



MANTAR ENFEKSİYONLARINDA DENEYSEL MODELLER

Doç. Dr. Zafer ÇETİNKAYA
Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD.

Deneysel modeller

- Canlı hayvan dışı modeller (İn vitro)
- Canlı hayvan modelleri (İn vivo)



İn vitro sistemler

A. Kimyasal

Tanı Testleri

İlaç Duyarlılık Testleri

B. Biyolojik

- Bitkiler (Labiatae, Rosaceae, Compositae, Myrtaceae)
*Atifungal ekstre çalışmaları, Uçucu yağ
- Hücre Kültürleri

C. Moleküler Yöntemler

D. Bilgisayar simulasyon sistemleri

İn vivo sistemler

Memeli Dışı Olanlar

- *Drosophila elanogaster* (Meyve Sineği, [Artrapod](#)),
- *Caenorhabditis elegans* (nematode),
- *Acathamoeba castellanii* (amip),
- *Dictyostelium discoideum* (amip),
- *Lepidoptera* (Kelebek, [Artrapod](#)),
- *Galleria mellonella* (Kelebek, [Artrapod](#)),
- *Pseudomonas aeruginosa* (biyosüpfektan)
- Kuşlar (Bildircin).

B. Memeliler

Fare,
Sıçan,
Kobay,
Golden,
Hamster,
Tavşan,
Köpek,
Kedi,
Yarasa,
Maymun.
Guinea Pigs



Enfeksiyon Oluşturma Şekilleri

- **A. Sistemik enfeksiyon**
- ***Deney hayvanları:*** En sık Fare ve Tavşan, diğer memeliler
- ***Mantarlar:*** Aspergillus spp., Cryptococcus spp., Candida spp., Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Scedosporium spp., Sporothrix schenckii, Paracoccidioides brasiliensis, Penicillium marneffeii, Hansenula anomala, Fusarium sp., Trichosporon asahii.
- ***Veriliş yolu:*** IV
- ***Etkilenen organlar:*** Böbrek, dalak, KC, AC, beyin.

B. Lokal enfeksiyon

- Pulmoner,
- İntraperitoneal,
- Beyin,
- Göz,
- Kulak,
- Mukozal (Oral, GIS, Vajinal),
- Kutanöz,
- Subkutanöz

Pulmoner

- *Deney hayvanları:* Sıçan ve Tavşan, Kuşlar (Aspergillus), ve diğer memeliler
- *Mantarlar:* Aspergillus spp., Cryptococcus spp., Histoplasma spp., Blastomycosis, Paracoccidioidomycosis, zygomycosis, Penicillium marneffe*, Candida albicans*
- *Veriliş yolu:* İntranazal inhalasyon, intratrakeal*
- **İntraperitoneal:** Fare, Candida spp. Penicillium spp.

Beyin (CNS)

- *Deney hayvanı:* En sık fare, tavşan, Diğer memeliler.
- *Mantar:* Aspergillus fumigatus, Cryptococcus neoformans, Coccidioides immitis, Scedosporium prolificans
- *Veriliş yolu:* İntraserebral, intratekal, intrasisternal

Göz (Endoftalmi, Keratit)

- *Deney hayvanı:* En sık tavşan, diğer memeliler.
- *Mantar:* Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Fusarium solani, Cryptococcus neoformans, Histoplasma spp., Pseudallescheria boydii.
- *Veriliş yolu:* İntrakorneal (keratit), intravitreal (endoftalmi).

Kulak (Otitis eksterna, media)

- *Deney hayvanı:* En sık kullanılan Tavşan, Diğer memeliler
- *Mantar:* Aspergillus spp., Candida spp., Trichosporon spp., Scedosporium spp.
- *Veriliş yolu:* Transkanal yolla orta kulak kavitesine, Dış kulak yolu

[Display Settings:](#) ☒ Summary, Sorted by Recently Added

Results: 4

- ☐ [The effects of caspofungin and voriconazole in an experimental fungal infection of the ear due to Aspergillus.](#)
1. Ayçiçek A, Cetinkaya Z, Kiyıcı H, Kenar F, Aşık G, Kiraz N.
Eur Arch Otorhinolaryngol. 2009 Nov;266(11):1703-9. Epub 2009 Apr 2.
PMID: 19340446 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- ☐ [Antifungal efficacy of voriconazole, itraconazole and amphotericin b in experimental fusarium solani keratitis.](#)
2. Yavas GF, Oztürk F, Küsbeci T, Cetinkaya Z, Ermis SS, Kiraz N, Inan UU.
Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2008 Feb;246(2):275-9. Epub 2007 Oct 2.
PMID: 17912543 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- ☐ [Efficacy of topical caspofungin in experimental fusarium keratitis.](#)
3. Ozturk F, Yavas GF, Kusbeci T, Cetinkaya Z, Inan UU, Ermis SS, Kiraz N.
Cornea. 2007 Jul;26(6):726-8.
PMID: 17592325 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- ☐ [The effects of caspofungin and voriconazole in experimental Candida endophthalmitis.](#)
4. Kusbeci T, Avci B, Cetinkaya Z, Ozturk F, Yavas G, Ermis SS, Inan UU.
Curr Eye Res. 2007 Jan;32(1):57-64.
PMID: 17364736 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)

Cetinkaya Z., A. Aycicek, H. Kiyıcı , I.H. Ciftci, G. Asık.

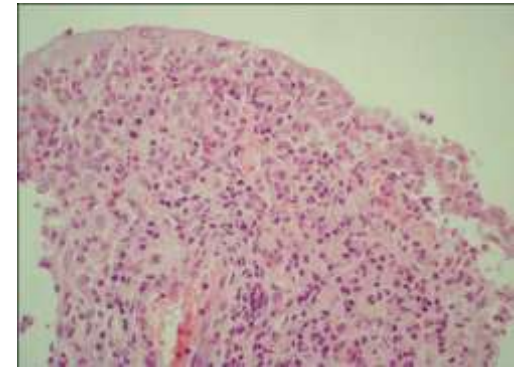
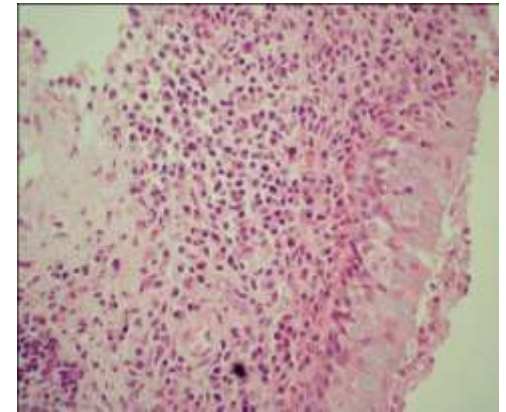
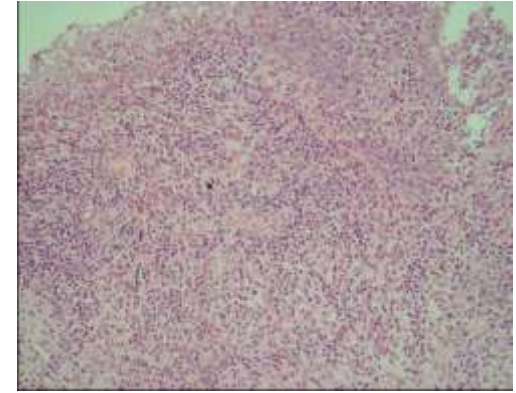
“The effect of Caspofungin and Voriconazole in Experimental Candida Otitis Media” ISHAM2009, Tokyo, 2009.

“The effects of caspofungin and voriconazole in an experimental fungal infection of the ear

due to Aspergillus” A. Ayçiçek, Z. Cetinkaya, H. Kiyici F. Kenar, G. Aşık, N. Kiraz, *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 266(11):1703-9, (2009)

- **İlaç:** Amphotericin B 1 mg/kg, itraconazole 10 mg/kg, voriconazole 10 mg/kg, caspofungin 5 mg/kg, Ceftazidime 200 mg.
- **Deney hayvanı:** Tavşan
- **Mantar Türü:** Aspergillus fumigatus (8.6×10^4 CFU/ml)
- **Metod:** İmmunsupresyon (cyclophosphamide 200 mg (bir doz), triamcinolone acetonide 10 mg/gün)
- Ortakulak mantar inokulasyonu (0.1ml)
- **Tedavi:** İnokulasyondan 72 saat sonra, 7 gün

- *Klinik takip:* Ketamine hydrochloride (30 mg/kg), xylazine hydrochloride (10 mg/kg) (50:50) genel anestezi ile
- *Çalışmanın sonlandırılması:* Yüksek doz sodium pentobarbital
- *Mikrobiyal analiz:* Orta kulak mukozasının eksizyonu ile
- *Histopatolojik analiz:* Kontrol (üst), Amphotericine B (orta), Caspofungine (alt resim)
- *İstatik analiz:* SPSS
- *Sonuç:* Amp.B, Caspofungin, Voriconazole, Itroconazole



Mukoza (oral, GIS, vaginal)

- *Deney hayvanı:* En sık kullanılan Fare, Diğer memeliler.
- *Mantar:* Candida spp.,
- *Veriliş yolu:* Oral, gastrointestinal, vajinal

Kutanöz

- *Deney hayvanı:* En sık Guinea pigs, Diğer memeliler
- *Mantar:* Candida spp, Trichophyton mentagrophytes, Malassezia sp.
- *Veriliş yolu:* Yüzeyel deri

Subkutanöz

- Fare,
- Blastomyces dermatitidis, Madurella mycetomi

Enfeksiyon Oluşturma Amaçları

- Virulans çalışmaları
- Konak yanıtının araştırılması
- Aşı çalışmaları
- Antifungal tedavi çalışmaları
- Tanısal çalışmalar

Deneysel Çalışma Öncesi Yanıtlanması Gereken Sorular?

- Çalışma kapsamında model iyi tanımlandımı ve tekrarlanabilir mi?
- Konağın bağışıklık durumu nedir?
- Oluşturulan mantar enfeksiyonunda akut veya kronik olarak hangisi modellendi?
- Çalışmada kullanılacak mikroorganizmanın CFU şeklindeki dilüsyon oranı belirlendimi?

- Terapötik çalışmalarda optimal doz, tedavinin başlaması, tedavi süresi, tedavi sıklığı, tedavinin kesilmesi önceden belirlendimi?
- Enfeksiyon parametreleri belirlendimi?
- Çalışmada hangi istatistiksel analizler kullanılacak?

Etik onay alındı mı?

Etik Onay

- “Hayvan öldürmeden insan öldürmeğe sadece bir adım vardır; dolayısıyla hayvana işkence etmekle insana işkence etmek arası da bir adımdır.” ***Tolstoy***

5199 sayılı Hayvanları Koruma Kanunu: Kanunun amacı;

- Hayvanların rahat yaşamalarını,
- Hayvanlara iyi ve uygun muamele edilmesini,
- Hayvanların eziyet çekmelerine karşı korunmalarını,
- Her türlü mağduriyetlerinin önlenmesini, sağlamaktır.

Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik

(Resmi Gazete: 06.07.2006 – 26220) (Bu Yönetmelik 24/6/2004 tarihli ve 5199 sayılı Hayvanları Koruma Kanununun 9 uncu ve 17 nci maddelerine dayanılarak hazırlanmıştır.)

Madde 13.

- a. Deney hayvanları üzerinde yapılacak tüm uygulamaların yerel etik kurul tarafından onaylanmış olması zorunludur.
- b. Yerel etik kurul tarafından yapılan düzenlemelere uygun olarak alınmış bir genel veya özel istisna olmadıkça, deneylerde kullanılacak; Fare: *Mus musculus*, Sıçan: *Rattus norvegicus*, Tavşan: *Oryctolagus cuniculus*, Kobay: *Cavia porcellus*, Golden: *Mesocricetus auratus*, hamster, Köpek: *Canis familiaris*, Kedi: *Felis catus*, Bildircin : *Coturnix caturmix*, İnsan dışındaki primat türlerinin kayıtlı yasal deney hayvanı üreticisi ve tedarikçilerinden alınmış olması şartı aranır.

Kedi, köpek gibi evcil türlerin sokakta başıboş olanları deneylerde kullanılmaz.

C. Bu Yönetmeliğin 4 üncü maddesinde tanımlanan hayvanlar, yasal bir tedarik kuruluşundan alınmaları veya deneysel amaçlar için üretilmiş olmaları koşulu ile deney hayvanı olarak kullanılabilir.

ç. Yerel etik kurullar tarafından:

- 1) Ulusal mevzuat ve uluslar arası sözleşmeler çerçevesinde nesli tehlike altında olan ve korunan türler ile CITES Sözleşmesinin (Nesli Tehlikede Olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine İlişkin) Ek-1 Listesindeki türlerin; araştırmanın amacının söz konusu türlerin korunması veya hayati biomedikal amaçlar için istisnai biçimde tek uygun türler olduğunun ispatlanması durumunda kullanılmasına izin verilir.
- 2) Doğadan alınmış yaban hayvanı üzerinde yapılacak deney; ancak diğer hayvanların deneyin amacı bakımından yeterli olmaması halinde onaylanır.
- 3) Deney hayvanı olarak kullanılan hayvanların hangi üretici ya da tedarik kuruluşlarından olduğu tespit edilir ve kayıt altına alınarak veri tabanına aktarılır.

Cezai hükümler

- *Madde 28*

- Yönetmeliklerde belirtilen hususlara uymayanlara,
hayvan başına 343 TL.

Örn: Deneylerde sokak köpeği kullananlara
Yetkisi olmadığı halde hayvan deneyi yapanlara,

hayvan başına 1.374 TL.

Örn: Eğitim sertifikası olmadan hayvanlarla araştırma yapanlar

Not: Sokak veya yabani hayvan çalışmaları için *Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu (HADMEK)* onayı alınması gereklidir.

2008 yılında tüm deneylerde kullanılan hayvan sayısı

Deney hayvanı cinsi	Sayı
Fare	21151
Sıçanlar	21364
Kobaylar	1041
Diğer kemirgenler	2
Tavşanlar	2157
Maymunlar	2
Diğer maymuna benzer hayvanlar	1
Diğer yarı maymunlar	1
Köpekler	2084

Kediler	650
Diğer etobur hayvanlar	3
Atlar, eşekler ve melezler	199
Domuzlar	74
Keçiler ve koyunlar	1830
Sığır	2460
Diğer memeliler	173
Kuşlar	23266
Sürüngenler	104
Hem karada hem de suda yaşayan hayvanlar	658
Balık	40675
TOPLAM	117.895

Hayvan modeli kullanım avantajları

- Küçük hayvanların yaşam döngü hızı,
- Birbirine eşdeğer pek çok canlı ile aynı anda çalışma olanağı,
- Enfeksiyonun ve uygulanan tedavinin zaman içindeki seyrinin takibi,
- Nadir görülen enfeksiyon etkenlerini çalışma,
- Tedavi sonrası takiblerde bazı kimyasal maddeler, protein, hormon ve enzimlerin tanısal değerleri,
- Çeşitli enfeksiyon modellerinde serolojik değerler yorumlaması.

Hayvan modeli kullanım dezavantajları

- Gerçek yaşamdaki enfeksiyon oluşturan etken yapısı ile deneysel mikroorganizma yapıları, farklılık gösterebilir.
- Doğal enfeksiyonlarda genetik farklı mikroorganizma farklı insanları enfekte edebilir,
- Deneysel modellerde tek tip mikroorganizma ile birbirinin eşdeğeri hayvanlar enfekte edilir (doğallıktan uzaklaşma)

Sonuç

- İdeal infeksiyöz hayvan modeli, test edilecek hipoteze göre belirlenmeli
- Direnç sorunları karşısında yeni ilaçların etkinliğinin belirlenmesinde alternatif modellerin geliştirilmesi gereksinimi
- Deneysel hayvan modelleri diğer enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi, mikoloji için de önemini korumaktadır





26 N 2006

TEŞEKKÜR EDERİM