



DERMATOMİKOZ VE FIRSATÇI MİKOZLAR

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
KSÜ TIP FAKÜLTESİ

Dermatofitlerin Laboratuvar Tanısı

Dermatofitoz insan ve hayvanlardaki keratinize dokuların (saç, tırnak ve deri) fungal enfeksiyonudur. Dermatofitoz etkeni olan mantarlara dermatofit adı verilmektedir.

Dermatofit grubu içerisinde üç farklı cins bulunur: *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Trichophyton*. *Epidermophyton* (tek tür içerir) deri ve tırnakta, *Microsporum* türleri saç ve deride, *Trichophyton* türleri ise saç, deri ve tırnakta enfeksiyonlara yol açar. Bu mantarlar küf fazında üreme gösterirler. 64

Septalı hifa yapısına sahiptirler ve aseksüel spor oluştururlar. Bu aseksüel sporlar dermatofit türlerini birbirinden ayırt etmek için en çok başvuru kriterler arasındadır.

Dermatofitleri Tanımlama Yöntemleri

Örnek Alma

Enfekte bölge örnek alınmadan önce normal bakteriyel flora elemanlarının uzaklaştırılması amacı ile % 70 alkol ile silinir. Steril bir keskin olmayan bistüri ile özellikle lezyonun kenarlarından olacak şekilde kazıntı materyalleri toplanır. Enfekte saç penset yardımı ile köklerinden koparılır. Tırnak için ise distal uçtan kazıntı materyali alınır. Örnekler steril bir kap veya temiz bir kağıt parçası içerisine konularak Laboratuvara gönderilir.

Direkt Mikroskopik İnceleme

Kazıntı örnekleri temiz bir lam üzerine alınır. Üzerine bir damla %10-20'lik potasyum hidroksit (KOH) solüsyonu damlatılır. Üzerine lamel kapatılarak oda sıcaklığında yaklaşık 20 dakika bekletilir. Preparat 400X büyütmede hifa ve artrokonidia varlığı açısından incelenir.

Dermatofitlerin Kültürü

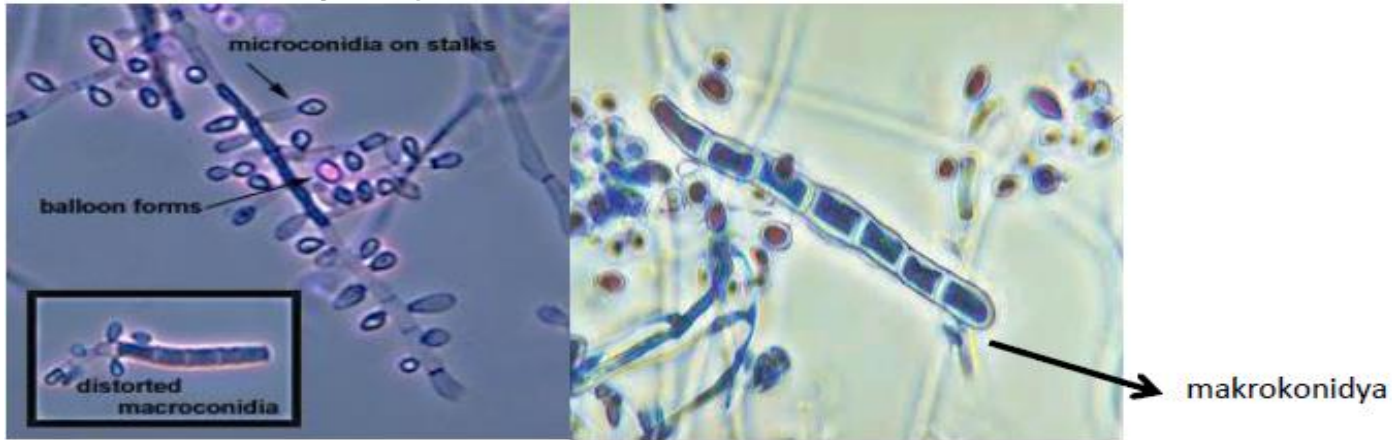
Kloramfenikol ve sikloheksimid eklenmiş Sabouraud dekstroza agar (Mikobiyotik agar) kullanılır. Kloramfenikol bakterilerin, sikloheksimid ise saprofit küf mantarlarının üremesini baskılar. Çengel öze yardımı ile alınan materyaller besiyerine gömülerek ekimleri yapılır. 25°C'lik etüvde 3-4 hafta süre ile inkübasyona bırakılır. Üreme gözlenen örnekler için tanımlama işlemlerine geçilir.

Dermatofitlerin Tanımlanması

Tür tayinleri agar blok kültürlerinde görülen hifa ve spor yapıları ve SDA besiyerindeki subkültürleri neticesinde oluşturdukları koloni morfolojileri ve pigmentasyonlarına göre yapılır.

Trichophyton

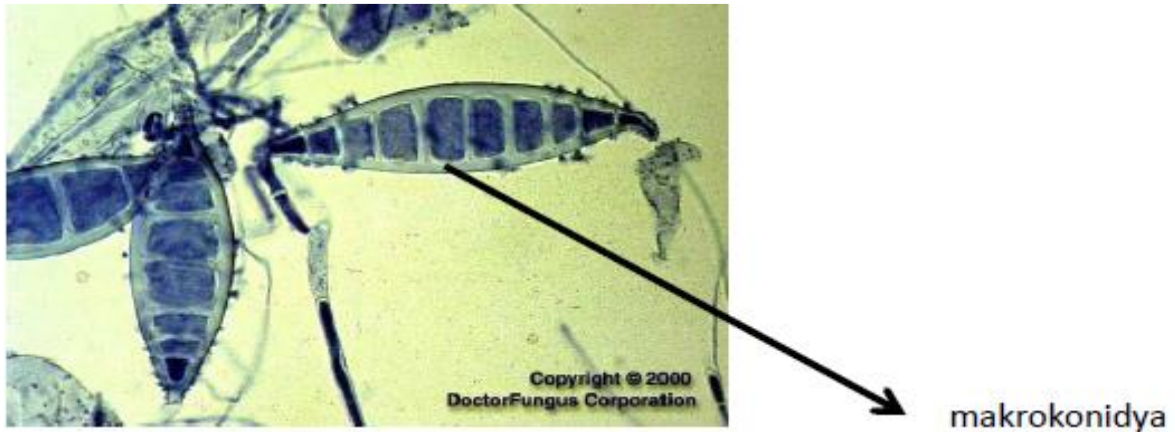
Bu cinse ait türler pamuksu veya kadifemsi koloniler oluşturur. Koloniler değişik renklerde görülebilirler (kırmızı, kahverengi, krem rengi, violet vs.). Genellikle az oranda, ince duvarlı mekik şeklinde ve az bölmeli makrokonidia'lar ve çok miktarda mikrokonidya oluşturur.



Trichophyton türlerinin mikroskopik görünümü

Microsporum

Bu genusa ait türler karakteristik bol miktarda kalın duvarlı, çok bölmeli ve yüzeyleri düzgün olmayan makrokonidyalar oluştururlar. Mikrokonidyalar ya hiç görülmez ya da çok az görülür.



Microsporum türlerinin mikroskopik görünümü

Epidermophyton

Bu genusta patojen olarak sadece *E. floccosum* bulunmaktadır. Bu mantar türü karakteristik uçları yuvarlak az bölmeli makrokonidya'lar oluştururken hiç mikrokonidya oluşturmaz.



Epidermophyton floccosum'un mikroskopik görünümü

Fırsatçı Mikoz Etkenlerinin Laboratuvar Tanısı

Fırsatçı mantar enfeksiyonları, immün sistemi baskılanmış kişilerde önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasındadır. Bu enfeksiyonlar, normal flora üyeleri ya da doğada sıkça bulunan mantarlar ile oluşur. En sık karşımıza çıkan fırsatçı mantar enfeksiyonu etkenleri *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Zygomycetes*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Scedosporium*, *Scopulariopsis*, *Paecilomyces* ve *Trichoderma* türleridir.

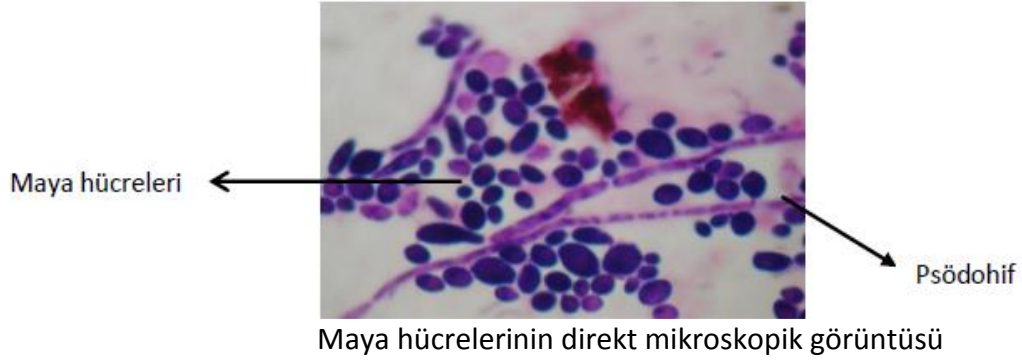
Candida

Candida türleri tüm dünyada en sık fırsatçı mikoz etkeni olan mantarlardır. *Candida* maya morfolojisinde bir mantardır. *Candida* cinsi içerisinde yüze yakın sayıda tür bulunur. *Candida albican* enfeksiyonlarda en sık etken olan türdür.

Candida'ların Laboratuvar Tanısı

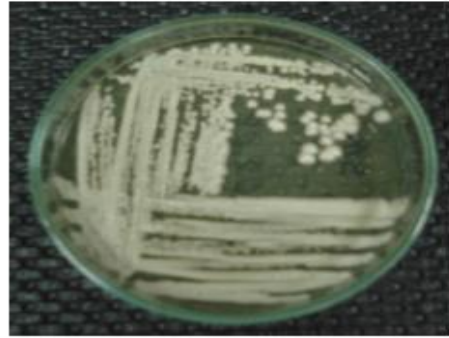
Direkt Mikroskopik İnceleme

Klinik örneklerden preparat hazırlanarak fiske edilir. Daha sonra Gram boyama yöntemi ile boyanarak 1000X büyütme ile incelenir. Kandidalar oval, yuvarlak tomurcuklanan maya hücreleri şeklinde görülür. Birçok kandida türü bu yapılarla ek olarak psöдохif oluşturur.



Kültür

Klinik örnekler Sabouraud dekstroza agar (SDA) besiyerine tek koloni ekim yöntemi ile ekilir. Kültürler 30-35°C'lik etüvlere kaldırılarak 1 hafta süreyle inkübe edilirler. Kandidalar genellikle krem renkli, yumuşak kıvamlı, kendilerine has kokuları olan koloniler oluştururlar.



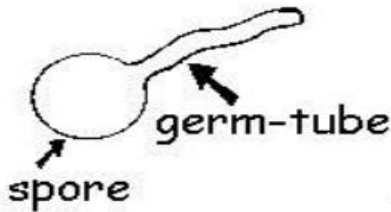
Kandidaların tür düzeyinde tanımlanması

Germ tüp testi

0.5 ml Serum (insan, tavşan, dana)

Taze *Candida* kültürü

Serum örnekleri eppendorf tüp içine koyulur. Test edilecek kültürden bir öze dolusu alınarak serum içerisine ilave edilir. Tüpler 37°C'de 2-3 saat inkübe edilir. Tüp içeriğinden bir damla alınarak temiz bir lamın üzerine koyulur. Üzeri lamel ile kapatılıp 400X büyütmede uzun tüp benzeri yapıların varlığı açısından incelenir.



Şekil 7-8. Germ tüp oluşumu

Şekil 7-9. Pozitif germ tüp testi

Aspergillus

Aspergillus doğada (toprak, çürümüş bitkiler, vb.) yaygın olarak bulunan bir küf mantarıdır. Bu mantarlar yaygın ve lokal enfeksiyonlara neden olurlar. Ayrıca hipersensitivite reaksiyonu sonucu bronkopulmoner aspergilloz da oluşturabilirler. Enfeksiyonlarda en sık izole edilen tür *A. fumigatus*'tur. Fırsatçı mikozlarda *Candida* türlerinden sonra en sık görülen *Aspergillus* türleridir. *Aspergillus* türleri tarafından oluşturulan enfeksiyonlar ekzojen kaynaklıdır.

Aspergillus'ların Laboratuvar Tanısı

Direkt Mikroskopik inceleme

Klinik örneklerden (balgam, bronşiyal lavaj, akciğer ve paranasal sinüs biyopsisi vb.) KOH damlatma yöntemi ile nativ preparat hazırlanıp 400X'lük büyütmede incelenir. Mikroskopik incelemede 45°'lik açı oluşturan septalı hifler (dikotom) görülmesi *Aspergillus* için tipiktir.

Kültür

Örneklerin SDA'ya ekimleri yapılarak 30-37°C'de 7-21 gün inkübe edilir. Pamuksu, kadifemsi, türlere göre farklı renkleri olan koloniler oluştururlar. Örneğin *A. fumigatus* kolonileri mavi-yeşil, *A. flavus* kolonileri çimen yeşili renktedir. Koloni özellikleri tür tanımlanmasında kullanılan kriterlerden biridir.



A. flavus koloni görünümü

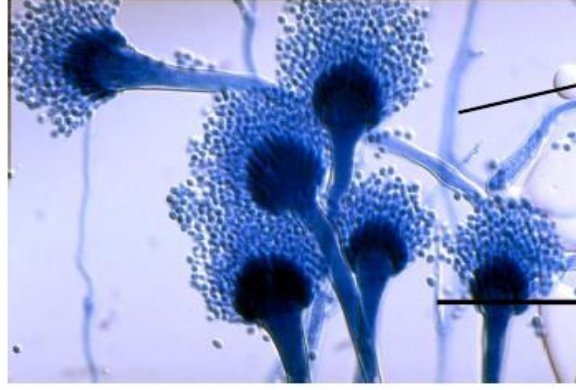
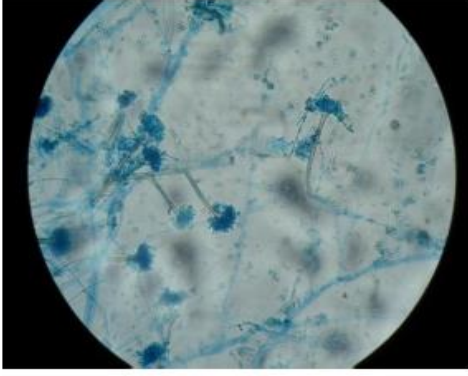


A. fumigatus koloni görünümü

Aspergillus türlerinin tanımlanması

Oluşan kolonilerden küçük bir parça kesilerek lam üzerine koyulur. Üzerine bir damla laktofenol pamuk mavisı damlatılır ve lamel kapatılır. Lamelin üzerine hafifçe bastırıldıktan sonra 400X'lük büyütmede incelenir. Gerek görüldüğünde agar blok kültürü yapılarak daha ayrıntılı inceleme yapılır.

Mikroskopik incelemede septalı hif, konidyofor, vezikül ve fiyalidlerin yapıları incelenerek tür tanımlaması yapılır.



Aspergillus türlerinin mikroskopik görünümü

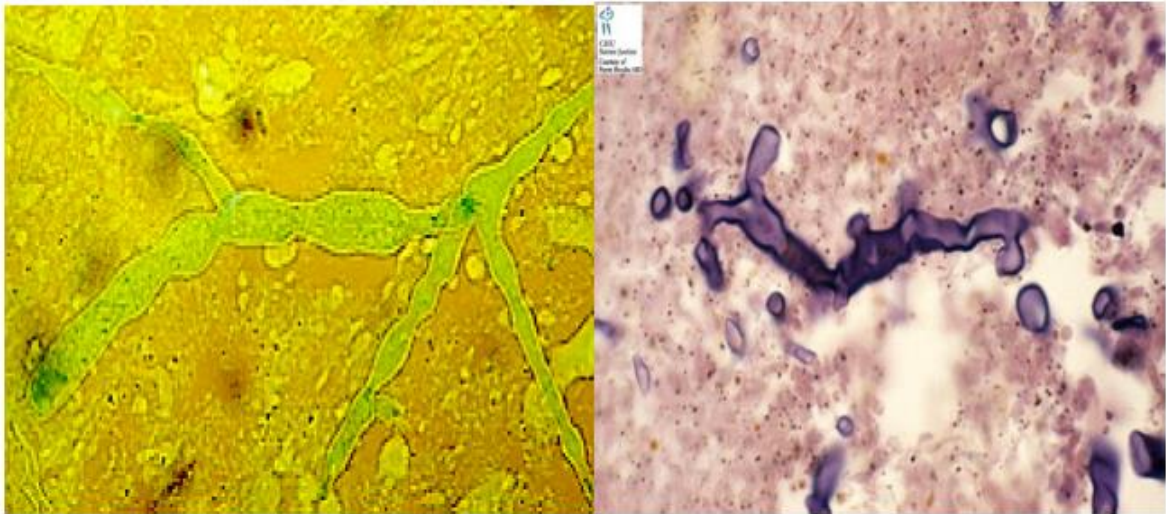
Zygomycetes

Doğada yaygın olarak bulunan küf mantarlarıdır, oluşturdıkları enfeksiyonlara zigomikoz denir. Bu sınıfta çok sayıda cins bulunur. *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia* en sık enfeksiyon yapanlardır.

Zygomycetes'lerin Laboratuvar Tanısı

Direkt mikroskopik inceleme

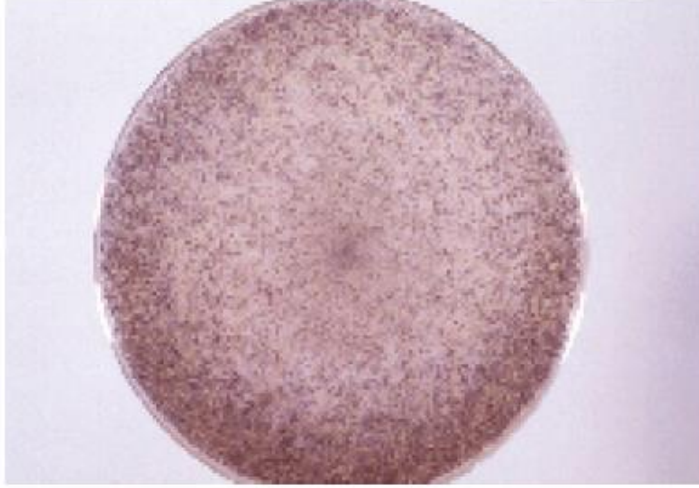
İncelenecek örneklerden (paranasal sinus direnaji, akciğer biyopsisi, bronşiyal lavaj, balgam vb.) KOH yöntemi ile nativ preperat hazırlanır ve 400X'lük büyütmede incelenir. Bu incelemede seyrek septalı ya da septasız, dik açıyla dallanan hifler görülür. Dokular Gomori metenamin gümüşleme yöntemi ile boyanıp vasküler invazyon, infarkt ya da nekroz alanları tespit edilebilir.



Zygomikoz etkenlerinin dokudaki görünümü

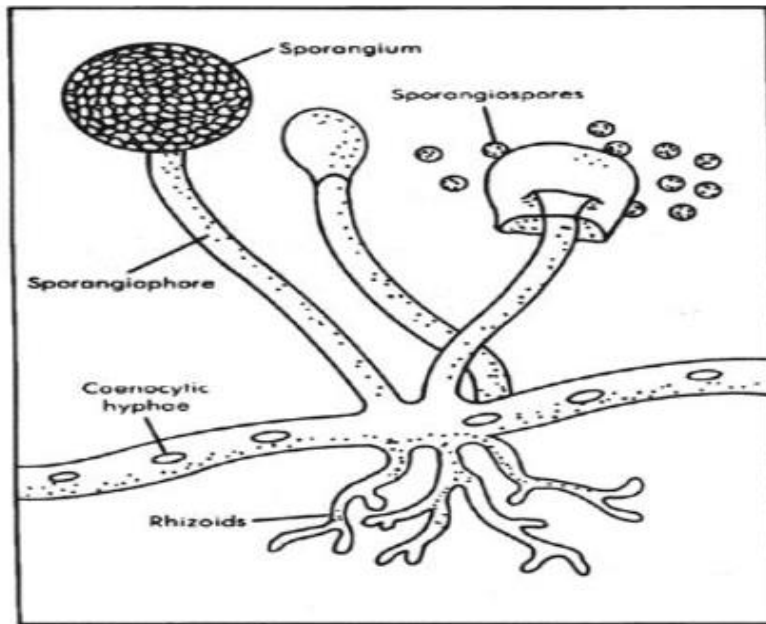
Kültür

Zygomycetes sınıfı mantarların izolasyonu için örnekler SDA'ya ekim yapılır. Birkaç gün (24-96 saat) sonra petrinin tamamını kaplayan, tüylü, gevşek, beyaz-gri ya da kahverengi koloniler oluşur. Koloniler besiyerinin tüm yüzeyini kaplar ve yüksekliği petri kutusunun kapağına kadar ulaşabilir. Koloni rengine bakılarak cins ayırımı yapılamaz.



Zygomycetes türlerinin tanımlanması

Üreyen kolonilerden laktofenol pamuk mavisi ile hazırlanan preparatlar 400'lük büyütmede incelenir. Septasız ya da seyrek septalı, düzensiz konturlu hifler, içlerinde sporangiyospor bulunduran sporangiyumlar görülür. Bazı cinslerde (*Rhizopus*, *Absidia*) rizoid (köksü yapılar) bulunur.



Zygomycetes grubu mantarların mikroskopik görünümü

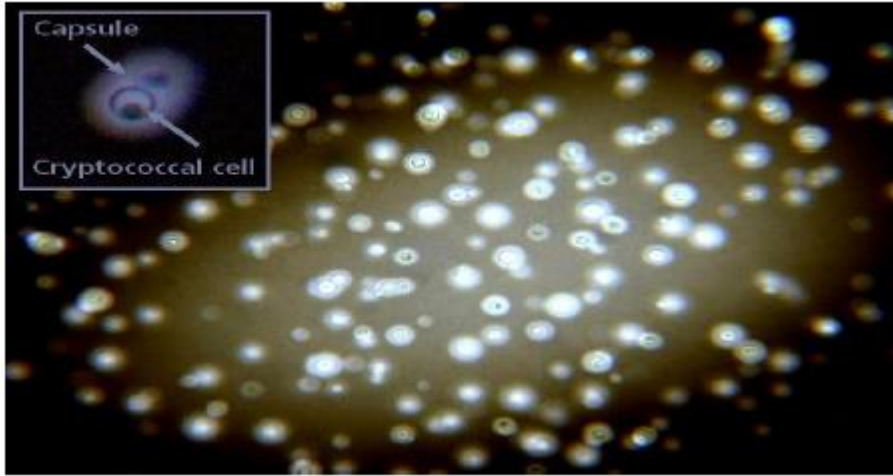
Cryptococcus neoformans

Genellikle immün yetmezliği olan kişilerde görülen firsatçı mikoz etkenlerinin başlıcalarındandır. Meningeal enfeksiyon sıktır ve en kolay tanınan şeklidir. Enfeksiyonları Kriptokokkoz olarak adlandırılır. Tıbbi önem taşıyan mayalar arasında kapsüllü olması ile ayrıcalıklı bir mantardır. *C.neoformans*, hem 37 C , hem de 26 C 'de tomurcuklanarak üreyebilen 5-12 mikrometre çapında, kapsüllü, maya fazında bir mantardır.

***Cryptococcus neoformans*'ın Laboratuvar Tanısı**

Direkt mikroskopik inceleme

Klinik  rnekler ( ođunlukla BOS) *C. neoformans* açısından  ini m rekkepi ile incelenir. Örnekler mutlaka santrifüj edilmelidir. Temiz bir lam üzerinde örnek ve  ini mürekkebi birebir oranında karıştırılır.  zeri lamel ile kapatılarak 400X büyütmede incelenir. Gri-siyah zeminde kapsüllü, bazen tomurcuklanmış veya ikili şekillerde görülür. Mantarın çevresinde  ini mürekkebi preperatında görülen kapsül asidik mukopolisakkarit yapısında olup kapsül genişliğinin patojenite ile ilişkisi vardır.



C. neoformans'ın mikroskopik görünümü

Kültür

Örnekler SDA'ya ekimleri yapıldıktan sonra 35-37 C'lik etüvde 48-72 saat arası inkübe edilirler. Süre sonunda krem renkli, yassı, parlak, ıslak görünümlü çoğunlukla s m ğ ms  ve çevresi düzgün koloniler oluştururlar. Kapsülün kalınlığı arttıkça oluşan koloniler daha mukoid olur.

***Cryptococcus* Türlerinin Tanımlanması**

Kolonilerin mukoid olması ve mikroskopik incelemede kapsüllü maya hücrelerinin görülmesi *C. neoformans*'ı düşündürmelidir. pozitifdir.