

# Onikomikozlu Hastalarda Serum İnhibitör Faktör Değerlendirilmesi<sup>¶</sup>

## EVALUATION OF SERUM INHIBITOR FACTOR IN PATIENTS WITH ONYCHOMYCOSIS

Tamer İrfan KAYA\*, Yavuz PEKSARI\*\*, Erbak GÜRGEY\*\*\*

\* Yrd.Doç.Dr., Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji AD, MERSİN

\*\* Yrd.Doç.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji AD,

\*\*\*Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji AD, ANKARA

### Özet

Serumun in vitro ortamda dermatofitlerin üremelerini inhibe ettiği oldukça uzun yıllar önce gösterilmiş ve serumda dermatofitleri inhibe eden aktiviteden sorumlu maddelere serum inhibitör faktör (SIF) ismi verilmiştir. Kronik ve inatçı dermatofitozlu hastalara en iyi örneği teşkil eden onikomikozlu hasta popülasyonunda günümüze kadar SIF hiç araştırılmamıştır. Bundan dolayı çalışmamızda bu hastalarda SIF araştırmayı planladık.

Dermatofit olarak onikomikozlu bir hastadan elde ettiğimiz Trichophyton mentagrophytes suşunu kullandık. 30 onikomikozlu hastanın serumlarının ilave edildiği kültürlerde meydana gelen üremeleri, kontrol grubu olarak aldığımız %0.09 NaCl ilave edilmiş kültürlerde meydana gelen üremeler ile karşılaştırdık.

Hasta serumları ile hazırlanan kültürlerde meydana gelen üremelerin 10. gündeki koloni çaplarını kontrolleri ile karşılaştırdığımızda onikomikozlu hasta serumlarında SIF aktivitesi tespit etmedik. Ayrıca bu kültürlerdeki kolonilerde portakalrengi-kahverengi bir pigmentasyon oluşurken kontrol kültürlerinde normal Trichophyton mentagrophytes kolonileri geliştiğini gözledik.

SIF aktivitesi yokluğu ve beraberinde kültürlerdeki kolonilerde pigmentasyon oluşumu daha önce literatürde hiç bildirilmemiştir. Elde ettiğimiz bulguları literatür bilgileri ışığında yorumladık.

**Anahtar Kelimeler:** Serum inhibitör faktör, Onikomikoz, Transferrin

T Klin Dermatoloji 2001, 11:126-132

### Summary

In vitro inhibition of dermatophytes by serum was described years ago and factors that are responsible for this inhibition were named as serum inhibitor factor (SIF). Onychomycosis is the one of the most chronic and persistent fungal infections. SIF activity has never been studied in the sera of onychomycosis patients.

In this study we investigated the SIF activity in 30 onychomycosis patients by using a Trichophyton mentagrophytes isolate. We prepared Sabouraud media with patients' sera and we added %0.9 NaCl instead of serum into the control media. We compare the diameters of Trichophyton mentagrophytes colonies 10 days after inoculation.

We did not determine SIF activity in onychomycosis patients' sera. We observed an orange-brown coloured pigmentation of colonies in the media which we prepared with sera while in the media which were prepared with %0.9 NaCl, there was not such a pigmentation. These findings have not been mentioned in the literature before. We discuss these findings in the view of the literature.

**Key Words:** Serum inhibitor factor, Onychomycosis, Transferrin

T Klin J Dermatol 2001, 11:126-132

**Geliş Tarihi:** 14.02.2001

**Yazışma Adresi:** Dr.Tamer İrfan KAYA  
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Hastanesi  
Dermatoloji AD, 33070, MERSİN

<sup>¶</sup>Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji AD, Mikoloji Laboratuvarında yapılmıştır. 17. Ulusal Dermatoloji Kongresinde serbest bildirilerde sözel bildiri olarak sunulmuştur.

Dermatofitler keratinize dokulara yerleştikleri için "keratinofilik funguslar" olarak isimlendirilirler. Ama yapılan in vitro çalışmalarda keratinin dermatofitler için ideal bir üreme ortamı olmadığı gösterilmiştir (1-4). Serumda bulunan ve serum inhibitör faktör (SIF) ismi verilen bir takım maddelerin, dermatofitlerin serumun ulaştığı dokuları

invaze etmelerini önleyici bir aktiviteye sahip oldukları gösterilmiş ve bu sayede dermatofitleri keratinize dokularda sınırlandırdıkları öne sürülmüş, bu konuda çok sayıda araştırma yapılmıştır (3). Henüz aydınlatılmayan çok sayıda parametre olmasına rağmen son 10 yılda bu konu oldukça ihmal edilmiştir.

Kronik ve inatçı fungal enfeksiyonlu hastalara en iyi örneği teşkil eden onikomikozlu hastalarda SIF tayinine yönelik bir çalışma şimdiki kadar yapılmamıştır. Biz de çalışmamızda dermatofit enfeksiyonlarına yatkınlıkları olduğu düşünülen bu hasta popülasyonunda, SIF olup olmadığını ve eğer varsa bunun serumdaki ansature TF ile korelasyonunun olup olmadığını tespit etmeyi amaçladık.

### Materyel ve Metod

Çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı Polikliniği'ne başvuran 30 onikomikoz hastası ile Dermatoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı'nda yapıldı. Klinik olarak ayak tırnaklarında tinea unguium belirtileri olan hastalardan nativ preparatı müsbet olanlar çalışmaya kabul edildi. Bilinen immun yetmezlik durumu olanlar, antifungal ve immunosupresif ilaç kullanma hikayesi olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Olguların yaşları, cinsiyetleri, hastalığın klinik tipi, eşlik eden tinea pedis varsa klinik tipi, eşlik eden diğer dermatofit enfeksiyonları, kaç tırnakta enfeksiyon olduğu sorgulandı ve klinik olarak değerlendirildi.

Taze alınmış tırnak materyalleri lam lamel arasında %20'lik KOH solüsyonu içinde nemli ortamda 30-60 dakika bekletildikten sonra ışık mikroskopunda değerlendirildi. Kültür için materyaller eğik olarak dondurulmuş kloramfenikollü Sabourad besiyerine ekildi. Üreme olup olmadığını değerlendirmek için besiyerleri en az 3 hafta oda sıcaklığında bekletilip gözlendi. Üreme olan besiyerlerindeki koloniler makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirilerek üreyen dermatofitin tür tayini yapıldı.

### SIF Tayini

SIF tayini için Erbakan ve ark'ın çalışmalarında kullandıkları metod kullanıldı (5).

Soyuer ve ark, çalışmalarında Erbakan ve ark'ın çalışmasından farklı olarak kültürleri kloramfenikol eklemişler, kontrol olarak inaktive dana serumlu besiyeri hazırlamışlar ve değerlendirmeleri 5. günde yapmışlardı (6). Erbakan ve ark'ın çalışmalarından farklı olarak, çalışmamızda biz de kültürlerimize Soyuer ve ark gibi bakteriyel kontaminasyonu engellemek için kloramfenikol ekledik. SIF tayini için olgulardan 10cc venöz kan alınıp Bilser laboratuvar santrifüjünde 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumu ayrıldı.

**Besiyerinin Hazırlanması:** Mycological Agar (Difco Laboratories) besiyeri tozundan, 1 litre suya 35 gram katılarak, elde edilen süspansiyon kaynatılarak çözündürüldü. Daha sonra besiyerine %0.15 oranında kloramfenikol (Kemicetine) ilave edilip karıştırıldı. Elde edilen solüsyondan besiyeri tüplerine 8'er cc solüsyon konulup, otoklavda 124 °C'de 15 dakika sterilize edilip, dondurularak buzdolabında muhafaza edildi.

Kullanılacak besiyeri tüpleri etüvde eritilip 10 santimetre çaplı steril petri kutularına döküldü ve donmaya başlamadan hemen önce, aynı gün elde edilen 2 cc hasta serumu ile karıştırılıp donması beklendi. Daha sonra yine onikomikozlu bir olgudan, çalışmadan 1 ay kadar önce elde edilen *Trichophyton mentagrophytes* (TM) suşu, oda sıcaklığında Sabourad besiyerinde 1 ay kadar saklandıktan sonra, çalışma ile birlikte laboratuvarında 15 günde bir pasajı yapılarak saklandı. Bu TM suşundan petri kutularınının tam ortalarına noktasal ekimler yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri oda sıcaklığında 10 gün bekletildi ve üreyen kolonin çapı birbirine dik iki ekseninde milimetrik olarak ölçüldü. Bu iki çapın aritmetik ortalamasının verdiği değer SIF'ü değerlendirmede kullanıldı. Kontrol besiyeri olarak hasta serumu yerine, 2 cc %0.9 NaCl solüsyonu ilave edilmiş besiyerleri hazırlandı. Her hasta serumu ile hazırlanan besiyeri ile, bir adet kontrol besiyeri hazırlandı. Bu 2 besiyeri aynı anda, aynı şekilde hazırlandı, aynı ortam ve koşullarda bekletilip, aynı şekilde değerlendirildi.

**Serum demir bağlama kapasitesi (SDBK), serum demir (Fe) ve hemoglobin (Hb) değerlerinin ölçümleri**

SDBK ve Fe değerleri Premiere Plus

**Tablo 1.** Çalışmadaki değişkenlere ait tanımlayıcı bilgiler

	Ortalama	Standart sapma	Minimum	Maksimum	n
Hasta Serumu*	32.63	6.64	17.00	45.00	30
Kontrol*	27.77	5.76	16.00	40.00	30
Hb	13.91	2.10	5.70	16.10	30
Fe	85.00	38.03	14.00	168.00	30
SDBK	402.00	82.54	247.00	580.00	30
Yaş	51.60	11.38	29.00	70.00	30

\*Hasta serumu ve NaCl ile hazırlanan kültürlerdeki kolonilerin 10. gündeki çaplarının milimetrik değerleri

(Stanbio™) cihazı, Hb değerleri Coulter STKS (Coulter Electronics) cihazı kullanılarak tespit edildi.

### İstatistiksel Değerlendirmeler

Hasta serumları ile hazırlanan kültürler, kendileri ile aynı koşullarda ve aynı şekilde hazırlanan %0.09 NaCl'li kontrol kültürleri ile karşılaştırıldı. Koloni üreme çapları arasındaki farklar "Eşleştirilmiş t Testi" ile değerlendirildi. Ayrıca hasta serumu ile hazırlanan kültürlerdeki koloni üreme çapları ile SDBK, serum demir değerleri ve hastanın hemogloblin değerleri arasındaki ilişki Pearson korelasyon katsayısı hesaplanarak yorumlandı.

### Bulgular

Çalışmaya katılan 30 hastanın yaşları 29-70 arasında değişmekteydi, yaş ortalamaları 51.6 olarak tespit edildi. Hastalardan 19'u erkek, 11'i kadındı.

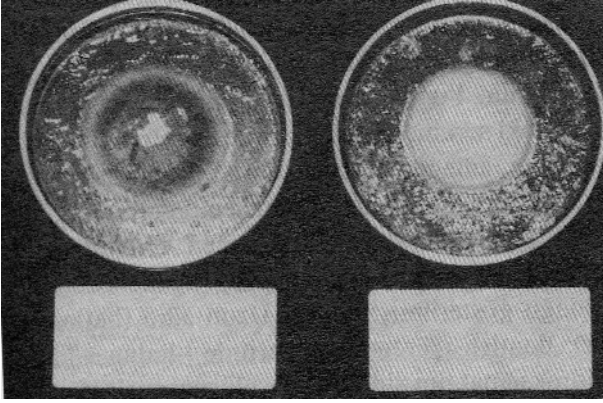
7 hastada *T. rubrum*, 3 hastada *T. mentagraphytes* olmak üzere toplam 10 hastanın (%33.3) kültürlerinde üreme oldu. Hastaların klinik olarak değerlendirilmelerinde 27 hastada distal subungual onikomikoz, 3 hastada ise yüzeysel beyaz onikomikoz saptandı. Kültürlerinde *T. rubrum* üreyen hastaların hepsinde distal subungual onikomikoz mevcutken, *T. mentagraphytes* üremesi olan 3 hastanın 2'sinde yüzeysel beyaz onikomikoz, birinde ise distal subungual onikomikoz mevcuttu. Hastalardaki enfekte tırnak sayısı ortalaması 6.1 olarak hesaplandı. Hastalar onikomikozla eşlik eden *tinea pedis* açısından değerlendirildiklerinde 13'ünde skuamöz-hiperkeratozik tip, 3'ünde intertriginöz tip, 1'inde vezikülöz

tip *tinea pedis* saptandı. 6 hastada skuamöz-hiperkeratozik ve intertriginöz tip *tinea pedis* birlikte mevcutken, 1 hastada skuamöz-hiperkeratozik tip *tinea pedis* ile *tinea inguinalis*, 1 hastada ise skuamöz-hiperkeratozik tip *tinea pedis* ile *tinea corporis* birlikteliği mevcuttu. Hastalarımızda onikomikozla klinik olarak *tinea pedis*in eşlik etme oranı %83.3 olarak tespit edildi. 5 hastada ise klinik olarak *tinea pedis* saptanmadı.

26 olguda hasta serumu ile hazırlanan kültürlerde kontrollerinden daha fazla üreme olduğu gözlemlendi. 3 olguda her iki kültürde eşit üreme olurken, bir olguda hasta serumu ilave edilen kültürde kontrolden daha fazla üreme meydana geldi. Kültürlerdeki üreme çapları değerlendirildiğinde, hasta serumu ile hazırlanan kültürlerdeki üreme çaplarının ortalama değeri 32.63 mm, %0.09 NaCl ile hazırlanan kültürlerdeki üreme çaplarının ortalama değeri ise 27.76 mm olarak tespit edildi (Tablo 1). Hasta serumu ve %0.09 NaCl ile hazırlanmış kültürlerdeki üremelerin çapları eşleştirilmiş t testi ile değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ( $p < 0.001$ ). Bu fark hasta serumu ile hazırlanan kültürlerde meydana gelen üremelerin çaplarının daha fazla olması yönündeydi.

Hasta serumları ile hazırlanan kültürlerdeki üremelerin çapları ile SDBK, serum demir ve Hb değerlerinin korelasyon katsayıları değerlendirildiğinde, üreme çapları ile SDBK, serum demir ve Hb değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Kültürlerde üreyen koloniler makroskopik olarak değerlendirildiklerinde hasta serumu ile hazırlanan kültürlerdeki *T. mentagraphytes* koloni-



**Şekil 1.** Hasta serumu ile hazırlanan kültür ve kontrolü (10. gün).

lerinin hepsinde portakal rengi-kahverengi bir pigmentasyon göze çarpmıştır, buna karşın kontrol kültürlerinde böyle bir pigmentasyona rastlanılmamıştır (Şekil 1).

### Tartışma

Konağın savunma mekanizmalarını hücrel ve humoral immuniteden oluşan akkiz immunité ve SIF'ün de dahil olduğu spesifik olmayan faktörlerden oluşan doğal immunité oluşturur. Dermatofitlere karşı mücadelede etkili olan akkiz immunité hücrel immunitedir. Geç tip aşırı duyarlılık gelişmesi sonucu meydana gelen ekzematöz reaksiyonun epidermal bariyeri bozması sonucu SIF, kompleman ve polimorfonükleer hücre sistemlerinin dermatofitlere ulaşp, onları elimine ettikleri düşünülmektedir (7).

Hayvan deneylerinde in vivo olarak dermatofitlerin intravenöz, intrapulmoner, intrakardiyak ve derin subkutan inokülasyonlarının sistemik enfeksiyon ve iç organ hastalığı oluşturmadığı gözlenmiştir (8,9). Buna karşın kobaylardan eksize edilen karaciğer, dalak, kas, böbrek gibi ke-ratinize olmayan dokularda, in vitro ortamda dermatofitlerin üreyebildiği gösterilmiştir (2). Bunun sebebinin SIF olduğu düşünülmektedir. Jessner ve Hoffman 1923'de serumun dermatofit üremesini inhibe edici etkisi olduğunu gösteren ilk çalışmayı yapmışlardır (10). Roth ve ark insan serumunun hem *Candida albicans*'ı hem de TM'yi inhibe ettiğini göstermişlerdir (11).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalara göre genel olarak SIF her serumda bulunur ve fungistatiktir. Isıya dayanıksızdır, ama 56 °C'de 4 saat stabil kalabilir. Bu bulgu bize kompleman, antikor sistemi ya da enzimatik sistemden olmadığını gösterir. Bunlara ek olarak elde edilen veriler SIF bileşenlerinin albumin, gamma globulin, Cohn fraksiyonları 2, 3 ve 4 olmadığını göstermiştir (3). Soyuer ve ark. ise anne kanı ve yenidoğan göbük kordundaki SIF değerlerini karşılaştırarak SIF'in plasentadan geçemediğini tespit etmişlerdir (6).

1975'de King ve ark SIF'in kesinlikle ansature TF olduğunu ve SIF değerlerinin serum demir bağlama kapasitesi ile korele olduğunu bildirmişlerdir (3). TF normalde deri yüzeyinde bulunmaz, bu yüzden ilk kolonizasyonun önlenmesi imkansızdır. Petrou ve ark. ise çalışmalarında SIF'ün %40 etkisinden TF, %30 etkisinden IgM'in sorumlu olduğunu bildirmişler. Geriye kalan %30 etkiden sorumlu maddeler tanımlanamamış ama bu maddelerinde IgM'e benzer özellikler gösterdikleri bildirilmiştir. Bu çalışmada plazma ve serum arasında inhibisyon farkı tespit edilmemiştir (4).

SIF'ün dermatofitozların patogeneziindeki rolü ve önemi tartışmalıdır (11-13). Erbakan ve ark. SIF değerleri ile klinik seyir ve prognoz arasında bir korelasyon olduğunu düşündüren bulgular elde etmişlerdir (5). Buna karşın bazı araştırmacılar SIF'in dermatofitozların ne immunolojisi ile ne de kliniği ile ilişkisinin bulunmadığı sonucuna vardıkları çalışmalar yapmışlardır (11,12,14).

Fungusların tırnakta yaptıkları enfeksiyonlara onikomikoz ismi verilir. Dermatofitlerin yaptığı onikomikoz ise tinea unguium ismi verilir. 1972 yılında Zaias onikomikozu 4 klinik tipe ayırmıştır (15). 1) Distal subungual onikomikoz: En sık görülen klinik tiptir, etkeni genellikle TR'dur. %99 oranında dermatofitlerce oluşturulur. 2) Beyaz Yüzeysel onikomikoz: Etkeni sıklıkla TM'dir ve direk olarak tırnak plağını enfekte eder. 3) Proksimal subungual onikomikoz: En az gözlenen tiptir. Sebep olan etken genellikle TR'dur. HIV enfeksiyonlu hastalarda sık gözlenir (15,16). 4) Kandida onikomikozu. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular bu tiplendirme verileri ile uyumlulardı.

Onikomikozislerin %91'inin dermatofitlerce, %6'sının kandida türlerince, %3'ünün ise nondermatofit küflerce (primer olarak *Scopulariopsis bre-*

vicaulis) oluşturulduğu tespit edilmiştir (17). Onikomikozise dermatofitlerden en sık olarak, sıklık sırasına göre TR, TM ve E. Floccosum sebep olur (18,19,20). Bu literatürlerle uyumlu olarak biz de çalışmamıza dahil ettiğimiz olguların kültürlerinde en sık olarak TR, ikinci sıklıkta ise TM tespit ettik.

Çalışmamızda onikomikozlu hastaların serumlarında SIF etkisi tespit edemediğimiz gibi bu serumlar TM'nin daha iyi üremesini sağladılar. SIF aktivitesi yokluğu ve beraberinde bu kültürlerdeki kolonilerde pigmentasyon oluşumu daha önce literatürde hiç bildirilmemiştir. Elde ettiğimiz bulgular onikomikozlu hastaların serumlarında SIF olmadığı yönünde değerlendirilebilir. Bulgularımıza bu açıdan baktığımızda çoğu insanın hayatı boyunca dermatofitlere maruz kalırken, sadece bazılarında gelişen kronik ve ısrarcı bir dermatofit enfeksiyonu olan onikomikozun, bu kişilerdeki SIF eksikliği sebebi ile oluştuğu hipotezini kurabiliriz. Biz çok iddialı bir hipotez olan bu hipotezin yanında, böyle bir sonucun çıkmasında rol almış olması muhtemel diğer faktörler üzerine de hipotezler kurmayı uygun bulduk ve literatürü bu açıdan yeniden gözden geçirdik.

Demir fungusların üremesi için gerekli bir elementtir. TF'nin etkisini demiri bağlama yolu ile gösterdiği iddia edilmiş ve seruma demir eklenerek antifungal aktivitenin yok olduğunu gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır (3). Bunların yanında bir immunfloresan çalışmada TF'nin fungus yüzeyine bağlandığı tespit edilmiştir. TF'nin fungus duvarına nasıl bağlandığı bilinmemekte, fakat fungal hücre duvarındaki hidroksamat tipi sideroforlar aracılığı ile olduğu sanılmaktadır. TF'nin SIF etkisinin demiri bağlamasından farklı bir mekanizma ile olduğu iddia edilmiştir (21,22). Konak organizmanın mikroorganizmalardan demiri koruyabilme kabiliyetine nutrisyonel immunité ismi verilir. Fungusların demir ihtiyaçları 0.4 - 4 µM demirdir. Genel olarak kullanılan kültür besiyerleri 3-12 µM demir içerir, bu yüzden bunlara ayrıca demir eklemeye gerek yoktur (23). Normalde plazma TF'ni %25 oranında satüreyken serum demir miktarı mikrobiyal üreme için gerekli olandan en az 10<sup>8</sup> kat daha azdır ve bu serum demir değerleri organizmayı enfeksiyonlardan ko-

rum (24). Hiperferremik durumlar ise enfeksiyonlara karşı yatkınlık oluşmasına sebep olurlar (23). Nutrisyonel immunitéye karşı mikroorganizmalar özellikle demirin az bulunduğu ortamlarda, demiri kullanabilmek için siderofor ismi verilen bir grup maddeler sentezlerler (25). Sideroforlar kimyasal olarak fenolik asitler ve hidroksamatlar olarak iki aileden oluşurlar (24). Mikroorganizmalarca ortama salınan sideroforlar demire bağlandıktan sonra reabsorbe edilen çelatörlerdir. Fungusların fizyolojik ısı ve pH şartlarındaki serumda üretilmesi ile TF'nin inhibe edici etkisine antagonist sideroforlar yaptıkları tespit edilmiştir (26). TM'nin üremesinin demire bağımlı olduğu bilinmektedir (27), ayrıca TM'nin demiri bağlayıp biriktirmek için yüzey ligand özellikleri olduğu gösterilmiştir (28). Uzun süre (haftalarca) az demir içeren besiyerinde kalan TM'ler hidroksamat tipi sideroforlar oluşturmuşlardır (26). Çalışmamızda hasta serumlarının dermatofitlerin üremeleri üzerine etkileri ile, ansature TF ile korole olması gereken SDBK, Fe ve Hb değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptamadık (p<0.05).

Hasta serumu ilave edilmiş kültürlerde meydana gelen üremelerin kontrollerinden daha fazla olmasına sebep olmuş olabilecek potansiyel faktörleri gözden geçirirsek materyal ve metod olarak Erbakan ve ark (5)'in çalışmaları ile bizim çalışmamız arasındaki tek farklı nokta bizim besiyerlerimize kloramfenikol ilave etmemizdi. Bunun yanında bizden önceki çalışmalarda kullanılan TM suşlarının nasıl elde edildikleri ve hangi koşullarda saklandıkları bildirilmemişti.

King ve ark tetrasiklinlerin, kinolonların ve sülfometoksazolün çok düşük konsantrasyonlarda SIF aktivitesini tamamen nötralize ettiğini göstermişlerdir (3). Aynı çalışmada penisilinlerin, sefalosporinlerin, aminoglikozidlerin, rifampisin, eritromisin, fusidik asidin ve kloramfenikolün 100mg/L konsantrasyonda SIF'e etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Biz bakteriyel kontaminasyonu engellemek için, hazırladığımız besiyerlerine mikoloji laboratuvarımızda sürekli kullanıldığı konsantrasyonda, 150mg/L konsantrasyonunda kloramfenikolün ilave ettik. Daha önce Soyuer ve ark da çalışmalarında kloramfenikollü besiyeri kullanmışlar fakat yayınlarında kullandıkları konsantrasyon bildirilmemişlerdir (6).

King ve ark. da yaptıkları çalışmada 100 mg'dan düşük bir konsantrasyonda kloramfenikol kullanmışlardır (3). Bu durumda SIF'e etkisinin olmadığı daha önce ispatlanmış olan kloramfenikolün, konsantrasyonunu biraz yüksek tutmamıza rağmen, kontrol kültürle-rine de eklediğimiz için, elde ettiğimiz sonuçlara herhangi bir etkisinin olma ihtimali oldukça düşük bir ihtimaldir.

Bakteri ve fungusların virulans faktörleri arasında sideroforların oldukça önemli bir yere sahip oldukları çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (29-31). TM'lerin de siderofor yapabildikleri bir çalışmada gösterilmiştir. TM'den başka bir dermatofitte siderofor yapımı olup olmadığı şimdiye dek araştırılmamıştır (32). Bizim çalışmamızda kullandığımız TM suşu onikomikozlu bir hastadan elde edilmiştir. Onikomikozu sebep olan bir TM suşunun da siderofor yapan, virulan bir suş olabileceği düşünülebilir. Yapılan diğer çalışmalarda TM suşlarının kimlerden elde edildikleri ve çalışmaya kadar hangi koşullarda saklandıkları bildirilme-miştir. Bu veriler eşliğinde onikomikozlu bir hastadan elde ettiğimiz virulan, siderofor yapabildiğini varsaydığımız bir TM suşunun SIF'den etkilenmemiş olabileceğini iddia edebiliriz. Bu durumda bakterilerde olduğu gibi funguslarda da siderofor sentezleme kabiliyetinin virulansı etkilediği düşünülebilir, buna karşın TM onikomikozlu hastalarda tırnak ortamı sebebiyle de siderofor sentezleme özelliği kazanmış olabilir. Sideroforların demiri bağlama-sı karakteristik sarı-portakal rengi bir reaksiyon oluşmasına sebep olur ve bu renk sideroforların varlığını gösterir (29). Normalde TM makroskopik olarak 2 tip koloniye sahiptir. Bunlardan ilki tüysü tiptir ve beyaz renktedir, ikincisi ise granüler tiptir ve krem ve açık sarı renktedir (32). 10. günde kontrol kültürlerinden daha fazla üreme izlenen hasta serumu ile hazırlanmış kültürlerdeki kolonilerde siderofor varlığında ortaya çıkan pigmentasyona benzer bir pigmentasyon oluşması oldukça dikkat çekici bir bulgudur. Oysa ki kontrol kültürlerinde TM'nin normalde oluşturduğu beyaz renkli-tüysü tipte koloniler gelişmiştir. Bu bulgu kullandığımız TM suşunun hasta serumunda bulunan TF'den demiri korumak için siderofor sentezlediğini ve siderofor sentezinin

sadece demirden fakir ortamlarda gerçekleştiğini düşündürmektedir. TM'nin de dahil olduğu bir takım fungusların 0.2 µM demir içeren kültürde 8 hafta beklemeleri ile siderofor yaptıkları gözlenmiştir. Bu sideroforlar hidroksamat tipindedir (29). Çalışmamızda kullandığımız TM suşu çalışmanın başlamasından 1 ay kadar önce elde edilmiş ve 1 ay kadar pasaj yapılmadan oda sıcaklığında saklanılmıştı. Çalışmamızda kullandığımız TM suşunun bu 1 aylık süre zarfında bu tip bir değişikliğe uğramış olması da muhtemeldir.

Biz elde ettiğimiz sonucun TM suşumuzun SIF aktivitesinden sorumlu olan TF'e antagonist sideroforlar üretmiş olması sebebi ile ortaya çıkmış olabileceğini düşünmekteyiz. Çünkü hasta serumu ile hazırlanan kültürlerdeki kolonilerde portakalrengi-kahverengi bir pigmentasyon oluşurken kontrol kültürlerinde normal TM kolonileri geliştiğini gözledik. Hidroksamat tipi sideroforların bu tip bir pigmentasyona sebep oldukları bilinmektedir. Bu bulgulardan yola çıkarak sideroforların dermatofitlere karşı savunma mekanizmalarının başında gelen SIF'ün etkilerini in vitro ortamda tamamen yoketmelerine dayanarak sideroforların dermatofitlerde de virulansa etki eden faktörler arasında yer aldığını düşünmekteyiz. Elimizde kesin veriler olmadığı için biz çalışmamızdaki bulgularımız ile önceki literatür bilgilerini birleştirerek çeşitli hipotezler kurduk. Bu hipotezlerin doğrulanabilmesi için yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

#### KAYNAKLAR

1. Martin AG, Kobayashi GS. Superficial Fungal Infections: Dermatophytosis, Tinea, Nigra, Piedra. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB eds. *Dermatology In General Medicine* 5th ed. USA: Mc Graw Hill, 1999: 2337-58.
2. Jadassohn W. Versuche über pilzzuchtung auf organen. *Arch Dermat U Syph* 1928; 155: 203.
3. King RD, Khan HA, Foye JC, Greenberg JH. Transferrin, iron and dermatophyes. I. Serum dermatophye inhibitory component definitively identified as unsaturated transferrin. *J Lab Clin Med* 1975; 86: 204-12.
4. Petrou MA, Rogers TR. The inhibitory effect of serum on the growth of *Torulopsis glabrata*. *J Med Microbiol* 1988; 25: 213-20.
5. Erbakan N, Soyuer Ü, Gürer MA. Dermatophytosislerde prognoz tayininde serum inhibitör faktörün önemi. *Lepra Mecmuası* 1984; 15-23.

6. Soyuer Ü, Ökten S, Boran B, Aktaş E, Eşel G. Anne kanı ve göbek kordon kanında serum fungustatik faktör. In: Tüzün Y, Kotoğyan A, Serdaroglu S, eds. 12. Ulusal Dermatoloji Kongresi Serbest Bildiriler Kitabı. İstanbul, 1988: 313-7.
7. Jones HE, Reinhardt JH, Rinaldi MG. Acquired immunity to dermatophytes. Arch Dermatol 1974; 109: 840-8.
8. Dahl MV. Dermatophytosis and immune response. J Am Acad Dermatol 1994; 31: 34-41.
9. Goodman SR, Temple DE, Lorincz AL. A miniature system for extracorporeal hemodialysis with application to studies on serum antidermatophytic activity. J Invest Dermatol 1961; 37: 535-40.
10. Jessner M, Hoffman H. Der einfluss des serums allergischer auf trichophytopilze. Arch Dermatol Syph 1923; 145: 187-92.
11. Roth FJ, Goldstein MI. Inhibition of growth of pathogenic yeast by human serum. J Invest Dermatol 1961; 36: 383-7.
12. Roth FJ, Boyd CC, Sagami S, Blank H. An evaluation of the fungistatic activity of the serum. J Invest Dermatol 1959; 32: 549-56.
13. Blank HS, Smith JG. Widespread Trichophyton rubrum granulomas treated with griseofulvin. Arch Dermatol 1960; 80: 181-91.
14. Desai SC, Harvey SR. The study of fungistatic activity of sera from suffering chronic ringworm and healthy individuals. Recent Advances of Human and Animal Mycology. Bratislava, Publishing House of Slovak Academy of Science 1967: 313-7.
15. Zaias N. Onychomycosis. Arch Dermatol 1972; 105: 263-4.
16. Daniel CR III, Norton LA, Scher RK. The spectrum of nail disease in patients with human immune deficiency virus infection. J Am Acad Dermatol 1992; 27: 93-7.
17. Summerbell RC, Kane J, Krajden S. Onychomycosis, tinea pedis and tinea manum caused by nondermatophytic filamentous fungi. Mycoses 1989; 32: 609-19.
18. Achten G, Wanet-Rouard J. Onychomycosis in the laboratory. Mykosen 1978; 23: 125-7.
19. Erbakan N, Soyuer Ü, Peksarı Y, Yalçındağ EO. Onikomikozislerin tedavilerindeki zorlukların incelenmesi. In: Bingül Ö, Palalı Z, Tunalı Ş eds. VIII. Ulusal Dermatoloji Kongresi. Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1982: 141-52.
20. Scher RK. Onychomycosis: A significant medical disorder. J Am Acad Dermatol 1996; 35: 2-5.
21. Artis MW, Patrusky E, Rastinejad F, Duncan RL. Fungistatic mechanism of human transferrin for Rhizopus oryzae and Trichophyton mentagrophytes: Alternative to simple iron deprivation. Infect Immunol 1983; 41: 1269-78.
22. Duncan RL, Artis MW. Fungistatic capacity of sera from guinea pigs injected with various iron solutions: differences between Trichophyton mentagrophytes and Rhizopus oryzae. Infect Immun 1982; 35: 368-70.
23. Weinberg ED. Iron and susceptibility to infectious disease. Science 1974; 184: 952-6.
24. Weinberg ED. Iron and infection. Microbiol Rev 1978; 42: 45-56.
25. Lankford CE. Crit Rev Microbiol 1973; 2: 273.
26. Holzberg M, Artis WM. Hydroxamate siderophore production of opportunistic systemic fungal pathogens. Infection and Immunity 1983; 40: 1134-39.
27. Artis WM, Wade TR, Jones HE. Restoration of Trichophyton mentagrophytes growth in medium depleted of metals by chelation: Importance of iron. Sabouraudia 1983; 21: 41-8.
28. Artis WM. Abstracts of Annual Meeting of the American Society for Microbiology 1981; F14: 315.
29. Weinberg ED. Iron, infection and neoplasia. Clin Physiol Biochem 1986; 4: 50-60.
30. Lam C, Turnowsky F, Schwarzingler E, Neruda W. Bacteria recovered without subculture from infected human urines expressed iron-regulated outer membrane proteins. FEMS Microbiol Lett 1984; 24: 255-9.
31. Hoiseth SK, Stocker BAD. Aromatic dependent Salmonella typhimurium are non-virulent and effective as live vaccines. Nature Lond 1981; 291: 238-9.
32. Frey D, Oldfield RJ, Bridger RJ. Trichophyton Mentagrophytes. In: Frey D, Oldfield RJ, Bridger RJ, eds. A colour atlas of pathogenic fungi. Wolfe Medical Publications Ltd: 51-52. Holland 1985.