

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN DERMATOFİTLERİN ENZİM AKTİVİTELERİNİN ApIZYM YÖNTEMİYLE TAYİNİ*

INVESTIGATION OF ENZYME ACTIVITIES OF DERMATOPHYTES ISOLATED FROM DIFFERENT CLINICAL SAMPLES BY ApIZYM METHOD

Nurver ÜLGER TOPRAK, Zeynep DEMİRÇAY*****

Nilgün ÇERİKÇİOĞLU, Melda KARAVUŞ******

Candan JOHANSSON**

ÖZET: Kronik yüzeysel mantar enfeksiyonları sık rastlanan bir klinik problemdir. Dermatofitlerin salgıladığı enzimler mikroorganizmanın virulansında rol oynayabilmektedir. Bu çalışmada, dermatofitlerin enzim aktiviteleri ile mantar enfeksiyonunun akut veya kronik seyri arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Yüzeysel enfeksiyonlu 81 hastadan, dermatofit izole edilen 58 (%72) hasta klinik ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmiştir. Enfeksiyonlar akut (≤ 6 hafta) veya kronik (> 6 hafta) oluşlarına göre sınıflandırılmıştır. Üretilen mantarlar klasik ve 19 adet enzim aktivitesine sahip ApIZYM yöntemiyle tanımlanmıştır. Onbir akut olgunun 5'inde *Epidermophyton floccosum*, 3'ünde *Trichophyton rubrum*, 2'sinde *Microsporum canis*, ve 1'inde *Trichophyton mentagrophytes*, 47 kronik olgunun %96'sında *T. rubrum*, %4'ünde *T. mentagrophytes* üretilmiştir. Bütün izolatların alkalin fosfataz, lösin arilamidaz ve β -glukosidaz enzimlerini salgıladıkları ve enzim aktivitesinin akut ve kronik olgulardan izole edilen suşlar arasında anlamlı fark göstermediği saptanmıştır. Alfa-mannosidaz aktivitesi akut enfeksiyonlardan üretilen dermatofit türlerinin tamamında tespit edilmiş, ancak kronik enfeksiyonlardan üretilenlerin hiçbirinde saptanmamıştır ($P < 0.001$). Çalışmamızın sonuçları, α -mannosidaz enziminin dermatofitlerin deride oluşturduğu iltihabi yanıtta ve enfeksiyonun kronik seyrinde rolü olabileceğini desteklemektedir.

Anahtar sözcükler: Dermatofit, enzim, ApIZYM.

ABSTRACT: Dermatophytes' enzymes may have a role in chronic superficial infections. In this study it was planned to investigate the possible relationship between the enzymatic activities of the dermatophytes and acute or chronic

* Marmara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenen (1997-SAG/63) bu çalışma 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde (3-8 Ekim 1999, Antalya) poster olarak sunulmuştur.

** Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

*** Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

**** Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İstanbul.

course of the infections. Dermatophytes were isolated from 58 (72%) out of 81 patients with superficial infections. The infections were divided into two groups as acute (≤ 6 weeks) or chronic (> 6 weeks). Isolated fungi were identified by the classical methods and ApiZYM method. ApiZYM exhibits 19 different enzymatic activities. From 11 acute cases; five *Epidermophyton floccosum*, three *Trichophyton rubrum*, two *Microsporum canis* and one *Trichophyton mentagrophytes* strains were isolated. Of the 47 chronic cases, 96% was due to *T. rubrum* and 4% due to *T. mentagrophytes*. Production of alkaline phosphatase, leucine arylamidase and β -glucosidase enzymes were detected in all tested strains. There was no difference between the enzymatic activities of acute and chronic cases. Alpha-mannosidase activity was detected in all of the species isolated from acute cases whereas none of the chronic cases were positive ($P < 0.001$). The results of this study suggest that α -mannosidase activity may play a role in both cutaneous inflammatory response caused by dermatophytes and the chronicity of the lesions.

Key words: Dermatophytes, enzymes, ApiZYM.

GİRİŞ

Kronik mantar enfeksiyonlarının etyopatogenezi henüz çok açık değildir. Hem etkenin virulansını hem de konağın direncini belirleyen farklı faktörler enfeksiyonun klinik seyrinde rol oynayabilmektedir. Dermatofitlerin virulansında önemli yere sahip olan hücre dışı enzimlerin, hedef dokuda substratları parçalayarak mikroorganizmaya besin sağladıkları, ayrıca penetrasyonunu kolaylaştırdıkları bilinmektedir. Ancak enzim-substrat özgüllüğü ile ilgili bilgiler halen yetersizdir¹⁻³.

Yarı kantitatif bir yöntem olan ApiZYM ile mikroorganizmalara ait 19 enzimatik aktivite kısa sürede tespit edilmektedir (Tablo I). Yapılan çalışmalarda dermatofitlerin salgıladıkları enzimlerin varlığı ApiZYM yöntemi ile araştırılmış ve enzim profilinin, türlerin tanımlanmasında yol gösterici olabileceği savunulmuştur⁴⁻⁶.

Tablo I: ApiZYM Testi ile Saptanabilen Enzim Aktiviteleri

Enzim No.	Enzimler
2	Alkalen fosfataz
3	Esteraz (C4)
4	Esteraz lipaz (C8)
5	Lipaz (C14)
6	Lösin arilamidaz
7	Valin arilamidaz
8	Sistin arilamidaz
9	Tripsin
10	Kemotripsin
11	Fosfataz asit
12	Naftol-AS-BI-fosfohidrolaz
13	α -Galaktosidaz
14	β -Galaktosidaz
15	β -Glukuronidaz
16	α -Glukosidaz
17	β -Glukosidaz
18	N-asetil- β -glukozaminidaz
19	α -Mannosidaz
20	α -Fukosidaz

Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda, farklı vücut bölgelerindeki lezyonlardan izole edilen dermatofitlerin enzim aktiviteleri ile lezyonun akut veya kronik seyri arasında bir bağlantı olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca klasik yöntemlerin yanı sıra, salgılanan enzim profilinin dermatofitlerin tanısındaki yeri irdelenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hastaların Seçimi: Ocak 1997 – Haziran 1999 tarihleri arasında yapılan bu prospektif çalışmaya, yaşları 5-63 yıl arasında değişen, tinea korporis, inguinalis, pedis ve onikomikoz klinik bulguları gösteren, klinik örneklerinin mikroskopik incelemesinde mantar elemanları görülen 81 hasta alındı. 5 yaşın altında, 65 yaşın üstünde, diabetes mellitus, psöriasis, immün sistem yetmezliği/bozukluğu ve dolaşım bozukluğu olan hastalar ve gebeler çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmadan 4 hafta önce sistemik, 2 hafta önce topikal antifungal ilaç alan hastalar da çalışma dışında bırakıldı. Çalışma grubunda, enfeksiyonun lokalizasyonu, alanı, daha önce tekrarların olup olmadığı ve aynı nedenle tedavi alıp almadığı hasta takip formuna kaydedildi. Yüzeyel mantar enfeksiyonlarında eritem, deskuamasyon, vezikül, sulantı veya kaşıntı; 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta), 3 (şiddetli) olacak şekilde skorlandı.

Dermatofitlerin İzolasyonu: Uygun kazıntı örnekleri Sabouraud dekstroza agar (SDA) besiyerine (Difco) ve mikobiyotik agara (Difco) ekilerek 26°C'de 4 hafta inkübe edildi. Koloniler belirginleştğinde SDA'ya pasajları yapılarak yeniden 26°C'de inkübe edildi, kolonilerin gelişim süreçleri, morfolojileri, doku ve pigment durumu incelendi. Ayrıca lam kültür düzeneğinde üretilerek dermatofitlerin ince yapısı, mikro- ve makro-konidyumları incelenerek tanı konmaya çalışıldı. Tanıda güçlük çekilen suşlar ise; üreyi hidrolize etmeleri, mısır unlu besiyerinde pigment oluşturmaları, in-vitro deneyde saç delmeleri, 37°C'de üreyip ürememeleri göz önüne alarak tanımlandı⁷.

Enzim Üretiminin Araştırılması: Elde edilen dermatofit kültüründen inositol-gliserol agar besiyerine (inositol 20 gr, gliserol 5 gr, NH₄NO₃ 1.5 gr, KH₂PO₄ 1.8 gr, MgSO₄ 0.1gr, agar agar 20 gr, 1 lt damıtık su, pH: 7.4) pasaj yapılarak 26°C'de 3 hafta inkübe edildi, oluşan koloniden 4 mm²'lik parçalar, 30 ml'lik enzim stimüle edici sıvı besiyerine (MOPS ile tamponlanmış RPMI-1640 w/o, Sigma) ekilerek, 26°C' de 21 gün inkübe edildi⁴. Kültür vortekslenerek karışımdan, ApiZYM setinde yer alan her bir kuyucuğa 65 µl dağıtıldı. Enzimlerin substratları parçalamaları sonucu oluşan ürün miktarıyla bağlantılı olarak gelişen renk tonu, ApiZYM renk skorlamasına göre değerlendirildi.

Yalancı Pozitif reaksiyonların oluşmasını engellemek üzere kültürden koyun kanlı besiyerine ve SDA'ya pasajlar yapılarak, kontaminasyon yönünden izlendi.

İstatistiksel Değerlendirme: Denek sayısı yetersiz olduğu için suşlar ayrılmadan istatistiksel değerlendirme yapıldı. Suşlardan bağımsız olarak akut ve kronik olgularda her bir enzim için ortalama enzim skoru hesaplandı. Akut ve kronik olgular arasında, salgıladıkları enzimlerin ortalama skorları açısından fark olup olmadığına Mann-Whitney-U testi ile bakıldı, alfa-mannosidaz enzimi için ise Fisher'in kesin ki-kare testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışılan 81 hastanın 58'inde (%72), bir veya daha fazla örnekten dermatofit üretilmiştir. Bu hastalar, enfeksiyonun süresi, yaygınlığı ve şiddetine göre değerlendirilmiştir.

Hastalar, enfeksiyon süresine göre akut (≤ 6 hafta) ve kronik (> 6 hafta) mantar enfeksiyonu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Hastaların 11'inde (%18) akut, 47'sinde (%82) ise kronik enfeksiyon saptanmıştır. Akut enfeksiyonlarda ortalama süre 2.7 hafta ± 1.34 (SD), dağılım aralığı 3 gün-4 hafta arasında, kronik enfeksiyonlarda ise ortalama süre 10.09 yıl ± 9.04 (SD), dağılım aralığı 4 ay-30 yıl arasında değişmektedir.

Enfeksiyonun yaygınlığı, her hastada tutulan farklı alanların toplamına göre değerlendirilmiştir. Her hastada ayak parmak arası, ayak tırnakları, taban, el, el tırnakları, kasık, gövde ve saçlı deri mantar enfeksiyonu açısından ayrı ayrı incelenmiş ve etkilenen alanlar tespit edilmiştir. 58 hastada toplam 145 farklı alanın tutulduğu gözlenmiştir (Tablo II).

Tablo II: Hastalarda (n: 58) Dermatomikozların Tutulum Alanlarının Dağılımı

Alan	Sayı (%)
Ayak parmak arası	44 (75)
Ayak tırnağı	41 (70)
Taban	40 (68)
Kasık	14 (24)
El	4 (6)
El tırnağı	4 (6)
Gövde	3 (5)
Saçlı deri	2 (3)

Hastalardan kronik olarak değerlendirilen 47 olgunun 25'inde ayak parmak arası, ayak tırnağı ve taban tutulumu birlikte görülmüş, diğer 22 olguda ise bir veya iki alan tutulumu saptanmıştır.

Akut enfeksiyonu olan 11 hastanın 8'inde kasık bölgesinde, 2'sinde saçlı deride ve birinde gövdede tutulum saptanırken, bu hastaların hiçbirinde ayak, taban, tırnak ve el tutulumu gözlenmemiştir.

Enfeksiyonun şiddetini akut ve kronik olgular arasında karşılaştırmak amacıyla, her iki grubun farklı tutulum alanlarının ortalama klinik skorları hesaplanmıştır. Akut enfeksiyonu olan hastaların klinik skor ortalaması (4.5 ± 1.0), kronik hastaların ortalamasına (2.7 ± 1.3) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P < 0.005$).

Üretilen mantarların enzim aktiviteleri ApiZYM yöntemiyle değerlendirilmiş ve toplam 19 enzim aktivitesi, enzim miktarının oluşturduğu renk yoğunluğuna göre 0'dan 5'e kadar skorlanmıştır (Tablo III). 0: negatif reaksiyon, 1: 5 nmol, 2: 10 nmol, 3: 20 nmol, 4: 30 nmol, 5: ≥ 40 nmol'e denk düşmektedir.

Mantar türlerinin hepsinde alkalen fosfataz, lösin arilamidaz ve β -glukosidaz enzim aktivitesi saptanmıştır. Akut olgular ile kronik olgulardan izole edilen suşlar, bu enzimlerin aktiviteleri açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir

fark bulunmamıştır. Alfa-mannosidaz aktivitesi akut lezyonlardan üretilen dermatofit türlerinin hepsinde tespit edilirken, kronik enfeksiyonlardan üretilenlerin hiçbirinde saptanamamıştır ($P < 0.001$). Ayrıca esteraz ve valin arilamidaz enzim aktiviteleri sadece *T.mentagrophytes*, esteraz lipaz (C8) aktivitesi ise sadece *T.rubrum* izolatlarında görülmüştür.

Tablo III: Kronik ve Akut Olgulara Göre Dermatofitlerin Tür Düzeyinde Dağılımları ve Enzim Aktivitelerinin ApiZYM'in 0-5 Skoruna* Göre Ortalama Değerleri

Enzim No**	Kronik Olgulara Ait Dermatofitler		Akut Olgulara Ait Dermatofitler			
	<i>T.rubrum</i> n:34	<i>T.mentagrophytes</i> n:2	<i>T.rubrum</i> n:3	<i>T.mentagrophytes</i> n:1	<i>M.canis</i> n:2	<i>E.floccosum</i> n:5
2	2.85	1.5	4.5	5	0.25	4
3	0	1	0	1	0	0
4	1	0	1	0	0	0
6	2.3	2	1.5	4	1.25	4.4
7	0	1	0	3	0	0
11	1.2	1	1	5	0	1
12	1.46	0.5	3	5	0	1
17	2.63	3	4	4	1	3.4
18	3.13	4	3.5	3	0	2
19	0	0	1.5	2	1.5	2

* Skorlama: 0; negatif, 1; 5 nmol, 2; 10 nmol, 3; 20 nmol, 4; 30 nmol, 5; ≥ 40 nmol. Aktivite göstermeyen enzimler tabloda yer almamıştır.

** Enzimler: 2; alkalen fosfataz, 3; esteraz, 4; esteraz lipaz, 6; lösin arilamidaz, 7; valin arilamidaz, 11; fosfataz asit, 12; naftol-AS-BI-fosfohidrolaz, 17; β -glukosidaz, 18; N-asetil- β -glukozaminidaz, 19; α -mannosidaz.

TARTIŞMA

Yüzeyel mantar enfeksiyonları hastalarda farklı klinik tablolar ile ortaya çıkabilmektedir. Örneğin, konakta zayıf bir inflamatuvar yanıt oluşturan *T.rubrum* çoğunlukla kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlara neden olurken, *T.versicolor* şiddetli inflamasyon ile giden reenfeksiyona yol açmayan akut bir tablo oluşturmaktadır⁸. Daha çok ayak parmak arası, tabanı ve tırnakları etkileyen kronik mantar enfeksiyonu, etkin tedavi yöntemlerine rağmen günümüzde hala önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ülkemizde dermatomikoz olgularının incelendiği pek çok çalışma yapılmıştır. Çalışmalarda olgular, çoğunlukla yaş ve cinsiyetleri, enfeksiyonun tutulum bölgesi, izole edilen etkenler yönünden irdelenmiştir⁹⁻¹². Çalışmamıza alınan hastalar, demografik özellikleri ve enfeksiyonun yerleşim alanları açısından değerlendirildiğinde Türkiye'de yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile uyumludur⁹⁻¹¹. Hastaların büyük çoğunluğunda kronik ve tekrarlayan enfeksiyon (%82) saptanmıştır. Kronik olgularda en çok ayak parmak arası, ayak tırnağı ve ayak tabanı tutulurken, akut olgularda en çok kasık tutulumu görülmüştür. Kronik olguların büyük çoğunluğundan (%96) literatürde belirtildiği gibi *T. rubrum* izole edilmiştir^{1,3}. Buna karşın akut olguların sadece %27'sinde *T.rubrum* üretilmiştir. Ayrıca *Epidermophyton floccosum* ve *Microsporum canis* suşları sadece akut olgulardan izole edilmiştir. Kronik olgularda akut olgulardan

farklı olarak kaşıntı, eritem, vezikül oluşumu gibi inflamasyon bulgularının silik olduğu görülmüştür. Bu bulguların, hastaların klinik skorlarına yansımaları sonucunda akut olguların ortalama klinik şiddet skorlarının (4.5 ± 1.0), kronik hastaların ortalamasına (2.7 ± 1.3) göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($P < 0.005$).

Sonuçlarımız genel olarak değerlendirildiğinde, farklı aktiviteye sahip olsalar da izolatlarımızın hepsinin alkalen fosfataz, lösin arilamidaz ve β -glukosidaz enzimi salgıladıkları, *Microsporum canis* dışındaki suşların ayrıca naftol-AS-BI-fosfohidrolaz ve N-asetil- β -glukozaminidaz ürettikleri saptanmıştır. Dermatofitlerden salgılanan keratinaz, kollajenaz ve elastaz gibi proteazlarla ilgili pekçok çalışma yapılmış olmakla beraber, ApiZYM'de yer alan substratları parçalayan enzimler hakkında bilinenler sınırlıdır¹³⁻¹⁶. Diğer yandan, *Candida*'nın virülans faktörünü araştıran çalışmalarda, çimlenme borusu oluşumu sırasında *C.albicans*'ın alkalen fosfataz ve N-asetil- β -glukozaminidaz enzimlerini salgıladıkları saptanmıştır. Önemli bir virülans faktörü olan çimlenme borusu oluşumu sırasında bu enzimlerin salgılanıyor olması, aynı enzimlerin dermatofitlerin patogeneğinde de önemli olabileceğini akla getirmektedir^{17,18}.

Literatürde, çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiş olmakla beraber, akut, inflamasyonlu ve derin tutulumlu lezyonlardan üretilen mantar suşlarının, kronik olgulardan izole edilenlere oranla daha fazla proteolitik aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir². Çalışmamızda akut ve kronik olgulardan izole edilen suşlar, enzim aktiviteleri açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Ancak çalışılan enzimler arasında, alfa-mannosidaz aktivitesinin farklılık sergilediği, sadece akut olgulardan izole edilen suşlarda bu aktivitenin olduğu saptanmıştır. Literatürde, kronik olgulardan izole edilen *T.rubrum* suşlarında mannan varlığının gerek bağışık yanıtı baskıladığı gerekse keratinositlerin proliferasyonunu inhibe ederek epidermal deskuamasyonu yavaşlattığı ve bu şekilde inatçı enfeksiyonlara zemin hazırladığı bildirilmiştir^{8,19-21}. Çalışmamızda, akut olgulardan izole edilen tüm dermatofit türlerinde saptanan alfa-mannosidaz enzim varlığının, kronik olgulardan izole edilenlerde saptanmaması dikkat çekici olup ($P < 0.001$) bu enzimin mannani parçalama yoluyla, enfeksiyon açısından gürültülü reaksiyonların ortaya çıkmasına yol açabileceğini akla getirmektedir.

Çalışmamızda ApiZYM yönteminin, etken mantarların tür düzeyinde tanımlanmalarındaki yeri de araştırılmıştır. Elde ettiğimiz verilere göre, esteraz (C4) ve valin arilamidaz enzim aktiviteleri sadece *T.mentagrophytes* türlerinde görülürken, esteraz lipaz (C8) aktivitesi *T.rubrum* suşlarında saptanmıştır. Bu özelliklerinden dolayı ApiZYM, *T.mentagrophytes* ile *T.rubrum* türlerinin ayırımında yardımcı bir test olarak kullanılabilir. Ancak diğer türlerin tanımlanmasında bu test yetersiz kalmış ve mutlaka klasik testler ile birlikte değerlendirilmesi gereği doğmuştur. Yeğenoğlu ve arkadaşlarının²¹ yaptıkları çalışmada, ApiZYM'de yer alan enzim profillerine göre dermatofitlerin tür düzeyinde tanımlanmalarının mümkün olmadığı vurgulanmıştır.

Sonuç olarak, ApiZYM ile yapılan bu çalışmaya göre dermatofitlerin bilinen keratinaz, kollajenaz, elastaz, lipaz ve fosfolipaz aktivitelerinden farklı olarak bir çok enzim salgıladıkları ve enzimlerin çok sayıda substratı parçalayabildikleri görülmüştür. Bu enzimlerin, mantarlara özgü virülans faktörleri arasında yer alıp almayacağı hakkında yorum yapabilmek için ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Elewski BE: Onychomycosis: Pathogenesis, diagnosis, and management. Clin Microbiol Rev 1998, 11: 415-429.
2. Kunert J: Physiology of keratinophilic fungi, p: 77-85. In: Kushwaha RKS, Guarro J (eds), Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi. 2000, Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao.
3. Weitzman I, Summerbell RC: The dermatophytes. Clin Microbiol Rev 1995, 8: 240-259.
4. Brasch J, Zaldúa M: Enzyme patterns of dermatophytes. Mycoses 1994, 37: 11-16.
5. Brasch J, Martins BS, Christophers E: Enzyme release by *Trichophyton rubrum* depends on nutritional conditions. Mycoses 1991, 34: 365-368.
6. Nascimento AM, Martínez-Rossi NM: 18S-rDNA sequencing, enzyme patterns and morphological characterization of *Trichophyton* isolates. Brazil J Microbiol 2001, 32: 179-186.
7. Robert GD: Laboratory methods in basic mycology, p: 681-775. In: Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC (eds), Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 1990, C.V. Mosby Company, Missouri.
8. McGregor JM, Hamilton AJ, Hay RJ: Possible mechanisms of immune modulation in chronic dermatophytoses: An in vitro study. Br J Dermatol 1992, 127: 233-238.
9. Özel MF, Mete M, Mete Ö, Gül K, Suay A: Diyarbakır ve çevresinde dermatomikoz etkenleri. İnfeks Derg 1996, 10: 275-278.
10. Yavuzdemir Ş: Dermatofitoz klinik tanılı olgulardan izole edilen etkenler. Mikrobiyol Bül 1993, 27: 100-106.
11. İnci R, Hilmioğlu S, Tümbay E: İzmir ve çevresinde *Microsporum canis* infeksiyonları. İnfeks Derg 1996, 10: 1-5.
12. Aydın N, Hilmioğlu S, Gültekin B, Bozkurt Şavk E, Aydemir Ş, Gürel M: Yüzeyel mikozlardan izole edilen etkenler. İnfeks Derg 2001, 15: 47-50.
13. Sandani AJ, Dykes PJ, Marks R: The proteolytic activity of strains of *T. mentagrophytes* and *T. rubrum* isolated from tinea pedis and tinea unguium infections. J Med Vet Mycol 1995, 33: 167-170.
14. Papini R, Mancianti F: Extracellular enzymatic activity of *Microsporum canis* isolates. Mycopathologia 1995-96, 132: 129-132.
15. Vian FC, Dos Santos JL, Paula CR, Larson CE, Gambale W: Production of extracellular enzymes by *Microsporum canis* and their role in its virulence. Med Mycol 2001, 39: 463-468.
16. Tsuboi R, Ko IJ, Takamori K, Ogawa H: Isolation of a keratinolytic proteinase from *Trichophyton mentagrophytes* with enzymatic activity at acidic pH. Infect Immun 1989, 57: 3479-3483.
17. Ram SP, Sullivan PA, Shepherd MG: The in situ assay of *Candida albicans* enzymes during yeast growth and germ tube formation. J Gen Microbiol 198, 129: 2367-2378.
18. Sullivan PA, Mchugh NJ, Romana LK, Shepherd MG: The secretion of N-acetylglucosaminidase during germ-tube formation in *Candida albicans*. J Gen Microbiol 1984, 130: 2213-2218.
19. Kuştımur S: Dermatofitlerin patogenezi ve virölans faktörleri. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Simpozyumu, 3-4 Haziran 2004 Kayseri. Dermatofitoz etkenleri ve dermatomikozlar, s: 9-14.
20. Wagner DK, Sohnle PG: Cutaneous defenses against dermatophytes and yeasts. Clin Microbiol Rev 1995, 8: 317-335.
21. Yeğenoğlu Y, Erturan Z, Kiraz M, Anğ Ö: Bazı dermatofitlerin patogenezi ve önem taşıyan enzimlerinin araştırılması. İnfeks Derg 2003, 17: 175-178.