıdan bir fark olmadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Alonso et al., 2016). Bulundukları ortam, pH ve belirli sıcaklık aralığı hayatta kalmalarını belirleyen etkenlerdendir. Sahip oldukları konidyumun boyutunun küçük olması hafif hava akımı sayesinde daha verimli bir şekilde uzun mesafeler boyunca yayılmalarına ve konak dokusunda kolaylıkla ilerlemelerini sağlar. Solunan çevresel sporlar invaziv aspergilloz (IA) enfeksiyonuna neden olmakla birlikte immün sistemi baskılanmış kişiler için tehdit oluşturmaktadır (Öz vd., 2012). Bu özelliklerinden dolayı klinik ve çevresel *Aspergillus* türleri insanlarda enfeksiyonlara neden olan en baskın küf türlerinden biri olarak bilinmektedir. *A. fumigatus* ise bu cins içerisinde çevrede en çok bulunan mantar türüdür (Arastehfar et al., 2021).

1729 yılında ilk kez İtalyan rahip ve biyoloğu Pietro Antonio Micheli tarafından tanımlanmıştır. Mantarın mikroskopik morfoloji şeklinin Hristiyan ayinlerinde kutsal su serpmek için kullanılan “aspergere” aletine benzediği için, cinse *Aspergillus* adı verilmiştir (Sugui et al., 2015). Ürettikleri enzimler vasıtasıyla organik maddeleri ayrıştırarak kullanırlar ve uygun koşullar sağlandığında patojen hale geçebilme özelliğine sahiptirler. Fıratçı patojenlerin hastalık yapmasında önemli faktörlerden biri de konağın baskılanmış bağışıklık sistemine sahip olmasıdır. IA, alerjik bronkopulmoner aspergilloz, astım, alerjik sinüzit, alveolit, gibi çeşitli hastalıklara neden olabilmektedirler. *Aspergillus* sporlarının havada asılı kalabilme özelliği sayesinde konağın solunum yollarına ve bozulmuş deri dokusuna tutunarak hastalık oluşturdıkları düşünülmektedir. Çevresel ve klinik sporların inhalasyonu enfeksiyona sebep olmaktadır. Bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde de yukarıda ismi geçen klinik tablolara neden olmaktadır (Gülderen vd., 2008).

Aspergillus türlerinin konak dokusuna girebilmeleri için birkaç aşamadan geçmeleri gerekmektedir. Önce konağın solunum epiteline yapışabilmeli ve penetre olabilmelidirler. Daha sonra konak immün sisteminin fagositik hücreleri tarafından gerçekleştirilecek savunmadan korunmaları gerekir. Son aşamada konak dokusuna uyum sağlayarak uzun süre hastalık oluşturabilmelidirler. Bütün bu aşamaları tamamlayabilmesi için birden fazla virölans faktöre ihtiyaç duymaktadırlar. Bu

virölans faktörlerin adhezyon (yapışma), adezinler, sıcaklık toleransı, pigmentler, konidyum boyutu, toksik moleküller ve enzimler olduğu belirlenmiştir (Kantarcıoğlu ve Yücel, 2014; Abacı ve Uztan, 2008).

Aspergillus cinsinde yer alan *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus nidulans* türleri sıklıkla invaziv aspergilloza neden olurlar. Diğer türler örneğin: *Aspergillus candidus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus oryzae* ve birçoğu nadiren hastalığa neden olan türlerdir (Kantarcıoğlu ve Yücel, 2014). *Aspergillus* cinsinin insanlarda oluşturduğu enfeksiyonların yaklaşık olarak %90'ından *Aspergillus fumigatus* sorumludur (Kantarcıoğlu ve Yücel, 2014). *Aspergillus* enfeksiyonlarında enzim aktivilerinin virölans faktör olarak önemi büyüktür. Bu çalışmanın amacı da klinik ve çevresel örneklerden izole edilen *Aspergillus fumigatus* suşlarında plak yöntemiyle fosfolipaz, asit proteinaz ve ekstraselüler elastaz enzim aktivitelerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Aspergillus* Türlerinin Sınıflandırmadaki Yeri

Aspergillus türleri toz, toprak, bitki, yiyecek, hava gibi bir çok farklı ortamda yaşamını sürdürebilme özelliğine sahip olup, çevremizde yaygın olarak bulunan funguslardır. Aralarında en sık soyutlanan tür *A. fumigatus*'tur. Bunu *A. flavus* ve *A. niger* izlemektedir. *A. clavatus*, *A. glaucus*, *A. nidulans*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. versicolor* gibi türler ise daha nadir soyutlanan türler olarak bilinmektedir (Hilmioğlu, 2021).

Aspergillus türlerinin sınıflandırılması için eşeyli (telemorfik) ve eşeysiz (anamorfik) şekilleri, onların morfolojik özellikleri kullanılmaktadır. Eşeyli üreme kusursuz (perfect) üreme olup telemorfik dönemdedir. Eşeyli üremede oluşan sporlar (telemorfik şekiller): zigospor, askospor, bazidiyospor olarak gruplara ayrılmıştır. Fırsatçı patojen olan *Aspergillus*'ların sınıflandırılmasında spor (konidyum) ve konidyogenez özellikleri önemli yere sahiptir (Hilmioğlu, 2021). *Aspergillus*'lar *Ascomycota* bölümünün *Eurotiales* takımında *Trichocomaceae* ailesinde telemorfik (eşeyli) cinsler içinde yer alırlar (Murray et al., 2009). Klinik olarak önemli birçok *Aspergillus* türünün telemorfları sebebiyle “tek mantar: tek isim” uygulaması sorunlara neden olmaktadır. Yapılan filogenetik çalışmalar ile *Aspergillus*'un genel olarak monofiletik olduğu gösterilmiştir. Böylelikle cins içindeki çoğu türün ismi korunmuştur. Yaygın olarak telemorfları tarafından bilinen türler *Aspergillus* cinsi içinde yeniden adlandırıldı (*Neosartorya fischeri*, *Aspergillus fischeri* olarak yeniden adlandırıldı). Tablo 2.1.'de klinik açıdan önemli *Aspergillus* türlerinin isimlendirilmesinde yapılan değişikliklerin özeti gösterilmiştir (Kidd et al., 2023).

Son 20 yılda birçok yeni *Aspergillus* türü tanımlanmış ve moleküler çalışmalar, orijinal olarak morfolojik özelliklerine göre tanımlanmış olanlar içinde genetik olarak farklı çok sayıda tür bulunmuştur. *Aspergillus* cinsi içinde yaklaşık 300 tür tanımlanmıştır. Antifungal ilaçlara dirençli olan *Aspergillus lentulus*, *Aspergillus fischeri* ve *Aspergillus udagawae* türleri dahil olmakla *A. fumigatus*'tan genetik olarak farklı en az 50 tür tanımlanmıştır (Kidd et al., 2023).

Tablo 2.1. Klinik açıdan önemli *Aspergillus* türlerinde isimlendirme değişikliklerinin özeti (Kidd et al., 2023).

Önceki isim	Yeni geçerli isim	Yaygın ilişkili enfeksiyonlar
<i>Neosartorya fischeri</i> , <i>Neosartorya pseudofischeri</i> , <i>Aspergillus thermomutatus</i>	<i>Aspergillus fischeri</i>	Solunum, invaziv enfeksiyonlar, alerjik durumlar
<i>Neosartorya udagawae</i>	<i>Aspergillus udagawae</i>	Solunum, invaziv enfeksiyonlar, alerjik durumlar

Peterson tarafından yapılan moleküler çalışma sonucunda tanımlanan türlerle, Raper ve Fennell tarafından yapılan çalışmada tanımlanan türler arasında yüksek derecede korelasyon olduğu belirlenmiştir (Murray et al., 2009; Peterson, 2008). Fakat bu çalışmalar sonrasında *Aspergillus* türlerinin filogenetik analizinde yine bilgi yetersizliğinin olduğu görülmüştür.

Aspergillus türlerinin sınıflandırılmasında farklı görüşler mevcuttur. Bu alanda DNA sekansı, kalmodulin, ITS ve LSU gen bölgeleri kullanılarak yapılan çalışmalar doğrultusunda, fenotipik olarak farklı türlerin aslında filogenetik olarak birbirine çok yakın oldukları sonucuna varılmıştır (Hilmioğlu, 2021).

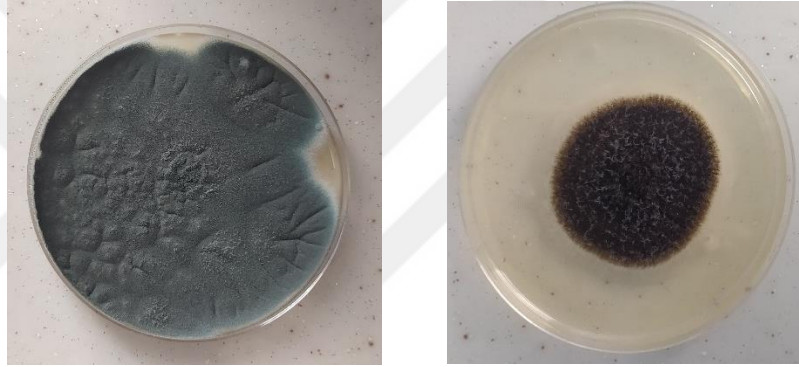
Konuyla ilgili uzmanlar sayesinde *Trichocomaceae* ailesinde yer alan türlerin listesi hazırlanmış ve bu listede 184 *Aspergillus* türünün olduğu belirlenmiştir (Murray et al., 2009).

2.2. *Aspergillus* Türlerinin Özellikleri

Aspergillus türlerinin özelliklerine makroskobik ve mikroskobik özellikler, aynı zamanda fırsatçı mantar olarak görevlerini yapabilmelerinde önemli rolü olan virülans faktörler dahil edilmektedir.

2.2.1. Makroskobik Özellikler

Aspergillus spp. üyeleri çoğu eşeysiz (anamorf) çoğalma özelliğine sahip olsa da bazı türlerde seksüel çoğalma görülmektedir. Hızlı üreyerek, yüzeyi pudramsı, kadifemsi, pamuğumsu şekilde koloniler oluştururlar. Türler üreme şartlarına ve besiyeri özelliğine göre siyah, yeşil, sarı, siyah renkli koloniler oluştururlar. *A. fumigatus* koyu mavimsi-yeşil'den gri-turkuaza değişen renklerde, *A. flavus* sarı, koyu sarımsı yeşil renklerde, *A. nidulans* koyu yeşil ve genellikle morumsu kahverengi renklerinde, *A. niger* çevresinde beyaz halesi olan siyah renkte, *A. terreus* ise bej'den tarçın rengine kadar değişen koloniler oluştururlar (Hilmioğlu, 2021). *Aspergillus* cinsine ait türlerin üremesine nem ve ışık, ortamdaki ozmotik basınç gibi birçok dış faktör de etki edebilmektedir.



Şekil 2. 1. *Aspergillus fumigatus* ve *Aspergillus niger* koloni görünümü

2.2.2. Mikroskobik Özellikler

Mikroskobik olarak *Aspergillus* türleri 4-6µm çapında hyalen, düzgün ve septalı hifler oluştururlar. Hiflerin bir bölümü genişleyerek “T” (foot cell) ismi verilen “taban hücreler”i oluşturur. Taban hücresinden köken alan ve dik bir şekilde uzayan konidyum taşıyan konidyofor hiflerinin ucu şişkinleşerek vezikül ismi verilen yapıyı oluştururlar. Vezikülün yüzeyinde şişe biçiminde fiyalidler yer alır. Fiyalidler tek sıra (uniseriate) veya çift sıra (biseriate) şeklinde olabilir. Çift sıralı fiyalid yapısında iç sıradakilere metula denir. Konidyum yapıcı hücre olan fiyalidler büyüme özelliğine sahip değildir. Bu yüzden konidyumların gelişimi sırasında fiyalidlerin dış tabakası konidyumların üzerini örtemez. *Aspergillus* türlerinde konidyum ölçüsü farklılık göstermektedir. *A. fumigatus* düzgünden-dikensi çıkıntılıya kadar değişebilen, 2-3.5 µm çapında konidyum oluşturur. *A. flavus*'un

oluşturduğu konidyumlar ise 3-6 µm çapında, pürüklü yapıya sahiptir. *A. niger* ise yuvarlağımsı, aynı zamanda kalın duvara sahip, pürüklü ve 6 µm çapında konidyumlar oluşturur (Topçu vd., 2008).

Sadece bazı türlere özgü mikroskobik yapılar: alörokonidyumlar, sklerotyumlar, klaystotesyumlar mevcuttur. Bu yapılar türlerin ayrımında kullanılmaktadır. Skleroit yuvarlak miçel kümeleri olup, esmer renğinde kabuğa sahiptir (Hilmioğlu, 2021). Sklerotyumların rengi türe göre değişmekte olup, *A. flavus* kırmızı bazen de kahverenginin açıktan koyuya kadar değişen tonlarında oluşturabilmektedir. *Aspergillus candidus* kırmızımsı mor-siyah renkli sklerotyum oluştururken, *Aspergillus ochraceus*'un oluşturduğu sklerotyumlar başlangıçta beyaz renkte olup, daha sonra mor renge kadar değişebilmektedir (Temiz, 1989). Klaystotesya eşeyli üreme zamanı oluşur. Her biri içerisinde askusların yer aldığı askosporlar taşır ve askuslar patlama sonucu etrafa yayılır. Alörokonidyum ise lizize uğrayan hücre kalıntılarını taşıyan bir tür konidyumdur (Hilmioğlu, 2021).

2.2.3. Virülans Faktörleri

Mantarın konak dokusuna yerleşmesi ve enfeksiyon oluşturmaları için virulas faktörlere gereksinim duymaktadır. *Aspergillus* türlerinde en sık gözlemlenen virulans faktörleri:

Konidyum boyutu: *Aspergillus* konidyumları küçük ölçülere sahip olduğundan konak akciğerine kolaylıkla ulaşabilmektedirler. *A. fumigatus* konidyumları 2-3µm çapına, *A.niger* konidyumları ise 5µm çapına sahiptir. Bu yüzden *A. fumigatus* konidyumları *A. niger*'e göre daha hızlı ve çok fazla germinasyona uğrar (Hilmioğlu, 2021). *A. niger*'in konidyumları 5µm çapında olduğu için düşük virulansa sahip olduğu düşünülmektedir (Kantarcıoğlu ve Yücel, 2014). Enfeksiyon konidyumların solunum yolu ile alınması sonucunda ortaya çıkar. Özellikle de bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde, AIDS hastalarında ciddi klinik tablolara neden olabilmektedirler.

Adezinler ve adezyon: Konidya yüzeyindeki sialik asit ve özellikle de fibrinojen, fibronektin, kollagen, albumin, komplement proteinlerine ve surfaktan proteinlerine yüzeysel olarak bağlarlar (Kantarcıoğlu ve Yücel, 2014).

Sıcaklık toleransı: *A. fumigatus* diğer türlerle karşılaştırıldığında 48-50° C'nin üstünde bile üremesini ve aynı zamanda spor oluşturma özelliğini devam ettirebilmektedir (Topçu vd., 2008).

Pigmentler: Melaninler hidrofobik yapıda, negatif yüklü makromoleküller olup, birçok farklı tipleri vardır. Küflerde ise dihidroksinaftalin (DHN)-melanin ve DOPA-melanin tipi mevcuttur. *A. fumigatus* sporları 1,8-dihidroksinaftalen benzeri melanin içermektedir. DHN-melanin pigmenti *A. fumigatus*'a gri-yeşil bir görünüm vermektedir. Melanin sentezi 6 gen kümesi (pksP, ayg1, arp1, arp1, abr1 ve abr2) tarafından kontrol edilir (Chotirmall et al., 2014). Melanin pigmenti patojeni aşırı ısı derecelerine, enzimatik parçalanmaya, oksidasyona ve ultraviyole ışınlarına karşı koruma özelliğine sahiptir (Çerikçioğlu, 2012).

Siderofor: Bazı *Aspergillus* türleri transferinden demirin ayrılmasını sağlayabilmek için siderofor salgırlar. Fırsatçı patojenin konak dokusunda üreyebilmesi için siderofor biyosentezi önemlidir (Topçu vd., 2008).

Toksik moleküller: *Aspergillus* türleri hifal gelişim sürecinde çok sayıda çeşitli toksik moleküller üretir. *A. fumigatus* tarafından en fazla salgılanan ve çalışmalarda da yoğun olarak kullanılan metabolitlerden biri gliotoksindir. *A. fumigatus*'un diğer türlere kıyasla gliotoksin üretiminin (% 95) daha yüksek olduğu görülmüştür (Shankar, 2013). Gliotoksin immün sistem hücreleri olan B ve T (T helper ve T sitotoksik) hücrelerinin aktivasyonuna baskılayıcı etki göstermektedir (Abacı ve Uztan, 2008). Önemli virülans faktörlerden biri olabileceği düşünülen fitoik asit toksik molekülü de vardır. *A. fumigatus* kökenleri tarafından üretilerek, granülom oluşumuna neden olmaktadır (Kantarcıoğlu ve Yücel, 2014).

A. parasiticus ve *A. flavus* tarafından üretilen mikotoksin olan aflatoksin hayvanlarda ve in-vitro modellerde önemli kanserojendir (Hogan et al., 1996). En sık mısır, pamuk, yer fıstığı gibi yağlı tohumlu ürünlerde görüldüğü rapor edilmektedir (Klich, 2007). Aynı zamanda aflatoksinler insanlar ve hayvanlarda karaciğer kanserine sebep olabilmektedirler (Oruç, 2005)

Enzimler: *Aspergillus* türleri tarafından salgılanan enzimleri serin (Alp), metalo (Mep) ve aspartik (Pep) proteazları içerir (Chotirmal et al, 2014). Patojen *Aspergillus* türlerinin konak dokusunda ilerleyebilmesi ve yayılması için enzimlere gereksinim duymaktadırlar. Hücre membran yapısı protein ve fosfolipidlerle zengin

olduğundan, yıkım işlemi için *A. fumigatus* fosfolipaz ve proteinaz aktivitesine sahip enzimlere ihtiyaç duyar. Hücre dışı enzim aktivite düzeylerinin belirlendiği çalışmalarda genellikle *A. fumigatus* üzerinde durulmaktadır. *A. fumigatus*, *A. flavus* ve *A. niger* türlerini kapsayan bir çalışmada, *A. fumigatus* izolatlarının % 76.7'sinde asit proteinaz; % 93.3'ünde ise fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. *A. niger* izolatlarının % 25'inde fosfolipaz aktivitesi saptandığı halde proteinaz aktivitesi saptanmamıştır (Birinci vd., 2014). *A. fumigatus*'la beraber birçok bakteri, parazit ve mantarda fosfolipaz enzimi virulans faktör olarak görev yapmaktadır. Örneğin: *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Rickettsia spp.* ve *Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii* gibi türlerde bulunmaktadır (Ghannoum, 2000).

Fosfolipaz enzimi hücre membranı yapısında bulunan gliserofosfolipidler arasındaki ester bağlarını yıkmaya özelliğine sahiptir. *A. fumigatus* fosfolipaz aktivitesi yardımıyla doku invazyonunu ve hücre membranının yıkımını gerçekleştirir (Abacı ve Uztan, 2008). Konak dokusuna zarar vererek, mantar hiflerinin sitoplazmaya penetrasyonunu sağlar. "Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry" (FAB-MS) yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmayla *A. fumigatus*'da hücre dışı fosfolipaz enzimi üretebilme özelliği ortaya konulmuştur. Sonuç olarak *A. fumigatus*'un 4 tipte: A, B, C, D fosfolipaz aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Birch et al., 1996). Fosfolipaz C enzim aktivitesi klinik izolatlarda çevresel izolatlarla kıyasla daha çok görülmektedir (Topçu vd., 2008). *A. fumigatus* tarafından sentezlenen fosfolipaz D'nin üretiminden sorumlu olan *pld* gen bölgesinin bozulması sonucunda, tüm hücre içi, hem de hücre dışı PLD aktivitelerinin azaldığı belirlenmiştir (Li et al., 2012). *Aspergillus* türleri hücre dışı enzimler salgılayarak besin ihtiyacını karşılarlar, aynı zamanda konak dokusundaki lipid, protein ve elastin gibi majör bileşenleri parçalayarak ciddi klinik tablolara neden olurlar (Korcan vd., 2007).

Funguslar tarafından 3 temel proteaz olan metalloproteaz, alkalın serin proteaz ve aspartik (asit) proteazlar salgılanmaktadır. Aspartik proteinazlar düşük pH'lı ortamlarda bile aktivitelerini sürdürebilmektedirler. *Aspergillus*'ların salgıladığı aspartik (asit) proteinaz enzimi konak solunum yolunda yer alan epitel hücrelerinin parçalanmasında önemli rol oynar. Aynı zamanda *A. fumigatus* tarafından salgılanan ait proteinaz enzimi elastin, fibronektin ve kollajen gibi bileşenleri parçalayabilme özelliğine sahiptir (Latge, 2001).

Aspergillus türlerinin patojenitesinden sorumlu olan virulans faktörler arasında elastaz enzim aktivitesi (EIA) önemli rol oynamaktadır. Elastin başlıca akciğer, kan damarları, deri, çeşitli doku ve organlara esneklik kazandıran hidrofobik yapıdır (Heinz, 2020). Elastaz enzimi yalnızca *Aspergillus*'lar tarafından değil, *Pseudomonas aeruginosa* gibi önemli pulmoner patojen tarafından da salgılanmaktadır. Ayrıca *A. fumigatus*'un tüm suşları elastaz aktivitesi sayesinde elastini parçalayarak, proteini nitrojen kaynağı olarak kullanma kapasitesine sahip değildir (Alvarez-Pérez et al., 2010). 1992 yılında yapılan bir çalışmada *A. fumigatus*'un çevresel suşlarının hücre dışı elastaz üretebildiği gözlemlenmiştir (Frosco et al., 1992). *Aspergillus*'lar tarafından salgılanan elastaz enzim aktivitesini gözlemlemek için Kothary vd. tarafından geliştirilen katı besiyeri kullanılmaktadır. Elastaz enzim aktivitesine sahip *A. fumigatus* besiyerinde bulunan elastini kullanarak, koloni çevresinde pembe renkli presipitasyon zonu oluşturur. Besiyerinde kullanılan "rose-bengal" boyası oluşan erime zonunu görme imkanı sağlamaktadır. Aynı zamanda bu çalışma *A. fumigatus* tarafından salgılanan elastaz enzimi ile onun patojenitesi arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ilk çalışmadır (Blanco et al., 2002).

2.2.4. Antijenik Özellikler

Galaktomannan antijeni (GM): *Aspergillus* türlerinin birçoğunun hücre duvarında bulunan ve ekzoantijen olarak hücre dışına salgılanabilen bir polisakkarittir (Kantarıcıoğlu ve Yücel, 2005). GM iki monosakkaritten: mannoz ve galaktofuranozdan oluşur (Fontanie and Latge, 2020). *Aspergillus* türlerinin sahip olduğu GM antijenini saptamak için, Lateks aglütinasyon (LA), radyoimmünoassay (RIA) ve enzimimmünoassay (EIA) yöntemleri kullanılmaktadır (Birinci ve Çaycı, 2016). Aynı zamanda GM antijenini saptamak için enzim temelli bir yöntem test sandviç ELISA (Platelia *Aspergillus* ELISA) yöntemi tercih edilmektedir (Aslan vd., 2016).

Beta-glukan antijeni (BG): *Aspergillus* türlerinin yanı sıra *Candida* türleri de başta olacak şekilde bir çok küf ve maya mantar türünün hücre duvarında sıklıkla rsat gelinen antijendir (Birinci ve Çaycı, 2016). BG antijeni deniz ve okyanuslarda yaşayan "horseshoe crab" olarak bilinen canlılar tarafından izole edilen faktör G ile temas ettiğinde, faktör G'nin aktive olmasını sağlayabilme özelliğine sahiptir. BG antijenini saptamak için geliştirilen bir çok testin temeli bu özelliğe dayanmaktadır (Ener, 2013).

2.3. Patogenez

Aspergillus spp. hafif şekilden ciddi klinik tablolara kadar uzanan hastalık spektrumuna sahiptirler. Neden oldukları enfeksiyonlar aspergilloz olarak isimlendirilmektedir. *A. fumigatus* türü genellikle evcil hayvanlarda, kuşlarda, köpeklerde ve aynı zamanda insanlarda aspergilloza sebep olmaktadır. Öte yandan aspergilloz kuşlarda önemli ölüm sebeplerinden biridir (Tell, 2005). *Aspergillus* konidyumları solunum yollarına tutunarak hastalık oluştururlar. Konidyum boyutu önemli olup, *A. fumigatus*'un sahip olduğu çok küçük ölçülü konidyumlar kolaylıkla akciğerlere kadar ulaşarak ciddi enfeksiyonlara neden olurlar. *A. flavus*'un konidyumları ise genelde üst solunum yollarında sinüzite neden olmaktadır (Ayberkin ve Çiftçi, 2009). Konak akciğerinde konidyumun ilk karşılaştığı immünolojik savunma sistemi makrofajlardır. Bununla birlikte, diğer bağışıklık hücreleri geriye hayatta kalan *A. fumigatus* sporlarını ve hiflerini ortadan kaldırmak için uyarılır. *Aspergillus* enfeksiyonlarına karşı duyarlılığın makrofaj ve nötrofillerin sayısının azaldığı durumlarda veya fonksiyonun bozulduğu durumlarda arttığı görülmüştür (Heinz, 2020). *A.fumigatus* enfeksiyonunun neden olduğu hastalıklar şunlardır: alerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA), aspergilloma, kronik nekrotizan akciğer aspergillozu, alerjik hastalıklar ve lokal enfeksiyonlar (Gu et al., 2021).

2.4. Epidemiyoloji

Aspergillus türleri tüm dünyada yaygın olup, çürüyen bitki kalıntılarında, aynı zamanda süs bitkilerinde, havada, toprakta, dünyanın her yerinde bulunurlar. Ev, hastane, hastaneye yakın inşaat çalışmalarının bulunduğu ortamlarda havada en sık karşılaşılan mantar türüdür (Murray et al., 2009). Hastane ortamında *Aspergillus* sporlarının bulunması önemli epidemiyolojik bulgudur.

Genellikle *Aspergillus* türleri içerisinde *A. fumigatus* en yaygın tür olarak bilinmektedir. Türlerin yaygınlığı son 10 yılda değişmiştir. *A. fumigatus* önceden enfeksiyonların % 90'dan sorumluyken, son çalışmalarda % 60'dan sorumlu olduğu belirlenmiş ve bunu sırasıyla *A. flavus*, *A. niger* ve *A. terreus*'un izlediği gösterilmiştir (Bandres, 2021).

Kemik iliği nakli yapılan, bağışıklık sistemi baskılanmış ve kortikosteroid tedavisi alan kişilerde *Aspergillus* türlerinin solunum yollarında enfeksiyona neden

olduğu belirlenmiştir (Fridkin and Jarvis, 1996). Aspergilloz ise en sık hematopoietik kök hücre nakli alıcılarında en yaygın mantar enfeksiyonu olmayı devam ettirmektedir (Rudramurthy et al., 2019). İA yüksek mortalite, morbedite seviyesine göre en ciddi invaziv enfeksiyonlardan biridir (Wang et al., 2022). Enfeksiyonun önemli belirleyicilerinden biri konağın mantar ile temas yoğunluğu değil hastanın bağışıklık durumudur.

2.5. *Aspergillus* Türlerinin Klinik Önemi

Aspergillus türlerinin sebep olduğu klinik tablolar 3 ana gruba: invaziv sendromlara, invaziv olmayan sendromlara ve allerjik klinik tablolara ayrılabilir.

2.5.1. İnvaziv Sendromlar

İnvaziv Aspergilloz (İA): Aspergillozun sık rastlanan ve en ciddi formu İA olup, bağışıklık sistemi baskılanmış, organ nakli yapılmış, nötropenik hastalarda ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Hastalık akciğerlerde tutulum yapar ve beyine, göğüs duvarına, diyafragma, mideye, karaciğere ve diğer organlara yayılır (Aktürk vd., 2007). Beyine ve akciğere yayılım AIDS’li hastalarda ölümle sonuçlanabilir (Topçu vd., 2008).

İA teşhisi konulmuş kişilerde enfeksiyon beyin, deri, akciğer gibi organlara yayılırsa bunlarla ilgili septomlar ortaya çıkar. Septomlar konağa bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Alan, 2009).

İnvaziv Pulmoner Aspergilloz (İPA): İA’da olduğu gibi bağışıklık sistemi baskılanmış, uzun süreli nötropeni, kök hücre nakli, özellikle de akciğer nakli yapılmış kişilerde ciddi sorunlara yol açar (Naaraayan et al., 2015). Nötropeni ve buna bağlı olarak kullanılan antibiyotikler önemli risk faktörleridir (Somer, 2009). Genellikle *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* ve *A. terreus* türlerinden biri invaziv pulmoner aspergilloza sebep olmaktadır (Naaraayan et al., 2015). Hematopoetik kök hücre transplantasyonunun 10-21. günlerinde invaziv pulmoner aspergilloz görüldüğü halde, artık nötropenik olmayan dönemlerde de invaziv pulmoner aspergilloz görülmektedir.

Sinüzit: Sinüzit bağışıklık sistemi baskılanmış ve aynı zamanda normal kişilerde görülebilir. En sık görülen etkenler *A. fumigatus* ve *A. flavus* olup, çoğunlukla kemik iliği nakli yapılan hastalarda görülmektedir (Aktürk vd., 2007). Başlıca belirtileri öksürük, baş ağrısı, ateş ve burun kanamasıdır (İnci vd., 2009).

Göz enfeksiyonları: *Aspergillus* türlerinin oluşturduğu fırsatçı enfeksiyonlardan biri de görme kaybına neden olabilecek fungal keratitlerdir. Fungal patojenle birlikte, oküler travmalar, antibiyotik kullanımı ve baskılanmış bağışıklık sistemi keratit olgusu için önemli faktörlerdir. Aynı zamanda *Aspergillus* türlerinin sahip olduğu fosfolipaz ve proteinaz enzimleri konak dokusunun bütünlüğünün bozulmasında önemli role sahiptir (Altınbaş vd., 2018).

Deri ve yara enfeksiyonları: *Aspergillus* türlerinin neden olduğu deri enfeksiyonları birincil ve ikincil olabilir. Zayıflamış veya hasar görmüş cildi, havada bulunan *Aspergillus* sporları enfekte ederek primer kutanöz aspergilloza neden olabilmektedir. Sekonder kutanöz aspergillozda ise mantar sporları önce yumuşak dokulara entegre olur ve hematojen yayılım yolu yardımıyla deriye kadar ulaşır (Kusari et al., 2018).

2.5.2. İnvaziv Olmayan Sendromlar

Aspergilloma: Aspergilloma veya mantar topu olarak da isimlendirilen, fibrin ve iltihabi hücrelerden oluşan bir kitledir (Dübüş ve Paşaoğlu, 2010). Tüberküloz, histoplazmozis, bronkojenik kist ve kronik akciğer apsesi gibi bir çok ciddi klinik tablolarda aspergilloma görülmektedir (Şanlı vd., 2005). Özellikle de tüberküloz kavitelerinde aspergillomanın yerleşmesi en çok rastlanan durumlardan biridir (Kutlay vd., 2000).

Otomikoz: Tropikal ve subtropikal bölgelerde sık karşılaşılan ve aynı zamanda tüm dünyada da yaygın olarak görülen enfeksiyonlardır. *Aspergillus* türleri içerisinde en sık enfeksiyon etkeni olan tür *A. niger*'dir (Çetinkol vd., 2015). İkinci sıklıkta ise en sık enfeksiyon etkeni olan tür *A. fumigatus*'dur (Ayberkin ve Çiftçi, 2009). Kulakta kaşıntı, yangısal sızıntı, ağrı başlıca semptomlardandır (Değerli vd., 2002).

2.5.3. Aşırı Duyarlılık Sendromları

Allerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA): *A.fumigatus* ABPA için yaygın etkindir. *A. fumigatus* konidyumlarının boyutu 2-3µm olduğundan, pulmoner alveollere kolayca ulaşır ve uzun süre orada kalarak hastalıklara neden olurlar. ABPA immün sistemi baskılanmış, atopik kişilerde, kistik fibrozlu hastalarda ve aynı zamanda çocuklarda görülebilen sendromdur (Cagigal et al., 2014). Hastalarda genellikle öksürük, hırıltılı solunum ve hemoptizi belirtileri görülmektedir. Diğer

semptomlar arasında ise ateş, kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluk bulunur (Jack and Bajaj, 2022).

Allerjik sinüzit: Hastalığın en sık etkeni *Aspergillus* türleri olup, genellikle immünsupresif kişilerde gözlemlenmektedir (Arıcı vd., 2015). Paranasal sinüslerde baş ağrısı, burun tıkanıklığı, yüz ve göz çevresi etrafında ağrı, ateş sık karşılaşılan belirtilerdendir (Cagigal et al., 2014).

2.6. Tanı Yöntemleri

Örneklerin Toplanması

Tanı için alınacak örneğin hastalığın yerine bağlı olarak değişik bölgelerden alınması gerekir. Doku biyopsisi, steril boşluk sıvıları, solunum yolu örnekleri olan BAL, balgam, trakeal aspirat ve akciğer biyopsisi, aynı zamanda BOS, idrar ve kan örnekleri kullanılmaktadır (Murray et al., 2009).

İnvazif aspergilloz tanısında en çok tercih edilen örnekler akciğer biyopsisi ve steril boşluklardan alınan örneklerdir (Kradin and Mark, 2008). Fakat hastaların çoğunda komplikasyon riski göz önünde bulundurularak tanı için dokulardan biyopsi yapılamamaktadır. Bundan dolayı mikrobiyolojik inceleme için steril olmayan balgam, BAL gibi örnekler tercih edilmektedir.

Alınmış örneklerin sıcak veya soğuktan etkilenmemesi için 2 saat içinde ve oda sıcaklığında laboratuvara ulaştırılmalıdır. Göz örneklerinde ise direkt hasta başında ekim yapılmalı, yapılamadığı takdirde 15 dk içerisinde laboratuvara ulaştırılması gerekmektedir.

GM ve BG gibi antijenleri ile yapılacak moleküler yöntemler için kullanılacak örnekler 72 saat içerisinde çalışılacaksa +4°C’de, uzun süre bekletilecekse -20°C’de muhafaza edilmelidir. Örneklerin saklama koşulları yalnız negatifliğe neden olabilmektedir (Birinci ve Çaycı, 2016).

2.6.1. Direkt Tanı Yöntemleri

Direkt Mikroskopik İnceleme

Aspergilloz tanısında mikroskopik inceleme hızlı ön tanıyı sağlayabilmektedir. Kültür sonucu ile birlikte değerlendirildiği zaman tanının desteklenmesinde yardımcı olur. Sıvı örnekler direkt, diğer örnekler ise %10-20 potasyum hidroksit (KOH) ile

incelenir. KOH örneğın hücre ve doku artıklarından arındırılmasını sağlayarak mantar elemanlarının daha iyi görünmesine olanak sağlar. Keratinize dokunun yapısına göre kullanılan KOH'ın yüzdesi arttırılmaktadır. Aynı zamanda mantar elemanlarının daha net görünmesini sağlayabilmek için boyama yöntemi tercih edilmektedir. Laktofenol pamuk mavisi boyası küf yapılarını koruyarak, mantar yapılarının mavi renkte boyayarak, mikroskopik incelemede daha iyi bir görünüm sağlamaktadır. Kalkoflor beyazı ise floresan bir boya olup, mantar hücre duvarını boyar. Bu boyama yöntemi ile boyanmış örneklerin incelenmesi için floresan mikroskobu gerekmektedir. Direkt mikroskopik incelemede *Aspergillus* türleri bölmeli, 3-6 µm eninde ve dar açılı ile (45°) dallanan hifler şeklinde görünür. Direkt mikroskopi sonucunda bol septalı ve dar açılı dallanmanın görüldüğü durumlarda *Aspergillus spp* tanısı düşünölmeli ama bir çok hiyalen küflerin de aynı görünüme sahip olduğı unutulmamalıdır (Guarner and Brandt, 2011). Direkt mikroskopi mantar enfeksiyonlarının değeriendirilmesinde, kontaminasyon ve etken ayırımın yapılmasında önemli yere sahip ve değeriini korumakta olan tanı yöntemlerinden biridir (Gölmez ve Alp, 2021).

A. terreus doku invazyonu sırasında hifleri boyunca alorakonidyum oluşturan tek tür olduğı için, bu özelliğı tanımlamada önemlidir (Hilmioğlu, 2021).

Direkt mikroskopik inceleme kolay ve hızlı olduğı kadar duyarlılığı düşük bir yöntemdir. Buna karşın, mantar elemanlarının incelenmesi ile elde edilen sonuçlar, kültür yorumlanmasında önemli bir katkı sağlamaktadır (Markantonatou et al., 2019).

Laktofenol Pamuk Mavisi ile Boyama

Küf tarzında üreyen mantarların spor ve hif yapılarının tanımlanmasında kullanılır. Laktofenol pamuk mavisi, hem boya hem de sıvı ortam olarak kullanılmaktadır. Boyanın içeriğinde yer alan laktik asit temizleyici ajan görevi görür ve küf yapılarının korunmasında yardımcı olur. Fenol dezenfektan görevini görür. Preparatın kurumasını gliserol önlerken, küf yapılarına renk vererek daha iyi görünmesini pamuk mavisi sağlar (Hilmioğlu, 2021).

Kalkoflor Beyazı ile Boyama

Kalkoflor beyazı ile boyama yöntemi küf elemanlarının hızlı saptanması amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Boya mantar hücre duvarında bulunan kitin ve

selülozdaki beta polisakkaritlere bağlanarak, ultraviyole ışıktta floresan vermektedir (Gülmez ve Alp, 2021).

Boyama sonrası inceleme için floresan mikroskobu gerekmektedir. Boya içerisine eklenen temizleme ajanı görevini gören KOH mantara ait yapıların daha iyi görünmesini sağlamaktadır (Gülmez ve Alp, 2021).

Kültür

Aspergillozun kesin tanısında kullanılan kültür yöntemi altın standart yöntem olarak bilinmektedir. Diğer mantarlar gibi *Aspergillus* türleri de çeşitli pigment üretir. Bu pigmentler konidya (aseksüel) ve askosporlar (seksüel) gibi üreme sporlarında bulunur. Çoğu zaman bu pigmentler türleri ayırt etmek için kullanılır (Chang et al., 2020). Rutin klinik laboratuvarında Sabouraud dekstroz agar (SDA) ve Patates dekstroz agar (PDA) plaklarına ekim yapılmaktadır. SDA plaklarına ekimi yapılan mantarların konidyum üretimini ve pigment üretimini arttırmak için PDA plaklarına ekim yapılır (Atalay vd., 2014). *A. fumigatus* kolonileri kadifemsi yapıya sahip olup, rengi dumanlı koyu yeşil renge görünür. *A. flavus* sarıdan yeşile değişen, *A.niger* kolonileri ise koyu kahverenginden siyaha değişen renge sahiptirler. *A.terreus* kolonileri kadifemsi yapıda olup, tarçın renge görünmektedir. *Aspergillus* türlerinin koloni ve mikroskopik özelliklerini incelemek için Czapek-Dox, %20-30 glukoz içeren Czapek-Dox ve % 2'lik malt ekstrakt agara pasaj yapılması önerilmektedir. *Aspergillus* türleri normal oda sıcaklığında, 3-5 günde üreyebilme özelliğine sahiptir. *A. nidulans* ve *Aspergillus glaucus* türleri ise daha yavaş ürerler. *A. fumigatus* termotoleran bir mantar olup, 40° C'nin üzerindeki sıcaklıklarda iyi ürer. Türlerin sahip olduğu üreme hızındaki farklılıklar onların tanımlanmasında yardımcı role sahiptir.

Kültür yöntemi için BAL, doku biyopsisi, BOS, balgam ve kan, idrar, yara gibi bir çok örnek kullanılabilir. Balgam gibi steril olmayan bir örnek kullanıldığı zaman, ardışık olarak balgam örneklerinde aynı etkenin üremesine bakılır ve ürediği zaman enfeksiyon desteklenebilir. İdrar ve yara gibi örneklerin kültürlerinde üreme olması kesin tanı için yeterli olmamakla birlikte, enfeksiyonun tespit edilebilmesi için direkt mikroskopik inceleme gerekmektedir. Kan kültürlerinde *Aspergillus* üremesi çoğu zaman yalancı fungemiye işaret eder. Ancak bazı durumlarda invazif aspergilloz kan kültürlerinde üreme saptanabilmektedir. *A. terreus*'un gerçek fungemiye neden olduğu gösterilmiştir (Hilmioğlu, 2021).

A. terreus'un oluşturduğu alorakonidyumların doku kesitlerinde görülmesi hızlı ön tanı sağlayabilmektedir.

Moleküler Yöntemler

Aspergillus enfeksiyonlarında kullanılan moleküler yöntemler doğrudan hasta örneği ya da kültür ortamından gerçekleştirilebilir (Susever ve Yeğenoğlu, 2011). Mantar gen dizilerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amplifikasyonu hızlı tanıda kullanılmaktadır. Nükleik asitlerin in vitro çoğaltılmasına dayalı yöntem olup, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek yöntemdir. Enfeksiyon bölgesinden alınmış doku, BAL, BOS gibi birçok örnekler PZR yöntemiyle çalışılabilmektedir (Azap, 2019).

PZR yönteminde hedef primer gen bölgeleri olarak rRNA, 28S subünit, ITS bölgeleri kullanılmaktadır (Koç, 2007). Genellikle ITS bölgesi diğerlerinden daha ayırt edici olduğu için bu bölgenin sekansı sonucunda tür kompleksi düzeyinde ayırım yapılabilmektedir. Lakin kompleks içinde yer alan türlerin aynı yöntem ve gen bölgesi ile ayırımı yapılamamaktadır (Hilmioğlu, 2021). Çalışmalarda ismi geçen hedef gen bölgeleri ile birlikte β -tubulin ve mitokondriyal sitokrom gen bölgeleri de sıklıkla kullanılmaktadır (Koç, 2007). Sekansa dayanmayan amplifikasyon ve sonrası ürün berirlmek için nested PCR, multiplex PCR ve real-time PCR (gerçek zamanlı PCR) kullanılmaktadır. PZR yöntemi çok hassas yöntem olduğundan, havadaki konidyumlar tarafından kontaminasyon riski yüksek olup, *Aspergillus* varlığı nedeniyle aspergilloz olmayan koşullarda pozitif sonuç elde edilebilir (İmbert et al., 2018). Real-time PCR yöntemi ise kısa sürede sonuç vermesi yanı sıra kontaminasyon riski oldukça düşüktür. Aynı zamanda probun tanımlanması sonucunda tür ve cins düzeyinde tanıda rol oynar, hedef DNA'nın sayını vererek ise tedavide yardımcı olmaktadır (Koç, 2007).

Otomatize Sistemler

MALDI-TOF MS Yöntemi

Kimyasal spektroskopik ve kütle analiz yöntemleri mikolojide mantarların tanımlanmasında son yıllarda tercih edilmektedir (Bilgi ve Kiraz, 2019). MALDI-TOF MS yöntemi mantar türlerine özgü parmak izi (fingerprint) olarak kabul edilen bir protein profili üretir. Bu teknikte veri tabanında yer alan referans spektrumlarla

görüntülenen spekturum karşılaştırarak tür ve cins bazında tanımlama yapılmaktadır (Normand et al., 2022).

Alanio vd 2011 yılında yaptıkları çalışmaya 140 *Aspergillus* türünü dahil etmişler. Kullandıkları MALDI-TOF MS yöntemiyle 138 tür (%98,6) izolat doğru şekilde tanımlandığı halde geriye kalan 2 izolatın tanımlanması yapılamamıştır. Tanımlanma yapılamamasına rağmen yanlış tanımlanan izolatın olmadığı sonucuna gelinmiştir. Yanlış tanımlanan izolat olmadığı için, kullanılan yöntemin özgüllüğünün %100 olduğu yorumu yapılmıştır (Alanio et al., 2011).

2014 yılında Verwer vd yaptığı bir çalışmada morfolojik olarak birbirine benzer olan *A. fumigatus* ve *A. lentulus* izolatlarının MALDI-TOF MS (VITEK MS RUO, bioMérieux) yöntemiyle ayrımı yapılması amaçlanmıştır. Çalışmaya toplam 16 *A. fumigatus* ve 16 *A. lentulus* izolatı dahil edilmiştir. İzolatların % 100 oranında doğru tanımlandığı yorumunu yapmışlar. Bu yöntemle tanımlanma yaklaşık 54 saat sürmüş ve *Aspergillus* türlerinin teşhisinde başarılı bir yöntem olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir (Verwer et al., 2014).

2019 yılında MALDI-TOF MS sisteminde güncel IVD VITEK MS V.2.0 yazılımı kullanılarak 48 köken çalışıldı. 48 kökenden 39'u (%81.2) tanımlanırken, 9'u (%18.8) tanımlanamamıştır. Doğru tanımlanmış 39 örneğin sonucu DNA dizi analizi ile karşılaştırılmış ve 2 köken uyumsuz şekilde, yani yanlış tanımlandığı görülmüştür. Sonuçta VITEK MS V.2.0 yazılımı kullanılarak toplam 37 kökenin doğru tanımlandığı belirtilmiştir (Bilgi ve Kiraz, 2019).

2.6.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

Aspergilloz enfeksiyonlarının tanısında konavsiyonel yöntemlerin yanı sıra mantar antijenlerinin tespit edilebilmesi için serolojik testler kullanılmaktadır. Kullanılan serolojik testler *Aspergillus* türlerinin sahip olduğu GM ve BG antijenlerine yönelik testlerdir.

Galaktomannan Antijen Testi

Galaktomannan antijeni mantar hücre duvarında bulunan majör bir bileşen olup, *Aspergillus* hiflerinin dokuda uzaması sırasında kana salınır.

GM antijenin saptanması için 2003 yılında Food and Drug Administration (FDA) tarafından İA tanısında kullanılmak üzere onay almış sandwich ELISA

prensibiyle çalışan bir kit kullanılmaktadır (Platelia *Aspergillus* EIA; Bio-Rad Laboratories). GM ELISA yönteminde sınır değer olarak 0,5 ng/ml GM indeksi kabul edilmektedir (Markantonatou et al., 2019). Yüksek risk grubunda yer alan akciğer nakil alıcılarının, çocuk hastaların ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) olan kişilerin haftada iki kez olacak şekilde, serum örneklerinden GM antijen tarama testinin yapılması kesin tanıya katkı sağladığı düşünülmektedir (Gülmez ve Alp, 2021).

Sıvı örneklerden özellikle de BAL örneklerinde GM antijeninin saptanması İA tanısı için, kültür yönteminden daha duyarlıdır (Ullmann et al., 2018).

Ayrıca BAL örneğinde GM saptanması serum örneğinde saptanmasından daha duyarlıdır, ancak özgüllüğünün daha düşük olduğu kabul edilmektedir (Gülmez ve Alp, 2021; Hilmioğlu, 2021). BOS örneklerinden de GM antijeni saptanması yapılabilir, ancak pozitif sonuç için sınır değeri belirlenmiş değildir (Azap, 2019). Galaktomannan antijen testi yapılacak örneklerin saklama koşulları da dikkat edilmesi gereken konulardan biridir. Çünkü örneklerin uzun süre saklanması sonucunda yanlış negatifliğe neden olabileceği bildirilmiştir (Birinci ve Çaycı, 2016).

Beta-laktam antibiyotik kullanımı, trombosit transfüzyonları, diğer invaziv mantar enfeksiyonları (Histoplazmozis, Pencillium) GM testinde yalancı pozitifliğe neden olabilmektedir. Yalancı negatifliğe en çok yol açan sebep ise tedavi veya profilaksi amaçlı yanlış antifungal kullanımıdır (Azap, 2019).

Beta-Glukan antijen Testi

(1-3)- β -D-glukan (BDG) mantar hücre duvarında bulunan bileşen olup, bakterilerde bulunmaz. Aynı zamanda suda ve alkali çözeltilerde kolayca çözünemeyen bir maddedir (Ishibashi et al., 2004). BDG *Mucorales* ve *Cryptococcus* türlerinin hücre duvarında bulunmaktıkları için mukormikoz ve kriptokokkoz dışındaki bütün invazif mantar enfeksiyonlarında serum örneklerinde saptanabilen biyolojik belirteç olarak bilinmektedir (Azap, 2019; Hilmioğlu, 2021).

BDG antijenine dayalı ilk kit Japonya tarafından geliştirilen Fungitec-G (Wako Pure Chemical Industries, Tokyo) beta glukan testi olup, daha sonra ABD tarafından ikinci bir kit olan Fungitell (Fungitell assay; Cape-Cod Inc, ABD) geliştirilmiştir. Her iki kitin çalışma prensibi benzer olup kinetik okuma spektrofotometrik yöntemine dayalı olarak çalışmaktadır (Ener, 2013). GM testinde olduğu gibi hasta tanısının

desteklenmesi amacıyla haftada iki kez olacak şekilde örneklerin çalışılması kabul edilmiştir.

Bakteriyel enfeksiyonlar, albumin yüksekliği, immün globulin preparatları, selüloz hemodiyaliz membranları ve beta-laktam antibiyotik kullanımı gibi sebepler yalancı pozitifliye neden olabilmektedir. Yalancı negatifliye ise tedavi ve profilaksi amacıyla kullanılan antibiyotikler yol açabilmektedir. BDG testinin en önemli dezavantajlarından birisi antijenin bir çok mantar hücre duvarında bulunmasından dolayı hastalığın hangi etkenden kaynaklandığı hakkında kesin bilginin sağlanamamasıdır (Azap, 2019).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. *Aspergillus fumigatus* Suşları

Çalışmamız “Klinik ve Çevresel örneklerden izole edilmiş *Aspergillus fumigatus* Suşlarında Virulans Faktörlerin Araştırılması” başlığı ile Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 12.01.2022 tarihinde, 642 nolu karar ile onaylandı. Çalışmaya Eylül-2019 ile Aralık-2021 tarihleri arasında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı’nda klinik örneklerden izole edilmiş 37 *A.fumigatus* suşu ve Prof. Dr. Beyza Ener (Uludağ üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)’den alınan çevresel örneklerden izole edilmiş 33 *A. fumigatus* suşu dahil edilmiştir.

3.2. Suşların Üretilmesi

Suşların saklandığı -40°C derin dondurucudan çıkarıldıktan sonra çözünülmesi için bekletilmiş ve düzey II biyogüvenlik kabininde klinik ve çevresel suşların tüpte SDA besiyerine pasajları yapılarak, 37°C’de 5 günlük inkübasyona bırakılmıştır.

3.3. İnokulum Hazırlığı

Tüpte SDA besiyerinde üreyen *A. fumigatus* kolonileri üzerine pipet vasıtasıyla 1 ml steril serum fizyolojik (SF) eklenerek öze yardımıyla koloniler dağılmayacak şekilde hafif darbelerle toplanmıştır. Süspansiyon haline gelmiş konidyumlar pipet yardımıyla başka steril tüplere aktarılmış ve ağır partiküllerin çökmesi için 5 dakika beklenmiştir. Ağır partiküller çöktükten sonra yüzeyde kalan süspansiyon yeniden steril tüplere aktarılmış ve üzerine SF eklenmiştir. Üzerine SF eklenmiş tüpler 15-20 saniye vortekslenmiş ve bulanıklığı McFarland 0.5’e göre ayarlanmış süspansiyonlar hazırlanmıştır (Smith et al., 2015).

3.4. Asit Proteinaz Aktivitesinin Araştırılması

Asit Proteinaz aktivitesinin araştırılması için sığır serum albumin agarı kullanılmıştır. Besiyerinin içeriğini temel besiyeri ve protein çözeltisi oluşturmaktadır.

Sığır serum albumin agar

Temel besiyeri:

- Glukoz	9.6 gr
- KH ₂ PO ₄	0.48 gr
- MgSO ₄ 7H ₂ O	0.24 gr
- Agar	9.6 gr
- Distille su	480 ml

Sığır serum albumin çözeltisi:

-Sığır serum albumin	1.2 gr
-Distille su	120 ml

Karışım hazırlandıktan sonra 121°C’de 15 dakika otoklavda sterile edilmiştir. Protein çözeltisi hazırlanarak pH 4.5-5 olarak ayarlanmış ve 50°C ’ye ayarlanmış su banyosunda bekletilmiştir. 0,45 µm’lik membran filtreden geçirilerek sterile edilmiş sığır serum albumin çözeltisi 50°C’ye kadar soğutulmuş temel besiyeri ile karıştırılmıştır. Hazırlanan sığır serum albumin besiyeri 150 mm çapında steril plastik petrilere dökülmüştür.

Hazırlanmış sığır serum albumin plaklarının ortasına 6 mm çapında kağıt diskler konulmuştur. Her bir kağıt disk üzerinde *A. fumigatus* inokulumlarından 10 µl damlatılmış ve 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 10-15 gün boyunca üremiş kolonilerin çevresinde şeffaf zon oluşumu izlenmiştir. Şeffaf zonun gözlemlenmediği durumda suşun asit proteinaz aktivitesine sahip olmadığı kanısına varılmıştır.

Sonuçlar kontrol suşlarla birlikte değerlendirilmiştir. Sonuçların güvenilirliği açısından deneyler her suş için iki kez olacak şekilde tekrarlanmıştır. Asit Proteinaz aktivitesi pozitif olarak bilinen *Candida albicans* ATCC 10231 suşu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.5. Fosfolipaz Aktivitesinin Araştırılması

Aspergillus türlerinin fosfolipaz aktivitesinin araştırılması için yumurta sarılı besiyeri kullanılmaktadır. Yumurta sarılı besiyeri temel besiyerinden, yumurta sarısından ve çözeltiden oluşmaktadır.

Yumurta sarılı besiyeri

Temel besiyeri:

- SDA 21 gr
- NaCl 18.9 gr
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.18 gr
- Distille su 300 ml

Tampon çözelti:

- Sitrik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 6.3 gr
- Disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 10.68 gr
- Distille su 300 ml

Temel besiyeri hazırlandıktan sonra 121°C’de 15 dakika olacak şekilde otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıkarılan besiyerinin 50° C’ye kadar soğutulması için su banyosuna bırakılmış ve yumurta sarısı hazırlanmıştır.

Besiyerine eklenecek yumurtalar steril gazlı bez yardımıyla sterile edilmiştir. Daha sonra steril koşullarda kırılarak içerisinde boncuklar bulunan balon jöjeye sarıları ayrılmıştır. Üzerine eşit miktarda SF eklenerek iyice karıştırılmıştır. Yumurta sarıları steril tüpe aktarılarak 500 g’de 10 dakika olacak şekilde santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası üst kısımdan alınan 30 ml süpernatant, temel besiyeri ve eşit miktarda tampon çözelti karıştırılmış, pH 4.2-4.3 olarak ayarlanarak yumurta sarılı besiyeri hazırlanmıştır. Hazırlanmış besiyeri 150 mm çapında steril plastik petrilere dökülmüştür.

Hazırlanmış yumurta sarılı besiyerinin ortasına 6 mm çapında kağıt diskler konulmuştur. Her bir kağıt disk üzerinde *A. fumigatus* inokulumlarından 10 µl damlatılmış ve 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 10-15 gün boyunca üremiş kolonilerin çevresinde belirgin halka şeklindeki presipitasyon zonunun varlığı izlenmiştir. Presipitasyon zonunun gözlemlenmediği durumda suşun fosfolipaz aktivitesine sahip olmadığı kanısına varılmıştır.

Sonuçlar kontrol suşlarla birlikte değerlendirilmiştir. Sonuçların güvenilirliği açısından deneyler her suş için iki kez olacak şekilde tekrarlanmıştır. Fosfolipaz aktivitesi pozitif olarak bilinen standart *Candida albicans* ATCC 90028 suşu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.6. Elastaz Aktivitesinin Araştırılması

Elastaz aktivitesinin araştırılması için rose-bengal elastin içeren besiyeri kullanılmaktadır. Besiyeri borik asit içeren çözelti ve temel besiyerinden oluşmaktadır.

Rose-bengal elastin besiyeri

Temel besiyeri:

- Elastin 0.25 gr
- Yeast Carbon Base 0.25 gr
- Rose bengal 0.05 gr
- Agar 7.5 gr

Tampon çözelti:

- Borik asit 1.545 gr
- Distille su 500 ml

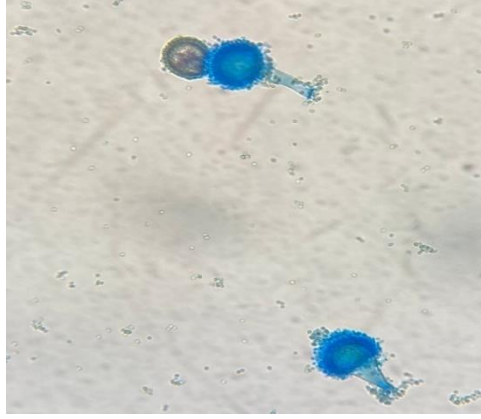
Çözelti hazırlandıktan sonra pH 7.6'ya ayarlanmış ve temel besiyeri eklenerek 121°C'de 15 dakika olacak şekilde otoklavlanmıştır. Sterilize edilen besiyeri 50°C'ye soğutulmuş ve çapı 150 mm olan steril plastik petrilere dökülmüştür.

Hazırlanmış rose-bengal elastin agar plaklarının ortasına 6 mm çapında kağıt diskler konulmuştur. Her bir kağıt disk üzerinde *A. fumigatus* inokulumlarından 10 µl damlatılmış ve 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 10-15 gün boyunca üremiş koloniler incelenmiştir. Besiyerinde rose-bengal ile birleşmiş halde bulunan elastinin *A. fumigatus* tarafından lizisi sonucunda koloni altında ve çevresinde berrak, açık pembe renkli, granüler görünümün yok olduğu presipitasyon zonları gözlemlenmiştir.

Sonuçların güvenilirliği açısından deneyler her suş için iki kez olacak şekilde tekrarlanmıştır. Elastaz enzim aktivitesinin saptanması amacıyla çevresel *A. fumigatus* suşunun tekrarlanan testler sonucunda pozitif olduğu saptanmış ve çalışmaya dahil edilen diğer *A. fumigatus* suşları için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda elastaz enzim aktivitesine sahip olmadığı tespit edilen bir *A. fumigatus* suşu ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.7. Üreyen Kolonilerin Cins ve Tür Düzeyinde Değerlendirilmesi

Plak yöntemi ile enzim aktivite tespiti yapılan *A. fumigatus* suşlarının konvansiyonel yöntemlerle incelemesi yapılmıştır. İnceleme sonucunda çalışma için seçilen *A. fumigatus* türü dışında başka *Aspergillus* türü veya kontaminasyon sonucunda meydana çıkan başka küf mantarına rastlanmamıştır.



Şekil 3. 1. *Aspergillus fumigatus*'un mikroskopik görünümü

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Aspergillus türleri toprakta bulunan ve çürüyen bitki örtüsü üzerinde gelişen, karbon ve nitrojen geri dönüşümünde önemli rollere sahip saprotrofik mantarlardır. Bağışıklığı baskılanmış kişilerde yaşamı tehdit ederler ve ciddi klinik tablolara neden olurlar. *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus* ve *A. nidulans* enfeksiyonların önemli etkenleri olarak bilinmektedir. Lakin, *A. fumigatus* enfeksiyonların %90'ından fazlasından sorumludur ve bunu sırasıyla *A. flavus*, *A. niger* takip etmektedir (Paulussen et al., 2017).

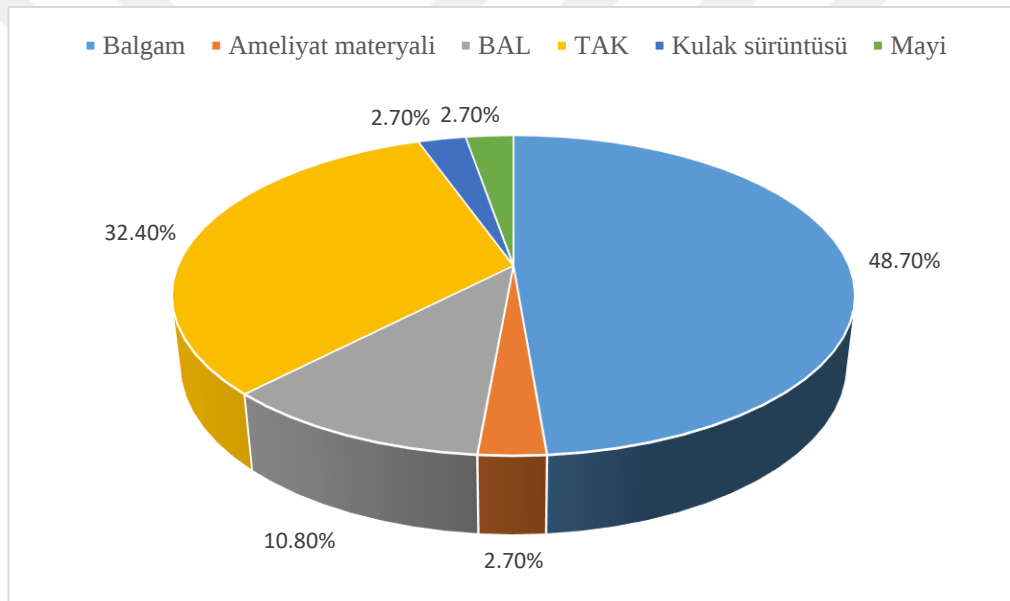
Konidyumların yüzeyinde bulunan rodlet proteinleri sayesinde hidrofobik özelliğe sahiptirler. Hidrofobik olmaları nedeniyle çevrede etkili bir şekilde yayılabilmektedirler (Veerdonk et al., 2017). *Aspergillus* türlerinin hastalık oluşturmada konidyum çapı ve solunumu önemli role sahiptir. İnsanların her gün 100-1000 konidyum soluduğu tahmin edilmekte ve bu konidyumların 2-3 µm gibi küçük boyutlara sahip olmaları onların kolaylıkla akciğer alveollerine ulaşabilmesini sağladığı bilinmektedir (Paulussen et al., 2017). Hava yoluyla solunmuş konidyumlar epitel hücrelerinin üzerinde bulunan kiprikler yardımıyla tutulur ve alveolar makrofajlar tarafından fagosite edilerek etkisiz hale getirilir. Solunan küçük boyutlu konidyumlar ise alveolar makrofajlardan kaçarak akciğer alveollerine gider ve burada çimlenerek enfeksiyonlara neden olacak hifleri oluştururlar. *Aspergillus* türlerinin büyümesi için 37° C insan vücut sıcaklığı ideal olup, 4-6 saat içinde konidyumlar çimlenerek hiflere dönüşebilmektedirler. Akciğerde konidyumların çimlenmesi sonucunda *Aspergillus* hifleri akciğer parenkimini istila ederek iskemik nekroza kadar uzayabilen ciddi klinik tabloya neden olurlar (Latge, 2019; Veerdonk et al., 2017).

A. fumigatus'un sahip olduğu virulans faktörlerden biri sahip oldukları enzim aktiviteleridir. Serin ve sistein proteazlar konağın epitel dokularını bozar. Akciğer dokusunun kolonizasyonundan asit proteinaz enzimi sorumludur (Birinci vd., 2014). Elastaz enzimi ise *A. fumigatus*'un epitelyuma nüfuz etmesine ve buradan da kan dolaşımına girmesini sağlamaktadır (Strickland and Shi, 2021). Fosfolipaz aktivitesi sayesinde ise fosfolipidleri hidrolize edebilmektedirler (Zohri et al., 2017). *A. fumigatus* A, B, C, D olarak isimlendirilen 4 tipte fosfolipaz enzim aktivitesine sahiptir (Birch et al., 1996). Yapılan bir araştırmada fosfolipaz C enziminin çevresel

suşlardan ziyade klinik *A. fumigatus* suşları tarafından yoğun bir şekilde üretildiği gözlemlenmiştir (Birch et al., 2004).

4.1. Örnek Dağılımı

Çalışmaya toplamda 70 *A. fumigatus* suşu dahil edilmiştir. 70 suşun içerisinde klinik (37) ve çevresel (33) *A. fumigatus* suşları yer almıştır. Klinik suşlar farklı servislerden elde edilmiş balgam, bronkoalveolar lavaj (BAL), trakeal aspirat kültür (TAK), ameliyat materyali ve kulak sürüntüleri olacak şekilde geniş yelpazede dağılım göstermiştir. Çevresel örnekler ise genellikle topraktan, havadan ve ortak kullanım alanlarından elde edilmiş örneklerden oluşmuştur. Örnek dağılımı Şekil 4.1.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1. *Aspergillus fumigatus* suşlarının örnek türlerine göre dağılımı

4.2. Asit Proteinaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Asit proteinaz aktivitesi incelenen klinik ve çevresel *A. fumigatus* izolatları 10 günlük inkübasyon süresi boyunca takip edilmiştir. Bazı suşlarda 15. günün sonunda enzimatik aktivite saptanmıştır. Klinik ve çevresel *A. fumigatus* izolatlarında 5, 10 ve 15. gün sonunda saptanan enzimatik aktivite dağılımı Tablo 4.1.’de ve Tablo 4.2.’de verilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 37 klinik *A. fumigatus* izolatlarından 28 (% 75.7)’nin asit proteinaz enzim aktivitesine sahip olduğu, yani sığır serum albumin agarında

presipitasyon zonu oluşturduğu görülmüştür. 9 (% 24.3) klinik *A. fumigatus* suşunda ise asit proteinaz enzim aktivitesi görülmemiştir. 33 çevresel *A. fumigatus* izolatlarının 27 (% 81.9)'de asit proteinaz enzim aktivitesi izlenirken, 6 (% 18.1) izolatta asit proteinaz enzim aktivitesi izlenmemiştir.

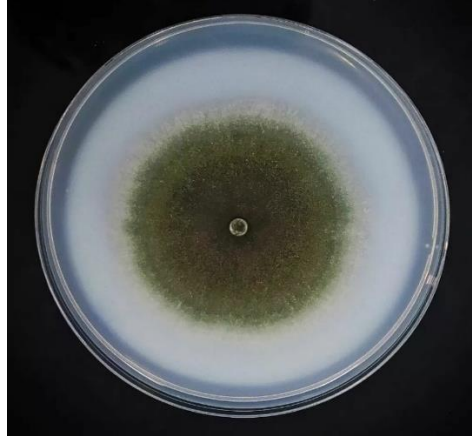
Tablo 4.1. Klinik *Aspergillus fumigatus* izolatlarında asit proteinaz aktiviteleri

Klinik <i>A.fumigatus</i> izolatları (37)	5.gün	10.gün	15. gün	+	-
				(n/%)	(n/%)
16	+	+	+		
10	-	+	+		
2	-	-	+	28 (% 75.7)	9 (% 24.3)
9	-	-	-		

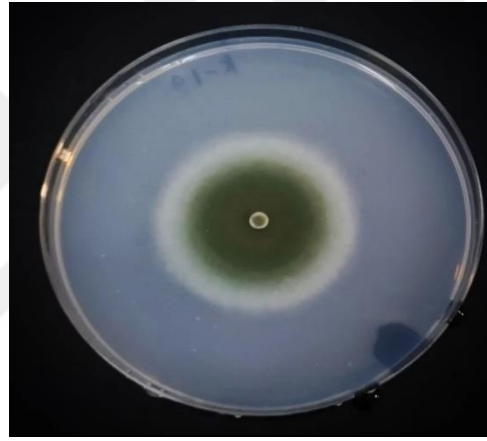
Tablo 4.2. Çevresel *Aspergillus fumigatus* izolatlarında asit proteinaz aktiviteleri

Çevresel <i>A.fumigatus</i> izolatları (33)	5.gün	10.gün	15. gün	+	-
				(n/%)	(n/%)
21	+	+	+		
5	-	+	+		
1	-	-	+	27 (% 81.9)	6 (% 18.1)
6	-	-	-		

Elde edilen sonuçlara göre çevresel izolatlarının büyük bir kısmında asit proteinaz aktivitesi inkübasyonun ilk günlerinden itibaren gözlemlenmiştir. Çevresel ve klinik *A. fumigatus* izolatlarının asit proteinaz aktiviteleri karşılaştırıldığında sonuçların benzerlik oranlarının yüksek olduğu kanısına varılmıştır. Şekil 4.2.'de asit proteinaz aktivitesine sahip *A. fumigatus* izolatı, şekil 4.3'te ise asit proteinaz aktivitesi göstermeyen *A. fumigatus* izolatı gösterilmektedir.



Şekil 4.2. Asit proteinaz aktivitesi saptanan *Aspergillus fumigatus* izolatının sığır serum albumin agarında görünümü



Şekil 4.3. Asit proteinaz aktivitesi saptanmayan *Aspergillus fumigatus* izolatının sığır serum albumin agarında görünümü

Aspartik proteazlar genellikle *A. niger*, *A. oryzae* ve *A. fumigatus* türleri tarafından üretilmektedir. *A. niger*'in aspartat proteaz üretimi endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Wei et al., 2023). *Aspergillus* türlerinin sahip olduğu enzim aktiviteleri sayesinde konak dokusunda ilerlemeleri ve hastalık oluşturmada önemli role sahip olmaları birçok çalışmaya konu olmuştur.

Mantarlarda asit proteinaz aktivitesinin saptanması için kullanılan, içeriğinde serum proteinleri bulunan katı besiyeri ilk defa 1965 yılında Staib tarafından geliştirilmiştir. Geliştirilen besiyeri ile *Candida* türlerinin asit proteinaz aktiviteleri saptanmış ve daha sonraki çalışmalar için bu yöntem standart yöntem haline gelmiştir (Arslan ve Fındık, 2003). Lakin, geliştirilen bu plak yöntemiyle *Aspergillus* türlerinin asit proteinaz aktivitelerinin incelendiği çok az çalışmaya rast gelinmektedir.

Aspergillus türlerinin sahip olduğu asit proteinaz aktivitesinin saptanması için yapılan çalışmaların büyük bir kısmını moleküler, biyokimyasal ve immünokimyasal yöntemlerin kullanıldığı çalışmalar oluşturmaktadır (Beyan et al., 2021; Souza et al., 2017). Souza ve ark. 2017 yılında *Aspergillus foetidus* türü üzerinde yaptıkları bir çalışmada *Aspergillus* türlerinin büyümeleri için çok çeşitli substratlara gereksinim duyduklarını ve aynı zamanda proteinaz enzimi üretiminde nitrojen kaynağının türünün önemli role sahip olduğu görülmüştür (Souza et al., 2017).

Raksha ve ark. tarafından 2017’de yayınlanan çalışmalarında klinik ve çevresel örneklerden izole edilmiş *Aspergillus* türlerinde virulans faktörler araştırılmıştır. Çalışmaya toplamda 750 örnek dahil edilmiş, bunlardan 350 örnek hastalardan alınmış klinik izolatlar, 400’si ise çevresel izolatlardan oluşmuştur. Suşlar üretildikten sonra saf olarak üreyen *Aspergillus* türleri çalışmaya alınacağı için 39 klinik, 39 çevresel örnekte virulans faktörler incelenmiştir. Toplam 39 klinik izolatin 9’u *A. fumigatus* türüne ait olup bunlardan 8’inde asit proteinaz aktivitesi saptanırken, çevresel 9 *A. fumigatus* izolatının 5’inde asit proteinaz aktivitesi izlenmiştir.

Klinik *Aspergillus* türlerinin enzim aktivitelerinin saptandığı başka bir çalışmada 45 *A. fumigatus* izolatından sadece 22’inde asit proteinaz enzim aktivitesi saptanmıştır (Alp ve Arıkan, 2008).

Birinci vd. yaptıkları çalışmalarında *A.fumigatus*, *A. flavus* ve *A. niger* türlerinin asit proteinaz ve fosfolipaz aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 30 *A. fumigatus* kompleks izolatlarının % 76.7 (23/30)’sinde asit proteinaz aktivitesi saptanırken, % 23.3 (6/30)’ünde asit proteinaz aktivitesi saptanmamıştır (Birinci vd., 2014).

Aspergillus türlerinin sahip olduğu virulans faktörlerin çevresel örneklerde doğal olarak mevcut olduğu ve konak dokunun koruyucu mekanizmasına karşı koymak için aktivitelerinin daha da arttığı düşünülmektedir (Alp ve Arıkan, 2008).

Çalışmamızda klinik ve çevresel örneklerden izole edilmiş *A. fumigatus* kökenlerinde bazı virulans faktörlerin araştırılmasını hedefledik. Çalışmaya toplamda 70 *A. fumigatus* izolatu dahil edilmiştir. Bunlardan 37’si klinik, 33’ü ise çevresel örneklerden izole edilen *A. fumigatus* suşlarıdır. Klinik ve çevresel izolatların asit proteinaz aktiviteleri sığır serum albumini içeren agar plaklarında araştırılmıştır.

16 klinik *A. fumigatus* izolatında çalışmanın 5.gününde asit proteinaz aktivitesi saptanmıştır. 10 izolatda inkübasyonun 10.gününde enzimatik aktivite saptanırken, 2 klinik *A. fumigatus* izolatında çalışmanın 15.gününde asit proteinaz aktivitesi varlığı izlenmiştir. Geriye kalan 9 klinik izolatda ise asit proteinaz aktivitesi saptanmamıştır. 33 çevresel izolatdan 21 *A. fumigatus* izolatda inkübasyonun 5. gününde asit proteinaz aktivitesi saptanmıştır. 5 çevresel izolatda 10. gününde, 1 izolatda ise 15. günde asit proteinaz aktivitesi saptanmıştır. 6 çevresel izolatda ise asit proteinaz aktivitesi saptanmamıştır.

Aspergillus türlerinin asit proteinaz aktivitesi sahip oldukları virulans faktörlerden yalnızca biri olup, bu konuda daha çok çalışmaya gereksinim duyulmaktadır. Önceki yıllarda yapılan bazı çalışmalarda virulans faktör olarak asit proteinaz aktivitesi patogeneze den ziyade epidemiyolojide rol oynadığına dair yorumlar yer almaktadır (Latge, 1999). Yapılacak araştırmalar sayesinde asit proteinaz aktivitesinin patogeneze de rolünün belirlenmesinde yardımcı olacağı düşünülmektedir.

4.3. Fosfolipaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Fosfolipaz aktivitesi incelenen klinik ve çevresel *A. fumigatus* izolatları 10 günlük inkübasyon süresi boyunca takip edilmiştir. Bazı suşlarda 15. günün sonunda enzimatik aktivite saptanmıştır. Klinik ve çevresel *A. fumigatus* izolatlarında 5, 10 ve 15. gün sonunda saptanan enzimatik aktivite dağılımı Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 37 klinik *A. fumigatus* izolatlarından 35 (% 94.6)'nin fosfolipaz enzim aktivitesine sahip olduğu, yani yumurta sarılı agarda presipitasyon zonu oluşturduğu görülmüştür. 2 (% 5.4) klinik *A. fumigatus* suşunda ise fosfolipaz enzim aktivitesi görülmemiştir. 33 çevresel *A. fumigatus* izolatının 31 (% 94)'inde fosfolipaz enzim aktivitesi izlenirken, 2 (% 6)'de fosfolipaz enzim aktivitesi izlenmemiştir.

Tablo 4.3. Klinik *Aspergillus fumigatus* izolatlarında fosfolipaz aktiviteleri

Klinik <i>A.fumigatus</i> izolatları (37)	5.gün	10.gün	15. gün	+	-
				(n/%)	(n/%)
31	+	+	+		
2	-	+	+		
2	-	-	+	35 (% 94.6)	2 (% 5.4)
2	-	-	-		

Tablo 4.4. Çevresel *Aspergillus fumigatus* izolatlarında fosfolipaz aktiviteleri

Çevresel <i>A.fumigatus</i> izolatları (33)	5.gün	10.gün	15. gün	+	-
				(n/%)	(n/%)
30	+	+	+		
1	-	+	+	31 (% 94)	2 (% 6)
2	-	-	-		



Şekil 4.4. Fosfolipaz enzim aktivitesi saptanan *Aspergillus fumigatus* izolatının yumurta sarılı agarda görünümü

Biyokimyasal yöntemlerle *Candida parapsilosis* ve *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının fosfolipaz enzim aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Arıkan vd., 1998). Aynı zamanda *Aspergillus* türlerinde de fosfolipaz enzim aktivitesi saptanmıştır. Fosfolipaz enzim aktivitesinin saptanması için kullanılan biyokimyasal yöntemlerin zaman alıcı olması sebebiyle Price tarafından “plak yöntemi” olarak bilinen bir yöntem geliştirilmiştir. Plak yönteminde kullanılan agar plakların majör bileşeni yumurta sarısı olup, fosfolipaz kaynağı olarak besiyerine eklenmektedir. Plaklara ekimi yapılan mantarlar eğer fosfolipaz enzim aktivitesine sahip ise bu zaman kalsiyum ve yağ asitlerinin kullanılması sonucunda plakların yüzeyinde presipitasyon zonları gözlemlenmektedir (Arıkan vd., 1998). *Candida* türlerinde fosfolipaz enzim aktivitesinin saptanması için plak yöntemi birçok çalışmada tercih edilen bir yöntemdir (Arslan ve Fındık, 2003; Ramos et al., 2015).

FAB-MS yönteminin kullanıldığı bir çalışmada *A. fumigatus*’un fosfolipaz A, B, C, D aktivitelerine sahip olduğu görülmüştür (Birch et al., 1996). Aynı zamanda klinik izolatlarda çevresel izolatlarla kıyasla fosfolipaz C aktivitesinin daha çok üretildiği bildirilmiştir (Birch et al., 2004). Moleküler yöntemlerin kullanıldığı başka bir çalışmada klinik *A. fumigatus* izolatları ile çevresel izolatlar karşılaştırılmış ve sonuç olarak klinik izolatların çevresel izolatlardan daha fazla hücre dışı fosfolipaz C salgıladığı görülmüştür (Rementeria et al., 2005). 2008 yılında sadece klinik *Aspergillus* türlerinin virulans faktörlerinin incelendiği bir çalışmada 45 *A. fumigatus* izolatının tümünün (% 100) fosfolipaz enzim aktivitesine sahip olduğu görülmüştür (Alp ve Arıkan, 2008).

Birinci vd. 2014 yılında yayınlanmış klinik *A. fumigatus* izolatlarının fosfolipaz enzim aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmalarında 30 *A. fumigatus* kompleks izolatlarının % 93.3 (28/30)’nde fosfolipaz enzim aktivitesi saptanmıştır (Birinci vd., 2014).

2022 yılında *Aspergillus* türlerinin sahip olduğu enzim aktivitelerinin saptanması üzerine yapılan bir çalışmada *A. fumigatus*’un fosfolipaz üretimi incelenmiştir. Sonuç olarak çalışmaya alınmış toplam 5 *A. fumigatus* örneğinin %100 (5)’de fosfolipaz enzim aktivitesi saptanmamıştır (Bavadharani et al., 2022).

Çalışmamızda klinik ve çevresel örneklerden izole edilmiş *A. fumigatus* kökenlerinde bazı virulans faktörlerin araştırılmasını ve karşılaştırılmasını hedefledik. Çalışmaya toplamda 70 *A. fumigatus* izolatı dahil edilmiştir. Bunlardan 37’si klinik, 33’ü ise çevresel örneklerden izole edilen *A. fumigatus* suşlarıdır.

Klinik ve çevresel izolatların fosfolipaz aktiviteleri yumurta sarısı içeren agar plaklarında araştırılmıştır. 31 (% 84) klinik *A. fumigatus* izolatında çalışmanın 5. gününde fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. 2 (% 5.4) izolatda inkübasyonun 10. gününde enzimatik aktivite saptanırken, 2 (% 5.4) klinik *A. fumigatus* izolatında çalışmanın 15. gününde asit proteinaz aktivitesi varlığı izlenmiştir. Geriye kalan 2 (%5.4) klinik izolatda ise fosfolipaz aktivitesi saptanmamıştır.

Çalışmaya dahil edilen 33 çevresel *A. fumigatus* izolatlarından 30 (%91)'unda inkübasyonun 5. gününde fosfolipaz aktivitesi saptanırken, yalnızca 1 (%3) izolatda 10. günde fosfolipaz aktivitesi görülmüştür. 2 (% 6) çevresel *A. fumigatus* suşunda ise fosfolipaz aktivitesi saptanmamıştır.

4.4. Elastaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Elastaz aktivitesi incelenen klinik ve çevresel *A. fumigatus* izolatları 7-10 günlük inkübasyon süresi boyunca takip edilmiştir. Suşların büyük bir kısmında 10-15 sonunda enzimatik aktivite saptanmıştır. Klinik ve çevresel *A. fumigatus* izolatlarında 10 ve 15. gün sonunda saptanan enzimatik aktivite dağılımı Tablo 4.5.'te ve Tablo 4.6.'da verilmiştir.

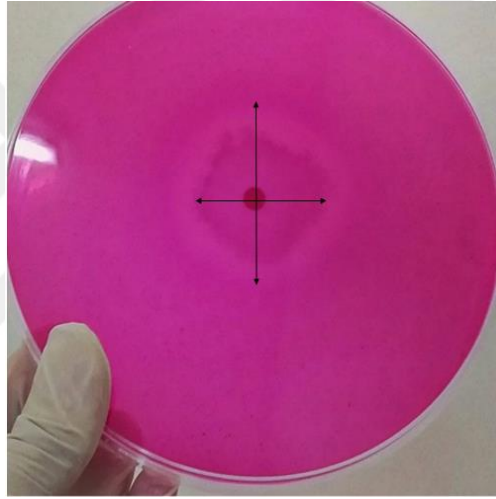
Çalışmamıza dahil edilen 37 klinik *A. fumigatus* izolatlarından 28 (% 75.7)'inin elastaz enzim aktivitesine sahip olduğu, 9 (% 24.3) klinik *A. fumigatus* suşunun ise elastaz enzim aktivitesine sahip olmadığı görülmüştür. 33 çevresel *A. fumigatus* izolatlarının 24 (% 72.7)'de elastaz enzim aktivitesi izlenirken, 6 (% 18.2)'da elastaz enzim aktivitesi izlenmemiştir. Çalışmaya dahil edilen 3 (% 9.1) çevresel *A. fumigatus* izolatının rose-bengal elastin agarında üremediği saptanmıştır.

Tablo 4.5. Klinik *Aspergillus fumigatus* izolatlarında elastaz aktiviteleri

Klinik <i>A.fumigatus</i> izolatları (37)	7.gün	10.gün	15. gün	+	-
				(n/%)	(n/%)
17	+	+	+		
6	-	+	+		
5	-	-	+	28 (% 75.7)	9 (% 24.3)
9	-	-	-		

Tablo 4.6. Çevresel *Aspergillus fumigatus* izolatlarında elastaz aktiviteleri

Çevresel <i>A.fumigatus</i> izolatları (33)	7.gün	10.gün	15. gün	+	-
				(n/%)	(n/%)
7	+	+	+		
12	-	+	+		
5	-	-	+	24 (% 72.7)	6 (% 18.2)
6	-	-	-		



Şekil 4.5. Elastaz enzim aktivitesi saptanan *Aspergillus fumigatus* izolatının rose bengal-elastin agarda görünümü



Şekil 4.6. Elastaz enzim aktivitesi saptanmayan *Aspergillus fumigatus* izolatının rose bengal-elastin agarda görünümü

Elastin akciğer, arter, beyin damarları ve deri gibi dokuların majör yapısal proteinlerinden biridir (Szychowski et al., 2022). *Aspergillus* türleri tarafından üretilen elastaz enziminin aspergillozun kesin virulans faktörü olduğu belirtilmiştir (Okumura et al., 2004).

Aspergillus türlerin özellikle *A. fumigatus*'un elastaz enzim aktivitesine sahip olması ve genellikle akciğer dokusundaki elastini lizisi birçok çalışma tarafından incelenmiştir. 1984 yılında Kothary vd. tarafından yapılan *A. fumigatus* izolatlarının elastaz enzim aktivitesinin saptandığı çalışma bu konuda yapılan ilk çalışma olarak bilinmektedir. Çalışmaya 75 klinik *A. fumigatus* izolatı dahil edilmiş ve 71 (% 94.7) izolatın elastaz enzim aktivitesine saptanırken geriye kalan 4 (% 5.3) izolatda ise elastaz enzim aktivitesi saptanmamıştır. Elastaz enzim aktivitesine sahip 6 *A. fumigatus* izolatı ile elastaz enzim aktivitesi saptanamayan 4 izolatı bağışıklığı baskılanmış farelerde İA'a neden olma yeteneği açısından test edilmiştir. Elastaz üreten izolatlara maruz kalan farelerin hepsinin 48-96 saat içerisinde öldüğü gözlemlenmiştir. Farelerden alınmış akciğer dokusunda hifler görülmüş ve alveolar nekrozun olduğu kanısına varılmıştır. Elastaz enzim aktivitesine sahip olmayan izolatlara maruz kalan farelerin akciğerinde ise az sayıda çimlenmiş spor görülmüştür. Elde edilen sonuçları takiben *Aspergillus* türlerinin elastaz enzim aktivitesinin konak dokunun istila sürecinde önemli role sahip olabileceği sonucuna varılmıştır (Kothary et al., 1984).

Rhodes vd tarafından 1988 yılında yapılan bir çalışmada 38 klinik *Aspergillus* izolatın elastaz enzim üretimi açısından incelenmiştir. 38 klinik izolatdan 25 (% 65.8)'de elastaz enzim aktivitesi saptanırken, 13 (% 34.2)'de elastaz üretimi saptanmamıştır. Bu çalışma ile birlikte yapılan başka bir çalışmada elastaz üretiminin tür bazında incelenmesi sonucunda yaygın olarak *A. fumigatus* ve *A. flavus* izolatlarının % 90'dan fazlasının elastaz enzimini ürettiği görülmüştür (Rhodes et al., 1988; Victor et al., 1986).

2002 yılında Blanco vd tarafından yapılan çalışmada hem çevresel hem de klinik *A. fumigatus* izolatları kullanılmıştır. Bu çalışma elastaz aktivitesi ile patojenite arasında ilişkiyi ortaya koyan ilk çalışmalardan biridir. 56 klinik, 142 çevresel *A. fumigatus* izolatının rose bengal-elastin agar plaklarına ekimi yapılmış ve inkübasyonun 7, 10,15. günlerinde elastaz enzim aktivitesi gözlemlenmiştir. Çalışma sonunda 54 (% 27.2) izolat elastin ortamında gelişmemiş ve bunların 46'sını çevresel *A. fumigatus* izolatı oluşturmuştur. 144(%73) *A. fumigatus* izolatında ise elastaz

enzim aktivitesi gözlemlenmiştir. İzolatların 96'sını çevresel, 48'ni ise klinik *A. fumigatus* izolatları oluşturmuştur. Elastaz enzimini üreten izolatların elastaz aktivite indeksleri ölçülmüştür. 142 çevresel örneğin 44'ünde ve 35 klinik örnekte elastaz aktivite indeksi $EAI \geq 1$ olarak gözlemlenmiştir. İzolatların elastaz aktivite indekslerinin 10. günde daha iyi okunduğu ve 0.9'un üzerinde olması halinde sınır değer olarak alınması kabul edilmiştir. $EAI < 1$ olduğu durumlarda *Aspergillus* suşlarının invaziv hastalıklardan sorumlu olma olasılıklarının çok düşük olduğu yorumu yapılmıştır (Blanco et al., 2002).

Garcia vd 2006 yılında 2 *A. fumigatus* izolatının fareler üzerinde birbirini izleyen aşılama işlemleriyle yaptıkları bir çalışmada fırsatçı mantarın elastaz aktivitesi ile patojenitesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Elastaz enzim aktivitesi olmayan ortamdan izole edilmiş 2 *A. fumigatus* suşu toplamda 10 fare üzerinde çalışılmıştır. Bu çalışma *A. fumigatus*'un geliştirildiği ortama uyum sağlayabildiğini ve konaktan konağa patojenik yeteneklerini arttırdığını öne sürmüştür (Garcia et al, 2006).

2008 yılında Alp ve Arıkan tarafından yapılan çalışmada toplam 73 *Aspergillus* izolatı (45 *A. fumigatus*, 23 *A. flavus*, 5 *A. niger*) incelenmiştir. *A. fumigatus*, *A. flavus* izolatlarının sırasıyla % 95.6, % 82.6'da elastaz aktivitesi saptanırken, *A. niger* izolatlarında elastaz aktivitesi saptanmamıştır.

2012 yılında 26 klinik *A. fumigatus* izolatı ile yapılan bir çalışmada 16 klinik izolatın elastaz aktivite indeksinin 0.92'den az olduğu, 10 izolatın elastaz aktivite indeksi ise 1'den fazla olduğu belirlenmiştir (Khosravi et al., 2012).

2019 yılında yapılan bir çalışmada rose-bengal elastin agar plakları kullanılarak *A. flavus* izolatlarının elastaz aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmaya hem insanlardan hem de kuşlardan elde edilmiş klinik *A. flavus* izolatları dahil edilmiş ve elastaz enzim aktivite açısından aralarında bir fark saptanmamıştır. Çalışmaya dahil edilen 62 *A. flavus* izolatından 40 izolat (% 64.5) elastaz enzim aktivitesi göstermiştir (Ghorbel et al., 2019).

Çalışma sonuçlarımızla yapılmış olan diğer çalışmaların sonuçları karşılaştırıldığı zaman *A. fumigatus* izolatlarının asit proteinaz, fosfolipaz ve elastaz enzim aktivite üretiminin benzer oranlarda olduğu görülmüştür. Buna ek olarak çalışmamızda klinik izolatlarla beraber çevresel izolatlar da ele alınmıştır. *Aspergillus* türlerinin enzim aktivitelerinin “plak yöntemi” ile araştırılması gelecekte bu konuyla ilgili yapılacak çalışmalara yardımcı olacağı düşünülmektedir.

5. SONUÇ

1. Çalışmaya dahil edilen 37 klinik izolatdan 28 (% 75.7)'inin asit proteinaz enzim aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. 9 (% 24.3) klinik *A.fumigatus* suşunda ise asit proteinaz enzim aktivitesi görülmemiştir.
2. 33 çevresel *A.fumigatus* izolatlarının 27 (% 81.9)'nde asit proteinaz enzim aktivitesi izlenirken, 6 (%18.1)'de asit proteinaz enzim aktivitesi izlenmemiştir.
3. 37 klinik *A.fumigatus* izolatlarından 35 (%94.6) izolatın fosfolipaz enzim aktivitesine sahip olduğu saptanırken, 2 (% 5.4) klinik *A.fumigatus* suşunda ise fosfolipaz enzim aktivitesi saptanmamıştır.
4. 33 çevresel *A.fumigatus* izolatlarının 31 (% 94)'inde fosfolipaz enzim aktivitesi izlenirken, 2 (%6.06) izolatda fosfolipaz enzim aktivitesi izlenmemiştir.
5. 37 klinik *A. fumigatus* izolatlarından 28 (% 75.7) izolatın elastaz enzim aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. 9 (% 24.3) klinik *A. fumigatus* suşunda ise elastaz enzim aktivitesi görülmemiştir.
6. 33 çevresel *A. fumigatus* izolatlarının 24 (% 72.7)'ünde elastaz enzim aktivitesi izlenirken, 6 (% 18.2) izolatta elastaz enzim aktivitesi izlenmemiştir. Çalışmaya dahil edilen 3 (% 9.1) çevresel *A. fumigatus* izolatının rose-bengal elastin agarında üremediği saptanmıştır.
7. Bu konunun anlaşılabilmesi ve netlik kazanması için daha çok klinik ve çevresel *Aspergillus* izolatlarını kapsayan çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abacı, O. ve Halikki-Uztan, A. (2008). *Aspergillus fumigatus*'un Virulans Faktörleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi* TR, 6(01), 17-20
- Akkoyun Bilgi, E., ve Kiraz, N. (2019). klinik örneklerden izole edilen *aspergillus* türlerinin tanımlanmasında geleneksel yöntemler, MALDI-TOF MS ve dizi analizi yöntemlerinin karşılaştırılması. *Dicle Tıp Dergisi*.
- Aktürk, B. , Çelebi, S. ve Hacımustafaoğlu, M. K. (2007). *Aspergilloz* . *Güncel Pediatri* ,5(2), 62-69
- Alan, M. S. (2019). İnvazif Fungal İnfeksiyonlarda Klinik Özellikler: *Aspergilloz*, *Kandidiyaz* ve *Mukormikoz*. *Klinik Dergisi*, 32(2), 124-7.
- Alanio, A., Beretti, J. L., Dauphin, B., Mellado, E., Quesne, G., Lacroix, C., and Bougnoux, M. E. (2011). Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for fast and accurate identification of clinically relevant *Aspergillus* species. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(5), 750-755.
- Alonso, V., Aminahuel, C., Díaz Vergara, L., Pereyra, C., Poloni, V., Dalcero, A., and Cavaglieri, L. (2016). Ecophysiology of environmental *Aspergillus fumigatus* and comparison with clinical strains on gliotoxin production and elastase activity. *Letters in applied microbiology*, 62(2), 160-168.
- Alp, S., and Arikan, S. (2008). Investigation of extracellular elastase, acid proteinase and phospholipase activities as putative virulence factors in clinical isolates of *Aspergillus* species. *Journal of basic microbiology*, 48(5), 331-337.
- Altınbaş, R., İskeleli, G., Çolakoğlu, S., Hagverdiyeva, S., Kuşkucu, M. A., Doğan, C., ve Tokman, H. B. *Aspergillus flavus* İzole Edilen Bir Keratit Olgusu.
- Alvarez-Pérez, S., Blanco, J. L., Lopez-Rodas, V., Flores-Moya, A., Costas, E., and García, M.E.(2010). Elastase activity in *Aspergillus fumigatus* can arise by random, spontaneous mutations. *International Journal of Evolutionary Biology*, 2010.
- Arastehfar, A., Carvalho, A., Houbraken, J., Lombardi, L., Garcia-Rubio, R., Jenks, J. D., and Hoenigl, M. (2021). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis: From basics to clinics. *Studies in mycology*, 100(1), 100115-100115.
- Arıcı, Ş., Gökmuharremoğlu, Ö. Ö., ve Özer, B. (2015). Nadir Bir Baş Ağrısı Nedeni: *Aspergillus Sinüziti*. *Türk J Neurol*, 21, 102-3.
- Arikan S., Sancak, B., Haşcelik, G., ve Günalp, A. (1998). *Candida albicans* izolatlarında fosfolipaz aktivitesinin saptanması. *Flora*, 3(4), 240-243.
- Arslan U., ve Fındık, D. (2003). Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 17(4), 471-481.
- Aslan, M., Öz, Y., Akşit, F., Akay, M., ve Aslan, F. Multiple Myeloma, Febril Nötropenik Hastalarda *Aspergillus Galaktomannan Testi* Yalancı Pozitifliğine Neden Olabilir mi?/ Does Multiple Myeloma Cause False Positive Results of The *Aspergillus Galactomannan Assay* İn Febrile Neutropenic Patients? *Osmangazi Tıp Dergisi*, 38(2), 47-50.
- Atalay, M. A., Koç, A. N., Sav, H., ve Demir, G. (2014). İnvazif *Aspergilloz* Tanılı Hastalardan İzole edilen *Aspergillus* Türlerinin Antifungal Duyarlılıkları. *Ankem Derg*, 28(4), 129-133.
- Ayberkin, E., ve Çiftçi, E. (2009). Çocuklarda *aspergillus* enfeksiyonları. *J Pediatr Inf*, 3,118 25.

- Azap, A. (2019). İnvazif Fungal İnfeksiyonların Tanısında Kültür Dışı Yöntemlerin Rolü. *Klinik Dergisi*, 32(2), 131-4.
- Bandres, M. V., Modi, P., and Sharma, S. (2021). *Aspergillus fumigatus*.
- Bavadharani, S., Premamalini, T., Karthika, K., & Kindo, A. J. (2022). In Vitro Production of Virulence Factors and Antifungal Susceptibility Pattern of *Aspergillus* Isolates from Clinical Samples in a Tertiary Care Center. *Journal of Laboratory Physicians*, 14(04), 479-484.
- Birch, M., Denning, D. W., and Robson, G. D. (2004). Comparison of extracellular phospholipase activities in clinical and environmental *Aspergillus fumigatus* isolates. *Medical mycology*, 42(1), 81-86.
- Birch, M., Robson, G., Law, D., & Denning, D. W. (1996). Evidence of multiple extracellular phospholipase activities of *Aspergillus fumigatus*. *Infection and Immunity*, 64(3), 751-755.
- Birinci, A ve Çaycı, Y. T. (2016). Mantar enfeksiyonlarının serolojik tanısı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 73(2), 175-182.
- Birinci, A., Bilgin, K. ve Tanrıverdi Çaycı, Y. (2014). Klinik *Aspergillus* spp. İzolatlarında virülans faktörü olarak asit proteinaz ve fosfolipaz aktivitelerinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 48(3), 491-494.
- Blanco, J. L., Hontecillas, R., Bouza, E., Blanco, I., Pelaez, T., Muñoz, P., ... & Garcia, M. E. (2002). Correlation between the elastase activity index and invasiveness of clinical isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Journal of clinical microbiology*, 40(5), 1811-1813.
- Chang, P. K., Cary, J. W., & Lebar, M. D. (2020). Biosynthesis of conidial and sclerotial pigments in *Aspergillus* species. *Applied microbiology and biotechnology*, 104, 2277-2286.
- Chotirmall, S. H., Mirkovic, B., Lavelle, G. M., & McElvaney, N. G. (2014). Immuno-evasive *Aspergillus* virulence factors. *Mycopathologia*, 178, 363-370.
- Çerikçioğlu, N. (2012). Mantarlarda virülans faktörleri. *Ankem Dergisi*, 26(2), 261-269.
- Çetinkol, Y., Korkmaz, M., Korkmaz, H., ve Yıldırım, A. A. (2015). Ordu ilinde görülen otomikoz ve etkenleri. *ANKEM Derg*, 29(1), 31-35.
- Değerli K, Akçalı S, Sezgin C, Ünlü H, Özbakkaloğlu B (2002). Manisa ve çevresinde soyutlanan otomikoz etkenleri. *İnfeksiyon Dergisi*, 16(2), 211 - 213.
- Dübüş, T., ve Paşaoğlu, E. (2010). Pulmoner *Aspergilloma* (Miçetoma): Olgu Sunumu. *İstanbul Tıp Dergisi*, 11(4), 190-4.
- Elif Korcan, S., Özkara, A., Akyıl, D., Çiğerci, İ. H., & Konuk, M. (2007). Farklı Fungus Cinslerinde Endüstriyel Öneme Sahip Bazı Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7(1), 279-286.
- Ener, B. İnvazif Fungal İnfeksiyonlarda Tanısal Yaklaşım.
- Fontaine, T., and Latgé, J. P. (2020). Galactomannan produced by *Aspergillus fumigatus*: An update on the structure, biosynthesis and biological functions of an emblematic fungal biomarker. *Journal of Fungi*, 6(4), 283.
- Fridkin, S. K., and Jarvis, W. R. (1996). Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clinical microbiology reviews*, 9(4), 499-511.
- Frosco, Marybeth, Chase Jr, Theodore., and Macmillan, J. D. (1992). Purification and properties of the elastase from *Aspergillus fumigatus*. *Infection and immunity*, 60(3), 728-734.

- García, M. E., Caballero, J., Blanco, I., Cruzado, M., Costas, E., and Blanco, J. L. (2006). Changes in the elastase activity and colonization ability of *Aspergillus fumigatus* after successive inoculations in mice. *Revista iberoamericana de micología*, 23(4), 221-223.
- Ghannoum, M. A. (2000). Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clinical microbiology reviews*, 13(1), 122-143.
- Ghorbel, D., Hadrich, I., Neji, S., Trabelsi, H., Belaaj, H., Sellami, H., ve Ayadi, A. (2019). Detection of virulence factors and antifungal susceptibility of human and avian *Aspergillus flavus* isolates. *Journal de Mycologie Médicale*, 29(4), 292-302.
- Gu, X., Hua, Y. H., Zhang, Y. D., Bao, D., Lv, J., and Hu, H. F. (2021). The Pathogenesis of, Host Defense Mechanisms, and the Development of AFMP4 Antigen as a Vaccine. *Polish journal of microbiology*, 70(1), 3-11.
- Guarner, J., and Brandt, M. E. (2011). Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clinical microbiology reviews*, 24(2), 247-280.
- Gülerden, E., Gözel, G., Erbay, A., Öngürü, P., Hüner, M., Çevik, M. A., and Bodur, H. (2008). Akkiz İmmünyetmezlik Sendromlu Bir Hastada Tüberküloz Kavitesi Zemininde Gelişen Aspergilloma. *FLORA*, 13(4), 209-213.
- Gülmez D, Alp Ş (2021). Mantar İnfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısında KlasikYöntemler ve Yeni Gelişmeler. *Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 26(1), 34-49
- Heinz, A. (2020). Elastases and elastokines: elastin degradation and its significance in health and disease. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 55(3), 252-273.
- Hilmioglu, S.P., E. Tumbay (drl). (2021). Tıbbi Mikoloji. Tıbbi Mikoloji Derneği Yayını №.2. İzmir.
- Hogan, L. H., Klein, B. S., and Levitz, S. M. (1996). Virulence factors of medically important fungi. *Clinical microbiology reviews*, 9(4), 469-488.
- Imbert, S., Meyer, I., Palous, M., Brossas, J. Y., Uzunov, M., Touafek, F., and Fekkar, A. (2018). *Aspergillus* PCR in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis and prognosis of aspergillosis in patients with hematological and non-hematological conditions. *Frontiers in microbiology*, 9, 1877
- Ishibashi, K. I., Miura, N. N., Adachi, Y., Tamura, H., Tanaka, S., and Ohno, N. (2004). The solubilization and biological activities of *Aspergillus* β -(1,3)-d-glucan. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 42(2), 155-166.
- İnci, M., Atalay, M. A., Kurnaz, F., Koç, A. N., ve Kasap, F. F. (2009). Galaktomannan ve 1,3 Beta D Glukan Negatifliği İle Giden *Aspergillus Fumigatus* Suşunun Neden Olduğu Maksiller Sinüzit Olgusu.. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 23(3), 137-140.
- Jack, J., and Bajaj, T. (2022). Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis.
- Kantarcıoğlu, A. S ve Yücel, A. (2014). İnvaziv Aspergillozun Ön Tanımında Galaktomannan Antijeninin Belirlenmesinin Yeri ve Önemi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 36 (3). Kantarcıoğlu, A. S., ve Yücel, A. (2003). *Aspergillus* cinsi mantarlar ve invaziv aspergilloz: Mikoloji, patogenezi, laboratuvar tanımı, antifungallere direnç ve duyarlılık deneyleri. *Cerrahpaşa Tıp Derg*, 34(3), 140-57.
- Khosravi, A. R., Omran, S. M., Shokri, H., Lotfi, A., and Moosavi, Z. (2012). Importance of elastase production in development of invasive aspergillosis. *Journal de mycologie medicale*, 22(2), 167-172.

- Kidd, S. E., Abdolrasouli, A., and Hagen, F. (2023, January). Fungal Nomenclature: Managing Change is the Name of the Game. In Open Forum Infectious Diseases (Vol. 10, No.1, p. ofac559). US: Oxford University Press.
- Klich, M. A. (2007). *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. *Molecular plant pathology*, 8(6), 713-722.
- Koç, A. N. (2007) Mikozların Laboratuvar Tanısı, Etken Mantarın Tür Tansısı ve Antifungal Direnç Analizinde Moleküler Yöntemlerin Yeri.
- Kothary, M. H., Chase Jr, Theodore., and Macmillan, J. D. (1984). Correlation of elastase production by some strains of *Aspergillus fumigatus* with ability to cause pulmonary invasive aspergillosis in mice. *Infection and immunity*, 43(1), 320-325.
- Kradin, R. L., and Mark, E. J. (2008). The pathology of pulmonary disorders due to *Aspergillus* spp. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 132(4), 606-614.
- Kusari, A., Sprague, J., Eichenfield, L. F., Matiz, C., and Barrio, V. R. (2018). Primary cutaneous aspergillosis at the site of cyanoacrylate skin adhesive in a neonate. *Pediatric Dermatology*, 35(4), 494-497.
- Kutlay, H., Alver, G., ve Ökten, İ. PULMONER ASPERGİLLOMA. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 53(4).
- 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.
- Livia de Souza Ramos, L., Barbedo, L. S., Braga-Silva, L. A., dos Santos, A. L. S., Pinto, M. R., & da Graça Sgarbi, D. B. (2015). Protease and phospholipase activities of *Candida* spp. isolated from cutaneous candidiasis. *Revista iberoamericana de micologia*, 32(2), 122-125.
- Li, X., Gao, M., Han, X., Tao, S., Zheng, D., Cheng, Y., ... & Han, L. (2012). Disruption of the phospholipase D gene attenuates the virulence of *Aspergillus fumigatus*. *Infection and immunity*, 80(1), 429-440.
- Markantonatou, A. M., Samaras, K., Yannaki, E., Zachrou, E., and Vyzantiadis, T. A. (2019). *Aspergillus galactomannan* detection: *Trichoderma* as a cause of positive results. *Current microbiology*, 76, 48 51.
- Mustefa Beyan, S., Venkatesa Prabhu, S., Mumecha, T. K., and Gameda, M. T. (2021). Production of alkaline proteases using *Aspergillus* sp. isolated from injera: RSM-GA based process optimization and enzyme kinetics aspect. *Current Microbiology*, 78, 1823-1834.
- Naaraayan, A., Kavian, R., Lederman, J., Basak, P., and Jesmajian, S. (2015). Invasive pulmonary aspergillosis—case report and review of literature. *Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives*, 5(1), 26322.
- Normand, A. C., Chaline, A., Mohammad, N., Godmer, A., Acherar, A., Huguenin, A., and Piarroux, R. (2022). Identification of a clonal population of *Aspergillus flavus* by MALDI-TOF mass spectrometry using deep learning. *Scientific Reports*, 12(1), 1575.
- Okumura, Y., Ogawa, K., and Nikai, T. (2004). Elastase and elastase inhibitor from *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*. *Journal of medical microbiology*, 53(5), 351-354.
- Oruç, H. H. (2005). Mikotoksinler ve Tanı Yöntemleri . *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 24 (1-2-3-4) , 105-110 . DOI: 10.30782/uluvfd.163654

- Öz, Y., Akşit, F., Aslan, M., Kaşifoğlu, N., ve Kiraz, N. (2012). Klinik Aspergillus İzolatları: Tür Dağılımı ve Antifungal Duyarlılık Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *Ankem Derg*, 26(2), 69-73.
- Patrick R. Murray, E. Baron, James H. Jorgensen, M. Landry and M. Pfaller (eds) (2009). *Klinik Mikrobiyoloji Cilt-2*. Ed: Ahmet Başustaoğlu. Nobel Tıp Kitabevi. (s. 1729,1803-1818)
- Paulussen, C., Hallsworth, J. E., Álvarez-Pérez, S., Nierman, W. C., Hamill, P. G., Blain, D., and Lievens, B. (2017). Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. *Microbial biotechnology*, 10(2), 296-322.
- Peral-Cagigal, B., Redondo-González, L. M., & Verrier-Hernández, A. (2014). Invasive maxillary sinus aspergillosis: A case report successfully treated with voriconazole and surgical debridement. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 6(4), e448.
- Peterson, S. W. (2008). Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. *Mycologia*, 100(2), 205-226.
- Rementeria, A., López-Molina, N., Ludwig, A., Vivanco, A. B., Bikandi, J., Pontón, J., and Garaizar, J. (2005). Genes and molecules involved in *Aspergillus fumigatus* virulence. *RevIberoam Micol*, 22(1), 1-23.
- Rhodes, J. C., Bode, R. B., and McCuan-Kirsch, C. M. (1988). Elastase production in clinical isolates of *Aspergillus*. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 10(3), 165-170.
- 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.
- Shankar, J. (2013). An overview of toxins in *Aspergillus* associated with pathogenesis. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 2(2), 16-31.
- Smith, K., Rajendran, R., Kerr, S., Lappin, D. F., Mackay, W. G., Williams, C., and Ramage, G. (2015). *Aspergillus fumigatus* enhances elastase production in *Pseudomonas aeruginosa* co cultures. *Medical mycology*, 53(7), 645-655.
- Somer, A. (2009). İnvazif Mantar Enfeksiyonlarının Tedavisi. *Journal of Pediatric Infection Çocuk Enfeksiyon Dergisi*, 3(S1), 112-115.
- Souza, P. M., Werneck, G., Aliakbarian, B., Siqueira, F., Ferreira Filho, E. X., Perego, P., and Junior, A. P. (2017). Production, purification and characterization of an aspartic protease from *Aspergillus foetidus*. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1103-1110.
- Strickland, A. B., & Shi, M. (2021). Mechanisms of fungal dissemination. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 78, 3219-3238.
- Sugui, J. A., Kwon-Chung, K. J., Juvvadi, P. R., Latgé, J. P., & Steinbach, W. J. (2015). *Aspergillus fumigatus* and related species. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(2), a019786.
- Susever, S., Yeğenoğlu, Y. (2011). İnvazif mantar enfeksiyonlarının tanımlanmasında moleküler yöntemlerin öneminin konvansiyonel yöntemler ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 45(2), 325-335.
- Szychowski, K. A., Skóra, B., and Wójtowicz, A. K. (2022). Elastin-derived peptides in the central nervous system: friend or foe. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 42(8), 2473-2487.

- Şanlı, M., Tunçözgür, B., Sivrikoz, C., Dikensoy, Ö., ve Elbeyli, L. Pulmoner Aspergilloma. Tell, L. A. (2005). Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. Medical Mycology, 43 (Supplement_1), S71-S73.
- Temiz, A. (1989). Aspergillus Cinsi Küflerin Tanımlanması. Gıda, 14 (1), Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/gida/issue/6870/92011>
- Topçu, AW., Söyletir, G., Doğanay, M. (2008). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi. (s. 2458-2463).
- Ullmann, A. J., Aguado, J. M., Arikan-Akdağlı, S., Denning, D. W., Groll, A. H., Lagrou, K., and Cornely, O. A. (2018). Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. Clinical Microbiology and Infection, 24, e1-e38.
- Van De Veerdonk, F. L., Gresnigt, M. S., Romani, L., Netea, M. G., & Latge, J. P. (2017). Aspergillus fumigatus morphology and dynamic host interactions. Nature Reviews Microbiology, 15(11), 661-674.
- Verwer, P. E. B., Van Leeuwen, W. B., Girard, V., Monnin, V., van Belkum, A., Staab, J. F., and Van De Sande, W. W. J. (2014). Discrimination of Aspergillus lentulus from Aspergillus fumigatus by Raman spectroscopy and MALDI-TOF MS. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 33, 245-251.
- Victor, L. Y., Muder, R. R., and Poorsattar, A. (1986). Significance of isolation of Aspergillus from the respiratory tract in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. Results from a three-year prospective study. The American journal of medicine, 81(2), 249-254.
- Wang, Y., Zhang, L., Zhou, L., Zhang, M., & Xu, Y. (2022). Epidemiology, Drug Susceptibility, and Clinical Risk Factors in Patients With Invasive Aspergillosis. Frontiers in Public Health, 10.
- Wei, M., Chen, P., Zheng, P., Tao, X., Yu, X., & Wu, D. (2023). Purification and characterization of aspartic protease from Aspergillus niger and its efficient hydrolysis applications in soy protein degradation. Microbial Cell Factories, 22(1), 42.
- Zohri, A. N., Aboul-Nasr, M. B., Adam, M., Mustafa, M. A., and Amer, E. M. (2017). Impact of enzymes and toxins potentiality of four Aspergillus species to cause aspergillosis. BiolMed (Aligarh).

EKLER

Ek -1: Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/09-170

24.03.2022

Sayın Prof.Dr.Asuman BİRİNCİ

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz Klinik ve çevresel örneklerden izole edilmiş *Aspergillus fumigatus* suşlarında virulans faktörlerin araştırılması başlıklı OMÜ KAEK 2021/642 Karar nolu nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik kurulu yönergesine göre 12.01.2022 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanamadığından projeye bütçe desteği sağlanıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra başlanmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof.Dr.Ramis ÇOLAK
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ÖZ GEÇMİŞ

Esmira AHMADOVA Azerbaycan, Gakh 1 Nolu lisesini 2016 yılında bitirdikten sonra, Bakü Devlet Üniversitesinin Tıbbi Biyoloji bölümünde lisans eğitimine başlamış ve 2020 yılında mezun olmuştur. 26.10.2020 yılında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. Esmira AHMADOVA orta derecede Rusça ve İngilizce bilmektedir. Temel ilgi alanlarından biri müziktir.

İletişim Bilgileri

ORCID ID: 0009-0005-4321-9146.

Yayınlar:

1. Esmira Ahmadova, Asuman Birinci, Kemal Bilgin, Demet Gür Vural, Yeliz Tanrıverdi Çaycı. Klinik Örneklerden İzole Edilen Aspergillus Türlerinin Dağılımı. KLİMUD 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi. Bildiri Referans No: 1666. Bildiri Numarası PS-049.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. Türkiye Bursları-Başarı Bursu