

12. Hafta

Dimorfik Mantarlar

- Dimorfik mantarların iki üreme şekilleri vardır:
 - **Mantar: çevrede** saprofitik olarak ya da **25-30°C'de** inkube edilen besiyeri kültürlerinde
 - **Maya veya maya benzeri: Hayvan dokularında** ya da **37°C'de** inkube edilen zenginleştirilmiş besiyerlerinde
- Mantar ya da miselyal form bu iki form arasındaki daha stabil formdur.
- Bu mantarlar insan ve hayvanlarda **derin** ya da **sistemik mikozislere** neden olurlar.

Laboratuvar Teşhisi

Güvenlik önlemleri

- Bütün dimorfik mantarlar insanlarda hastalığa yol açmaktadır ve bu nedenle bunlar büyük bir dikkatle muayene edilmelidir.
- ***Coccidioides immitis*** kültürleri özellikle de laboratuvar çalışanları için ciddi bir risk oluşturmaktadır, çünkü bunların 25-37°C'de inkube edilen besiyerlerinde üretilen artrosporları kolaylıkla infektif aerosol yapı oluşturabilmektedir.
- Bu etkeni içeren materyal ya da kültürleri ile çalışılırken mutlaka biyogüvenlik kabinleri kullanılmalıdır.
- Kültür vida kapaklı tüplerdeki yatık agarlarda yapılmalı, kapaklar biyofilm ile kaplanmalıdır.
- *C. immitis* kültürlerinin yüzeyi öze ile temas ettirilmeden önce steril su ya da FTS ile kaplanarak artrosporların saçılması engellenmelidir.
- Bütün preparatlar biyogüvenlik kabininde hazırlanmalıdır.
- Etken identifikasyonunun ardından kültürler otoklavlanmalıdır.

Direkt mikroskopi

- Histopatolojik kesitler hayvan dokularında maya benzeri formların gösterilmesinde en faydalı uygulamadır.

Dimorfik mantarlarda maya formuna dönüşüm

- Bu mantarların kesin teşhisi bunların 37°C'lik besiyerinde maya formuna dönüştürülmesi ile gerçekleştirilir. Bu bütün türlerde değişik zorluk derecesiyle gerçekleştirilebilir.
- Tek istisna *C. immitis*'tir. Bu etken 25°C ve 37°C'deki kültürlerinde mantar formunda kalmaktadır.
- Mantar veya miselyal form daha stabil formdur.
- Mantar formları için, kloramfenikol (0.05 g/l) ve sikloheksimid (0.4 g/l) içeren veya içermeyen SDA'lar inokule edilir ve 25°C'de inkube edilir.
- Şüpheli koloniler ürediğinde (*Sporothrix schenckii* için 3-4 gün, diğer mantarlar için 2-4 hafta) vida kapaklı tüplerde yatık olarak hazırlanan % 5-10 koyun kanlı beyin kalp infüzyon agara yoğun pasajları yapılır.

- İnkubasyon sırasında gerekli nemi sağlamak için birkaç damla steril su tüpe eklenir. Kültürlere oksijen sağlamak için tüp kapakları biraz gevşetilir.
- Pleytler 37°C'de inkube edilir ve *S. schenckii* 3-5 gün içerisinde ürerken *Blastomyces dermatitidis* ve *Histoplasma capsulatum* 2-4 haftada ürer.
- Koloniler maya hücrelerinin görüntülenmesi için laktofenol pamuk mavisinde incelenir.

Koloni morfolojisi

- ***Sporothrix schenckii***
- 25°C'de üreme 3-5 günde görülür. Koloniler önceleri beyaz ve krem sonra kıvrık ve koyu ve deri benzeri bir görünüm alır.
- 37°C'de maya benzeri, S tipli, yumuşak ve kremden ten rengine kadar değişiktir. Maya kolonileri de 3-5 günde ürer.

Blastomyces dermatitidis

- 25°C'de üreme 2-4 haftada şekillenir. Koloniler küçük, beyaz pamuksu aerial hifa oluşturur, daha sonra grimsi koyu kahverengi renge bürünür.
- 37°C'de mumumsu, maya benzeri koloniler, kremden ten rengine kadar değişik renkte, yüzeyden radyal dikenimsi yapılar gösterebilir.

Histoplasma capsulatum

- 25°C'de beyazdan krem rengine kadar değişen pamuksu aerial hifalar, eskidikçe griden kahverengi renge değişir ve 2-4 haftalık inkubasyon gerekir.
- 37°C'de koloniler S tipli, maya benzeri ve beyaz renktedir. Mantarın daha stabil olan miselyal forma dönme eğilimi vardır.

Coccidioides immitis

- 25°C ve 37°C'de 3-21 günde narin örümcek ağı benzeri görünüm oluşur. Kanlı agarda yeşil renkli diskolorizasyon gösterir. Kolonileri agar yüzeyi ile temas eden yerlerde tüyümsü görünümü olur.

Mikroskopik görünüm

Ekzoantijen testi

- Bu test *B. dermatitidis*, *H. capsulatum* ve *C. immitis*'in tanısı için kullanılır.
- Görece basit ve hızlı bir tanı yöntemi, tanı için mantarı maya fazına geçirme gerekliliğini kaldırıyor
- Referans antiserumu kullanan bir immunodiffuzyon testi
- Hücre içermeyen ve bir miselyal koloniden ekstrakte ve konsantre edilen ekzoantijenlerin saptanması prensibine dayanıyor
- Pozitif kontrol antiserum ticari olarak elde edilebiliyor
- *B. dermatitidis* A ekzoantijenine,
- *H. capsulatum* h ve m ekzoantijenine,
- *C. immitis* ise HS, F veya HL antijenlerine sahip

Immunolojik testler

- *C. immitis* güçlü bir immunolojik yanıt verir ve serolojik testler bu türde diğer türlere göre daha güvenlidir.

Fare inokulasyon testleri

- Bütün dimorfik mantarlar farelerde lezyon oluşturur.
- Fare inokulasyonu özellikle yüksek oranda kontamine materyalde mantar etkeninin saf olarak elde edilmesi için tek geçerli yöntem olabilmektedir.