



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIĞIR DERMATOFİTOZİSİNDE HAŞHAŞ YAĞININ TEDAVİ
EDİCİ ETKİSİNİN PATOLOJİK YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI**

Vet. Hek. Şaban YÖNTER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

BURDUR – 2021

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIĞIR DERMATOFİTOZİSİNDE HAŞHAŞ YAĞININ TEDAVİ EDİCİ
ETKİSİNİN PATOLOJİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Vet. Hek. Şaban YÖNTER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0646-YL-20 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR – 2021

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince bana bilgilerini aktaran ve tez dönemimde bana destek olan, düşüncelerini belirtip beni yönlendiren danışmanım Sayın Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ'a, yüksek lisans öğrenimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e, Patoloji Anabilim Dalı değerli hocası Sayın Dr. Öğr. Üyesi Volkan İPEK'e, değerli meslektaşlarım Veteriner Hekim Leyla Elif Özgü AYÖZGER'e, Veteriner Hekim Adem MİLLETSEVER'e, Uzm. Biyolog Dilnur İLERİ ve Patoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğrencilerine, örneklerin temininde yardımcı olan Sayın Hikmet ÇANGIR'a, bana yazım sırasında destek olan ve görüşlerini paylaşan sevgili eşim Sebahat UĞUR YÖNTER'e, desteklerini her zaman arkamda hissettiğim daire arkadaşlarıma, dedem Şaban YÖNTER'e, annem Nesli YÖNTER'e, babam Lütfi YÖNTER'e, kardeşim Aysel Abide ÇAĞLAR'a ve bu çalışmada ihmal ettiğim canım oğlum Lütfi ile canım kızım Ela'ya teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
TÜRKÇE ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Dermatofitozis	4
2.1.1. Etiyoloji	4
2.1.2. Tarihçe	6
2.1.3. Epidemiyoloji ve Patogenezis	7
2.1.4. Klinik Bulgular	14
2.1.5. Makroskopik Bulgular	15
2.1.6. Mikroskopik Bulgular	15
2.1.6.1. Histopatolojik görünüm	15
2.1.6.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	17
2.1.6.3. Elektronmikroskopik Bulgular	17
2.1.7. Tanı	18
2.1.8. Tedavi ve Koruma	20
2.1.9. Haşhaş (Papaver somniferum) Yağı	21
2.1.10. Cytokeratin 16	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1. Gereç	23
3.2. Yöntem	25
3.2.1. Mikrobiyolojik Yöntem	25
3.2.2. Histopatolojik Yöntem	26
3.2.2.1. Hematoksilen & Eozin	26
3.2.2.2. Grocott Boyama	27
3.2.2.3. Periodic Acid Schiff (PAS)	27
3.2.3. İmmunohistokimyasal Yöntem	28
3.2.3.1. Semikantitatif Analiz Yöntemi	28
3.2.3.1.1. İstatiksel Analiz Yöntemi	29
4. BULGULAR	30
4.1. Mikolojik Bulgular	30
4.2. Makroskopik Bulgular	30
4.2.1. Haşhaş Grubu	30
4.2.1.1. Birinci Gün	30
4.2.1.2. Yedinci Gün	31
4.2.1.3. Ondördüncü Gün	31
4.2.2. Pomad Salisilik Grubu	32

4.2.2.1. Birinci Gün	32
4.2.2.2. Yedinci Gün	32
4.2.2.3. Ondördüncü Gün	32
4.3. Mikroskopik Bulgular	33
4.3.1. Histopatolojik ve Histokimyasal bulgular	33
4.3.1.1. Haşhaş Grubu	33
4.3.1.1.1. Birinci Gün	33
4.3.1.1.2. Yedinci Gün	34
4.3.1.1.3. Ondördüncü Gün	37
4.3.1.2. Pomad Salisilik Grubu	39
4.3.1.2.1. Birinci Gün	39
4.3.1.2.2. Yedinci Gün	40
4.3.1.2.3. Ondördüncü Gün	41
4.3.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	44
4.3.2.1. Haşhaş Grubu	44
4.3.2.1.1. Birinci Gün	44
4.3.2.1.2. Yedinci Gün	44
4.3.2.1.3. Ondördüncü Gün	45
4.3.2.2. Pomad Salisilik Grubu	46
4.3.2.2.1. Birinci Gün	46
4.3.2.2.2. Yedinci Gün	46
4.3.2.2.3. Ondördüncü Gün	47
4.4. Semi-Kantitatif Analiz	48
4.5. İstatiksel Analiz	51
4.5.1. Histopatolojik Görünümlerin İstatistiksel Analizi	54
4.5.2. İmmunohistokimyasal Görünümlerin İstatistiksel Analizi	54
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	Dermatofitozis enfeksiyonlarının patogenetik şeması	10
Şekil 4.1.	Haşhaş grubu, lezyonların makroskopik görünümü. A) Birinci gün, B) Yedinci gün, C) Ondördüncü gün.	31
Şekil 4.2.	Pomad salisilik grubu, lezyonların makroskopik görünümü. A) Birinci gün, B) Yedinci gün, C) Ondördüncü gün.	33
Şekil 4.3.	Lezyonların histopatolojik görünümü. A) Kontrol grubu, yedinci gün, Kıl folikülleri epitellerinin içinde nötrofil lökosit infiltrasyonları (Egzositosiz) (oklar), H&E, bar 20 µm. B) Dermiste eozonofil lökosit infiltrasyonu (oklar), H&E, bar 20 µm.	34
Şekil 4.4.	Lezyonların histopatolojik görünümü. Hiper-keratotik değişiklikler (HK), foliküler hiperplazi (FH), subepidermal ve dermal yangısal hücre infiltrasyonu (yıldız). A) Kontrol grubu, yedinci gün, H&E, bar 100 µm. B) Haşhaş grubu, yedinci gün, H&E, bar 100 µm.	35
Şekil 4.5.	Deri, haşhaş grubu, yedinci gün. Kıl folliküllerinde etkenlerin görünümü (oklar), Grocott Methenamine Silver, bar 100 µm.	35
Şekil 4.6.	Şekil 4.6. Deri, haşhaş grubu, yedinci gün. Kıl folliküllerinde etkenlerin yakından görünümü, hifalar (kalın oklar) ve astrosporlar (ince ok), Grocott Methenamine Silver, bar 20 µm.	36
Şekil 4.7.	Kıl follikülleri ve çevresinde etkenlerin yerleşimi, haşhaş grubu, 7. Gün, PAS, bar 200 µm.	36
Şekil 4.8.	Haşhaş grubu, 7. Gün, kıl follikülleri ve çevresinde etkenlerin yerleşimi, yakından görünüm, etkenler (oklar) PAS, bar 50 µm.	37
Şekil 4.9.	Lezyonların histopatolojik görünümü. A) Kontrol grubu, 14. gün, dermis ve supepidermal dokuda diffuz yangısal hücre infiltrasyonu (yıldızlar) H&E, bar 100 µm. B) Haşhaş grubu, 14 gün, Subepidermal ve dermal yangıda belirgin azalma, dissemine odaklar (yıldızlar), H&E, bar 100 µm.	38
Şekil 4.10.	Deri, Haşhaş grubu, 14. gün. Kıl folliküllerinde (KF) etkenlerin kaybolması, Grocott Methenamine Silver, bar 100 µm.	38
Şekil 4.11.	Deri, Haşhaş grubu, 14. gün. Kıl folliküllerinde (KF) etkenlerin kaybolması, PAS, bar 100 µm.	39
Şekil 4.12.	Lezyonların histopatolojik görünümü. Akantotik değişiklikler (A), Subepidermal ve dermal yangısal hücre infiltrasyonu (Yİ). A) Kontrol grubu, H&E, bar 100 µm B) Pomad grubu, yedinci gün, H&E, bar 100 µm.	40
Şekil 4.13.	Deri, Pomad salisilik grubu, yedinci gün. Kıl folliküllerinde etkenlerin yakından görünümü, hifalar (oklar), Grocott Methenamine Silver, bar 20 µm.	41

Şekil 4.14.	Pomad salisilik grubu, 7. Gün, kıl follikülleri lümeni ve çevresinde etkenlerin yerleşimi (oklar), PAS, bar 200 µm.	41
Şekil 4.15.	Lezyonların histopatolojik görünümü. Subepidermal ve dermal, yangısal hücre infiltrasyonu. A) Kontrol grubu, 14. gün, diffuz dağılımlı yoğun hücre infiltrasyonu (yıldızlar), H&E, bar 100 µm B) Pomad Salisilik grubu, 14. gün, H&E, bar 100µm.	42
Şekil 4.16.	Deri, Pomad salisilik grubu, 14. gün. Kıl folliküllerinde etkenlerin kaybolması, Grocott Methenamine Silver, bar 100 µm.	42
Şekil 4.17.	Deri, Pomad salisilik grubu, 14. gün. Yüzlek kıl folliküllerinde etkenlerin kaybolması, derin kıl folliküllerinde ise PAS pozitif alanlar, PAS, bar 100 µm.	43
Şekil 4.18.	Deri, Pomad salisilik grubu, 14. gün. Derin kıl folliküllerinde dejenere etkenlere ait PAS pozitif yapılar (oklar), PAS, bar 50 µm.	43
Şekil 4.19.	Haşhaş grubu, 7 gün, Çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinde artan anti-CK16 pozitif alanlar (yıldızlar), Streptavidin-Biotin Peroksidaz metodu, DAB kromojen, bar 100 µm.	45
Şekil 4.20.	Haşhaş grubu, 14. gün, Çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinde 7. Güne göre daha yoğun ve şiddetli anti-CK16 pozitif alanlar (yıldızlar), Streptavidin-Biotin Peroksidaz metodu, DAB kromojen, bar 100 µm.	46
Şekil 4.21.	Pomad Salisilik grubu, 7 gün, Çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinde yoğun ve orta şiddette anti-CK16 pozitif alanlar (yıldızlar), Streptavidin-Biotin Peroksidaz metodu, DAB kromojen, bar 100 µm.	47
Şekil 4.22.	Pomad Salisilik grubu, 14 gün, Çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinde 7. Güne göre artan anti-CK16 pozitif alanlar (yıldızlar), Streptavidin-Biotin Peroksidaz metodu, DAB kromojen, bar 100 µm.	48

TABLÖLAR

Tablo 2.1.	Dermatofit türlerinin etiyolojik sınıflandırması	5
Tablo 2.2.	Dermatofit türlerinin etiyolojik sınıflandırması	5
Tablo 2.3.	Dermatofit türlerinin etiyolojik sınıflandırması	6
Tablo 3.1.	Çalışmanın materyali olarak kullanılan hayvanlarına ait bilgiler	23
Tablo 4.1.	Çalışmanın materyali olarak kullanılan hayvanlarına ait bilgiler	30
Tablo 4.2.	Haşhaş grubunda histopatolojik lezyonların semi-kantitatif skorlaması. “-“ lezyon yok, “+” hafif, “++” orta, “+++” şiddetli.	48
Tablo 4.3.	Pomad grubunda histopatolojik lezyonların semi-kantitatif skorlaması. “-“ lezyon yok, “+” hafif, “++” orta, “+++” şiddetli.	49
Tablo 4.4.	Kontrol grubunda histopatolojik lezyonların semi-kantitatif skorlaması. “-“ lezyon yok, “+” hafif, “++” orta, “+++” şiddetli.	49
Tablo 4.5.	Haşhaş grubunda anti-CK16 İmmun-pozitif reaksiyonların skorlama değerleri. “-“ negatif, “+” az yoğun, “++” orta, “+++” yoğun.	50
Tablo 4.6.	Pomad grubunda anti-CK16 İmmun-pozitif reaksiyonların skorlama değerleri. “-“ negatif, “+” az yoğun, “++” orta, “+++” yoğun.	50
Tablo 4.7.	Kontrol grubunda anti-CK16 İmmun-pozitif reaksiyonların skorlama değerleri. “-“ negatif, “+” az yoğun, “++” orta, “+++” yoğun.	51
Tablo 4.8.	Yedinci gündeki histopatolojik lezyonların istatistiksel analizi.	52
Tablo 4.9.	Ondördüncü gündeki histopatolojik lezyonların istatistiksel analizi.	52
Tablo 4.10.	Yedinci gündeki immunohistokimyasal bulguların istatistiksel analizi.	53
Tablo 4.11.	Ondördüncü gündeki immunohistokimyasal bulguların istatistiksel analizi.	53

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
μ	: Mikron
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
cm	: Santimetre
dk	: dakika
DTM	: Dermatofit Test Mediumu
EM	: Elektron Mikroskop
H&E	: Hematoksilen ve Eozin Boyama
IL	: İnterleukin
KOH	: Potasyum Hidroksit
LFPM	: Laktofenol Pamuk Mavisi
M.Ö.	: Milattan Önce
Mn	: Manganez
PAS	: Periyodik asit–Schiff Boyama
pH	: Potansiyel Hidrojen
SDA	: Sabouraud Dekstroza Agar
Str.	: Stratum
TDT	: Dikarboksilat Taşıyıcı
TGF-α	:Dönüştürücü Büyüme Faktörü α
TNF-α	: Tumor Nekroz Faktörü α
TruSsu1	: Trichophyton rubrum'dan alınan Ssu1 geni
Zn	: Çinko
β-FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü β

ÖZET

Sığır Dermatofitozisinde Haşhaş Yağının Tedavi Edici Etkisinin Patolojik Yöntemlerle Araştırılması

Bu çalışmada sığırlarda dermatofitozisin tedavisinde haşhaş yağı (*Papaver somniferum*) kullanımının etkinliği Pomad salisilik ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Çalışmada her grupta 7 hayvan olacak şekilde toplamda 21 hayvan kullanıldı. Klinik olarak derilerinde mantar enfeksiyonu bulunan bir işletmedeki holstein ırkı sığırlardan deri kazıntısı alınarak mikolojik yoklama yapıldı. Sonrasında 14 gün süreyle bir gruba haşhaş yağı, diğer gruba ise pomad salisilik topikal olarak uygulandı. Kontrol grubu hayvanlara ise deri kazıntısı haricinde herhangi bir uygulama yapılmadı. Tüm gruplardaki hayvanların makroskobik bulguları kaydedildikten sonra lezyonlu bölgelerinden 7. ve 14. günlerde deri biyopsisi alınarak histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak incelendi. Dokulardaki yangısal değişiklikler günlere göre değerlendirilerek semikantitatif analizleri yapıldı. Lezyonlu bölgelerdeki etken varlığı, PAS ve Grocott Methenamine Silver yöntemleriyle gösterildi. Çalışma sonunda 7. günde her iki grupta subepidermal doku ve dermiste yangısal hücre infiltrasyonlarının arttığı, folliküler hiperplazinin daha da belirginleştiği ve kıl folliküllerindeki etkenlerin yoğunluğunun azaldığı gözlemlendi. 14. günde ise subepidermal ve dermal yangının şiddetinin azaldığı, çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinin normal yapı ve strüktürüne yakın biçimde iyileştiği ve etkene ait yapıların ya çok az ya da hiç gözlenmediği tespit edildi. Anti-CK16 immunohistokimyasal boyamada her iki grupta da değişen derecelerde birbirine yakın immun-pozitif reaksiyonlar görüldü ve reaksiyonların 14. günde artarak devam ettiği belirlendi. Sonuç olarak haşhaş yağının trikofitosizli hayvanlarda pomad salisilik yerine kullanılabilecek kolay kullanım ve ekonomik anlamda uygun bir alternatif olabileceği düşüncesine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Haşhaş yağı (*Papaverus somniferum*), İnek, Mikotik dermatitis, Patoloji.

ABSTRACT

Investigation of the therapeutic effect of poppy oil in bovine dermatophytosis by pathological methods

In this study, the effectiveness of the use of poppy oil (*Papaver somniferum*) in the treatment of dermatophytosis in cattle was evaluated and compared with Pomade salicylic. A total of 21 animals were used in the study, with 7 animals in each group. Skin scrapings were taken from Holstein cattle in a farm with clinical fungal infection on their skin, and mycological examination was performed. Afterwards, poppy oil was applied topically to one group and salicylic pomade to the other group for 14 days. On the other hand, no application was made to the control group animals except for skin scraping. After recording the macroscopic findings of the animals in all groups, skin biopsy was taken from the lesioned areas on the 7th and 14th days, and histopathologically and immunohistochemically examined. Inflammatory changes in tissues were evaluated according to days and semi-quantitative analyzes were performed. The presence of the agent in the lesioned areas was demonstrated by PAS and Grocott Methenamine Silver methods. At the end of the study, on the 7th day, it was observed that inflammatory cell infiltrations in the subepidermal tissue and dermis increased in both groups, the follicular hyperplasia became more pronounced and the density of the agents in the hair follicles decreased. On the 14th day, it was determined that the severity of the subepidermal and dermal inflammation decreased, the stratified squamous epithelium and hair follicles healed close to the normal structure and structure, and the structures belonging to the agent were either less or not observed. At the anti-CK16 immunohistochemistry, that immune-positive reactions were observed at varying degrees in both groups and the reactions continued to increase on the 14th day. As a result, it was concluded that poppy oil can be a viable alternative to Pomade salicylic because of its easy-to-use and economic advantages in animals with trichophytosis.

Keywords: Poppy oil (*Papaverus somniferum*), Cow, Mycotic dermatitis, Pathology.

1. GİRİŞ

Dermatofitozis, evcil hayvan ve insanlarda sıkça görülen deri ve eklemi bezlerine yerleşen mantar enfeksiyonları için kullanılan bir terimdir. Çok katlı yassı epitelin keratinize kısımlarına yerleşir. Konakçı olarak, insan, sığır koyu, keçi, kedi köpek at ve domuzlar başta olmak üzere yabani ve laboratuvar hayvanlarını seçer (Hunt ve ark., 1997; Hazıroğlu ve Milli, 2000). Belirli yaş ve cinsiyet yatkınlığı bulunmamakla beraber genellikle genç ve zayıf immuniteye sahip konakçılar etkilenir. Dört yaşın altındaki genç atlarda sıklıkla gözlenmektedir. Diğer türlerde olduğu gibi köpeklerde de genç ve immun sistemi yetersiz yaşlı olanlar etkilenir. Hastalığın oluşumunda; kötü bakım şartları, dengesiz ve yetersiz beslenme, hayvanların sıkışık olarak barınması ve yaş faktörleri etkilidir. Ph' nın alkaliye kaydığı durumlarda, özellikle sıcak ve nemli havalarda daha sıklıkla görülmektedir (Yarsan ve Durgut, 2002).

Kronik seyirli ve inatçı hastalıkların tedavisi ya da uzun süreli antibiyotik kullanımı da diğer bir predispoze faktördür. Bunların yanında hayvanların bağlama ve koşum takımlarının irkiltasyonu, dikenli ve çalılık yerlerde otlayan hayvanlarda deride oluşan sıyrıklar ile kırkım yaraları hastalığın yerleşimi için fırsat sunar. Havasız ve sıkışık bir şekilde kapalı ortamda tutulan hayvanlar arasında yayılma daha kolay olmaktadır (Scott, 2009).

Hayvanlarla temas halinde bulunan insanlarda da görülmesi nedeniyle zoonotik bir deri hastalığıdır. Halk arasında "Pullu kellik" olarak da bilinir. Enfekte hayvanlarda, kaşınma, hipersensivite ve sekonder enfeksiyonlarla komplike olması nedeniyle çok yaygın olduğu durumlarda ciddi verim kayıplarına neden olur. Dermatofitozise yakalanan sığırlarda gelişme geriliği, deri yapısının bozulması, kilo kaybı ve tedavi masraflarının pahalı olması hastalığın sebep olduğu önemli ekonomik kayıp nedenleri arasında sayılabilir. Ayrıca hastalıklı koyunlar satılma sırasında kötü bir görünüm sergilediğinden besili koyunların bile kolaylıkla satılmasını engeller (Gudding ve Lund, 1995; Gökçe ve ark., 1999; Scott, 2009).

Etkenler insan ve hayvan derilerinde yaşıyan belirli koşullarda lezyon şekillendiren birçok türü içerir. Microsporum ve Trychophyton türleri genellikle insan ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturur. İnsanlarda Epidermophyton adında enfeksiyon oluşturabilen üçüncü bir türde mevcuttur. Enfeksiyon oluşması için enfekte bireyler veya kontamine materyallerle temas edilmesi gerekmektedir. Hayvanlar insanlardaki enfeksiyon için rezarvuar konaktır. Aynı zamanda insanlarda hayvanlara enfeksiyonu aktarabilir. Birincil olarak enfekte olan insanlar “anthropophilic” hayvanlar ise “zoophilic” olarak isimlendirilir. Üçüncü bir grup olan “geofilic” ise topraktaki saprofitlerdir ki bunlar nadiren insan ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturabilen türlerdir. Dermatofitozlar genel olarak hayvanlarda “ringworm” , insanlarda ise “tinea” olarak katagorize edilir. Hastalık klasik kitaplar dahil olmak üzere bir çok kaynakta dermatomycoses, ringworm, favus, tinea, superfecial mycoses olarak da bilinir (Carlton ve McGavin, 1995; Hunt ve ark., 1997; Hazıroğlu ve Milli, 2000).

Dermatofitozlar kılların altı ve üstünde üremesiyle karakterizedir. Epiderminin stratum corneum tabakası, kıl folikülleri ve tırnaklara yerleşir. Enfeksiyon derinin derin bölgelerine yayılmaz. Lezyonlu bölgelerde organizmalar septumlu hifa veya miselyumlu formlardan oluşan tek veya zincirler halindeki arthrosforlar (konidyofor) şeklinde gözükdir. Mantar invitro ortamda tanıda önemli bir kriter olan makro ve mikro conidiaları üretir ancak bu conidialar normalde dokularda üretilmez (Hunt ve ark., 1997).

Kıllarda iki ana büyüme formları olan ectothrix ve endothrix gelişim evreleri görülür. Bunlardan ectothrix formundaki dermatofitler kılların dış kısmında bulunur ve artrosporları yardımıyla kılların içine doğru yaptıkları misel istilasını ile karakterizedir. Endothrix formu ise kılların içinde bulunan misel ve artrosporlarından oluşur. Patojen olan üreme formu tüm konakçılarda ectothrix tiptedir (Hunt ve ark., 1997).

Dermatofit lezyonları kıllar, tırnaklar, dermis ve epidermis ile sınırlıdır. Mantarlar stratum corneum ve kıllar üzerinde ürer. Birbirine yapışmış tabaka

halindeki kıllarda sıklıkla mantar kolonileri görülür. Çoğalmaları mantarın türüne ve enfekte ettiği konakçıya göre değişkenlik gösterir (Hunt ve ark., 1997).

Bu çalışmanın amacı sığır dermatofitozisinde haşhaş yağının lokal kullanımındaki etkinliğinin patolojik yöntemlerle araştırılmasıdır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dermatofitozis

2.1.1. Etiyoloji

Mantarların pH değerleri 2-11 arasında değişiklik gösterebilmektedir ve düşük pH değerlerinde bile ortama adapte olarak kolay bir şekilde üreyebilirler. Genellikle mantarlar gelişim ve üremelerini oksijenin bulunduğu ortamlarda yaparlar ve aerobik karakterdedirler. Direk ışık gereksinimi duymazlar, güneş ışınlarına direk maruz kalmaları gelişme ve üremelerini sınırlar. İyonizan ışınlar fungisid, ultraviole ışınlar fungistatik etki yapmaktadır (Arda, 2000).

Dermatofitozis enfeksiyonları bütün ırk ve yaş gruplarında görülebilir. Mantar enfeksiyonlarının inkubasyon periyodu 7-10 gün arasındadır (Weitzman ve Summerbell, 1995). Patojenik mantarlar miselya, maya benzeri, membranöz (*T. verrucosum* gibi bazı dermatofit mantarları), pleomorfik, granüler tarzda koloniler oluşturmaktadır (Arda, 2000).

Mantarların hücre duvarları fibriler ve multi laminar (çok katlı) özelliktedir. Bunlar duvarın sağlamlığını artırır. Septumlu hifalar hücre duvarına sahiptir. Ayrıca yapısında protein ve polisakkaridler de bulunmaktadır. Galaktoz, kitin, kitonaz, mannan, glukoz ve selüloz en çok bulunan polisakkaridlerdendir. Septum ise yapı olarak hücre duvarına benzemekle birlikte hücre duvarının iç kısmından orijin alır. Stoplasmik membran ise ünite membran özelliği gösterir. Hücre duvarı altında üç tabaka bulunur. Ayrıca mantar hücrelerinde lomasom, endoplasmik retikulum, vakuol, mitokondri, golgi aparatı, nukleus, ribozom gibi organeller bulunur. Giemsa boyamalarda çekirdek kolayca görülebilmektedir (Arda, 2000).

Şimdiye kadar 42 dermatofit türü tanımlanmıştır (Babel ve Rogers, 1983). En önemli türleri Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Dermatofit türlerinin etiyolojik sınıflandırması (Hunt ve ark., 1997)

Microsporum Genusu	Konakçı	Kökeni
M.canis	Köpek, kedi, koyun, buzağı, maymun İnsan	Zoofilik
M. audouinii	İnsan, köpek ve maymun	Antropofilik
M. gypseum	İnsan, köpek, kedi, at, domuz	Geofilik
M. nanum	Domuz	Zoofilik
M. distortum	Köpek, kedi, maymun	Zoofilik

M: Microsporum.

Tablo 2.2. Dermatofit türlerinin etiyolojik sınıflandırması (Hunt ve ark., 1997)

Trichophyton Genusu	Konakçı	Kökeni
T. mentagrophytes	İnsan, köpek, kedi, sığır, koyun, keçi, at, fare, rat, tilki, şinşilla, tavşan, kobay, maymun	Zoofilik
T. rubrum	İnsan, köpek, tilki, maymun, fare, sincap	Antropofilik
T. tonsurans	İnsan	Antropofilik
T. schoenleinii	Kedi, fare, rat, tavşan, insan	Antropofilik
T. concentricum	İnsan	Antropofilik
T. violaceum	İnsan	Antropofilik
T. verrucosum	Sığır, at, koyun, köpek, insan	Zoofilik
T. megninii	İnsan	Antropofilik
T. equinum	At, sığır, insan	Zoofilik
T. gallinae	Tavuk, hindi, insan	Zoofilik

T: Trichophyton.

Tablo 2.3. Dermatofit türlerinin etiyolojik sınıflandırması (Hunt ve ark., 1997)

Epidermophyton Genusu	Konakçı	Kökeni
E. floccosum	İnsan	Antropofilik

E: Epidermophyton.

Hifa adı verilen ve türlere göre uzunluk (1-3cm) ve çapları değişmekle beraber saydam, uzun ve ince yapılardaki mantar kolinilerinin oluşturduğu yapıdır. Hifalar septumlu, septumsuz ve septumlu branşlı olmak üzere 3'e ayrılırlar. Dermatofitlerinde içinde bulunduğu miselyal kolonilerin morfolojilerine bakılırsa; genellikle reproduktif ve aerial hifalardan oluşmaktadır (Arda, 2000).

2.1.2. Tarihçe

Dermatofitlerle ilgili ilk kayıtlara M.Ö. 2000-1000 yılları arasında rastlanmaktadır. Samhita adlı Hindu yazıtı ayakta oluşan bir mantar enfeksiyonundan bahsetmektedir (Yücel, 1999). Bıyık (2008), Dermatofit enfeksiyonlarını Yunanlıların “herpes” Romalıların böceğe benzediğinden “tinea” olarak adlandırdıklarından bahsetmiştir. Günümüzde “ringworm” ve “tinea” adlandırmaları sıklıkla kullanılmaktadır (Hunt ve ark., 1997). Mikotik dermatitisin geçmişi oldukça eski olmakla birlikte Yavuz (2013), yaptığı bir çalışmada ilk kez Gruby adında bir araştırmacının 1841 yılında dermatofitoza neden olan mantarı izole ettiği ve patates dilimi üzerinde kültürünü yapıp sağlıklı deriye inoküle ederek deneysel hastalık oluşturmayı başardığını aktarmıştır.

Bıyık (2008), dermatofitlerin topical tedavisini içeren bilgilere ilk kez 1847 yılında Charles Robin tarafından yazılan “Histoire Naturelle des Végétaux Parasites” adlı bir kitapta ulaşılabildiğini belirtmiştir. Dermatofitozis’in teşhis ve tedavisine yönelik klinik, patolojik, immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik olarak oldukça fazla çalışma yapılmıştır (Ito ve ark., 1969; Kırmızıgül ve ark., 2009; Pisa ve ark., 2016).

Yarsan ve Durgut (2002), yaptıkları bir survey çalışmada ülkemizde *Trichophyton verrucosum*, *Microsporum gypseum*, *M. canis*, *Trichophyton mentagrophyes* ve *M. equinum* türlerini izole etmişlerdir.

2.1.3. Epidemiyoloji ve Patogenezis

Dermatofitler proteolitik enzimleriyle yayılırlar. Sınırlı olarak derinin keratinli tabakalarına yerleşir. Canlı dokulara yayılamazlar. Konakçı parazit uyumu ne kadar iyiye deri reaksiyonu o kadar az olur. Uyumun düşük olduğu durumlarda ise immünolojik ve yangısal reaksiyona yol açarlar. Keratinaz, elastaz ve kollegenaz gibi hücre dışı proteinazlar dermise geçerek reaksiyonu başlatırlar. Enfekte kılların deri sıyrıklarına sürülmesiyle deneysel olarak dermatofitozis oluşturulabilir. *M. canis* gibi türler, lezyonların belirgin olmadığı, konakçının hayvan türüne iyi uyum gösterdiği durumlarda insanlar için zoonotik bulaşma kaynağıdır (Hazıroğlu ve Milli, 2000). Dermatofitozisler sıkışık barınma koşulları ve gaita ile de bulaşırlar. Yapılan araştırmalarda mevsimin etkisinin dermatofitoz için önemli olduğu belirtilmiştir. Dermatofitoz olaylarının köpeklerde yazın, kedilerde ise sonbaharda arttığı gözlemlenmiştir (Çiftçi ve ark., 2005).

Kırmızıgül ve ark. (2009), yaptıkları bir çalışmada Kars yöresinde havanın soğuk ve kış mevsiminin uzun sürmesinden dolayı ahırlarda daha uzun süre, sıkışık ve elverişsiz ortamlarda barındırılan hayvanlarda dermatofitozise yakalanma sıklığının arttığını belirtmişlerdir. Dünyada yaygın olarak görülen Zoofilik dermatofitoz, özellikle sığırlarda önemli halk ve hayvan sağlığı sorunudur. Sığırlarla temas halindeki kişilerde dermatozoonotik enfeksiyonların görülme oranının yüksek olduğu kanıtlanmıştır (Aghamirian ve Ghiasian, 2009).

Konakçı mantar ilişkileri oldukça karmaşık olmakla beraber halen tam olarak açıklanamamıştır (Vermout ve ark., 2008). Enfeksiyöz süreçte, dermatofitlerin konağın doğal savunma mekanizmalarının üstesinden gelmesi gerekir. Organizmanın ilk savunması enfeksiyonları önler, ancak etkenler doku yüzeyinde kolonize olur. Derinin fiziksel ve kimyasal yapısı, ultraviyole ışığına sürekli maruz kalma, sıcaklık, nem eksikliği ve normal flora varlığı, patojenik mikroorganizmaların büyümesini

zorlaştırır. Organizmanın yüzeysel bölgelerini etkileyen enfeksiyöz ajanlara karşı önemli bir savunma mekanizması keratinizasyondur. Keratinositler alttan gelen epitel üremeleriyle sürekli yenilendiğinden üst kısımdaki keratinize tabaka sürekli olarak dökülür. Bu da biriken mantar kolonilerini temizler. Bu nedenle, patojenin epidermise ulaşması için, doku yüzeyine yapışması gerekir. Deri içerisine girebilmesi için artroconidium filizlenmeli, hifa hızla stratum corneum'a girmeli ve mantarın epitel dökülmesi ile elimine edilmesi önlenmelidir. Dermatofitoz patogeneğinde, artroconidia ve stratum corneum arasındaki ilk etkileşim temastan 3 ila 4 saat sonra gerçekleşir. Ex vivo insan derisi enfeksiyonundan on iki saat sonra, *T. mentagrophytes* microconidia dış tabakaya implante edilmiş görünmektedir ve çimlenme 24 saat içinde gerçekleşmektedir (Vermout ve ark., 2008).

Yakın zamanda, *T. mentagrophytes* artroconidia'nın stratum korneum yüzeyine yapışması sırasında, artrokonidiumu tutturduğu ve artrokonidiumu doku yüzeyine bağlanan uzun fibril yapılarının şekillendiği gösterilmiştir. Bu olayın mantarın konak dokusundan ayrılmasını da önleyebildiği düşünülmektedir. Bununla birlikte, epidermisin daha derin katmanlarının enfeksiyonu sırasında, fibril yapıların artarak kısaldığı ve artrokonidiumun tüm yüzeyini kapladığı belirlenmiştir. Bu durum, doku ile temas yüzeyini arttırarak daha fazla yapışma ve besin alımını mümkün kılmaktadır. Bazı araştırmacılar, stratum corneum'a yapışmaya ek olarak bu fibriller yapıların bitişik artroconidia arasındaki bağlantıyı mümkün kıldığını, bir biyofilm geliştirerek veya bir artroconidia kompleksi oluşturarak bir hücre içi iletişim mekanizmasını teşkil ettiklerini savunmuşlardır (Kaufman ve ark., 2007; Vermout ve ark., 2008).

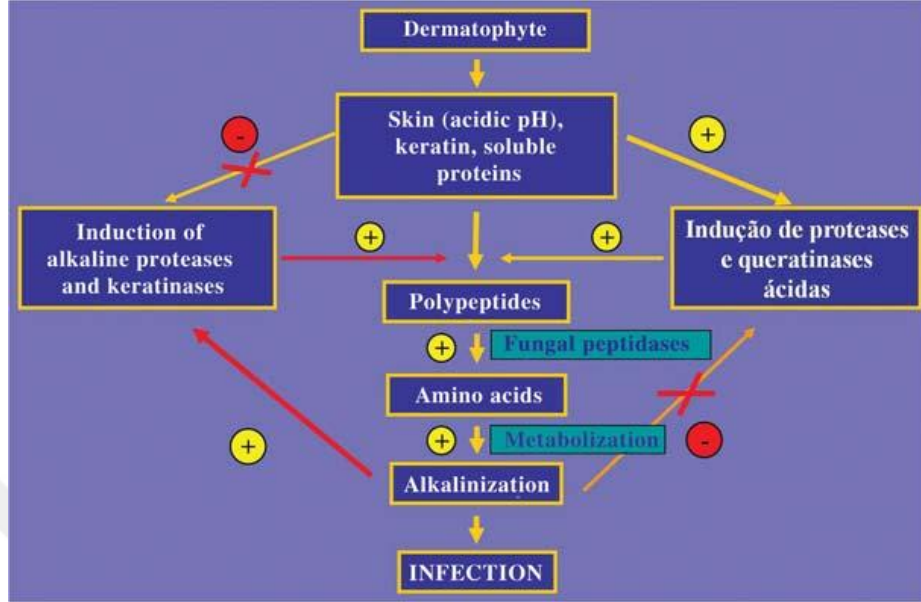
Yapışmanın ardından dermatofitlerin, konak dokuda mevcut olan makromolekülleri bir karbon, azot, fosfor ve kükürt kaynağı olarak gelişim ve hayatta kalmak için kullanır. Bununla birlikte, sitoplazmik membranın seçiciliği, protein, nişasta, selüloz ve lipidlerin hücrenin içine taşınmasını önler. Çünkü bu moleküllerin kullanılması için onları membranlara nüfuz edebilecek daha küçük bileşiklere indirgemesi gerekir. Farklı substrat özelliklerine sahip salgılanan hidrolitik enzimler bu molekülleri parçalar. Bu nedenle, proteaz, lipaz, elastaz, kolajenaz, fosfataz ve esterazlar gibi dermatofitlerin çok çeşitli enzimlerinin

salgılanması, bulaşıcı işlem sırasında en önemli faktörlerden biridir (Brauta ve ark., 2002; Leng ve ark., 2008; Vermout ve ark., 2008).

Bu enzimatik mekanizma, epidermal dokunun yapısal bileşenlerinin hidrolizine ve patojen dermatofitlerin istilacı karakterine izin veren en iyi virülans faktörlerinden biridir. Proteolitik enzimler dermatofitlerin salgıladığı çeşitli enzimler arasında en çok incelenen ve patojenite üzerindeki önemi en iyi bilinendir. Aseptomatik kedi ve köpeklerden izole edilen *M. canis* türlerinin, daha yüksek bir keratinolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Gine domuzlarındaki keratinolitik aktivitenin dermatofitin patojenitesi ile doğrudan ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Vermout ve ark., 2008). Keratin, disülfid köprüleri ve asetamid bağları ile stabilitesini sağlayan sistein bakımından zengin, yüksek moleküler ağırlıklı fibröz bir protein molekülüdür. Bu protein insanlar ve diğer hayvanlar tarafından üretilir. Korunma ve örtme işlevine sahip olan derinin, ana bileşenidir (Baldo ve ark., 2008).

Dermatofitlerle salgılanan keratinazlar, konak dokuda mevcut olan keratinin, mantar tarafından özümmlenebilecek oligopeptidlere veya amino asitlere ayrışmasını katalize eder. Bununla birlikte, bu enzimler keratinize dokuları oluşturan kompakt keratin ağı içindeki disülfid köprülerinin azaltılmasından önce hareket edemezler. Yakın zamanda, *T. rubrum*'da bu azalmanın, tellürit direnci / dikarboksilat taşıyıcı (TDT) ailesine ait TruSsu1 geni tarafından kodlanan bir sülfid akış pompasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Bu taşıyıcı tarafından sülfid sekresyonu, sistein ve S-sülfosisteinin keratininde bulunan sistinin bölünmesine izin verir. Bu durum da onu endo ve ekzoproteazların etkisine erişebilir hale getirir. Aynı zamanda detoksifikasyon için bir yol olarak çalışır. Proteolitik enzimlerin, derinin protein bileşenlerini bozduğunu ve stratum korneumda penetrasyon sürecine yardımcı olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, dermatofitlerin doku istilası sırasında epidermal hücre dışı matriks bileşenlerinin varlığına yanıt olarak proteazlar üretmesi ve salgılanması gerekir. Bu proteazların uyarılması, bu mantarların immün sistemi baskılanmış bireylerde dermal elastin gibi daha derin deri katmanlarının bileşenlerini bozma potansiyeline katkıda bulunabilir. Bazı yazarlar dermatofitlerin salgıladıkları proteazların, bu patojenlerin konak dokuya etkin bir şekilde yapışması için

kolaylaştırdığını ve hatta gerekli olduğunu öne sürmektedir (Baldo ve ark. 2008; Vermout ve ark., 2008). Dermatofitozilerin patogenezi Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Dermatofitozis enfeksiyonlarının patogenetik şeması (Peres ve ark., 2010).

Dermatofitlerin salgıladığı proteazların yapısı, sadece keratin bariyere rağmen besin sağlamayı değil, aynı zamanda immün tepkisini tetikleyip modüle etmenin yanı sıra, mantar dokusunda mantarın hayatta kalmasını ve enfeksiyonun evrimini de belirler. Lezyonların şiddetinin (akut enfeksiyon), enfeksiyonun yayılımıyla doğru orantılı olduğu bilinmektedir; bu nedenle keratinazlar ve oluşturduğu doku hasarının, yangısal yanıtı tetikleyebileceği ve sonuç olarak immün yanıtını aktive edebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte *T. rubrum*'da proteolitik aktivitenin, diğer faktörlerin yanı sıra, serbest aminoasitlerin mevcudiyeti ile bastırıldığı ve asidik pH'da optimum aktiviteye sahip proteazların, dermatofitlerin önemli virülans faktörleri olduğu bildirilmiştir (Tsuboi ve ark., 1989).

Martinez-Rossi ve ark. (2004), yaptıkları bir çalışmada dermatofitozların enfeksiyöz sürecinde nötral pH ile proteolitik enzimlerin düzenlenmesi için bir model ortaya koymuştur. Enfeksiyonun erken aşamalarında, asidik pH'da optimum aktiviteye sahip spesifik olmayan keratinazların ve proteazların sentezini

baskılamaktadır. Mantarlar keratinoyumlu veya olmayan substratlardan aminoasitlere hidrolize ederek karbon, azot ve kükürt üretir. Bazı aminoasitlerin metabolize edilmesi, konağın mikro ortamının alkalileşmesini arttırır, bu da enfeksiyonun korunmasını sağlar. Ancak bu durumun *T. rubrum*'un, gen dizilimini modüle edilerek nötr pH'daki değişikliklere hızlı bir şekilde uyum sağladığı belirlenmiştir. Bu mekanizma, dermatofitlerin proteinleri geniş bir pH spektrumunda besin kaynağı olarak kullanmalarına izin verir. Böylece konakçı dokuda dermatofitin tamamen yerleşmesi, gelişmesi ve kalıcılığı mümkün olur (Maranhão ve ark., 2007; Silveira ve ark., 2010).

Çalışmalar, keratindeki gelişiminin protein degradasyonunun bir şekilde pacC geni tarafından düzenlendiğini ve alkali pH'da optimum aktiviteye sahip proteazların salgılanmasını engellediğini göstermektedir. Ayrıca, pH sinyalleme ve izleme yolları, dermatofit virülans faktörleri olarak düşünülebilir ve enfeksiyonun gelişmesine ve korunmasına izin verebilir (Ferreira-Nozawa ve ark., 2006).

Konak dokuda bulunan diğer önemli bileşenler, dermatofitozların patogeneğinde mantar dışı hücre enzimlerinin hedefi olan lipitlerdir. Yapılan bazı çalışmalar, *E. floccosum*, *M. canis*, *T. mentagrophytes* ve *T. rubrum*'un gibi dermatofitlerin farklı lipid agar kaynaklarında kültürlendiklerinde lipolitik aktivite gösterdiğini göstermiştir (Ogawa ve ark., 1998; Tani ve ark., 2007).

Dermatofit veya metabolitleri konak dokuda keratinositler tarafından doğal bir immün tepkiye neden olur, böylece immün tepki mekanizmalarını veya mediatörleri aktive eder. Bununla birlikte, dermatofitozlarda immün yanıt, spesifik olmayan mekanizmaların yanı sıra, hümmoral ve hüccresel bir yanıtın gelişimini kapsar. Araştırmalar, Trichophyton ile enfekte olmuş kişilerin duyarlılık testlerinde erken veya geç aşırı duyarlılık reaksiyonu gösterebilir. Bazı hastalarda hücre aracılı immün yanıt bastırıldığında tekrarlayan ve kronik bir enfeksiyon gelişimine neden olduğu kabul edilmektedir (Tani ve ark., 2007).

Keratinositler, epidermiste sayıca en fazla olan hücredir ve mikroorganizmalara karşı fiziksel bir bariyer oluşturur. Bununla birlikte büyüme

faktörleri (bFGF-temelli Fibroblast Büyüme Faktörü, TGF-a-Dönüştürücü Büyüme Faktörü; TGF-y; TNF-a-Tümör Nekroz Faktörü), İnterlökinler (IL-; 1, IL-3, IL-6, IL-7, IL8) ve komplement uyarıcı faktör gibi kimyasal mediatörleri uyararak immün tepkiye aracılık ederler (Wagner ve ark., 1995; Tani ve ark., 2007). Keratinositler tarafından üretilen IL-8 ve lökotrien B4 gibi kemotaktik faktörler, uygun uyarıcılara cevap olarak dermatofitik lezyonlarda yangısal bir tepkiye neden olabilir. *T. mentagrophytes* tarafından indüklenen IL-1a seviyeleri, *T. rubrum* tarafından indüklenenden daha yüksektir. Yapılan bir araştırmada epidermis *T. mentagrophytes* tarafından enfekte olduğunda nötrofillerin birikmesi ile karakterize akut enfeksiyonların, *T. rubrum*'un neden olduğu enfeksiyonlarında ise mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterize kronik enfeksiyonun olduğu belirtilmiştir (Ogawa ve ark., 1998).

Son çalışmalar, keratinositlerin, farklı dermatofit türleri tarafından uyarıldığında farklı bir sitokin ekspresyon profiline sahip olduğunu göstermiştir. Bir zofilik dermatofit ve *T. mentagrophytes*'lerin teleomorfı olan *Arthroderma benhamiae*'nin, oluşturduğu enfeksiyonlarda keratinositler tarafından eksprese edilen çeşitli sitokinlerin tipik bir yangısal yanıtın geliştirilmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, bazı yazarlar, bu hücrelerin, bir Antropofilik dermatofit olan *T. tonsurans* ile temas ettiğinde, bu türlerin neden olduğu lezyonlarda daha düşük bir yangısal yanıtın oluşumuna neden olan bir sitokin ekspresyonu gösterdiğini doğrulamaktadır. Bazı yazarlar ise, aynı zamanda, bu türlerin neden olduğu enfeksiyon sırasında indüklenen enflamatuar tepkilerin yoğunluk farkını açıklamış, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* ve *T. tonsurans* tarafından enfekte edilmiş keratinositlerin sitokin ekspresyon profillerinin farklı olduğunu ortaya koymuşlardır (Ogawa ve ark., 1998; Tani ve ark., 2007). Bu nedenle, bu çalışmalar keratinositlerin, konağın derisini etkileyen patojenlere karşı immün tepkisinin geliştirilmesine, farklı virülans faktörlerinin tanınmasına ve aldıkları uyarana göre bu tür tepkilerin düzenlenmesine katkıda bulundukları hipotezini güçlendirmiştir.

Bununla birlikte, dermatofitler, konağının savunmasına cevap olarak yangısal yanıtı ve hücre proliferasyonunu azaltan maddeler üretir. Mantar hücre duvarının bir glikoprotein bileşeni olan Mannan'ın, enflamatuar yanıtın

baskılanmasında rol oynadığı görülmektedir. *T. rubrum*'dan elde edilen Mannanın, mononükleer hücreler ile inkübe edilmesi halinde, lenfoblast oluşumunun baskılanması, mitojenler ve çeşitli uyarılara karşı enflamatuar tepkinin inhibe edilmesine yol açtığı belgelenmiştir (Blake ve ark., 1991). Bu bileşen ayrıca, kalıcı bir kronik enfeksiyonun kurulmasını sağlayan keratinositlerin çoğalmasını da engeller. Ayrıca, farklı dermatofit türlerinden alınan mannanlar, hücre aracılı immün yanıtın inhibisyonu üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir. *T. rubrum*'da, mannan daha fazla miktarlarda üretilir ve *M. canis* tarafından üretilen mannan ile karşılaştırıldığında, lenfoproliferasyonun inhibisyonu daha yoğundur. *T. rubrum*'dan salgılanan bu mannanın hücre proliferasyonunu inhibe etme konusundaki daha yüksek üretim ve potansiyelin, bu türlerin neden olduğu enfeksiyonlarda kronik ve daha az alevlenmiş inflamasyonun gelişmesine katkıda bulunan bir başka faktör olabileceğini ve ayrıca neden olduğu ciddi enflamatuar reaksiyonu açıklayacağını göstermektedir (Blake ve ark., 1991; Peres ve ark., 2010).

M. canis enfeksiyonlarında konak-dermatofit etkileşimi üzerine yapılan araştırmalar, birçok faktörün enfeksiyonların yoğunluğuna ve şiddetine katkıda bulunduğunu ve keratinositler tarafından immün yanıtın uyarılmasının ayrıca enfeksiyonu kontrol eden immün yanıtı da etkilediğini göstermektedir. Bununla birlikte, konakçıya dermatofit adaptasyonunda yer alan moleküler mekanizmalar ve dermatofit enfeksiyonlarını kontrol eden immün tepkilerin doğası açıkça anlaşılmamıştır. Ev sahibi-dermatofit etkileşimleriyle ilgili moleküler çalışmalarda kullanılan enfeksiyon modelleri sınırlıdır. İn vivo enfeksiyonun değerlendirilmesi, antropofilik ve zoofilik türlerle yapılabilinmektedir. Yapılan araştırmalar, konakçı moleküllerinin hayatta kalmak için kullanan dermatofitlerin moleküler stratejilerinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunmuştur. Bu çalışmalar aynı zamanda antifungal ilaçların geliştirilmesinde yeni hedefler olarak değerlendirilmesi gereken ilginç genleri ortaya koymaktadır (Zaugg ve ark., 2009).

Yapılan araştırmalar zamanla bulundukları yüzeyde sporların artması sonucunda çimlenme ve istila faaliyetleri ile büyüyen hiphaların derinin yüzeysel dokularına nasıl yapıştığı ve istila ettiğini açıklığa kavuşturmuştur.

Dermatofitozislerin sert keratin yüzeylerde büyümesini sağlayan etkinin keratin ağını sindiren proteazlar olduğu artık yerleşik bir bilgidir (Vermout ve ark., 2008).

Bu nedenle dermatofitler keratinize dokularda disülfür köprülerinden önce hareket edemedikleri için kompakt protein ağı içerisinde oluşurlar (Kunert, 1992). Mantar etkenlerinin deriye yerleşiminin mantar önleyici Ssu1 geni tarafından kodlanan sülfat akış pompasına bağlı olduğu gösterilmiştir. Mantarları önlemek için yeni bir yöntem olarak Ssu 1 geni kullanılarak proteinlerin (sülfat) sülfatolizine dönüşümü engellenip keratinositlerde erimeye yol açan proteazların ortadan kaldırılması çalışmaları yapılmıştır (Marzluf, 1997; Scazzocchio, 2000; Lechenne ve ark., 2007; Vermout ve ark., 2008).

2.1.4. Klinik Bulgular

Klinik bulgular mantar etkeninin yerleştiği konağın immun sistemine ve etkenin türüne göre değişiklik gösterirler. İnsanlarda yangısal reaksiyonlara yol açan dermatofitler “kerion” denilen geniş püstüler lezyonlar oluşturur (Çiftçi ve ark., 2005).

Paksoy ve ark. (2013), yaptıkları bir araştırmada lezyonları genellikle hayvanların baş ve boyun bölgesinde olmakla birlikte vücudun değişik bölgelerinde yuvarlak, kuru, kabarık, kepekli ve asbest görünümünde dermatofit lezyonlarına rastlamışlardır. Aghamirian ve Ghiasian (2009), dermatofitozisli ineklerde yaptıkları bir araştırmada, baş, boyun, gövde, kuyrukta görülen yaygın ya da sınırlı pullu alopesi, eritem ve / veya geniş grimsi beyaz tüysüz yama şeklindeki deri reaksiyonlarının tahmin edilenin tersine nadiren kaşıntılı olduğunu ve 3 aydan fazla devam ettiğini bildirmişlerdir.

Atlarda genel olarak sırt ve bel bölgeleri ile omuz ve boyun da bulunur. Ayrıca bacaklar, abdomen ve toraks ta lezyonlara rastlanabilir (Hazıroğlu ve Milli, 2000). Buzağılarda göz çevresi ve baş bölgesinde, ineklerde genellikle toraks ve bacak bölgesinde, boğalarda ise gerdan, boyun ve çene altında görülür. Koyun ve keçilerde lezyonlar kabuklu ve alopesiktir. Yüz gibi kıllı bölgelerde, baş, boyun ve

kulaklarda olduğu gibi vücudun bütününe de etkileyebilir. Lezyonlar diffuz veya multifokal olarak şekillenebilir, ancak genellikle yersel lezyonlar gözlenir. Kedilerde dermatofitozis lezyonları baş, boyun ve bacaklarda görülür. Dermatofitozisler domuzlarda yaygın olmamakla beraber lezyonlar boyun, sırt ve kulakların arka kısmında görülmektedir (Hazıroğlu ve Milli, 2000).

2.1.5. Makroskobik Bulgular

Maroskobik lezyonlar asemptomatik belirgin lezyonlu olmayan formdan “kerion” adı verilen eruptif forma kadar değışen formlar gösterebilir. Özellikle tırnaklara yerleştiklerinde tırnaklar solgun düzensiz yüzeyle, kolay ufalanabilen, kırılmış ve zaman zaman kıvrılmış görünümündedir.

Derideki makroskobik lezyonlar kuru, pullu ya da kepek görünümlü kabuklar veya kaldırıldığında kırmızı soyulmuş zaman zaman kanamalı bir yüzey ortaya çıkan birbirine yapışmış kıl yumakları şeklindedir. Lezyonlar genelde dairesel odaklar halinde olabildiğı gibi vücudun herhangi bir yerine düzensiz bir şekilde yayılabilir. Hastalık “Ringworm” ismini merkezdeki iyileşen bölgelerden çevreye doğru yayılan halka şeklindeki lezyonlardan alır (Carlton ve McGavin, 1995; Hunt ve ark., 1997). Kırık ya da yangılaşmış kökleri nedeniyle dökülen kıllar nedeniyle etkilenen bölgelerde kıl dökülmeleri gözlenir (alopecia). Zaman zaman follüküler papul ve püstüller görülebilir. Hastalıkta bilinen lezyon, beyaz toprak (asbest) görünümünde düzensiz veya yuvarlak pullanmış kaşıntısız, kepekli kabarık alopesiler ile karakterizedir (Aslan ve ark., 2010; Chermette ve ark., 2008). Bazen sadece alopesi ile kendini gösterebilen asemptomatik ve lezyonsuz odaklar olarak da görülebilir (Carlton ve McGavin, 1995).

2.1.6. Mikroskobik Bulgular

2.1.6.1.Histopatolojik görünüm

Lezyonların mikroskobik görünümü rutin histolojik kesitlerde kolaylıkla gözden kaçabilecek niteliktedir. Hematoksilen & eozin (H&E) boyamalarda Str.

korneum'un kalınlaşması bazen görülen tek bulgu olabilir. Ancak Bauer Stain, PAS reaksiyonu ve Gridley fungus stain gibi bazı özel boyama yöntemleri sayesinde mantar etkenleri dokularda kolaylıkla görünür hale gelir. Şiddetli olgularda dermiste konjesyon ve lenfositik infiltrasyona eşlik epidermis hipertrofisi gözlenir. Daha şiddetli ve derinlere inen enfeksiyonlarda dermiste kıl follikülleri de etkilenir. Kıl folliküllerinin yıkımı dermisteki yangıyı daha da şiddetlendirir. Deri kazıntıları konsantre akuöz sodyum veya potasyum hidroksit solüsyonlarında temizlenerek deri veya kıllardaki etkenler mikroskop ışığı kısılarak da tanınabilir (Hunt ve ark., 1997).

Dermatofitlerin salgıladığı biyokimyasal maddeler nedeniyle stratum korneum zaman zaman bütünlüğünü kaybetmiştir. Hem salgılanan bu biyokimyasal maddeler hem de hasarlı dokulardan salgılanan kemotaktik moleküller irritasyona neden olarak yangıyı tetikler. Bu nedenle epidermal katman refleks olarak kalınlaşır. Bu nedenle hiper ve parakeratotik değişiklikler belirgindir. Epidermis dermise doğru parmakvari uzantıları ile genişleme yaparak akantotik değişikliklerin oluşumuna neden olur. Dermisteki birçok alanda perivasküler yangı hücresi infiltrasyonları görülür. Dermiste olayın şiddetine göre multifokal ya da dissemine den diffuza değişen nötrofil lökosit ve makrofaj ağırlıklı hücre infiltrasyonları görülür (Hazıroğlu ve Milli, 2000; Kırmızıgül ve ark., 2009). Olay kronikleştikçe dermiste lenfosit ve plazma hücrelerinin sayıları artar. Bazı alanlarda etrafı bağ doku ile çevrili tipik granulomatöz yangı odaklarına rastlanır. Yangıda en çok etkilenen bölge kıl kökleridir. Özellikle infundubular bölgede genişleme, follikül lümeninde kırıntı tarzında zaman zaman kazeifiye bir görünümde içerik bulunur (Carlton ve McGavin, 1995; Hazıroğlu ve Milli 2000). Follikül lümeni oldukça genişlemiş, zaman zaman dilate durumdadır. Etkilenen kıl folliküllerinde follikül epitelleri çoğunlukla hiperplaziktir. Follikül epitelleri arasında egzositozik yangı hücreleri mevcuttur. Follikül bu yangı hücrelerince çepeçevre sarılmış olup belirgin perifollikülitis gözlenir. Zaman zaman merkezi nekrotik kıl folliküllerini içeren bazen perifolliküler yangıyla alakalı oluşan etrafı bağdokuyla çevrili apse odakları gözlenir. Bu odaklar fistülleşebileceği gibi aynı zamanda ankiste olup kalsifiye olabilir. Yangı hücreleri zaman zaman epidermisin Str. corneum tabakasına doğru egzositoz yapabilir. Bu

durumda zaman zaman intrakorneal mikroapselere rastlanır (Carlton ve McGavin, 1995; Hunt ve ark., 1997; Hazıroğlu ve Milli, 2000).

2.1.6.2.İmmunohistokimyasal Bulgular

Mantar enfeksiyonlarına karşı oluşan immünolojik yanıtın ortaya konmasında birçok immunohistokimyasal teknik kullanılabilir. Bu teknikler genelde sistemik mantar enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. İmmunohistokimyasal testlerin kullanım amacı mantar enfeksiyonlarına karşı oluşan antikorların saptanması şeklindedir. Bu amaçla imunoperoksidaz ve immunofleürosan teknikleri kullanılmaktadır. İmmunohistokimyasal boyamalarda, ya direkt etkene karşı oluşturulan monoklonal veya poliklonal antikorlar ya da bazı mantar etkenlerinin yapısında bulundurduğu fungal enolaz, β -tubulin ve kitinin ortaya konması ile etken identifikasyonu sağlanabilmektedir (Pisa ve ark., 2016).

2.1.6.3.Elektronmikroskopik Bulgular

Mantar türleri Stereoscan Elektron Mikroskopunda incelendiğinde, etkenlerin gelişim formları, hifaları ve sporlarının görünümünde kayda değer farklılıklar olduğu saptanmıştır. Bu nedenle mantar türleri tek tek ele alınarak açıklanmaya çalışılmıştır (Ito ve ark., 1969).

Microsporum cookei HUT-2061 (wild, pigmented strain): Bu suşun makrokonidiumları EM’de incelendiğinde, makrokonidiumların üzerindeki hifaların siğil ya da polip benzeri görünümde oldukları görülmüştür. Genel olarak iğ şeklindeki makrokonidialar üzerlerinde çıkıntı yapan, dallanmış veya dallanmamış hifalar sayesinde birbirilerine bağlanmaktadır. Bazı makrokonidiumlar yeni hifa benzeri çıkıntılar oluşturmaya başladığında, bu hifaların saplı büyük yumrular şeklinde görünüm alabilmekte olduğu izlenmiştir. Hifaların yüzeyleri düzgün değildir, kadifemsi bir görünüme sahiptir. Ayrıca hifaların yüzeyinde, büyümesine katkı sağlayacak kurumuş görünümde alanlar bulunmaktadır. *Microsporum cookei* HUT-2061 (mutant, albino strain): Bu suşun hifasının genel özelliği, hücreler tek tek ayırt edilmemesine rağmen, retikulumunun bir çok dallı filamentli hifalarla

çevrelenmiş olmasıdır. *Epidermophyton floccosum* TEF-30: Bu suşun makrokonidiumları bezelye görünümünde, yaklaşık 30 µ uzunluğunda, kör uçla sonlanan yapıdadır ve duvarı incedir. Mikrokonidiası bulunamamıştır (Ito ve ark., 1969).

Trichophyton rubrum T- 1005: Bu suşun EM incelemesinde sayısız şekilde dallanmış büyük bir mikrokonidia kolonisiyle birkaç makrokonidia görülmüştür. Hifaların bir yüzeyi uzun yapıda ve sporların bir ucuna bağlı şekilde, diğer yüzeyi ise kadifemsi yapıda ve üzerinde kısmi çöküntülerin olduğu izlenmiştir (Ito ve ark., 1969).

T. megnini 4034: Bu suşun flamenti hifasında segmentasyon ayırt edilememiştir. Bunun dışında hifa kümeleri gevşek görünümde ve dallanmış yapıdadır (Ito ve ark., 1969).

T. fluviomuniense 3635: Bu suşun şekli bambu ormanını andırır. Her bir bambu benzeri yapı, çok sayıda dallanmış segmentli hifalardır. Bu hifalar yukarı doğru büyür, bir grup hifa kümesi ise tepe kısmına tutturulmuş şekilde görünmektedir. Hifaların tepe kısımları hariç, yüzeyleri kadifemsi pürüze sahiptir (Ito ve ark., 1969).

T. tonsurans A410: Mantarın hifaları yoğun ancak düz bir şekilde konumlanmaktadır. Mikrokonidialar ise bu uzun eksene dik bir şekilde laterallerde gözlemlenmektedir (Ito ve ark., 1969).

2.1.7.Tanı

Bazı yüzeysel deri mantarı enfeksiyonlarında klinik tanı karanlık odada filtreli ultravyole ışığı yardımıyla kolaylıkla yapılabilir (Wood Lambası). Mikrosporum gibi bazı türler ultraviyole ışığı altında flerosan yansıma yaparak orta şiddetteki bir enfeksiyonu tanımaya yardımcı olur (Gül ve ark., 2006).

Laboratuvar tanısında klinik belirtilerine ek olarak hastalığın gelişimi de etkilidir. Marazi maddenin ve alınacak yerin seçimi, enfeksiyonun yerleştiği bölge ve enfeksiyonun türüne göre araştırılan mantar etkenlerinin elde edilme olasılığını arttırmada etkilidir. Hastalık etkenlerinin kültürel yöntemlerle izole, identifiye edilmesi ve dermatofitozis etkenlerinin patolojik materyallerde tespit edilmesiyle laboratuvar tanısı konulabilir (Çiftçi ve ark., 2005). Teshis amacıyla dermatofitozisli hayvanlardan deri kazıntısı yapılarak folikülleriyle beraber tüy veya kıl örnekleri alınır (Arda, 2006; Aghamirian ve Ghiasian, 2009; Larone, 2011). İlhan (2015), yaptığı bir çalışmada dermatofitozisli deri bölgesinin tedavisinde bölgeyi temizlendikten sonra alkolle tespit etmiş, steril bistüriyle veya pens yardımıyla, tüy veya kıl kökleriyle alınan 2 çeşit numuneyi steril plastik tüpler ile laboratuvar ortamında inceleyip izolasyon ve identifikasyonunu yapmıştır.

Kutan mikozislere neden olan dermatofitlerde teşhis için; eksudatif karakter veya infiltrasyonun olduğu bölgede deri kazıntısı kanatmadan yapılmalıdır. Kıllar mantar izolasyonu için deri kazıntısına göre daha avantajlıdır. Lezyonun görüldüğü yerlerde lezyonun hemen çevresindeki kıl folikülleriyle beraber çıkarılmış kıl veya tüyler teşhis amacıyla kullanılır. Alınan numunelerdeki etkenler ultraviyole ışığında (wood lambası) ve direkt mikroskopik muayene yapılarak teşhis edilebilir. Tanı amacıyla mantarlardan hazırlanmış deri testinde kullanılan allergenler veya antijenler kullanılmaktadır. Kişilerde mantar enfeksiyon olmamasına karşın deriye daha önceden mantar etkeni ile temas ettiyse deri testleri pozitif çıkabilir (Arda, 2000; Gül ve ark., 2006).

Direkt bakteriyoskopide temiz bir lamın orta kısmına %15'lik KOH'ten yaklaşık 50 µl koyup ve üzerine 5-6 adet kıl, tüy ya da bir miktar deri kazıntısı yerleştirilip, oda ısısında 15-20 dk bekleterek ışık mikroskopunda, mantar elementleri (hifa ve konidia) yönünden inceleme yöntemini kullanılır (Arda, 2006; Yahyaraeyat ve ark., 2009; Larone, 2011; Şeker ve Doğan, 2011).

İzolasyon amacı ile DTM (dermatofit test mediuma) ve SDA (sabouraud dekstroza agar) ekimler yapılabilir. Besiyerleri 25°C'de ve aerobik atmosferde, haftada iki kez üreme kontrolleri yapılarak, 5 hafta inkube edilerek izolasyonu

sağlanan etkenlerin identifikasyonları yapılabilir. Ayrıca bu yöntemle koloni morfolojisi, LFPM (laktofenol pamuk mavis) ile mikroskopik morfoloji, üreme gereksinimleri, üreaz testi kıl perforasyon testi, 37°C’de üreme özelliği ve corn meal agarda pigmentasyon özellikleri belirlenebilir (Tel ve Akan, 2008; Yahyaraeyat ve ark., 2009; Aghamirian ve Ghiasian, 2009; Alpın ve Özgür, 2009; Larone, 2011).

2.1.8. Tedavi ve Koruma

Hastalık ilaç tedavisine cevap vermektedir. Her şeyden önce ıslak ya da nemli deri bir müddet kuru tutulmalıdır. Bu sağlanmadığı takdirde nüksler olasıdır. İmmun sistem güçlendirildiğinde bazen kendiliğinden gerileyerek kaybolmaktadır (Hunt ve ark., 1997; Hazıroğlu ve Milli, 2004). Olayın sekonder enfeksiyonlarla komplike olduğu durumlarda nadiren septisemik vakalar görülebilir (Carlton ve McGavin, 1995; Hunt ve ark., 1997).

Bağışıklık sisteminin iyileşmede etkili olduğu söylenmekle birlikte bunun tam mekanizması bilinmemektedir. Bazen enfeksiyon kendini sınırlayarak birkaç ay içinde kendiliğinden iyileşmektedir (Yarsan ve Durgut, 2002).

Deri mantar enfeksiyonlarında son yıllarda Enilconazol tedavisi uygulanmaktadır. Kırmızıgül ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada tedavi sonrasında birinci uygulamada kıl follikülleri ve epidermisteki hiperplaziler ile dermisteki yangısal hücre infiltrasyonlarında belirgin azalma tespit etmiş, PAS boyamalarında kıl köklerinde ve folliküler infundibulumda etkenlere rastlamamışlardır. İkinci uygulamasından sonra dermatofitozis lezyonlarında azalmanın devam ettiğini, üçüncü uygulamadan sonra ise mantar enfeksiyonlarındaki keratinize dokuların tamamen iyileştiği gözlemlemişlerdir. Enilconazol mantar hücresinin sitoplazmik zarında ergosterolün sentezini bozarak etki göstermektedir (Bossche ve ark., 2003).

İnaktif olarak etkenden hazırlanan aşılarda kullanılabilir (Gökçe ve ark., 1999). İyotlu şampuanlar, %5’lik kireç yanığı, tiyabendazol, hipoklorit solüsyonu, sodyum tolnaftat, klorheksidin, gibi ilaçların kullanımı söz konusudur (Yarsan ve Durdut, 2002).

Paksoy ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada Zn ve Mn iz elementlerinin dermatofitozis enfeksiyonlarının oluşumunun önlenmesinde önemli derecede etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Günümüzde tedavide Azoltrakonazol veya sentetik allilamin terbinafin gibi modern antimikotik ajanlar kullanılmaktadır (Kırmızıgül ve ark., 2009). Bu antimikotik ajanlar griseofulvin veya ketokonazol veya flukonazol gibi eski azol preparatları ile eski tedavi seçenekleriyle karşılaştırıldığında, tedavi sonuçlarını büyük ölçüde iyileştirmiştir (Kırmızıgül ve ark., 2013). Dermatofitoz hastalarını içeren rastgele çalışmalarda, özellikle oral terbinafin tedavisinin oldukça etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca lokal salisilik asit ve aşı uygulamaları da denenmektedir (Weitzmann, 1995; Hazıroğlu ve Milli 2000). Son yıllarda allylaminler ve azol grubu antibiyotiklere karşı dirençli olan mantar türlerine de rastlanmıştır (Ghannoum, 2016; Persinoti ve ark., 2018; Rudramurthy ve ark., 2018; Almeida ve ark., 2019).

2.1.9. Haşhaş (*Papaver somniferum*) Yağı

Haşhaş (*Papaver somniferum*) uzun yıllardır hem gıda hem de ilaç sektöründe sıkça kullanılan bir bitkidir. Kabuğundan elde edilen opium alkaloidi özellikle analjezik olarak halen aktif olarak medikal sektörde kullanılmaktadır. Tohumu %50 oranında yağ içerir. Bunlardan serbest trigliseridlerin yanında palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic asit gibi esansiyel yağ asitleri yönünden oldukça zengindir. Özellikle linoleik asit yüksek miktarlarda bulunur. Bunların dışında aralarında iyyotunda bulunduğu birçok iz elementi içerir. Gıda sektöründe ekmek ve pastalara katılması yanında kozmetik alanda ve boya sanayinde de oldukça fazla kullanımı vardır (Özcan ve Atalay 2006). Medikal anlamda dizanteri, konstipasyon, koah ve astım gibi hastalıklarda kullanıldığına dair literatür bilgileri mevcuttur (Raie ve Salma, 1985; Bozan ve Temelli, 2003). Kanseri araştırmalarında da kullanılmaktadır (Higashi, ve ark., 1995; Baere ve ark., 1996). Bunların dışında haşhaş bitkisinin çiçeğinden elde edilen ekstraksiyonun antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğu belirlenmiştir (Chaudhry ve Tariq, 2008; Gültepe 2013,).

2.1.10. Cytokeratin 16

Enfekte ya da enfekte olmayan yaraların iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalar yara çaplarının iyileşme süreci boyunca kumpass yoluyla ölçülmesi ya da histopatolojik yöntemlerle yapılabilmektedir. Özellikle yara iyileşmesi sırasında vücut tarafından salınan bazı maddeler iyileşme sürecini belirlemeye yardımcı olmaktadır. Bunlardan cytokeratin 16 ve fibronectin özellikle yangıda epitel dokuyu yeniden inşa etme ve immun sistemi aktive etme konusunda çok etkilidir (Paladini ve ark., 1996; Enoch ve Leaper, 2008; Andreoli ve ark., 2014; Lenselink, 2015).

Çok katlı yassı epitel hasar gördüğünde yara kenarlarındaki post-mitotik keratinositlerde sitokeratin 6 ve 16 salınımını tetiklenir. Epidermal yara iyileşmesi bağlamında, sitokeratin 16'nın işlevinin, keratinosit göçünün yara bölgesine girmesinden önce gelen bir olay olan sitoplazmik keratin filament dizisinin yeniden düzenlenmesini teşvik etmek olabileceği öne sürülmektedir (Paladini ve ark., 1996). İyileşen yaralarda apoptozis ile birlikte yeniden şekillenen dermal doku ortaya çıkar ve epidermiste sitokeratin 16 ekspresyonu artışı gösterir (Paladini ve ark., 1996; Andreoli ve ark., 2014).

Sitokeratin 16 proteinli maddesi normal deride bulunmaz. Ancak yangı iyileşmesi sırasında epitel dokunun hiper proliferasyonunu ve yenilenmesini belgeleyen bir belirteçtir. Ekstrasellular matriks ile bağlantısı olduğu düşünülmektedir (Enoch ve Leaper, 2008; Andreoli ve ark., 2014).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmanın materyalini Burdur'un Bucak İlçesinde ticari bir sığır işletmesindeki yaşları 1 ay ile 3 yaş arasında değişen bakım, beslenme ve barınma şartları birbirine benzeyen Trichofitozisli, 14 adet sığır (deneme grubu) ile 7 adet sığır (kontrol grubu) ve 1 adet sığırda negatif kontrol için, hasta sahiplerinden onam (izin) formu alınarak, hayvanlardan alınan deri biyopsisi örnekleri oluşturdu. Çalışmaya ait yerel izin Burdur İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'nün 03.08.2019 tarih ve E.2355274 sayısı ile, Etik Kurul onay belgesi ise Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 19.02.2020 tarih ve 625 sayılı kararı ile alınmıştır.

Kullanılan hayvanların ırk, cinsiyet, yaş ve lezyoların dağılımı Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmanın materyali olarak kullanılan hayvanlarına ait bilgiler.

Olgu Numarası	İşletme Kayıt No	İrk	Cinsiyet	Yaş	Yerleşim	Lezyonu n Genişliği (cm)
1	2023	Holstein	Dişi	3 Ay	Sağ Göz Üzeri.	3.0
2	2015	Holstein	Erkek	3 Ay	Sol Göz Üzeri.	2.8
3	1954	Holstein	Dişi	9 Ay	Sol Scapula.	5.0
4	1981	Holstein	Erkek	7 Ay	Sağ Scapula	4.5
5	1960	Holstein	Dişi	8 Ay	Sağ gözaltı.	3.3

Tablo 3.1 (Devam). Çalışmanın materyali olarak kullanılan dokuların hayvanlarına ait bilgiler.

6	1990	Holstein	Dişi	7 Ay	Sağ Kaş	3.5
7	1977	Holstein	Erkek	6 Ay	Sağ Kulak.	2.0
8	2016	Holstein	Dişi	3 Ay	Sağ Kulak.	2.0
9	2020	Holstein	Erkek	3 Ay	Sağ Kaş.	2.5
10	1999	Holstein	Dişi	6 Ay	Sol Göz arkası	3.0
11	1951	Holstein	Erkek	6 Ay	Cidago.	3.0
12	1998	Holstein	Dişi	6 Ay	Humerus.	3.5
13	1996	Holstein	Dişi	6 Ay	Sol Göz Altı	2.1
14	2001	Holstein	Dişi	6 Ay	Sağ Prescapula	4.0
K1	2026	Holstein	Erkek	3 Ay	Boyun	3.0
K2	2027	Holstein	Erkek	8 Ay	Baş-Göz	2.0
K3	2028	Holstein	Dişi	3 Ay	Baş-Göz	2.5
K4	2029	Holstein	Dişi	6 Ay	Boyun	3.2
K5	2030	Holstein	Erkek	5 Ay	Scapula üstü	3.4
K6	2031	Holstein	Dişi	9 Ay	Scapula üstü	3.1
K7	2050	Holstein	Dişi	4 Ay	Boyun	3.0
NK	2060	Holstein	Dişi	6 Ay	-	-

K: Kontrol, NK: Negatif Kontrol.

Çalışmada kullanılan mikotik dermatitisli hayvanların 9'u dişi (%64) 5'i erkekti (%36) ve yaşları 3 aylıktan 9 aylık yaşa kadar değişmekteydi. Hayvanların

tamamı, 22'si Holstein (%100) ırkı sığırlardı. Kontrol grubundaki sığırların 4'ü dişi 3'ü erkekti. Hayvanların ikisi 3 ay, biri 4 ay, biri 5 ay, biri 6 ay, biri 8 ay, diğeri biride 9 aylık yaşıydı.

Bu amaçla önceden belirlenen işletmedeki derisinde mantar enfeksiyonu bulunan 14 sığırın derisindeki mantar lezyonlarının boyutları ve lokalizasyonları belirlenip kumpas yardımıyla ölçülerek kaydedildi. Bu bölgelerden bistüri ile kazıntı alınarak, mikolojik olarak izolasyon ve identifikasyonları yapıldı. Çalışma grubundaki sığırlardan 7 tanesinin hastalıklı deri bölgesine 14 gün boyunca günlük topikal olarak haşhaş yağı sürüldü. Diğer 7 hayvanın derisine 14 gün boyunca günlük topikal olarak %10'luk pomat salisilik sürüldü. Kontrol grubu hayvanlarda ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Bu hayvanların 7., 14. günlerde hastalıklı deri alanlarının boyutları kumpas yardımıyla ölçüldükten sonra saat yönünde punch biyopsi yöntemiyle deri biyopsisi alınarak iyileşme aşamaları incelendi. Kontrol grubu hayvanlara ise herhangi bir uygulama yapılmaksızın yine aynı günlerde lezyonlu bölge boyutları ölçülerek deri biyopsisi alındı ve patolojik bulgular çalışma gruplarıyla karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Ayrıca derisinde mantar lezyonu bulunmayan **bir adet** sığırdan alınan deri biyopsisi negatif kontrol olarak kullanıldı.

Doku blokları Leica 2155 rotary mikrotomunda 4-5 µm kalınlığında kesilerek normal ve Poly-L-lysinli lamlara alındı. Normal lamlara alınan kesitler Hematoksilen & Eozin yöntemiyle boyandı. Poly-L-lysinli lamlara alınan kesitlere ise Streptavidin Biotin Peroksidaz yöntemi uygulandı. Tüm boyamalara ilişkin kesitler Olympus BX51 araştırma mikroskopunda incelenerek DP71 görüntüleme sistemi ile mikrofotografları çekildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikrobiyolojik Yöntem

Direkt mikroskopik inceleme: Tüm kıl ve deri kazıntı örnekleri lam üzerinde %10- 20'lik potasyum hidroksit (KOH) solüsyonu ile karıştırıldı ve üzerlerine lamel

kapatıldı. Oda sıcaklığında 15-20 dakika bekletildikten sonra mikroskopta 40x objektif ile incelenerek hifa ve spor yapıları arandı (Arda,200).

Kültür: Örnekler, kloramfenikol supplement (0.05 mg/ml) (Oxoid, UK) eklenmiş Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)'a (Oxoid, UK) pens yardımı ile gömülerek ekildi. Be-siyerleri 25 °C'de 1-4 hafta süre ile her gün kontrol edilmek üzere inkübasyona bırakıldı (Arda,200).

Mantar kolonilerinin makroskopik ve mikroskopik incelenmesi: İnkübasyon sonrası oluşan kolonilerin üreme durumu ve süresi, petrinin ön ve arka yüzündeki koloni rengi kaydedilerek makroskopik incelemesi tamamlandı (Arda,200). Mikroskopik inceleme için ise laktofenol pamuk mavisi-selofan bant yöntemi kullanıldı (Quinn ve ark., 1999). Mantar kolonilerine ait hifa, makrokonidium ve mikrokonidium yapıları incelenerek dermatofitler cins düzeyinde tayin edildi (Arda,200; Robet ve Pihet, 2008).

3.2.2. Histopatolojik Yöntem

Alınan biyopsi örnekleri %10'luk tamponlu formaldehidte tespit edildi. Tespit işleminden sonra doku takip cihazında işlendi ve parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla normal lam üzerine 4-5µ kalınlığında kesitler alındı, rutin Hematoksilen & Eozin (H&E) ile boyandı, kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Ayrıca aynı kesitler normal lam üzerine alınarak mantar etkenlerini görmek için ticari Grocott ve Periodic Acid Schiff (PAS) hazır boyama kitleriyle boyandı ışık mikroskopunda incelenerek ve mantar enfeksiyonu belgelenerek Olympus BX51 araştırma mikroskopunda incelenerek DP71 görüntüleme sistemi ile tüm hayvanların mikrofotografı çekilerek iyileşme aşamaları ve antifungal etki skorlanarak semikantitatif olarak değerlendirildi.

3.2.2.1. Hematoksilen & Eozin

Hematoksilen & Eozin yöntemi uygulanırken standart Harris Hematoksilen prosedürü kullanıldı (Presnell ve Schreiber, 1997). Bu amaçla normal rodajlı

lamlara alınan doku kesitleri, 30'ar dakikalık 3 adet ksilol serisiyle deparafinize ve sonrasında %100, %96, %80, %70lik alkol serilerinden geçirilerek rehidre edildi. Suyunu geri kazanan doku kesitleri 5 dakika Harris Hematoksilen'de boyanıp amonyaklı sudan geçirildi ve 1,5 dakika Eozinle boyandıktan sonra distile suda yıkandı. Sonrasında %70, %80, %96 ve %100'lük alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilen doku kesitleri ksilolde parlatıldı, kurutulduktan sonra entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

3.2.2.2. Grocott Boyama

Mantar etkenlerini görüntülemek için Grocott (Bio-Optica, Milano; 04-043823W) boyama yöntemi, kitin kendi prosedürüne göre yapıldı. Buna göre; kesitler distile suya kadar getirildi. Daha sonrasında solüsyon A'dan kesit başına 10 damla damlatılarak 20 dakika bekletildi. Bekleme sonrasında akarsuyun altında birkaç saniye yıkandı. Solüsyon B'den kesit başına 10 damla damlatılarak 1 dakika bekletildi. Çeşme suyunda 5 dakika yıkandı. Dört kez değiştirilerek distile suda yıkandı. Kitin içerisindeki özel lam kutusunda 17 ml distile suya 20 damla C solüsyonu, 10 damla D solüsyonu ve 20 damla E solüsyonu cam baget yardımıyla karıştırılarak inkubatör karışımı hazırlandı. Özel lam kutusuna lamalar dizilerek 60 °C de 1 saat inkubatörde inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda inkubatörden alınan lamalar 10 dakika soğumaya bırakıldı. Altı kez değiştirilerek distile suda yıkandı. Solüsyon F'den kesit başına 10 damla damlatılarak 3 dakika bekletildi. Distile suda yıkandı. Solüsyon G'den kesit başına 10 damla damlatılarak 5 dakika bekletildi. Çeşme suyunda yıkandı. Solüsyon H'den kesit başına 10 damla damlatılarak 30 saniye bekletildi. Dereceli alkollerden geçirilerek rehidre edilen kesitler ksilende temizlenip entellan ile lamellendi.

3.2.2.3. Periodic Acid Schiff (PAS)

Normal lamlara alınan kesitler alkol serilerinden geçirilerek rehidre edildi. Distile suya getirildikten sonra 5 dakika periyodik asitte bekletildi. Distile suda yıkanan kesitler 15 dakika Schiff solüsyonunda tutuldu. Sonrasında dokular pembeleşinceye kadar yaklaşık 5-10 dakika çeşme suyunda yıkandı. Pembeleşen

dokular light green solüsyonunda 1 dakika bekletildi, süre sonunda tekrar çeşme suyunda yıkandı. Alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilen kesitler ksilolle muamele edilip entellanla kapatıldı.

3.2.3. İmmunohistokimyasal Yöntem

İmmunohistokimyasal inceleme için Poly-L-lysinli lamlara alınan kesitlere standart ticari streptavidin peroksidaz hazır kiti (ABCAM, UK), kitin kendi prosedürüne göre uygulandı. Kesitlerdeki anti-cytokeratin 16 ekspresyonunun gösterilmesi için Anti-CK16 antibody (Santa Cruz, ABD, sc-53255) antikoru, Universal Antibody Diluent (ABCAM Ab79995, UK) ile 1/100 dilusyonunda kullanıldı. Bunun için deparafinize ve rehidre edilen kesitler endojen peroksidaz aktivitesinin önlenmesi amacıyla önce %3'lük hidrojen peroksit ile 15 dakika muamele edildi. PBS ile 2 defa yıkandıktan sonra sitrat buffer solüsyonu (pH: 6) kullanılarak mikrodalga fırında 5'er dakikalık periyotlarda 2 defa kaynatıldı. Soğuduktan sonra dört defa PBS'le yıkanan kesitler nonspesifik boyanmaların önlenmesi amacıyla 10 dakika antikor blocking solüsyonuna tabi tutuldu. Kesitlere yıkama uygulanmadan, dilue edilen primer antikorlar damlatılarak oda sıcaklığında nemli kamaralarda 1 gece inkübe edildi. Ertesi gün 4 defa PBS'le yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder serum uygulanarak 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Kesitler 4 defa PBS'le yıkayıp streptavidin peroksidaz ile 10 dakika oda sıcaklığında muamele edildi ve sonrasında tekrar 4 defa PBS'le yıkandı. Hazırlanmış olan DAB (3,3'-diaminobenzidine) kromojenle en fazla 5 dakika kontrollü boyandıktan sonra yıkanan kesitlere Mayer Hematoksilen kullanılarak karşıt boyama yapıldı, sonrasında entellan kullanılarak lam ile kapatıldı.

3.2.3.1. Semikantitatif Analiz Yöntemi

Çalışma ve kontrol gruplarında çok katlı yassı epiteldeki hiper-parakeratoz, egzositoz, epitel katının genişliği, dermisteki yangı, granulasyon dokusu, yeni damar oluşumları ve follikülitis skorlaması yapıldı. Bu skorlama kriterine göre “-“ lezyon yok, “+” hafif, “++” orta, “+++” ise şiddetli olarak belirlendi. İmmun-pozitif

alanların deęerlendirilmesinde ise “-“ negatif, “+” az yoğun, “++” orta, “+++” yoğun olarak değerlendirildi.

3.2.3.1.1. İstatiksel Analiz Yöntemi

Veriler Kruskal-Wallis testi kullanılarak analiz edildi, ardından post-hoc test olarak Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U-testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı.



4. BULGULAR

4.1. Mikolojik Bulgular

Mikolojik kültür sonuçlarında 21 numuneden 20'sinde etken tespit edildi. Mikolojik bulgular Tablo 4.1.'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Çalışmanın materyali olarak kullanılan hayvanlarına ait bilgiler.

Kod	İzolasyon Sonucu	Kod	İzolasyon Sonucu
2023	Trichophyton sp.	1998	Trichophyton sp.
2015	Trichophyton sp.	1996	Trichophyton sp.
1954	Trichophyton sp.	2001	Trichophyton sp.
1981	Trichophyton sp.	2026	Trichophyton sp.
1960	Trichophyton sp.	2027	Trichophyton sp.
1990	Trichophyton sp.	2028	Trichophyton sp.
1997	Trichophyton sp.	2029	Trichophyton sp.
2016	Trichophyton sp.	2030	Trichophyton sp.
2020	Trichophyton sp.	2031	Trichophyton sp.
1999	Trichophyton sp.	2050	Trichophyton sp.
1951	Üreme olmadı		

4.2. Makroskopik Bulgular

4.2.1. Haşhaş Grubu

4.2.1.1. Birinci Gün

Deri kazıntısının alındığı, lezyonlu bölgenin kabuğunun mekanik olarak kaldırıldığı bölgelerde derinin kıllarının döküldüğü bazı alanlarda deri yüzeyinde apse benzeri kabartıların gözlemlendiği belirlendi. Lezyonlu bölge derisi normal deriden keskin sınırlarla ayrılmıştı. Hemen hemen bütün olgularda deri yüzeyi kuru, pullu ve sert kıvamda olup çevresinden hiperemik bir halkayla çevrilmiş durumdaydı. Kazınan lezyonlu bölge kuru, yeryer kabuklu, kabuklar kaldırıldığında kanamaya meyilliydi. Kumpas yardımıyla derideki lezyonun genişliği ölçüldüğünde 2cm ile 5cm arasında değişmekteydi.

4.2.1.2. Yedinci Gün

Deri yüzeyinin kuruluğunu kaybettiği nemlenmeye başladığı ve epidermiste kıllanmanın yer yer başladığı gözlemlendi. Epidermis lezyonlu bölgelerde hafif pembemsi renklerde olup normal deri sınırındaki hipereminin azaldığı gözlemlendi. Lezyonlu bölgelere dokunulduğunda kaba kuru olan derinin kadife kıvamına yakın derecede yumuşadığı fark edildi. Bu yumuşama baş, göz, maksilla üzerindeki deride çok daha belirginken omuz bölgesi boynun gerisi gibi bölgelerdeki deri daha az yumuşak olup yer yer kabukların döküldüğü ancak kıllanmanın daha az seviyede olduğu gözlemlendi. Olgulardan bir tanesi yeterli miktarda kıllanmanın olmadığı, diğer bir olguda ise yer yer kıllanmanın olduğu, olguların bir tanesinde ise keratin tabakanın tamamen kaybolduğu ve kıllanma düzeyinin çok iyi olduğu, geri kalan beş olguda ise çok miktarda kıllanmanın olduğu gözlemlendi. Kumpas yardımıyla derideki lezyonun genişliği ölçüldüğünde 1.9 cm ile 4.5 cm arasında değişmekteydi.

4.2.1.3. Ondördüncü Gün

Kıllanmanın yedinci güne göre bir olguda kıllanmanın yeterli düzeyde olmadığı, bir olguda ise kıllanmanın arttığı fakat lezyonun halen varlığı gözlemlendi. Beş olguda ise lezyonların hemen hemen hepsinin ortadan kalktığı ve derinin yüzeyini örtecek düzeyde kıllanmanın olduğu gözlemlendi. Lezyon hatlarının ortadan kalktığı tespit edildi.

Haşhaş grubunda tedavi öncesi, tedavinin yedinci günü ve tedavinin ondördüncü gündeki lezyonların makroskobik görünümü Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Haşhaş grubu, lezyonların makroskobik görünümü. A) Birinci gün, B) Yedinci gün, C) Ondördüncü gün.

4.2.2. Pomad Salisilik Grubu

4.2.2.1. Birinci Gün

Lezyonlar haşhaş grubundaki makroskobik bulgularla benzerdi. Kumpas yardımıyla derideki lezyonun genişliği ölçüldüğünde 2 cm ile 4 cm arasında değişmekteydi.

4.2.2.2. Yedinci Gün

Lezyonlu bölgedeki derinin yer yer kuruluğunu koruduğu ve yüzeyinin yumuşaklığı haşhaş grubuna göre daha azdı. Normal deri sınırı ile lezyonlu bölgenin sınırındaki hipereminin azaldığı gözlemlendi. Yapılan gözlemlerde yedi olgunun iki tanesinde kıllanmanın çok çok az, üç olguda yer yer hafif kıllanmanın, iki olguda ise kıllanmada artış olduğu gözlemlendi. Kumpas yardımıyla derideki lezyonun genişliği ölçüldüğünde 2 cm ile 3.6 cm arasında değişmekteydi.

4.2.2.3. Ondördüncü Gün

Yedinci günde kıllanmanın çok çok az olduğu iki olguda geçte olsa iyileşmeye başladığı ve kıllanmada artış olduğu dikkati çekti. Hafif kıllanmanın olduğu üç olguda ise lezyonun olduğu bölgede iyileşme ve kıllanmanın arttığı gözlemlendi. Kıllanmanın arttığı iki olguda ise yeterince iyileşme gözlemlendi.

Pomad salisilik grubunda tedavi öncesi, tedavinin yedinci günü ve tedavinin ondördüncü günündeki lezyonların makroskobik görünümü Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Pomad salisilik grubu, lezyonların makroskobik görünümü. A) Birinci gün, B) Yedinci gün, C) Ondördüncü gün.

4.3. Mikroskobik Bulgular

4.3.1. Histopatolojik ve Histokimyasal bulgular

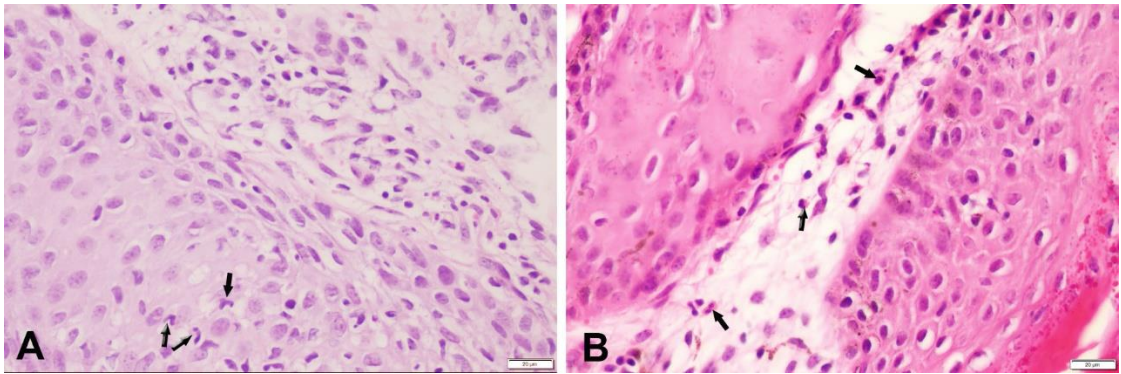
4.3.1.1. Haşhaş Grubu

4.3.1.1.1. Birinci Gün

Uygulamanın birinci gününde derinin mantar enfeksiyonlarına karşı verdiği reaksiyonların birbirine benzer olmasına karşın yangısal yanıtın şiddeti olgulara göre değişmekteydi. Altı olguda dermal reaksiyon, akantozis, para ve orto-keratotik değişiklikler ve folikülitis şiddetli seyretmekteydi. Dermisteki reaksiyon şiddetli mononükleer hücreler, eozinofil lökosit infiltrasyonları yönünden baskın karakterdeydi. Birçok kıl folikülü hiperplazik olup merkezleri çoğunlukla keratinleşmiş ve kıl yapısının parçalanmış olduğu gözlemlendi. Folikül çevresinde ise histiyosit, makrofaj, az sayıda lenfosit ve tek tük eozonofil lökositlerden oluşan ve kıl folikülünü çepeçevre saran etrafından fibroblast ve fibrositlerle sınırlandırılmaya çalışılan granülomatoz odaklara rastlandı. Bu odakların içerisinde yeni damar oluşumları görüldü. Yapılan Grocott ve PAS boyamalarda keratinize epitelin içerisinde subepidermal dokuda kıl foliküllerinin lümeni ve korteksinde ince uzun tarzda hifalarla birlikte kırıntı ya da yıldız tarzında astrosporlar mevcuttu. Bir olguda ise epidermis ve kıl foliküllerinin korpus bölümünde hafiften ortaya değişen para ve orto-keratotik alanlara rastlandı. Kıl foliküllerinin çevresinde ve dermiste diğer altı olguya göre daha hafif seyirli yangısal hücre infiltrasyonlarına rastlandı. Ancak kıl shaftları ya dejenere durumda ya da tamamen kaybolmuş durumdaydı.

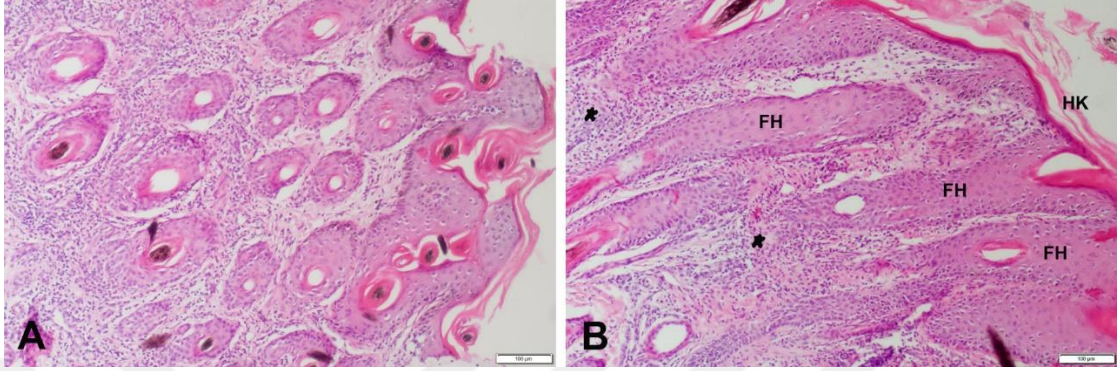
4.3.1.1.2. Yedinci Gün

Uygulamanın yedinci gününde altı olguda derinin mantar enfeksiyonlarına karşı verdiği reaksiyonların şiddetinin ve foliküler hiperplazinin arttığı, yer yer nötrofil lökositlerin egzositozisi yoluyla folikül dış kılıfına geçtiği belirlendi. Yangısal hücre infiltrasyonunun artmasına paralel olarak yangısal prosesin içerisine dağınık vaziyette eozinofil lökositlere rastlandı (Şekil 4.3.). Dermal reaksiyon, akantozis, para ve orto-keratotik değişiklikler ve folikülitis devam ediyordu. Kıl köklerindeki hiperplazi ve dejenerasyon bazı bölgelerde devam ederken bazı kıl foliküllerinin lümeninde yuvarlak yada oval yapıda yeni kıl shaftı oluşumlarının başladığı, bir olguda ise folikülün kollum bölgesine doğru uzadığı tespit edildi. Birinci haftada kıl foliküllerinin çevresinde yoğunlaşan yangısal hücre infiltrasyonları dermise diffuz olarak dağılmış ve şiddeti artmıştı. Yapılan Grocott ve PAS boyamalarda birinci haftaya göre kıl foliküllerinin lümeni ve korteksinde halen mantara ait hifa ve astrasporların mevcut olmasına rağmen, yoğunluğunun azaldığı fark edildi. Yangısal reaksiyonun hafif şiddette olduğu diğer olguda ise dermisteki yangısal hücre proliferasyonunun belirgin şekilde arttığı gözlemlendi. Kıl foliküllerinin çevresinde ve dermiste diğer altı olguya göre daha hafif seyirli olmakla beraber birinci haftaya göre artış gösteren yangısal hücre infiltrasyonlarına rastlandı. Ancak kıl foliküllerinin merkezinde düğüm şeklinde yeni kıl oluşumlarının başladığı fark edildi.

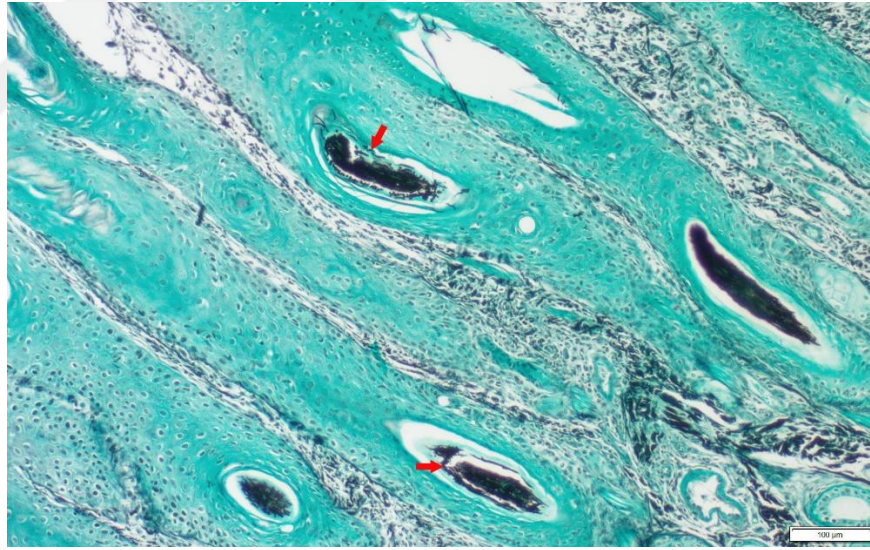


Şekil 4.3. Lezyonların histopatolojik görünümü. A) Kontrol grubu, yedinci gün, Kıl folikülleri epitellerinin içinde nötrofil lökosit infiltrasyonları (Egzositosiz) (oklar), H&E, bar 20 µm. B) Dermiste eozonofil lökosit infiltrasyonu (oklar), H&E, bar 20 µm.

Yedinci günde lezyonların histopatolojik görünümü ilk günle karşılaştırmalı olarak Şekil 4.4.'te gösterilmiştir. Lezyonlu dokulardaki etkenlerin görünümü ise Şekil 4.5-8'de gösterilmiştir.



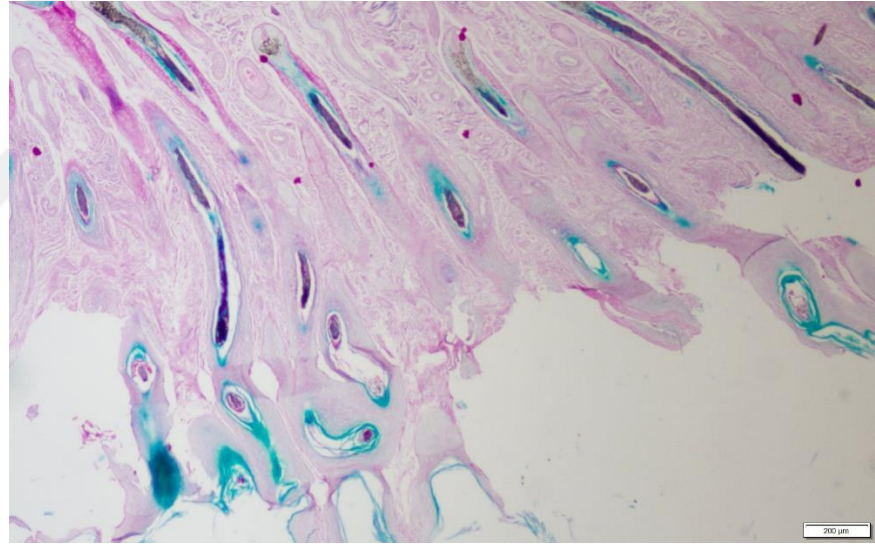
Şekil 4.4 Lezyonların histopatolojik görünümü. Hiper-keratotik değişiklikler (HK), foliküler hiperplazi (FH), subepidermal ve dermal yangısal hücre infiltrasyonu (yıldız). A) Kontrol grubu, yedinci gün, H&E, bar 100 µm. B) Haşhaş grubu, yedinci gün, H&E, bar 100 µm.



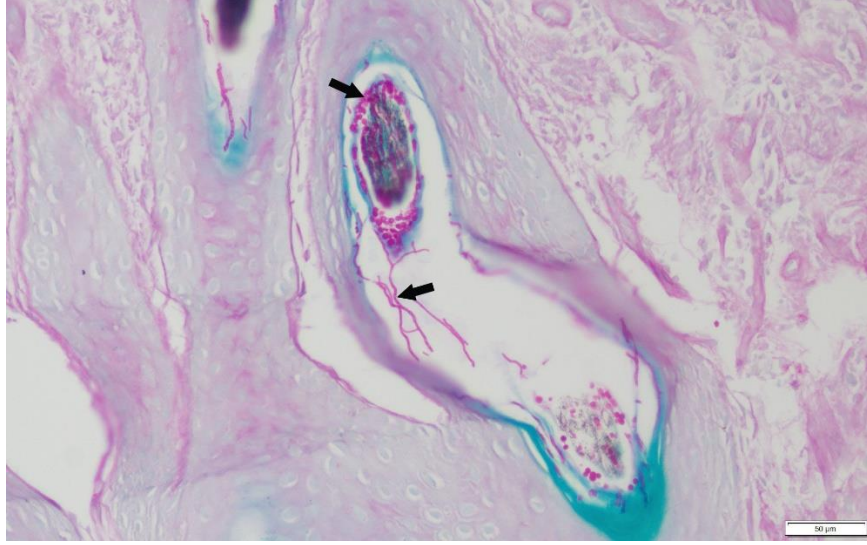
Şekil 4.5. Deri, haşhaş grubu, yedinci gün. Kıl folliküllerinde etkenlerin görünümü (oklar), Grocott Methenamine Silver, bar 100 µm.



Şekil 4.6. Deri, haşhaş grubu, yedinci gün. Kıl folliküllerinde etkenlerin yakından görünümü, hifalar (kalın oklar) ve astrosporlar (ince ok), Grocott Methenamine Silver, bar 20 µm.



Şekil 4.7. Kıl follikülleri ve çevresinde etkenlerin yerleşimi, haşhaş grubu, 7. Gün, PAS, bar 200 µm.

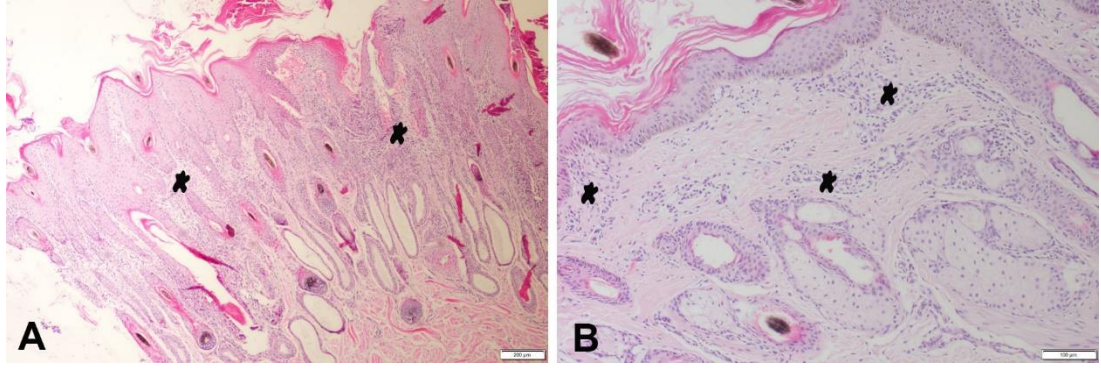


Şekil 4.8. Haşhaş grubu, 7. Gün, kıl follikülleri ve çevresinde etkenlerin yerleşimi, yakından görünüm, etkenler (oklar) PAS, bar 50 µm.

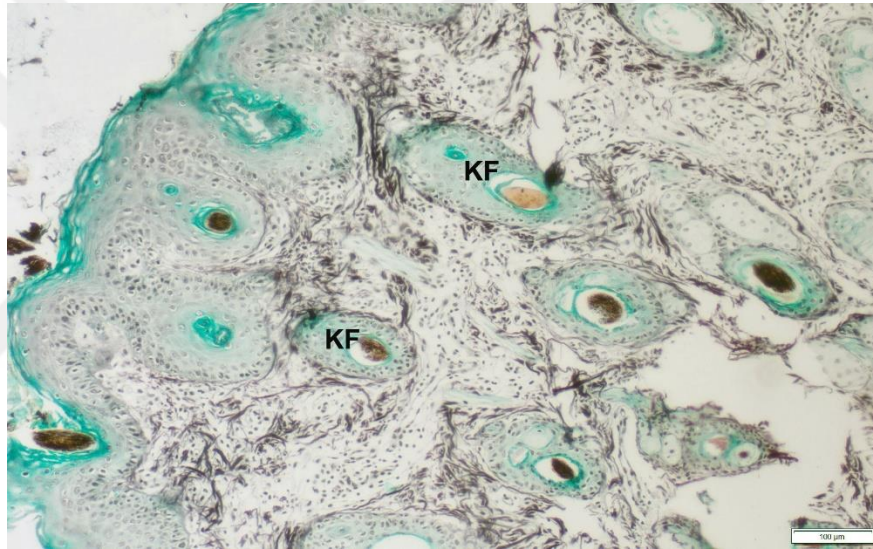
4.3.1.1.3. Ondördüncü Gün

Epiderminin yüzeyi ve kıl foliküllerinin merkezindeki para ve orto-keratotik değişikliklerde azalma, kıl foliküllerinde rejeneratif hiperplazide artış, dermisteki diffüz yangı azalarak küçük dissemine odaklar halinde görüldü. Birçok kıl folikülünde yeni kıl shaftlarının oluştuğu ve kolluma doğru uzadığı fark edildi. Yapılan Grocott ve PAS boyamalarında kıl folikülleri lümeni ve korteksinde çoğunlukla mantara ait yapıların kaybolduğu gözlendi. Epidermal bölgede ise rejenerasyon ve rekonsruksiyon tamamlanmış olup iki olguda stratum korneum içerisinde etkene ait kırıntılara rastlandı.

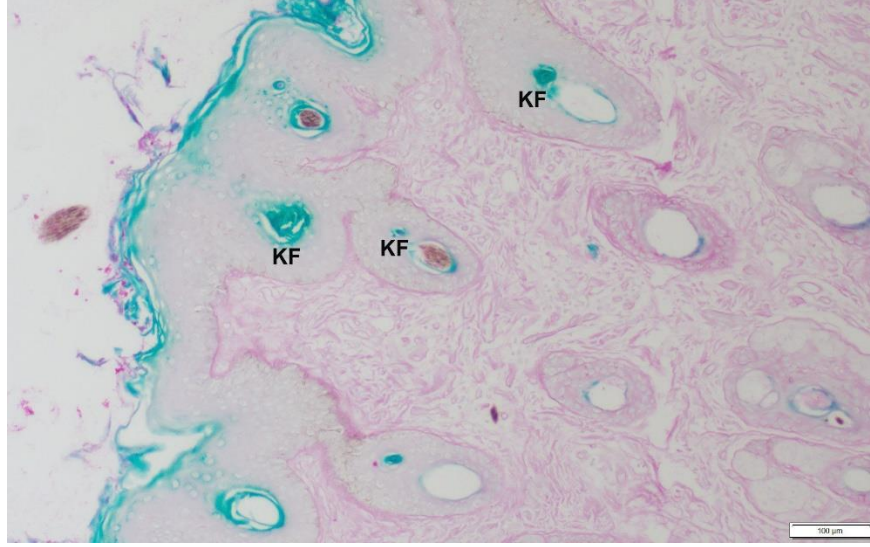
Ondördüncü gündeki lezyonların histopatolojik görünümleri Şekil 4.9’da, lezyonlu dokulardaki etkenlerin görünümü ise Şekil 4.10-11’de gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Lezyonların histopatolojik görünümü. A) Kontrol grubu, 14. gün, dermis ve superepidermal dokuda diffüz yangısal hücre infiltrasyonu (yıldızlar) H&E, bar 100 µm. B) Haşhaş grubu, 14 gün, Subepidermal ve dermal yangıda belirgin azalma, dissemine odaklar (yıldızlar), H&E, bar 100 µm.



Şekil 4.10. Deri, Haşhaş grubu, 14. gün. Kıl folliküllerinde (KF) etkenlerin kaybolması, Grocott Methenamine Silver, bar 100 µm.



Şekil 4.11. Deri, Haşhaş grubu, 14. gün. Kıl folliküllerinde (KF) etkenlerin kaybolması, PAS, bar 100 µm.

4.3.1.2. Pomad Salisilik Grubu

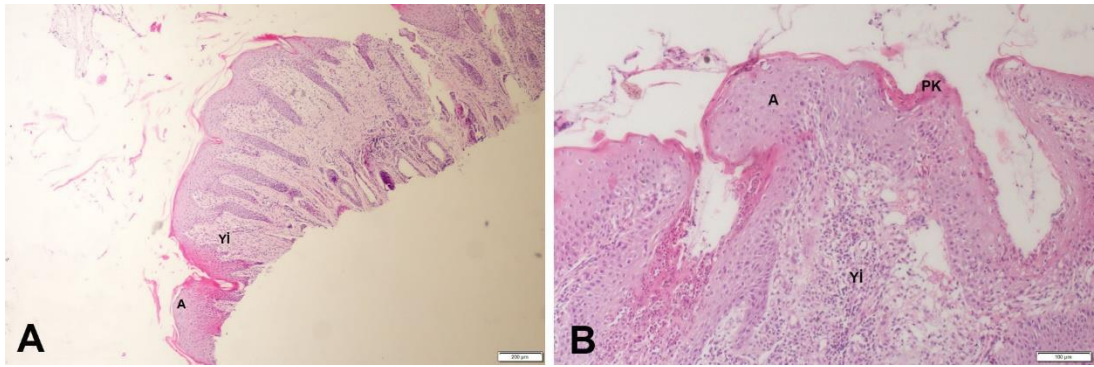
4.3.1.2.1. Birinci Gün

Haşhaş grubundaki hayvanlarda ki mikotik dermatitisin şiddeti ve lezyonların morfolojisine benzer nitelikteydi. Derinin mantar enfeksiyonlarına karşı verdiği reaksiyonların birbirine benzer olmasına karşın yangısal yanıtın şiddeti olgulara göre değişmekteydi. Dermal reaksiyon, akantozis, para ve orto-keratotik değişiklikler ve folikülitis şiddetli seyretmekteydi. Dermisteki reaksiyon şiddetli mononükleer hücreler, eozinofil lökosit infiltrasyonları yönünden baskın karakterdeydi. Birçok kıl folikülü hiperplazik olup merkezleri çoğunlukla keratinleşmiş olduğu ve kıl yapısının parçalandığı gözlemlendi. Folikül çevresinde ise histiyosit, makrofaj, az sayıda lenfosit ve tek tük eozonofil lökositlerden oluşan ve kıl folikülünü çepeçevre saran etrafından fibroblast ve fibrositlerle sınırlandırılmaya çalışılan granülomatoz odaklara rastlandı. Bu odakların içerisinde yeni damar oluşumları görüldü. Yapılan Grocott ve PAS boyamalarda keratinize epitelin içerisinde subepidermal dokuda kıl foliküllerinin lümeni ve korteksinde ince uzun tarzda hifalarla birlikte kırıntı ya da yıldız tarzında astrosporlar mevcuttu.

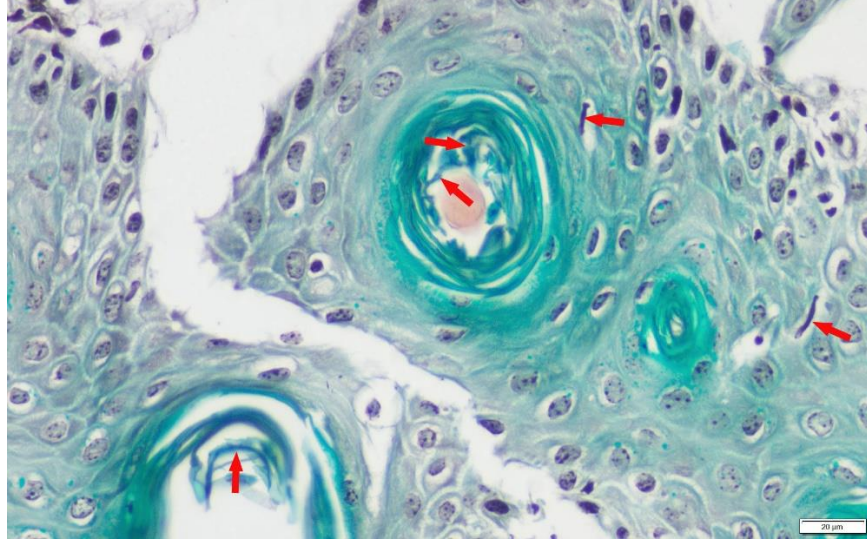
3.1.2.2. Yedinci Gün

Pomad salisilik grubundaki deri örneklerinde haşhaş grubundakine benzer nitelikte doku reaksiyonları gözlemlendi. Tüm olgularda derinin mantar enfeksiyonlarına karşı verdiği reaksiyonların şiddetinin ve foliküler hiperplazinin arttığı, yer yer nötrofil lökositlerin egzozitozis yoluyla folikül dış kılıfına geçtiği belirlendi. Yangısal hücre eksudasyonu haşhaş grubu hücresel kompozisyonuna benzerdi. Bu grupta da eozonofil lökosit, dermal ödem ve damarlarda hiperemi belirgindi. Dermal reaksiyon, akantozis, para ve orto-keratotik değişiklikler ve folikülitis devam ediyordu. Kıl köklerindeki hiperplazi ve dejenerasyon bazı bölgelerde devam ederken bazı kıl foliküllerinin lümeninde yuvarlak yada oval yapıda yeni kıl shaftı oluşumlarının başladığı gözlemlendi. Birinci haftada kıl foliküllerinin çevresinde yoğunlaşan yangısal hücre infiltrasyonları dermise diffuz olarak dağılmış ve şiddeti artmıştı. Yapılan Grocott ve PAS boyamalarda birinci haftaya göre kıl foliküllerinin lümeni ve korteksinde halan mantara ait hifa ve astrasporların mevcut olmasına rağmen, yoğunluğunun azaldığı fark edildi.

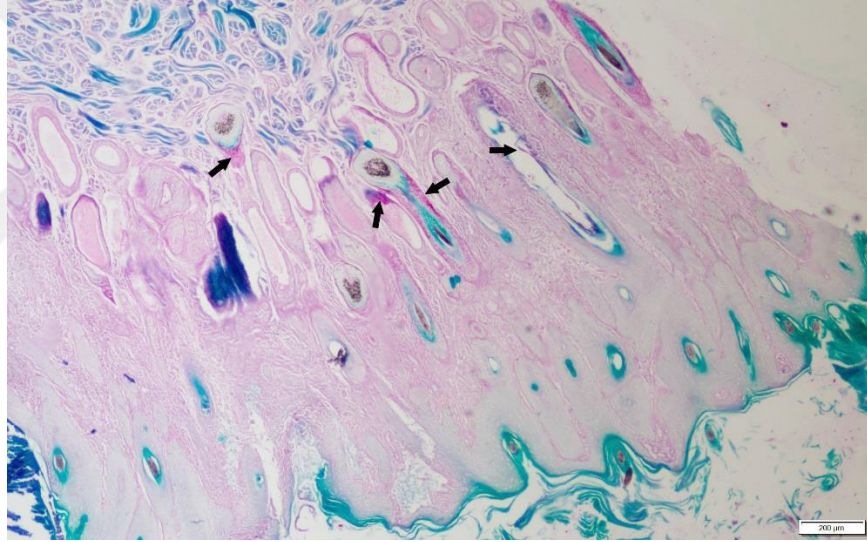
Yedinci günde lezyonların histopatolojik görünimleri kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 4.12.'de gösterilmiştir. Lezyonlu dokulardaki etkenlerin görünümü Şekil 4.13-14'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Lezyonların histopatolojik görünümü. Akantotik değişiklikler (A), Subepidermal ve dermal yangısal hücre infiltrasyonu (Yİ). A) Kontrol grubu, H&E, bar 200 µm B) Pomad grubu, yedinci gün, H&E, bar 100 µm.



Şekil 4.13. Deri, Pomad salisilik grubu, yedinci gün. Kıl folliküllerinde etkenlerin yakından görünümü, hifalar (oklar), Grocott Methenamine Silver, bar 20 µm.



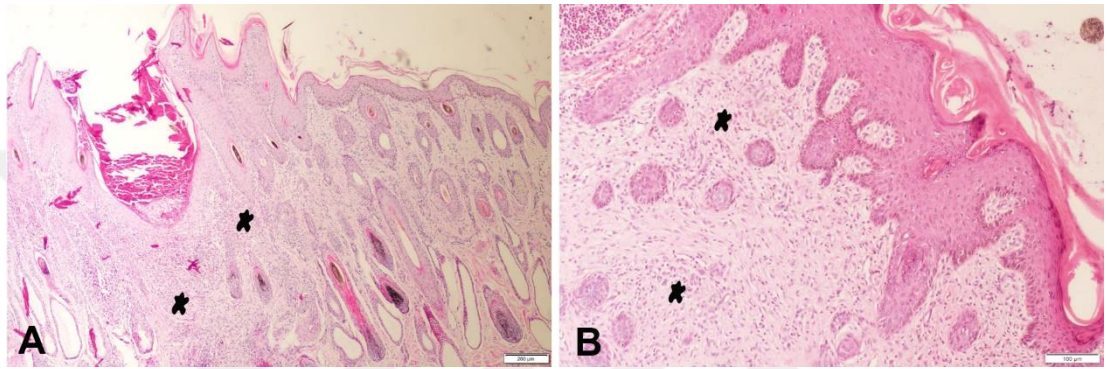
Şekil 4.14. Pomad salisilik grubu, 7. Gün, kıl follikülleri lümeni ve çevresinde etkenlerin yerleşimi (oklar), PAS, bar 200 µm.

4.3.1.2.3. Ondördüncü Gün

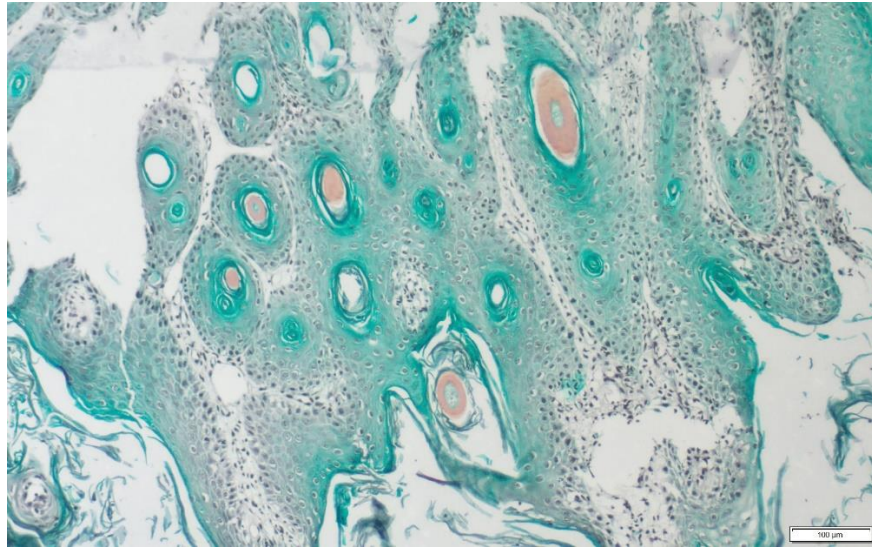
Haşhaş grubuna benzer iyileşmeler gözlenmekteydi. Epiderminin yüzeyi ve kıl folliküllerinin merkezindeki para ve orto-keratotik değişikliklerde azalma, kıl folliküllerinde rejeneratif hiperplazide artış ve yangısal hücre lokalizasyonları haşhaş grubuyla benzer görünümündeydi. İki olguda dermişteki yangısal proses gruptaki diğer hayvanlara göre daha şiddetliydi. Birçok kıl follikülünde yeni kıl shaftlarının

oluştugu ve kolluma doğru uzadığı fark edildi. Yapılan Grocott ve PAS boyamalarında kıl folikülleri lümeni, korteksinde ve perifoliküler bölgelerde etkenlerin bazı olgularda tamamen kaybolduğı, bazı olgularda ise etkene ait parçalanmış yapıların bulunduğı fark edildi.

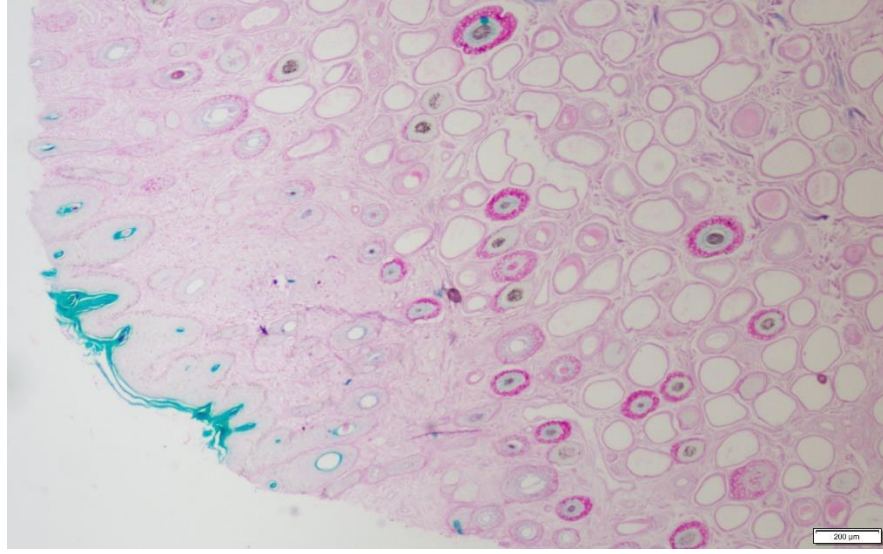
Ondördüncü gündeki lezyonların histopatolojik görünümü Şekil 4.15’de, lezyonlu dokulardaki etkenlerin görünümü ise Şekil 4.16-18’de gösterilmiştir.



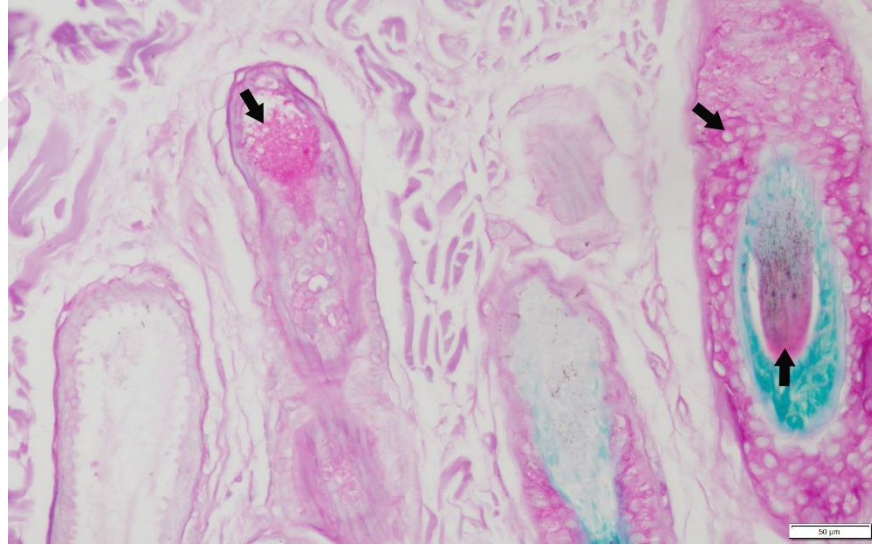
Şekil 4.15. Lezyonların histopatolojik görünümü. Subepidermal ve dermal, yangısal hücre infiltrasyonu. A) Kontrol grubu, 14. gün, diffuz dağılımlı yoğun hücre infiltrasyonu (yıldızlar), H&E, bar 200 µm B) Pomad Salisilik grubu, 14. gün, H&E, bar 100µm.



Şekil 4.16. Deri, Pomad salisilik grubu, 14. gün. Kıl foliküllerinde etkenlerin kaybolması, Grocott Methenamine Silver, bar 100 µm.



Şekil 4.17. Deri, Pomad salisilik grubu, 14. gün. Yüzlek kıl folliküllerinde etkenlerin kaybolması, derin kıl folliküllerinde ise PAS pozitif alanlar, PAS, bar 200 µm.



Şekil 4.18. Deri, Pomad salisilik grubu, 14. gün. Derin kıl folliküllerinde dejenere etkenlere ait PAS pozitif yapılar (oklar), PAS, bar 50 µm.

4.3.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

4.3.2.1. Haşhaş Grubu

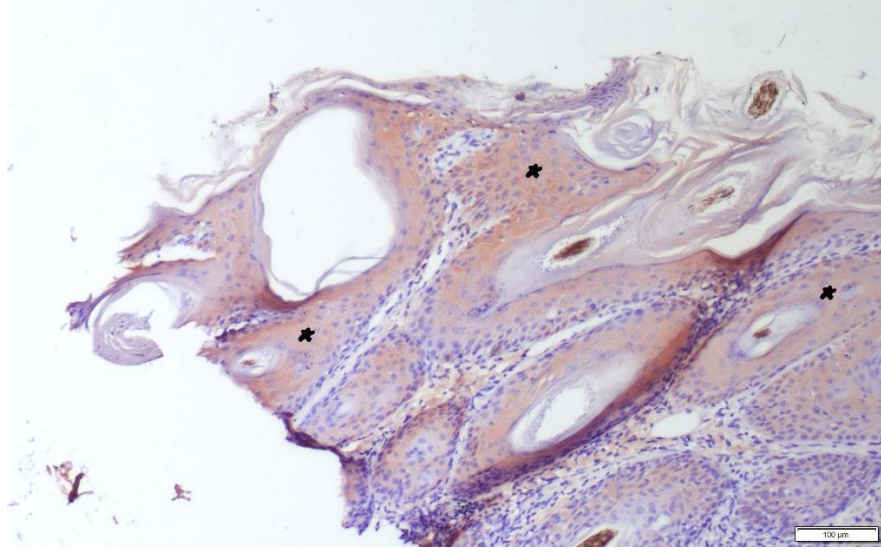
4.3.2.1.1. Birinci Gün

Dokulardaki yenilenme oranını belirleyen anti-CK16 immunohistokimyasal boyamalarda çalışmanın başladığı ve tedavinin başlangıcındaki yanıtının sergilendiği immun-pozitif alanlar gözlemlendi. Buna göre çok katlı yassı epitelin bazal hücreleri ve çevresiyle kıl foliküllerinin bazal mebranlarının çevresi ve korteksinde homojen dağılımlı hafiften ortaya değişen derecede immun-pozitif alanlara rastlandı. Bu immun-pozitiflikler çoğunlukla bazal hücrelerin sitoplazması ile interselüler bölgedeydi. Çok katlı yassı epitelin üst kısımlarında immun-pozitiflik yoktu ya da stratum granulozumdaki bazı epitel hücrelerinin sitoplazmasında ve interselüler bölgede hafif immun-pozitiflikler mevcuttu.

4.3.2.1.2. Yedinci Gün

Tedavini etkinliğinin başladığı yedinci günde immun-pozitif reaksiyonların çok katlı yassı epitel ve kıl köklerindeki epitelyal bölgelerde daha yoğun ve daha şiddetli olarak boyandığı fark edildi. İmmun-pozitif reaksiyonlar stratum korneum hariç bütün katmanlarda mevcuttu.

Lezyonlu dokulardaki anti-CK16 immun pozitif reaksiyonlar şekil 4.19’da gösterilmiştir.

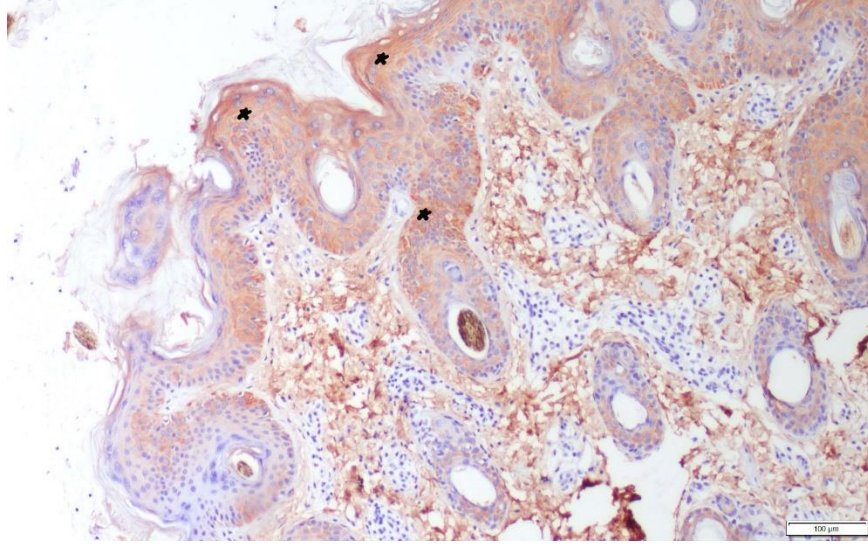


Şekil 4.19. Haşhaş grubu, 7 gün, Çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinde artan anti-CK16 pozitif alanlar (yıldızlar), Streptavidin-Biotin Peroksidaz metodu, DAB kromojen, bar 100 µm.

4.3.2.1.3. Ondördüncü Gün

Tedavini devam ettiği ondördüncü günde immun-pozitif reaksiyonların çok katlı yassı epitel ve kıl köklerindeki epitelyal bölgelerde yedinci güne göre azalmakla beraber immun-pozitif reaksiyonların yoğunluğu ve şiddeti devam etmekteydi. Bazal mebran ve çevresinde daha yoğun olmakla beraber diğer bölgelerde orta ya da hafif yoğunluk ve şiddette pozitif boyanmalar görüldü.

Lezyonlu dokulardaki anti-CK16 immun pozitif reaksiyonlar Şekil 4.20’de gösterilmiştir.



Şekil 4.20. Haşhaş grubu, 14. gün, Çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinde 7. Güne göre daha yoğun ve şiddetli anti-CK16 pozitif alanlar (yıldızlar), Streptavidin-Biotin Peroksidaz metodu, DAB kromojen, bar 100 µm.

4.3.2.2. Pomad Salisilik Grubu

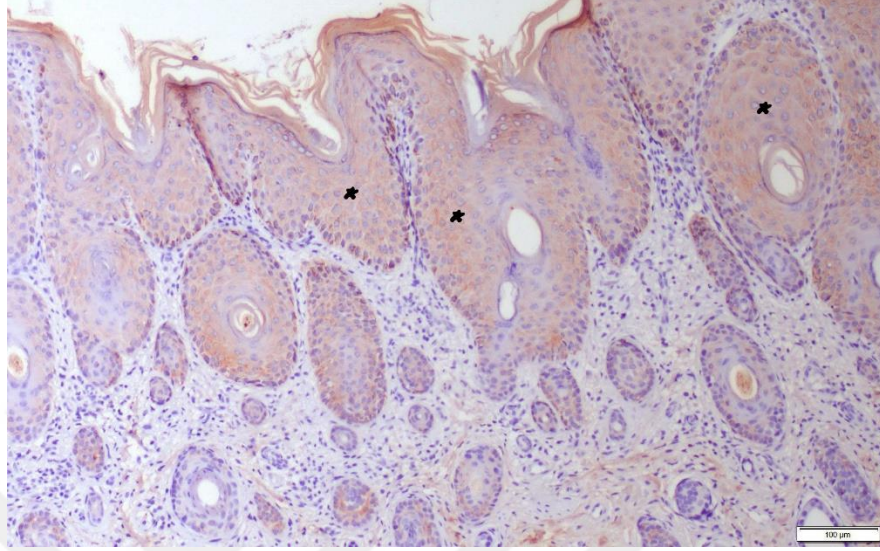
4.3.2.2.1. Birinci Gün

Bu çalışma grubundaki doku örnekleri haşhaş grubuyla benzerlik göstermekteydi. Anti-CK16 pozitif boyanmalar bazal membranlar ve bazal hücreler çevresinde hafıftan ortaya değişen yoğunluk ve şiddetteydi. Çok katlı yassı epitelin üst kısımlarında immun-pozitiflik yoktu ya da stratum granulozumdaki bazı epitel hücrelerinin sitoplazmasında ve interselüler bölgede hafif immun-pozitiflikler mevcuttu.

4.3.2.2.2. Yedinci Gün

Yedinci gündeki immun-pozitif reaksiyonların çok katlı yassı epitel ve kıl köklerindeki epitelyal bölgelerde birinci güne göre artan immun-pozitiflik olmasına karşı haşhaş grubuna göre daha hafif yoğunluk ve şiddetteydi. İmmun-pozitif reaksiyonlar stratum korneum hariç bütün katmanlarda mevcut olup haşhaş grubunun yedinci gününe oranla daha az yoğun ve şiddetteydi.

Lezyonlu dokulardaki anti-CK16 immun pozitif reaksiyonlar şekil 4.21’de gösterilmiştir.

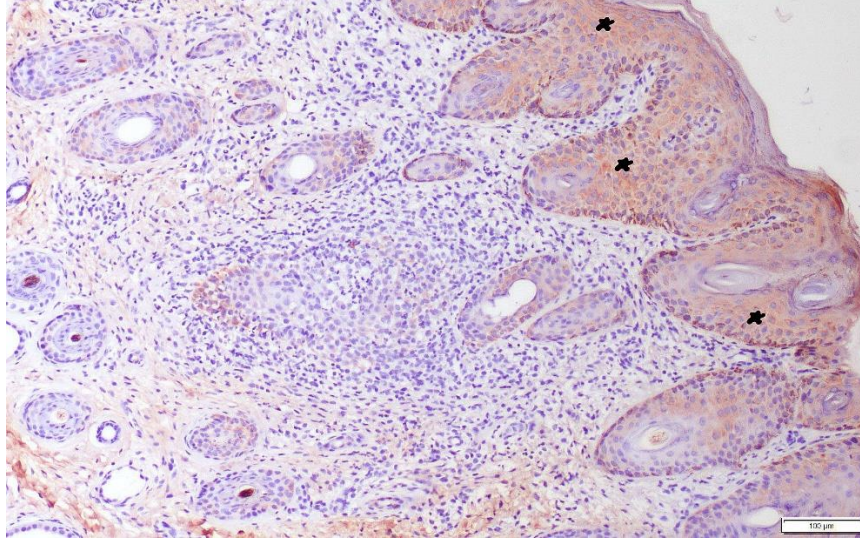


Şekil 4.21. Pomad Salisilik grubu, 7 gün, Çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinde yoğun ve orta şiddette anti-CK16 pozitif alanlar (yıldızlar), Streptavidin-Biotin Peroksidaz metodu, DAB kromojen, bar 100 µm.

4.3.2.2.3. Ondördüncü Gün

Ondördüncü günde immun-pozitif reaksiyonların çok katlı yassı epitel ve kıl köklerindeki epitelyal bölgelerde, yedinci güne göre arttığı görüldü. Haşhaş grubunun ondördüncü gündeki immun-pozitifliğe göre daha hafif boyanmıştı. Bazal mebran ve çevresinde daha yoğun olmakla beraber diğer bölgelerde diffuz dağılımlı immun-pozitif boyanmalar görüldü.

Lezyonlu dokulardaki anti-CK16 immun pozitif reaksiyonlar şekil 4.22’de gösterilmiştir.



Şekil 4.22. Pomad Salisilik grubu, 14 gün, Çok katlı yassı epitel ve kıl folliküllerinde 7. Güne göre artan anti-CK16 pozitif alanlar (yıldızlar), Streptavidin-Biotin Peroksidaz metodu, DAB kromojen, bar 100 µm.

4.4. Semi-Kantitatif Analiz

Tablo 4.2. Haşhaş grubunda histopatolojik lezyonların semi-kantitatif skorlaması. “-” lezyon yok, “+” hafif, “++” orta, “+++” şiddetli.

LEZYONLAR								
Olgu	HK	EG	AK	DY	GD	YDO	F	FR
H-7-1	++	++	+++	++	++	++	+++	+++
H-7-2	++	++	+++	++	++	+	+++	++
H-7-3	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+
H-7-4	+++	+++	+++	++	+	++	+++	++
H-7-5	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+
H-7-6	+++	++	+++	+++	++	+	+++	++
H-7-7	++	+++	+++	++	+	++	+++	+
H-14-1	+	++	+	++	+++	+++	++	+++
H-14-2	+	++	+	+	+++	+++	++	+++
H-14-3	++	++	++	++	++	++	+	++
H-14-4	+	+	+	+	++	+++	+	++
H-14-5	+	++	++	+	++	+++	+	++
H-14-6	++	++	+	++	++	++	++	++
H-14-7	+	+	+	++	+++	+++	++	+++

H: Haşhaş, HK: Hiper-parakeratoz, EG: Egzositozis, AK: Akantozis, DY: Dermal yangı, GD: Granülasyon dokusu, YDO: Yeni damar oluşumu, F: Follikülit, FR: Foliküler rejenerasyon.

Tablo 4.3. Pomad grubunda histopatolojik lezyonların semi-kantitatif skorlaması. “-“ lezyon yok, “+” hafif, “++” orta, “+++” şiddetli.

LEZYONLAR								
Olgu	HK	EG	AK	DY	GD	YDO	F	FR
P-7-1	++	++	+++	+++	+	++	+++	++
P-7-2	++	++	+++	++	++	+	+++	+
P-7-3	++	+++	+++	++	+	++	+++	+
P-7-4	++	+	++	++	++	+	++	++
P-7-5	++	++	++	+++	+	+	++	+
P-7-6	++	+++	+++	++	+	+	+++	+
P-7-7	+	++	+	++	+	+	++	+
P-14-1	+	++	++	++	+	++	++	++
P-14-2	+	++	+	++	+++	+++	++	+++
P-14-3	++	++	++	+	++	++	++	++
P-14-4	++	+	+	++	+++	++	+	++
P-14-5	+	++	+	+	++	++	++	++
P-14-6	++	++	++	+	+	++	+	++
P-14-7	+	++	+	++	++	+	+	+

P: Pomad, HK: Hiper-parakeratoz, EG: Egzositozis, AK: Akantozis, DY: Dermal yangı, GD: Granülasyon dokusu, YDO: Yeni damar oluşumu, F: Follikülitis, FR: Foliküler rejenerasyon.

Tablo 4.4 Kontrol grubunda histopatolojik lezyonların semi-kantitatif skorlaması. “-“ lezyon yok, “+” hafif, “++” orta, “+++” şiddetli.

LEZYONLAR								
Olgu	HK	EG	AK	DY	GD	YDO	F	FR
K-7-1	++	++	++	++	+	-	+++	-
K-7-2	+	+	+	+	+	-	++	-
K-7-3	+++	++	++	++	++	-	+++	-
K-7-4	++	++	++	++	+	-	+++	-
K-7-5	+	++	+	++	+	-	++	-
K-7-6	++	+++	++	++	++	++	+++	++
K-7-7	++	++	++	++	+	-	+++	-
K-14-1	++	+++	+++	+++	+	-	+++	-
K-14-2	+	++	++	++	+	-	++	-
K-14-3	+++	+++	+++	+++	++	-	+++	-
K-14-4	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	-
K-14-5	++	++	++	++	+	-	++	-

Tablo 4.4 (Devamı) Kontrol grubunda histopatolojik lezyonların semi-kantitatif skorlaması. “-“ lezyon yok, “+” hafif, “++” orta, “+++” şiddetli.

K-14-6	+	++	+	+	+++	+++	++	+++
K-14-7	++	+++	+++	+++	+	-	+++	-

K: Kontrol, HK: Hiper-parakeratoz, EG: Egzositozis, AK: Akantozis, DY: Dermal yangı, GD: Granülasyon dokusu, YDO: Yeni damar oluşumu, F: Follikülitis, FR: Foliküler rejenerasyon.

Tablo 4.5 Haşhaş grubunda anti-CK16 İmmun-pozitif reaksiyonların skorlama değerleri. “-“ negatif, “+” az yoğun, “++” orta, “+++” yoğun.

Olgu	DERİ				KIL FOLİKÜLÜ			
	B	S	G	C	B	S	G	C
H-7-1	+++	+++	+++	-	+++	+++	++	-
H-7-2	+++	+++	+++	-	+++	+++	++	-
H-7-3	+++	++	++	-	+++	++	+	-
H-7-4	+++	+	+	-	+++	+	+	-
H-7-5	+++	++	++	-	+++	++	++	-
H-7-6	++	++	+	-	++	++	+	-
H-7-7	+++	+++	+++	-	+++	+++	++	-
H-14-1	+++	+++	+++	-	+++	+++	++	-
H-14-2	+++	++	+	-	+++	++	+	-
H-14-3	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	-
H-14-4	+++	++	++	-	+++	++	++	-
H-14-5	+++	++	+	-	+++	++	+	-
H-14-6	+	+	+	-	+	+	+	-
H-14-7	+++	++	++	-	+++	++	++	-

H: Haşhaş, B: Basale, S: Sipinosum, G: Granulosum, C: Corneum.

Tablo 4.6 Pomad grubunda anti-CK16 İmmun-pozitif reaksiyonların skorlama değerleri. “-“ negatif, “+” az yoğun, “++” orta, “+++” yoğun.

Olgu	DERİ				KIL FOLİKÜLÜ			
	B	S	G	C	B	S	G	C
P-7-1	+++	++	+	-	+++	++	+	-
P-7-2	+++	++	+	-	+++	++	+	-
P-7-3	+++	+	+	-	+++	+	+	-
P-7-4	+++	+	+	-	+++	+	+	-
P-7-5	+++	++	++	-	+++	++	+	-
P-7-6	++	++	++	-	++	++	++	-
P-7-7	+++	+	+	-	+++	+	+	-
P-14-1	+++	++	++	-	+++	++	++	-
P-14-2	+++	++	+	-	+++	++	++	-
P-14-3	+++	+++	++	-	+++	+++	++	-

Tablo 4.6 (Devamı) Pomad grubunda anti-CK16 İmmun-pozitif reaksiyonların skorlama değerleri. “-“ negatif, “+” az yoğun, “++” orta, “+++” yoğun.

P-14-4	+++	+++	++	-	+++	+++	++	-
P-14-5	+++	+++	++	-	+++	+++	++	-
P-14-6	+++	+++	+++	-	+++	++	++	-
P-14-7	+++	+++	++	-	+++	+++	++	-

P: Pomad, B: Basale, S: Sipinosum, G: Granulosum, C: Corneum.

Tablo 4.7. Kontrol grubunda anti-CK16 İmmun-pozitif reaksiyonların skorlama değerleri. “-“ negatif, “+” az yoğun, “++” orta, “+++” yoğun.

Olgu	DERİ				KIL FOLİKÜLÜ			
	B	S	G	C	B	S	G	C
K-7-1	++	+	-	-	++	+	-	-
K-7-2	+	+	-	-	+	+	-	-
K-7-3	++	+	-	-	++	+	-	-
K-7-4	+	+	-	-	+	+	-	-
K-7-5	++	++	-	-	++	++	-	-
K-7-6	+++	+++	++	-	+++	+++	++	-
K-7-7	+	-	-	-	+	-	-	-
K-14-1	++	+	-	-	++	+	-	-
K-14-2	+	+	-	-	+	+	-	-
K-14-3	++	+	-	-	++	+	-	-
K-14-4	+	+	-	-	+	+	-	-
K-14-5	++	++	-	-	++	++	-	-
K-14-6	++	+	-	-	++	+	-	-
K-14-7	+	-	-	-	+	-	-	-

K: Kontrol, B: Basale, S: Sipinosum, G: Granulosum, C: Corneum.

4.5. İstatiksel Analiz

Veriler Kruskal-Wallis testi kullanılarak analiz edildi, ardından post-hoc test olarak Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U-testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı.

Tablo 4.8. Yedinci gündeki histopatolojik lezyonların istatistiksel analizi.

Grup	HK	EG	AK	DY	GD	YDO	F	FR
Kontrol	1,857 ^b	2,000	1,714 ^b	1,857	1,286	0,286 ^b	2,714	0,286 ^b
Haşhaş	2,571 ^a	2,571	3,000 ^a	2,429	1,429	1,429 ^a	3,000	1,714 ^a
Pomad	1,857 ^b	2,143	2,429 ^{ab}	2,286	1,286	1,286 ^a	2,571	1,286 ^a
SEM	0,136	0,136	0,161	0,112	0,105	0,169	0,095	0,194
P değeri	0,044	0,199	0,002	0,099	0,815	0,011	0,174	0,007

^{a, b} aynı sütünde farklı harfları taşıyan ortalamalar önemli düzeyde fark olduğunu göstermektedir (P < 0,05)

HK: Hiper-parakerotozis; EG: Egzozitozis (Nötrofillerin epitel dokusu içine girmesi); AK: Akantozis (Epidermisin kalınlaşması) ; DY (Dermal Yangı) GD: (Granulasyon Dokusu); YDO: Yeni damar oluşumu neovaskularization; F: Follükülitis; FR: Folliküler rejenerasyon.

Tablo 4.9. Ondördüncü gündeki histopatolojik lezyonların istatistiksel analizi.

Grup	HK	EG	AK	DY	GD	YDO	F	FR
Kontrol	2,000	2,571 ^a	2,429 ^a	2,429	1,429	0,429 ^b	2,571 ^a	0,429 ^b
Haşhaş	1,286	1,714 ^b	1,286 ^b	1,571	2,429	2,714 ^a	1,571 ^b	2,429 ^a
Pomad	1,429	1,857 ^b	1,429 ^b	1,571	2,000	2,000 ^a	1,571 ^b	2,000 ^a
SEM	0,148	0,129	0,171	0,159	0,176	0,269	0,153	0,253
P değeri	0,155	0,013	0,019	0,053	0,061	0,004	0,010	0,009

^{a, b} aynı sütünde farklı harfları taşıyan ortalamalar önemli düzeyde fark olduğunu göstermektedir (P < 0,05)

HK: Hiper-parakerotozis; EG: Egzozitozis (Nötrofillerin epitel dokusu içine girmesi); AK: Akantozis (Epidermisin kalınlaşması) ; DY (Dermal Yangı) GD: (Granulasyon Dokusu); YDO: Yeni damar oluşumu neovaskularization; F: Follükülitis; FR: Folliküler rejenerasyon

Tablo 4.10. Yedinci gündeki immunohistokimyasal bulguların istatistiksel analizi.

Grup	DERİ				KIL FOLİKÜLÜ			
	B	S	G	C	B	S	G	C
Kontrol	1,714 ^b	1,286	0,286 ^b	0,000	1,714 ^b	1,286	0,286 ^b	0,000
Haşhaş	2,857 ^a	2,286	2,143 ^a	0,000	2,857 ^a	2,286	1,571 ^a	0,000
Pomad	2,857 ^a	1,571	1,286 ^a	0,000	2,857 ^a	1,571	1,143 ^a	0,000
SEM	0,164	0,184	0,228	0,000	0,164	0,184	0,169	0,000
P değeri	0,005	0,074	0,003	1,000	0,005	0,074	0,007	1,000

^{a, b} aynı sütünde farklı harfları taşıyan ortalamalar önemli düzeyde fark olduğunu göstermektedir (P < 0,05)

At day 7, application of Haşhaş and Pomad enhanced the immunoreactivity of CK16 in the basal and granulosum layers of skin (P = 0,005 and P = 0,003, respectively) and hair follicles (P = 0,005 and P = 0,007, respectively).

B: Basale, S: Sipinosum, G: Granulosum, C: Corneum.

Tablo 4.11. Ondördüncü gündeki immunohistokimyasal bulguların istatistiksel analizi.

Grup	DERİ				KIL FOLİKÜLÜ			
	B	S	G	C	B	S	G	C
Kontrol	1,571 ^b	1,000 ^b	0,000 ^b	0,000	1,571 ^b	1,000 ^b	0,000 ^b	0,000
Haşhaş	2,714 ^a	2,143 ^a	1,857 ^a	0,000	2,714 ^a	2,143 ^a	1,714 ^a	0,000
Pomad	3,000 ^a	2,714 ^a	2,000 ^a	0,000	3,000 ^a	2,571 ^a	2,000 ^a	0,000
SEM	0,177	0,201	0,240	0,000	0,177	0,194	0,217	0,000
P değeri	0,001	0,002	0,001	1,000	0,001	0,003	<0,001	0,000

^{a, b} aynı sütünde farklı harfları taşıyan ortalamalar önemli düzeyde fark olduğunu göstermektedir (P < 0,05)

CK16: Epitelial proliferasyon ve healing belirteci. Normal dokuda çok az oluyor, yara iyileşmesinde artıyor

B: Basale, S: Sipinosum, G: Granulosum, C: Corneum.

4.5.1. Histopatolojik Görünümlerin İstatistiksel Analizi

Tablodaki verilerde görüldüğü üzere 7. günde, EG, DY, GD ve F açısından gruplar arasında fark yoktu ($P > 0,05$). Ancak Haşhaş grubu, kontrol ve Pomad gruplarından daha yüksek HK değerine sahipti ($P = 0,044$). AK açısından Haşhaş grubunda AK daha büyüktü ($P = 0,002$), kontrol ve Pomad grubu arasında AK açısından fark yoktu ($P > 0,05$). Haşhaş ve Pomad grupları kontrol grubuna göre YDO ($P = 0,011$) ve FR'yi ($P = 0,007$) arttırdı.

Ondördüncü günde, HK, DY ve GD gruplar arasında etkilenmedi ($P > 0,05$). Ancak Haşhaş ve Pomad uygulaması EG'yi ($P = 0,013$), AK'yi ($P = 0,019$) ve F'yi ($P = 0,010$) kontrol grubuna göre düşürdü. Ayrıca Haşhaş ve Pomad gruplarında kontrol grubuna göre YDO ($P = 0,004$) ve FR ($P = 0,009$) arttığı görüldü.

4.5.2. İmmunohistokimyasal Görünümlerin İstatistiksel Analizi

Tablodaki verilerde görüldüğü üzere 7. günde, Haşhaş ve Pomad uygulaması, deri'nin bazal ve granülozum katmanlarında (sırasıyla $P = 0,005$ ve $P = 0,003$) ve kıl foliküllerinde (sırasıyla $P = 0,005$ ve $P = 0,007$) CK16'nın immünoreaktivitesini arttırdı. Benzer şekilde, 14. günde Haşhaş ve Pomad gruplarının korneum dışındaki tüm deri katmanlarında ve kıl folikülü katmanlarında CK16'nın immünreaktivitesi kontrol grubuna göre arttı gözlemlendi.

5. TARTIŞMA

Derinin mantar enfeksiyonları kolay bulaşabilen ve yayılabilen inatçı enfeksiyonlardandır (Hazıroğlu ve Milli 2000). Tedavide paranteral ilaçlar kullanılmakla beraber lokal etkili topikal solüsyon yada kremler kullanım kolaylığı nedeniyle daha çok tercih edilmektedir. (Kırmızıgül ve ark., 2009; Kırmızıgül ve ark., 2013; Ghannoum, 2016; Persinoti ve ark., 2018; Rudramurthy ve ark., 2018; Almeida ve ark., 2019). Paksoy ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada Zn ve Mn iz elementlerinin dermatofitozis enfeksiyonlarının oluşumunun önlenmesinde önemli derecede etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca tedavide lokal salisilik asit ve aşı uygulamalarının da denendiği bilinmektedir (Weitzmann, 1995; Hazıroğlu ve Milli 2000). Son yıllarda allylaminler ve azol grubu antibiyotiklere karşı dirençli olan mantar türlerine de rastlanmıştır (Ghannoum, 2016; Persinoti ve ark., 2018; Rudramurthy ve ark., 2018; Almeida ve ark., 2019). Bu nedenle mantar tedavisinde yeni ve alternatif ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Haşhaş (*Papaver somniferum*) uzun yıllardır hem gıda hem de ilaç sektöründe sıkça kullanılan bir bitkidir. Kabuğundan elde edilen opium alkaloidi özellikle analjezik olarak halen aktif olarak medikal sektörde kullanılmaktadır. Tohumu %50 oranında yağ içerir. Bunlardan serbest trigliseridlerin yanında palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic asit gibi esansiyel yağ asitleri yönünden oldukça zengindir. Özellikle linoleik asit yüksek miktarlarda bulunur. Bunların dışında aralarında iyotunda bulunduğu birçok iz elementi içerir (Özcan ve Atalay 2006). Bu çalışmada haşhaş yağının alternatif bir tedavi olarak derinin mikotik enfeksiyonlarındaki etkinliği araştırılmıştır.

Mantar tedavisinde klinisyenler tarafından uzun yıllardır vazelin bazlı asetik salisilik asit preparatları sıklıkla kullanılmaktadır. Vazelin doku yüzeyinde bir tabaka oluşturmaya rağmen doku yüzeyinden uzun süre kaybolmamakta, ancak vazelinle etken maddeyi homojen şekilde karıştırmak zor olmaktadır. Haşhaş yağı ise likid formda olduğundan dokudan emilimi kolay olmakla beraber yüzeye sürülen miktar akabileceğinden etkisini çok iyi gösterememektedir. Bu çalışma ile haşhaş yağının derideki mantar enfeksiyonlarındaki etkinliği kanıtlanmış olup ileriki çalışmalarda başka taşıt maddeler kullanılarak haşhaş yağının doku yüzeyinde uzun süre kalması sağlanarak yeni bir formülasyonla dokulardan emilimi artırılabilir.

Bu çalışmada uygulanan haşhaş yağı ve pomad salisilik uygulamaları karşılaştırıldığında ilk hafta her ikisinde de yangısal reaksiyonun şiddetlendiği, etkenlerin sayısının azaldığı gözlenmekle beraber ikinci haftada gözlenen yangısal reaksiyonlar her iki grupta da azalmıştır. Ancak kıl folliküllerinin ve çok katlı yassı epitelin tamirinin pomad salisilik grubunda haşhaşa göre daha yavaş olduğu ve keratinize tabakanın bazı olgularda hala yoğun olduğu görülmüştür. Bu durumun haşhaş yağının içerdiği diğer bileşiklerle ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Dokularda mantar etkinliğinin görüntülenmesinde gümüşleme ya da periodic acid-schiff gibi boyama yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada Grocott Metanamin Silver yöntemiyle çok katlı yassı epitelin özellikle stratum corneum tabakası olmak üzere birçok katmanında kıl foliküllerinin lümeni ve epitelleri arasında koyu kahve-siyah renkte çomak ya da yıldıza benzer şekilde kırıntılar halinde mantar etkenlerine rastlandı. Ancak dokularda mantar etkenleriyle birlikte bazal mebranlar ve bazı bağ doku komponentlerinde aynı renge boyanması nedeniyle etkenin lokalizasyonu ve invazyon bölgelerini tanımlamada zorluklarla karşılaşıldı. Aynı kesitlere light green karşıt boyamalı PAS methodu uygulandığında bağ doku komponentleri ve etkenlerin kolaylıkla birbirinden ayırt edildiği görüldü. Bu nedenle mantar boyalamalarında histokimyasal olarak PAS methodunun daha avantajlı olacağı kanısına varıldı.

Çalışma sonrasında elde edilen veriler ışığında tedavinin etkinliği açısından mantar erkenlerinin yoğunluğu ve parakeratotik değişiklikler karşılaştırıldığında haşhaş yağı ve pomad salisilik asit arasında belirgin bir fark olmadığı ve haşhaş yağının ekonomik değeri ve temini açısından daha tercih edilebilir bir seçenek olabileceği düşünülmüştür.

Andreoli ve ark., 2014 yaptıkları çalışmada mikotik dermatitis tedavisi etkinliğini belirlemede Tenascine ve CK16 gibi iyileşme belirteçlerini kullanmışlardır. Bu çalışmada da haşhaş yağının mikotik dermatitislerdeki etkinliğinin araştırmada hücre proliferasyonunun bir belirteci olarak CK16 kullanılmıştır. Dokularda CK16 salınımı normal dokularda çok az ya da hiç bulunmaz. Ancak özellikle yara iyileşmesi ve epitel hücre proliferasyonu sırasında

salınımı artar. Bu çalışmada haşhaş yağı grubunda birinci günde hafif anti-CK16 pozitif reaksiyonlar gözlenirken yedinci günde alınan doku örneklerinde anti-CK16 pozitif salınımların yoğunluğu ve şiddetinin arttığı 14. günde ise göreceli olarak salınımların yoğunluğu ve şiddetinin azaldığı tespit edildi. Salisilik asit grubunda ise birinci günde hafif olan anti-CK16 immünpozitif reaksiyonlar yedinci günde şiddeti ve yoğunluğu arttırmış 14. günde ise aynı yoğunlukta ve şiddette olduğu gözlenmiştir. Bu pozitif reaksiyonlar haşhaş grubuyla karşılaştırıldığında ise şiddeti ve yoğunluğunun daha az olduğu tesbit edilmiştir. Bu durum asetilsalisilik asitin mantarların üremesi için gerekli olan alkali ortamı nötürleştirebileceğinden dolayı etkenlerin yıkımlanmasına neden olduğunu ancak yenilenmenin organizmanın kendi çabasıyla olduğundan daha yavaş olduğunu düşündürmektedir. Haşhaş yağındaki anti-CK16 pozitif boyanmaların bu yağın içerisindeki palmik, linoleik ve linolenik asit gibi maddeler sayesinde etkeni öldürmekle beraber hücre yenilenmesinin esasîel önem taşıdığından yenilenme ve rekonstrüksiyon hızını arttırdığı düşünülmektedir. Bu düşünce H&E boyamalarda haşhaş grubundaki kıl shaftlarının epidermise doğru uzanırken, salisilik asit grubunda nokta ya da düğümçük şeklinde olmasının nedenini açıklamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile mantar tedavisinde kullanılan ilaçlar ve uygulanan yöntemlere karşı direnç gelişebildiği bu nedenle haşhaş yağının alternatif bir tedavi yöntemi olarak ya da aşı uygulamasına destek tedavisi olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte haşhaş yağının hücre proliferasyonu üzerindeki pozitif etkisi nedeniyle gerek mantar enfeksiyonları, gerekse diğer yara iyileşmelerinde haşhaş yağının alternatif bir ilaç olarak kullanılabileceği ortaya çıkmıştır. Konuyla ilgili daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

- Aghamirian MR, Ghiasian SA (2009).** Dermatophytes as a cause of epizoonoses in dairy cattle and humans in Iran: Epidemiological and clinical aspects. *Mycoses*. p: 52-56.
- Almeida F, Rodrigues ML, Coelho C (2019).** The still underestimated problem of fungal diseases worldwide. *Front microbiol.*, 1-10.
- Alpun G, Özgür NY (2009).** Mycological examination of *Microsporum canis* infection in suspected dermatophytosis of owned and ownerless cats its aseptomatic carriage. *J Anim Vet Adv*. **8(4)**, 803-806.
- Andreoli A, Ruf MT, Sopoh GE, Schmid P, Pluschke G (2014).** Immunohistochemical Monitoring of Wound Healing in Antibiotic Treated Buruli Ulcer Patients. *PLoS Negl Trop Dis* **8(4)**: e2809. doi:10.1371/journal.pntd.0002809;
- Arda M (2000).** *Temel Mikrobiyoloji*. 2. Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, s: 315-368.
- Arda M (2006).** *Temel Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Medisan Yayınları, s: 315-367.
- Aslan Ö, Aksoy A, İça T (2010).** Dermatofitozisli genç sığırlarda serum çinko, bakır ve mangan seviyesi. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **7**, 29-33.
- Babel DE, Rogers AL (1983).** Dermatophytes: their contribution to infectious disease in North America. *Clin Microbiol Newslett*, **5**, 81-85.
- Baere T, Zhang X, Aubert B, Harry G, Lagrange C, Ropers J, Dufaux J, Lumbroso J, Rougier P, Ducreux M, Roche A (1996).** Quantification of Tumor Uptake of Iodized Oils and Emulsions of Iodized Oils: Experimental Study, *Radiology*, **201**, 731-735.
- Baldo A, Tabart J, Vermout S, Mathy A, Collard A, Losson B, Mignon B (2008).** Secreted subtilisins of *Microsporum canis* are involved in adherence of arthroconidia to feline corneocytes. *J. Med. Microbiol.*, **57(9)**, 1152-1156.
- Bıyık F (2008).** *Dermatofitlerin identifikasyonunda moleküler yöntemlerin yeri ve uygulanabilirliğinin belirlenmesi*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul/Türkiye.
- Blake JS, Dahl MV, Herron MJ, Nelson RD (1991).** An immunoinhibitory cell wall glycoprotein (mannan) from *Trichophyton rubrum*. *J. Invest Dermatol.*, **96**, 657-661.
- Bossche VH, Engelen M, Rochette F (2003).** Antifungal agents of use in animal health- chemical, biochemical and pharmacological aspects. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, **26**, 5-29.

Bozan B, Temelli F (2003). Extraction of poppy seed oil using supercritical CO₂. *J Food Sci.*, **68(2)**:422-426.

Brouta F, Descamps F, Monod M, Vermout S, Losson B, Mignon B (2002). Secreted metalloprotease gene family of *Microsporum canis*. *Infect. Immun.*, **70**, 5676-83.

Carlton WW, McGavin MD (1995). *Thomson's special veterinary pathology*. 2th Edition, St. Louis: Mosby-Year Book, Inc., p: 487-489.

Chaudhry NMA, Tariq P (2008). In vitro antibacterial activities of kalonji, cumin and poppy seed. *Pakistan J Botany*, **40(1)**, 461.

Chermette R, Ferreira L, Guillot J (2008). Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia*, **166**, 385-405.

Çiftçi A, İça T, Sareyyüpoğlu B, Müştak KH (2005). Kedi ve köpek dermatofitozlarından izole edilen mantarların retrospektif değerlendirilmesi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **52**, 45-48.

Enoch S, Leaper DJ (2008). Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)*, **23(2)**:37-42.

Ferreira-Nozawa MS, Silveira HCS, Ono CJ, Fachin AL, Rossi A, Martinez-Rossi NM (2006). The pH signaling transcription factor PacC mediates the growth of *Trichophyton rubrum* on human nail in vitro. *Med. Mycol.*, **44**, 641-645.

Ghannoum, M (2016). Azole resistance in dermatophytes: prevalence and mechanism of action. *J Am Podiatr Med Assoc*, **106(1)**, 79-86.

Gökçe G, Şahin M, Irmak K, Oflu S, Aydın F, Genç O (1999). Sığır *Trichophytosis*'inde profilaktik ve terapötik amaçla aşı kullanımı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **5**, 81-86.

Gudding R, Arve Lund A (1995). Immunoprophylaxis of bovine dermatophytosis. *Can. Vet. J.*, **36**, 302-306.

Gül Y, Aksoy G, Kurtdere A, Ağaoğlu TZ, Dodurka T, Akgül Y, Kaymaz AA, Kalınbacak A, Or EM, Keleş İ, Bakırel U, Erdoğan MH, Çitil M (2006). *Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları*. 2. Baskı, Ankara: Medipres Yayınevi, s: 392-393.

Gültepe A (2013). *Papaver somniferum L. Çiçeklerinin esansiyel yağ içeriği, antimikrobiyal ve antifungal özelliklerinin belirlenmesi*. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar.

Hazıroğlu R, Milli HÜ (2000). *Veteriner Patoloji*. 2. Baskı, Ankara: Medipres Yayınevi, s: 695-700.

Hunt RD, Jones TC, King NW (1997). *Veterinari Pathology*. 6th edition, Baltimore, USA: Lippincott Williams & Wilkins, p: 531-534.

Ito Y, Nozawa Y, Suzuki H, Setoguti T (1969). Surface structure of dermatophytes as seen by the scanning electron microscope. *Sabouraudia: J. of Med. and Vet. Mycol.*, **7(3)**, 270-272.

İlhan Z (2015). Isolation of dermatophytes from cattle, sheep, goats and Van cats in Van and its around. *Van Vet. J.*, **26(1)**, 1-5.

Kaufman G, Horwitz BA, Duek L, Ullman Y, Berdicevsky I (2007). Infection stages of the dermatophyte pathogen *Trichophyton*: microscopic characterization and proteolytic enzymes. *Med. Mycol.*, **45**, 149-155.

Kırmızıgül AH, Gökçe E, Büyük F, Erkilic EE (2013). Effectiveness of the local application of 1% tioconazole in the treatment of bovine dermatophytosis. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **19 (Suppl-A)**, 191-194.

Kırmızıgül AH, Gökçe E, Özyıldız Z, Büyük F, Şahin M (2009). Sığırlarda dermatofitozis tedavisinde enilconazole'ün (%10) topikal kullanımı: Klinik, mikolojik ve histopatolojik bulgular. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **15 (2)**, 273-277.

Kunert J (1992). Effect of reducing agents on proteolytic and keratinolytic activity of enzymes of *Microsporum gypseum*. *Mycoses*, **35**, 343–348.

Larone DH (2011). Medically Important Fungi: A Guide to Identification, *American Society for Microbiology*. 5th Edit., Washington/ USA: ASM Press, p: 1-485.

Lechenne B, Reichard U, Zaugg C, Fratti M, Kunert J, Boulat O, Monod M (2007). Sulphite efflux pumps in *Aspergillus fumigatus* and dermatophytes. *Microbiol.*, **153**, 905–913.

Leng W, Liu T, Wang J, Li R, Jin Q (2008). Expression Dynamics of secreted protease genes in *Trichophyton rubrum* induced by key host's proteinaceous components. *Med Mycol*, 1-7.

Lenselink EA (2015). Role of fibronectin in normal wound healing. *International wound journal*, **12(3)**, 313-316.

Maranhão FCA, Paião FG, Martinez-Rossi NM (2007). Isolation of transcripts over-expressed in human pathogen *Trichophyton rubrum* during growth in keratin. *Microbiol. Pathog*, **43**, 166-172.

Martinez-Rossi NM, Ferreira-Nozawa MS, Graminha MAS, Nozawa SR, Fachin AL, Cervelatti EP (2004). Molecular aspects of dermatophyte-host interactions. In: Kushwaha RKS, ed. *Fungi in human and animal health*. Jodhpur, India: Scientific Publishers Jodhpur, 143-165.

Marzluf GA (1997). Genetic regulation of nitrogen metabolism in the fungi. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **61**, 17–32.

Ogawa H, Summerbell RC, Clemons KV, Koga T, Ran YP, Rashid A, Sohnle PG, Stevens DA, Tsuboi R (1998). Dermatophytes and host defence in cutaneous mycoses. *Med. Mycol.*, **36**, 166-173.

Özcan MM, Atalay Ç (2006). Determination of seed and oil properties of some poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties. *Grasas y aceites*, **57(2)**, 169-174.

Paksoy N, Özçelik M, Erkilç EE, Büyük F, Ögün M, Kırmızıgül AH (2013). Kars yöresindeki dermatofitozisli sığırlarda serum bakır, çinko ve mangan seviyeleri. *Atatürk Üniv. Vet. Bil. Derg.*, **8(3)**, 210-215.

Paladini RD, Takahashi K, Bravo NS, Coulombe PA (1996). Onset of re-epithelialization after skin injury correlates with a reorganization of keratin filaments in wound edge keratinocytes: defining a potential role for keratin 16. *The Journal of cell biology*, **132(3)**, 381-397.

Peres NTA, Sanches PR, Falcao JP, Silveira HCS, Paiao FG, Maranhao FCA, Gras DE, Segato F, Cazzaniga RA, Mazucato M, Cursino-Santos JR, Aquino-Ferreira R, Rossi A, Martinez-Rossi NM (2010). Transcriptional profiling reveals the expression of novel genes in response to various stimuli in the human dermatophyte *Trichophyton rubrum*. *BMC Microbiol.*, **10**, 39.

Persinoti GF, Martinez DA, Li W, Dogen A, Billmyre RB, Averette A, et al. (2018). Whole-genome analysis illustrates global clonal population structure of the ubiquitous dermatophyte pathogen *Trichophyton rubrum*. *Genetics*, **208**, 1657–1669.

Pisa D, Alonso R, Rábano A, Horst MN, Carrasco L (2016). Fungal enolase, β -tubulin, and chitin are detected in brain tissue from Alzheimer's disease patients. *Fron. in microbiol.*, **7**, 1772.

Presnell J, Schreibman MP (1997). *Animal Tissue Techniques*. 5th ed., The Johns Hopkins University Press Ltd., London. pp. 269-271.

Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR (1999). *Clinical Veterinary Microbiology*. London, England: Mosby-Wolfe. 1999; p: 381-390.

Robert R, Pihet M (2008). Conventional methods for the diagnosis of dermatophytes. *Mycopathologia*. **166**: 295-306.

Rudramurthy SM, Shankarnarayan SA, Dogra S, Shaw D, Mushtaq K, Paul RA, Chakrabarti A (2018). Mutation in the squalene epoxidase gene of *Trichophyton interdigitale* and *Trichophyton rubrum* associated with allylamine resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **62(5)**, e02522-17.

Scazzocchio C (2000). The fungal GATA factors. *Curr Opin Microbiol*, **3**, 126–131.

Scott RP (2009). *Sheep medicina (Koyun hastalıkları)*. Çev: Yeşildere T, Deprem O., 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., s: 252-253.

Silveira HCS, Gras DE, Cazzaniga RA, Sanches PR, Rossi A, Martinez-Rossi NM (2010). Transcriptional profiling reveals genes in the human pathogen *Trichophyton rubrum* that are expressed in response to pH signaling. *Microbiol. Patho.*, **48**, 91-96.

Suresh S, Arumugam D, Zacharias G, Palaninathan S, Vishwanathan R, Venkatraman V (2016). Prevalence and clinical profile of fungal rhinosinusitis. *Allergy & Rhinology*, **7**(2), 115-120.

Şeker E, Doğan N (2011). Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytosis in Western Turkey *Prev. Vet. Med.*, **98**, 46-51.

Tani K, Adachi M, Nakamura Y, Kano R, Makimura K, Hasegawa A, Kanda N, Watanabe S (2007). The effect of dermatophytes on cytokine production by human keratinocytes. *Arch. Dermatol. Res.*, **299**, 381-387.

Tel OY, Akan M (2008). Kedi ve köpeklerden dermatofitlerin izolasyonu. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **55**, 167-171.

Tsuboi R, Ko IJ, Takamori K, Ogawa H (1989). Isolation of a keratinolytic proteinase from *Trichophyton mentagrophytes* with enzymatic activity at acidic pH. *Infect Immun.*, **57**, 3479-83.

Vermout S, Baldo A, Tabart J, Losson B, Mignon B (2008). Secreted dipeptidyl peptidases as potential virulence factors for *Microsporum canis*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **54**, 299-308.

Vermout S, Tabart J, Baldo A, Mathy A, Losson B, Mignon B (2008). Pathogenesis of dermatophytosis. *Mycopathol.*, **166**, 267-275.

Wagner DK, Sohnle PG (1995). Cutaneous defenses against dermatophytes and yeasts. *Clin. Microbiol. Rev.*, **8**, 317-335.

Weitzman I, Summerbell RC (1995). The dermatophytes. *Clin. Microbiol. Rev.*, **8**, 240-259.

Yahyaraeyat R, Shokri H, Khosravi AR, Soltani M, Erfanmanesh A, Nikain D (2009). Occurrence of animals dermatophytosis in Tehran, Iran. *World J. Zool.* **4** (3), 200-204.

Yarsan E, Durgut R (2002). *Veteriner Hekimliğinde Deri Hastalıkları ve Sağaltım*. 1. Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, s: 147-148.

Yavuz M (2013). *Toprakta ve insandan izole edilen bazı dermatofitlerin moleküler tanısı*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın/Türkiye.

Yücel A (1999). Medical mycology: yesterday and today. *Cerrahpasa J. Med.*, **2**, 191-198.

Zaugg C, Monod M, Weber J, Harshman K, Pradervand S, Thomas J, Bueno M, Giddey K, Staib P (2009). Gene expression profiling in the human pathogenic dermatophyte *Trichophyton rubrum* during growth on proteins. *Eukaryot Cell*, **8**, 241-250.



