



Bu makaleye şu şekilde atıf yapılır: Eker Y. ve Kalyoncu F. (2025). Havasal Aspergillus İzolatlarının Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi, Mantar Dergisi 16(2) 105-109.

Geliş(Received) :03.07.2025

Kabul(Accepted) :19.08.2025

Araştırma Makalesi

Doi: 10.30708.mantar.1698268

Havasal *Aspergillus* İzolatlarının Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Yağmur EKER¹, Fatih KALYONCU^{2*}

*Sorumlu yazar: fatih.kalyoncu@cbu.edu.tr

¹ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muradiye, Yunusemre, Manisa, yagmur_eker_88@hotmail.com

² Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muradiye, Yunusemre, Manisa, fatih.kalyoncu@cbu.edu.tr

Öz: Çalışmamız ile bina dışı havada bulunan *Aspergillus* genusu üyelerinin yoğunlukları ve klinik antifungallere karşı duyarlılık/dirençlilik durumları belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, Manisa il merkezinde belirlenen 5 istasyondan gravimetrik yöntemle hava örnekleme yapılmıştır. Çalışma kapsamında toplam 1877 mikrofungus kolonisi sayılmış ve 102 *Aspergillus* sp. izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların identifikasyonu sonucu altı farklı tür tespit edilmiştir. Antifungal duyarlılık testleri için klinikte sıklıkla tercih edilen amfoterisin B, flukonazol ve itrokonazol kullanılmıştır. İncelenen mikrofungus izolatlarının her üç antifungalin tedavi dozlarına karşı değişik oranlarda dirençlilik geliştirdiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Aspergillus* sp., Antifungal duyarlılık, Havasal mikrofungus, Manisa

Determination of Antifungal Susceptibility of Aerial *Aspergillus* Isolates

Abstract: Our study aimed to determine the density, and clinical antifungal susceptibility/resistance of *Aspergillus* genus members in outdoor air. For this purpose, air sampling was performed by gravimetric method from 5 stations determined in Manisa city center. Within the scope of the study, a total of 1877 microfungus colonies were counted and 102 *Aspergillus* sp. isolates were obtained. As a result of the identification of these isolates, six different species were identified. Amphotericin B, fluconazole and itroconazole, which are frequently preferred in clinics, were used for antifungal susceptibility tests. It was determined that the examined microfungus isolates developed resistance at different rates to the treatment doses of all three antifungals.

Keywords: *Aspergillus* sp., Antifungal susceptibility, Airborne microfungi, Manisa

Giriş

Türkçe bilimsel ismi Asper (Sesli ve ark., 2020) olan *Aspergillus* çok sayıda türü bünyesinde barındıran bir fungus genusudur. Genus üyeleri kozmopolit bir dağılım gösterirler ve üreme hızları ve kapasiteleri de oldukça yüksektir. Sahip oldukları konidiumların geniş yayılım kabiliyetlerinden dolayı havada da yüksek

yoğunluklarda bulunurlar. Bazı türlerinin diğer canlılarda patojen olması dolayısı ile ziraat, hayvancılık ve tıp açısından da oldukça önemli bir genus durumundadır. Kserofilik ve ozmofilik özellikleri sebebi ile depolanmış tahıl ürünleri için bir risk faktörüdürler (Ghorai ve ark., 2009; Baltussen ve ark., 2020). Ayrıca insanda aspergillozis ve aspergilloma gibi hastalıklara neden



CC BY 4.0 Uluslararası Lisansı altında lisanslanmıştır / Licensed under the CC BY 4.0 International License.

Atıflamada APA stili kullanılmıştır, iThenticate ile taranmıştır./ APA style was used in citation, plagiarism was checked with iThenticate.

olmaları ve bu hastalıklarda ölüm oranlarının yüksek olmasından dolayı üzerlerinde pek çok araştırma yapılmaktadır. İnsanlarda sistemik enfeksiyon yapabilen türleri olarak *A. fumigatus* Fresen, *A. flavus* Link, *A. niger* Tiegh ve *A. terreus* Thom örnek verilebilir. Özellikle bağışıklık sistemi çalışmayan veya baskılanmış kişilerde bu türlerin neden olduğu enfeksiyonlardan kurtulma oranı oldukça düşük kalmaktadır (Chazalet ve ark., 1998; Tillie ve Tonnel, 2005).

Aspergillus sporları hava yolu ile akciğerlere ulaşmakta ve bağışıklık sistemi hücreleri tarafından engellenmedikleri takdirde burada çimlenerek misel oluşturmaktadırlar. Hastalık tanısı için mikrobiyolojik, radyolojik ve biyokimyasal incelemelere ihtiyaç bulunmaktadır. Akciğer grafisi ile galaktomannan ve β -glukan testleri fungus varlığını göstermek için kullanılan yöntemlerdendir (Verweij ve ark., 2016; Jenks ve Hoenigl, 2018). *Aspergillus* türlerine bağlı bir sistemik enfeksiyon

tanısı almış hastalarda kullanılabilen bazı antifungal özellikli kimyasallar bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak bu çalışmada da kullanılan amfoterisin B, itraconazol ve flukonazol verilebilir. Ancak bu ve benzeri antifungal ajanlara karşı geliştirilen direnç hastaların tedavi şanslarını kısıtlamakta ve sağ kalım oranlarını da düşürmektedir. Hastanın daha önce de sistemik fungal enfeksiyon geçirmiş olması, vücuduna aldığı fungus miktarı, bozulan metabolizması sebebi ile antifungallerin yeterli emilim ve dağılımlarının sağlanamaması ve farklı ilaçların birbirleri ile etkileşimleri gibi sebepler direnç gelişimini artıran faktörler olarak ortaya çıkmaktadır (Pfaller ve ark., 2002; Shah, 2005).

Bu araştırmada havadan izole edilen *Aspergillus* izolatlarının tedavide sıklıkla kullanılan üç farklı antifungale karşı duyarlılık / dirençlilik durumları ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Tablo 1. Örneklem yapılan istasyonlar

No	Yeri	Enlem	Boylam
1	Otogar	38,6359	27,4408
2	Mevlevihane	38,6165	27,4098
3	Muradiye Fidanlık	38,6468	27,2976
4	Organize Sanayi	38,6147	27,3660
5	Merkez Efendi Devlet Hastanesi	38,6158	27,4060

Materyal ve Metot

Çalışma kapsamında Manisa ili Şehzadeler ve Yunusemre ilçelerinde belirlenen beş istasyondan mevsimlik olarak bina dışı hava örnekleri alınmıştır. Örnek alınan istasyonlar hakkında bilgiler Tablo 1'de verilmiştir. Örneklem günlerine ait dış ortam sıcaklık ve nem değerleri de Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Örneklem günleri, sıcaklık ve nem değerleri

Tarih	Sıcaklık	Nem
15 Mayıs	27°C	%56
13 Ağustos	35°C	%43
14 Kasım	15°C	%72
13 Şubat	6°C	%79

Hava örnekleme en az üç gün öncesinden yağışın olmadığı günlerde, sabah saatlerinde gravimetrik yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Mikrofungus izolasyonu için içinde Rose Bengal Kloramfenikol agar bulunan petri kapları düzgün bir zemin üzerinde kapakları 15 dakika açık kalacak şekilde bekletilmiştir. Her bir örneklemede istasyonlar için onar Petri kabı kullanılmıştır. Örneklem sonrası işaretlenen petri kapları laboratuvara getirilerek

27°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 14 gün süre ile devam ettirilen inkübasyon boyunca petri kaplarında gelişen *Aspergillus* cinsine ait koloniler yatık Malt Ekstrakt agar (MEA) içeren tüplere alınarak +4°C'de muhafaza edilmişlerdir (Kalyoncu ve Ekmekçi, 2008).

İzole edilen *Aspergillus* genusu üyelerinin antifungal duyarlılık testleri katı besiyeri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda antifungal ajan olarak amfoterisin B, itraconazol ve flukonazolün klinikte kullanılan tedavi dozları MEA besiyerine ilave edilmiştir. Doz olarak amfoterisin B için ml'de 0.625 mg; itraconazol için ml'de 0.313 mg ve flukonazol için ise yine ml'de 0.313 mg kullanılmıştır. *Aspergillus* genusu üyeleri flukonazole karşı doğal direnç gösterebildiği için diğer iki antifungal ile karşılaştırma imkânı olması açısından çalışmaya dâhil edilmiştir. Antifungal içeren ve içermeyen besiyerlerine havadan izole edilen *Aspergillus* izolatları tek nokta ekimi ile aşılanmıştır (Kortenbosch ve ark., 2024). İnokulasyon sonrası besiyerleri etrafları parafilm ile kapatılarak 27°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresince koloni gelişimleri izlenmiş ve koloni çapları ölçülerek kaydedilmiştir (Özkütük ve ark., 2008). Tüm işlemler üç tekrarlı olacak şekilde yapılmış ve sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır. *Aspergillus* genusuna ait türlerin

identifikasyonunda çeşitli ortamlar (MEA, CZ, CYA, CY20S, G25N) üzerindeki büyüme şekilleri, oluşturdıkları makro ve mikro yapıların morfolojileri ile koloni altı ve üstü renklenme verileri kullanılmıştır. İdentifikasyon için literatürde belirtilen uygun ortamlara aktarılan fungal organizmalar gerekli sıcaklık değerlerinde (25 – 37 °C arası) yedi – on dört gün süre ile inkübe edilmişlerdir. Bu süre boyunca koloni çapları ölçülmüş ve fungal kültürler koloni özelliklerinin tespiti için stereo mikroskop ve ışık mikroskobu altında detaylı olarak incelenmişlerdir. Mikro yapıların incelenmesinde ise inceleme ortamı olarak Laktofenol Blue çözeltisi kullanılmış, hazırlanan preparatlarda organizmaya ait mikro yapıların morfolojik özellikleri saptanarak identifikasyon için gerekli ölçümler yapılmıştır. İzole edilen *Aspergillus* türlerinin teşhisinde Raper ve Fennell (1965) ve Klich (2002)'den yararlanılmıştır.

Bulgular

Çalışma kapsamında toplam 200 adet petri kabı kullanılmış ve 1877 fungus kolonisi sayılmıştır. Bu kolonilerden 102 tanesi *Aspergillus* sp. olarak değerlendirilmiş ve antifungal duyarlılık testleri için ayrılmıştır. Koloni sayısı en çok Ağustos, en az ise Şubat ayı örneklemeinde tespit edilmiştir. Yapılan identifikasyon çalışmaları neticesinde altı farklı *Aspergillus* türü belirlenmiştir. Bu türler görülme sıklıklarına göre sırasıyla; *A. niger*, *A. flavus*, *A. foetidus* Thom & Raper, *A. fumigatus*, *A. terreus* ve *A. parasiticus* Speare dir. Bu türlere ait toplam 20 izolat antifungal etki testlerine dâhil edilmiştir. İnkübasyonun onuncu gününde elde edilen sonuçlar Tablo 3'de verilmiştir.

Teste tabi tutulan tüm izolatlar açısından sonuçlar değerlendirildiğinde; antifungal içermeyen besiyerindeki ortalama koloni çapı 81,95 mm, flukonazol içeren besiyerinde 56,66 mm, itrakonazol içeren besiyerinde 34,08 mm ve amfoterisin B içeren besiyerinde ise 39,05 mm olarak ölçülmüştür. Bu izolatlar üzerinde en etkili antifungal itrakonazol olarak tespit edilmiştir. İtrakonazol fungal gelişimi % 59 oranında, amfoterisin B % 53 oranında ve flukonazol ise % 31 oranında inhibe etmiştir. Ancak çalışmamızda kullanılan antifungal kimyasalların hiçbirisi fungal gelişimi tamamen engelleyememiştir. Bu tablo solunan havadaki *Aspergillus* genusuna ait bireylerin antifungal ajanlara karşı dirençlilik durumlarını da ortaya koymaktadır. Tür bazında değerlendirdiğimizde ise en dirençliden duyarlıya doğru sıralama *A. fumigatus* (2MEV3), *A. flavus* (3MED3), *A. parasiticus* (3OS1), *A. niger* (3MED1), *A. terreus* (2MEV2) ve *A. foetidus* (4OS1) olarak belirlenmiştir.

Tablo 3. Koloni gelişim değerleri (mm)

İzolat Kodu	MEA-0	FLK	ITZ	AMPB
1MEV1	75.0	65.2	30.1	30.6
1OS2	65.8	45.4	32.6	50.1
1OS3	70.5	20.4	30.8	40.7
1OTO1	70.3	60.4	35.8	50.9
1MF1	80.5	45.0	30.2	35.6
1MF2	70.6	55.5	45.7	35.8
2MEV1	75.6	60.4	31.0	36.7
2MEV2	90.0	55.6	25.7	35.6
2MEV3	90.0	68.9	41.2	45.2
2OTO1	75.4	65.8	31.6	45.5
2MF3	90.0	70.6	15.2	45.1
2MF4	90.0	55.4	33.6	45.7
2MED1	72.2	60.0	42.5	45.3
3MEV1	90.0	67.4	39.2	35.8
3OS1	90.0	57.6	39.4	33.8
3MED1	90.0	53.4	37.8	29.6
3MED2	90.0	63.5	39.9	41.2
3MED3	90.0	60.6	33.4	42.5
4OS1	90.0	49.8	29.4	31.5
4MEV2	83.2	52.4	36.5	23.8

MEA-0: Antifungal içermeyen MEA;

FLK: Flukonazol; ITZ: İtrakonazol; AMPB: Amfoterisin B

MEV: Mevlevihane; OTO: Otogar; OS: Organize Sanayi

MF: Muradiye Fidanlık; MED: Devlet Hastanesi;

Tartışma

Çalışmamız ile Manisa il merkezindeki istasyonlardan izole edilen havasal *Aspergillus* izolatlarının klinikte sıklıkla kullanılan antifungal ajanlara karşı duyarlılık / dirençlilik durumları petri kaplarındaki gelişim düzeyleri üzerinden belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar havada sıklıkla bulunan *Aspergillus* genusuna dâhil mikrofungal türlerin farklı oranlarda antifungal dirençliliğine sahip olduklarını göstermektedir. Bu konuda dünya genelinde yapılan araştırmalarda da insanlarda görülen fungal enfeksiyonların ve fungusların antifungal dirençliliğin artış gösterdiği görülmektedir (Ghodsi ve ark., 2025). Bu çalışmada hastane içi havasından izole edilen *Aspergillus* izolatlarının amfoterisin B ve yüzey dezenfektanlarına karşı yüksek düzeyde direnç sahibi oldukları ve *A. flavus*'un en dirençli tür olarak tespit edildiği rapor edilmiştir.

White ve ark. (2021) tarafından yapılan araştırmada bir domuz çiftliğinin hava dahil farklı ortamlarından yapılan izolasyon sonucu belirlenen 43 *Aspergillus* izolatının antifungal direnç profili ortaya konulmuştur. Araştırmacılar bu izolatların yedi farklı türe ait olduğunu, % 27,9'unun en az bir, % 11,6'sının ise birden çok antifungal ajana karşı dirençli olduklarını ve en

dirençli tür olarak ise *A. niger*'in tespit edildiğini rapor etmişlerdir.

Kortenbosch ve ark. (2024) triazol grubundan iki antifungalın havadan izole edilen *A. fumigatus* üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemeye çalışmışlardır. Antifungal olarak kullandıkları itrakonazol ve vorikonazolün 4 mg/L düzeyindeki konsantrasyonlarında dahi bazı izolatların gelişim gösterdiği ve bu mikrofungusun Avrupa kıtası boyunca yayılarak dirençliliği farklı alanlara taşıdığını tespit etmişlerdir.

Bir başka çalışmada ise (Sobral ve ark., 2024) hastane havasından izole edilen tüm mikrofungusların antifungal duyarlılıkları test edilmiştir. Tespit edilen 15 *Aspergillus* izolatının sekiz türe ait olduğu belirtilen araştırmada kullanılan dört farklı antifungale (amfoterisin B, itrakonazol, vorikonazol ve isavukonazol) karşı bu izolatların değişik oranlarda duyarlılık / dirençlilik gösterdikleri belirtilmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ve ilgili literatür birlikte değerlendirildiğinde *Aspergillus* genusu üyelerinin

klินิกte kullanılan antifungallere karşı artan bir dirençliliğe sahip oldukları görülmektedir. Bu durum önümüzdeki dönemde yeni antifungal etkili kimyasallara ihtiyaç olacağını göstermektedir. İç ve dış mekan havası özellikle duyarlı kişiler için tehlikeli olabilecek bir mikrofungus ortamı oluşturmaktadır. Bu bakımdan artan dirençlilik durumu da dikkate alınarak duyarlı insanları mikrofungus enfeksiyonlarından korumak için alınacak tedbirlerin de güncellenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Yazar Katkıları

Tüm yazarlar eşit katkıya sahiptir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ederler

Etik Beyanı:

Bu çalışmanın hazırlanma sürecinde bilimsel ve etik ilkelere uyulduğu ve yararlanılan tüm çalışmaların kaynakçada belirtildiği beyan olunur (Yağmur Eker, Fatih Kalyoncu).

Kaynaklar

- Baltussen, T.H., Zoll, J., Verweij, P.E. ve Melchers, W.G. (2020). Molecular mechanisms of conidial germination in *Aspergillus* spp. *Microbiol Molecular Biol Rev.* 84, 1-31.
- Chazalet, V., Debeaupuis, J.P., Sarfati, J., Lortholary, J., Ribaud, P., Shah, P., Cornet, M., Thien, H.V., Gluckman, E., Brückner, G. ve Latge, J.P. (1998). Molecular typing of environmental and patient isolates of *Aspergillus fumigatus* from various hospital settings. *J Clin Microbiol.* 36: 1494-1500.
- Ghods, S., Nikaeen, M., Abastalebian, S., Mohammadi, R. Ve Mirhendi, H. (2025). Prevalence of fungi and their antifungal and disinfectant resistance in hospital environments: insights into combating nosocomial mycoses. *Antimic Res Infect.* 14: 1-12.
- Ghorai, S., Banik, S.P., Verma, D., Chowdhury, S., Mukherjee, S. ve Khowala, S. (2009). Fungal biotechnology in food and feed processing. *Food Res Int.* 42: 577-87.
- Jenks, J.D. ve Hoenigl, M. (2018). Treatment of aspergillosis. *J Fungi.* 4, 2-17.
- Kalyoncu, F. ve Ekmekçi, S. (2008). Culturable airborne fungi in outdoor environments in Manisa, Turkey. *Fresenius Environ Bull.* 17, 844-48.
- Klich, M.A. (2002). Identification of common *Aspergillus* species. First Edition, CBS Publication, Utrecht.
- Kortenbosch, H.H., Leuven, P.V., Heuvel, C., Schoustra, S.E., Zwaan, B.J. ve Snelders, E. (2024). Catching some air: a method to spatially quantify aerial triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *App Environ Microbiol.* 90 (7): 1-15.
- Ozkutuk, A., Ergon, C., Metin, D.Y., Yücesoy, M. ve Polat, S.H. (2008). Comparison of disk diffusion, E-test and broth microdilution test in determination of susceptibility of *Aspergillus* species to amphotericin B, itraconazole and voriconazole. *J Chemother.* 20: 87-92.
- Pfaller, M.A., Messer, S.A., Hollis, R.J. ve Jones, R.N. (2002). Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of *Aspergillus* spp. and other filamentous fungi: report from SENTRY antimicrobial surveillance program, 2000. *Antimicrob Agents Chemother.* 46 (4): 1032-7.
- Raper, K.B. ve Fennell, D.I. (1965). The Genus *Aspergillus*. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Sesli, E., Asan, A. ve Selçuk, F. (edlr.) Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkeul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun ve Yu., Yoltaş, A. (2020). *Türkiye Mantarları Listesi*. İstanbul: Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayınları. Syf 1177.
- Shah, A., (2005). Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Allergy Clin Immunol Int.* 17: 172-80.
- Sobral, L.V., Sousa, B.R., Lima, J.M., Lima, D.X., Barbosa, R.N., Neto, R.G. ve Souza-Motta, C.M. (2024). Airborne fungi in hospital environment, profile of antifungal susceptibility and allergenicity. *Rev Obs Econ Latinoame.* 22 (10): 1-29.
- Tillie-Leblond I. ve Tonnel A.B. (2005). Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Allergy.* 60: 1004-13.
- White, J.K., Nielsen, J.L., Poulsen, J.S. ve Madsen, A.M. (2021). Antifungal resistance in isolates of *Aspergillus* from a pig farm. *Atmosphere.* 12, 1-12.
- Verweij P.E., Zhang, J., Debets, A.J., Meis, J.F., Veerdonk, F.L., Schoustra, S.E., Zwaan, B.J. ve Melchers, W.G. (2016). In-host adaptation and acquired triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a dilemma for clinical management. *Lancet Infect Dis.* 16 (11): 251-60.