

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kedi ve Köpeklerden Dermatofitlerin İzolasyonu

Osman Yaşar TEL

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet AKAN

2005- ANKARA

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kedi ve Köpeklerden Dermatofitlerin İzolasyonu

Osman Yaşar TEL

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet AKAN

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından 405 proje numarası ile desteklenmiştir.

2005- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mikrobiyoloji Doktora **Programı**

Çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşağıdaki juri tarafından
Doktora **Tezi** olarak Kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/12/2005

Prof. Dr. Müjgan İZGÜR
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Hakan YARDIMCI
Üniversitesi
Raportör

Prof. Dr. Jale PARACIKOĞLU
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Oktay KESKİN
Harran Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	ix
1.GİRİŞ	1
1.1. Mikolojinin Tarihçesi	1
1.2. Genel Bilgiler	5
1.3. Dermatofitler	7
1.3.1. Trichophyton Cinsi	10
1.3.2. Microsporum Cinsi	12
1.3.3. Epidermophyton Cinsi	14
1.4. Epidemiyoloji	15
1.5. Patogenez	18
1.6. Klinik Belirtiler	18
1.7. Dermotofitlerin Tanısı	19
1.7.1. Wood Lambası	20
1.7.2. Direkt Mikroskopi	21
1.7.3. Kültür	21
1.7.4. Moleküler Teknikler	24
1.8. Tedavi	25
1.9. Koruma	27
2.GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1. Gereç	28
2.1.1. Kullanılan Besiyerleri	29
2.1.2. PCR Testinde Kullanılan Buffer ve Solüsyonlar	30
2.1.3. PCR Testinde Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar	32
2.2. Yöntem	32
2.2.1. Direkt Mikroskopi	32
2.2.2. Kültür	32

2.2.3. Moleküler Teknikler	33
2.2.3.1. DNA Eldesi (Ekstraksiyon)	33
2.2.3.2. Amplifikasyon (PCR)	33
2.2.3.3. Nukleik Asitlerin Görüntülenmesi	34
3.BULGULAR	35
3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları	36
3.2. PCR Bulguları	43
4.TARTIŞMA	44
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	50
ÖZET	51
SUMMARY	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	60

ÖNSÖZ

Dermatofitler, insan ve hayvanlarda hafiften ciddiye kadar değişen infeksiyonlara neden olmaktadır. İnsan ve hayvanlarda yaptıkları infeksiyona **Ringworm**'da denilmektedir. Son yıllarda özellikle AIDS gibi immünsüpresif hastalarda görülen öldürücü mantar infeksiyonları, dermatofitlerin önemini artırmaktadır. Ayrıca hayvanlardan insanlara geçen zoonoz dermatofitler halk sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır.

Yapılan pek çok çalışmada hayvanlardaki mantar infeksiyonlarının büyük çoğunluğunu dermatofitlerin oluşturduğunu göstermiştir. Kedi ve köpekler semptom göstermeksizin dermatofit etkenini taşımaları özellikle insanlar için büyük bir risk taşımaktadır. Kediler *M. canis* için rezervuar olduğu pekçok çalışmada gösterilmiştir. Son yıllarda kedi köpek besleyen hayvan sahiplerinde de dermatofitozis görülmesi infeksiyonun önemini arttırmıştır. Bu konu ile ilgili yurt dışında pek çok çalışma yapılmasına karşın, ülkemizde yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, konu ile ilgili bilgiler sağlaması açısından oldukça önemlidir.

Son yıllarda özellikle büyük şehirlerde kedi köpek gibi pet hayvanlarına olan ilginin artması, beraberinde hayvan sahiplerine bulaşan zoonoz dermatofit oranında yükselmeye neden olmuştur. Ülkemizde de insanlarda dermatofitlerin neden olduğu infeksiyonların varlığı farklı araştırmacılar tarafından belirlenmiş ve halk sağlığı açısından önemli olduğu vurgulanmıştır.

Kedi ve köpeklerde dermatofit prevalansının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, teşhiste moleküler temelli çalışmaların kullanımı her geçen gün artmaktadır. Ülkemizde özellikle hayvanlarda dermatofit varlığının saptanmasında moleküler çalışmaların kullanımı hedefleyen çalışmalar bugüne kadar yapılmamıştır. Bu çalışmada, kedi ve köpeklerden izole edilen dermatofitlerin doğrulanması amacıyla PCR ilk kez kullanılmış ve bu tekniğin dermatofit etkenlerinin teşhisinde kullanılabilirliği ortaya konmuştur.

Doktora tez çalışmam sırasında büyük desteklerini gördüğüm danışman hocam Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mehmet AKAN başta olmak üzere, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Müjgan İZGÜR'e, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri, Prof. Dr. Nejat AYDIN, Prof. Dr. K. Serdar DİKER, Prof. Dr. Hakan YARDIMCI, Prof. Dr. Ömer M. ESENDAL, Prof. Dr. Jale PARACIKOĞLU'na, materyal toplamamda yardımcı olan Veteriner hekim Ahmet GÜVEN'e, Moleküler çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU'na, Pozitif DNA'ları sağlamada yardımcı olan Dr. Toshio Kanbe'ye Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Araştırma Görevlilerine, doktora ve yüksek lisans yapan arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AP-PCR	Arbitrarily Primed-PCR
CHS1	Chitin Synthase 1
DIM	Dermatofit İdentifikasyon Medium
DTM	Dermatophyte Test Medium
EDM	Enriched Dermatophyte Medium
EK	Elektroforetik Karyotip
ITS	Internal Transcribed Spacer
MLEE	Multi-Locus Enzyme Electrophoresis
PCR	Polymerase Chain Reaction
PCR-EIA	Polymerase Chain Reaction-Enzyme Immunoassay Detection
PFGE	Pulsed-Field Gel Elektroforezisi
RAPD	Random Amplification of Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SDA	Sabouraud Dekstroz Agar

ŞEKİLLER

Şekil 3.1 <i>M. canis</i> kolonisinin önden görünümü (SDA)	38
Şekil 3.2 <i>M. canis</i> kolonisinin arkadan görünümü (SDA).	38
Şekil 3.3. <i>M. canis</i> 'in DTM'de görünümü.	38
Şekil 3.4. <i>M. canis</i> 'in laktofenol pamuk mavisi boyası ile yapılan preparatında makrokonidyumların mikroskopik görünümü (x40).	38
Şekil 3.5. <i>M. gypseum</i> kolonisinin önden görünümü (SDA)	39
Şekil 3.6. <i>M. gypseum</i> kolonisinin arkadan görünümü (SDA)	39
Şekil 3.7. <i>M. gypseum</i> DTM'deki görünümü.	39
Şekil 3.8. <i>M. gypseum</i> 'un laktofenol pamuk mavisi boyası ile yapılan preparatında makrokonidyumların mikroskopik görünümü (x40).	39
Şekil 3.9. <i>M. nanum</i> kolonisinin önden görünümü (SDA).	40
Şekil 3.10. <i>M. nanum</i> kolonisinin arkadan görünümü (SDA).	40
Şekil 3.11. <i>M. nanum</i> 'un laktofenol pamuk mavisi boyası ile yapılan preparatında makrokonidyumlarının mikroskopik görünümü (x40).	40
Şekil 3.12. <i>T.terrestre</i> kolonisinin önden görünümü (SDA).	41
Şekil 3.13. <i>T.terrestre</i> kolonisinin arkadan görünümü (SDA).	41
Şekil 3.14. <i>T. mentagrophytes</i> kolonisinin önden görünümü (SDA)	41
Şekil 3.15. <i>T. mentagrophytes</i> kolonisinin arkadan görünümü (SDA).	41
Şekil 3.16. Dermatofit PCR sonuçları	43

ÇİZELGELER

Çizelge.1.1. <i>Mikrosporum, Trichophyton, Epidermophyton</i> cinslerinin genel morfolojik özellikleri	10
Çizelge 1.2. Dermatofitlerin ekolojik sınıflandırılması	16
Çizelge 2.1. Materyallerin kaynak ve sayıları	28
Çizelge 3.1 İncelenen materyallerin yaş ve cinsiyetlere dağılımı	35
Çizelge 3.2. Direkt mikroskopi ve kültür sonuçlarının karşılaştırılması bulguları	36
Çizelge 3.3. Dermatofit etkenlerinin besiyerine göre dağılımı	37
Çizelge 3.4. Kültür sonucunda izole edilen dermatofitlerin türlere göre dağılımı	37
Çizelge 3.5. Dermatofitozların cinsiyete göre dağılımı	42
Çizelge 3.6. Dermatofit etkenlerinin yaşa göre dağılımı	42

1. GİRİŞ

1.1. Mikolojinin Tarihçesi

Whittaker (1969) tarafından yapılan sınıflandırmaya göre canlılar, Protista, Mantarlar, Bitkiler, Hayvanlar ve Monera olmak üzere beş ayrı alemde toplanmıştır. Bunlardan ilk dördü (çok hücreli formlar) ökaryotlar olarak belirlenmiştir ve yalnızca Monera prokaryot olarak tanımlanmıştır. Organizmalardaki bu iki kategoriyi, temelde çekirdek membranının varlığı ya da yokluğu belirlemektedir. Sistematikte uzun zamandan beri mantarlar yukardaki beş alemde biri olarak düşünülmüştür (Guarro ve ark., 1999). Bazı mikologlara göre mantar alemi Myxomycota ve Eumycota olarak iki bölüme (divizyon) ayrılmaktadır. Myxomycota bölümünde, uygun olmayan şartlarda spor oluşturan ve uygun koşullarda ise saprofit olarak yaşayan mantarlar, Eumycota bölümünde ise diğer mantarlar bulunmaktadır. Eumycota bölümü; Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Deuteromycotina ve Basidiomycotina olarak beş altbölümden oluşmaktadır. Mastigomycotina; Chytridiomycete'leri, Zygomycotina; Mucorales takımını, Ascomycotina; *Saccharomyces* gibi gerçek mayaları ve eşeyli üreyen fırsatçı küfleri, Basidiomycotina; yüksek mantarları, Deuteromycota bölümü ise patojen ve fırsatçı küf ve maya tipi mantarları içerecek şekilde düzenlenmiştir (Willard, 1986). Daha yeni bir sistematikte ise Myxomycota bölümü ve Mastigomycotina alt bölümü protistalar arasına alınmış ve mantarlar alemi Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota ve Deuteromycota bölümlerine ayrılmıştır (Aşçı, 1992).

Doğada 250. 000 tür mantar saptanmasına karşılık, bunlardan 150 tür insan ve hayvanlar için primer patojendir (Tümbay, 1999). Mantar alemi; Basidiocarpus larının biçiminden dolayı şapkalı mantarlar denilen ve çıplak gözle görülen belirli yapıdaki mantar türlerinden, iri bir amip gibi görünen çok çekirdekli yapışkan küflere, tek hücreli ve ancak mikroskopta görülebilenlere kadar çeşitli türleri kapsar. Mikoloji sözcüğü, Yunanca şapkalı mantar anlamına gelen "mykes" kelimesinden köken almıştır. Doğada ve insan yaşamında önemli birçok faydalarının yanısıra bir

kısım mantarlar bitkilerde, hayvanlarda ve insanlarda hastalıklara yol açarlar. Misetismus ve mikotoksikoz şeklindeki zehirlenmeler ve sebep oldukları allerji dışında bir kısım mantarlar da mikoz etkenidir (Kiraz, 1988).

Mantar varlığının tanınması çok eski zamanlara kadar uzanmaktadır. Bitkiler üzerinde mantarların ürediğini ve bazı zararlara neden olduğuna ait ilk bilgiler Vedas (M.Ö. 1200) tarafından verilmiştir. Romalılar zamanında, depolarda saklanan taneler ve tahıllarda mantarların ürediğini Pliny (M.S. 23-79) bildirmiştir. Yine bu dönemlerde mantarlara ait bazı resimlerin çizildiği, Pompei'deki kazılardan anlaşılmaktadır (Arda, 1980).

Mantar infeksiyonlarına ilişkin bilinen en eski belge M.Ö. 2000-1000 yıllarında Hindu kutsal yazıtında (Samhita) bulunmuştur ve insan ayaklarında oluşan misetomadan söz etmektedir. Diğer belgeler ise Hipokrat (MÖ 400-300)'ın kandidozu tartışan metni ile bir Roma'lı ansiklopedist olan Celsus'un halen Vatikan Kütüphanesi'nde korunmakta olan sekiz ciltlik De Re Medicina'sında söz ettiği yangılı ringworm, ağızda kandidiyaz ve favus sayılabilir (Yücel, 1999). Bauhin (1560-1624) mantarlar üzerine araştırmalar yapmış ve "Pinax Theatri Botanici" adlı eserinde 100 kadar mantarın özelliklerini bildirmiştir. 17. yüzyılda mikroskopun bulunmasıyla mantar sistematigi çalışmaları başlamış, Tournefort adlı araştırmacı çeşitli mantarlar ve likenler üzerinde incelemeler yaparak bunları, morfoloji ve diğer karakterlerine dayanarak, 6 gruba (1-Fungus, 2-Boletus, 3-Agaricus, 4-Lycoperdon, 5-Coralloides, 6-Tubira) ayırmış ve bu bilgiler "Element de Botanique" adlı eserinde yayımlamıştır. Mikolojinin kurucusu sayılan İtalyan botanist Micheli 1729'da Nova Plantarum Genera adlı eserinde mantarla ilgili araştırmalarından söz etmektedir. Peroson (1761-1836), mantarlara ilişkin incelemelerini, taksonomik bir yapıt olan "Synopsis Methodica Fungorum" (1801)'da toplamıştır. Ayrıca, bu konuda yayımlanan "Mycologia Europea" (1822; 1828) adlı çalışmasında, mantarları 2 sınıf, 6 takım ve 71 cinse ayırarak sınıflandırmıştır. Fries (1794-1878), bugünkü mantar sistematiginin esasını kurmuş, "Systema Mycologicum" adlı eseri hazırlamıştır (Arda, 1980).

Diğer bilimlerde olduğu gibi esaslı bilgiler 19. yüzyılda toplanmaya başlanmıştır. 1835'de Bassi, hasta ipek böcekleriyle çalışarak muskardin hastalığının etkenine *Beauvaria bassieni* adını vermiştir. 1837'de Remak ilk defa insanlardaki bir mantar hastalığı ile ilgili bir açıklamada bulunmuştur. Sabouraud, Pasteur'ün saf kültürler elde edebilmek için bulduğu metodlardan çok önce, mantar kültürlerinin yapıldığını yazmıştır. Saccardo, mantarlar üzerinde 1880 yılına kadar yapılmış inceleme ve araştırmaları 25 cilt halinde "Sylloge Fungorum" adlı eserde toplamış; bu eserde 80.000 mantar türü bildirmiştir (Espinell-Ingroff, 1996).

Avrupalı 3 hekim 19. yüzyılın ortalarında favusun etiyolojik ajanını bulmuşlardır. Remak, Schönlein ve Gruby (1841-1844) birbirlerinden bağımsız olarak favusu incelemiş ve bu hastalığa bugün *Trichophyton schoenleinii* adı verilen mantarın sebep olduğunu bulmuşlardır. Bu alandaki birçok başarılı çalışmalarından dolayı Gruby, Mikoloji'nin gerçek kurucusu olarak bilinmektedir (Weitzman ve Summerbell, 1995).

Sabouraud, en iyi tanınan ve bu konuda en çok çalışma yapan mikologlardan biridir. Sabouraud, taksonomi, dermatofitozisin tedavisi ve kültür metodları üzerine önemli çalışmalar yapmıştır. Mikolojinin tarihi gelişimi; 1835'de Bassi ile başlayan ilk çalışmalar dönemi, Sabouraud'nun 50 yıllık çalışmalarını kapsayan ve kendi ismiyle vurgulanacak olan Sabouraud dönemi ve son dönem olarak üç devrede incelenmektedir. Bugün mantarların üretilmesi için kullanılan besiyeri Sabouraud'un onuruna Sabouraud glukoz (dekstroz) agar olarak isimlendirilmiştir (Yücel, 1999). Sabouraud'un temel metodolojisi ve tedavi ile ilgili detaylı gözlemleri, griseofulvinin bilim dünyasına katıldığı döneme kadar çok az değişerek kalmıştır. 1958'de griseofulvinin geliştirilmesi ile dermatofitlerin tedavi edilebilmesi için çok önemli bir adım atılmıştır. Daha sonraki yıllarda yüzeysel mantar infeksiyonlarında griseofulvinin lokal olarak uygulanabilmesini sağlayan Blank ve ark., tedavide önemli bir adımı gerçekleştirmişlerdir (Tosun, 1994).

Dermatofitlerde pleomorfizm ve değişmeler üzerine çalışmalar yapan, *Monosporium apiospermum*'un eşeyli şeklinin bir askomiset olan *Allescheria boydii*

olduğunu ve 1944'e kadar ayrı iki mantar türü olarak tanınan bu iki şeklin aynı türe ait olduğunu tarif eden Emmons (1900-1985)'da Mikoloji'de bir çok araştırmalara ve ilerlemelere öncülük etmiştir. Emmons 1934'de botanik kurallarına uyarak, terminolojik ve taksonomik kuralları tekrar gözden geçirmiştir. Langeron Miloc ve Hevitch'in önerilerini de gözönünde bulundurarak bilinen bütün dermatofit türlerini biraraya toplamıştır. Dermatofitlerin spor morfolojisi ve diğer yapılarını temel alarak günümüzdeki klasifikasyonu geliştirmiştir. Achorion cinsini çıkarmış ve sadece *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* cinslerini tanımıştır (Espinel-Ingroff, 1996).

İnsan orjinli örneklerden Endodermophyton (*Trichophyton rubrum*)'u Castellani izole etmiştir. Saç perforasyon testini geliştiren Vanbreuseghem, patojen olmayan *Keratinomyces ajelloi*, *Trichophyton terrestre* ve *Microsporum cookei*'yi izole etmiştir. İnsan pulmoner Aspergillozis'ini ilk olarak tanımlayan Virchows, medikal terminoloji içine "Mycosis" terimini dahil etmiştir (Aşçı, 1992).

Ülkemizde Osmanlı İmparatorluğu döneminde özellikle dermatofitler konusunda çalışılmış, Celalettin Muhtar tarafından el ve ayak dermatofitleri hakkındaki ilk makale 1892'de yayınlanmıştır. Bunu 1908'de Talad'ın favus konusundaki yayını izlemiştir. Prof. Dr. Ekrem Kadri Unat ülkemizde bulunan dermatofitlerin ilk listesini hazırlamış, hem *Histoplasma capsulatum* hem de *Cryptococcus neoformans*'ın doğal kaynağından ayrılması ile ilgili ilk çalışmaları başlatmıştır. Ayrıca, madurumikoz, *Pneumocystis carinii* olgularını ve dünyada ilk kolon kriptokokkozunu bildirmiştir. Mikoloji konusunda çeşitli çalışma ve yayınlarda bulunmuş olan Prof. Dr. Emel Tümbay, Prof. Dr. Ekrem Kadri Unat, Prof. Dr. Nizamettin Erbakan, Prof. Dr. Lütfi Tat, Prof. Dr. Cemal Gezen, Prof. Dr. Reşat T. Kınacıgil, Prof. Dr. Nevzat Öke, Prof. Dr. Behiç Onul, Prof. Dr. Namık Aksoycan, Prof. Dr. Enver Tali Çetin, Prof. Dr. Özdem Anğ, Prof. Dr. Ömer Kasımoğlu, Prof. Dr. Ayhan Yücel, Prof. Dr. Nuran Yuluğ ve Prof. Dr. Mustafa Arda Türkiye'de mikolojinin tanınmasında ve yerleşmesinde büyük katkılarda bulunmuşlardır (Yücel, 1999).

1.2. Genel Bilgiler

Mantarlar, ökaryotik hücre yapısında, fotosentez yapamayan, genellikle, hareketsiz aerobik mikroorganizmalardır. Görünüm bakımından mantarlar; mayalar ve küfler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Üremeleri tek hücre şeklinde, küremsi yapılar halinde olursa maya, çok hücreli şekilde, filamentöz iplikçikler şeklinde olursa küf olarak isimlendirilir. Küflerde görülen filamentöz yapılara hif, hiflerin dallanması, birbirlerine sarılması ve bazen birbirleriyle birleşmesi sonucu meydana gelen yapıya miselyum denilir (Murray ve ark., 1990).

Hifler, mantar türlerine bağlı olarak; bölmeli hifler, bölmesiz hifler, raket hifler, nodüller cisimcik, taraksı cisim, spiral cisimcik ve favus şamdanı gibi çeşitli biçimlerde oluşurlar. Bulundukları beslenme ortamının içine uzanıp beslenme işlemini gören miselyum kısmına vejetatif miselyum (vegetative mycelium), beslenme ortamının üzerine çıkarak yüzeyde yükselen kısmına aerial (havasal) miselyum (aerial mycelium) denir. Bazı maya türü mantarlarda hücrelerin çoğalmaları esnasında birbirlerine yapışık kalması ile kitleler veya zincirlerden oluşan ipliksi yapıya yalancı hif (pseudohypha) adı verilir (Murray ve ark., 1990).

Elektron mikroskopuyla yapılan incelemelerde, mantar hücresinde dışardan içeriye doğru hücre duvarı, sitoplazma zarı, sitoplazma ve çekirdek bulunur. Hücre duvarı 0,06 µm kalınlığındadır. Yapısında kitin veya selüloz (polisakarid yapısındadır), amino-polisakaridler (kitosan, glikozamin, galaktozamin), aminsiz polisakaridler (glukan, manan, natürel polisakarid, poliüronidler), proteinler ve diğer bileşikler (lignin, lipit, melanin, inorganik elementler) bulunur. Sitoplazmik zarda sterol vardır. Sitoplazma ise çeşitli granüller (glukojen, volütün, yağ vb.), mitokondrialar, golgi aygıtı ve endoplazmik retikulum içerir. Belirgin bir çekirdek zarı ile çevrili çok kromozumlu çekirdekleri 2-3 µm büyüklüğünde ve çekirdekçikleri vardır. Bazı maya tipi mantarlarda ise (*Cryptococcus* gibi) hücre çeperinin dışında geniş polisakkarit yapıda bir kapsül bulunur (Aşçı, 1992; Topçu ve ark., 2002).

Mantarlarda üreme yeteneğinde olan hücreye spor denilir. Bu organizmalar sporlanma (sporulasyon) ile eşeysiz (aseksüel) veya eşeyli (seksüel) olarak çoğalma yeteneğine sahiptir. Mantarlar zigospor, askospor, basidiyospor ve oospor oluşturarak eşeyli; artrospor, blastospor, klamidiospor ve konidiospor oluşturarak eşeysiz ürerler (Arda, 1980).

Eşeyli olarak üreyebilen mantarlar, tam (perfect) mantar olarak tanımlanırlar. Tam mantarların bazılarının eşeysiz olarak da üredikleri görülür. Tam mantarlar Ascomycetes, Basidiomycetes ve Zygomycetes sınıflarındaki bazı türlerden oluşmaktadır. Tam olmayan (imperfect) mantarlar, tam olanlardan, eşeysiz şekilde spor oluşturmalarına göre ayrılırlar. Hiflerin uçlarında ve duvarlarında, tomurcuklanma veya bölünme ile serbest bir şekilde oluşmakta olan bu sporlar konidiyum olarak adlandırılırlar. Üreme siklusu konidiyumlarda gerçekleşir (Topçu ve ark., 2002).

Eşeyli üreme dönemi de gösterebilen mantar türleri, klinik laboratuvarlarda nadiren bu şekilde izole edilmektedirler. Bu yüzden, genel olarak klinikçe önemli mantarların bir çoğunun eşeysiz olarak ürediği kabul edilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, özel besiyerlerinin kullanımı ve gelişen laboratuvar teknikleri ile bu türlerin eşeyli şekillerinin varlığı da ortaya konulmuştur. Bu duruma tipik bir örnek olarak aseksüel üreme döneminde *Trichophyton mentagrophytes* olarak isimlendirilen dermatofit gösterilebilir. Aynı türün seksüel dönemi bulunduğu zaman *Arthroderma benhamiae* olarak isimlendirilmiştir (Simpanya, 2000).

Gerçek maya kapsamı dışında kalan maya tipi mantarlar ise, seksüel bir evre geçirmezler ve Deuteromycetes sınıfına dahildirler. Böyle mayalar filamentli mantarlar olarak bilinirler. Zenginleştirilmiş besiyerlerinde ve canlı dokuda, 37 °C’de maya benzeri hücreler olarak, bunun yanında 26 °C’de besiyerlerinde ise küf tipi mantarlar şeklinde ürerler. Bu türlere *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatiditis* ve *Sporothrix schenckii* örnek olarak gösterebilir. Dimorfik davranışları

ve farklılıkları ile ortaya çıkan böyle mantarlar, termal dimorfik mikroorganizmalar olarak kabul edilirler (Tümbay, 1999).

1.3. Dermatofitler

Dermatofitler asal kaynağı toprak olan özel bir grup küf mantarı olup, insan ve hayvanlarda deri, kıl ve tırnakları infekte ederek “**dermatofitoz**” olarak tanımlanan çeşitli kutanöz infeksiyonları oluştururlar. Bu etkenlerin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği infeksiyona ‘**Ringworm**’da denilmektedir. İnfeksiyon genel olarak kutanözdür ve cansız kornifiye dokularla sınırlıdır (Quinn ve ark., 1994; Topçu ve ark., 2002). Dermatofitler, keratinli dokularda kolaylıkla üreyebilen bir mantar grubu olarak sadece görüntüleri ile değil, fizyolojik, taksonomik ve antijenik yapıları, üreme gereksinimleri, bulaşma derecesi ve yapmış oldukları hastalıklar açısından da benzerlik gösterirler. Kıl, deri ve tırnaklarda akut veya kronik şekilde seyreden mantar hastalıklarına neden olurlar. Deri altını ender olarak infekte ettikleri bildirilmiştir (Kiraz, 1988).

Dermatofitozlar hakkında epidemiyolojik bilgiler sınırlıdır. Bu nedenle de hastalığın insan ve hayvanlarda gerçek insidensi tam olarak bilinmemektedir. İnfeksiyonun kontrolü ve halk sağlığının korunması açısından, dermatofitozların epidemiyolojisinin bilinmesi ve klinik örneklerden izole edilen dermatofitlerin tür düzeyinde tanımlanması, özellikle de endemik bulunduğu yerlerin bilinmesi önemlidir (Wright, 1989; Aly, 1994).

Köpek ve kedilerde dermatofitoza neden olan etkenler arasında *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Microsporum gypsum* önemlidir (Scott ve Horn, 1987; Sparkes ve ark., 1993; Cabanes ve ark., 1997; Pinter ve ark., 1999). Genel olarak, kedilerdeki dermatofit prevalansı köpeklerden daha yüksektir. Dünyanın her yerinde kedi ve köpek dermatofitozlarının başlıca etkeni *M. canis*’tir ve bu hayvan türleri, etkenin rezervuarıdır. *T. mentagrophytes*, genellikle, avlanma sırasında rodentlerden, *M. gypsum* ise kedi ve köpeklerin toprağı eşelemeleri

sırasında bu hayvanlara bulaşır (Tümbay ve ark., 1999). Ayrıca *Microsporum persicolor*, *Microsporum fulvum*, *Microsporum equinum*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton terrestre*, *Trichophyton ajelloi*, *Trichophyton erinacei*, *Trichophyton equinum*, ve *Trichophyton rubrum* gibi türlerin de daha az oranda izole edildiği bildirilmiştir (Sparkes ve ark., 1993; Ranganathan ve ark., 1998). Bir kedi ya da köpek hiçbir semptom göstermeksizin insanlara hastalığı bulaştırabilir. Bu asemptomatik taşıyıcılar, gerek diğer hayvanlar gerekse insanlar için en önemli infeksiyon kaynağıdır (Cattcott, 1975; Scott ve Horn, 1987; Cervantes-Olivares, 2003).

Microsporum canis kedilerdeki dermatofitoz olgularının % 90'ından sorumludur (Cattcott, 1975; Cabanes ve ark., 1997). İnfeksiyona yakalanma açısından en yüksek risk grubunu bir yaştan altındaki kediler oluşturur fakat cinsiyet yatkınlığı ve hastalığın mevsimsel dağılımının etkisi açık değildir (Sparkes ve ark., 1993). Araştırmacılar, bu durumun genç kedilerdeki kazanılmış bağışıklık eksikliği ya da genç kedilerin derisindeki ısı farklılıkları ile açıklamaktadırlar (Brilhante ve ark., 2003; Cafarchia ve ark., 2004). Özel bir ırk duyarlılığı olmamasına karşın uzun tüylü kedilerde hastalık daha yaygındır (Mancianti ve ark., 2002). Köpeklerde de *M. canis*'in neden olduğu dermatofitoz olgularıyla sık karşılaşılır, buna karşın bu oran kedilere göre daha azdır (Wright, 1989; Cervantes-Olivares, 2003). Bir yaştan altındaki Yorkshire terrier gibi uzun tüylü köpek ırklarında infeksiyon daha yaygındır (Sparkes ve ark., 1993). Hırvatistan'da yapılan bir araştırmada, dermatofitozdan şüpheli kedilerin % 98,6'sından köpeklerin % 90,8'inden *M. canis* izole edildiği bildirilmiştir (Pinter ve ark., 1999). İngiltere'de yapılan bir başka araştırmada, köpeklerde *M. canis* dermatofitozların oranı % 65 olarak belirlenmiştir. Bu oranın *T. mentagrophytes* için % 23 ve *M. gypseum* için % 0,8 olduğu saptanmıştır (Sparkes ve ark., 1993). İspanya Barcelona'da dermatofitoz kuşkulu kedilerin % 94,7'sinden ve köpeklerin % 73,3'ünden *M. canis* izole edilmiştir (Cabanes ve ark., 1997). Ayrıca *M. canis*'in insan mikrosporiozisinin % 30'undan, bütün insan dermatofitozisinde % 15'inden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Scott ve Horn, 1987).

Evlerinde kedi ve köpek besleyen insanlarda karşılaşılan dermatofitoz olgularıyla ilgili olarak çeşitli araştırmalar yapılmıştır. İnfekte kedi sahiplerinden sağlanan materyallerin incelendiği bir çalışmada, kedilerle direkt teması olanların % 50'sinin, tüm kedi sahiplerinin ve/veya ailelerinin % 69'unun hastalığa yakalandığı saptanmıştır (Tümbay ve ark., 1999). Hindistan'da *T. mentagrophytes* izole edilen 11 köpeğin sahiplerinde de *T. mentagrophytes* dermatofitozu belirlenmiştir (Ranganathan ve ark., 1998).

Dermatofitlerin çoğu sadece aseksüel üreyen mantarları içeren Deuteromycotina sınıfında bulunurlar. Morfolojilerine göre *Trichophyton*, *Microsporum* ve *Epidermophyton* olmak üzere üç gruba ayrılmaktadırlar. Eşeyli üremeleri saptanan dermatofitler Ascomycotina sınıfında yerleştirilmişlerdir (Aly, 1994; Quinn ve ark., 1994). Bugüne kadar Deuteromycotina sınıfında yer alan 21 *Trichophyton*, 17 *Microsporum* ve 2 *Epidermophyton* türleri arasından, *Trichophyton* cinsinden 11, *Microsporum* cinsinden 10 türün eşeyli üredikleri saptanmış ve *Arthroderma* ve *Nannizia* cinsinde sınıflandırılmıştır (Raza, 1994; Özkütük, 1999). Bu türlerin tanımlanmalarında Emmons'un klasifikasyon şemasındaki konidiyum şekilleri ve konidiyal morfolojileri temel alınmış ve yeni türlerin keşfiyle güncelleştirilmiştir (Weitzman ve Summerbell, 1995). *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* cinslerinin genel morfolojik özellikleri çizelge 1.1'de gösterilmiştir (Tümbay, 1999).

Dermatofitlerde 38'in üzerinde tür bilinmektedir. Hayvanlarda infeksiyon oluşturan türler *Microsporum* ya da *Trichophyton* cinslerinden biri içinde bulunmaktadır (Quinn ve ark., 1994; Kuştimur ve Kalkancı, 2001). Bu türler, deriyi istila eden septumlu hifaları ve artrosporlar içindeki kıl fragmentleri ile ektotriks invazyon meydana getirirler (Quinn ve ark., 1994).

Çizelge 1.1. *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* cinslerinin genel morfolojik özellikleri (Tümbay, 1999)

Cins	Koloni yapısı	Mikrokonidiyum	Makrokonidiyum
<i>Microsporum</i>	Gevşek, yün görünümünde küf kolonileri yapar.	Hifin kenarları boyunca teker teker dizilmiştir. Armut veya lobut şeklindedir. Az sayıda bulunmakla beraber ayırıcı tanıda önemleri yoktur.	Makrokonidiyumları ayırt edici karakterdedir. Mekik formunda olup kalın, tüberkülü geniş hücre duvarlarına sahiptir. Uçları sivridir. Hücre sayısı 1-15 arasında değişir. Büyüklükleri 6-16 x 6-25 µm arasında değişir. Çok sayıda makrokonidiyuma sahiptir.
<i>Trichophyton</i>	Pamuğumsu örgüde küf kolonileri oluşturur. Pigment üretimi tür ayırımında önemlidir.	Genellikle çok sayıda mikrokonidiyum bulunur. Yapısı tür için karakteristiktir. Yuvarlak, armut veya lobut şeklindedir.	Genellikle ince duvarlı olmakla beraber kalın duvarlı da olabilir. Hücre sayısı 1-12 arasında değişir. Genellikle, silindir uçları, bazen fusiform şekildedir. Tek veya demetler halinde olabilir. Büyüklükleri 8-86x 4-14 µm arasındadır. Makrokonidiyumları yok ya da az sayıdadır.
<i>Epidermophyton</i>	Kıvrımlı küf kolonileri yapar. Ortası tümsek, yüzeyi ışınsal olukludur.	Mikrokonidiyum oluşturmaz.	Çok sayıda makrokonidiyuma sahiptir. Makrokonidiyumları düz duvarlı, lobut şeklindedir. İkili üçlü kümeler yapabilir. 1-9 bölmelidir. 20-60x4-13 µm boyundadır. <i>Epidermophyton floccosum</i> cinsin tek patojenidir.

1.3.1. Trichophyton Cinsi

Trichophyton cinsi kıl, deri ve tırnakları infekte etmektedir. *Trichophyton* türleri makroskopik olarak kabarık tüylü, toz şeklinde, tanecikli, düz ve parlak koloniler oluşturabilir. Yüzey genelde beyaz, deve tüyü, sarı ya da bazen pembe ve menekşe renginde olabilir. Koloninin arka yüzey rengi türe bağlı olarak değişiklik gösterir. *Trichophyton* cinsinde bulunan türler Sabouraud dekstroza (SDA) 1-2 hafta içinde üreme gösterirler ve septumlu hifalarla, silindirik, düzgün duvarlı

makrokonidyumlar ve karakteristik mikrokonidyumlar geliştirirler. Makrokonidyumları az sayıdadır ya da hiç görülmeyebilir. Mevcut makrokonidyumlar kalem gibi, çok bölmeli (1-12), ince (2 µm kadar), düzgün duvarlı ve 8-86 x 4-14 µm büyüklüğündedir. Mikrokonidyumları genelde makrokonidyumlardan sayıca fazladır. Mikrokonidyum yuvarlak, gözyaşı damlası ve çomak şeklinde, üzüm benzeri kümeler şeklinde ya da tek olarak bulunmakta ve 2-4 µm çapındadır (Davise, 1996; Kane ve Summerbell, 1999; Özkütük, 1999).

Trichophyton mentagrophytes türünün antropofilik tipi Sabouraud besiyerinde düz tüylü, saçaklı bir şekilde 7-10 günde gelişen, beyaz kenarlı ve krem renğinde koloniler oluşturur. Patates dekstroza agar besiyerinde ise, seyrek miselyumlu yıldız şeklinde bir koloni meydana getirir. *T. mentagrophytes*'in zoofilik tipinin Sabouraud besiyerinde düz, 7-10 günde orta hızda büyüyen koloni oluşturduğu gözlenir. Koloni krem renğinde, sarımsak, saman sarısından sarımsı kahverengine kadar değişen ve kırmızı kahverengi de olabilen renkler gösterir. Bu tipte miselyumlar seyrek olup, mikrokonidyumların çokluğu ile artan pudramsı bir görünüm vardır. Koloni kenarları, çoğunlukla, ışınsaldır. *T. mentagrophytes* suşlarında koloni arka yüzeyindeki pigmentasyonu oldukça değişkendir. Renksiz, kahverengi, sarı veya kırmızı-kahverengi olanlarına rastlanır. Ayrıca *T. mentagrophytes*'in var. *erinacei* dışındaki suşları, modifiye Cristensen agar besiyerinde üreaz pozitif sonuç verirler. İn vitro şartlarda saç kılına ekim yapılan *T. mentagrophytes* suşlarının, kıllarda mikroskobik olarak gözlenebilen saç perforasyonları oluşturması, *T. rubrum*'dan ayrımını sağlayan önemli özelliklerden biridir (Muller ve ark., 1983; Murray ve ark., 1999).

Mikroskobik morfoloji olarak *T. mentagrophytes*'in en belirgin özelliği üzüm salkımı şeklindeki küresel mikrokonidyumlarıdır. Zoofilik suşlarda konidyumlar daha bol ve küresel olup, antropofilik suşlarda daha seyrek ve çomak şeklindedir. Makrokonidyumlar ince, düz duvarlı ve farklı şekillerde olurlar. Hücre büyüklükleri 4-8 x 20-25 µm arasında olup 3-5 hücre içerirler. Genelde, puroya benzer bir şekil gösterirler (Larone, 2002).

İnfeksiyon etkeni olarak *T. mentagrophytes* insanlarda ve hayvanlarda, sıklıkla izole edilen bir türdür. Özelliklerinin çok değişken olması nedeni ile, birçok ara tiplerine rastlanır. Ancak pratikte, değerlendirilmesi yapılan genetik testler sonucunda tek tür olarak kabul edilmiştir. Bunun yanında bu tür, bütün dünyaya yayılmış olup, antropofilik ve zoofilik bir çok formlara sahiptir. Zoofilik bir tip olan *T. mentagrophytes* var. *erinacei* insanlarda nadiren infeksiyon oluşturan fakat çoğunlukla kemirgenlerden izole edilen bir türdür. Antropofilik bir tip olan *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* insanlardan, özellikle, tinea pedis etkeni olarak elde edilmektedir (Kiraz, 1988).

Trichophyton terrestre, patojenitesi tartışılan bir türdür. İnsanlarda *T. terrestre*'nin neden olduğu infeksiyonlar bildirilmesine rağmen patojenik olarak kabul edilmemektedir. Ayrıca, deneysel olarak bu türün hayvanlarda infeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir (Simpanya, 2000). Bu türün koloni morfolojisine bakıldığında yüzeyi beyaz, solgun sarı ya da kırmızı renkte, düz, granüler ya da kısa ve yoğun miselyal yapılara sahiptir. Tabanı solgun sarı, sarımsı kahverengi ya da kırmızı renktedir. Hızlı üremektedir. Hifalarda tek ya da kümeler halinde yuvarlak ya da armut şekilli mikrokonidyumlar, bazı suşlarda kalem şeklinde makrokonidyumlar bulunmaktadır (Murray ve ark., 1999).

1.3.2. Microsporum Cinsi

Microsporum cinsindeki türler yaklaşık 7-10 günde üremektedirler. Koloniler, *Trichophyton* cinsinin oluşturduğu kolonilere benzer görünebilir. Bazen kalın ya da ince tüylü görünür. Kolonilerin yüzey rengi beyaz, gri, sarımsı kahverengi, sarı ya da arasına pembemsi renktedir. Koloninin arka yüzey rengi değişkendir ve bazı türler için ayırt edicidir. Pekçok türü makrokonidyum oluşturur. Makrokonidyumları kısa veya uzun, iğ, yumurtamsı veya elipsoit biçimde, ince orta veya kalın duvarlı yüzeyleri pürüklü 1-15 bölmeli 6-160 x 6-25 µm büyüklüğündedir. Mikrokonidyumları armut veya gözyaşı damlası biçiminde olup bunların ayırıcı tanıda önemi yoktur (Weitzman ve Summerbell, 1995; Davise, 1996).

Makrokonidyumlar türlere göre biçim olarak farklılık gösterir. Örneğin; *M. canis* fiçı şeklinde, çok hücreli, bir ucu sivridir. *M. gypseum* ise uçları yuvarlak ve 6'dan daha az bölme içeren çok bölmeli makrokonidyumlar oluşturur. *M. audounii* ise çoğu zaman makrokonidyumlardan yoksundur. Nadiren gelişen mikrokonidyumlar ise diğer türlerdeki gibidir. Ayrıca bu türde terminal klamidokonidyumlara ve taraksı hiflere de sıklıkla rastlanabilmektedir (Tümbay, 1999).

İnsan ve hayvanlarda dermatofitozların en genel etkeni olan *Microsporum canis*, Sabouraud besiyerinde 6-10 günde orta hızda üreyen, pamuğumsu yünümsü yapıda, beyazdan sarıya kadar değişken renkte, ışınal kenarlı düz ve seyrek bir koloni yapısına sahiptir. Yeni kültürlerle üstten bakıldığında, koloni kenarları parlak pigmentli ve metalik bir görünüm oluşturur. Koloni çok hızlı bir şekilde pleomorfizme uğrar. Tüysüz, kümeleşmiş ve koyu pigmentli bazı tipleri de vardır. Koloninin arka yüzeyi türe özel, koyu sarımsı renktedir. Patates dekstroza agar besiyerinde, miselyum seyrekleşir ve limon sarısı pigment artar (Quinn ve ark, 1994). Makrokonidyumlar 8-20 x 40-150 µm iriliğinde ve çok sayıda oluşurlar. Çoğunlukla, 1-15 kadar bölmeleri olup, 2-4 µm genişliğinde kalın çeperlidirler. Tipik şekilleri puro, deniz keşanesi ve şeftali çekirdeğini andırır. Uç kısımları çengelimsi bir şekilde bükülüdür. Türün bazı çeşitlerinde, demetler halinde geniş hifler ve bir kaç bölmeli konidyumlar bulunur. Mikrokonidyumlar ince, uzun ve sayıca azdır. Raket hif, pektinat yapı ve nodüller organlara da rastlanır. Pirinç besiyerinde mikrokonidyumların daha iyi çoğaldığı bildirilmiştir (Kiraz, 1988; Larone, 2002).

M. canis zoofilik bir türdür. Kedi, köpek, at ve maymunlarda doğal olarak bulunabilir. Wood ışığı ile parlak floresans veren küçük ektotriks sporlu kıl enfeksiyonları yapar (Quinn ve ark., 1994).

Microsporum gypseum, SDA ya da Dermatofit Test Medium (DTM)'unda 7-14 günde pudramsı koloniler oluşturur. Tarçın renginden açık sarı rengine değişen, düz koloniler oluşturur. Laktofenol pamuk mavisiyle hazırlanan preparatlarda pek

çok ince duvarlı eliptik, makrokonidiyum bulunur. Makrokonidiyumlar genelde 6'dan daha az bölmelidir. Septumlu hifalara sahiptir ve birkaç adet düz duvarlı-çomak şekilli mikrokonidiyum görülebilir (Cervantes-Olivares, 2003).

Microsporum nanum, Sabouraud besiyerinde 5-7 günde ürer. İnce, yaygın, pudramsı koloniler oluşturur. Kolonilerin kenarları saçaklı olup pembe, kahverengi, sarı ve beyaza kadar değişen renkler gösterir. Koloni tersi genelde kırmızı kahverengidir (Larone, 2002). Mikroskobik olarak incelendiğinde, yumurtamsı armut şeklinde bol makrokonidiyumlara rastlanır. Bunlar ince çeperli olup, 4-8 x 12-18 µm boyutlarında olurlar. Mikrokonidiyumları çomak şeklindedir. Sabouraud besiyerinde oldukça seyrek olan bu yapılar, Soil-Hair agar besiyerinde bol miktarda oluşmaktadır. *M. nanum* türlerinde saç perforasyon testi, pozitif olarak saptanmıştır. *M. nanum* aynı zamanda, jeofilik ve zoofilik bir türdür. Domuzlarda ve domuz yavrularında infeksiyon yaptıkları bildirilmiştir (Kiraz, 1988).

1.3.3. Epidermophyton Cinsi

Bu cinste *Microsporum* ve *Trichophyton* cinsinden farklı olarak koloninin yüzey rengi sadece kahverengimsi sarı ya da bej rengindedir. Arka taraf rengi ise portakal renginden kahverengiye kadar değişir (Tümbay ve ark., 1999). *Epidermophyton* cinsi muz salkımı şeklinde, lobut ya da tenis raketi biçiminde yuvarlak uçlu, ince ya da hafif kalın duvarlı, düzgün yüzeyli makrokonidiyumlara sahiptir. Makrokonidiyumlar 0-9 bölmeli ve 20-60 x 4-13 µm büyüklüğündedir. Genelde makrokonidiyumları çok sayıdadır, tek ya da kümeler şeklinde bulunmaktadır. Mikrokonidiyumları bulunmamaktadır. Günümüzde, bu cins içinde 2 tür bilinmektedir. Bunlardan yalnızca *E. floccosum* patojeniktir diğer tür ise *E. stockdaleae*'dir (Weitzman ve Summerbell, 1995).

Cinsi temsil eden dermatofit türü olan *E. floccosum* kılı infekte etmez ancak kılısız deri ve tırnak infeksiyonları yapar. Besiyerlerinde ortalama 10 günde yeşil sarı pigmentli, yüzeyi süetimsi görünüm veren koloniler geliştirir. Bu türün eski kültürlerinde klamidokonidiyum görülebilmektedir (Özkütük, 1999).

1.4. Epidemiyoloji

Dermatofitlerin yayılım ve taşınmasını etkileyen faktörler büyük ölçüde hayvan, toprak, insan gibi infeksiyon kaynaklarına bağlıdır (Rezabek ve Friedman, 1992). Hayvanlardaki önemli dermatofitozlar, aynı türlerdeki infekte hayvanlarla sürekli kılınmaktadır. Direkt temas bulaşmanın en yaygın şeklidir. Ancak infeksiyon rodentler (*T. mentagrophytes*), kirpiller (*Trichophyton erinacei*) gibi rezervuarlarla ya da toprak (*M. gypseum*) ve fomitler (yatak takımı, tımar takımı, infektif artrosporlu kılları bulunduran koşum takımları)'le meydana gelebilir. Kedi ve köpek barınaklarında hava yoluyla bulaşma bildirilmiştir (Thomsett, 1986; Quinn ve ark., 1994).

Dermatofitler doğal yaşam kaynaklarına göre antropofilik, zoofilik ve jeofilik (geofilik) olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (Çizelge 1.2). Zoofilik, antropofilik ve jeofilik dermatofitler toprakta bulunan başka keratinofilik küflerden gelişerek farklı konaklarda yaşamaya uyum sağlamışlardır (Vroeey, 1984; Özkütük, 1999; Topcu ve ark., 2002).

Antropofilik dermatofitlerin asıl kaynağı insan olup, hastalık da oluşturabilen dermatofit türlerini içermektedir. Antropofilik bu mikroorganizmaların insanlarda ayak veya ellerin kılısız derisinde, kıllı deride infeksiyonlara yol açtıkları ve insandan insana direkt veya indirekt olarak bulaşabildikleri bildirilmiştir (Simpanya, 2000).

Çizelge 1.2. Dermatofitlerin ekolojik sınıflandırılması (Tümbay, 1999; Özkütük, 1999).

ANTROPOFİLİK	ZOOFİLİK	JEOFİLİK
<i>*E. floccosum</i> <i>**M. audouinii</i> <i>M. ferrugineum</i> <i>***T. concentricum</i> <i>T. gourvilli</i> <i>T. kanei</i> <i>T. megninii</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>var. interdigitale</i> <i>T. raubitschekii</i> <i>T. schoenleinii</i> <i>T. soudnense</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. violaceum</i> <i>T. yaoundei</i> <i>T. rubrum</i>	<i>M. canis var. canis</i> <i>M. canis var. distortum</i> <i>M. equinum</i> <i>M. gallinea</i> <i>T. equinum</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>var. erinacei</i> <i>var. mentagrophytes</i> <i>var. quinckeanum</i> <i>T. simii</i> <i>T. verrucosum</i>	<i>M. fulvum</i> <i>M. gypseum</i> <i>M. nanum</i> <i>M. persicolor</i> <i>M. praecox</i> <i>M. racemosum</i> <i>M. vanbreuseghemii</i>

*E: *Epidermophyton*, **M: *Microsporum*, ***T: *Trichophyton*

Bu gruptaki dermatofitler stratum korneum, kıl ve tırnak keratinini infekte ederler, derin dokulara inmez ve ağır dermoepidermal infeksiyonlara neden olmazlar. *Trichophyton rubrum*, bu mikroorganizmaların en yaygını olup dünyanın pek çok yerinde, özellikle, sıcak iklimlerde tinea pedis ve tinea cruris en sık nedenidir (Özkütük, 1999). Bu türler nadir olarak hayvanlarda da ringworma neden olmaktadır (Quinn ve ark., 1994).

Zoofilik dermatofitler hayvanlarda infeksiyon oluşturma özelliğine sahiptirler. Bu dermatofitlerden bazıları belirli hayvan konaklarının derisine adapte olmuşlardır (Quinn ve ark., 1994). Örneğin, *M. nanum* sadece domuzlarda, *M. canis* kedi ve köpeklerde, *M. persicolor* tarla farelerinde, *T. mentagrophytes* değişik sürüngen türleri, kedi, köpek ve atlarda, *T. verrucosum* sığırlarda, *T. erinacei* kirpillerde ve *T. simii*, maymunlarda hastalık oluşturabilmektedir. Klinik lezyon

geliştirmelerine rağmen bu dermatofitler konak hayvanlarda subklinik ya da açık olmayan infeksiyonlara da neden olabilmektedir. Hayvanlarda lezyonlara neden olan dermatofitlerin çoğu insanlarda da ringworm geliştirme yeteneğindedir. Zoofilik türler insanlarda daha çok baş, yüz, el ve kollar gibi vücudun açık yerlerinde infeksiyon oluştururlar ve lezyonlar çok yangılı olup irinleşme gösterebilirler (Özkütük, 1999).

Jeofilik dermatofitler toprakta bulunurlar. Bu gruptaki dermatofitler keratinize dokulara kolonize olarak insanlarda ve hayvanlarda lezyonlara neden olabilmektedirler. Bulaşma genelde toprakta bulunan çok sayıdaki spor ile temas sonucu oluşur. İnsanlar arasında ya da hayvanlardan insana bulaşma çok nadir olarak bildirilmiştir. Virulent jeofilik dermatofitler temelde *M. gypseum*, *M. fulvum* kompleksinde bulunurlar (Simpanya, 2000).

Ülkemizde, kedi ve köpeklerden dermatofit izolasyonu ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Altay ve ark. (2003) 41 köpek ve 25 kediye ait materyali inceledikleri çalışmada, köpeklerde % 29,2, kedilerde % 44,4 oranında *M. canis* identifiye ettiklerini belirtmişlerdir. Or ve ark. (1999), İstanbul'da 79 köpek ve 24 kedinin dermatofit yönünden incelenmesi sonucunda, vakaların % 65'inden *Microsporum canis*, % 20'sinden *M. nanum* ve % 15'inden *Candida* spp izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ülkemizde dermatofitler konusunda, Şahal ve ark. (1988)'nin Türkiye'de sığırlarda trichophyte enfeksiyonuna karşı ilk avirulent aşı uygulamaları, Sancak ve ark. (2000)'nin atlarda yaygın *Trichophyton verrucosum* infeksiyonunun tanı ve tedavisi, Bacanlı (1999)'nin kedilerde *Microsporum canis* ile oluşturulan deneysel dermatofitozis olgularında üç oral antifungal ilacın kullanımı ve bu ilaçların karaciğer enzimleri ve bazı kan parametreleri üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır.

1.5. Patogenez

Keratinaz üretme yeteneğinde olan dermatofitler deri ve kıllarda hastalık oluşturmaktadır ve şekillenen infeksiyonun şiddetini etkenin metabolik ürünlerinin konakta oluşturduğu reaksiyon, infeksiyonu oluşturan suşun virulensi, infeksiyonunun metabolik yerleşimi ve çevresel şartlar belirlemektedir (Tosun, 1994).

Dermatofitler bağ dokunun bileşenleri olan keratin, elastin ve kollageni parçalayan keratinaz, elastaz ve kollagenaz gibi bazı enzimlere sahiptirler (Tosun, 1994). Nadiren subkutanöz dokuda lezyon oluşturmaktadırlar (Fernandez-Torres ve ark. 2002). Dermatofitlerin sistemik infeksiyona da yol açtığını bildiren çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (Tümbay, 1999). Serumdaki bazı moleküller, komplement aktivasyonu, kemotaksis, yağ bezleri tarafından salgılanan yağ asitleri ve epidermin kendini daha hızlı yenilemesi, dermatofit infeksiyonlarının oluşmasını ve sistemik infeksiyona dönüşmesini önlemektedir. İnfeksiyon hafif seyreden durumlardan ağırlı ve yangılı durumlara kadar değişen tablolara neden olabilmektedir (Grapel ve ark., 1974).

Uzun süre su ile temas, derinin (Stratum corneum) yumuşamasına neden olarak deri bariyerinin zayıflamasına ve sonrasında dermatofitlerin yerleşmesine zemin hazırlamaktadır. Dermatofit infeksiyonu sonrasında, özellikle, hücresel bağışıklık şekillenmekte ve oluşan hücresel bağışıklık aynı zamanda aşırı duyarlılığa da neden olabilmektedir. Bu tür infeksiyonlarda düşük düzeyde humoral bağışıklık şekillenmektedir (Tümbay, 1999).

1.6. Klinik Belirtiler

Dermatofit infeksiyonundaki lezyonlar, infeksiyona neden olan suş ya da türlerin virulensine, çevresel faktörlere ve konakçı reaksiyonu sonucunda oluşan metabolik ürünlere bağlı olarak hafiften ciddiye kadar değişebilmektedir (Wagner ve Sohnle,

1995; Weitzman ve Summerbell, 1995). Klinik belirtiler hastalığa neden olan mantara göre değişebilir. Genelde *Trichophyton* türleri, *Microsporum* türlerinden daha şiddetli klinik belirtilere neden olurlar (Davise, 1996). Konakçı yanıtı tür ve kıl örtüsü tipine bağlı olarak değişebilir. *M. canis*'in neden olduğu dermatofitozların, köpeklerde kedilerden daha şiddetli seyrettiği bildirilmektedir (Thomsett, 1986).

Kedilerdeki lezyonlarda, ağrı ve kaşıntı görülmez. Lezyonlar düzensiz, kıllar dökülmüş farklı şekilde kepeklenen bölgelere rastlanır. Kepeklenen deri yüzeyi sigara külü görünümüne sahiptir. Dermatofitler bütün vücudu kaplayabildiği gibi çok odaklı lezyonlarda oluşturabilir. Bazı kedilerde, özellikle, uzun tüylü türlerde bir ya da birkaç kıl folikülünü kapsayan küçük kepeklenen bölgeler görülebilir. Bazen de hastalığı taşımalarına rağmen semptom görülmeyebilir (Romano ve ark., 1997). Kedilerde görülen *Trichophyton* infeksiyonlarında, nadiren tüy kaybıyla beraber kabuklanma, eksudasyon ve eritem'e rastlanabilir. Kedilerde daha çok baş, kulaklar ve vücudun distal bölgelerinde dermatofitoz görülür (Thomsett, 1986).

Köpeklerde görülen *Microsporum* infeksiyonları, kedilerdeki infeksiyona benzer klinik tabloya sahiptir. Kısmi tüy kaybıyla ortaya çıkan küçük yuvarlak bölgeler, kül benzeri kepeklenmeye ve kıllarda kırılmalara neden olur. Lezyon, eritomatoz kenarlara sahip olabilir. *Microsporum canis* dışındaki dermatofitlerin meydana getirdiği lezyonlar, genelde, şiddetlidir. *M. persicolor* ciddi yüz lezyonlarına neden olur. *T. mentagrophytes*, pyoderma benzeri lezyonlar oluşturur. Kirpilerle oynayan köpeklerin burun bölgesi kontamine dikenlerle delinebilir ve oldukça şiddetli lezyonlar oluşturabilir. *T. mentagrophytes*'in oluşturduğu lezyonlar, total kıl kaybı, eritem ve bazen ciddi bakteriyel infeksiyonlarla birlikte görülebilir (Thomsett, 1986).

1.7. Dermatofitlerin Tanısı

Dermatofitler, genellikle, suşun cinsine bağlı olarak, konakçıda belirli bölgelere yerleşir. *Microsporum* cinsine bağlı türler, kıllı deri, kıl ve deriyi; *Trichophyton*

cinsindeki türler, kıllı deri, kıl, deri ve tırnağı; *Epidermophyton* türü ise yalnızca deri ve tırnağı infekte eder. Her üç dermatofit cinsindeki türlerin herbirinin, konak vücudunda infekte ettikleri bölgelerin nadir olarak bazı infeksiyonlarda farklılık gösterdiği bildirilmektedir (Kiraz, 1988).

Yüzeysel mantar lezyonlarında mantar spor ve hiflerini içeren bölgeler, daha çok lezyon kenarları ve aktif olarak infeksiyonun devam ettiği yerlerdir. Bu nedenle materyal, kıl ya da deri kazıntısı şeklinde ve lezyon kenarlarından alınmalıdır. Materyal alınmasında makas, tırnak kesici, bistüri veya uygun olan çift yüzlü bıçaklar kullanılabilir. Muayene için materyal alınmadan önce, lezyonun alkolle temizlenmesinde fayda vardır. Deri döküntüsü ve kıl örneği alımındaki temel kurallar aynıdır. İnfekte kıllar bir steril cımbız yardımı ile alınır. *Trichophyton* cinsi türlerin oluşturduğu vakalarda, doğal yapısı bozulmuş lezyon kenarlarındaki kıllar toplanır. Siyah benek oluşumu içeren infeksiyonlarda ise epidermal tabakanın alt yapısındaki, deforme olmuş ve kırılmış kökleri çekip çıkartmak gereklidir. Lezyon döküntüleri ve kıllar, lezyonun nemli, kızarmış dış kenar tabakalarından alınmalıdır (Muller ve ark., 1983; Tümbay, 1999)

Materyal alımında alternatif olarak Mackenzie tekniği de kullanılmaktadır. Bu teknik steril diş fırçasının tüylere sürülmesinden ibarettir. Fazla miktarda örnek alınmasının gerektiği durumda ya da tutulması zor olan hayvanlar için bu yöntemin kullanılabileceği bildirilmiştir (Moriello, 1990; Cervantes-Olivares, 2003).

1.7.1. Wood lambası

Wood lambası portatif ultraviyole ışık kaynağıdır. Wood lambası ile hayvanın tamamı incelenemediği gibi sadece lezyonlu bölge de incelenebilir. Karanlık odada kıllar Wood lambası (330-365 nm dalga boyunda) ile incelendiğinde bazı dermatofitlerde parıldama görülür. *M. canis* ve *M. audouinii* tarafından sentezlenen metabolitlerden dolayı sarımsı yeşil parıldama görülür. *Microsporum canis* suşlarının yaklaşık % 60'ı ürettiği zaman triptofan metabolitleri oluşturur. *Microsporum* cinsi

türlerin (*M.canis*, *M. audouinii*) dışındaki dermatofitler floresans ışık vermez. Ayrıca bazı kimyasal maddelerin de floresansa neden olduğu bildirilmiştir (Thomsett, 1986; Kefalidou ve ark., 1997). Wood lambasının doğru materyalleri almada yararlı olduğu bildirilmektedir (Moriello, 1990; Noble ve ark., 1998).

1.7.2. Direkt Mikroskopi

Dermatofit infeksiyonlarında ikinci aşama, şüpheli muayene materyalinden KOH solusyonu ile hazırlanan preparatların mikroskopik incelenmesidir. Muayene materyali bir lam üzerinde birkaç damla % 15'lik KOH solusyonu ile karıştırılır. Lam üzerindeki bu karışım bir lamel ile kapatılarak hafifçe ısıtılır. KOH solusyonunun kristalleşmesini önlemek için, preparat kaynatılmadan ısıtılmalıdır. Mikroskop ile incelenecek şekilde olgunlaşmasını sağlamak amacıyla 10-15 dakika bekletilir. Bu işlem muayene materyalinin içerdiği protein artıklarını sindirerek, mantar elemanlarının meydana çıkmasına yardımcı olur. Mantar hif ve sporları işlemde etkilenmezler (Pariser, 1990; Noble ve ark., 1998; Hainer, 2003). Kılların ve deri döküntülerinin direkt mikroskopik incelenmesiyle % 40-60 oranında doğru teşhis sağlandığı bildirilmiştir (Scott ve Horn, 1987; Sparkes ve ark., 1993; Sparkes ve ark., 1994).

Deri kazıntılarının kontrolünde mantar hifleri uzun, dallanan, bölmeli ve ışık kırıcı kıvrımlı iplikçikler halinde görülürler. Miselyum adı verilen bu iplikçikler epidermal tabakada, hücreleri boydan boya tutmuş olarak izlenirler. İyi hazırlanmış bir preparatta çeşitli organelleri, yağ damlalarını, çekirdekleri ve miselyumları ayırt etmek mümkündür. Dallanmalar gösteren olgunlaşmış hifler, zamanla yuvarlak ve fiçı benzeri şekillerde artrokonidiyumlara bölünürler (Muller ve ark., 1983)

1.7.3. Kültür

Mantar elementlerinin görüldüğü ve görülmediği her iki durumda da muayene materyalleri mutlaka kültür işlemine alınmalıdır. Kültür, uygun besiyerlerine, ucu

kıvrık olan özel bir iğne yardımı ile oyuk açılarak, örneklerin yerleştirilmesi şeklinde yapılır. Kültür işleminde, materyaller besiyerlerine yüzeyi geniş olacak şekilde ve bol miktarda ekilmelidir. Uzun bir inkübasyon dönemine gereksinimi olan mantar kültürlerinde, besiyerinin kurumasi, ortamdan gelen kontaminasyonların ve üreyen kültürlerin etrafa dağılmalarının önlenmesi amacıyla; ekim işleminin tüpler içinde yatık olarak hazırlanan besiyerlerine yapılması yararlıdır. Dermatofitlerin ilk izolasyonu için kullanılan en genel besiyeri, aktidion (sikloheksimid) ve antibiyotik içeren Sabouraud besiyeridir. Üreyebilecek küf tipi saprofit mantarları engellemek amacı ile, 0.4 µg/ml aktidion ilavesinin yeterli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca antibakteriyel ajan olarak kloramfenikol (0.005 µg/ml) ve/veya gentamisin (0.04 µg/ml) kullanılmalıdır (Holmberg, 1986; Hainer, 2003).

Dermatofitlerin ilk izolasyonu sırasında, bazen etkenlerin fırsatçı küf tipi mantarlar eşliğinde ürediği gözlenir. Bu tip güçlüklerin elimine edilmesi için yapılan çalışmalar, seçici ilk izolasyon besiyerlerinin gelişmesi ile sonuçlanmıştır. Bunlardan biri Taplin ve ark. (1969) tarafından ortaya konan Dermatofit Test Besiyeri (DTM)'dir. DTM'un dermatofit türlerinin saptanmasında yararlı olduğu bildirilmiştir (Cervantes-Olivares, 2003) Bu besiyeri, dermatofitozisin ilk teşhisinde klinisyenler tarafından yaygınca kullanılmaktadır. DTM'unda pH indikatörü olarak fenol red bulunur. Dermatofitler ürediği zaman besiyerinin rengi, kehribardan kırmızıya döner. Bu besiyerinin kullanımındaki dezavantajlar arasında, pek çok mantar ve bakterinin pH değişikliğine neden olması ve koloni tabanında oluşan pigmentasyonun renk değişikliği nedeniyle görülememesidir. DTM'nin, dermatofitlerin identifikasyonunda % 95 oranında güvenilir sonuçlar verdiği Pariser (1990) ve Davise (1996) tarafından bildirilmiştir. Dermatofit test mediumunda yaşanan sorunları aşmak için dermatofit identifikasyon medium (DIM) geliştirilmiştir. Bu besiyerinin duyarlılığı % 99, özgüllüğü ise % 95,7 olarak bildirilmiştir (Salkin ve ark., 1997).

Dermatofitlerin üremesi, genelde, yavaş bir şekildedir ve bir haftadan üç haftaya kadar sürebilir. Besiyerleri 25-27 °C de inkube edilmelidir. Farklı olarak, *T. schoenleinii* ve *T. verrucosum* türlerinin 37 °C'de daha iyi üredikleri belirtilmiştir (Kiraz, 1988). Üreme yeterli şekilde oluştuğunda üreyen kolonilerden alınan mantar

miselyumları, lam kültürü yapmak amacı ile uygun besiyerlerine aktarılır. Uygulanan lam kültürünün mantarların, türlere özel mikroskobik morfolojilerinin özgün yapılarını incelemeye olanak sağladığı bildirilmiştir (Harris, 1986; Kaya ve Kasımoğlu, 1995).

Trichophyton türlerinin identifikasyonu amacıyla, Georg ve Camp (1957), bu türlerin besin gereksinimlerini temel alan yöntem üzerine çalışmışlardır. Bu yöntemde, kazein içeren temel besiyerine ilave olarak inositol, nikotinik asit, tiyamin ve tiyamin-inositol ilave etmişlerdir. Bu şekilde hazırlanan besiyerleri, *Trichophyton* agar adı ile tanımlanmıştır.

Dermatofitlerin identifikasyonu koloni ve mikroskobik morfolojilerine göre yapılır. Makroskobik (koloni morfolojisi) ve mikroskobik özellikleri belirlenen koloniler, mantar atlaslarından yararlanılarak identifiye edilir (Larone, 2002) Besiyerinde şekillenen koloniler, üreme durumu, hızı, şekli, yapısı, ön ve arka yüzeyindeki pigmentasyon özellikleri dikkate alınarak makroskopik olarak kayıt edilir. Mikroskobik muayenede ise, kültürden hazırlanan preparatlar laktofenol pamuk mavisi ile boyanarak mikroskopta incelenirler. Mikroskobik muayenede mantar kolonileri hifa, mikrokonidiyum, makrokonidiyum, klamidospor, artrospor ve blastospor morfolojileri yönünden incelenirler.

Kane ve Summerbell (1999), dermatofitozların teşhisinde, klinik bulguların, materyalin direkt mikroskopi sonuçlarının, koloni görünümünün, mikroskobik morfolojisi ve varsa etkenin özel karakterlerinin tümünün dikkate alınmasının yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Singh ve Beena (2003), SDA, zenginleştirilmiş dermatophyte medium (EDM) ve DTM'un dermatofit teşhisinde etkinliklerini karşılaştırmak amacıyla 260 dermatofitoz şüpheli materyali inceledikleri çalışmalarında; SDA (% 93,5) ve DTM (% 95,4) besiyerlerinin EDM (% 85,3)'a göre daha iyi sonuçlar verdiğini ortaya koymuşlardır.

1.7.4. Moleküler Teknikler

Dermatofitlerin rutin identifikasyonunda kullanılan laboratuvar metodlarının yavaş olması ve bazı örneklerde kesin sonuç alınamaması, yeni metodların geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Nükleik asitleri temel alan bu teknikler, patojenik organizmalardaki genotipik farklılıkları ortaya çıkarmada oldukça yararlıdır. Bu teknikler çok spesifiktir ve fenotipik özellikleri temel alan tekniklerden daha kesin sonuçlar verir. Genotipik özelliklerin ısı değişimleri ve kemoterapi gibi dış faktörlerden etkilenme olasılığı çok azdır (Cabanès ve ark., 1997). Fungal infeksiyonlarda moleküler yöntemler, sadece klinik örneklerden mantarları tanımak için değil ayrıca tür tayini, epidemiyolojik tiplendirme, ilaç direnci ve salgınları izlemek için de kullanılmaktadır (Kuştimur ve Kalkancı, 2001)

Mantar türlerinin alttiplerini belirlemek için çeşitli yöntemlerden yararlanılmaktadır fakat halen altın standart denilecek yöntem belirlenememiştir. Mitokondrial DNA'nın restriction fragment length polymorphism (RFLP) analizi, ribozomal DNA'da bulunan internal transcribed spacer (ITS) bölgelerinin sekanslanması (Jackson ve ark, 1999; Mochizuki ve ark., 1999) ve polymerase chain reaction (PCR) [RAPD (random amplification of polymorphic DNA), AP-PCR (arbitrarily primed) ve PCR fingerprinting], tür ve suşların ayırt edilmesinde önemli yararlar sağlamıştır (Kac, 2000). Ancak, bu tekniklerin çoğu (örneğin RFLP, sekanslama) belirli laboratuvar alt yapısı ve deneyimli teknik eleman gerektirmesi nedeniyle, dermatofitlerin rutin identifikasyonu için kolayca kullanılamadığı ancak altyapısı uygun laboratuvarlarda bu tekniklerin uygulanması ile çoğu dermatofit türünün teşhisinin mümkün olduğu bildirilmiştir (Faggi ve ark, 2001). PCR-fingerprinting, moleküler biyolojideki diğer metodlarla karşılaştırıldığında (RFLP analizi, ITS bölgelerinin sekanslanması, protein kodlayan genlerin sekanslanması), daha hızlı sonuç vermektedir. Yapılan çalışmalarda, bu metodun rutin teşhiste maliyetinin yüksek olması dezavantajı olarak belirtilmiştir. (Faggi ve ark., 2001). Ayrıca AP-PCR dermatofitlerin genetik düzeyde hızlı identifikasyonu sağlayarak dermatofitlerin teşhisine önemli yararlar sağlamıştır (Liu ve ark, 1997; Liu ve ark,

2000b). Bunlar dışında, Multi locus enzim elektroforezi (MLEE), allozyme karşılaştırmaları, elektroforetik karyotip analizi (EK), polimerase chain reaction ve enzyme immunoassay (PCR-EIA), DNA sekansing, southern hibridizasyon ve pulsed-field gel elektroforezis analizi (PFGE) teknikleri de teşhiste kullanılmaktadır (Thomas ve Xu, 2002).

Kano ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, klinik materyallerden PCR ile dermatofit varlığını saptamayı amaçlamışlardır. Hayvanlardan aldıkları kıl ve deri döküntülerinden Chitin synthase 1 (CHS1) genine spesifik primer kullanarak *M. canis*, *M. gypseum* ve *T. mentagrophytes* türlerine spesifik DNA'ları hızlı ve etkili bir biçimde saptamışlar ve özellikle, bu çalışmanın kedi ve köpeklerdeki en sık görülen dermatofitlerin varlığını belirlemede yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Faggi ve ark. (2001) yaygın dermatofit türlerinin identifikasyonu için PCR fingerprinting uygulamalarını tanımlamışlardır. Basit ve tekrarlayan tek primer (GACA)₄ ile *M. canis*, *M. gypseum*, *T. rubrum*, *T. ajelloi* ve *E. floccosum* türlerine spesifik profilleri elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Liu ve ark. (2000b) yaptıkları çalışmada 4 random primer kullanarak 20-25 dermatofit türünü AP-PCR ile ayırt ettiklerini bildirmişleridir. AP-PCR'ın dermatofit identifikasyonunda morfolojik ve biyokimyasal özelliklerden bağımsız olarak hızlı ve pratik bir araç olduğuna karar vermişlerdir.

1.8. Tedavi

Hayvanların bir arada yaşadığı barınak gibi yerlerde, infekte hayvanların tedavisi hem pahalı hem de etkili olmadığı belirtilmiştir (Cervantes-Olivares, 2003). Kedi ve köpeklerde dermatofitozisin optimal tedavisinin, sistemik antifungal tedaviyle beraber haftada 2 kez topikal uygulama, tüylerin kesilmesi ve hayvanların bulunduğu çevrenin dekontaminasyonu ile sağlanabileceği bildirilmiştir Tedavi bitinceye kadar

2-4 haftada bir mantar yönünden laboratuvar incelemeleri yapılmalıdır. (Moriello, 2004). Bütün dermatofitoz olgularında gerekli görülmemesine rağmen, uzun tüylü ve/veya generalize dermatofitozlu kedilerde tüylerin kesilmesi önerilmektedir (Rochete ve ark., 2003).

İnvitro ve invivo çalışmalar topikal tedavi için lime sülfür, enilconazole ve miconazole'un uygun olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar bu ürünlerden birinin haftada 2 kez, hayvanın tamamına uygulanmasını önermektedirler. Captan, chlorhexidine ve povidine iodine infekte spor ve kıllara etkisiz olduğundan dolayı topikal tedavide kullanımı önerilmemektedir (Moriello, 2004). Topikal tedavi tek başına uygulandığında iyileşmenin uzun sürdüğü bildirilmekte ve tırnak tedavisi gibi uzun süre gerektiren tedavilerde önerilmemektedir (Cervantes-Olivares, 2003).

Dermatofitozis için başka bir tedavi seçeneğinde sistemik fungal tedavidir. Griseofulvin, itraconazole ve terbinafine etkili sistemik antifungal ajanlardır. Son yıllarda griseofulvin yerine itraconazole ve terbinafine tedavisi tercih edilmesine karşın griseofulvin hala etkili antifungal ajan olarak kullanılmaktadır. Ancak griseofulvin, kemik iliği supresyonları, anemi ve pansitopeniye neden olabileceğinden, haftada bir ya da iki haftada bir tam kan sayımı yapılması gerektiği belirtilmiştir. Griseofulvin, teratojenik etkisinden dolayı gebeliğin ilk üçte bir kısmında kullanılmamalıdır. Terbinafine kedi ve köpeklerde kullanılan yeni sistemik antifungal ajandır. Bu ilaç kedi ve köpekler tarafından kolayca tolere edilebilmektedir (Moriello, 2004). Ketoconazole dermatofitozların tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu sistemik antifungal ilaç olduğu bildirilmektedir (Moriello, 1990). Prognoz, infeksiyonun boyutuna ve tedavinin başarısına bağlıdır. Hayvanlarda bir kaç aydan sonra kendiliğinden iyileşme görülebileceği ortaya konmuştur. Ancak tedavi iyileşmeyi hızlandırdığı ve çevresel kontaminasyonu azalttığı bildirilmiştir (Cervantes-Olivares, 2003).

1.9. Koruma

Kedi ve köpek barınaklarında dermatofitoz tespit edildiğinde, tüm hayvanların dermatofit yönünden incelenmesi ve sağlıklı hayvanların hemen hastalıklı hayvanlardan ayrılması ve dermatofit saptanan hayvanların en kısa sürede tedaviye alınması gerektiği bildirilmektedir. Bu amaçla, antifungal şampuanlar ve griseofulvinin kullanımının (2 hafta) korumada yararlı olduğu ortaya konmuştur (Wright, 1989). Kontamine materyaller hemen uzaklaştırılmalı ve yakılmalıdır. Kafes, tasma, tımar ekipmanları gibi araçların dezenfekte edilmesi gerektiği bildirilmiştir. (Thomsett, 1986). Dezenfeksiyon amacıyla; pulverizasyon, buharlaştırma veya tütsüleme tarzında kullanılabilen enilconazole çoğunlukla tercih edilmektedir. Enilconazole'ün uygulama imkanı bulunmadığı kedi sepetleri, köpek kulubeleri, koltuklar ve kontamine halılar gibi zayıf yüzeye sahip materyaller üzerine toz halindeki Undesiklenik asit serpilerek, dezenfeksiyonu sağlamanın mümkün olduğu bildirilmiştir (Aydın, 2004)

Avrupa ve Amerika'da kedi ve köpeklerde dermatofitozisin tedavisinde, monovalan dermatofit aşıları ticari olarak sağlanabilmektedir. Bu aşıların dermatofitoze karşı koruma sağlamadığı fakat infeksiyonun şiddetini azalttığı bildirilmiştir (Moriello, 2004). Deboer ve ark. (2002), kombine canlı-inaktif ve ticari olarak sağlanan inaktif dermatofit aşılarını karşılaştırdıkları çalışmada, bu aşıların koruyucu özeliğinin olmadığını, fakat tedavi amacıyla kullanıldığında yararlı olduğunu bildirmişlerdir. Rusya'da hem tedavi hem de dermatofitozisin önlenmesinde kullanılan canlı attenüe aşı bulunduğu bildirilmesine karşın bu aşı hakkındaki bilgiler sınırlıdır (Moriello, 2004).

Bu çalışmada kedi ve köpeklerden alınan materyallerin dermatofitozis yönünden direkt mikroskopik incelenmesi, kültür yöntemiyle etken izolasyonu ve izole edilen dermatofit türlerinin moleküler tekniklerle doğrulanması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na dermatofitoz problemi ile getirilen kedi ve köpeklerden alınan deri döküntüleri ve kıl örnekleri materyal olarak kullanıldı. Ayrıca köpek bakım ve barınma üniteleri ile Ankara'da bulunan özel veteriner kliniklerinden sağlanan materyaller de dermatofit varlığı yönünden incelendi. Bu örneklerin kaynakları ve sayıları Çizelge 2.1'de gösterilmiştir. Bu çalışma kapsamında, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na dermatofitoz problemi ile getirilen 41 adet kedi ve 76 adet köpek, köpek bakım ve barınma ünitelerinden sağlanan 114 adet köpek numunesi ve Ankara'da bulunan özel veteriner kliniklerinden sağlanan 16 adet kedi, 21 adet köpek materyali olmak üzere toplam 268 adet materyal dermatofit varlığı yönünden incelendi.

Çizelge 2.1. Materyallerin kaynak ve sayıları

Materyallerin Kaynakları	Kedi	Köpek	Toplam
A. Ü. Veteriner Fakültesi klinikleri	41	76	117
Köpek bakım ve barınma ünitesi-1	-	50	50
Köpek bakım ve barınma ünitesi-2	-	64	64
Özel Veteriner klinikleri	16	21	37
Toplam	57	211	268

Örnek alınmadan önce derideki lezyonların yeri, büyüklüğü, şekli, yayılma durumu ve oluşturduğu bozukluğun derecesi gibi önemli noktalara dikkat edilerek, lezyon ve çevresi % 70'lik alkol ile iyice silindi. Deri döküntüleri steril bistüri ile

kazınarak, kıllar ise steril bir pensle çekilerek steril petrilere alındı. En kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı ve laboratuvar incelemelerine başlandı.

2.1.1. Kullanılan Besiyerleri

Dermatofit Test Besiyeri (DTM, Sigma, D8059)

Peptic digest of soybean meal	10.00
Glucose	10.00
Phenol red	0.20
Agar	20.00

Dermasel Selektif Suplement (Oxoid, SR0075E)

Cycloheximide	400 mg
Chloramphenicol	50 mg

Dermatofit test besiyeri hazırlandıktan sonra, 1 vial Dermasel selektif supplement 3 ml etanol içinde eritildikten sonra eklendi.

Sabouraud Dekstroz Agar (SDA, Merck, VM259638)

Dekstroz	40 g.
Pepton	10 g.
Agar	15 g.
Distile su	1000 ml

Patates Dekstrozu Agar (PDA, LAB M, LAB098)

Patates Ekstrakt	4 g
Dekstrozu	20 g
Agar No.1	15 g
Distile su	1000 ml

Yukardaki besiyerlerinin ticari karışımları 500 ml distile su ile karıştırılıp eritildikten sonra 121° C’de 15 dakika otoklavda steril edilmesinden sonra kullanıldı.

Laktofenol Pamuk Mavisi (Merck, 0B328897)

Laktik asit	20 ml
Fenol Kristalleri	20 g
Gliserin	40 ml
Distile su	20 ml
Pamuk mavisi,	2 ml.

2.1.2. PCR Testinde Kullanılan Buffer ve Solüsyonlar

Dietilpirokarbonatlı Su (DEPC-treated water)

PCR öncesinde örnek sulandırmasının yapılması için DEPC’li su (DEPC-treated water, Fermentas, Litvanya) kullanıldı.

Etanol Solüsyonu (% 70’lik)

Mantar DNA’sı elde edilirken, DNA peletlerinin yıkanması aşamasında kullanılmak üzere, 70 ml Etanol (Absolute ethanol, Delta Kimya, Türkiye)’e 30 ml DEPC’li su eklenerek hazırlandı.

Isopropanol Solüsyonu

Mantar DNA'sının elde edilmesi işleminde, ekstrakte DNA'nın presipite edilmesi için İsoopropanol solüsyonu (2-propanol, Merck, Almanya) kullanıldı.

Potasyum Asetat Solusyonu

Mantar DNA'sının elde edilmesi sırasında potasyum asetat solusyonundan yararlanıldı. 60 ml 5 M'lık potasyum asetat, 11.5 ml glasiyal asetik asit ve 28.5 ml distile su karıştırıldıktan sonra pH'sı 4.8'e ayarlandı.

Tris -EDTA Buffer (TEB)

10 mM Tris, 1 mM EDTA- Na_2 2 H_2O tartılarak 1 litre distile su içerisinde sulandırılarak hazırlandı.

Tris NaCl EDTA (TNE) Buffer

60 mM EDTA, 400 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl ve % 1 oranında sodyum dedosil sülfat (SDS) katılarak distile su ile 1 lt hacime tamamlandı. Solüsyonun pH'sı 1 N'lik HCl ile 8'e ayarlandı.

Primerler

Prizma firmasına sentezletirilen primerlerin formülasyonları aşağıda verilmiştir (Kanbe ve ark., 2003a).

dPsD1;dDPF1:	GAACNGAGAARCASATGTGGGT
dDPR1:	GGTCARRGACCAYAKAGGCATCTGTA
MCNR1:	GGACCACAAGGCATCTGGGATGTC

2.1.3. PCR Testinde Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Bu çalışmada, DNA jel elektroforez cihazı, hassas terazi, Ph metre, Genius marka görüntüleme ünitesi, soğutmalı santrifüj, steril kabin (laminar flow), thermal cycler ve vorteks kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Direkt Mikroskopi: Laboratuvara getirilen örneklerden az bir miktar lam üzerine alınarak üstüne % 15'lik KOH çözeltisi damlatıldı. Hazırlanan karışımın üzerine bir lamel kapatılarak hafifçe ısıtıldıktan sonra, oda ısısında 15-20 dakika bekletildi. Preparat daha sonra mikroskopun önce 10X, sonra 40X objektifiyle incelendi. Spor ve hif yapıları arandı ve kaydedildi.

2.2.2. Kültür: Laboratuvara getirilen örneklerden hem Dermatofit Test Besiyeri (DTM) hem de Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)'a ekim yapıldı. Besiyerleri 25 °C'lik etüvde 3-4 günde bir oluşan üremeler kontrol edilerek dört hafta süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda kolonilerden laktofenol pamuk mavisi boyası kullanılarak lam-lamel arası preparat hazırlandı. Üreme saptanan mantar kolonilerinin; üreme hızları, morfolojileri, yüzey renkleri, tabandaki pigmentleri ve mikroskobik incelemede hiflerin yapısı, makrokonidyum ve mikrokonidyumların varlığı göz önüne alınarak identifikasyonları gerçekleştirildi (Larone, 2002). Makrokonidyumları saptanmayan dermatofit şüpheli kolonilerin makrokonidyumlarını saptamak amacıyla patates dekstroz agara subkültürleri yapıldı ve bu besiyerinde oluşan kolonilerden hazırlanan preparatlarda dermatofit varlığı incelendi. İzole edilen etkenler, makroskopik ve mikroskobik özellikleri incelenerek identifiye edildi.

2.2.3. Moleküler Teknikler

2.2.3.1. DNA Eldesi (Ekstraksiyon)

PCR testinde kullanılacak olan mantar DNA'sının eldesinde Liu ve ark. (2000a)'nın bildirdiği metod uygulandı. Steril bir kürdan ile az miktarda miselyum 500 µl'lik lizis solüsyonu (400 mM Tris-HCl [pH 8,0], 60 mM EDTA [pH 8,0], 150 mM NaCl, % 1 sodyum dodesil sülfat, SDS) içeren bir ependorf tüpüne alındı. Tüp 10 dakika oda sıcaklığında inkube edildi. Bu tüpe 150 µl potasyum asetat solüsyonu eklendikten sonra, tüp hafifçe vortekslendi ve 14.000 devirde 1 dk. santrifüje edildi. Süpernatant başka bir ependorf tüpüne aktarıldı ve tekrar yukarıdaki şartlarda santrifüje edildi. Elde edilen süpernatant nükleaz-ari bir ependorf tüpüne aktarıl原因 üzerine eşit hacimde izopropil alkol eklendi. Tüp hafifçe ters yüz edilerek karıştırıldı. Tüp 12.000 devirde 2 dakika santrifüje edildi ve süpernatant pelet kaybedilmeden dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldı. Elde edilen DNA peleti 300 µl % 70'lik etanol ile vortekslenip santrifüje edilerek yıkandı. Pelet 10.000 devirde 1 dakika santrifüje edildikten sonra, süpernatant atıldı ve DNA peleti oda sıcaklığında 5-10 dakika tutularak kurutuldu ve 50 µl TE buffer (pH 7.4/8.0) içerisinde çözdürüldü.

2.2.3.2. Amplifikasyon (PCR)

PCR prosedürü Kanbe ve ark. (2003a)'nın bildirdiği metot modifiye edilerek uygulandı. PCR karışımı 50 µl'lik total hacimde olup, 5 µl 10 x PCR buffer, 25 pmol primerler (**dPsD1**: **dDPF1**; **dDPR1**; **MCNR1**), 2 U'lik Taq polimeraz enzimi ve final konsantrasyonu 0.2 mM olacak şekilde dNTP karışımından oluştu. Yapılan standardizasyon çalışmaları sonucunda optimal MgCl₂ konsantrasyonu 3 mM olarak belirlendi. Bu karışım DNase ve RNase enzimlerinden ari steril su ile 49 µl'ye tamamlanarak üzerine 1 µl ekstrakte DNA eklendi. Örnekler thermal cycler'a (Genius, Techne) konmadan önce ve reaksiyon karışımlarının hazırlanması sırasında kuru buz üzerinde tutuldu. PCR inkubasyon sıcaklık ve süreleri sırasıyla, 96 °C'de 2 dakikalık ön denaturasyonu takiben, 96 °C'de 1 dakika denatürasyon., 63 °C'de 1 dakikalık primer bağlanması ve 74 °C'de 2 dakikalık ekstansiyonu içeren toplam 30

siklusluk amplifikasyon aşamasından oluştu. Örnekler agaroz jel elektroforezinde inceleninceye kadar +4 °C’de, daha uzun süreli kullanım için ise -20 °C’de saklandı.

2.2.3.3. Nukleik Asitlerin Görüntülenmesi

Agaroz jel elektroforezinde kullanılan jelin hazırlanması: PCR sonucunda amplifiye olan örneklerin elektroforezinde % 1,5’luk agaroz jel kullanıldı. Bunun için 0,75 g agaroz (Basica Le Agarose, Prona) tartılarak steril bir erlene konuldu. Üzerine tris borate EDTA (TBE) buffer (x 1 konsantrasyonda)’dan 50 ml eklenerek karıştırıldı. Su banyosunda agaroz eriyene kadar tutuldu. Eriyen agaroz soğutulduktan sonra içerisine ethidium bromide (0,5 µg/ml) eklenerek karıştırıldı ve minigel yatay DNA elektroforez cihazının kalıbına döküldü. Hemen tarak yerleştirilerek örneklerin ekleneceği gözler agar üzerinde açıldı. Agar iyice katılaştıktan sonra tarak çıkartıldı.

PCR örneklerinin elektroforezi ve görüntüleme: Agaroz jel elektroforez tankına yerleştirildi. Elektroforez tankına jelin yüzeyini kaplayacak şekilde 1 x TBE buffer’ı konuldu. PCR örneklerine % 20 oranında yükleme boyası eklenip karıştırıldıktan sonra jeldeki gözlere 15 µl’lık hacimlerde yüklendi. Birinci göze DNA marker eklendi. Elektroforez cihazı güç kaynağına bağlanarak sabit akımda 100 volt’ta 45 dakika elektroforeze edildi. Sonuçlar UV-transilluminator’da incelenerek Genius marka (Syngene) görüntüleme ünitesinden fotoğraflandı.

3. BULGULAR

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na dermatofitoz problemi ile getirilen 41 adet kedi ve 76 adet köpekden alınan deri döküntüsü ve kıl örneklerine ilave olarak köpek bakım ve barınma ünitelerinden sağlanan 114 adet köpek numunesi ve Ankara da bulunan özel veteriner kliniklerinden toplanan 16 adet kedi 21 adet köpek materyali olmak üzere toplam 268 materyal dermatofit varlığı yönünden incelendi.

İncelenen kedi ve köpek materyallerinin cinsiyete göre dağılımları ise; kedi materyallerinin 34 adeti dişi 23 adeti erkek, köpeklerin ise 111 adeti dişi 100 adeti erkek olarak belirlendi. Bu çalışmada incelenen kedilerin 26'sı 0-1 yaş, 14'ü 2-3 yaş, 7'si 4-5 yaş aralığında ve 10'u 5 yaşından büyük olarak saptandı. Köpeklerin ise 84'ü 0-1 yaş, 53'ü 2-3 yaş, 32'si 4-5 yaş aralığında ve 42'si 5 yaşından büyük olduğu kaydedildi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 İncelenen materyallerin yaş ve cinsiyetlere dağılımı.

Tür	Materyal kaynakları	Yaş Grupları				Cinsiyet		Toplam
		0-1	2-3	4-5	5 yaş üzeri	Erkek	Dişi	
Kedi	A. Ü. Veteriner Fakültesi klinikleri	19	9	5	8	16	25	41
	Özel Veteriner klinikleri	7	5	2	2	7	9	16
	Toplam	26	14	7	10	23	34	57
Köpek	A. Ü. Veteriner Fakültesi klinikleri	28	21	9	18	40	36	76
	Köpek bakım ve barınma ünitesi-1	28	17	2	3	16	34	50
	Köpek bakım ve barınma ünitesi-2	19	11	18	16	32	32	64
	Özel Veteriner klinikleri	9	4	3	5	12	9	21
	Toplam	84	53	32	42	100	111	211

3.1. İzolasyon ve identifikasyon bulguları

Direkt mikroskopik incelemede, incelenen 268 materyalin 39 (% 14,6)'unda mantar hifa ve/veya sporları saptandı. Hifa ve/veya spor yönünden pozitif saptanan 39 materyalin yapılan kültürü sonucunda 25 (% 64,1)'inden dermatofit izolasyonu gerçekleştirildi. Direkt mikroskopide pozitif olarak tespit edilen 14 (% 35,9) materyalin kültürü sonucunda ise dermatofit yönünden herhangi bir üreme görülmedi. Direkt mikroskopisinde mantar hifa veya sporlarına rastlanmayan 15 (% 65,5) materyalin kültürü sonucunda üreme saptandı. Hem kültür hem de mikroskopi ile 228 (% 85,1) örnek dermatofit yönünden negatif saptandı. (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2.. Direkt mikroskopi ve kültür sonuçlarının karşılaştırılmalı bulguları

		Direkt Mikroskopi (n:268)		Toplam
		Pozitif (%) n:39	Negatif (%) n:229	
Kültür (n:268)	Pozitif (%)	25 (% 64,1)	15 (% 65,5)	40 (% 14,9)
	Negatif (%)	14 (% 35,9)	214 (% 34,5)	228 (% 85,1)
Toplam		39 (% 14,6)	229 (% 85,4)	268

İncelenen 268 adet deri kazıntısı ve kıl örneğinin yapılan kültürü sonucunda 40 (% 14,9) olguda dermatofit izolasyonu gerçekleştirildi. İncelenen materyallerin orijinlerine göre ise, 57 adet kedi numunesinin 24 (% 42)'ünden ve 211 köpek numunesinin 16 (% 7,5)'sından dermatofit üremesi saptandı.

Bu çalışmada, köpeklerden alınan materyaller; Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerinden sağlanan 76 materyalin 7 (% 9,2)'sinden; köpek bakım ve barınma ünitelerinden alınan 114 materyalden 3 (% 2,6)'ü, ve özel veteriner kliniklerinden sağlanan 21 materyaldende 5 (% 23,8)'i dermatofit yönünden pozitif olarak saptandı. Kedi materyalleri ise, özel veteriner kliniklerinden sağlanan 16 materyalin 6 (% 37,5) sından ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerinden sağlanan 41 materyalin 18 (% 43,9)'inden dermatofit izole edildi.

İzole edilen 40 dermatofit suşundan 37'si (% 92,5) DTM besiyerinde, 33'ü (% 82,5) SDA besiyerinde üreme gösterdi (Çizelge 3.3). Kedilerde üreyen 24 dermatofiten 18'i hem DTM hem SDA besiyerinde, 3'ü sadece DTM'de ve 3'üde sadece SDA'da üredi. Köpeklerde ise 12'si hem SDA hem de DTM'de, 4'ü ise sadece DTM'de üredi. Bu bulgular DTM'un SDA'a göre relatif olarak dermatofit izolasyonunda daha üstün olduğunu gösterdi.

Çizelge 3.3.Dermatofit etkenlerinin besiyerine göre dağılımı

Tür	DTM ve SDA'da üreyen dermatofit sayısı	Yalnız DTM 'de üreyen dermatofit sayısı	Yalnız SDA'da üreyen dermatofit sayısı
Kedi	18	3	3
Köpek	12	4	-
Toplam	30	7	3

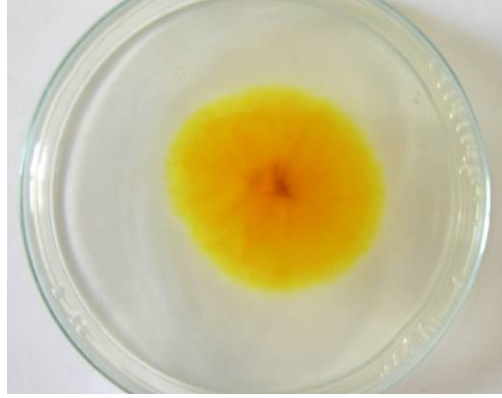
Kedi materyallerinden izole edilen dermatofitlerin 23 (% 95,9)'ü *Microsporum canis* ve 1 (% 4,1)'i *Microsporum nanum* olarak tanımlandı. Köpeklerden izole edilen dermatofitlerin türlere dağılımı ise, 8 (% 50) *Microsporum canis*, 3 (% 18,7) *T. mentagrophytes*, 2 (% 12,5) *T. terrestre*, 2 (% 12,5) *M. gypseum* ve 1 (% 6,3) *M. nanum* olarak belirlendi (Çizelge 3.4). *Microsporum canis*'in tüm dermatofitoz olgularında en yüksek oranda izole edilen dermatofit olduğu belirlendi ve daha az oranda *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T. terrestre* ve *M. nanum* izole edildi (Şekil 3.1.- 3.15).

Çizelge 3.4. Kültür sonucunda izole edilen dermatofitlerin türlere göre dağılımı.

Türler	Kedi (n:24)		Köpek (n:16)	
	Pozitif	%	Pozitif	%
<i>M. canis</i>	23	95,9	8	50
<i>M. nanum</i>	1	4,1	1	6,3
<i>M. gypseum</i>	-	-	2	12,5
<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	3	18,7
<i>T. terrestre</i>	-	-	2	12,5



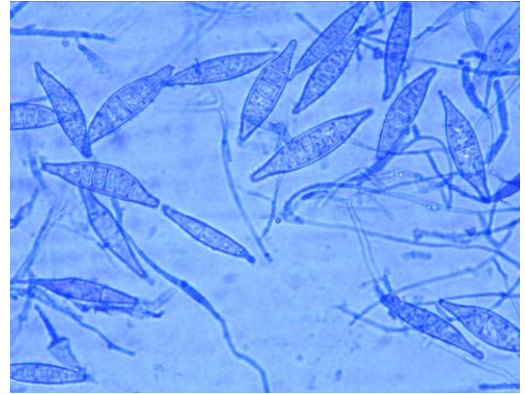
Şekil 3.1. *M. canis* kolonisinin önden görünümü (SDA)



Şekil 3.2. *M. canis* kolonisinin arkadan görünümü (SDA).



Şekil 3.3. *M. canis* 'in DTM'de görünümü.



Şekil 3.4. *M. canis*'in laktofenol pamuk mavisi boyası ile yapılan preparatında makrokonidyumlarının mikroskopik görünümü (x40).



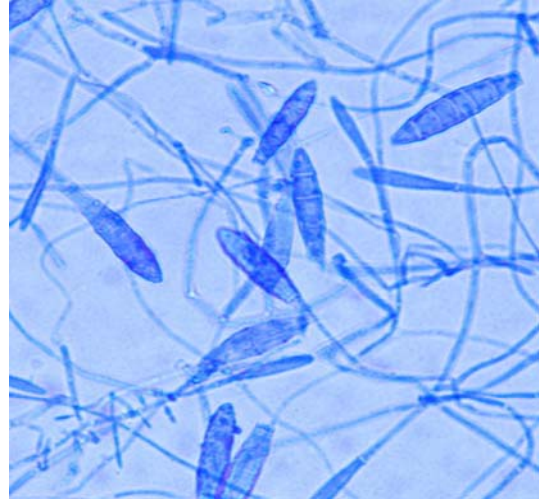
Şekil 3.5. *M. gypseum* kolonisinin önden görünümü (SDA).



Şekil 3.6. *M. gypseum* kolonisinin arkadan görünümü (SDA)



Şekil 3.7. *M. gypseum* DTM'deki görünümü



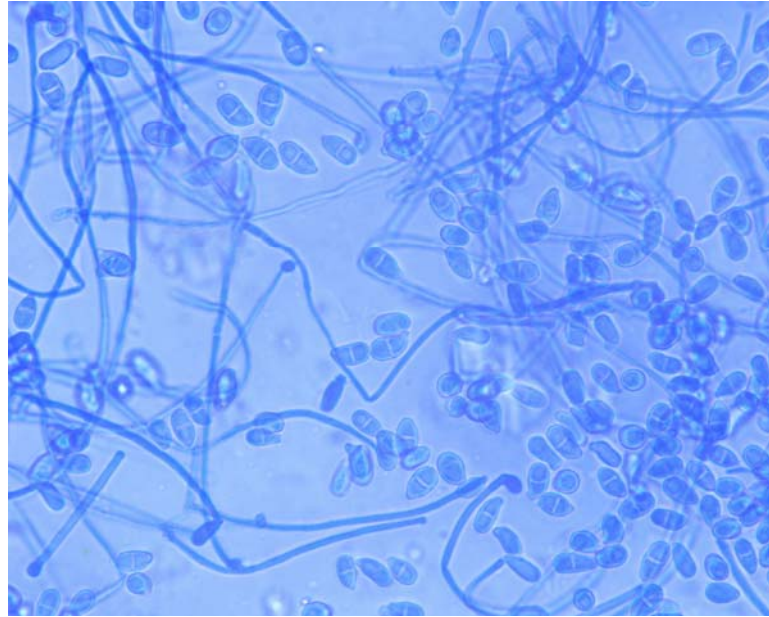
Şekil 3.8. *M. gypseum*'un laktofenol pamuk mavisi boyası ile yapılan preparatında makrokonidyumların mikroskopik görünümü (x40).



Şekil 3.9. *M. nanum* kolonisinin önden görünümü (SDA).



Şekil 3.10. *M. nanum* kolonisinin arkadan görünümü (SDA).



Şekil 3.11. *M. nanum*'un laktofenol pamuk mavisi boyası ile yapılan preparatında makrokonidyumların mikroskopik görünümü (x40).



Şekil 3.12. *T.terrestre* kolonisinin önden görünümü (SDA).



Şekil 3.13. *T.terrestre* kolonisinin arkadan görünümü (SDA).



Şekil. 3.14. *T. mentagrophytes* kolonisinin önden görünümü (SDA).



Şekil 3.15. *T. mentagrophytes* kolonisinin arkadan görünümü (SDA).

İzolasyon yapılan kedi ve köpeklerde cinsiyetler, dikkate alınarak yapılan değerlendirmede; 23 adet dişi kedi materyalinin 10 (% 43,5)'undan, 34 adet erkek kedi materyalinin 14 (% 41,2)'ünden dermatofit izolasyonu gerçekleştirildi. Köpeklerden alınan materyallerde ise; 100 erkek köpeğin 10 (% 10)'unda ve 111 dişi köpeğin 6 (% 5,4)'sında dermatofit etkenleri saptandı (Çizelge 3.5). Cinsiyete göre izolasyon oranlarının istatistiki olarak değerlendirilmesinde, hem kedilerde ($P < 0.05$) hem de köpeklerde ($P > 0.05$) cinsiyetin önemli olmadığı görüldü.

Çizelge 3.5. Dermatofitozların cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Kedi		Köpek	
	Materyal (n)	Pozitif (%)	Materyal (n)	Pozitif (%)
Erkek	23	10 (% 43,5)	100	10 (% 10)
Dişi	34	14 (% 41,2)	111	6 (% 5,4)

Bu çalışmada incelenen 57 kedi materyalinin 26'sı ≤ 1 yaş kedilerden, 14'ü 2-3 yaş aralığında, 7'si 4-5 yaş aralığında 10'u da 5 yaşından büyük kedilerden alındı ve bu yaş gruplarından sırasıyla 17 (% 65,3), 2 (% 14,3), 3 (% 42,9), 2 (% 16,7) adet dermatofit izole edildi. İncelenen 211 adet köpek materyalinin 84'ü ≤ 1 yaş, 53'ü 2-3 yaş aralığında, 32'si 4-5 yaş aralığında ve 42'si 5 yaşından büyük köpeklerden sağlandı. Bunlardan sırasıyla 6 (% 7,1), 2 (% 3,7), 1 (% 3,1), 6 (% 14,3) adet dermatofit izolasyonu gerçekleştirildi (Çizelge 3.6). Sonuçların yaşlara göre istatistiki olarak karşılaştırılmalı değerlendirilmesinde; kedilerde ≤ 1 yaş ile 2-3 yaş aralığı ($P \leq 0.01$) ve ≤ 1 yaş ile 5 yaşından büyük gruplara ($P \leq 0.01$) ait bulgular arası fark önemli bulunurken diğer yaş grupları arasındaki farklar önemsiz ($P > 0.05$) bulundu.

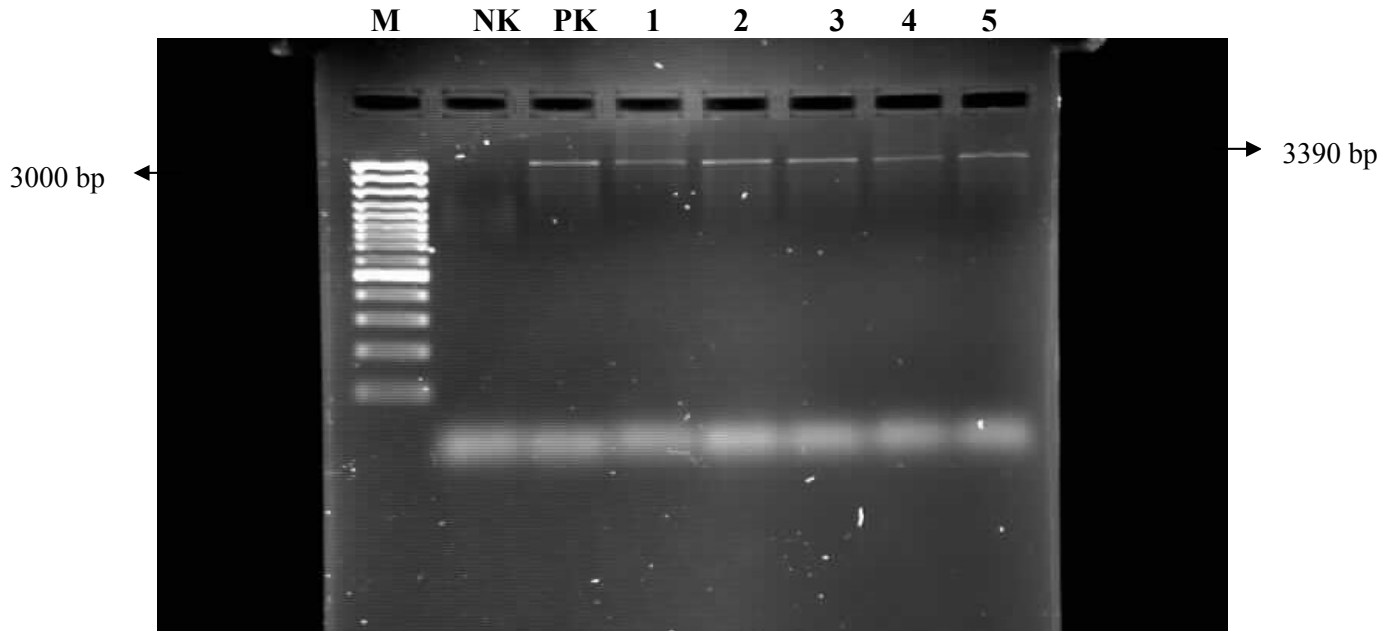
Çizelge 3.6. Dermatofit etkenlerinin yaşa göre dağılımı

Yaş	Kedi		Köpek	
	Toplam	Kültür (+) (%)	Toplam	Kültür (+) (%)
≤ 1	26	17 (% 65,3)	84	6 (% 7,1)
2-3	14	2 (% 14,3)	53	2 (% 3,7)
4-5	7	3 (% 42,9)	32	1 (% 3,1)
> 5	10	2 (% 16,7)	42	6 (% 14,3)

İncelenen materyallerde dermatofit dışında aynı zamanda saprofitik etkenler de izole edildi. Ayrıca bir örnekte birden fazla saprofit etkenin ürediği görüldü. Üreyen etkenlerin % 32'sini *Penicillium* spp. oluşturdu. Bunu *Alternaria* (% 25,4), *Mucor* spp. (% 14,7) ve *Aspergillus* spp. (% 13,6) izledi. Bunun dışında *Chrysosporium* spp., *Acremonium* spp., *Helminthosporium* spp., *Candida* spp., *Scopulariopsis*, *Geotrichum* spp., *Chaetomium* spp., *Cladosporium* spp., *Helminthosporium* spp., *Bipolaris* spp., *Ulaclodium* spp. ve *Fusarium* spp. etkenleri daha az oranda izole edildi.

3.2. PCR Bulguları

İlk aşamada Dr. Toshio Kanbe'den sağlanan *M. canis* DNA'larıyla PCR optimizasyonu gerçekleştirildi. Diğer örneklerin PCR'nda Kanbe ve ark. (2003a)'nın kullandığı metod modifiye edilerek kullanıldı. Pozitif ve negatif kontrol kullanılarak, kültür sonucunda izole edilen dermatofit suşlarından ekstrakte edilen DNA'lar ile PCR testi gerçekleştirildi. PCR testi sonrasında yapılan elektroforez sonrasında 3390 bp görülen bantlar dermatofit yönünden pozitif olarak değerlendirildi. İzole edilen bütün dermatofit etkenlerinin yapılan PCR sonucunda 3390 bp bantlar görüldü (Şekil. 3.16).



Şekil. 3.16. Dermatofit PCR sonuçları. M. Moleküler ağırlık marker (Gene Ruler™ 100 bp DNA Ladder Plus, Fermantas, Litvanya). PK. Pozitif kontrol, NK. Negatif kontrol, 1. *M. canis*, 2. *M. gypseum*, 3. *M. nanum*, 4. *T. mentagrophytes*, 5. *T. terrestre*

4. TARTIŞMA

Dermatofitlerin insan ve hayvanlarda keratinli dokuları infekte ederek oluşturdukları enfeksiyona dermatofitoz denilmektedir. *Microsporum* ve *Trichophyton* cinslerinde bulunan türler, kedi ve köpeklerde enfeksiyon etkeni olarak büyük öneme sahiptir. Ayrıca, kedi ve köpeklerde enfeksiyon etkeni olan bazı dermatofitlerin zoonoz olması, bu türlerin önemini artırmaktadır. Bu çalışmada deri lezyonu bulunan kedi ve köpeklerden dermatofitlerin izolasyonunun saptanması amaçlandı.

Bu çalışmada kedi ve köpeklerden alınan toplam 268 materyalin 40 (% 14,9)'ı dermatofit etkenleri yönünden pozitif bulundu. Konuyla ilgili olarak, Sparkes ve ark. (1993), kedi ve köpeklerden aldıkları 8349 materyalin dermatofit yönünden 1368 (% 16)'inde pozitiflik saptamışlardır. Mancianti ve ark. (2002)'nin İtalya'da yaptıkları bir çalışmada ise, 10 678 hayvandan alınan materyaller; dermatofit yönünden incelenmiş ve sonuçta 2456 (% 23) örnekte dermatofit varlığı saptanmıştır. İtalya'da yapılan başka bir çalışmada ise 268 köpek ve 156 kedi dermatofitoz yönünden incelenmiş ve % 23,3 düzeyinde pozitiflik bulunmuştur (Cafarchia ve ark., 2004). Brezilya'da yapılan çalışmalarda, Paixao ve ark. (2001), dermatofitoz şüpheli 74 köpek ve 18 kediden alınan materyallerde, % 22,8; Brilhante ve ark. (2003) ise, 1 yıl boyunca inceledikleri 189 köpek ve 38 kedi materyalinde % 18,1 oranında dermatofit izolasyonunu bildirmişlerdir. Hırvatistan'da 9 yıllık periyod boyunca, incelenen 3353 köpek ve 1838 kedi materyalinin 1263 (% 24,3)'ünde dermatofit izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Pinter ve ark., 1999). Bu çalışmada elde edilen izolasyon oranları ile diğer araştırmalardaki izolasyon oranları karşılaştırıldığında, Sparkes ve ark (1993)'nin bulgularına benzerlik gösterirken diğer araştırmacıların bulgularından düşüktür. Bu farklılık alınan materyallerin ait olduğu kedi ve köpek ırkları ve bu çalışmada köpek materyallerinin fazla olması ile açıklanabilir.

Bu çalışma incelenen materyallerin orijinleri dikkate alınarak yapılan değerlendirmede, incelenen 211 köpek materyalinin 16 (% 7,5)'sında dermatofit

saptandı. Köpeklerden sağlanan materyallerden dermatofit izolasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda; Sparkes ve ark. (1993), 4942 materyalden 474 (% 10); Mancianti ve ark. (2002), 3028 materyalden 566 (% 18,7), Cafarchia ve ark. (2004), 268 materyalden 55 (% 20,5); Brilhante ve ark. (2003), 189 materyalden 27 (% 14,3); Paixao ve ark (2001), 74 materyalden 13 (% 17,6)'ünde izolasyon gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca farklı ülkelerde yapılan izolasyon çalışmalarında köpeklerde dermatofit izolasyonu, % 8,2-% 42 arasında gerçekleştirilmiştir (Caretta ve ark., 1989; Cabanes ve ark., 1997; Ranganathan ve ark., 1998; Pinter ve ark., 1999; Khosravi ve Mahmoudi, 2003). Bu çalışmada köpeklere ait izolasyon bulguları, diğer araştırmacıların bulgularına göre düşük bulunmuştur. Bu durum, alınan köpek materyallerinin çoğunluğunun mantar enfeksiyonlarının dikkatle izlendiği köpek bakım ünitelerinden sağlanmış olması ve köpeklerin tüy uzunluğu ile ilişkili olabileceği varsayımı ile açıklanabilir.

Bu çalışmada incelenen 57 adet kedi numunesinin 24 (% 42)'ünden dermatofit izole edilmiştir. Dermatofitozis şüpheli kedilerde yapılan çalışmalarda, dermatofit prevalansının köpeklere göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Cabanes ve ark.,1997; Paixao ve ark., 2001; Cabanes, 2000; Khosravi ve Mahmoudi, 2003). Konuyla ilgili olarak Sparkes ve ark. (1993), dermatofitozis şüpheli 3407 kediden 849 (% 26); Cafarchia ve ark. (2004), 156 kediden 44 (% 28,2); Mancianti ve ark. (2002), 7650 kediden 1890 (% 24,7); Brilhante ve ark., (2003), 38 kediden 14 (% 36,8); Pinter ve ark (1999) 9 yıllık periyod boyunca inceledikleri 1838 kediden 748 (% 40,7) örnekte dermatofit izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen izolasyon oranı, diğer çalışmada elde edilen izolasyon oranlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Bu yüksek izolasyon oranı, bu çalışmada incelenen materyallerin ait olduğu kedilerin çoğunun 1 yaşın altında olması ile açıklanabilir.

M. canis kedilerden en yaygın olarak izole edilen türdür. İzolasyon oranı genelde % 90 dan daha yüksektir. Kedilerde daha az sıklıkta *T. mentagrophytes* ve *M. gypseum* türleri de izole edilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda bu 3 tür, kedilerden izole edilen dermatofitlerin yaklaşık % 98'ini oluşturmaktadır (Thomsett,

1986; Wright, 1989; Cabanes, 2000; Khosravi ve Mahmoudi, 2003). Bu çalışmada kedilerden izole edilen dermatofitlerin 23 (% 95,9)'ü *Microsporum canis* ve 1 (% 4,1)'i *Microsporum nanum* olarak tanımlanmıştır. Konuyla ilgili olarak yapılan çalışmalarda, Sparkes ve ark. (1993), kedilerden izole edilen dermatofitler arasında *Microsporum canis*'i % 92; Cafarchia ve ark. (2004) % 81,8; Mancianti ve ark. (2002), % 97 ve Cabanes ve ark. (1997), % 94,7 oranında izole etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, diğer araştırmacıların kedilerde dermatofitozis olgularında *M.canis*'in yüksek oranda sorumlu olduğunu gösteren bulgularını destekler niteliktedir.

Köpeklerde dermatofitozis olgularında, *M. canis* kedilerde olduğu gibi en sık izole edilen tür olduğu ve izolasyon oranının % 40-90 arasında değiştiği bildirilmiştir (Tomsett, 1986; Wright, 1989; Cabanes ve ark., 1997; Mancianti ve ark., 2002; Brilhante ve ark., 2003; Khosravi ve Mahmoudi, 2003). Ancak bazı çalışmalarda bu durum farklılık göstermektedir (Caretta ve ark., 1989, Jand ve Gupta, 1989; Cabanes, 2000). Bu çalışmada köpeklerden 8 (% 50) *Microsporum canis*, 3 (% 18,7) *T. mentagrophytes*, 2 (% 12,5) *T. terrestre*, 2 (% 12,5) *M. gypseum* ve 1 (% 6,3) *M. nanum* izole edildi. Konuyla ilgili olarak Sparkes ve ark. (1993)'ü yaptıkları çalışmada dermatofitozis şüpheli köpeklerden aldıkları örneklerin % 65'inden *M. canis*, % 30'undan sylvatic dermatofitleri (*T. mentagrophytes*, *M. persicolor*, *T. erinacei*) ve % 5'inden ise diğer (*T. verrucosum*, *T. equinum*) türleri izole ettiklerini bildirmişlerdir. Cafarchia ve ark. (2004), inceledikleri meteryallerden sırasıyla *M. canis* (% 74,5), *T. terrestre* (% 6), *M. gypseum* (% 4) ve *T. mentagrophytes* (% 1) izole etmişlerdir. Paixao ve ark (2001) tarafından yapılan çalışmada, *M. canis* % 47,6 ve *T. mentagrophytes* % 14,3 oranında izole edilmiştir. Bu çalışmada izolasyon oranı olarak en yüksek düzeyde *M.canis* izole edilmesi diğer araştırmacıların bulguları ile benzerlik gösterirken *M.canis* izolasyon oranı diğer çalışmalara göre düşük bulunmuştur. Bu durum, köpeklerde dermatofit izolasyonunun toplamda da düşük olması ve bu çalışmada farklı kaynaklardan sağlanan klinik örneklerin kullanılması ile açıklanabilir.

Bu çalışmada incelenen materyallerde dermatofit dışında aynı zamanda saprofitik etkenler de izole edildi. Ayrıca bir örnekte birden fazla saprofit etkenin ürettiği görüldü. Üreyen etkenlerin % 32'sini *Penicillium* spp. oluşturdu. Bunu *Alternaria* (% 25,4), *Mucor* spp. (% 14,7) ve *Aspergillus* spp. (% 13,6) izledi. Bunun dışında *Chrysosporium* spp., *Acremonium* spp., *Helminthosporium* spp., *Candida* spp., *Scopulariopsis*, *Geotrichum* spp., *Chaetomium* spp., *Cladosporium* spp., *Helminthosporium* spp., *Bipolaris* spp., *Ulaclodium* spp. ve *Fusarium* spp. etkenleri değişik oranlarda az sayıda izole edildi. Dermatofit izolasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, saprofit olarak kabul edilen çok sayıda etken izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Jand ve Gupta, 1989; Karen ve Douglas, 1991; Romano ve ark. 1997; Guzman-Chavez ve ark., 2000). Konuyla ilgili olarak Caretta ve ark. (1989)'ı kedi ve köpeklerde yaptıkları çalışmada en sık olarak *Chrysosporium* spp izole etmişlerdir. Bunu *Alternaria* spp, *Scopulariopsis* spp *Penicillium* spp, *Cladosporium* spp, *Aspergillus* spp ve *Acremonium* spp azalan sıklıkta izlemiştir. Brezilya'da yapılan başka bir çalışmada Paixao ve ark. (2001)'ı kedi ve köpeklerden, *Aspergillus* sp (% 37,9) *Penicillium* sp (% 21,4), *Cladosporium* sp (% 8,7), *Fusarium* sp (% 7,8), *Trichoderma* sp (% 6,8), *Candida* sp (% 6,8), *Curvularia* sp (% 3,9), *Rhizopus* sp (% 2,9), *Alternaria* sp (% 1,9) ve *Chaetomium* sp (% 1,9) izole ettiklerini bildirmişlerdir. Saprofit olan etkenlerle ilgili bulgular, diğer araştırmacıların bulguları ile benzer niteliktedir.

Bu çalışmada cinsiyete göre izolasyon oranlarının istatistiki olarak karşılıklı değerlendirilmesinde, hem kedilerde ($P < 0,05$) hem de köpeklerde ($P > 0,05$) cinsiyetin önemli olmadığı görüldü. Bu sonuç farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda (Sparkes ve ark., 1993; Cabanes ve ark., 1997; Mancianti ve ark., 2002; Brilhante ve ark., 2003; Cafarchia ve ark., 2004) dermatofitozis olgularında cinsiyet yatkınlığının olmadığı bildirimlerini destekler niteliktedir

Bu çalışmada elde edilen bulguların yaş aralıklarına göre değerlendirilmesi sonucunda, 1 yaşından küçük kedilerde dermatofit izolasyon oranının diğer yaşlara göre daha yüksek olduğu ve bu izolasyon oranlarının istatistiki olarak önemli olduğu ortaya konuldu ($P \leq 0.01$). Sparkes ve ark. (1993) yaptıkları çalışma sonucunda farklı

yaş grubundaki kedi ve köpeklerde önemli derecede farklı dermatofit prevalansı saptamışlar ve dermatofitozisin oluşmasında genç kedi ve köpeklerin predispoze olduğunu bildirmişlerdir. Bu konuda farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, 1 yaşından küçük hayvanlarda, diğer yaş gruplarındaki kedi ve köpeklere göre daha yüksek oranda dermatofitoz saptandığı bildirilmiştir (Cabanés ve ark., 1997; Mancianti ve ark., 2002; Cafarchia ve ark., 2004). Bu çalışmada elde edilen bulgular, hem istatistiksel olarak hem de çalışma sonuçlarını doğrular nitelikte bulunmuştur.

Bu çalışmada direkt mikroskopik incelemenin % 64,1 oranında izolasyon bulguları ile paralel olduğu ortaya kondu. Bu bulgu, diğer araştırmacılar tarafından bildirilen bulguları desteklemektedir (Cabanés ve ark., 1997; Brilhante ve ark., 2003). Sparkes ve ark. (1993), yaptıkları direkt mikroskopik inceleme sonucunda % 55 oranında pozitiflik bulduklarını; kedilerde bu oranın % 59, köpeklerde ise % 54 olduğunu bildirmişlerdir. Cafarchia ve ark. (2004) ise, örneklerin % 53,2'sini direkt mikroskopi ile pozitif saptamışlardır. Brilhante ve ark. (2003), direkt mikroskopide tüm materyallerde % 61, köpeklerde % 63 ve kedilerde % 57,1 oranında sonuç aldıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada izolasyon amacıyla SDA ve DTM besiyerleri kullanıldı. DTM besiyerinde SDA'ya göre daha fazla sayıda dermatofit izole edilmesi, bu besiyerinin rutin kullanımda relatif olarak daha uygun olduğu sonucuna varıldı. Singh ve Beena (2003), SDA, DTM ve Enriched dermatophyte medium (EDM) besiyerlerini karşılaştırdıkları çalışmada, sırasıyla SDA ve DTM besiyerlerini % 96,5, % 98,3 oranlarında duyarlı bulmuşlardır. Bu çalışmada elde edilen bulgular, Singh ve Beena (2003) tarafından yapılan çalışma bulgularına benzerdir. İki besiyerinin karşılaştırmalı çalışmalarına ait fazla sayıda çalışma olmaması nedeniyle tam bir değerlendirme yapılamamıştır.

Bu çalışmada izole edilen etkenlerin dermatofit olduğu PCR testiyle doğrulandı. PCR testi sonucunda 3390 bp'de bantlar görüldü. Kanbe ve ark. (2003a)

yaptıkları çalışmada dPsD1 primer setini kullanarak *Trichophyton spp.*, *Microsporum spp.* ve *Epidermophyton spp.* cinsindeki türlere spesifik bantları 3390 bp’de elde etmişlerdir. Bu çalışmada izole edilen *Microsporum spp.* ve *Trichophyton spp.* için elde edilen bulgular, Kanbe ve ark. (2003a)’nın bulgularını destekler niteliktedir. Konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda, tür spesifik PCR çalışmaları da gerçekleştirilmiştir (Liu ve ark., 1996; Liu ve ark., 1997; Liu ve ark., 2001 Kanbe ve ark. 2003b). Ayrıca moleküler temelli tekniklerin kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (Faggi ve ark., 2000; Kano ve ark., 2002). Bu çalışmada elde edilen bulgular ile diğer çalışma bulguları birlikte değerlendirildiğinde, moleküler tekniklerin özellikle dermatofit etkenlerini rutin teşhisinde yararlı olacağı sonucuna varıldı.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- Kedi ve köpekler için toplam 268 materyalin incelenmesi sonucunda 40 (%14,9)'unda dermatofit yönünden üreme saptandı.
- Kedilerde dermatofitoz görülme sıklığının köpeklerden daha yüksek olduğu belirlendi.
- Kedi ve köpeklerde görülen dermatofitlerin görülme sıklığının cinsiyete bağlı olmadığı görüldü.
- Kedilerde 1 yaşın altındaki hayvanlarda, dermatofitozun görülme sıklığının daha yüksek olduğu saptandı.
- Direkt mikroskopi ve kültür sonuçları karşılaştırıldığında direkt mikroskopinin, erken teşhiste kullanılabileceği ancak özellikle negatif olgularda mutlaka kültür yönteminin yapılması gerektiği ortaya konuldu.
- Kedi ve köpeklerde en sık olarak *M. canis* izole edildiği görüldü. Kedilerde *M. canis*'in görülme sıklığının köpekler için göre daha yüksek olduğu belirlendi.
- İzolasyon için kullanılan besiyerlerinden DTM besiyerinin SDA'ya göre relatif olarak dermatofitleri daha yüksek düzeyde izole edebildiği saptandı.
- Kedi ve köpeklerden izole edilen dermatofitlerin doğrulanması amacıyla Türkiye'de PCR ilk kez kullanıldı ve bu tekniğin dermatofit etkenlerinin teşhisinde kullanılabilişliğı ortaya kondu.
- Bu çalışmada hem kedi hem de köpeklerde zoonotik önemi olan *M.canis*'in dominant olması, hayvan sahiplerinin bu konuda bilgilendirilmelerinin yararlı olacağı sonucuna varıldı.

ÖZET

Kedi ve Köpeklerden Dermatofitlerin İzolasyonu

Bu çalışmada kedi ve köpeklerden alınan materyallerin dermatofitozis yönünden direkt mikroskopik incelenmesi, kültür yöntemiyle etken izolasyonu ve izole edilen dermatofit türlerinin moleküler tekniklerle doğrulanması amaçlanmıştır.

Bu çalışma kapsamında toplam 268 materyal dermatofit varlığı yönünden incelendi. Direkt mikroskopik incelemede, incelenen 268 materyalin 39 (%14,5)'unda mantar hifa ve/veya sporları görüldü. Kültür işlemi sonrasında 40 (%14,9) materyalden dermatofit izolasyonu gerçekleştirildi. İncelenen materyallerin orijinleri dikkate alındığında, kedi materyallerinde %42 köpek materyallerinde %7.5 oranında dermatofit izole edildi. İzolasyon amacıyla kullanılan Dermatofit test besiyeri (DTM)'nde, Sabouraud dekstroza agar (SDA)'a göre daha fazla oranda etken izole edildi.

İzole edilen etkenlerin hayvan türlerine dağılımı, kedilerde %95,9'u *Microsporum canis* ve %4,1'i *Microsporum nanum*; köpekler materyallerinden ise, %50 *Microsporum canis*, %18,7 *T. mentagrophytes*, %12,5 *T. terrestre*, %12,5 *M. gypseum* ve %6,3 *M. nanum* olarak saptandı. Bu çalışmada kedi ve köpeklerde dermatofitozis görülme sıklığına cinsiyetin etkisinin olmadığı belirlenirken ($p>0.05$); kedilerde, 1 yaşın altındaki hayvanlarda dermatofitoz görülme sıklığı diğer yaş gruplarındakilere göre önemli bulundu ($p\leq 0.01$). Yapılan PCR çalışmalarında, izole edilen tüm suşların dermatofit olduğu ortaya kondu.

Sonuç olarak, dermatofitozis şüphesiyle getirilen kedi ve köpeklerden *M. canis* dominant etken olarak üredi ve izolasyon amacıyla DTM'nin SDA'ya göre daha etkin olduğu saptandı. İzole edilen türlerin doğrulanmasında moleküler tekniklerin teşhiste kullanılabilirliği ortaya konuldu. Ayrıca *M. canis*'in zoonotik önemi göz önüne alındığında, hayvan sahipleri ve veteriner hekimlerin dermatofit şüpheli hayvanlarla temasta dikkatli olmaları gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Dermatofit, kedi, köpek, PZR

SUMMARY

Isolation of dermatophytes from cats and dogs

The aim of this study was to investigate the clinical samples obtained from cats and dogs for dermatophyte identification by direct microscopy, dermatophyte isolation by cultural methods, respectively and to confirm these by molecular methods.

A total of 268 material was examined for the isolation of dermatophyte. Fungal hyphas and/or spores were observed in 39 (14.5 %) out of 268 materials following direct microscopy. Dermatophyte isolations were achieved from 40 (14.9 %) materials after the culture process. Considering the origins of materials examined, dermatophyte isolation ratios were 42 % in cat materials and 7.5 % in dogs'. Higher isolation rates were achieved on dermatophyte test medium (DTM) than sabouraud dextrose agar (SDA) after studies.

The distribution of isolated strains according to the species of animals was determined to be 95.9 % *M. canis* and 4.1 % *M. nanum* in cats; 50 % *M. canis*, 18.7 % *T. mentagrophytes*, 12.5 % *T. terrestre*, 12.5 % *M. gypseum* and 6.3 % *M. nanum* in dogs. In this study, no significant effect of sex on dermatophytosis prevalence ($p>0.05$) was detected in cats, while the prevalences were found to be significant ($p\leq 0.01$) in animals (cats and/or) those were smaller than 1 year old compared to the animals of other age groups. It was determined that all of the isolated strains were determined to be dermatophyte species following PCR studies.

As a conclusion, *M. canis* was the dominantly isolated agent from dermatophytosis suspected cats and dogs and DTM was determined to be more effective than SDA concerning dermatophyte isolations. The feasibility of molecular techniques for confirmation of laboratory diagnosis of isolated strains had been shown. It was also concluded that, owners and veterinarians should be aware and careful when they are in contact with suspected animals, concerning the zoonotical importance of *M. canis*.

Key words: Dermatophytes, cat, dog, PCR

KAYNAKLAR

- ALTAY, G., KÖKÇÜ, L., AKAN, M., KESKİN, O. (2003) Evcil hayvanlardan dermatofit izolasyonu. *Vet. Hek. Mikrob. Derg.* **3**:5-8
- ALY, R. (1994). Ecology and epidemiology of dermatophyte infections. *J. Am. Acad. Dermatol.* **31**:21-25.
- ARDA, M. (1980). Mikoloji. Ankara: Ankara üniversitesi basimevi.
- AŞÇI, Z. (1992). Elazığ yöresinde izole edilen dermatofit etkenleri ve invitro duyarlılıklarının araştırılması. Doktora tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- AYDIN, N. (2004). Evcil hayvanlarda görülen dermatomikozlarda korunma ve sağaltım. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları Simpozyumu: Dermatomikoz Etkenleri ve Dermatomikozlar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No: 48, 130-140, Kayseri.
- BACANLI, D. (1999). Kedilerde *Microsporum canis* ile oluşturulan deneysel dermatofitozis olgularında 3 oral antifungal ilacın kullanımı ve bu ilaçların karaciğer enzimleri ve bazı kan parametreleri üzerine etkileri. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- BRILHANTE, R.S.N., CAVALCANTE, C.S.P., SOARES-JUNIOR, F.A., CORDEIRO, R.A., SIDRIM, J.J.C., ROCHA, M.F.G. (2003). High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: Epidemiological and diagnostic features. *Mycopathologia* **156**:303-308.
- CABANES, F. J., ABARCA, M. L., BRAGULAT, M. R. (1997). Dermatophytes isolated from domestic animals in Barcelona, Spain. *Mycopathologia*, **137**:107-113.
- CABANES, F.J.(2000). Dermatophytes in domestic animals In: *Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi*. Ed.: Kushwaha R.K.S, Guarro J. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micologia.
- CAFARCHIA, C., ROMITO, D., SASANELLI, M., LIA, R., CAPELLI, G., OTRANTO, D. (2004). The epidemiology of canine and feline dermatophytoses in southern Italy. *Mycoses*. **47**:508-513.
- CARETTA, G., MANCIANTI, F., AJELLO, L. (1989). Dermatophytes and keratinophilic fungi in cats and dogs. *Mycoses*. **32**:620-626.
- CATCOTT, E.J. (1975). Feline Medicine and Surgery. 2nd Ed. American Veterinary Publications Inc . California.p:71-84.

- CERVANTES-OLIVARES R.A. (2003). Ringworm infection in dogs and cats. In: *Recent Advances in Canine Infectious Diseases*. Ed. :Carmichael.L. Ithaca, Newyork: International Veterinary Information Service (IVIS)
Eriřim: [http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/cervantes/IVIS.pdf]
Eriřim tarihi: 30.05.2005
- DAVISE, H.L. (1996). Culture identification of dermatophytes. *Clin. Microbiol. Newsl.* **18**:33-40.
- DEBOER, D.J., MORIELLO, K.A., BLUM, J.L., VOLK, M.L., BREDAHL, L.K. (2002). Safety and immunologic effects after inoculation of inactivated and combined live-inactivated dermatophytosis vaccines in cats. *A. J. V. R.* **63**:1532-1537
- ESPINEL-INGROFF, A.(1996). History of medical mycology in the United States. *Clin. Microbiol. Rev.* **9**:235-272
- FAGGI, E., PINI, G., CAMPISI, E., BERTELLINI, C., DIFONZA, E., MANCIANTI, F. (2001). Application of PCR to distinguish common species of dermatophytes. *J. Clin. Microbiol.* **39**: 3382-3385.
- FERNANDEZ-TORRES, B., MAYAYO, E., BORONAT, J., GUARRO, J. (2002). Subcutaneous infection by *Microsporum gypseum*. *Br. J. Dermatol.* **146**:311-313
- GEORG, L.K., CAMP, L.B. (1957). Routine nutritional tests for the identification of dermatophytes. *J. Bacteriol.* **74**:113-121.
- GRAPPEL, S.F., BISHOP, C.T., BLANK, F. (1974). Immunology of dermatophytes and dermatophytosis. *Bacteriol. Rev.* **38**:222-250.
- GUARRO, J., GENE, J., STCHIGEL, A. M. (1999). Development in fungal taxanomy. *Clin. Microbiol. Rev.* **12**:454-500.
- GUZMAN-CHAVEZ, R.E., SEGUNDO-ZARAGOZA, C., CERVANTES-OLIVARES, R.A., TAPIA-PEREZ, G. (2000). Presence of keratinophilic fungi with special reference to dermatophytes on the haircoat of dogs and cats in Mexico and Nezhualcoyotl cities. *Rev. Latinoam. Microbiol.* **42**:41-44
- HAINER, B.L.(2003). Dermatophyte infections. *Am. Fam. Physician.* **67**:101-108.
- HARRIS, J.L. (1986). Modified method for fungal slide culture. *J. Clin. Microbiol.* **24**:460-461.
- HOLMBERG, K. (1986). New diagnostic methods in dermatological mycology. *Acta. Derm. Venereol.* **121**:93-100.

- JACKSON, C. J., BARTON, R. C., EVANS, E. G. (1999). Species identification and strain differentiation of dermatophyte fungi by analysis of ribosomal-DNA intergenic spacer regions. *J. Clin. Microbiol.* **31**:931-936.
- JAND, S.K., GUPTA, M.P. (1989): Dermatophytosis in dogs. *Mycoses.* **32**:104-105
- KAC, G. (2000). Molecular approaches to the study of dermatophytes. *Med. Mycol.* **38**: 329-336
- KANBE, T., SUZUKI, Y., KAMIYA, A., MOCHIZUKI, T., MACHIKO, F., KIKUCHI, A. (2003a). PCR-based identification of common dermatophyte species using primer sets specific for DNA topoisomerase II genes. *J Dermatol Sci.* **32**:151-161
- KANBE, T., SUZUKI, Y., KAMIYA, A., MOCHIZUKI, T., KAWASAKI, M., FUJIHIRO, M., KIKUCHI, A. (2003b). Species-identification of dermatophytes *Trichophyton*, *Microsporum* and *Epidermophyton* by PCR and PCR-RFLP targeting of DNA topoisomerase II genes. *J Dermatol Sci.* **33**:41-54
- KANE, J., SUMMERBELL, R. C. (1999). *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton* ve agents of superficial mycoses. In: *Manual of Clinical Microbiology*, Ed: Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C., Tenover, R. H. Washington. ASM. 1.ed.: p: 1275-1294.
- KANO, R., HIRAI, A., MURAMATSU, M., WATARI, T., HASEGAWA, A. (2003). Direct detection of dermatophytes in skin samples based of chitin synthase 1 (CHS1) gene. *J. Vet. Med. Sci.* **65**:267-270.
- KAREN, A., DOUGLAS, J.D. (1991). Fungal flora of the coat of pets cats. *Am. J. Vet. Res.* **52**:602-606
- KAYA, D., KASIMOĞLU, Ö. (1995). Dermatofitlerin identifikasyonunda modifiye lam kültürü yönetiminin değeri. *Türk. Mikrobiyol. Cem. Derg.* **25**:110-114
- KEFALIDOU, S., ODIA, S., GRUSECK, E., SCHMIDT, T., RING, J., ABECK, D. (1997). Wood's light in *Microsporum canis* positive patients. *Mycoses.* **40**:461-463.
- KHOSRAVI, A.R., MAHMOUDI, M. (2003). Dermatophytes isolated from domestic animals in Iran. *Mycoses.* **46**:222-225.
- KİRAZ, M. (1988). Dermatofitlerin tür tanısı ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Doktora tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- KUŞTİMUR, S., KALKANCI, A. (2001). 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji kongresi. Ankara: Ankara Sistem Ofset.
- LARONE, D.H. (2002). Medically Important Fungi: A Guide to Identification. Washington: ASM press. 4nd Ed.

- LIU, D., COLOE, S., BAIRD, R., PEDERSEN, J. (1996). Use of arbitrarily primed polymerase chain reaction to differentiate *Trichophyton* dermatophytes. *FEMS Microbiol. Lett.* **136**:147-150.
- LIU, D., COLOE, S., BAIRD, R., PEDERSEN, J. (1997). Molecular determination of dermatophyte fungi using the arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Br. Vet. J. Dermatol.* **131**:351-355.
- LIU, D., COLOE, S., BAIRD, R. (2000a). Rapid mini preparation of fungal DNA for PCR. *J. Clin. Microbiol.* **38**:471.
- LIU, D., COLOE, S., BAIRD, R., PEDERSEN, J. (2000b). Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *J. Med. Microbiol.* **49**:493-497.
- LIU, D., PEARCE, L., LILLEY, G., COLOE, S., BAIRD, R., PEDERSEN, J. (2001). A specific PCR assay for the dermatophyte fungus *Microsporum canis*. *Med. Mycol.* **39**:215-219.
- MANCIANTI, F., NARDONI, S., CECCHI, S., CORAZZA, M., TACCINI, F. (2002). Dermatophytes isolated from symptomatic dogs and cats in Tuscany, Italy during a 15-year-period. *Mycopathologia.* **156**:13-18.
- MOCHIZUKI, T., KAWASAKI, M., ISHIZAKI, H., MAKIMURA, K. (1999): Identification of several clinical isolates of dermatophytes based on the nucleotide sequence of internal transcribed spacer 1 (ITS 1) in nuclear ribosomal DNA. *J. Dermatol.* **26**:276-281.
- MORIELLO, K.A. (1990). Management of dermatophyte infections in catteries and multiple-cat households. *Small. Anim. Pract.* **20**:1457-1474.
- MORIELLO, K.A. (2004). Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. *Vet. dermatol.* **15**:99-107.
- MULLER GH, KIRK RW, SCOTT DW (1983). Fungal diseases, In: *Small Animal Dermatology*, Ed: Muller GH, Kirk RW, Scott DW. Philadelphia: W.B. Saunders Company: p:243-284.
- MURRAY, PR, DREW, WL, KOBAYASHI, GS, THOMSON, JH. (1990) Medical Microbiology. New York: Mosby Books Inc. p:297-346.
- NOBLE, S., FORBES, R.C., STAMM, L. (1998). Diagnosis And Management of common tinea infections. *Am. Fam. Physician.* **58**:163-170.
- OR, E., KAYMAZ, A.A., DODURKA, T., TAN, H., Ö, Y. (1999). Zoonotik *Microsporum canis* enfeksiyonu. *Tr. J.Vet.Anim Sci.* **23**:293-296.

- ÖZKÜTÜK, A. A. (1999). Dermatomikoz olgularından izole edilen dermatofitlerin tiplendirilmesi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları. Doktora tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- PAIXAO, G.C., SIDRIM, J.J.C., CAMPOS, G.M.M., BRILHANTE, R.S.N., ROCHA, M.F.G. (2001). Dermatophytes and saprobe fungi isolated from dogs and cats in the city of Fortaleza, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **53**:568-573.
- PARISER, D.M. (1990). Superficial fungal infections. *Postgrad. Med.* **87**:205-214
- PINTER, L., JURAK, Z., UKALOVIC, M., SUSIC, V. (1999). Epidemiological and clinical features of dermatophytoses in dogs and cats in Croatia between 1990 and 1998. *Veterinarski. Arhiv.* **69**: 261- 270.
- QUINN, P. J., CARTER, M. E., MARKEY, B., CARTER, G. R. (1999). Clinical Veterinary Microbiology. London, England: Mosby-Wolfe. p: 381-390.
- RANGANATHAN, S., ARUN MAZHI BALAJEE, S., MAHENDRA RAJA, S. (1998). A survey of dermatophytosis in animals in Madras, India. *Mycopathologia.* **140**: 137-140.
- RAZA, A. (1994). Ecology and epidemiplogy of dermatophyte infections. *J. Am. Acad. Dermatol.* **31**:21-25.
- REZABEK, G.H., FRIEDMAN, A.D. (1992): Superficial fungal infections of the skin. *Drugs.* **43**:674-682.
- ROCHETE, F., ENGELIN, M., VANDEN BOSCHE, H. (2003). Antifungal agents of use in animal health-practical applications. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* **26**:31-53
- ROMANO, C., VALENTI, L., BARBARA. (1997). Dermatophytes isolated from asymptomatic stray cats. *Mycoses.* **40**:471-472.
- SALKIN, I. F., PADHYE, A. A., KEMNA, M. E. (1997). A new medium for the presumptive identification of dermatophytes. *J. Clin. Microbiol.* **35**: 2660-2662.
- SANCAK, A.A., ERDEĞER, J., GÜVENÇ, T. (2000). Diagnosis and treatmeant of generalized infections of *Trichophyton verrucosum* in horses. *Ankara Üniv. Vet Fak. Derg.* **47**:95-101
- SCOTT, D. W., HORN, R. T. (1987): Zoonotic dermatoses of dogs and cats. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract.* **17**: 117-144.
- SIMPANYA, M.F. (2000). Dermatophytes: Their taxonomy, Ecology and pathogenicity. In: *Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi*. Ed.:Kushwaha R.K.S, Guarro J. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología.

- SINGH S, BEENA P.M. (2003). Comparative study of different microscopic techniques and culture media for the isolation of dermatophytes. *Indian J. Med. Microbiol.* **21**:21-24
- SPARKES, A.H., GRUFYDD-JONES, T.J., SHAW, S.E., WRIGHT, A.I., STOKES, C.R.(1993). Epidemiological and diagnostic features of canine and feline dermatophytosis in the United Kingdom from 1956 to 1991. *Vet. Rec.* **133**: 57-61.
- SPARKES, A.H., WERRETT, G., STOKES, C.R., GRUFFYDD-JONES, T.J. (1994). Improved sensitivity in the diagnosis of dermatophytosis by fluorescence microscopy with calcafluor white. *Vet. Rec.* **134**:307-308.
- ŞAHAL, M., İMREN, H.Y., BÖRKÜ, M.K., YARDIMCI, H. (1988). Türkiye’de sığırlarda trichophyte enfeksiyonuna karşı ilk avirulent aşı uygulamaları. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* **35**:567-587.
- TAPLIN, D., ZAIAS, N., REBELL, G., BLANK, H. (1969). Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). *Arch. Derm.* **99**:203-209.
- THOMAS, G.M, XU, J. (2002). Molecular methods to identify pathogenic fungi In: *Pathogenic Fungi in Humans and Animals*. Ed.: D.H. Howard, Marcel Dekker, NY. p:677-702.
- THOMSETT, L., R. (1986). Fungal diseases of the skin of small animals. *Br. Vet. J.* **142**:317-325.
- TOPÇU, A.W., SÖYLETİR, G., DOĞANAY, M. (2002). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi cilt 2. Adana: Nobel Kitabevi.
- TOSUN, İ. (1994). Hastalardan izole edilen dermatofitlerin izolasyon ve identifikasyonu. Yüksek lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- TÜMBAY, E. (1999). Mikoloji. In: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ed.: Ustaçelebi, Ş. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd Şti. p:1015-1159
- TÜMBAY, E., İNCİ, R., HİLMİOĞLU, S., AYDEMİR, Ş. (1999). 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
- VROEY, C.D. (1984). Ecological and epidemiological aspects in dermatophytoses. *Zbl. Bakt. Hyg.* **257**:234-239
- WAGNER, D. K., SOHNLE, P. G. (1995). Cutaneous defenses against dermatophytes and yeasts. *Clin. Microbiol. Rev.* **8**:317-335.
- WEITZMAN, I., SUMMERBELL, R. C. (1995). The dermatophytes. *Clin. Microbiol. Rev.* **8**:240-259
- WHITTAKER, R.H. (1969). New concepts of kingdoms of organisms. *Science.* **163**:150-160

WILLARD, A.T.(1986). Classification of fungi. In: *Infectious Diseases And Medical Microbiology*. Ed.: Abraham, I.B., Charles, E.D., Joshua, F.E. 2nd. Ed. New york. p:124-131

WRIGHT, A. I. (1989). Ringworm in dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.* **30**:242-249.

YÜCEL, A. (1999). Tıp Mikolojisinin Dünyü ve Bugünü. *Cerrahpasa J. Med.* **30**:191-198.

ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı : Osman Yaşar
 Soyadı : TEL
 Doğum yeri ve tarihi : Bozova, 05/01/1977
 Uyuğu : T.C.
 Medeni durumu : Bekar
 İletişim adresi ve telefonu : Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
 Mikrobiyoloji A.D. Yenişehir/ŞANLIURFA
 Tlf : 0 5057038316

II- Eğitimi

1994-2009 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara
 1990-1993 Bozova Lisesi, Bozova/Şanlıurfa
 1987-1990 Bozova Lisesi, Bozova/Şanlıurfa
 1982-1987 Atatürk İlkokulu, Bozova/Şanlıurfa

III- Ünvanları

Veteriner Hekim

IV- Mesleki Deneyimi

2002 yılından itibaren Araştırma Görevlisi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınlar ve Posterler:

1. Akan, M., Sareyyüpoğlu, B., Tel, O.Y., Çiftçi, A. (2005). Seroprevalence of Brucella canis Infection of Dogs in Two Provinces in Turkey. *T J Vet Anim Sci.* **29**:779-783
2. Aydın, N., Akan, M., Sareyyüpoğlu, B., Tel, O.Y. (2004). Penetration of Bacterial Pathogens Through the Eggshell. WPC 2004. XXII nd World's Poultry Congress. İstanbul, Turkey

3. Akan, M., Öncel, T., Sareyyüpoğlu, B., Hazıroğlu, R., Tel, O.Y., Cantekin, Z. (2004). Vaccination Studies of Lambs against experimental Pasteurella (Manheimia) haemolytica infection. 23 rd World Buiatrics Congress. Quebec, Canada
4. Akan, M, Tel, O.Y, Sareyyüpoğlu, B. (2003). Avian influenza. Veteriner Tavukçuluk Derneği. Mektup. Ankara
5. Keskin, O., Tel, O.Y. (2003). Şanlıurfa Yöresinde Sığır Brusellozisinin Seroprevalansı. *Vet. Hek. Mikrob. Derg.* **1-2**:39-44
6. Keskin, O., Tel, O.Y. (2003). Sığır Sütlerinde ELISA ile Brucellozis prevalansının saptanması. *Vet. Hek. Mikrob. Derg.* **1-2**:31-34
7. Keskin, O., Tel, O. Y., Çimtay, İ., Yıldız, A. (2003). Şanlıurfa yöresinde koyun ve keçi Brusellozisinin Seroprevalansı. *Vet. Hek. Mikrob. Derg.* **1-2**:35-38.
8. Akan, M., Tel, O.Y., İça, T., Sareyyüpoğlu, B., Cantekin, Z., Çiftçi, A. (2005). Serodiagnosis of avian pneumovirus infections in chickens by ELISA. 14. Dünya Veteriner Tavukçuluk Kongresi. İstanbul.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Katıldığı Seminerler ve Kongreler

1. Broiler Damızlık Kuluçka-Broiler semineri 2. 16-17 Haziran 2005 Ankara.
2. VI. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı). 14-16 Eylül 2004. Elazığ.
3. 14. Dünya Veteriner Tavukçuluk Kongresi. 25-26 Ağustos 2005. İstanbul.