

# Candida Dışı Mantarlar (Filamentöz) Biyofilm Oluşturur mu?

Semra KUŞTİMUR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji AD



- ❖ Filamantöz mantarlar biyofilm oluşumu için uygundur.
- ❖ Çok nemli, hava ile teması olan çevrelerde yaygın beklenir.
- ❖ Substrata penetre olmaları ve üzerinde üremeleri nedeniyle; **BIYOFİLM=BIYOLOJİK MANTO**



❖ Filamentöz mantarların yüzey ilişkili üremeleri için  
"biyofilm" yerine kullanılan terimler:

"fungal biomass"

"multicellular mass"

"mycelial mats"

"submerged/solistate fermentation"



# Filamentöz mantar biyofilmi için önerilen kriterler

## ❖ Yapısal özellikler

- a. kompleks, küme şeklinde üreme
- b. yüzeyle ilişkili üreme
- c. hücrelerin hücre dışı matriks içine gömülmesi

## ❖ Gen ekspresyonunda değişme sonucu fenotipik farklılık

- a. antimikrobiyalere/biosidlere tolerans
- b. enzim/metabolit ürünlerinde değişiklik
- c. fizyolojik değişiklikler



# BIYOFİLM GELİŞME FAZLARI

- ❖ Uygun substrata ulaşma

- ❖ Adsorbsiyon

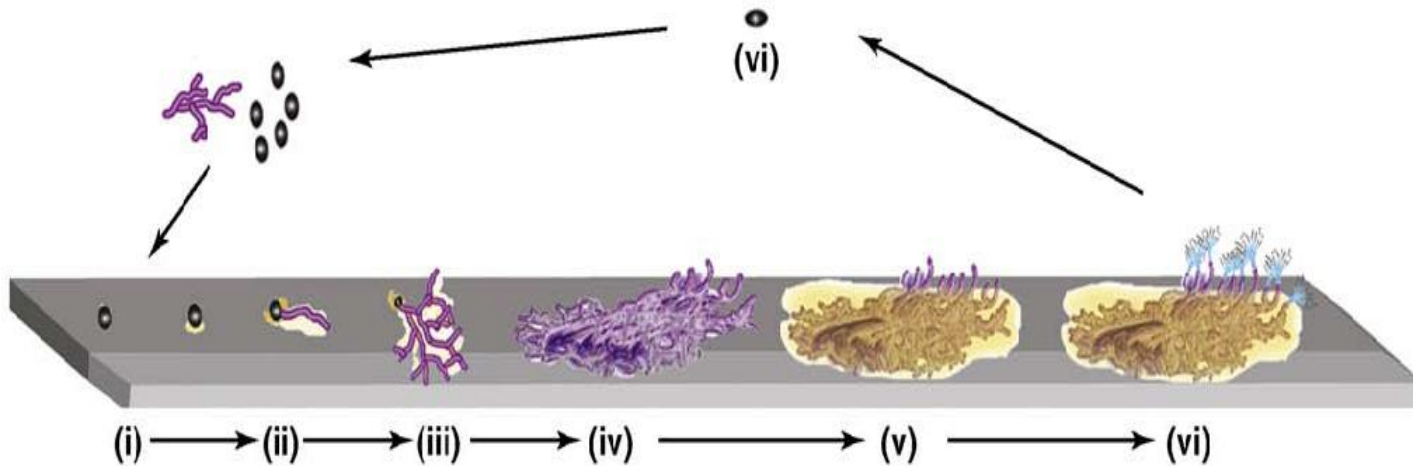
propagüllerin (spor, hif) toplanması  
yüzeyle fiziksel temas

- ❖ Kolonizasyon

apikal uzama, yüzeye yayılma  
polimerik hücre dışı tabaka oluşumu (ECM)  
su kanallarının oluşması



- ❖ Biyofilm olgunlaşması  
aerial büyüme, sporogenöz hücreler,  
üremede rol oynayan canlı yapıların oluşması
- ❖ Dağılma veya planktonik faz  
biyofilm fragmentlerinin ayrılması  
yeni siklusun başlatılması



Harding M.W. et al 2009

# Küf mantarlarının biyofilmi ile bakteri biyofilminin farklı olma nedenleri

Mantarların,

- ❖ birden fazla planktonik forma sahip olmaları
- ❖ tek hücreli olmamaları
- ❖ su ortamından çok havada bulunmaları
- ❖ farklılaşmış üreme hücrelerini biyolojik uyarıma ve çevre stresine karşı geliştirebilmeleri (özellikle seksüel yapılar)
- ❖ hiflerin tabakalar, kompleks yapılar oluşturması
- ❖ hidrofobinleri salgılamalarıdır.



# Çevre ile ilgili biyofilm çalışmaları

Kum taşı

Granit

Kireç taşı

Mermer

Alçı taşı

içeren doğal kayalarda mantar biyofilmi oluşur.

Grbic ML. et al. Arch Biol Sci 2010





## Biyofilmdeki yüzey aktif bileşikler:

- ❖ taşta porların su tansiyonunu düşürür
- ❖ özgül nemi deęiřtirir
- ❖ mantarı kuruluřtan, kontaminasyondan, biyo-çürütücü aktivitelerden korur



# Taş mataryallerde bulunan mantarlar

| <b>Micromycetes</b>            | <b>Granit</b> | <b>Kumtaşı</b> |
|--------------------------------|---------------|----------------|
| <i>Alternaria sp.</i>          | +             | +              |
| <i>Aspergillus flavus</i>      | +             |                |
| <i>Aspergillus versicolor</i>  | +             |                |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> |               | +              |
| <i>Cladosporium sp.</i>        | +             | +              |
| <i>Epicoccum purpurascens</i>  | +             | +              |
| <i>Fusarium sp.</i>            | +             | +              |
| <i>Mucor sp.</i>               | +             |                |
| <i>Paecilomyces varioti</i>    |               | +              |
| <i>Penicillium sp.</i>         |               | +              |

❖ Abu Ali R. et al. (1999)

Tahta biyodegradasyon çalışmalarında;

mantarların hücre dışı musiliginöz (yapışkan) materyal  
oluřturduėunu gösterdiler



Kayın ağacı çalışmalarında;

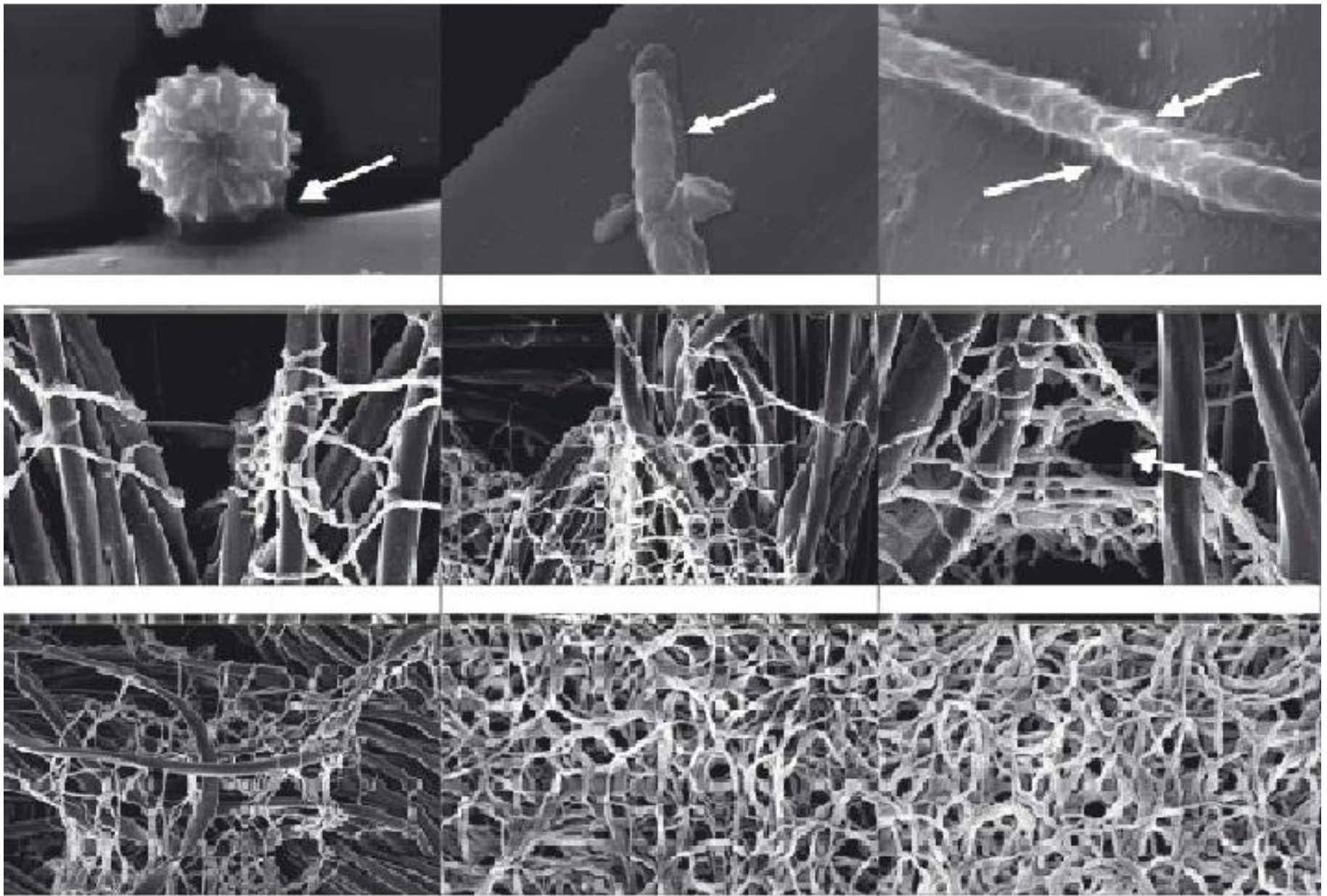
- ❖ *Coniophora puteana* ve *Coriolus versicolor* genç ve yaşlı hiflerin etrafında ECM (ekstraselüler matriks) oluşturmuştur
- ❖  $\beta$ -1,6 ve  $\beta$ -1,3 glukan ECM'nin önemli bir komponentidir



# Endüstriyel ürünler üzerinde biyofilm oluşumu

- ❖ *Aspergillus niger*'in polyester tabakaları üzerinde biyofilm geliştirdiği SEM ile gösterilmiştir
- ❖ Katı yüzeylerde *Aspergillus* ve *Trichoderma* türlerinin üremesi esnasında fenotipik değişiklikler, enzim üretimi ve salgılanması artmaktadır





Villena G.K, Gutierrez-Correa M. Lett App Microbiol,2007

- ❖ *A. niger*'in biyofilm kültürlerinde yüksek oranda selulaz üretildiği (besin, tekstil, kağıt endüstrisi) belirlenmiştir

Gamarra NN, Villena GK. Appl Microbiol  
Biotechnol 2010



❖ Anaissie ve ark. (2003) alışmalarında;

Hastane su dağıtım sistemlerinde nozokomiyal enfeksiyon etkeni olabilen patojen küflerin (*Aspergillus spp.* dahil) biyofilm oluşturduklarını göstermişlerdir.





# *Aspergillus niger* sualtı(submerged) biyofilm sisteminde:

- ❖ ECM germ tüp ve hifleri çevirir
- ❖ Biyofilm miselleri düzenli dağılımla yüzey ve iç kanalları oluşturur
- ❖ Polimerik materyalin bulunması çok hücreli filamantöz üreme ile ilişkili görülmüştür

Villena GK. et al.  
Lett Appl Microbiol 2007



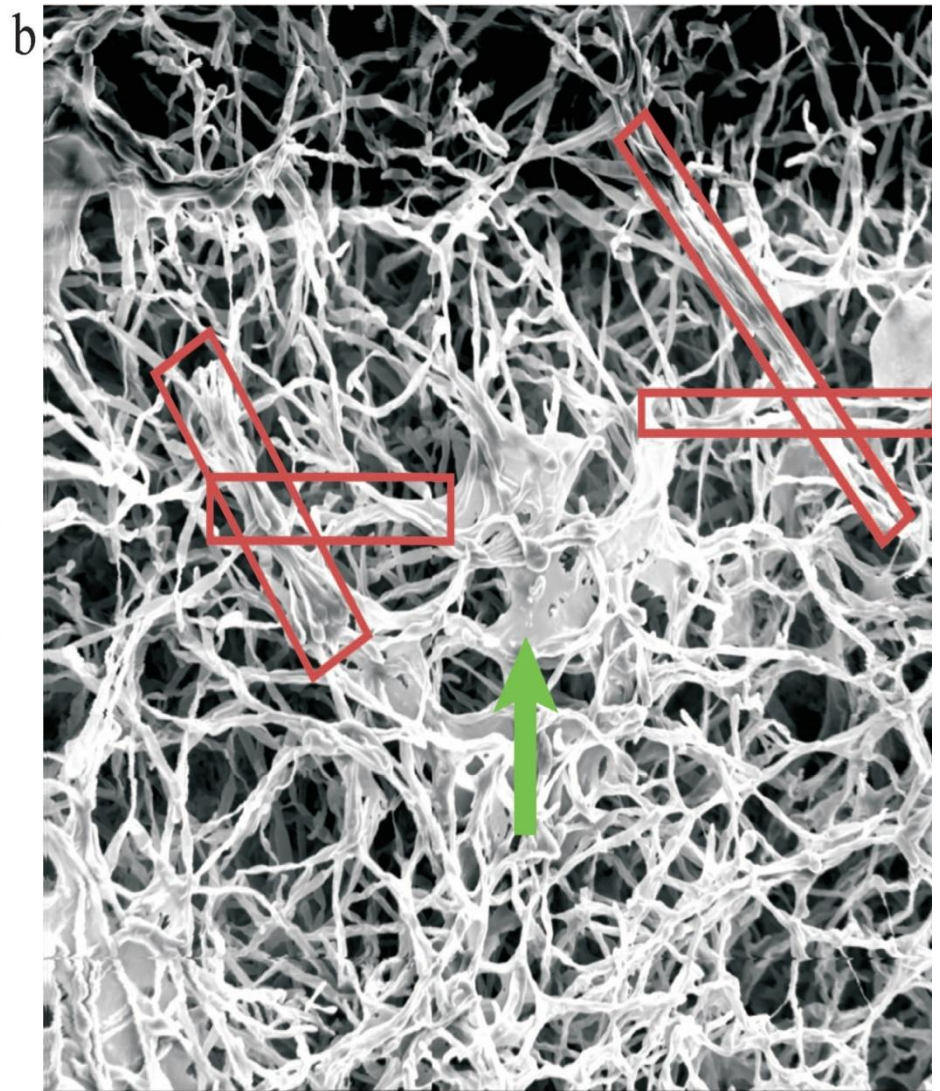
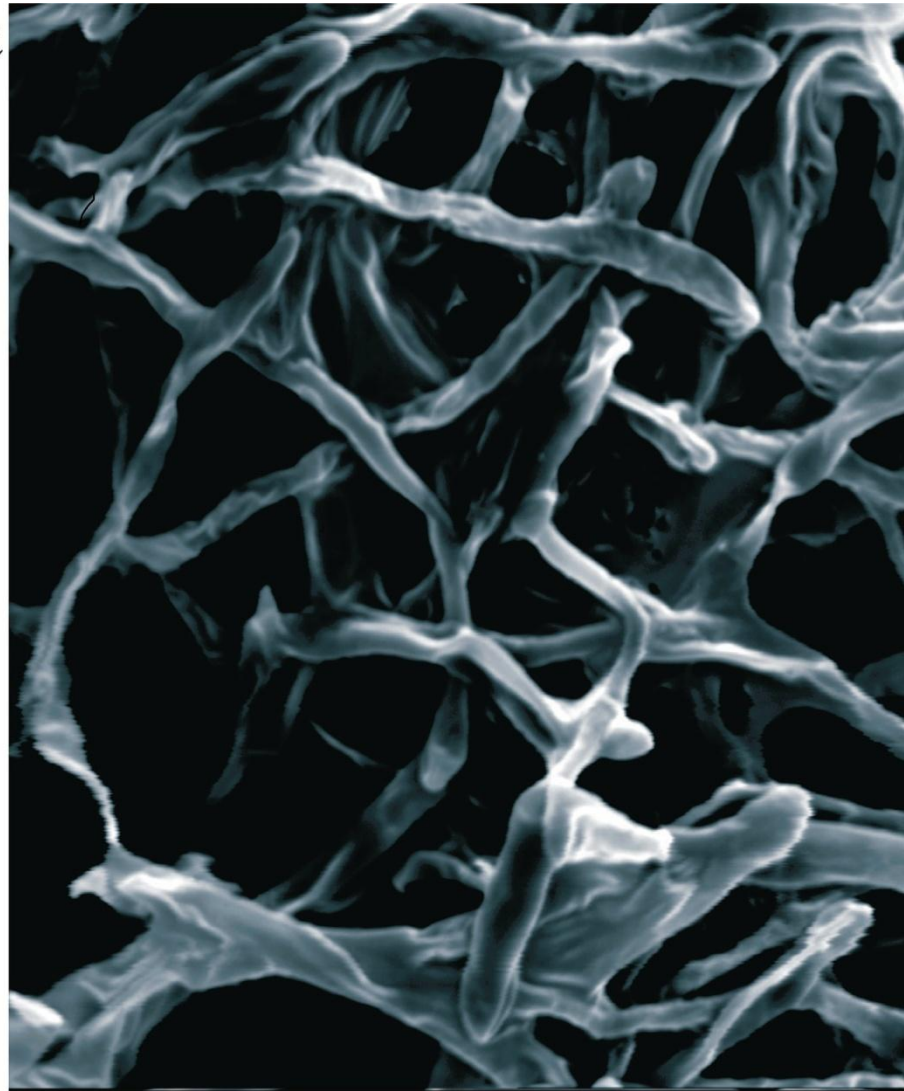
# Klinik izolatlarla ilgili biyofilm alışmaları

*Aspergillus fumigatus*'un biofilm modelinde;

- ❖ polystrene
  - ❖ insan epitel hcreleri
  - ❖ kistik fibrozis bronř epitellerinde
- } ECM  
oluşumu  
kuru ağırlık  
artışı

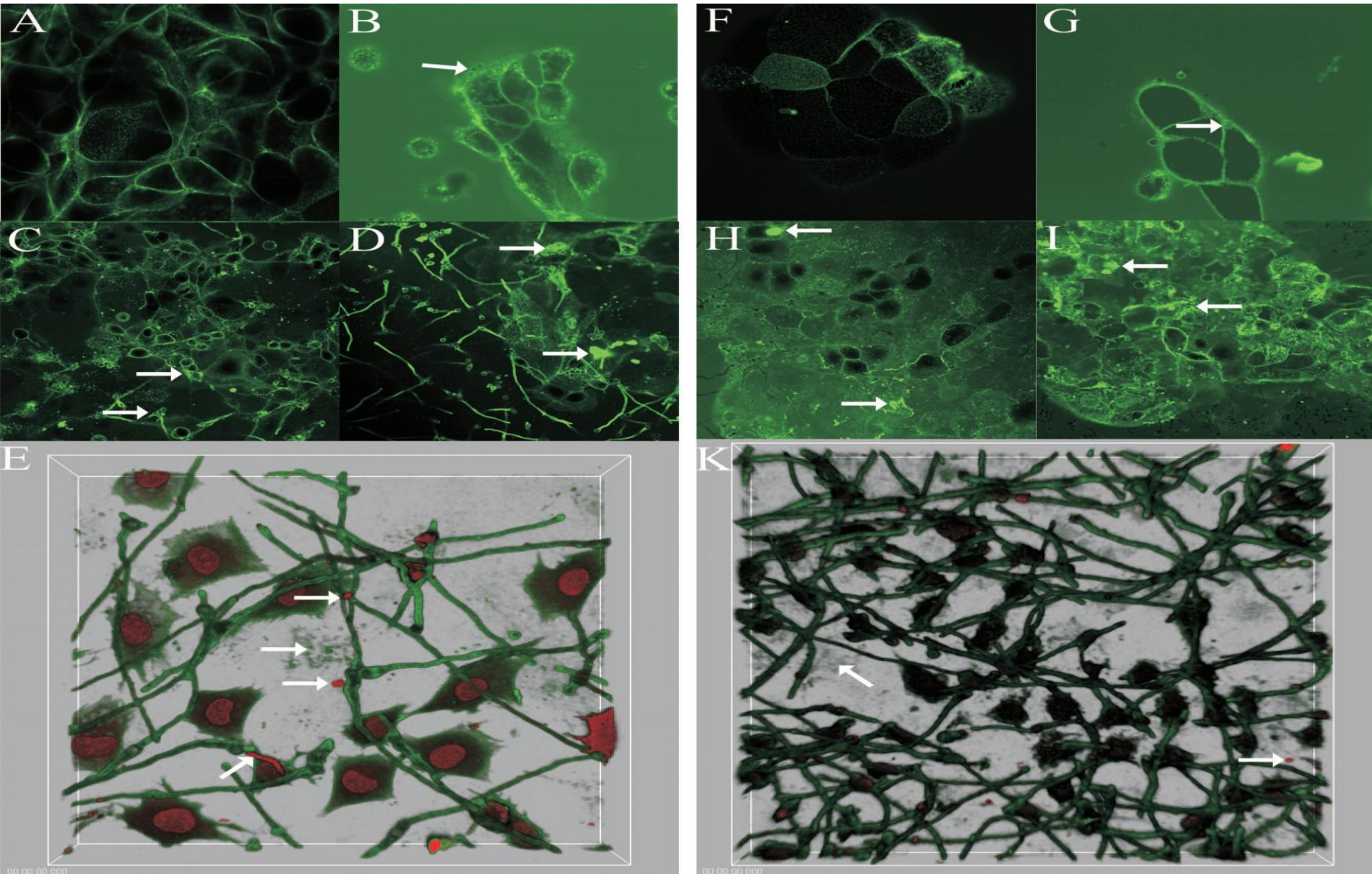
Seidler MJ. et al. Antimicrobial  
Agents Chemother 2008





Seidler MJ. et al. Antimicrobial Agents Chemother 2008





Seidler MJ. et al. Antimicrobial Agents Chemother 2008

## *A. fumigatus* biyofilm modelinde ECM katmanları:

- ❖ galaktomannan
- ❖  $\alpha$ -1,3 glukan
- ❖ monosakkaritler
- ❖ protein



- ❖ Hif ve çevresinde, hifler arasında ECM
- ❖ 24 saat içinde polisakkaritlerin üretimi
- ❖ Biyofilm kompleks çok hücreli kümeler olarak görülmüştür



## *A. fumigatus* biyofilmi;

- ❖ Erken faz → germ tüpü oluşumu  
yüzeye tutunma
- ❖ Ara faz → paralel-paket hiflerin dikey büyümesi  
ağda derinlere ilerleme
- ❖ Olgunlaşma fazı → biyofilm stabilizasyonu  
(durağan fazıda içerir)



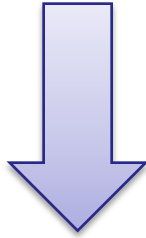


# Biyofilm kültürlerinde gliotoksin üretimi indüklenmektedir !!!!

- Gliotoksin proteinleri
- Hidrofobinleri



kodlayan genler



HPLC



Gerçek Zamanlı PCR





*A. fumigatus* gliotoksini invivo şartlarda;

- ❖ mantarı immun sistemden korur
- ❖ aspergilloma gibi kronik akciğer enfeksiyonunda canlılığını ve devamlılığını sağlar

Bruns S. Et al. Proteomics 2010



# Mantar topunda (misetoma) biyofilm oluşumu

- ❖ Hifler aglütine olur
- ❖ Çok fazla dallanan, birbiriyle sıkı ilişkide olan hifler makro koloniler oluşturur
- ❖ Hidrofobik matriks ve hif yapışkan bağlanma gösterir

Mowat E. et al. Med Mycol 2009



# Kompakt hif topu ile planktonik koloniler karşılaştırılmış;

- ❖ Morfolojik değişiklikler
- ❖ Hücre dışı polimerik matriks
- ❖ Farklı gen ekspresyonu
- ❖ Antifungal ilaçlara farklı duyarlılık belirlenmiştir

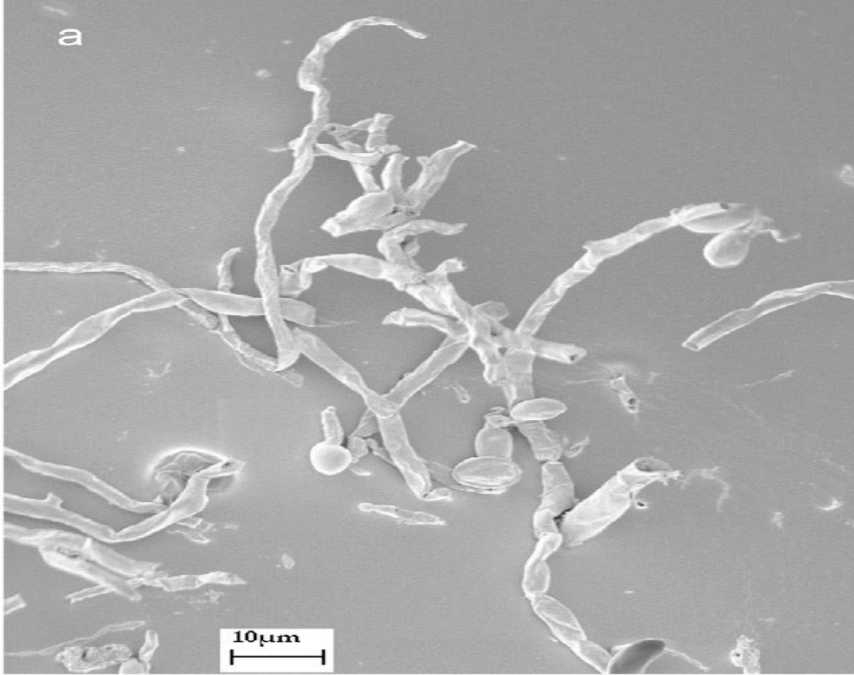


# Fusarium türlerinde biyofilm oluşumu

- ❖ Keratit olgularında güçlü biyofilm oluşturdıkları
- ❖ Oluşan biyofilmin kalınlığının yapısının metabolik aktivitesinin lens tipine bağlı olduğu
- ❖ Planktonik hücrelere göre lens koruyucu solüsyonlara daha dirençli oldukları belirlenmiştir

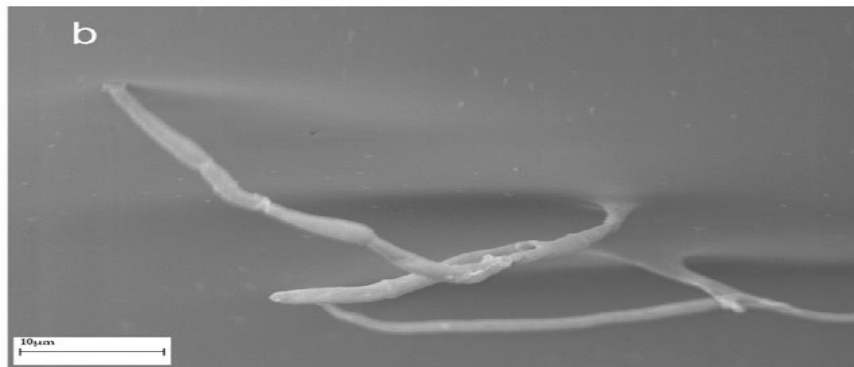
Imamura Y. et al. Antimicrobial Agents  
Chemot 2008



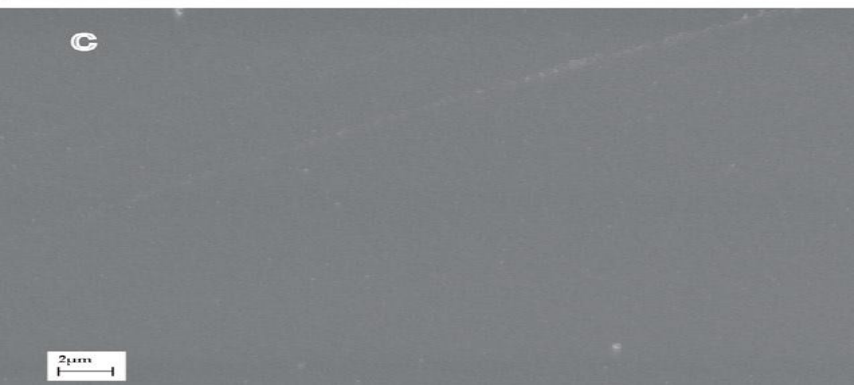


❖ Dyavaiah ve ark. (2007)  
çalışmalarında;

*Fusarium oxysporum*  
biyofilmini



*Fusarium solani*  
biyofilminden daha dirençli  
bulmuşlardır



# Dermatofitlerde biyofilm oluşumu





# Tırnakta dermatofitlerin biyofilm oluřturma nedenleri

- ❖ Travma
- ❖ Yařa bağlı kuruluk
- ❖ Nemin emilmesi
- ❖ Epidermis tabakasının kalkması
- ❖ Bariyer fonksiyonunun bozulması
- ❖ Koruyucu lipidlerin kaldırılması
- ❖ Mikotoksinlerin etkisi



- ❖ Dermatofitler Flo 11p yüzey glikoproteini ile tırnağa direkt tutunmaktadır
- ❖ Dermatofitomada biyofilm oluşumu özelliğidir
- ❖ Hasarlı keratinöz bölgelerde gelişir



- ❖ Canlı mantar elemanları aktif biyofilm içinde yer alır
- ❖ Klasik tedaviye dirençlidirler
- ❖ Cerrahi olarak kaldırmak zordur

Burkhardt CN. Et al. J Am Acad

Dermatol 2002



Randhawa ve ark. (2008) alışmalarında;

- ❖ Trakeal granülasyon dokusunda *Penicillium* kolonizasyonunda biyofilm morfolojisi

içiçe geçmiř hifler  
kompakt miselyum

saptamışlardır

- ANCAK !! hücre dışı matriks materyali  
antifungal duyarlılığın azalması görülmemiştir

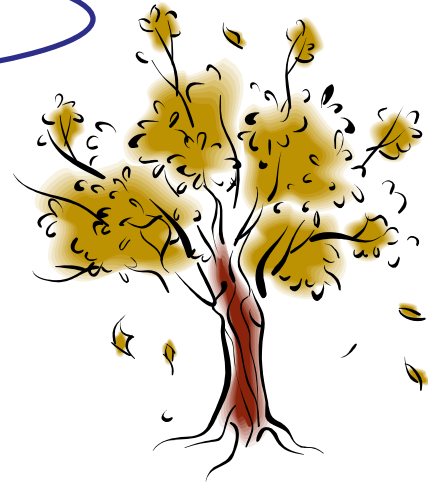


- *Aspergillus fumigatus* gibi fırsatçı patojen olan küf mantarlarının oluşturduğu

biyofilm morfolojisi

patogenez ve antifungal ilaçlara dirençteki rolleri nedeniyle

klinik olarak önemlidir



Biyofilm araştırmaları  
fırsatçı kf mantarlarının tedavilerinde  
yeni hedeflerin bulunmasını sağlayabilir.

Türkiye ile Japonya, şimdi daha da yakın.



2010 Türkiye'de Japonya Yılı

[www.japonya2010.org](http://www.japonya2010.org)

"2010 Türkiye'de Japonya Yılı" Sekreterliği

Japonya Büyükelçiliği Tel: 0312 446 05 00 / [culture@jpn-emb.org.tr](mailto:culture@jpn-emb.org.tr)  
Japonya Başkonsolosluğu Tel: 0212 317 46 00 / [japonya2010@jpcons-ist.com](mailto:japonya2010@jpcons-ist.com)



- **Moleküler Mikoloji Kursu**  
29 Kasım-3 Aralık 2010
- **Simpozyum "Skin Microbiology"**  
Doç. Dr. Takashi Sugita  
Meiji Eczacılık Üniversitesi  
Mikrobiyoloji Bölümü, Tokyo, Japonya

3 Aralık 2010,  
75.Yıl Konferans Salonu, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Ankara  
13:30-16:00

