

ASPERGILLUS CINSİ MANTARLAR VE İNVAZİV ASPERGİLLOZ: MİKOLJİ, PATOGENEZ, LABORATUVAR TANIMI, ANTİFUNGALLERE DİRENÇ VE DUYARLILIK DENEYLERİ *

A. Serda KANTARCIOĞLU, Ayhan YÜCEL

Background and Design.- *Aspergillus* species has become one of the most important airborne pathogen in developed countries, causing a significant increase in fatal pulmonary invasive aspergillosis. In spite of the recent progress in the study of laboratory diagnosis and antifungal treatments invasive aspergillosis tends to occur in immunologically debilitated individuals with an overall mortality of >50% and a mortality approaching 100% in allogenic bone marrow transplant patients. This paper briefly reviews the current state of knowledge regarding *Aspergillus* species and invasive aspergillosis focusing on the mycology, pathogenesis, laboratory diagnosis, antifungal agents and susceptibility tests.

Kantarcioğlu A.S, Yücel A. *Aspergillus* species and invasive aspergillosis: Mycology, pathogenesis, laboratory diagnosis, resistance of antifungal agents and susceptibility tests. Cerrahpaşa J Med 2003; 34: 140-157.

A *Aspergillus*'lar yeryüzünde her yerde yaygın olarak bulunan hifli mantarlardır; doğal yaşam ortamları toprak ve çürüyen bitki materyalidir; doğadaki temel işlevleri karbon ve nitrojen çevrimiyle ilgilidir, biyodegradasyonda rol alırlar. Bu mantarlar ürettikleri enzimler sayesinde tüm organik maddeleri ayrıştırarak kullanır ve saprofit olarak yaşarlar; uygun koşullarda bitki, hayvan ve insanlarda patojen hale geçebilirler. Yaşam çevrimlerini tamamlamak için konak olarak insana gereksinimleri yoktur. Üreme hız ve kapasiteleri yüksektir. Atmosfere dağılan konidyumlar havada asılı kalabilir, toz ve diğer parçacıklarla her yere taşınabilirler, havada en yüksek yoğunlukta bulunan mantarlardan biridir. Ortam çalışmalarında insanların solunumunda günde en az birkaç yüz konidi aldıkları belirlenmiştir.^{1,2} Bağışıklığı tam kimselerde solunumla alınan konidiler doğa direnci ile ilgili mekanizmalarla zararsız hale getirilir. Dolayısıyla yakın zamanlara kadar *Aspergillus*'lara yalnız alerjik reaksiyonlara ve tedavisi başarılı olmuş tüberkülozlu veya sarkoidozlu hastalardaki daha önceden oluşmuş kaviterlerde aspergilloma'ya (mantar topu) sebep olan zayıf bir patojen gözüyle bakılmıştır.

Aspergillus'lara bağlı (alerjik bronkopulmoner aspergilloz, astım, alerjik sinüzit, alveo-

lit gibi) alerjik hastalıklar miselli kolonizasyon olmaksızın *Aspergillus* konidi ve antijenleriyle tekrarlarla karşılaşmanın ardından oluşurlar ve çoğunlukla hastanın ortamdaki kaynaktan uzaklaştırılmasıyla klinik iyileşme ile seyredir.³ Mantarların etkisiyle bazı besinlerde oluşan zehirlenin yenmesiyle ortaya çıkan Mycotoxicosis'de de bu mantarın önemli bir yeri vardır. *Aspergillus flavus* ve benzeri mantarların ürediği tahıl ve meyvelerde gelişen aflatoksinlerle aflatoksikoz; aflatoksin B ile karaciğerde adenoma ve kanser oluşumu; *A. ochraceus*'un yaptığı okratoksin A ve B'nin hayvanlarda böbrek ve karaciğeri bozduğu bildirilmiştir.⁴⁻⁸

Alerji ve mikotoksikoz dışında *Aspergillus* türlerinin sebep oldukları hastalıklar aspergilloz olarak tanımlanmaktadır. Bu mantarlar; tüberküloz, sarkoidoz, bronşektazi, pnömonilerin ardından akciğerlerdeki kaviterlerde, ekseri üst lobda yerleşik olarak aspergilloma denilen mantar topu oluşturabilirler ve hastalar ekseri asimptomatiktir. Bu hazırlayıcı sebeplerle birlikte alkolizm, diabetes mellitus, uzun süreli steroid tedavisi gibi bağışıklığı baskılayıcı uygulamalar da bulunduğu kronik nekrotize akciğer mikozları görülebilmektedir. Nötropenik kanser hastalarında, transplantasyon yapılanlarda, AIDS'liler ve kistik fibrözlu çocuk-

* **Anahtar kelimeler:** *Aspergillus* türleri, invaziv aspergilloz, patogenez, laboratuvar tanımı, antifungallere direnç, duyarlılık deneyleri; **Key words:** *Aspergillus* species, invazive aspergillosis, pathogenesis, laboratory diagnosis, antifungal resistance, susceptibility tests; **Alındığı Tarih:** 9 Nisan 2002; Dr. A. Serda Kantarcioğlu, Prof. Dr. Ayhan Yücel. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa, İstanbul; **Yazışma Adresi (Address):** Dr. A. Serda Kantarcioğlu, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34303, Cerrahpaşa, İstanbul.

larda akut invaziv akciğer aspergillozu tipinde görülebilmekte ve ekseri ölümle sonuçlanabilmektedir. AIDS'lilerde ve transplantasyon yapılanlarda trakeobronşit tarzında da görülmektedir. *Aspergillus*'ların mantar sinüzitlerinin en sık karşılaşılan etkeni olduğu bildirilmektedir. Alerjiye bağlı olmaksızın *Aspergillus*'ların kanserlilerde, kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalarda, AIDS'lilerde ve diğer vücut direnci kırık kişilerde invaziv mantar sinüzitlerine yol açtığı olgular bulunmaktadır. Gözde kornea infeksiyonları, endoftalmit ve orbital infeksiyonlarla karşılaştığı da bildirilmektedir. Osteomyelitler, deri tutulumları ve sindirim sistemi özürü kişilerdeki infeksiyonlar da diğer aspergilloz şekilleri arasında sayılmaktadır.⁹⁻¹¹

Son yıllarda bağışıklığı baskılanmış hasta sayısının artmasıyla *Aspergillus*'lar prevalansı en yüksek hava kaynaklı potansiyel patojenler olarak ortaya çıkmışlardır. Bu cinsin üyeleri halen lösemi tedavi merkezlerinde ve solid organ transplantasyonu birimlerinde başta gelen ölüm sebeplerindedir. Erken tanının erken tedaviye olanak vererek prognozu etkileyeceği düşünülmektedir.¹²⁻¹⁷

Bu yazıda *Aspergillus* cinsi mantarların yapısı ve virulans özellikleri, duyarlı konaklar, invaziv aspergillozun (IA) laboratuvar tanımı ve patogenezi, antifungallere duyarlılıklarının araştırılması ile ilgili yeni gelişmeler ve profilaksi ve tedavisine ilişkin yeni bilgi ve görüşler olabildiğince kısaltılarak sunulmaktadır.

Epidemiyoloji ve Ekoloji

Aspergillus'lar yeryüzünde Antarktika dahil her yerde, toprakta ve özellikle çürüyen organik maddelerde yaygındır. Sahip oldukları zengin enzim sistemleriyle hemen tüm organik materyalleri ayrıştırarak kullanabildikleri ve diğer mikroorganizmalar için çok düşük olan nem düzeylerinde bile gelişebildikleri için, depolanmış tahıl ve tohumlarda, unlarda, deri ve tekstil ürünlerine kadar çeşitli gıda ve eşyalar da; ayrıca dış ortamda ve hastane ve evlerin iç ortamlarındaki havada asılı olarak bol bulunurlar.

Aspergillus cinsi ile ilgili olarak Raper ve Fennel'in yayınladıkları monografda 132 tür sayılmıştır.¹⁸ Bugün bu cinsin kabul edilmiş 180'den fazla türü ve 70 teleomorfu bulunmaktadır ve yeni türler de tanımlanmaktadır.^{19,20} IA'a en sıklıkla sebep olduğu bildirilen türler *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. nidulans*'dir. Daha nadir olarak hastalığa sebep olanlar *A. amstelodami*, *A. avenaceus*, *A. caesiellus*, *A. candidus*, *A. carneus*, *A. chevalieri*, *A. clavatus*, *A. glaucus*, *A. granulatus*, *A. oryzae*, *A. quadrilineatus*, *A. restrictus*, *A. sydowi*, *A. ustus*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *Neosartoria fisci* olarak sayılmaktadır.^{3,9,21}

IA olgularının yaklaşık %90'undan sorumlu olduğu bildirilen *A. fumigatus*'un önde gelen yaşam ortamının çürüyen bitki materyali olduğu düşünülmekte ve kırsal kesimde yaşayan kistik fibrözlü hastalarda *A. fumigatus*'la kolonizasyon oranının çok yüksek olduğu öne sürülmektedir. *A. fumigatus* ile ilgili son yıllarda geliştirilen çeşitli moleküler tiplendirme sistemlerinin IA'un epidemiyolojisini açıklamakta yararı olmuştur. Sözgelimi ABD ve Avrupa'da identik genotiplerin hastalığa sebep oldukları ve *A. fumigatus* genotipinin yeryüzünde yaygın olduğu gösterilmiştir. Bu türün, hastalardan elde edilen iki üç genotipi bulunmakla beraber infeksiyonların çoğuna tek bir genotipin sebep olduğu bildirilmiştir ve bulgular *A. fumigatus*'un primer patojen bir mantar olabileceğine işaret etmektedir.²¹

Aspergillus türleri zincirler halinde çok miktarda konidi üretirler ve bunlar olgunlaştıklarında ortama dağılırlar. Konidyumlar genelde 2-5 µ çapındadırlar ve hava ile taşınırlar. Aspergilloz ekseri havadaki konidyumlarının solunumla alınmasıyla bulaşırsa da ameliyatlarda sırasında dokuyu infekte edebilmekte; kontamine hastane takımları ile de vücuda girebilmektedirler. Bu mantarlarla kontamine yapıstırıcı bantların primer kutanöz aspergilloza kaynak olduğu bildirilmiştir. Normal sağlıklı kişilerde kornea ve deriden travmalarla da girebilmektedir. IA daha sıklıkla bağışıklığı baskılanmış hastalarda ortaya çıktığından hastane içi havasında *Aspergillus* konidyumlarının bulunması önemlidir. İç ve dış ortam konidi sayısı

arasında pozitif korelasyon bulunmuş ve konidilerin havalandırma sisteminden girdiği belirlenmiştir. Onkoloji hastalarında aspergilloz insidansı ile mevsim değişiklikleri arasında korelasyon bulunmamıştır. Hasta odalarındaki çiçek saksıları da *Aspergillus*'lara kaynak olabilir.⁹

Yurdumuzda çeşitli bölgelerde iç ve dış ortam havasının mantar florasına ilişkin olarak yapılmış çalışmalar yayınlanmıştır. İstanbul'da 110 evin iç ortam havasındaki alerjen küf florasının araştırıldığı bir çalışmada elde edilen 748 küf kökeninin 115'inin *Aspergillus* cinsine ait türlerden olduğu yazılmıştır.²² İstanbul Topkapı Sarayı Müzesi Kütüphane ve Bölümlerine ait mekanlarda bir yıl boyunca aylık periyotlarla havada bulunan sporlardan açık Petri kabı yöntemiyle alınan örneklerden üretilen mantarlar arasında hakim flora tipinin *Penicillium* sp (%32.0) ve *Aspergillus* sp (%24.5) olduğu bildirilmiştir.²³ Bursa'da ev dışı havasının *Penicillium* ve *Aspergillus* mikrobiotasının araştırıldığı bir çalışmada hava örneklerden üretilen tüm mantarlar içerisinde bu cinsin %3.7 oranında bulunduğu bildirilmiştir.²⁴

Havadaki *Aspergillus* yoğunluğu ile invaziv hastalık veya kolonizasyon arasındaki korelasyonu araştıran moleküler epidemiyoloji çalışmaları da yapılmıştır. Dış ortam konidyum düzeyi genelde 1000-5000 cfu/m³ olarak bildirilmektedir. Bir hastanenin onkoloji bölümünün oda ve koridorlarından 54 hafta boyunca hava örnekleri toplayarak *Aspergillus* konidyumlarının yoğunluğunu inceleyen Hosphenthal ve ark.² örneklerde *A.fumigatus* ve *A.flavus* konidyumlarının ortalama 1830 cfu/m³, diğer *Aspergillus* sp konidyumlarının ortalama 2830 cfu/m³ olduğunu; yoğunluğun mevsimle korele olmadığını saptamışlar; 22 yıllık dönemin otopsi sonuçlarına göre bu hastanede yılda ortalama 6.6 aspergilloz olgusu bulunduğu, olgu insidansında mevsimsel değişiklik olmadığı, dolayısıyla ne tüm aspergilloz olguları insidansında ne de hava kaynaklı konidyumların yoğunluğunda mevsimle ilgili bir patern gözlemlenmediği sonucuna varmışlardır. Benzer şekilde *A. terreus* infeksiyonları incelendiğinde ortamdan elde edilen kökenlerin tümü değilse de bir kıs-

mının hastalardan ayrılanlarla identik olduğu belirlenmiş; bu durumun ortam kaynağına işaret ettiği sonucuna varılmıştır. Ortam örneklerinden ve invaziv hastalıklardan ayrılan *Aspergillus*'ların DNA düzeyinde karşılaştırılması yapıldığında hastalardan ayrılan üç köken ile ortamdan ayrılanlar arasında benzerlik bulunduğu gözlemlenmiş, ancak mevcut veri tabanının kesin bir bağlantı sağlayamadığı, infeksiyonun kaynaklarını açıklayacak daha ileri moleküler epidemiyoloji çalışmalarının gerektiği sonucuna varılmıştır.^{2,25,26}

Amerika'da Tennessee Üniversitesi Araştırma Hastanesi'nde mikrobiyoloji ve patoloji laboratuvarlarının 34 yıllık kayıtları retrospektif olarak incelenmiş, pediatrik kanser hastalarında kültürle belgelenen *Aspergillus* infeksiyonlu 66 hasta bulunduğu, bunların 23'ünde dissemine, 43'ünde lokalize hastalık saptandığı, en sıklıkla tutulan organın akciğerler olduğu, en sık karşılaşılan altta yatan hastalığın lösemi olduğu, risk faktörlerinin nötropeni, bağışıklık bozukluğu ve önceki antibiyotik tedavisi olarak belirlendiği, şiddetli tıbbi ve cerrahi takibe rağmen tanımı izleyen beş yıl içinde mortalitenin %85 olduğu bildirilmiştir.²

Anabilim Dalımız derin mikoz laboratuvarında 01 Nisan 1999-27 Mart 2001 arasında farklı kliniklerdeki derin mikoz şüpheli hastalardan alınarak gönderilen çeşitli materyallerden (n=377) ayrılan toplam 130 maya ve 12 hifli mantar kökeni (%8.5) arasında *Aspergillus* sp sıklığı *A. flavus* 4_(%33.3), *A.fumigatus* 2 (%16.6), *A.niger* 3 (%25), *A.versicolor* 1 (%8.3) olarak belirlenmiştir. İki *A.flavus* ve bir *A.niger* balgamdan, *A.versicolor* BAL'dan, *A.fumigatus* kulaktan ayrılmıştır.²⁷ *Aspergillus* türlerinin angiotropik oldukları, damar çeperlerine invaze olabildikleri, tromboz ve enfaktüse yol açtıkları bildirilmiştir. Bu mantarın virülens faktörleri üzerinde çalışılmakta, proteaz, elastaz, ribonükleotoksin ve siderforların infeksiyonu kolaylaştırabildiği üzerinde durulmaktadır.²⁸

Mikoloji

Taksonomi

Aspergillus cinsi Deuteromycota'daki hifomisetler arasında Moniliaceae ailesinde sınıf-

landırılır. Eşeyli (teleomorf) şekilleri Ascomycota'da Eurotiales takımında *Eurotium*, *Emericella*, *Neosartoria* ve diğer cinslerde yer almaktadır.

Tür tanımı

Aspergillus türlerinin sınıflandırılması kültür ve morfoloji özelliklerindeki farklılıklara dayanır; kimya ve biyokimya yöntemlerinin tanım değeri düşüktür. *Aspergillus* hücre duvarlarında N-asetilglukozamin, glukoz, mannoz ve galaktoz bulunduğu belirlenmiştir. Moleküler biyoloji ve genetik yaklaşımlar daha güvenilir bulunmaktaysa da henüz bilgi birikimi yeterli değildir.^{3,9,19,20}

Tanım için hazırlanmış anahtarların dayandırıldığı esas özellikler şunlardır.

Konidili başların biçimi ve rengi

Sterigmata (fiyalidler) sayısı

Vezikül biçimi

Konidyoforların yapı ve rengi

Hülle cells (dinlenme hücreleri) biçimi

Tür tanımı için üreme yapıları, cleistothecia (eşeyli sporların üretildiği tam kapalı askokarplar) bulunup bulunmadığı, askosporların ve konidilerin biçimi, boyut ve renkleri gibi özellikler kullanılır. Tanım için tarif edilmiş standart besiyerleri Czapek Dox agar (CD) (%3 sukroz) ve %2 Malt Özüğü agar (MEA)'dir. *A. glaucus* ve *A. restrictus* grupları gibi ozomofilik türler tanıma uygun gelişme ve konidyumlanma için yüksek (%20-40) glukoz veya sukroz yoğunluğuna gerek duyarlar.^{9,20} Çeşitli sistematikçiler ve araştırmacıların küf çalışmalarında bazı görüş ayrılıkları vardır. Samson bir kısım küfler için besiyerlerine pepton eklenmesini, bu maddenin koloni formlarında doğal özelliklerinden sapmalara sebep olduğunu öne sürerken Pitt, tanımda peptonlu Malt agara yer vermiştir.²⁰ Diğer yandan küflerde çıplak gözle ve/veya mikroskoptaki görünüşleri birbirine yakın benzerlikler gösteren durumlarla oldukça sık karşılaşılır. Mantarlarda tanım ve tiplendirmenin deneyim ve birikim gerektirdiği kabul edilmektedir.^{9,29}

Genelde bu cinsin üyeleri hızlı gelişirlerse de gelişme hızları değişiktir ve türlerin ayrıt

edilmesinde önem taşır. Tanım için tarif edilmiş besiyerlerinde, sıcaklık ve ışık bakımından standart koşullar altında belirli bir gündeki koloni çapı ve kadifemsi, pamuksu, yünsü, taneçikli, kubbemsi, yassı gibi koloninin makroskobik görünümü tanım için kullanılır. Koloni rengi tanım için kabul edilmiş standart renk skalalarıyla karşılaştırılarak belirlenir.¹⁸⁻²⁰

Morfoloji

Koloniler ekseri hızlı gelişirler; renkleri türlere ve gelişme koşullarına bağlı olarak beyaz, sarı, sarımsı kahverengi, siyaha yakın kahverengi, kırmızı veya yeşil tonlarında harelidir; sık konidyoforların oluşturduğu bir keçe görünümündedir. Konloni rengi daima, vejetatif hiflerin, konidyumlu başların ve varsa eşeyli yapıların rengine bağlıdır. Besiyerine dağılan pigment üretebilirler ve bu pigmentin rengi koloninin hava miselli kısmının renginden farklı olabilir.

Şekil 1. *Aspergillus* cinsinde morfolojik yapılar.²⁰

Hifler bölmelidir, ince veya kalın olabilir; hif hücreleri ekseri çok çekirdeklidir. Miselyum birçok enzimler ve bazı mikotoksinler üretme yeteneğine sahiptir. Vejetatif hifin "a-

yak hücreleri” denen özelleşmiş bir hücrelerinden dik olarak çıkan konidyofor denen konidyum taşıyıcı hiflerin ucu şişkinleşmiştir, yukarı doğru oluşturdukları yuvarlak veya oval biçimdeki baş kısmına “vezikül” adı verilir. Vezikül üzerindeki üreyimli alan türlere göre farklıdır ve bu özellik tür tanımında kullanılır. Konidyum yapıcı hücreler olan “fiyalidler” ya doğrudan vezikülün üzerinde (uniseriate) veya metulların üzerinde (biseriate) doğarlar ve altındaki sap (stibe) denilen hücre ile birlikte konidyumlu baş denen tipik görünümü oluştururlar (Şekil 1, 2a, b). Konidyoforun uzunluğu; bölmeli, bölmesiz veya dallanmış oluşu ve duvarının düz, pürtüklü, dikenli olması gibi özellikleri türlere göre farklıdır.

Yeni bir duvarla sarılmış olan konidyumların oluşumu sırasında konidyum yapıcı hücrenin (fiyalid) kendisi büyümmez ve bunun dış tabakası konidyumu örtmek üzere uzamaz (entroblastik gelişim). Konidyumlar ardarda dizilerek tesbih şeklinde zincirler oluştururlar ve böyle bir zincirde en genç hücre en diptekidir. Konidyum zincirleri ya tıkız sütunlar halinde (kolonvari) veya yayınık (ışımsal)’dır (Şekil 3 a,b,c,d). Konidyumlar bir hücreli, duvarları düz veya pürüzlü, dikenli; seffaf veya pigmentli olabilirler. Bazı türler “hülle cells” denen dinlenme hücreleri veya sklerot denen tıkız hif kitleleri üretirler. Bu özellikler türlerin ayırımında önem taşır. Teleomorfların tanımında olgunlaşmış klaystotesyum, ask ve askosporların biçimleri ve renkleri önem taşır.^{9,18-20,30} (Şekil 4 a,b).

Patogenez

Derin mikozlara sebep olabilen patojen mantarlar konak dokusundaki kısıtlanmış koşullarda gelişmelerini ve parazit bir ilişki kurarak hastalık geliştirmelerini sağlayan bir kısım faktörlere sahiptir. Virülens faktörleri olarak bilinen bu faktörler infeksiyon sürecini uyarır ve mikozun patogenezini belirleyici rol oynarlar. Hifomisetlerde belirlenen virülens faktörleri sıcaklık toleransı, dimorfizm, kapsül veya hücre duvarı bileşikleri ve enzim üretimidir. Virülens faktörleri mantarın adezyonunu, kolonizasyonunu, dissemine olmasını ve konak ortamında canlılığını sürdürmesini sağlar ve konağın bağışık yanıt mekanizmalarını etkisizleştirmeye çalışır. Mantarın sahip olduğu virülens faktörleri ile konağın savunma mekanizmaları arasındaki karmaşık ilişkiler derin mikozların patogenezinde rol oynarlar.²⁸

Mantarla ilgili faktörler

Aspergillus’lar konak vücuduna girdiğinde (i) solunan mantar elemanlarına karşı alerjik yanıt oluşabilir, (ii) vücut içindeki hava boşluklarında kolonizasyon ve (iii) dokuya invaze olabilir. *Aspergillus*’lar konak dokusuna girebilmek için insanın solunum yolları epitellerine yapışabilmeli ve nüfuz edebilmeli; etrafındaki hücreleri, özellikle *Aspergillus*’lara karşı konak savunmasında rol alan fagositoz yapıcı hücreleri öldürmeli ve konak dokusundaki koşullara uyum sağlayarak gelişmelidir.^{3,21} *Aspergillus*’ların patogenezini ile ilgili çalışmalar,

Şekil 3. Farklı tipte konidyumlu başlardan örnekler (a) *A.fumigatus* (x 420); (b) *A.parasiticus* (x 1000) (c) *A.affusus* (x 1000); (d) *A.niger* (x1000) (Pamuk mavili laktofenol boyalı preparatlar) (Mikrofotografi Kantarcioğlu A.S).

Şekil 4. Teleomorf cinslerinde üretilen yapılardan örnekler (a) *Emericella nidulans*; (b) *Eurothium amstelodami* (Pamuk mavili laktofenol boyalı preparatlar) (x 1000) (Mikrofotografi Kantarcioğlu AS).

en sık karşılaşılan başlıca tür olan *A.fumigatus* prototipi üzerinde yoğunlaşmıştır.

-Sıcaklık toleransı: Bir kısım *Aspergillus* türleri 37°C'de gelişme yeteneğinden yoksun-

dur; bu özellik patojen olan türleri olmayanlardan ayırt etmekte yararlıdır.

-Gelişme hızı: Mantarın gelişme hızı hastalık geliştirme ve patojenite ile ilişkili görül-

mektedir. En hızlı gelişen tür *A. fumigatus* olup 37°C'de çimlenme hızı besiyerine bağlı olarak 5-12 saattir. *In vitro* uygun nem ve sıcaklıkta bırakılan konidyumlar ilk hacminin yaklaşık 4-8 katı şişer. Hücre duvarındaki hidrofobik protein örtünün yerini başka bir tabaka alır. Hif oluşmaya başladığında logaritmik gelişme fazı başlar. *In vitro* hif uzaması ve tüm mantar kitlesinin logaritmik olarak artışı yaklaşık 24 saat sürer, daha sonra gelişme hızı aynı kalır. Hiflerin dallanması erken başlar ve *in vitro* çalkalanarak bekletildiğinde birçok küçük toplar halini alır. Statik kültürlerde ise tipik olarak miselli bir keçe görünümü oluşur ve bu gelişme tipleri her izolatanın dallanma karakteristiklerini yansıtabilir. Hidrokortizon yoğunluğunun *A. fumigatus* ve *A. glaucus*'da gelişme hızını %30-40 artırdığı gösterilmiştir. *A. fumigatus*'da hif uzatma hızı 1-2 cm/saat olarak belirlenmiştir.²¹ Kiti sintetazla ilgili bir gen olan CHSG'den yoksun olan bir mutantın radyal gelişme hızının ve virulansının azaldığı gösterilmiştir. Ancak diğer hücre duvarı değişikliğe uğratılmış mutantlar fare deneylerinde ebeveyn kökenle karşılaştırılabilir mortaliteye sebep olmuşlar, böylece hiflerin dallanmasının ve gelişme hızının IA'daki rolü kuşkuyla kalmıştır.³

-Konidyum boyutu: *Aspergillus* konidyumları solunumla alındığında akciğerdeki alveollere ulaşabilecek kadar küçüktür (2-5 µm) ve dokuya kolayca nüfuz edebilirler. Konidyumlar, hidrofobik protein tabakası sayesinde olağandışı atmosfer koşullarına dayanma yeteneğindedir. Bu tabaka olasılıkla konağın savunma mekanizmalarına karşı koymakta da rol oynamaktadır. Patojen türler içerisinde *A. fumigatus* laminini ve fibrinojeni etkili biçimde bağlar ve invazyondan önce mantar elemanlarının konağın hava yollarına daha fazla adezyonunu sağlar.^{3,21} Bu durumun, konidyum çapı 5 µm olan *A. niger*'in daha düşük virulansa sahip olmasının sebebi olduğu öne sürülmüş, ancak verilerin bunu doğrulamaya yeterli olmadığı da vurgulanmıştır.³¹

-Adezinler: Konidyumlar; fibrinojen, laminin, komplement, fibronektin, albümin, kollajen ve surfaktan proteinler gibi konağın membranla ilgili çeşitli proteinlerini yüzeysel olarak

bağlarlar.³²⁻⁴⁰ Bu bağlanma özgül olmayan fizikokimya etkileşimleri ve/veya özgül reseptör-legand tanıma ile gerçekleşir. *A. fumigatus* konidyumlarının en dış tabakası hidrofobik proteinlerden (hidrofobinler) oluşur ve konidyumlara hidrofobik özellik kazandırır. *A. fumigatus*'un çimlenen konidyumlarında ve miselyumunda hidrofobik proteinler bulunduğu belirlenmişse de bunların yapısı ve rolleri henüz tam olarak ortaya konmamıştır. Konidyumların yüzeyindeki karbonhidrat ve protein molekülleri konak proteinlerine spesifik olarak bağlanırlar. Fibrinojen, laminin, fibronektin ve komplement bağları konidyumun iç ve dış duvar tabakalarıyla ilgilidir ve her protein farklı bir yerleşim gösterir. Bugüne kadar *A. fumigatus* adezinlerinin hiçbirisi tanımlanmamıştır; ancak *in vitro* aderens deneylerinde bu mantarın konidyumlarının akciğer hücrelerine özgül olarak bağlandığı gösterilmiştir.^{3,26}

-Pigmentler: Pigmentten yoksun olan *A. fumigatus*'un yabancı tip kökenlerinin yeşil konidyumlu olan kökenlerden daha az patojen olduğu belirlenmiştir. Dehidroksinaftalen melanin biosentezinde işlev gören iki gen ALB1 ve ARP1 yeni klonlanmıştır. İsojenik pigment-siz mutantların kullanılması da yabancı tip pigment-siz kökenlerle elde edilen verileri doğrulamıştır.³ Beyaz renkli *A. fumigatus* konidyumları komplementle daha hırslı bağlanır; duvarları daha fazla permeabl'dir ve antifungallere daha duyarlıdır.⁴¹ Bu bulgular daha önce dematiaceous mantarlar ve melanin üreten bir maya olan *Cryptococcus neoformans* ile ilgili bilgileri, melaninin hücreleri konak savunmasından koruduğunu, böylece kökenlerin *in vivo* canlı kalma sürelerini uzattığını⁴² hatırlatmaktadır. Ancak bunun hastalığıdaki etkisi azdır, çünkü yabancı tip kökenlerin çoğunun konidyumları yeşildir ve invaze olan miselleri hiyalendir. Ayrıca steroid uygulanmış farelere inokule edilen pigment-siz konidiler de IA'a yol açabildikleri gösterilmiştir.³

-Toksik moleküller: *A. fumigatus* birkaç toksik ikincil metabolit üretir; bunlardan en çok çalışılmış olanı gliotoksindir. Bu molekül akut olarak toksiktir ve geniş ölçüde bağışıklığı baskılayıcı özelliğe sahiptir. Bu özellikleri do-

layısıyla gliotoksinin kemikiliği transplantasyonu yapılmış hastaların tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmektedir. Gliotoksinin makrofaj ve nötrofil fagositozunu önlediği; B ve T hücre aktivasyonunu bloke ettiği gösterilmiş ancak patogeneze katılıp katılmadığı henüz belirlenmemiştir.^{3,43} İnfekte olmuş hayvanlarda ve insanlarda bulunmuş olan miktarı *en az in vitro* etkisinin görülmesi için gerekli olan kadardır. Bu mantarın diğer toksik ikincil metabolitleri de epitel yüzeyine tutunma süresini uzatmaya yarar⁴⁴, invazyonu uyarabilirler³; ancak bunları üretmeyen *Aspergillus*'lar da patojen olabildikleri için bunların rolü henüz tartışmalıdır. Bunlara ek olarak toksik etkili 18-kDa RNaz ve 30 kDa hemolizin üretmektedir. Bunlardan 18-kDa RNaz ASPF1 veya restriktosin olarak da bilinmektedir. Bu molekül konidyumların hücre duvarında bulunur ve IA'lu hastaların idrarında ve dokuda da salgılanmaktadır olduğu, dokuda mantarın etrafını çevreleyen nekrozlu bölgelerde de bulunduğu belirlenmiştir ve son derecede güçlü toksisiteye sahiptir. Bu molekülün *A.fumigatus*'un patojenliğindeki rolü hakkında tartışmalı birkaç görüş bulunmaktadır; (i) *A.flavus* da dahil tıp bakımından önemli diğer *Aspergillus* türleri bu molekülü sentezlemezlerken patojen olmayan türler üretirler; (ii) bu proteinin hayvanlara mg miktarlarda enjeksiyonu toksik şokla sonuçlanmaktadır; (iii) ASPF1 geni tahrip edilmiş bir mutantın fare akciğer dokusundaki gelişmesi ve mortalitesi ebeveyn kökenlerden ayırt edilememektedir. Hemolizin, *A.fumigatus*'un hemolitik bileşimidir; deney aspergillozunda belirlenmiştir. Bu proteine atfedilen çoğul biyolojik işlevlerin *A.fumigatus* gelişmesini artırabileceği öne sürülmekteyse de bunu ispatlayacak deneyler yapılmamıştır.³ Ftioik asit de çok sayıda *A. fumigatus* kökeni tarafından üretilir ve granulom oluşumunda rol alır, olasılıkla başlıca virulans faktörlerinden biri olduğu öne sürülmektedir.

-Enzimler: Patojen herhangi bir mantarın konağın dokusunda ilerleyebilmesi için bazı enzimlere sahip olması gerekir. Akciğerin matrisi başlıca elastin ve kollajenden oluştuğu için elastogenolitik ve kollajenolitik enzimler başlıca rolü oynayacaktır.⁴⁵ *A.fumigatus*'da bu-

lunan çeşitli proteazlar^{3,46}, ribotoksin²¹, fosfolipazlar^{3,47}, bir hemolizin^{3,21}, ve diğer toksinler³ gibi çeşitli virülens faktörleri sayılmaktadır. Bu mantarın alkali proteazları (elastaz) hayvan modeli deneylerinde incelenmiş ve IA'daki önemleri gösterilememiştir.^{3,21} Fakat bir proteaz akciğer epitel hücrelerine yapışmayı artırmaktadır.⁴⁸ Benzer şekilde ribotoksinin de aspergilloz patogenezinde önemi gösterilememiştir.^{3,21} *A.fumigatus*'un en az dört farklı fosfolipaz ürettiği belirlenmişse de henüz bunların IA'un patogeneze katılıp katılmadığı doğrulanmamıştır.⁴⁷ Başka *Aspergillus* türlerinin fosfolipaz üretilip üretilmediği bilinmemektedir.²¹ *Candida*'ların ürettiği fosfolipazların konak dokusunu tahrip ettikleri belirlenmiştir.⁴⁹ *Aspergillus*'ların bir miktar süperoksitdismutazlar⁵⁰, en az iki katalaz^{3,21,50} ve manitol^{21,51} ürettikleri belirlenmiştir; bu maddeler mantarı oksijen molekülünün, hidrojenperoksit, hidroksil radikallerlerinin ve fagositler tarafından üretilen diğer serbest radikallerinin tahribinden koruyabilirler.²¹

Bugüne kadar biriken veriler *Aspergillus*'ların virulansının çok faktörlü olduğuna işaret etmektedir ve deneyler, melanin dışında öngörülen virulans faktörlerinin yalnız başına denendiği zamanki etkisinin diğer *Aspergillus* molekülleriyle birlikte ortaya çıkan etkisinden farklı olduğunu göstermiştir.

Konakla ilgili faktörler

Köpek, at, kuşlarda da aspergilloz geliştiren *A.fumigatus*'un bilinen bir bağışıklık yetersizliği bulunmaksızın insanda hastalandırıcı olabildiği saptanmıştır.²¹ Aynı zamanda bağışıklığı baskılanmış hastaların başta gelen patojenlerinden olan *A. fumigatus*, artık bundan böyle hayvan ve insanların primer patojen (yeterli sayıda mantar elemanı alındığında sağlam konaklarda hastalığa yol açabilen) mantarları arasında düşünülmeye başlanmıştır.

Konak savunması: Burunda ve akciğerlerde *Aspergillus*'lara karşı ilk immunolojik savunma hattı konidyumları içeri alarak öldüren makrofajlardır. Hifler başlıca nötrofiller tarafından öldürülür, monositler ve makrofajlar da bu işleme katılır. Sporlar ve hifler komplemantı bağlarlar ancak hifler içeri alınmayacak ka-

dar büyük olduklarından öldürme işlemi hücre dışında gerçekleşir. Bakterilerde ve *Candida*'lar gibi mayalarda ise durum tam tersinedir, mantar ilk önce içeri alınır. Aspergillozlu bir hastada histolojik yanıt, bağışıklığa bağlı olarak granümatöz yanıtta hiflerle girift haldeki ciddi nekroza kadar olabilir. AIDS'lilerde ve kronik granümatöz hastalıkta nötropeni ve nötrofil fonksiyon bozuklukları IA için önemli risk faktörleridir; fakat farklı patolojiler görülür. Sitokinlerin, kortikosteroidlerin de işe karışması olayı daha da karmaşık yapar. Kortikosteroidler makrofajların *Aspergillus* sporlarını, nötrofillerin ve mononükleer hücrelerin de hifleri öldürmesini bozar.^{52,53} Bu olumsuz etkinin bir dereceye kadar granülosit-koloni stimüle edici faktörle tedavi edilerek veya (*in vitro*) granülosit-makrofaj koloni-stimüle edici faktörle muamele edilerek azaltılabildiği öne sürülmüştür.⁵³ Veriler, T hücre işlevinin de, özellikle IA'un kronik şekillerinde önemli olduğunu göstermektedir. IA modellerinde nötrofil fonksiyon bozukluğu ve yardımcı T hücreleri arasında etkileşim bulunduğu gözlemlenmiştir. Kısmen makrofajlar aracılığıyla olmak üzere edinilmiş bağışıklıkla ilgili veriler de ortaya konmaktadır.⁵⁴ Aspergillozda kazanılmış bağışıklıkla ilgili bildirimler gözden geçirildiğinde mantar enfeksiyonuna direncin IL-2, IL12 ve gamma interferon düzeyinin artışıyla ilgili olduğu, fakat mekanizmasının tam olarak bilinmediği ortaya konmuştur. Kortikosteroidler gibi bağışıklık baskılayıcı ilaçların aspergilloza yakalanma riskini artırdığı bilinmektedir. Hayvan deneylerinde glukokortikoidlerle işlem görmüş makrofajların konidyumları öldürme etkinliğinin azaldığı gösterilmiştir.²⁶

İnokulum ve inkübasyon periyodu: IA gelişmesi; duyarlı bir konağın yeterli inokulumla karşılaşmasına bağlıdır. *Aspergillus*'lar için infekte edici inokulumun ne olduğu tam bilinmemekle beraber bunun konağa bağlı olduğu söylenebilir. İnokulumla karşılaşma ve hastalığın gelişme süresi de tam olarak açıklık kazanmamıştır. Kalp transplantasyonu yapılmış bir hastada bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısından *Aspergillus* ayrılması ve dissemine aspergilloz gelişmesi için geçen sürenin üç hafta olduğu belgelendirilmiştir. Nötropenik has-

taların bir çoğunda hastaneye girdikten sonra sinüs veya hava yolunda *Aspergillus* kolonizasyonu gelişmekle beraber; IA'un derin nötropeninin onikinci gününden önce başlamadığına da dikkat çekilmektedir. Laparotomi yapılmış bir hasta bir hastaneden diğerine nakledildikten 48 saat sonra *A.fumigatus* ile infekte olmuş, DNA tiplendirmesi ile etken organizmanın gittiği hastanenin yoğun bakım ünitesinin havasında bulunduğu saptanmış ve bu bulgu inkübasyon periyodunun çok kısa olabileceğini göstermiştir.⁵⁵

Sonuç olarak, patojene özgü virulens faktörleri ile konağın savunma mekanizması hakkındaki bilgiler henüz tam değildir. Akciğerlerde; mantarla karşılaşma, kişinin vücut direnci ve akciğerlerin durumu hastalığın seyrini ve şiddetini belirlemektedir. Astımlı hastalarda ve kistik fibrözlerde alerjik bronkopulmoner aspergilloz görülürken; akciğerde önceden kaviteler bulunanlarda kavite içinde aspergilloma denen mantar kitlesi gelişebilmekte; aspergilloma ve kronik nekrotize akciğer aspergillozunda bir komplikasyon olarak *Aspergillus* empiyemi görülebilmektedir.⁵⁶

İnvaziv aspergilloz (IA) tanımında yeni gelişmeler

Derin mikozların özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda mortalite oranının ve hızının yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Bu enfeksiyonlarda erken tanımla yönlenecek tedavi önem taşımaktadır. Genelde invaziv mantar enfeksiyonlarının tanımı klinik bulgularla laboratuvar tanımının birleştirilmesine dayanır ancak mikozların klinik belirtileri ekseri özgül değildir ve başka hastalıklarla karışabilir; erken laboratuvar tanımı da oldukça güçtür. Derin mikozlarda standart laboratuvar tanımı etkenin hasta materyallerdeki varlığının mikroskopta saptanması ve kültürde üretilerek olabildiğince tür düzeyinde tanımlanmasına dayanmaktadır. Derin mikoz laboratuvarlarında kontaminasyonun önlenmesi olmazsa olmaz bir ön koşuldur; diğer yandan üretilen mantarın flora üyelerinden ayırt edilebilmesi, laboratuvar bulgularının enfeksiyona işaret edip etmediğinin bir öngörü halinde belirlenebilmesi önem taşıyacaktır.

Histolojik tanım bunu destekleyebilirse de bu olarak ekseri post-mortem olmaktadır. Ayrıca histolojik tanım mikoz varlığını gösterirken enfeksiyonun tanımı açısından duyarlılığı ve özgülüğü çok sınırlıdır.

celeme; (a) Balgam örneğinden doğrudan Gram boyası ile boyayarak yapılan mikroskop preparatında gözlemlenen mantar elemanları (x 4000), (b) Balgam örneğinden doğrudan Eherlich-Ziehl-Nielsen yöntemi ile boyayarak yapılan mikroskop preparatında gözlemlenen mantar elemanları (x4000), (c) örneğin ekildiği çeşitli besiyerlerinde gelişen ilk koloniler (*A.niger*) (Mikrofotografi Kantarcıoğlu A.S).

IA'un laboratuvar tanımı da büyük ölçüde mikroskop ve kültür bulgularının birleştirilmesi şeklindeki standart yöntemle yapılmaktadır.^{9,57,58} (Şekil 5 a,b,c ve 6 a,b,c). IA'da kan kültürlerinin nadiren pozitif olduğu ve etkenin ancak hastanın ölümünden hemen önce saptanabildiği; BAL sıvısı kültürlerinin de yalnızca hastalığın ilerlemiş aşamalarında pozitif olduğu bildirilmektedir.^{59,60} Mantarın dokuya inza ve olup olmadığı biyopsi örneklerinin histolojik incelenmesi ile ortaya konulabilir.^{3,9}

Bağışıklığı baskılanmış hastalarda invaziv akciğer aspergillozunun tanımında solunum yolu örnekleri kültürlerinin kullanılmasının değerinin araştırıldığı bir çalışmada, biyopsi örneği alınmaksızın klinik ve radyografi bulgularından yararlanılarak alt solunum yolu örnekleri ile çalışılmış ve rutin mikrobiyolojik kültür ile mikoloji kültür çalışması sonuçları da karşılaştırılmıştır. *Aspergillus* kültürleri kesin, büyük olasılıkla, orta derecede olasılıkla enfeksiyon ve invaziv akciğer enfeksiyonu olmayan şekilde dört grupta sınıflandırılarak değerlendirilmiştir. Mantar için kültür yapılması rutin mikrobiyoloji kültüründen anlamlı olarak daha sıklıkla pozitif sonuç vermiş (P<0.001); infekte olmuş kişilerde infekte olmamışlara göre klinik ve radyolojik bulguların varlığı daha sık olmuştur (%59 ve %24). Sonuç olarak yüksek risk grubu hastaların örneklerinden mikolojik çalışma ile *Aspergillus* ayrılmasının IA ile ilişkili olacağı, klinik ve radyografik bulguların yalancı pozitiflikleri ayırt etmekte kullanılabileceği görüşüne varılmıştır.⁶⁰

Bağışıklığı baskılanmış hastalarda mantar kolonizasyonunun enfeksiyondan ayırt edilmesi güç olmakla birlikte kolonizasyonun hızla enfeksiyona dönüşebileceği ve vücuda yayılma eğilimi gösterebileceği dikkate alınarak risk altındaki hastaların serum örneklerinde haftada iki kez antijen aranması da önerilebilmektedir.

Şekil 5. Diabetik, üç yıl önce geçirilmiş tüberkülozu olan 60 yaşındaki erkek hastada (AA, protokol no.46) akciğer aspergillozu laboratuvar tanımı için üç kez tekrarlanan in-

Bu tip hastalarda antikor gelişmesi zayıf olduğundan, antikor belirlenmesi ile ilgili yöntemlerin erken tanımı sağlayamadığı belirtilmektedir. Deneyimler *Aspergillus* infeksiyonlarının PCR'a dayalı tanımının güç olduğunu göstermektedir. Kan ve serumda *Aspergillus* DNA'sının belirlenmesinin ise ancak konvansiyonel metodları tamamlayıcı olarak düşünülmesi gerektiği; plazmada β -glukan belirlenmesi için enzim immunoeseylemlerin klinik için yararı bulunmadığı bildirilmektedir.²⁶

Zigomisetler ve bir dereceye kadar kriptokoklar dışındaki mantarların hücre duvarının karakteristik bir bileşiği olan (13)- β -D-glukan prokaryonlularla virüslerde bulunmayan bir polisakkarit olduğundan, bunun kan ve diğer steril vücut sıvılarında saptanabilmesinin sistemik mikozların belirlenmesinde iyi bir gösterge olabileceği düşünülmüştür. Bu yöntem tedavi altındaki 200 hematolojik malinyiteli hastada denenmiş, duyarlılığı %90, özgüllüğü %100 bulunmuştur. Ancak *Candida* ve *Aspergillus*'lar dahil çok geniş bir mantar yelpazesinde reaksiyon elde edilmekte ve genel olarak bir mikoz varlığını göstermektedir.^{61, 62}

Serum, idrar, BAL, perikart sıvısı ve beyin omurilik sıvısı gibi vücut sıvılarında *Aspergillus* antijenlerinin ve öncelikle hücre duvarındaki galaktomannanın (GM) belirlenmesinin tanım koymaya yardımcı olabileceği fakat deneylerin çoğunda duyarlılığın düşük olmasının sorun oluşturduğu vurgulanmaktadır. Sandviç ELİSA tekniği ile GM belirlenmesi sınırı serumda 0.5-1.0 ng/ml GM; özgüllüğü %81-93 ve duyarlılığı %50-90 arasında olarak bildirilmektedir. GM; hastada klinik belirtiler ve radyolojik bulgular ortaya konmadan önce belirlenebilmektedir. Ancak yalancı pozitif ve yalancı negatif reaksiyonlar bildirilmektedir. Yalancı negatif sonuçların; hastalığı belgelendirilmiş olanların %8-10'unda görüldüğü ve bunun sebebinin bilinmediği; olasılıkla çeşitli *Aspergillus* kökenlerinde GM üretim yeteneğinin farklı düzeyde olması ile ilgili olabileceği öne sürülmektedir. Diğer yandan bu yöntemin IA'lu olmayan yenidoğanlarda hayli yüksek yalancı pozitif sonuçlar verdiği yazılmıştır.^{26, 62}

Şekil 6. Hematolojik maligniteli 61 yaşındaki erkek hastada (TD, protokol no.250) akciğer aspergillozu laboratuvar tanımı için yapılan inceleme; (a) BAL örneğinden doğrudan Eherlich-Ziehl-Nielsen yöntemi ile boyayarak yapılan mikroskop preparatında gözlemlenen mantar elemanları (x4000), (b) *A.versicolor*, mikroskop için yapılan kültür preparatında gözlemlenen konidyumlu baş (x1000), (c) ileri tanım için CDA ve MEA besiyerlerinde yapılan üç nokta şeklindeki ekimlerde gelişen *A.versicolor* kolonilerinin üstten görünümü (Mikrofotografi Kantarcıoğlu A.S).

Paris'te Saint Louis Hastanesi Hematoloji Servisi'nde yatan 347 çocuk ile kemik iliği transplantasyonu yapılmış 450 hastada IA tanımı için GM belirlenmesinin özgülüğü ve duyarlılığı araştırılmış; özgülüğünün %94, duyarlılığının %90.6 olarak bulunduğu ve en az artarda iki örnekte titre artışının tanım için değer taşıyacağı öne sürülmüştür.¹⁷ Uzun süreli nötropeni olan veya transplantasyon yapılmış hastalarda IA tanımı için GM aranmasının değerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada duyarlılığın %89.9, yalancı pozitif reaksiyonların oranı %14 olarak belirlenmiş; *Aspergillus* dışındaki mantarlara bağlı mikozlar da göz önünde tutularak bu yöntemle tanımın kesinliği için daha fazla araştırılma yapılması gerektiği vurgulanmıştır.⁶³ Verveij ve ark ise⁶² invaziv pulmoner aspergilloz ve kronik granülomatöz hastalıklı bir olguda, apsede yüksek oranda *Aspergillus* antijeni belirlendiğini fakat serumda bu mantarla ilgili antijen ve DNA belirlenemediğini bildirmişlerdir.

Tokyo Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji ve Onkoloji Birimi'nde merkez sinir sistemi aspergillozunun erken tanımı için beyin apsesi bulunan beş hasta ile kontrol grubunu oluşturan 11 hastanın BOS örneklerinin lateks agglütinasyon deneyi, PCR ve ELISA yöntemleri ile incelenmesinin değeri araştırılmıştır. Tüm hastaların BOS kültürleri negatif kalmış, diğer üç yöntemde pozitif sonuç vermiş, kontrol grubunda hiç pozitif sonuç elde edilmemiş; bu yöntemlerin yararlı olabileceği görüşüne varıldığı bildirilmiştir.⁶⁴ Ancak bu çalışmada deney grubunun küçüklüğü ve BOS örneklerinden hifli mantarları üretmenin daima zor olduğu da kanımızca göz önünde tutulmalıdır.

Hematolojik malinyiteli hastalarda aspergillozun PCR ve seroloji yöntemleriyle tanımının karşılaştırıldığı bir çalışmada PCR tekniklerinin çok daha duyarlı ve klinik bulgularla uyumlu olduğu bildirilmiştir.⁵⁹ Hematolojik malinyiteli hastalarda IA'un erken tanımı için metotların ve en iyi örnekleme yönteminin araştırıldığı bir başka çalışmada ise klinik, mikrobiyolojik ve histolojik veriler değerlendirilmiş, antijen belirlenmesi için lateks agglütinasyonu ve sandviç ELISA teknikleri ile PCR

testleri kullanılmıştır. Sandviç ELISA'nın basit, etkili ve hızlı bir tarama testi olduğu, PCR tekniklerinin de erken tanıma olanak verdiği gözlemlenmiştir.⁶⁵

A.fumigatus'a bağlı aspergillozlu hastalarda serolojik tanım için rekombinant proteinlerden yararlanılması da araştırılmış; bu türün salgıladığı 18 kDa'luk bir protein olan Mitogillin'in varlığı gösterilmiştir. Bu protein saflaştırılmış ve aspergilloma, aspergilloz, IA'lu hastaların serum örneklerinde IgG, IgM ve IgA antikörlerini belirlemek için standart bir antijen olarak kullanılması denenmiş; mitogilline karşı IgG antikör üretimi ile hastalığın seyri arasında yüksek derecede korelasyon gözlemlenerek bu teknolojinin geliştirilmesinin yararlı olabileceği öne sürülmüştür.²⁶

IA, infeksiyonluların hastalığın erken dönemlerinde tanımlanmasının güçlüğü sebebiyle yıkıcı bir hastalık olarak kabul edilmekte ve erken ve doğru tanımın gerekliliği üzerinde durulmaktadır. Nötropenik hastalarda bilgisayarlı tomografinin oldukça yardımcı olduğu, yüksek risk grubu hastalarda mantar ürünlerinin erken dönemde belirlenebilmesi için çalışıldığı, ancak bu konuda bugün için birçok sorunun cevaplanmamış olduğu belirtilmektedir.⁶¹

Hematoloji hastalarında EORTC çok merkezli invaziv aspergilloz prospektif araştırmasının sonuçları

Derin mantar infeksiyonlarının epidemiyolojisi, tanımı ve tedavisine ilişkin yayınlanmış çok sayıdaki çeşitli araştırmalarda farklı belirlemeler ve tanım kriterleri uygulanmış olduğundan sonuçların yorumlanmasında güçlükler bulunduğu gerçeğinden hareketle EORTC/IFICG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invazive Fungal Infections Co-operative Group) başışıklığı baskılanmış hastalardaki derin mantar infeksiyonlarının belirlenmesinde ortak bir anlaşmanın oluşturması projesini başlatmıştır. Bu projede standartlaştırılmış araştırma koşulları belirlenerek karşılaştırılabilir protokoller ve tedavi yaklaşımları geliştirerek karmaşıklığı önlemektir. Yapılan çalışmada derin mikozlarla ilgili lite-

ratürler sistematik olarak taranmış, kullanılan belirleyici terimlerle tanım kriterleri incelenmiş, Avrupa ve Kuzey Amerika'lı otoritelerce biranlaşmaya varılmıştır. Genel eğilim dikkate alınarak tanım kriterleri "ispatlanmış" (proven), "olasılığı yüksek" (probable) ve "mümkün" (possible) olarak üç grupta toplanmıştır. İstatistiksel olarak tümünün güvenilirliği çok düşük bulunmuş, bu analizlerin sonuçları tıp literatüründe bağışıklığı baskılanmış hastalardaki derin mikozlarla ilgili tanım kriterlerinin standartlaştırılmasının gerekliliğine ışık tutmuştur.^{66,67} 3-6 Haziran 1999'da Almanya Dresden'de yapılan Avrupa Tıp Mikolojisi Konfederasyonu 5inci Kongresi (ECMM)'nde de uluslararası standardizasyon perspektifi ile Avrupa'nın görüşü ortaya konarak tartışılmıştır.^{68,69}

EORTC/IFICG tüm üyelerine kendi kuruluşlarında son 12 ayda tanımlanan IA olguları ile ilgili ayrıntılı sorular bulunan bir anket formu gönderilmiş ve 1030 yanıt alınarak teker teker değerlendirilmiştir. Olgular sekiz ülkedeki hastanelerden bildirilmiş olup kuruluşlara göre sayısı 1-21'dir. En sık karşılaşılan altta yatan hastalıkların akut miyeloid lösemi (60, %49), akut limfoblastik lösemi (21, %17) ve limfoma (11, %9) olduğu; hastaların 16'sına (%12) allojenik kemikiliği transplantasyonu yapılmış olduğu belirlenmiştir. Akciğer tutulumu %87, sinüs/burun enfeksiyonu %16, beyin tutulumu %8 olarak saptanmış; primer akciğer enfeksiyonlularda başlangıçta göğüs radyografisi normal olanların %9 oranında olduğu görülmüştür. Tanımların %50'si doğrulanmış, %31'i büyük olasılıkla (probable) ve %19'u mümkün (possible) aspergilloz olarak kabul edilmiştir. IA için delilleri yalnız klinik ve radyolojik bulgulara dayanan %28, kültüre dayanan %31, histolojik incelemeye dayanan %9, hem kültür hem de histolojiye dayanan tanım %29 olarak belirlenmiştir. 120 hastaya (%98) tedavi uygulanmış, amfoterisin B (amp B) %75, amp B'nin lipidli formülleri %36, itrakonazol (İTZ) %40, flusitozin %12, gelişme faktörleri %33, lobektomi %5 olarak saptanmıştır. IA tanımıyla veya ilk şüphelenilmesinden üç ay sonra 44 (%36) hastanın yaşamını sürdürdüğü ve 79 (%64)'ünün öldüğü anlaşılmıştır. En iyi

sonuç AML'lilerde (ölen %30, antifungale tam yanıt veya iyileşme %46) gözlemlenmiştir. Başlıca granülosit koloni stimüle edici faktör olmak üzere gelişme faktörlerinin iyileşmeye etkisi görülmemiştir (%0.99). Sayı az ve çalışma retrospektif olsa da bu sonuçlara göre IA'un tanım ve tedavisinin önemini sürdürdüğü, her durumda başarıyla uygulanabilecek tek bir tanım prosedürü bulunmadığı; cerrahi girişimler de dahil çok yönlü yaklaşımlar gerektiği; amp B, İTZ ve lipidli amp B ile başlangıç tedavisi yapılması arasında belirgin bir farklılık görülmediği düşünülmüştür.^{14,70}

Önlemler

Çeşitli *Aspergillus* türleri insanın tüm çevresinde, iç ve dış ortam havasında çok bol bulunurlar.^{2, 22-24} Hastane ortamlarında filtre edilmiş hava, havalandırma sistemleri, toz, halılar, su, yiyecekler ve süs bitkileri gibi çok sayıda rezervuar saptanmıştır. Çeşitli dezenfeksiyon araç ve yöntemlerine direnç gösterdikleri bilinen bu mantarlar yüksek risk grubu hastalar için ciddi bir risk oluşturmaktadırlar.^{15,71-73}

IA'lı hastaların çoğunda pnömoni görüldüğünden, hava kaynaklı sporların solunum yolu ile vücuda alınmasının vücut direnci kırık kişilerde doğrudan doğruya veya nazofaringeal kolonizasyonun ardından akciğer enfeksiyonuna sebep olacağı kuramlaştırılmıştır. Dolayısıyla en iyi stratejinin, kemikiliği transplantasyon ünitesi, ameliyathaneler gibi yüksek risk alanlarında ortam kontrolü sağlanarak bu tip hastaların *Aspergillus* konidyumlarıyla karşılaşmasını azaltmak olduğu; hastane ortamlarında iyi kaliteli hava sağlanmasının IA insidansını azaltacağı öne sürülmektedir. Hastanelerin riskli ünitelerinin tamirat ve temizlik işlerinin tozundan korunması, bu konuda personelin eğitilmesi gerektiği; yüksek riskli birimlerde HEPA filtreler ve laminar airflow kullanılmasının IA'ı azalttığı fakat tamamen yok edemediği de vurgulanmaktadır. Bir nozokomiyal aspergilloz olgusu saptandıktan sonra diğer olguların retrospektif olarak gözden geçirilmesi ve diğer olgular için prospektif araştırma yapılması önerilmektedir.⁷⁴

Hastane ortamındaki havada IA riskinin artacağı konidyum yoğunluğu sınır değeri henüz belirlenmemiş olmakla birlikte tahminen *Aspergillus* konidya yoğunluğunun ideal olarak 0.1-1 cfu/m³ olması, kabul edilebilirlik sınırının 5 cfu/m³'den az olması önerilmektedir. Hastane kaynaklı aspergilloz için kriter genetik olarak identik mantar kökeninin hastadan ve ortamdaki ayrılması olduğu, nozokomiyal aspergilloz bildirimlerinin değerlendirilmesinde dikkate alınması gerektiği; çünkü aspergilloz salgınları sırasında bile hastalardan aynı kökenle infekte olanların nadir olduğu; her hastanın etrafında son derecede farklı kökenler bulunduğu da vurgulanmaktadır.⁷⁴ Ortam örneklerinden ve invaziv hastalıklardan ayrılan *Aspergillus*'ların DNA düzeyinde karşılaştırılmasının yapıldığı çalışmalarda hastalardan ayrılan kökenlerle ortamdaki ayrılanlar arasında benzerlik bulunduğu gözlemlenmiş, ancak *Aspergillus*'larla ilgili bugünkü moleküler biyolojik veri tabanının yeterli olmadığı infeksiyonun kaynaklarını açıklayacak daha ileri çalışmalarının gerektiği sonucuna varılmıştır.^{2,25,26}

Antifungaller, direnç sorunu ve duyarlılık deneyleri

Genelde derin mikozlarda tedavi olanakları oldukça sınırlıdır. Klinikte kullanılmakta olan üç sınıftan antifungal maddeler amfoterisin B (ampB), 5-florositozin ve azollerdir. *Aspergillus*'lara etkili iki antifungal madde bulunmaktadır, ampB ve itraconazol (İTZ). Şiddetli yan etkilerine karşın geniş etki alanı sebebiyle amp B genelde sistemik mikozların tedavisinde altın standart olarak düşünülmektedir. İnvaziv aspergillozun AmpB tedavisinin genelde başarı oranının %34 olduğu, ancak hasta gruplarına göre de değiştiği bildirilmiştir. İtraconazole yanıtın da benzer oranlarda olduğu; dolayısıyla ağızdan ilaç alabilen ve sindirim sistemi sorunları olmayan hastalarda ilk seçeneğin İTZ olduğu yazılmıştır.^{21,41,75}

Amp B, mantarın hücre zarındaki ergosterole bağlanarak zarı kanallar oluşmasına sebep olarak zarın işlevini bozar ve sitoplazmadaki katyonların kaybedilmesine yol açarak etki gösterir. Ancak diğer steroller ergosterol ye-

rine geçerek dirence sebep olabilirler.^{9,76,77} İtraconazol ise mantar hücre zarındaki ergosterol sentezini sitokrom P-450'ye bağımlı α -demetilasyon aşamasında engelleyerek hücre zarının işlevini bozar.^{10,75}

A.fumigatus'da İTZ'e *in vitro* dirençle karşılaşmış ve hayvan modellerinde de doğrulanmıştır. Bu direncin sıklığının şimdilik düşük olduğu düşünülmektedir. Ancak farklı *Aspergillus* türlerinin İTZ'e duyarlılıklarının farklı olduğu dikkati çekmektedir. *A.flavus* ve *A.terreus* genelde *in vitro* olarak diğer türlerden daha duyarlı bulunmaktadır. Diğer yandan *in vitro* duyarlılık deneylerinde belirlenmemiş olmakla birlikte amp B'ye *in vivo* direnç gösteren *A.fumigatus* ve *A.terreus* kökenleri bildirilmektedir.⁷⁸⁻⁸⁰

A.fumigatus'un klinik kökenlerinde İTZ'e kazanılmış dirençle ilgili bildirimler de bulunmaktadır.^{80,81}

Anabilim Dalımız Derin Mikoz laboratuvarında 01 Nisan 1999-27 Mart 2001 arasında infeksiyon etkeni olarak ayrılmış olan yedi *Aspergillus* kökeninin NCCLS M38-P referans yöntemiyle yapılan duyarlılık deneylerinde bulunan *A.fumigatus* (n=1) MIC değerleri amp B karşısında 8 µg/ml, İTZ karşısında 32 µg/ml; *A. flavus* (n=2) MIC aralıkları amp B karşısında 16 µg/ml, İTZ karşısında 0.5-2 µg/ml, *A.niger* (n=3) MIC aralıkları amp B karşısında 4-8 µg/ml, İTZ karşısında 0.25-0.5 µg/ml, *A.versicolor* (n=1) MIC değerleri amp B karşısında <0.03 µg/ml, İTZ karşısında 1 µg/ml'dir.⁸²

Direnç gelişmesini önlemek için *Aspergillus*'ların kültürde üretilerek duyarlılık deneylerinin yapılması önerilmektedir. Ancak *in vitro* duyarlılık deneylerinde besiyeri, inokulum hazırlanması, inkübasyon süresi gibi koşullara bağlı olarak farklı MIC'ler elde edilebildiği hatırlanmalıdır. Titizlikle uygulanan standartlaştırılmış antifungal duyarlılık deneylerinde *Aspergillus* türleri için tekrarlanabilir duyarlılık sonuçları elde edilebildiği gösterilmiş ve böyle sonuçların klinik yanıtı işaret edebileceği bildirilmiştir.^{21,41,78,79}

İTZ *Aspergillus* türlerine *in vitro* en az amp B kadar etkili bulunmakta; ancak bu ilacın vü-

cutta emilimi ve dağılımı ile ilgili sorunlar olduğu bilinmektedir.⁷⁵ Henüz deneme aşamasında olup klinikte kullanıma geçirilmemiş olan vorikonazol ve posakonazol ile ilgili çalışmalar ümit verici görülmektedir.^{83,84} Son günlerde geniş spektrumlu olmasıyla sistemik mikozlarla ilgili olarak denenen terbinafinin *Aspergillus*'lara etkili olduğu bildirilmektedir.^{85,86}

SONUÇ

Aspergillus cinsi mantarlar çevrede çok bol bulunan saprofit mantarlardır; ancak konağın savunma sistemini aşmaya yarayacak çeşitli virülens faktörlerine sahip oldukları gösterilmektedir. Genelde tüm vücut direnci kırık kişilerde yaşamı tehdit eden bir mikoz olarak ortaya çıkan IA, kanserlilerde ve kemikliği transplantasyonu yapılmış hastalarda başlıca mortalite sebebi haline geldiği dikkat çekmektedir. IA tedavisinde başarının artırılması için patogenezinin anlaşılması, erken tanıma gidilebilmesi, etkenin tür düzeyinde tanımlanması ve duyarlılık deneyine alınarak dirençle karşılaşma riskinin azaltılması, daha üstün antifungaller geliştirilmesi yararlı olacaktır.

ÖZET

Aspergillus türleri, ölümcül invaziv akciğer aspergillozunda önemli artışa yol açarak gelişmiş ülkelerde en önemli hava kaynaklı patojenlerden biri haline gelmiştir. Laboratuvar tanımı ve antifungallerle ilgili çalışmalarda gelişmelere karşın invaziv aspergilloz bağışıklığı zayıflamış bireylerde >%50 mortalite ve allojenik kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalarda >%100 mortalite ile seyretme eğilimindedir. Bu yazıda mikoloji, patogenez, laboratuvar tanımı, antifungal maddeler ve duyarlılık deneylerine yoğunlaşarak *Aspergillus* türleri ve Aspergillozla ilgili bugünkü bilgiler gözden geçirilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Chazalet V, Debeauvais JP, Sarfati J, Lortholary J, Ribaud P, Shah P, Cornet M, Vu Thien H, Gluckman E, Brücker G, Latgé JP. Molecular typing of environmental and patient isolates of *Aspergillus fumigatus* from various hospital settings. J Clin Microbiol 1998; 36: 1494-1500.
2. Hospenthal DR, Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Concentrations of airborne *Aspergillus* compared to the incidence of invasive aspergillosis: lack of correlation. Med Mycol 1998; 36: 165-168.
3. Latgé JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. Clin Microbiol Rev 1999; 2: 310-350.
4. Bennett JW. Mycotoxins, mycotoxicoses, mycotoxicology and Mycopathologia. Mycopathologia 1987; 100: 3-5.
5. Risk estimation for ochratoxin A in European countries. IARC Sci Publ 1991; 115: 321-325.
6. Vesonder R, Haliburton J, Stubblefield R, Gilmore W, Peterson S. *Aspergillus flavus* and aflatoxins B1, B2, and M1 in corn associated with equine death. Arch Environ Contam Toxicol 1991; 1: 151-153.
7. Lopez-Diaz TM, Flannigan B. Production of patulin and cytochalasin E by *Aspergillus clavatus* during malting of barley and wheat. Int J Food Microbiol 1997; 2: 129-136.
8. Unat EK, Yücel A. Tıp mikolojisi. Unat E, Yücel A, Altaş K, Samastı M (ed). Unat'ın Tıp Parazitolojisi'nde. İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Bulaşan Hastalıkları'nda. Beşinci baskı. İstanbul, Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfı Yayınları; 15; 1995 : 831-39.
9. Kwon Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia; Lea and Fabinger, 1992.
10. Richardson MD, Warnock DW. Aspergillosis. In: Fungal Infection. Diagnosis and Management. 2nd ed. London: Blackwell Science; 1997; 113-130.
11. Verschraegen CF, van Besien KW, Dignani C, Hester JP, Andersson BS, Anaissie E. Invasive *Aspergillus* sinusitis during bone marrow transplantation. Scand J Infect Dis 1997; 4: 436-438.
12. Barnes AJ, Oppenheim BA, Chang J, Mongenstern GR, Scarffe JH. Early investigation and initiation of therapy for invasive pulmonary aspergillosis in leukaemic and bone marrow transplant patients. Mycoses 1999; 5-6: 403-408.
13. Groll AH, Kurz M, Schneider W, Witt V, Schmidt H, Schneider M, Schwabe D. Five-year-survey of invasive aspergillosis in a pediatric cancer centre. Epidemiology, management and long-term survival. Mycoses 1999; 7-8: 431-442.
14. Lortholary O, Aşcıoğlu S, Moreau P, Herbrecht R, Marinus A, Casassus I, De Pauw B, Denning DW. Invasive aspergillosis as an opportunistic infection in nonallografted patients with multiple myeloma: a European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the Intergroupe Français du Myelome. Clin Infect Dis 2000; 1: 41-46.

15. Manuel R, Kibber C. The epidemiology and prevention of invasive aspergillosis. *J Hospital Infect* 1998; 39: 95-109.
16. Caillot D, Mannone L, Cuisenier B, Couallier JF. Role of early diagnosis and aggressive surgery in the management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients. *Clin Microbiol Infect* 2001; (Suppl 2): 54-61.
17. Sulahian A, Boutboul F, Ribaud P, Leblanc T, Lacroix T, Derouin F. Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult pediatric hematology units during a 4-year prospective study. *Cncr* 2001; 2: 311-318.
18. Raper KB, Fennell DI. *Aspergillus*. Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1965.
19. Samson RA, Pitt JI, eds. Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification. New York: Plenum Press, 1990.
20. Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC, Filtenborg O. Introduction to Food-borne Fungi. 4th ed. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1995.
21. Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 781-805.
22. Özyaral O, Germeyan H, Johansson Bozok C. İstanbul'da ev tozu küfleri üzerine çalışmalar I. Yatak tozu küf florasının saptanması. *Mikrobiyol Bült* 1988; 22: 51-60.
23. Yücel A, Kantarcioğlu A.S. Müzelerdeki eserlerin bozulmasında mikropların rolü. *Kültür Bakanlığı Yayınları*; 2004. Yayınlar Dairesi Başkanlığı Başvuru Eserleri Dizisi; 47. Ankara, Türk Tarih Kurumu Basımevi, 1997.
24. Şimşekli Y, Asan A, Gücin F. Bursa İli'nin çeşitli semtlerinde ev dışı havasında bulunan *Penicillium*, *Aspergillus* türleri ve mevsimsel dağılımları. *Kükem Dergisi* 1998; 1: 13-20.
25. Leenders ACAP, van Belkum A, Behrendt M, Luijendijk AD, Verbrugh HA. Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus* infection. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1752-1757.
26. Interdisciplinary forum on aspergillosis (Göttingen, Germany). *Mycology Newsletter* 2000; 1: 9-16.
27. Kantarcioğlu A.S. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Derin Mikoz laboratuvarında 01 Nisan 1999 -27 Mart 2001 arasında ayrılan maya ve küflerin tür dağılımları. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara)'nde sunulmak üzere kabul edilmiştir.
28. Ghannoum MA, Edwards KE, Edwards JE Jr. Pathogenesis of fungal infections. *Bailliére's Clinical Infectious Diseases*'de. Ed.F.Meunier. 1995; 2; 1-16.
29. CBS Course of Mycology. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Drukkerij, "ERLA", Amsterdam-Zuid, The Netherlands, 1980.
30. Klich MA, Pitt JI. A laboratory Guide to Common *Aspergillus* species and their Teleomorphs. Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing, 1988.
31. Smith GR. *Aspergillus fumigatus*: A possible relationship between spore size and virulence for mice. *J Gen Microbiol* 1977; 102: 413-415.
32. Annaix V, Bouchara JP, Larcher G, Chabasse D, Tronchin G. Specific binding of human fibrinogen fragment D to *Aspergillus fumigatus* conidia. *Infect Immun* 1992; 60: 1747-1755.
33. Bouchara JP, Bouali A, Tronchin G, Robert R, Chabasse D, Senet JM. Binding of fibrinogen to the pathogenic *Aspergillus* species. *J Med Vet Mycol* 1988; 26: 327-334.
34. Coulot P, Bouchara JP, Renier G, Annaix V, Planchenault C, Tronchin G, Chabasse D. Specific interactions of *Aspergillus fumigatus* with fibrinogen and its role in cell adhesion. *Infect Immun* 1994; 62: 2169-2177.
35. Gill ML, Penalver MC, Lopez-Ribot JL, O'Connor JE, Martinez JP. Binding of extracellular matrix proteins to *Aspergillus fumigatus* conidia. *Infect Immun* 1996; 64: 5239-5247.
36. Penalver MC, Casanova M, Martinez JP, Gil ML. Cell wall protein and glycoprotein constituents of *Aspergillus fumigatus* that bind to polystyrene may be responsible for the cell surface hydrophobicity of the mycelium. *Microbiology* 1996; 142: 1597-1604.
37. Sturtevant J, Latgé P. Interactions between conidia of *Aspergillus fumigatus* and human complement component C3. *Infect Immun* 1992; 60: 1913-1918.
38. Tronchin G, Bouchara JP, Ferron M, Larcher G, Chabasse D. Cell surface properties of *Aspergillus fumigatus* conidia correlation between adherence, agglutination, and rearrangements of the cell wall. *Can J Microbiol* 1995; 41: 714-721.
39. Tronchin G, Bouchara JP, Latgé JP, Chabasse D. Application of a Lowicryl K4M embedding technique for analysis of fungal adhesins. *J Mycol Méd* 1992; 3: 74-79.
40. Tronchin G, Esnault K, Reiner G, Filmon R, Chabasse D, Bouchara JP. Expression and identification of laminin-binding protein in *Aspergillus fumigatus* conidia. *Infect Immun* 1997; 65: 9-15.
41. Verweij PE, Oakley KL, Morrissey J, Morrissey G, Denning DW. Efficacy of LY303366 against amphotericin B-susceptible and -resistant *Aspergillus fumigatus* in a murine model invasive aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 873-878.

42. Kantarcioğlu AS, Yücel A. *Cryptococcus neoformans*'ın virülens faktörleri. (Cerrahpal Tıp Derg'ne sunulmuştur).
43. Sutton P, Newcombe NR, Waring P, Mullbacher A. Immunosuppressive activity of gliotoxin, a metabolite produced by human pathogenic fungi. *Infect Immun* 1994; 62: 1192-1198.
44. Amitani R, Taylor G, Elezis EN, Llewellyn-Jones C, Mitchell J, Kuze F, Cole PJ, Wilson R. Purification and characterization of factors produced by *Aspergillus fumigatus* which affect human ciliated respiratory epithelium. *Infect Immun* 1995; 63: 3266-3271.
45. Monod M, Fatih A, Jatou-Ogay K, Paris S, Latge JP. The secreted proteases of pathogenic species of *Aspergillus* and their possible role in virulence. *Can J Bot* 1995; 73: S1081-S1086.
46. Richard U, Monod M, Odds F, Ruchel R. Virulence of an aspergillopepsin-deficient mutant of *Aspergillus fumigatus* and evidence for another aspartic proteinase linked to the fungal cell wall. *J Med Vet Mycol* 1997; 35: 189-196.
47. Birch M, Robson G, Law D, Denning DW. Evidence of multiple phospholipase activities of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun* 1996; 64: 751-755.
48. Chris Tomee JF, Wierengha ATJ, Hiemstra PS, Kaufman HF. Proteases from *Aspergillus fumigatus* induce release of proinflammatory cytokines and cell detachment in airway epithelial cell lines. *J Infect Dis* 1997; 176: 300-303.
49. Yücel A, Kantarcioğlu AS. *Candida*'ların patojenlik belirtgenleri. *Cerr Tip Derg* 2000; 31: 172-186 .
50. Holdom MD, Hay RJ, Hamilton AJ. The Cu, Zn superoxide dismutases of *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*: purification and biochemical comparison with the *Aspergillus fumigatus*, Cu Zn dismutase. *Infect Immun* 1996; 64: 3326-3332.
51. Wong B, Brauner KL, Tsai RR, Jayasimhulu K. Increased amounts of the *Aspergillus* metabolite D-mannitol in tissue and serum of rats with experimental aspergillosis. *J Infect Dis* 1989; 160: 95-103.
52. Roilides E, Unlig K, Venzon D, Pizzo PA, Walsh TJ. Prevention of corticosteroid-induced suppression of human polymorphonuclear leukocyte-induced damage of *Aspergillus fumigatus* hyphae by granulocyte colony-stimulating factor and gamma interferon. *Infect Immun* 1993; 61: 4870-4877.
53. Roilides E, Blake C, Holmes A, Pizzo PA, Walsh TJ. Granulocytemacrophage colony-stimulating factor and interferon- γ prevent dexamethasone-induced immunosuppression of antifungal monocyte activity against *Aspergillus fumigatus* hyphae. *J Med Vet Mycol* 1996; 34: 63-69.
54. De Repetingy L, Petithois S, Bouchira M. Acquired immunity in experimental murine aspergillosis is mediated by macrophages. *Infect Immun* 1003; 61: 3791-3802.
55. Carlson GL, Birch M, Mughal MM, Denning DW. *Aspergillus* wound infection following laparostomy. *J Infect* 1996; 33: 119-122.
56. Denning DW. Chronic forms of pulmonary aspergillosis. *Clin Microbiol Infect* 2001; (Suppl 2): 25-31.
57. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Washington CW Jr (Eds). *Diagnostic Microbiology*. Fifth edition. Philadelphia: Lippincott, 1997; 983-1057.
58. Richardson MD. *Aspergillus* and *Penicillium* species. In: Collier L, Balows A, Sussman M (Eds). *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. v.4 Ajello L, Hay RJ (v. Eds). *Medical Mycology*. 9th edition. London: 2000; 281-314.
59. Ruhnke M. Initial diagnosis to differential identification. In: Vincent JL (ed). *The Management of Fungal Infection in the ICU*. The Liposome Company 1999; 23-32.
60. Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Med* 1996; 2: 171-178.
61. Klont RR, Meis JFMG, Verweij PE. Critical assessment of issues in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Microbiol Infect* 2001; (Suppl 2): 32-37.
62. Verweij PE, Weemaes CM, Curfs JHA, Bretagne S, Meis JFMG. Failure to detect circulating *Aspergillus* markers in a patient with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3900-3901.
63. Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Boogaerts M. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood* 2001; 6: 1604-1610.
64. Kami M, Ogawa S, Kanda I, Tanaka I, Machida U, Matsumura T, Sakamaki H, Hirai H. Early diagnosis of central nervous system aspergillosis using polymerase chain reaction, latex agglutination test, and enzyme-linked immunosorbent assay. *Br J Haematol* 1999; 2: 536-537.
65. Manuel RJ, Ainscough S, Prentice HG, Berger LA, Yeghen T, Potter MN, Kibber C. The diagnosis of invasive aspergillosis: is early early enough? Abstracts of 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infection Diseases (1-4 April, 2001, Istanbul, Turkey). *Clin Microbiol Infect* 2001; (Suppl 1): 33.
66. De Pauw BE. Systemic mycotic infections: management in cancer patients. Abstracts of 5th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (3-6 June 1999, Dresden, Germany). *Mycoses* 1999; 42: 147-150.

67. Aşcıoğlu S, De Pauw B, Donnelly JP, Collette L. Reliability of clinical research on invasive fungal infections: a systematic review of the literature. *Med Mycol* 2001; 39: 35-40.
68. Bernhardt H. German work on standardization. Abstracts of 5th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (3-6 June 1999, Dresden, Germany). *Mycoses* 1999; 42: 126.
69. Evans EGV. International perspective of standardization. Abstracts of 5th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (3-6 June 1999, Dresden, Germany). *Mycoses* 1999; 42: 132.
70. Denning DW, Marinus A, Cohen J, Spence D, Hervrecht R, Pagano L, Kibber C, Kermery V, Offner F, Cordonnier C, Jehn U, Ellis M, Collette L, Sylvester R. An EORTC multicentre prospective survey of invasive aspergillosis haematological patients: diagnosis and therapeutic outcome. I Invasive Fungal Infections Cooperative Group. *J Infect* 1998; 2: 173-180.
71. Yücel A, Kantarcıoğlu S. Çeşitli *Aspergillus* türleri üzerine CO₂'in etkilerini araştırdığımız deneylerin ilk sonuçları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 1998; 22: 67-72.
72. Fridkin S, Jarvis W. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 499-511.
73. VandenBergh M, Verweij P, Voss A. Epidemiology of nosocomial fungal infections: invasive aspergillosis and the environment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34: 221-227.
74. Munoz P, Burillo A, Bouza E. Environmental surveillance and other control measures in the prevention of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Infect* 2001; (Suppl 2): 38-45.
75. Yücel A. Mikozların tedavisi: Antifungal ilaçlar. Yücel A, Tabak F, Öztürk R, Mert A. (ed). *Günümüzde Antimikrobik Tedavi*'de. İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği Yayın no: 12. İstanbul, 1998; 117-142.
76. Dayan AD, Working PK. Non-clinical studies of the efficacy, pharmacokinetics and safety of amphotericin B colloidal dispersion (ABCD). In: Mackenzie DWR (ed). *Amphotericin B Colloidal Dispersion (ABCD) in the Treatment of Disseminated Fungal Infections*. London 1993; 12-26.
77. McGinnis MR, Rinaldi MG. Antifungal drugs: mechanism of action, drug resistance, susceptibility testing, and assay of activity in biologic fluids. In: Lorian V (ed). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1996; 176-311.
78. Denning DW, Radford SA, Oakley KL, Hall L, Johnson EM, Warnock DW. Correlation between *in vitro* susceptibility testing to itraconazole and *in vivo* outcome of *Aspergillus* infection. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40: 401-414.
79. Denning DW, Venkateswarlu KL, Oakley KL, Anderson MJ, Manning NJ, Stevens DA, Warnock DW, Kelly SL. Itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 6: 1364-1368.
80. Chryssanthou E. In vitro susceptibility of respiratory isolates of *Aspergillus* species to itraconazole and amphotericin B, acquired resistance to itraconazole. *Scand J Infect Dis* 1997; 5: 509-512.
81. Dannaoui E, Borel E, Monier MF, Piens MA, Picot S, Persat F. Acquired itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 3: 333-340.
82. Kantarcıoğlu AS. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Derin Mikoz laboratuvarında 01 Nisan 1999 -27 Mart 2001 arasında ayrılan maya ve küflerin duyarlılık paterni. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara)'nde sunulmak üzere kabul edilmiştir.
83. Manavathu EK, Cutright JL, Loebenberg D, Chandrasekar PH. A comparative study of the in vitro susceptibilities of clinical and laboratory selected resistant isolates of *Aspergillus* spp. to amphotericin B, itraconazole, voriconazole and posaconazole (SCH 56592). *J Antimicrob Chemother* 2000; 2: 229-234.
84. Petraitiene R, Petraitis V, Groll AH, Sein T, Piscitelli S, Candelario M, Field-Ridley A, Avila N, Bacher J, Walsh TJ. Antifungal activity and pharmacokinetics of posaconazole (SCH 56592) in treatment and prevention of experimental invasive pulmonary aspergillosis: correlation with galactomannan antigenemia. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 3: 857-869.
85. Pérez A. Terbinafine: broad new spectrum of indications in several subcutaneous and systemic mycoses and parasitic diseases. Abstracts of 5th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (3-6 June 1999, Dresden, Germany). *Mycoses* 1999; 42: 150-151.
86. Ryder NS. Activity of terbinafine against serious fungal pathogens. *Mycoses* 1999; (Suppl 2): 115-119.