

MONOFAZİK MAYALAR

- *Bir kısmı normal flora üyesi
- *Fırsatçı patojen
- *Endojen infeksiyon oluşturma oranları yüksek
- *Hormon dengesizliği, immunsupressif ilaç kullanımı, uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, gebelik, AIDS, transplantasyon.
- *Katater infeksiyonları.

Immun sistemi baskılanmış hastalar hariç , etken kabul edilmeleri için farklı zamanlarda birden fazla örnekten ya da aynı anda farklı örneklerden izole edilmeliler.

GENEL ÖZELLİKLER

- * Tek hücreli ve ökaryotlar.
 - Preparatta yuvarlak, oval bazen uzun-düzensiz.
- * Tomurcuklanarak çoğalma (blastokonidia).
 - Yavru hücre, ana hücre büyüklüğüne erişince ana hücreden ayrılır.
 - Bu ayrılma olmaksızın hücreler uç uca geldiğinde yalancı hif (pseudohif) oluşur

- * **Özel koşullarda gerçek hif oluşabilir.**
- * **Kültürde nemli, krem kıvamında tüysüz koloni oluştururlar, kapsül oluşturanlar**
→ **mukoid koloni**
- **Koloniler açık renkli veya melanin nedeniyle koyu renkli**
(siyah veya kırmızı-pembe)

DEUTEROMYCETES (FUNGI IMPERFECTI)

Cryptococcaceae

- 1. Candida**
- 2. Cryptococcus**
- 3. Trichosporon**
- 4. Torulopsis**
- 5. Rhodotorula**
- 6. Saccharomyces**
- 7. Hansenula**
- 8. Pichia**
- 9. Malassezia**

DİREKT TANI

- Gram yöntemi
- % 10-30 KOH
- Kalkoflor beyazı → fluoresan mikroskopu
Tüm örneklerle uygulanabilir.
- Kapsül tanısı için çini mürekkebi (negatif boyama)
- İdrar, BOS ve diğer vücut sıvıları → santrifüj

Candida albicans

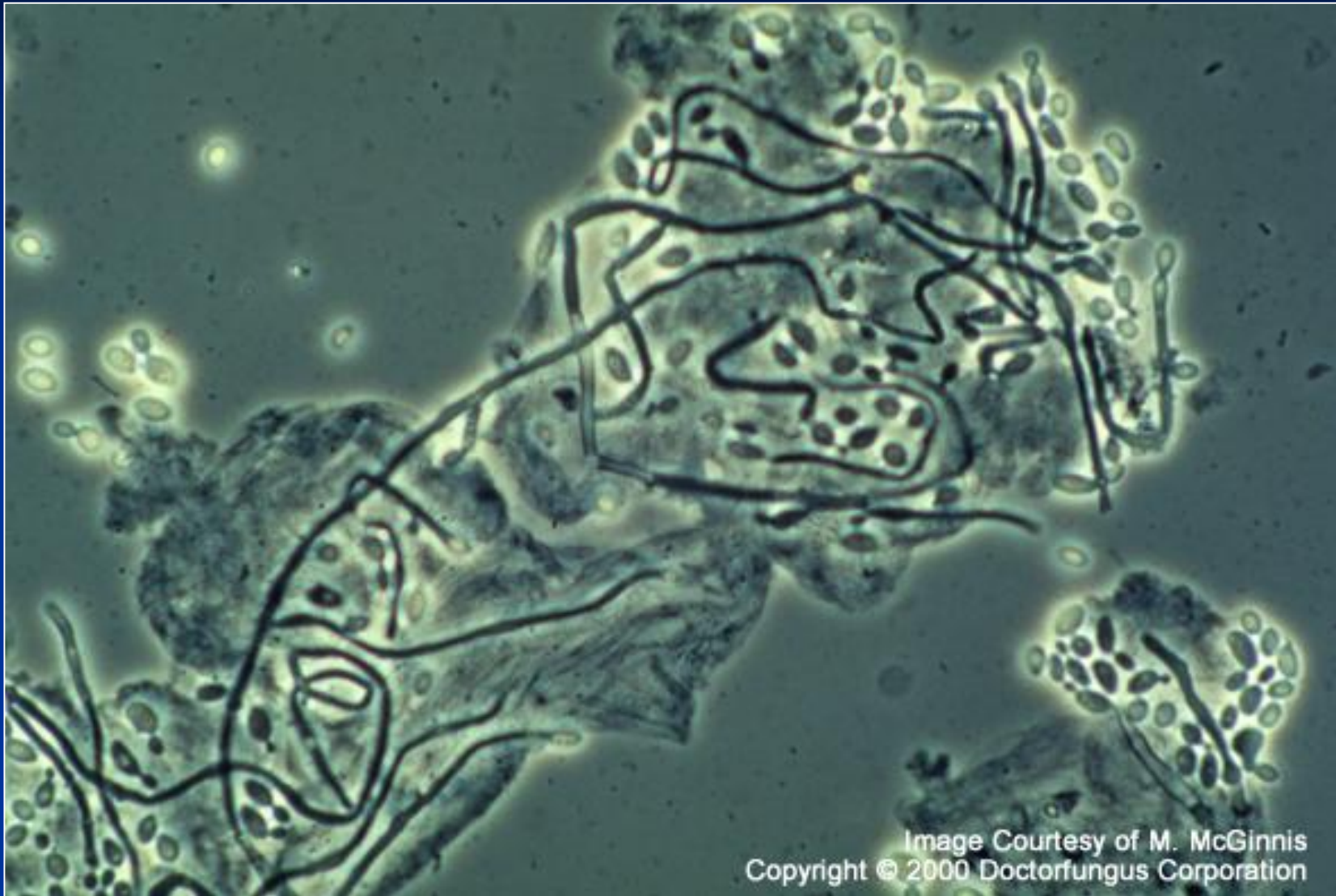


Image Courtesy of M. McGinnis
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

MİKROSKOBİK İNCELEME

Klinik örnekten izole edilen/besiyerinde üreyen kolonilerden lam-lamel arası preparat hazırlanarak,

- **Mayaların büyüklüğü ve biçimi**
- **Tomurcukların ana hücre ile bağlantısı**
- **Kapsül varlığı**
- **Hücre duvarının kalınlığı**
- **Yalancı hif oluşturma**
- **Arthrokonidia oluşturma**

- * Aynı preparata çini mürekkebi ekleyerek kapsül araştırılabilir. Maya hücrelerinin etrafındaki şeffaf kısım mukopolisakkarit yapısındaki kapsüldür.
- * Kapsül varlığı kesin C.neoformans tanısı koydurmaz,
Diğer Cryptococcus türleri
Rhodotorula
Nadiren C.glabrata kapsül oluşturabilir.

PRATİKTE

Pigmentsiz, yuvarlak, kapsüllü ve BOS'dan izole edilen mayalar, başka tür olmadığı kanıtlanana kadar Cryptococcus olarak kabul edilir.

MORFOLOJİ VE ÜREME

Bazı türlerde erken, bazı türlerde kültür yaşlandıkça pigment oluşumu gözlenir.

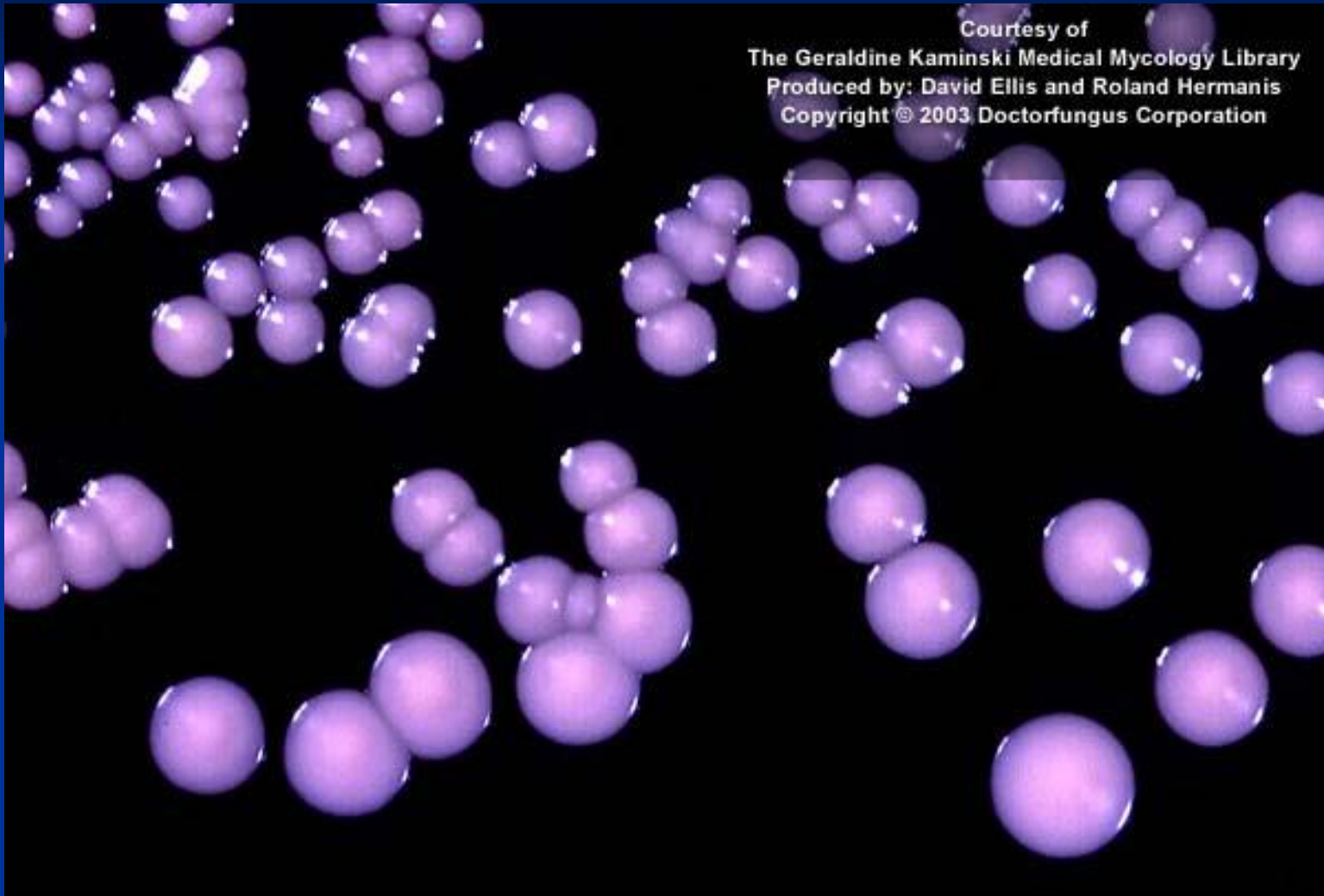
- **Kapsüllü türler mukoid tipte koloni oluşturur.**
- **37 °C'de üreme önemli bir virulans faktörü.**
- **Patojenlerin çoğu 25-37 °C'de ürer.**
- **Saprofitler yüksek ısıda üremezler.**
- **Sikloheksimit → saprofit küflerin üremesini engellemek için besiyerine ilave edilir**
- **C.albicans → ürer** **C.neoformans → üremez**

Candida albicans



Image Courtesy of L. Ajello
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

Candida albicans



BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER VE İDENTİFİKASYON

1.Germ tüpü deneyi

C.albicans tanısında kullanılan en basit deneylerden biridir.

0.5 ml serum + maya hücreleri süspanse edilir

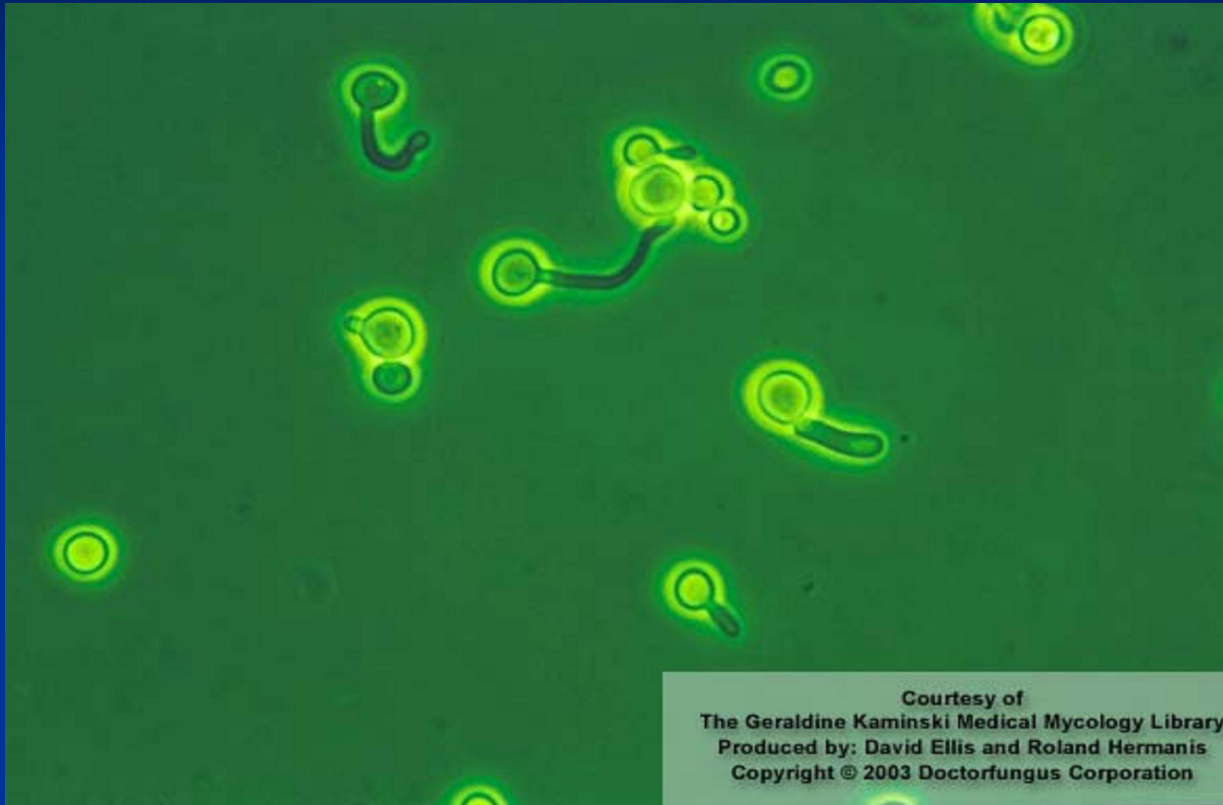


37 °C'de / 2 saat

Hazırlanan lam-lamel arası preparasyonda ana hücreden çıkan kısa çimlenme borusu → germ tüpü



C.albicans /C.dublinsiensis lehine bulgu



2. Katı besiyerinde klamidospor, arthrospor, blastospor, yalancı/gerçek hif yapılarının incelenmesi

**Tween 80 katkılı Mısır Unlu Jeloz (MUJ) besiyeri
Besiyerine çizgi ekim yapılarak , üzerine lamel
kapatılır**



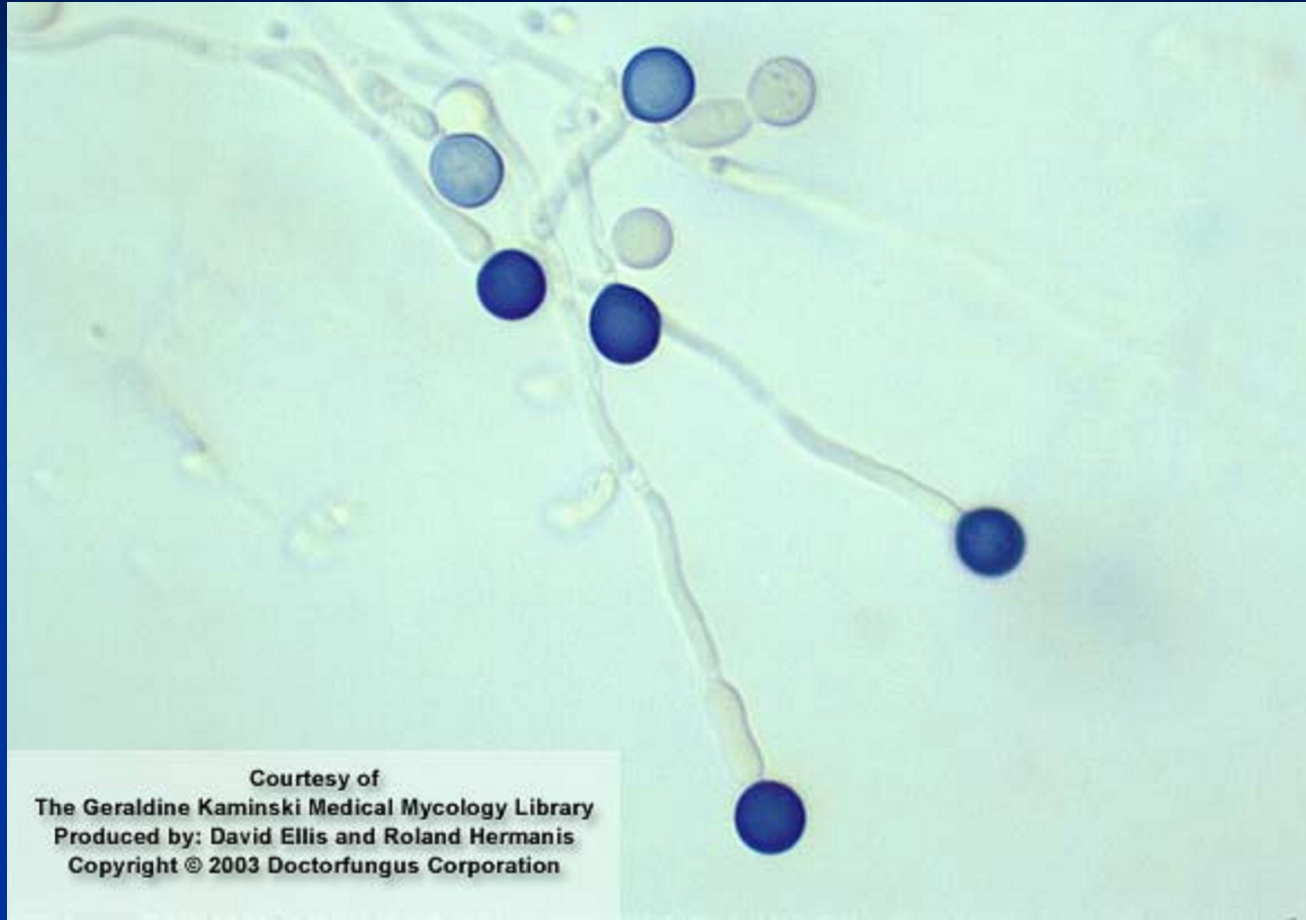
**37 °C'de 1 gece, oda ısısında 48-72 saat
Kuru sistem objektifi ile inceleme
Kalın duvarlı terminal klamidosporlar**



C.albicans / C.dubliniensis



Image Courtesy of M. McGinnis
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation



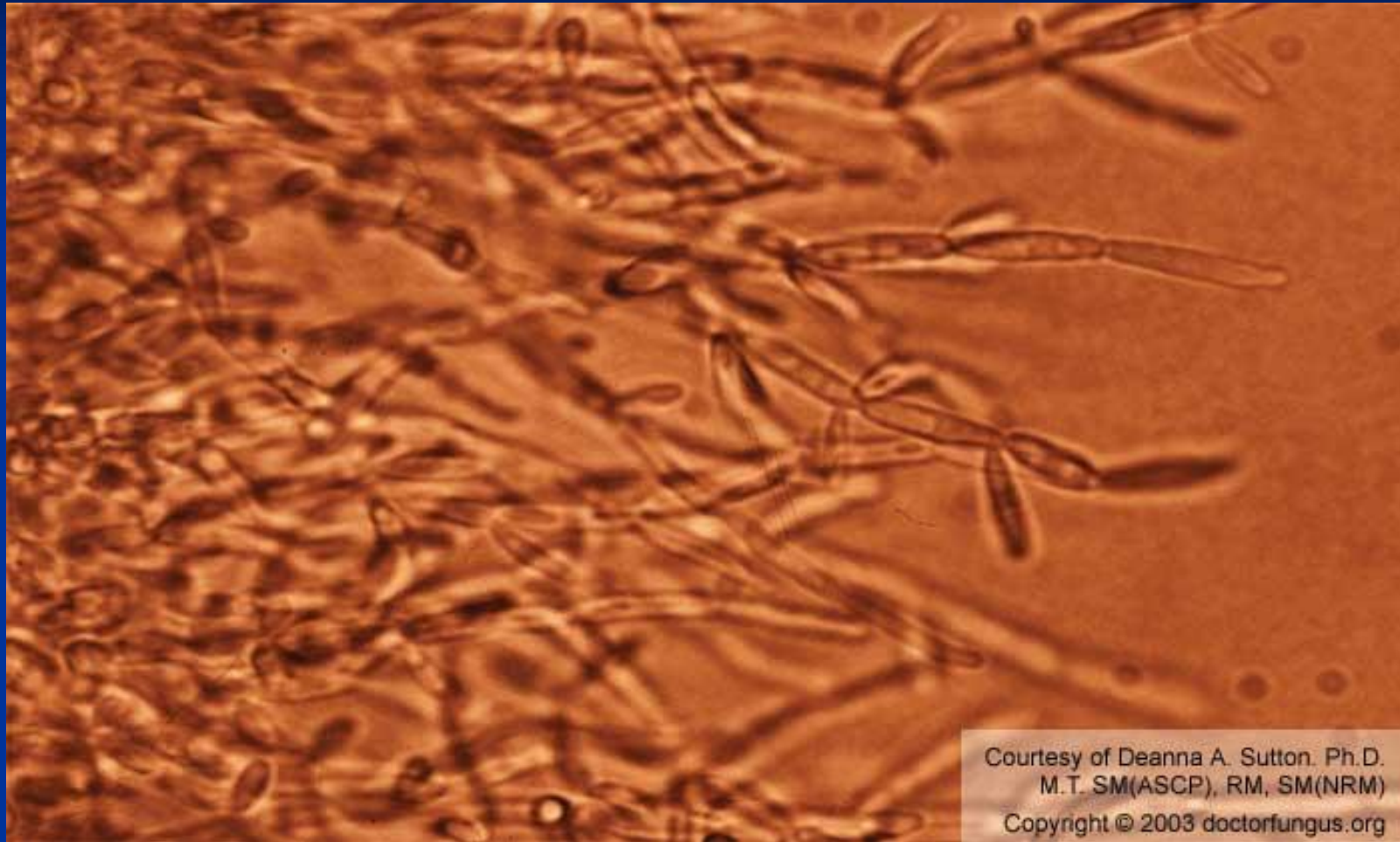
Courtesy of
The Geraldine Kaminski Medical Mycology Library
Produced by: David Ellis and Roland Hermanis
Copyright © 2003 Doctorfungus Corporation

Candida krusei



Courtesy of Deanna A. Sutton, Ph.D.
M.T. SM(ASCP), RM, SM(NRM)
Copyright © 2003 doctorfungus.org

Candida parapsilosis



Courtesy of Deanna A. Sutton, Ph.D.
M.T. SM(ASCP), RM, SM(NRM)
Copyright © 2003 doctorfungus.org

C.albicans / C.dublinsiensis

C.albicans

42-45 °C'de üreme (+)

Ksiloz kullanımı (+)

Alfa-metil-D-glukozid kullanımı (+)

C.dublinsiensis

Bu özellikler negatif

Staib besiyerinde R tipi koloni

3. Karbonhidrat asimilasyonu

Tür düzeyinde tanımlama için gerekli.

Mayaların oksijen varlığında spesifik bir karbonhidratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilme yeteneği.

Klasik yöntem Wickerman-Burton

4. Karbonhidrat fermentasyonu

Karbonhidrat içeren besiyerlerinde fermentasyon özelliklerinin incelenmesi.

K.h. → enzim yardımıyla fermente edilerek parçalanır



Asit ve gaz oluşumu

5.Üreaz enzim aktivitesi

Cryptococcus, Trichosporon, Rhodotorula

6.Fenol oksidaz

Kafeik asit varlığında fenol oksidaz oluşturma yeteneğinin araştırılması.

C.neoformans → pozitif

Bu amaçla kuş tohumlu agar (staib besiyeri) kullanılır

C.neoformans 2-5 günde koyu kahverengi pigment oluşturur.

7.Nitrat asimilasyon testi

Tek nitrojen kaynağı olarak nitratı kullanma yeteneği

Sınıflandırmadaki yeri kesin belli olmayan siyah mayalar,

Kazein hidrolizi

Tirozin hidrolizi

NaNO₃ redüksiyonu

Maksimum üreme hızı

CANDIDA CİNSİ

- İlk kez 1839'da pamukcuk etkeni olarak izole edildi.
- Uygun koşullarda hastalık oluşturma yeteneğinde.
- En sık izole edilen tür **C.albicans**

C.tropicalis

C. lusitania

C.glabrata

C.dublinsiensis

C.guillermundii

C.krusei

C.kefyr

C.parapsilosis

- Tomurcuklanarak çoğalır
- Gram pozitif
- Hücre duvarında glikoz, mannoz, az miktarda protein, lipid ve kitin var
- pH 4.5-5
- Uygun üreme ısısı 20-30 °C
- Bazıları 37 °C ve üzerinde
- Tür tanısında



Yalancı hif, germ tüpü, klamidospore oluşumu,
fermentasyon, asimilasyon

C.albicans/*C.dubliniensis* → ek deneyler



VİRULANS FAKTÖRLERİ

1.Konak epitel ve endotel hücrelerine adezyon

Birden fazla adezin bağlanma mekanizmaları rol oynar

- * Lektin benzeri hücre yüzey proteinleri
- * Hücre dışındaki matriks proteinlerine yapışmayı sağlayan yüzey integrin benzeri moleküller, fibrinojen, fibronektin, kompleman reseptörleri
- * Mannan

2.Germ tüp oluşturma

Candidaların hif şekli maya şekline göre dokuya 50 kat fazla yapışma özelliği gösteriyor ve fagositler tarafından sindirilemiyor.

3.Salgısal aspartik proteinaz

- * **Candidaların maya formundan hif formuna geçişinde ve fenotipik değişimde rol oynayan en önemli virulans faktörü**
- * **Özgül olmayan mukoza savunmasında rol oynayan laktoferrin ,laktoperoksidaz ve müsin gibi bazı proteinlerin parçalanmasında rol oynuyor**
- * **Candida vaginitinin patogeneğinde önemli bir virulans faktörü**

Fosfolipaz → patojen Candida türleri tarafından üretiliyor

Fosfolipaz B → virulansda önemli

4. Toksinler

Endotoksin benzeri

- * Yüksek molekül ağırlıklı**
- * Düşük molekül ağırlıklı**

5.Fenotip değişimi

Koloni morfolojisi

6.Hücre duvarı ve yüzey değişimi

Mannoproteininin immunomodülatör etkisi var. HücreSEL immun yanıtı artırır ya da baskılar ve infeksiyonun sürekliliğini sağlar.

7.Hidrofobisite C.albicans'ın plastik yüzeylere ve epitel hücrelerine bağlanma yeteneğiyle uyumlu.

Güçlü hidrofobisite = Güçlü bağlanma

CRYPTOCOCCUS CİNSİ

- İnsanda patojen olan tek tür **C.neoformans**
- Diğer türler immun yetmezliklilerde nadiren etken
- Yuvarlak veya oval, büyük
- Tek tomurcuklu ve ana-yavru hücre arasında bir boyun bölgesi var.
- Mukopolisakkarit kapsül tipik ve tanıda önemli (çini mürekkebi)
- Kapsül nedeniyle mukoid koloni oluştururlar.Koloniler zamanla kurur ve donuklaşır.
- Tüm türlerde **üreaz** enzim aktivitesi **pozitif**.
- Sikloheksimite duyarlılar.

Cryptococcus neoformans

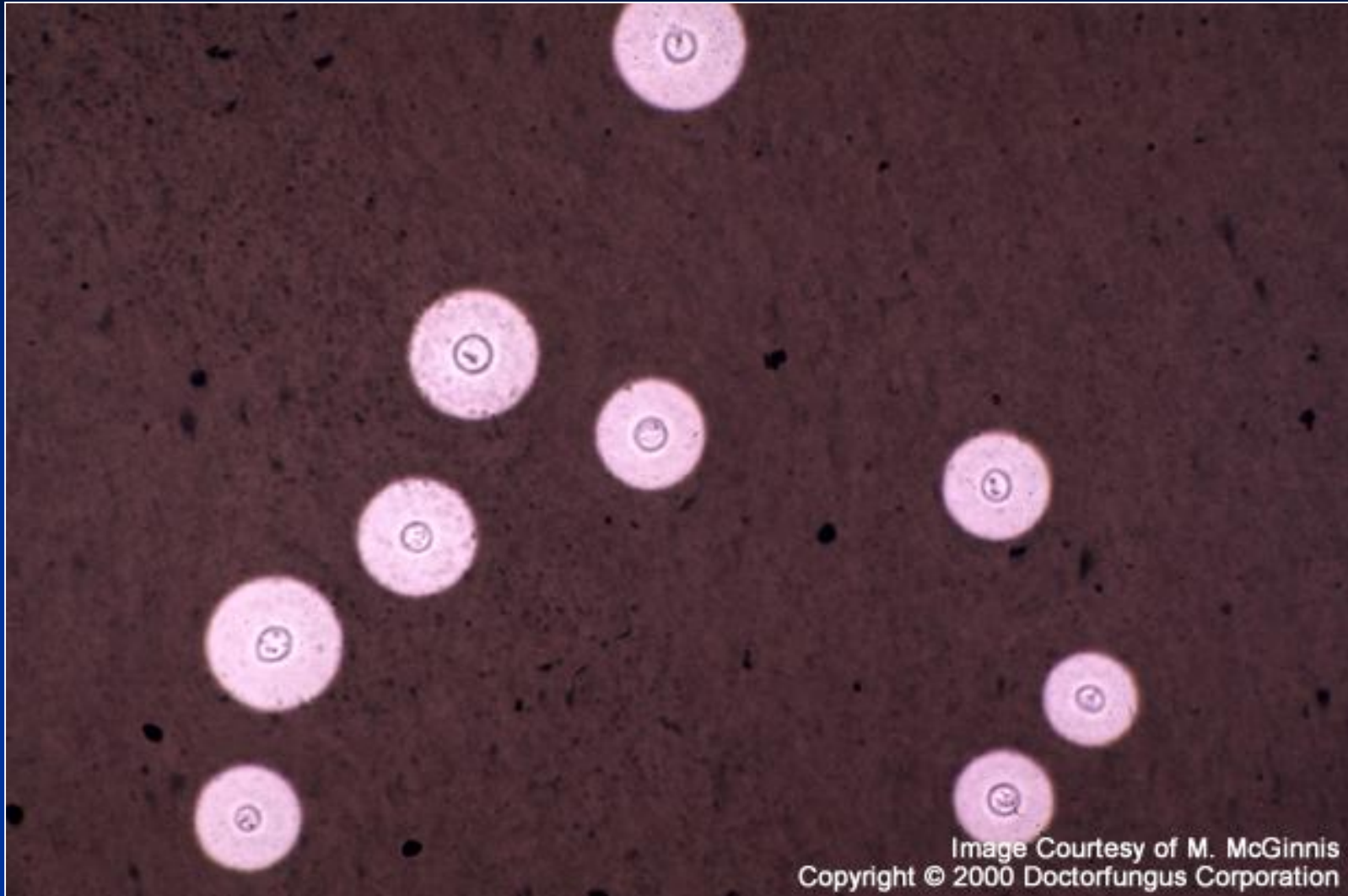


Cryptococcus neoformans

Courtesy of
The Geraldine Kaminski Medical Mycology Library
Produced by: David Ellis and Roland Hermanis
Copyright © 2003 Doctorfungus Corporation



Cryptococcus neoformans



Cryptococcus neoformans

Courtesy of
The Geraldine Kaminski Medical Mycology Library
Produced by: David Ellis and Roland Hermanis
Copyright © 2003 Doctorfungus Corporation



Cryptococcus neoformans

Courtesy of
The Geraldine Kaminski Medical Mycology Library
Produced by: David Ellis and Roland Hermanis
Copyright © 2003 Doctorfungus Corporation



BOS'dan direkt boyama (çini mürekkebi)

A-B-C-D olmak üzere 4 serotipi var.

A ve D → C.neoformans var neoformans

Tüm dünyada en sık izole edilen tür

B ve C → C.neoformans var gattii

Okalıptus ağaçlarının bulunduğu yerlerde ↑

Serotip A → Japonya,Avustralya,tropik-subtropik iklim

Serotip C → Çoğu Güney Kalifornia

- İlk kez 19.yy da Sarfelize → seftali suyundan izole etti
- Güvercin ve diğer kuşların eski dışkılarının bulunduğu ortamlar kaynak oluşturur. Bu nedenle pencere çıkıntıları,boş binalar,tünek yerlerinden sıklıkla izole edilir.

TÜR TANISINDA,

Karbonhidrat asimilasyonu ve KNO_3 testi

Diğer Cryptococcus'lardan farklı olarak *C.neoformans*

37 °C'de ürer.

Fontana Masson boyası ile → Hücre duvarındaki melanin belirlenir

Cryptococcus cinsi → MUJ'da yalancı hif oluşturmaz

(Candida ve Trichosporon cinsinden farkı)

Glikozdan asit oluşturmaz → *C.glabrata*'dan fark

Üreaz enzimi pozitif → *C.glabrata*'dan fark

- **Kolonilerinin oluşması için 1 hafta gerek**
- **37 °C en uygun**
- **Sikloheksimite duyarlı**
- **Kuş tohumlu agar (Staib) besiyerinde siyah-kahverengi koloni oluşumu**
- **En iyi kapsül Tween 80 ilaveli MUJ'da oluşur**
- **BOS'da bazı suşlar kapsül oluşturamayabilir**
- **Meyer mucicarmin → tam gelişmemiş kapsül şeklini belirlemede kullanılır.**

En önemli virulans faktörleri

Kapsül polisakkaridi

Fenol oksidaz

37 °C'de üreme

BAL, balgam, kan, BOS, idrar, prostat salgısı



Çini mürekkebi



Yuvarlak veya oval, tomurcuklanan kapsüllü



C.neoformans aranır

**BOS'da latex agg. veya ELISA ile kapsül antijeni aranması
en güvenilir yöntem !**

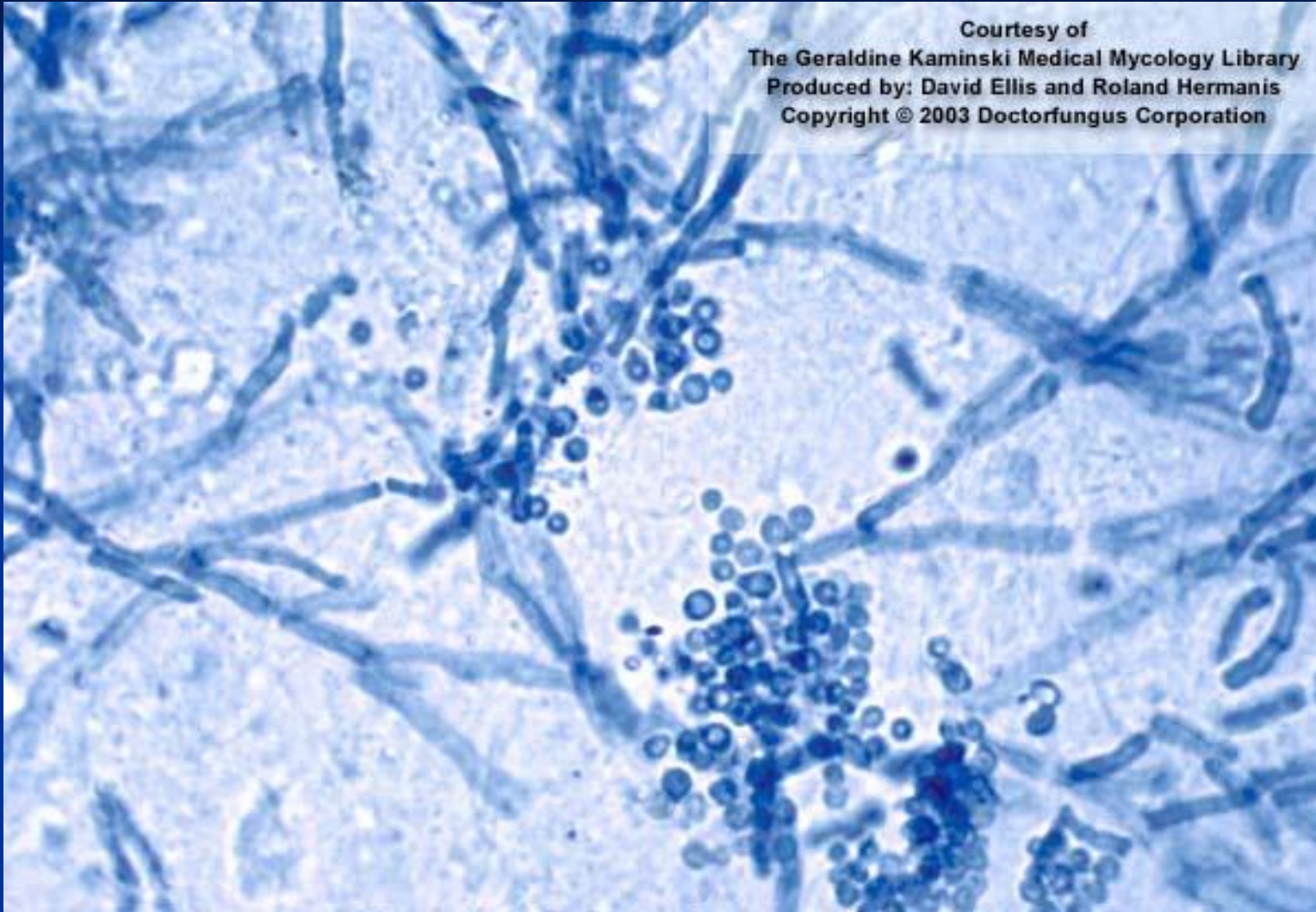
MALASSEZIA CİNSİ

- ***M.furfur** Pitriyazis versikolor etkeni
- ***Immun sistemi baskılanmış hastalarda katater ile bulaşma sonucu fungemi oluşturabiliyor**
- ***Normal deri florasında**
- ***Mikroskopta bal peteği görünümü tanı koydurucu**
- ***Zorunlu lipofilik.Besiyerine zeytin yağı eklenmeli**
M. pachydermatis zorunlu lipofilik olmayan tek tür
Tanı mikroskopik inceleme ile

Malassezia furfur



Malassezia furfur



RHODOTORULA CİNSİ

- **Nemli derinin normal florasında**
- **Çevrede, duş perdeleri, banyo suyu birikintisi, diş fırçalarından izolasyon bildirilmiş**
- **İmmun sistemi baskılanmışlarda fungemi, menenjit, sistemik infeksiyon**
- **Çoklu ve yandan tomurcuklu, kapsül oluşturabilen, üreaz enzimi pozitif ve karbonhidrat fermentasyonu negatif**
- **Görülebilir karotenoid pigmenti var.**

Rhodotorula glutinis



Image Courtesy of M. McGinnis
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

TRICHOSPORON CİNSİ

- * **Trichosporon asahii ve T.beigelii iki önemli tür**
- * **T. beigelii ak piedra etkeni**
- * **Blastospor, gerçek hif, arthrospor oluşturuyor**
- * **Genç koloniler muntazam, sonraları beyin kıvrımlarını andıran kuru görünümlü koloniler oluştururlar**

Trichosporon beigelii



Trichosporon beigelii



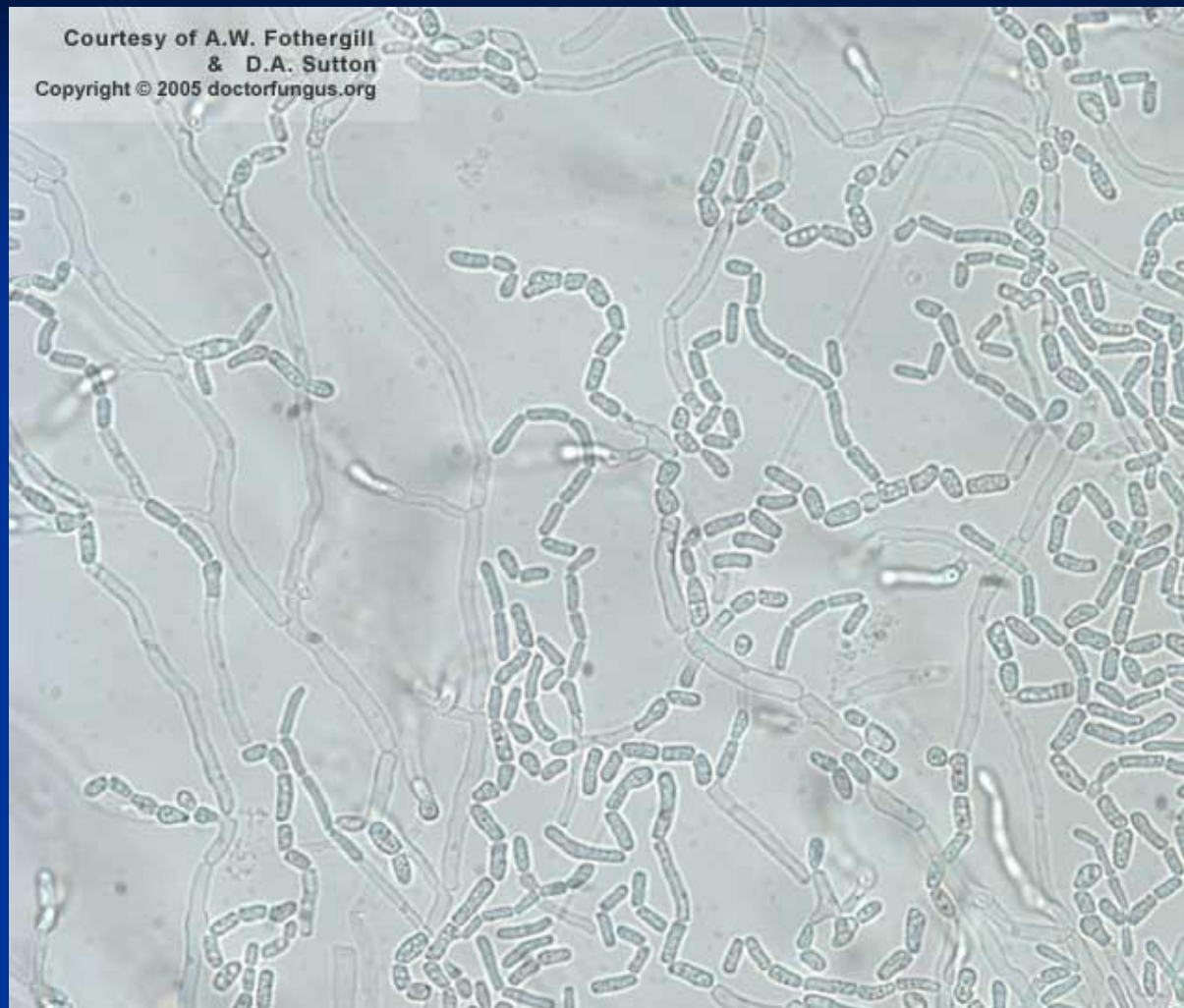
Image Courtesy of W. Schell
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

Trichosporon asahii



Courtesy of Deanna A. Sutton, Ph.D.
M.T. SM(ASCP), RM, SM(NRM)
Copyright © 2003 doctorfungus.org

Trichosporon asahii



MAYA BENZERİ ORGANİZMALAR

Geotrichum → Nadiren kısa, havasal hifler

oluşturur. Arthrospor oluşumu tipiktir.

Ustilago → Bitkilerde zararlı. Solunum yoluyla insana bulaşabiliyor.

Siyah mayalar → sınıflandırmadaki yeri belli değil

Aureobasidium pullulans

Feohifomikoz etkenleri

İlk izolasyonda beyaz, ten rengi mayamsı koloniler

Geotrichum candidum



Courtesy of
The Geraldine Kaminski Medical Mycology Library
Produced by: David Ellis and Roland Hermanis
Copyright © 2003 Doctorfungus Corporation

Geotrichum candidum



Prototheca → **P.wickerhamii** ile insan

P.zopfii ile hayvan infeksiyonları bildirilmiş

- **Alg**
- **Beyaz, krem renğinde mukoid koloni**
- **Optimum üreme sıcaklığı 30°C**
- **Sikloheksimide duyarlı**
- **Değişik büyüklük ve biçimde tomurcuksuz hücreler**