

Trichophyton mentagrophytes ve Trichophyton rubrum Türlerinin Ayırt Edilmesinde Kullanılan Çeşitli Testlerin Değerlendirilmesi (*)

Ahmet SANİÇ (**), Yavuz UYAR (**), Ahmet Yılmaz ÇOBAN (**), Ayhan PEKBAY (**)

ÖZET

Çalışmada Trichophyton mentagrophytes (T. mentagrophytes) ve Trichophyton rubrum (T. rubrum) türlerinin ayırt edilmesinde saç delme ve yün parçalama deneylerinin değerleri araştırıldı.

Makroskobik ve mikroskobik inceleme, üreaz aktivitesi testleri ile 32'si T. mentagrophytes, 26'sı T. rubrum olduğu belirlenen toplam 58 suş çalışmaya dahil edildi. Saç delme deneyinde çocuk saçı, yün parçalama deneyinde koyun yünü kullanıldı. Kullanılan çocuk saçı otoklavlanarak, koyun yünü ise etilen oksit ile steril edildi.

Saç delme deneyinde 32 T. mentagrophytes suşunun 26 (%81.2)'sında, 26 T. rubrum suşunun 6 (%23.1)'sında olumlu sonuç alındı. Yün parçalama deneyinde T. mentagrophytes suşlarının tamamında olumlu, T. rubrum suşlarının tamamında olumsuz sonuç alındı.

Sonuç olarak; çalışmada yün parçalama deneyinin saç delme deneyine göre T. mentagrophytes ile T. rubrum'un tür ayırımında daha etkili olduğu saptandı.

Anahtar kelimeler : T. mentagrophytes, T. rubrum, in vitro saç delme, yün parçalama.

SUMMARY

Evaluation of Test Used to Distinguish Trichophyton mentagrophytes from Trichophyton rubrum Species

In this study, in vitro hair perforation activity and lytic effect on the wool in order to distinguish Trichophyton mentagrophytes and Trichophyton rubrum were investigated

32 T. mentagrophytes and 26 T. rubrum strains were included in this study the strains were confirmed by macroscopical and microscopical examination and urease activity test. Baby hair for in vitro hair perforation and sheep wool for lytic effect on the wool were used. The hair was sterilised by autoclav and the sheep wool by ethilen oxide.

26 (81,2%) strains were positive for in vitro hair perforation although all T. mentagrophytes strains were positive for lytic effect on the wool and all T. rubrum strains were negative.

In conclusion, the lytic effect on the wool was more effective than the in vitro hair perforation test for distinguishing mentagrophytes from T. rubrum.

Key words : T. mentagrophytes, T. rubrum, in vitro hair perforation, lytic effect on wool.

GİRİŞ

T. mentagrophytes ve T. rubrum yüzeyel mikozlarda en sık izole edilen dermatofit türleridir. Bu iki türün birbirinden farklı kolonileri yanında benzer kolonileri de mevcuttur. İkisinin de granüler (tozlu) ve downy (tüylü) kolonileri vardır. T. rubrum farklı

olarak melanoid koloniler de oluşturur. Bu nedenle özellikle granüler kolonileri ayırt etmek her zaman mümkün olamamaktadır (1,2).

Çalışmada, T. mentagrophytes ve T. rubrum'u ayırt etmede kullanılan klasik yöntemler, makroskobik ve mikroskobik görünüm, pigmentasyon oluşturma özelliği, üreaz aktivitesi ve saç delme yeteneği yanında etilen oksik ile sterilendirilmiş yün parçalama deneyi uygulanmış ve sonuçlar tartışılmıştır.

(*) 4-6 Mayıs 1999 tarihlerinde, İZMİR'de düzenlenen 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Mikoloji Kongresi'nde tebliğ edilmiştir.
(**) Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, SAMSUN

GEREÇ VE YÖNTEM

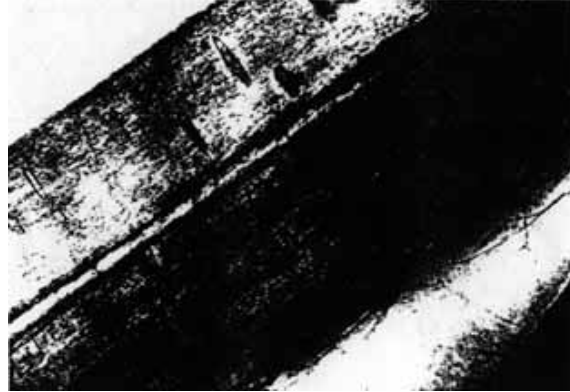
Makroskobik ve mikroskobik inceleme, üreaz aktivitesi testleri ile 32'si *T.mentagrophytes* 26'sı *T.rubrum* olduğu belirlenen toplam 58 klinik suş ile Ege Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı'nda *T.mentagrophytes* ve *T.rubrum* olduğu belirlenmiş suşlar kontrol amacı ile çalışmaya alındı.

Pigmentasyon oluşturma özelliği için %1 glukozlu mısır unlu agar ve %2 glukozlu patatesli agar kullanıldı (1,3). Suşlar ekim yapıldıktan sonra 25°C'de iki hafta etüvde bekletildi ve oluşturdıkları pigmentasyon özellikleri belirlendi. *T.rubrum*'un %1 glukozlu mısır unlu agarda ve %2 glukozlu patatesli agarda kırmızı pigment oluşturmaya karşılık *T.mentagrophytes*'in bu pigmenti oluşturmadığı veya sarı-turuncu bir renk oluşturduğu bilinmektedir. *T.mentagrophytes* özellikle mısır unu agarda sarımsak pigmentasyon yapmaktadır (3,4,5).

Üreaz aktivitesi için Christensen besiyerine ekim yapıldı. Etüvde 25°C'de bekletildi. Üreaz pozitif suşlar saptanıp, pozitifleşme için gereken süre not edildi (1,3).

In vitro saç delme deneyi için açık renkli çocuk saçı kullanıldı (6). Saçlar 1 cm uzunluğunda kesildi ve Petri kutusu içine konarak otoklavda 120°C'de 15 dakika tutularak steril edildi. Saçlar üzerine 25 ml distile su ile süzme ve filtreden geçirilerek sterillenmiş %10'luk maya özetiinden üç damla konuldu (6,7). Saçlar üzerine dermatofitlerden elde edilen miçel parçacıklarının ekimleri yapıldı ve 25°C'de 4 hafta bekletildi. Her hafta bir-iki saç parçası laktofenol pamuk mavisi damlatılarak hazırlanan lam-lamel arası preparatlarda 40x büyütme ile mikroskopta incelendi. Saçta dikey olarak ve koni biçiminde delmeler yapan mantar hifleri görüldüğünde test olumlu olarak değerlendirildi (2,6) (Şekil 1 ve Şekil 2).

Şekil 1 : İn vitro saç delme deneyinde *T. mentagrophytes*'e ait (++) saçta koni biçiminde dikey yarıkları gösteren fotoğraf (40x objektif)



Şekil 2: İn vitro saç delme deneyinde *T. rubrum*'a ait (-) sonucu gösteren fotoğraf (40x objektif)



Yün parçalama deneyi, yündeki keratinin parçalanması esasına dayanmaktadır (2). Test için koyun yünü Petri kutularına konuldu ve etilen oksit ile sterilizasyonu sağlandıktan sonra içine 25 ml distile su ve üç damla steril %10'luk maya özeti konuldu. SDA besiyerinde üretilmiş 58 suş ayrı ayrı Petri kutuları içindeki yün parçaları üzerine konularak 25°C'de 4 hafta etüvde bekletildi. Haftada bir, birkaç yün parçası laktofenol pamuk mavisi damlatılarak hazırlanan lam-lamel arası preparatlarda incelendi. Birçok noktadan parçalanmış ve çok sayıda dağılmış yün elemanlarının görülmesi durumunda test olumlu olarak değerlendirildi (2) (Şekil 3)

Şekil 3: Yün parçalama deneyinde T. mentagrophytes'e ait (++) yünün birçok noktadan parçalanıp çok sayıda dağılmış yün elemanlarının ortaya çıktığını gösteren fotoğraf (40x objektif).



BULGULAR

Makroskobik görünüm ve pigmentasyon oluşturma özelliklerine göre T.mentagrophytes suşlarının 18 (%56,2)'i downy, 14 (%43,8)'ü granüler tipte; T.rubrum suşlarının 8 (%30,8)'i downy, 6 (%23)'ü

granüler ve 12 (%46,2)'si melanoid tipte olduğu saptandı (Tablo 1 ve Tablo 2).

T.rubrum'un %1 glukozlu mısır unlu agar ve %2 glukozlu patates agarda kırmızı veya kırmızı-kahverengi, T.mentagrophytes'in ise sarı veya sarı-kahverengi pigmentasyon oluşturduğu saptandı. T.mentagrophytes özellikle mısır unlu agarda sarı pigmentasyon (%78,1) yapmaktadır (Tablo 1 ve Tablo 2).

Üreaz aktivitesi testi, T.rubrum'da ortalama 3.2 günde pozitifleşirken T.mentagrophytes'de ortalama 5.5 günde potizifleşti (Tablo 1 ve Tablo 2).

Saç delme deneyinde 26 (%81,2) T.mentagrophytes ve 6 (%23,1) T.rubrum suşunun olumlu olduğu bulunmuş olup, saç delme deneyinde T.mentagrophytes'in genel karakterinin aksine 6 suşun (3,9,14,18,21,25 no.lu suşlar) saç delme yeteneğinin bulunmadığı gözlemlendi. Saç delme deneyine ait bulgular Tablo 3'de özetlenmiştir.

Yün parçalama deneyinde, tüm T.mentagrophytes

Tablo 1. Klinik örneklerden izole edilen 26 T.rubrum ve kontrol suşunun özellikleri.

Suş no	%1 Dekstrozu mısır unlu agar	%2 Glukozlu patatesli agar	Üreaz testi (gün)	Saç delme deneyi	Yün parçalama deneyi	Lam kültürü mikroskobisi	Makroskobik görünümü
1	Açık kırmızı	Kırmızı	6	-	-	Mik	D
2	Kırmızı	Açık kırmızı-kahverengi	5	+	-	Mik+mak	G
3	Açık kırmızı	Kahverengi	6	-	-	Mik	M
4	Açık kırmızı	Koyu kırmızı-kahverengi	7	-	-	Mik+mak	G
5	Açık kırmızı	Kırmızı-kahverengi	6	-	-	Mik	M
6	Kırmızı-kahverengi	Kahverengi	4	-	-	Mik	M
7	Kırmızı	Kırmızı-kahverengi	6	-	-	Mik	M
8	Kırmızı	Kırmızı-kahverengi	7	-	-	Mik+mak	G
9	Açık kırmızı	Açık kırmızı-kahverengi	6	-	-	Mik	M
10	Açık kırmızı	Açık kırmızı-kahverengi	5	+	-	Mik	D
11	Açık kırmızı	Koyu kırmızı-kahverengi	4	-	-	Mik	D
12	Kırmızı	Koyu kırmızı-kahverengi	4	-	-	Mik	D
13	Kırmızı	Koyu kırmızı-kahverengi	5	+	-	Mik	M
14	Kırmızı	Açık kırmızı-kahverengi	5	+	-	Mik+mak	G
15	Açık kırmızı	Kahverengi	6	-	-	Mik	M
16	Kırmızı-kahverengi	Kahverengi	4	-	-	Mik	M
17	Kırmızı	Kırmızı-kahverengi	7	-	-	Mik+mak	G
18	Açık kırmızı	Açık kırmızı-kahverengi	5	+	-	Mik	D
19	Kırmızı	Koyu kırmızı-kahverengi	4	-	-	Mik	D
20	Açık kırmızı	Kırmızı	6	-	-	Mik	D
21	Açık kırmızı	Koyu kırmızı-kahverengi	7	-	-	Mik+mak	G
22	Açık kırmızı	Kırmızı-kahverengi	6	-	-	Mik	M
23	Açık kırmızı	Koyu kırmızı-kahverengi	4	-	-	Mik	D
24	Kırmızı	Koyu kırmızı-kahverengi	5	+	-	Mik	M
25	Açık kırmızı	Açık kırmızı-kahverengi	6	-	-	Mik	M
26	Kırmızı	Kırmızı-kahverengi	6	-	-	Mik	M
Kontrol suş	Kırmızı	Kırmızı-kahverengi	7	-	-	Mik	M

- : In vitro saç delmediğini gösterir.

Mik: Göz yaşı şeklinde mikrokoniidyumlar

D : Downy tip

M: Melanoid tip

+: Saçların ancak bir tanesinin bir bölgesinde küçük bir yarık olduğunu gösterir.

Mak: Makronidiyumlar

G : Granüler tip T. rubrum'u göstermektedir.

Tablo 2. Klinik örneklerden izole edilen 26 *T. mentagrophytes* ve kontrol suşunun özellikleri.

Suş no	%1 Dekstrozu mısır unlu agar	%2 Glukozlu patatesli agar	Üreaz testi (gün)	Saç delme deneyi	Yün parçalama deneyi	Lam kültürü mikroskopisi	Makroskopik görünümü
1	Sarı	Sarı-kahverengi	2	++	+	Mik	D
2	Sarı	Sarı-kahverengi	4	++	+	Sp+Mik+Mak	G
3	Sarı	Sarı	2	-	++	Mik	D
4	Açık kırmızı	Sarı	3	++	++	Sp+Mik	G
5	Sarı	Sarı	4	++	++	Mik	D
6	Açık kırmızı	Sarı-kahverengi	3	++	+	Sp+Mik+Mak	G
7	Sarı	Sarı	2	++	++	Mik	D
8	Sarı	Sarı	3	+-	+	Mik	D
9	Sarı	Sarı-kahverengi	4	-	++	Sp+Mik	G
10	Sarı	Sarı	2	++	+	Sp+Mik	G
11	Açık kırmızı	Sarı-kahverengi	4	+	+	Mik	D
12	Sarı	Sarı kahverengi	4	++	+	Mik	D
13	Açık kırmızı	Sarı	4	+	++	Mik	G
14	Sarı	Sarı-kahverengi	4	-	++	Sp+Mik	D
15	Sarı	Sarı	3	+-	++	Mik	D
16	Sarı	Sarı	3	+-	++	Sp+Mik	G
17	Sarı	Sarı	2	++	++	Mik	D
18	Sarı	Sarı-kahverengi	4	-	++	Sp+Mik	G
19	Sarı	Sarı-kahverengi	4	++	+	Mik	D
20	Sarı	Sarı	3	+-	++	Mik	D
21	Sarı	Sarı	2	-	++	Mik	D
22	Sarı	Sarı	4	++	++	Mik	D
23	Sarı	Sarı-kahverengi	2	++	+	Mik	D
24	Sarı	Sarı	2	++	+	Sp+Mik	G
25	Sarı	Sarı-kahverengi	4	-	++	Sp+Mik	D
26	Sarı	Sarı	3	+-	++	Sp+Mik	G
27	Açık kırmızı	Sarı	4	+	++	Mik	G
28	Sarı	Sarı	3	+-	+	Mik	D
29	Sarı	Sarı-kahverengi	3	++	+	Sp+Mik+Mak	G
30	Açık kırmızı	Sarı	3	++	++	Sp+Mik	G
31	Sarı	Sarı-kahverengi	4	++	+	Sp+Mik+Mak	G
32	Açık Kırmızı	Sarı-kahverengi	4	+	+	Mik	D
Kontrol Suş	Sarı	Sarı-kahverengi	3	++	++	Sp+Mik	G

- : İn vitro saçın delinmediğini, yünün parçalanmadığını gösterir. + - : Saçların ancak bir tanesinin bir bölgesinde küçük bir yarık olduğunu gösterir.

+ : Saçta birkaç derin yarık, yünde ise birçok noktadan parçalanma olduğunu gösterir.

+ + : Saç delinmesinin veya yün parçalanmasının (+) durumdan daha yoğun olduğunu gösterir.

Mik: Göz yaşı şeklinde mikrokoniidyumlar **Mak:** Makronidiyumlar **Sp:** Spiral hif **D:** Downy tip **G:** Granüler tip *T. mentagrophytes*

suşlarının yünü birçok noktada parçalayıp, çok sayıda dağılmış yün elemanlarının ortaya çıkmasına neden olduğu saptandı (Tablo 3)

Tablo 3. *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes*'te saç delme deneyine ait bulgular.

Saç delme deneyi	<i>T. rubrum</i>		<i>T. mentagrophytes</i>	
	Sayı	%	Sayı	%
+	20	76.9	6	18.8
+ -	6	23.1	6	18.8
+	0	0	4	12.4
+ +	0	0	16	50.0
Toplam	26	100	32	100

- : İn vitro saçın delinmediğini gösterir.

+ - : Saçların ancak bir tanesinin bir bölgesinde küçük bir yarık olduğunu gösterir.

+ : Saçta birkaç derin yarık, yünde ise birçok noktadan parçalanma olduğunu gösterir.

+ + : Saç delinmesinin veya yün parçalanmasının (+) durumdan daha yoğun olduğunu gösterir.

TARTIŞMA

Makroskopik ve mikroskopik özellikleri ile tiplendirilemeyen suşlar için üreaz ve saç delme deneyleri önerilmektedir (3). Saç delme deneyinde kullanılan saçın boyalı, bukleli, spreyli, beyaz veya doğal saç olmasını testi etkilemediğini belirten yayınlar vardır (8). Ancak klasik kitaplarda açık renkli çocuk saçının daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir (6). *T. mentagrophytes* 7-10 gün içinde saçta invitro şartlarda koni şeklinde delmeler yapmaktadır (Şekil 1). *T. rubrum* ise çoğunlukla invaziv değildir (3). Çalışmamızda 32 *T. mentagrophytes* suşunun 26 (%81,2)'sında saç delme deneyi olumlu bulunurken, 6(%18,8) suşa olumsuz sonuç tesbit edildi. Yücel ve ark.nın (2)

yaptığı çalışmada da %21 oranında *T.mentagrophytes* suşlarında saç delme deneyinin olumsuz olduğu bildirilmiştir. 26 *T.rubrum* suşunun 20(%77)'sinde saç delme yeteneği beklendiği gibi olumsuz bulunurken, 6 (%23) suşta saçların ancak bir tanesinin bir bölgesinde küçük bir yarık gözlenmiştir. Yine Yücel ve ark. (2) çalışmalarında 10 *T.rubrum* suşunun 2'sinde saç delme deneyinin olumsuz olduğunu, 8'inde saçların ancak bir tanesini bir bölgesinde küçük bir yarık bulunduğunu belirlemişlerdir. Sinski ve ark. (9) *T.mentagrophytes* ve *T.rubrum*'un tür ayırımında kullanılan on farklı testi karşılaştırmışlar ve hiç birisinin tek başına tür ayırımında yeterli olmadığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada saç delme deneyi ile beraber patato-carrot agara sporulasyon oluşumlarının incelenmesiyle elde edilen ikili kombinasyon sonuçlarının tür ayırımında daha doğru sonuçlar verebileceği bildirilmiştir.

Yün parçalama deneyinde, bir önceki deneyde saç delme yeteneği gözlenmeyen 6 suş da dahil tüm *T.mentagrophytes* suşlarının olumlu sonuç verdiği saptandı. Buna karşılık *T.rubrum* suşlarının tümünün yün parçalama deneyi olumsuz bulundu. Yücel ve ark. (2) da yün parçalama deneyini *T.mentagrophytes* suşlarında olumlu, *T.rubrum* suşlarında olumsuz olarak bildirmişlerdir.

Sonuç olarak; çalışmada yün parçalama deneyinin saç delme deneyine göre *T.mentagrophytes* ile *T.rubrum*'un tür ayırımında daha etkili olduğu saptandı.

KAYNAKLAR

1. Frey D, Oldfield RJ, Bridger RC: Colour atlas of pathogenic fungi, p 58, 3rd impressin, Wolfe Medical Puplication Ltd, Holland (1985).
2. Yücel A, Sadri MF : *T.mentagrophytes* ile *T.rubrum*'un birbirinden ayırt edilmesi, *Cerrahpaşa Tıp Fak Derg* 14 : 84 (1983).
3. Koneman EW, Allen SD, Janda WM at al : The genus *Trichophyton*, In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, p 1023, Fifth edition, Lippincott Company, Philadelphia (1997).
4. Akan E: Tıbbi Mikrobiyoloji, s 470, Saray Medikal Yayıncılık, Oba kitabevi, Bornova (1993).
5. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M: Dermatofitler ve parazitlikleri. Unat'ın Tıp Parazitolojisi s 784, Beşinci baskı, Doyura matbaası, İstanbul (1995).
6. Tümbay E: Pratik Tıp Mikolojisi s.29, 1. Baskı, Bilgehan Basımevi, Bornova, İzmir (1983).
7. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyolojik Tanı, s: 101, 2. baskı, Barış Yayınları, Fakülteler kitabevi, İzmir (1995).
8. Salkin IF, Hollick GE, Hurd NJ, Kemna ME: Evalation of human hair sources for the in vitro hair perforation test, *J Clin Microbiol* 22: 1048 (1985).
9. Sinski JT, Van Avermaete D, Kelley LM: Analysis of tests used to differentiate *Trichophyton rubrum* from *Trichophyton mentagrophytes*, *J Clin Microbiol* 13:62- (1981).