

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi ile *Malassezia* Türlerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of *Malassezia* Species by Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy

Çağrı ERGİN¹, M. Emre VURAN², Yaşar GÖK³, Durmuş ÖZDEMİR⁴, Aydın KARAARSLAN², İlknur KALELİ¹, Orçun ZORBOZAN¹, Nilgün KABAY³, Ahmet Hilmi ÇON⁵

¹ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

¹ Pamukkale University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Denizli, Turkey.

² Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Ankara University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

³ Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Denizli.

³ Pamukkale University Faculty of Science, Department of Chemistry, Denizli, Turkey.

⁴ İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Kimya Bölümü, Urla, İzmir.

⁴ Izmir Institute of Technology, Department of Chemistry, Urla, Izmir, Turkey.

⁵ Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli.

⁵ Pamukkale University Engineering Faculty, Department of Food Engineering, Denizli, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 15.02.2011 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 06.06.2011

ÖZET

Malassezia türleri, normal deri florasının üyesi kabul edilen, cilt enfeksiyonlarına da yol açabilen lipofilik ekzobasidiyomiset mantarlardır. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanan fenotipik karakterlere dayalı tür tanımlaması her zaman için taksonomik araştırmalarla uyumlu olmayabilmektedir. Lipofilik ve lipide bağımlı *Malassezia* türleri lipid ile zenginleştirilmiş besiyerlerine gereksinim gösterir. Bu nedenle, lipid bölgesine odaklanmış Fourier dönüşümlü kızılötesi (Fourier transform infrared; FT-IR) spektroskopisi, *Malassezia* türlerinin tanımlanmasında yardımcı olabilir. Bu çalışmada, insan patojeni olan 10 farklı türe ait standart *Malassezia* suşu (*M.dermatis* CBS 9145, *M.furfur* CBS 7019, *M.japonica* CBS 9432, *M.globosa* CBS 7966, *M.nana* CBS 9561, *M.obtusa* CBS 7876, *M.pachydermatis* CBS 1879, *M.slooffiae* CBS 7956, *M.sympodialis* CBS 7222 ve *M.yamatoensis* CBS 9725), modifiye Dixon agar besiyerinde standart kültürü takiben FT-IR spektroskopisi ile incelenmiştir. Çalışmamızda, tüm spektrum analizi ile iki ana grup (M1 grubu; *M.globosa*, *M.obtusa*, *M.sympodialis*, *M.dermatis*, *M.pachydermatis* ve M2 grubu; *M.furfur*, *M.japonica*, *M.nana*, *M.slooffiae*, *M.yamatoensis*) ayırımı yapılmıştır. M1 grubunda; *M.obtusa*'nın 1686-1606 cm⁻¹, M2 grubunda *M.japonicum*'un 2993-2812 cm⁻¹ dalga sayısı penceresin-

İletişim (Correspondence): Dr. Çağrı Ergin, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye. Tel (Phone): +90 258 296 2536, E-posta (E-mail): cagri@pau.edu.tr

de yapılan ikinci basamak işlemlerinde, düşük düzeyde ayırım gücü ile tanımlandığı görülmüştür. Bununla birlikte, *M.symphodialis*, *M.globosa* ve *M.pachydermatis* ile *M.furfur* ve *M.yamatoensis*'in birbirlerinden ayırım gösterdiği bölgeler saptanamamıştır. Sonuç olarak, farklı spektral bölgelerin analiz verilerine göre; FT-IR spektroskopik analizinin, standart kültürü yapılan *Malassezia* türlerinin ayırımında yeterli olmadığı kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Malassezia* türleri; FT-IR spektroskopisi; taksonomi; tanımlama.

ABSTRACT

Malassezia species which are lipophilic exobasidiomycetes fungi, have been accepted as members of normal cutaneous flora as well as causative agent of certain skin diseases. In routine microbiology laboratory, species identification based on phenotypic characters may not yield identical results with taxonomic studies. Lipophilic and lipid-dependent *Malassezia* yeasts require lipid-enriched complex media. For this reason, Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy analysis focused on lipid window may be useful for identification of *Malassezia* species. In this study, 10 different standard *Malassezia* species (*M.dermatis* CBS 9145, *M.furfur* CBS 7019, *M.japonica* CBS 9432, *M.globosa* CBS 7966, *M.nana* CBS 9561, *M.obtusa* CBS 7876, *M.pachydermatis* CBS 1879, *M.slooffiae* CBS 7956, *M.symphodialis* CBS 7222 and *M.yamatoensis* CBS 9725) which are human pathogens, have been analyzed by FT-IR spectroscopy following standard cultivation onto modified Dixon agar medium. Results showed that two main groups (M1; *M.globosa*, *M.obtusa*, *M.symphodialis*, *M.dermatis*, *M.pachydermatis* vs, M2; *M.furfur*, *M.japonica*, *M.nana*, *M.slooffiae*, *M.yamatoensis*) were discriminated by whole spectra analysis. *M.obtusa* in M1 by 1686-1606 cm^{-1} wavenumber ranges and *M.japonicum* in M2 by 2993-2812 cm^{-1} wavenumber ranges were identified with low level discrimination power. Discriminatory areas for species differentiation of M1 members as *M.symphodialis*, *M.globosa* and *M.pachydermatis* and M2 members as *M.furfur* and *M.yamatoensis* could not be identified. Several spectral windows analysis results revealed that FT-IR spectroscopy was not sufficient for species identification of culture grown *Malassezia* species.

Key words: *Malassezia* species; FT-IR spectroscopy; taxonomy; identification.

GİRİŞ

Malassezia cinsinde yer alan maya mantarları normal insan cilt florasında bulunabilen, enfeksiyonlara yol açabilen, lipofilik mikroorganizmalardır. Ekzobasidiyomycetes sınıfında, Malasseziales takımında yer alan *Malassezia* cinsi içinde 13 farklı tür tanımlanmıştır. Taksonomik sınıflamada moleküler teknikler öne çıkmaktadır. Tür ayırımında çoğunlukla fizyolojik ve yağ asitleri asimilasyon özellikleri kullanılmaktadır¹. Bu özellikler genellikle yeterli kabul edilmekle birlikte, rutin ve hızlı testlerin geliştirilmesine gereksinim vardır.

Fourier dönüşümlü kızılötesi (Fourier transform infrared; FT-IR) spektroskopisi tekniği, XX. yüzyılın başlarından itibaren biyolojik bilimlerde kullanılmaktadır. FT-IR spektroskopisinin tanısal mikrobiyolojide sıklıkla kullanım amacı mikroorganizmaların tanımlanması ve sınıflandırılmasıdır. Kızılötesi bölgesinde absorpsiyon, moleküllerin titreşim ve dönme düzeylerini uyarır. Teknik, bu uyarımın ölçümü esasına dayanır. Kızılötesi ışının absorpsiyonu, çeşitli titreşim ve dönme halleri arasındaki enerji farklarının küçük olması nedeniyle çoğunlukla moleküler yapılarla sınırlıdır. Dalga sayısı hem enerji hem de frekans ile doğru orantılı olduğundan FT-IR spektroskopisi incelemelerinde dalga sayısı ölçek ola-

rak kullanılır. Mikrobiyolojik incelemelerde orta (2.5-25 µm) kızılötesi ışığı ile 4000 ile 400 cm⁻¹ arasında kalan bölge incelenir. FT-IR spektroskopi tekniği ile yapılmakta olan çok sayıda araştırmada, farklı mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılabilecek belirleyici kızılötesi spektrum bölgeleri araştırılmaktadır²⁻⁵. Ancak *Malassezia* spp. suşlarına ait FT-IR spektroskopi analizi ulaşılabilen literatürde nadirdir⁶.

Kümeleme ve sınıflandırma amaçlı yöntemlerin tamamı, çok değişkenli bir veri analiz yöntemi olan temel bileşenler analizine (Principal Component Analysis, PCA) dayalıdır. PCA, incelenen çok sayıdaki değişkeni, değişkenler arası korelasyonu engelleyerek onların doğrusal kombinasyonlarından oluşan daha az sayıda bileşenlere indirgeyen bir yöntemdir. PCA esaslı yöntemler, verilen bir örnek sistemi üzerinde çok sayıda değişken değerinden yola çıkarak söz konusu örnekleri çeşitli gruplara kümeleyerek sınıflandırabilir. Hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) ise verilen bir örnek setindeki örnekleri ve onları tanımlayan değişkenleri sahip oldukları benzerliklere göre sınıflandıran bir yöntemdir. HCA doğrudan orijinal değişkenlere uygulanabildiği gibi, değişken sayısının çok fazla olması durumunda, PCA analizinden gelen temel bileşenlere de uygulanabilmektedir. Kümeleme analizinde örnekler arasında uzaklık ölçütü olarak birçok yöntem bulunmakla beraber, Öklit uzaklığı ve Mahalanobis uzaklığı yöntemleri en çok kullanılanlarıdır^{7,8}.

Sunulan çalışmada, standart *Malassezia* spp. suşları kullanılarak FT-IR spektral verilerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

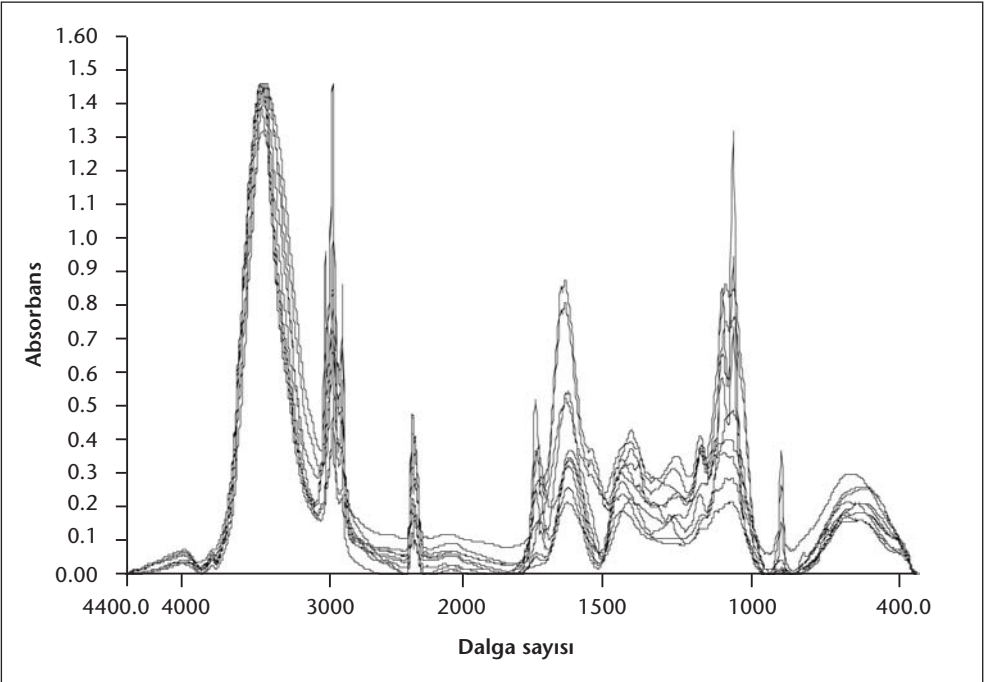
Araştırmaya, insanda patojen 10 farklı türe ait *Malassezia* suşu (*M.dermatis* CBS 9145, *M.furfur* CBS 7019, *M.japonica* CBS 9432, *M.globosa* CBS 7966, *M.nana* CBS 9561, *M.obtusa* CBS 7876, *M.pachydermatis* CBS 1879, *M.slooffiae* CBS 7956, *M.symposiumalis* CBS 7222 ve *M.yamatoensis* CBS 9725) alındı. Suşlar, modifiye Dixon agar (%3.6 malt özütü, %0.6 pepton, %2 kurutulmuş öküz safrası, %1 Tween 40, %0.2 gliserol, %0.2 oleik asit, %1.2 agar, %0.5 kloramfenikol, %0.5 sikloheksimid) besiyerinde bir hafta süre ile inkübe edilerek üretildi⁹. Saf kültür olarak üretilen suşlar, 2 ml saf su içinde süspansiyon ve sonra lilyofilize edildi. FT-IR spektroskopi analizi Perkin-Elmer FT-IR spektrometre (Model BX-40, ABD) cihazında absorpsiyon modunda yapıldı. Çalışmada 4400-400 cm⁻¹ spektral sınırlar alındı. Spektral çözünürlük 4 cm⁻¹'ye ayarlandı. Tüm veriler, spektrumların kaydedildiği spektrometrenin bağlı olduğu bilgisayarda (Spectrum, v5.0.1, Perkin-Elmer, ABD) kaydedildi. Verilere sırasıyla temel çizgi düzeltmesi (baseline correction), yumuşatma (smoothing), normal dağılım uyarlaması (normalization) ve sınıra genişletme (abex fitting) işlemleri uygulandı. Her suşa ait spektral verilerin, üst üste binmeyen birim aralıklarının (pencere) saptanması gibi tanımlayıcı bölgelerin araştırılması amacıyla ikinci dereceden türevleri alındı. Türler arasında gruplama oluşturabilecek verilerin varlığı için çok sayıda farklı spektral pencere için inceleme uygulandı.

Spectrum® yazılımı ile "*.spc" formatında elde edilen tüm veriler Origin 8.0 (Northampton, ABD) programında örneklendi ve Minitab 16.0 (Lead Tech, ABD) istatistik programına aktarıldı. Veriler öncelikle PCA ile değerlendirildi. Verilerdeki toplam varyan-

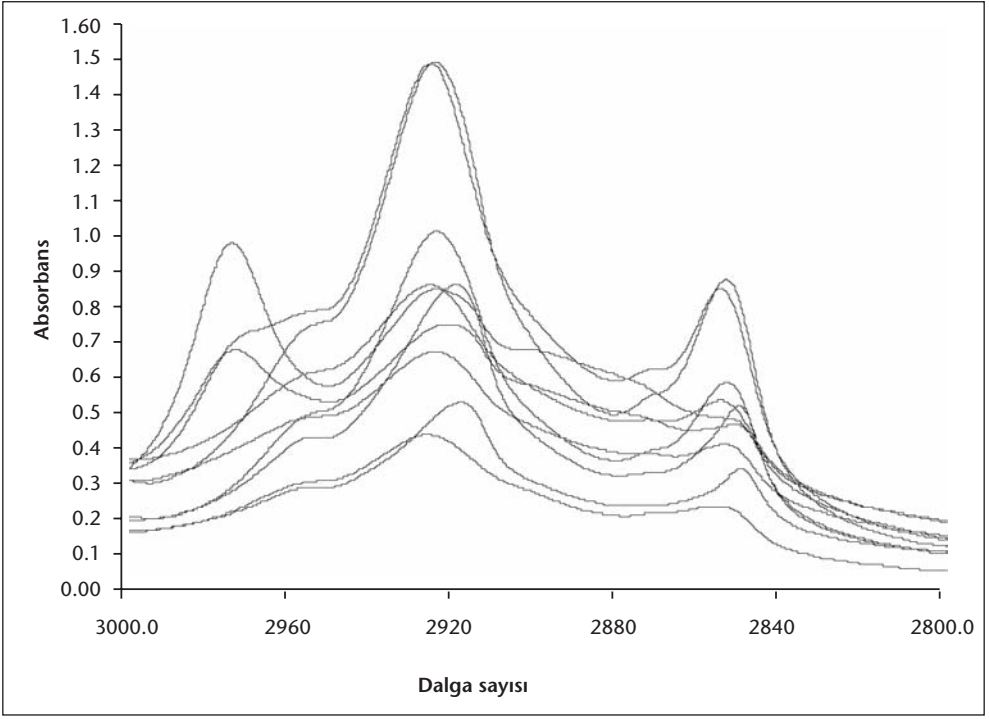
sın %90 ve daha fazlasını açıklayan temel bileşen sayısı belirlendikten sonra yeteri sayıda temel bileşen vektörü kullanılarak HCA ile örneklerin hiyerarşik kümelenme eğilimleri incelendi. HCA analizinde, kümeleme yöntemi için Ward algoritması ve sayısal aralık için karesel öklidyen uzaklık işlemleri kullanıldı.

BULGULAR

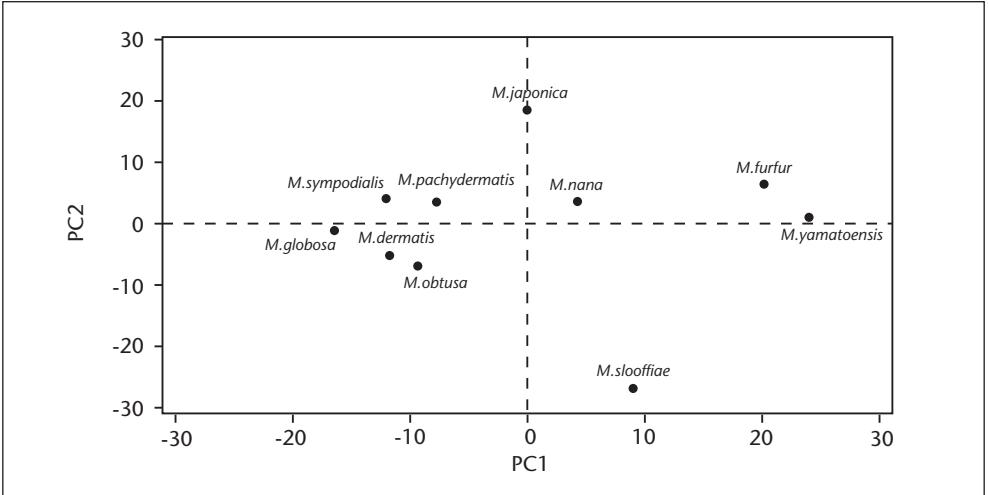
İncelenen farklı sayıda spektral pencerelerin PCA analizlerinde, araştırmaya alınan suşların gruplama oluşturduğu bölgeler saptanamamıştır. Çalışmada kullanılan örneklere ait tüm spektral bölgenin FT-IR spektrumları Şekil 1’de gösterilmiştir. Bu grafikte lipid bağlarının izdüşümü olan bölgelerde (3000-2800 cm^{-1} aralığında) tüm suşlar için farklı tepe noktaları elde edilmiştir (Şekil 2). Ancak bu bölgelerin PCA analizinde *Malassezia* spp. suşları gruplaşma göstermemiş; buna karşın tüm spektrumun PCA analizinde gruplaşmalar görülmüştür (Şekil 3). Tüm spektrumun dendrogramında *Malassezia* türleri belirgin iki ana gruba (M1 grubu; *M.globosa*, *M.obtusa*, *M.symphodialis*, *M.dermatis* ve *M.pachydermatis* ile M2 grubu; *M.furfur*, *M.japonica*, *M.nana*, *M.slooffiae* ve *M.yamatoensis*) ayrılabilir (Şekil 4). Farklı dalga boyu pencereleri ile yapılan incelemelerde M1 grubunda (1686-1606 cm^{-1}) *M.obtusa*’nın, M2 grubunda (2993-2812 cm^{-1}) ise *M.japonica*’nın ayırım gösterdiği, ancak bu verilerin ayırım gücünün düşük olduğu görülmektedir (Şekil 5). Bununla birlikte, *M.symphodialis*, *M.globosa* ve *M.pachydermatis* ile *M.furfur*, *M.slooffiae* ve *M.yamatoensis*’in birbirlerinden ayırım gösterdiği bölgeler saptanamamış-



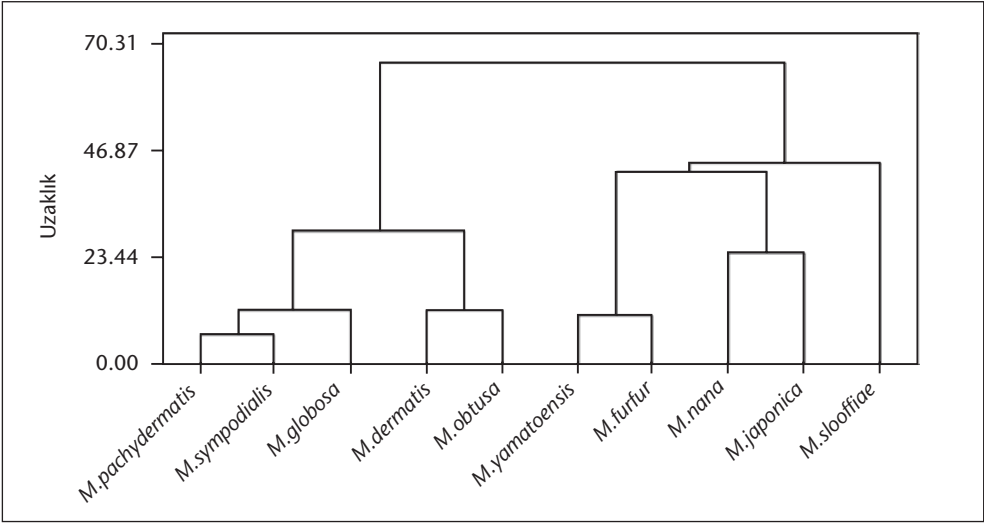
Şekil 1. Araştırmaya alınan 10 farklı *Malassezia* spp. suşunun FT-IR spektrumları.



Şekil 2. Araştırmaya alınan 10 farklı *Malassezia* türünün 3000-2800 cm^{-1} bölgesi FT-IR spektrumları.



Şekil 3. *Malassezia* suşlarının bütün bölge FT-IR spektrumları kullanılarak yapılan PCA analizi sonucu ilk iki skor vektörü (PC1 ve PC2) kullanılarak oluşturulan skor grafiği.

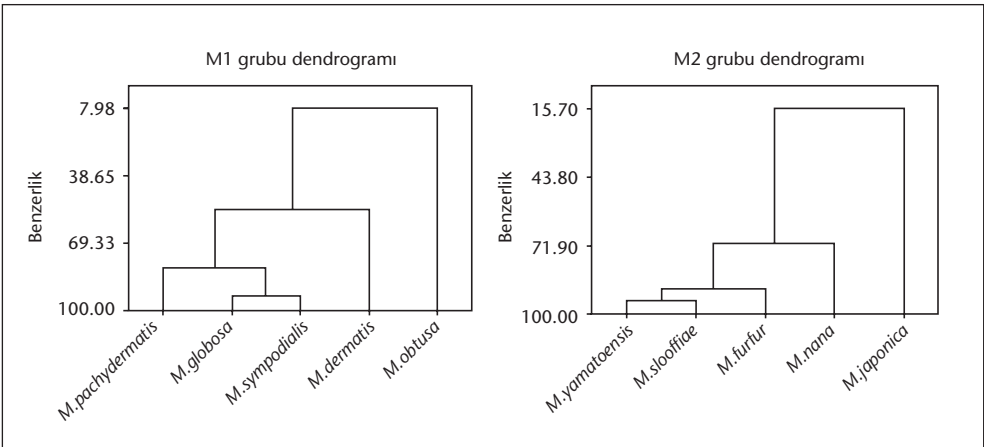


Şekil 4. *Malassezia* suşlarının bütün orta IR bölge FT-IR spektrumları kullanılarak yapılan PCA analizinden elde edilen ilk dört skor vektörü kullanılarak gerçekleştirilen HCA analizi ile elde edilen dendrogram.

tır. Benzer şekilde testlerin tekrarlandığı farklı pencere aralıklarında da ayırım oluşturabilecek bölgeler bulunamamıştır. Verilerin ikinci derece türevlerinin analizinde de ayırım gücü bulunan pencere aralıkları saptanamamıştır.

TARTIŞMA

Malassezia ile yapılan ilk araştırmalar yaklaşık 150 yıl önce başlamıştır. Bu süre içinde insan patojeni maya mantarları ile ilgili çok sayıda araştırma yapılırken, *Malassezia* türle-



Şekil 4. M1 grubunda (1686-1606 cm^{-1} dalga boyu penceresi) *M.obtusa*'nın, M2 grubunda (2993-2812 cm^{-1} dalga boyu penceresi) ise *M.japonica*'nın ayırım gösterdiği, ancak bu verilerin ayırım gücünün düşük olduğu görülmektedir.

rinin rutin kullanılan mikolojik besiyerlerinde üretilmemesi nedeniyle bu konudaki araştırmalar daha yavaş ilerlemiştir. Hücre duvarlarında yüksek lipid içerdiklerinden bu mantarların üretilme ve tanımlanmasında zorluklar bulunmaktadır. *Malassezia* türlerinin, diğer birçok anamorfik mayada da olduğu gibi, morfolojik olarak ayırımı zordur. Tanımlama amacıyla, LSU-rRNA sekanslama ile uyumlu olduğu gösterilen suşların, farklı ısılarda üreme yetenekleri, katalaz reaksiyonu ve farklı lipid içeren bileşikler asimile edebilme özellikleri kullanılır. Ancak bazı türler sadece moleküler tekniklerle kesin olarak tanımlanabilmektedir¹⁰.

Malassezia türlerinin ışık mikroskopi çalışmaları ile farklılıkları ilk defa 1899 yılında bildirilmiştir¹. Daha sonraları yapılan araştırmalar ile *Malassezia* türleri arasında ışık mikroskopisi ile kültürde filamanlı yapıların görüldüğü türler *M.globosa* ve *M.obtusa* olarak iki gruba ayrılmıştır. *M.globosa* ve *M.obtusa*'nın kültürlerindeki filamentöz yapılar benzeyen kıvrımlı atipik filamentöz yapılar *M.sympodialis*'te de rastlanmış olmakla birlikte bu yapılar in vivo incelemelerde gözlenmemiştir¹¹. Yapılan elektron mikroskopi (EM) incelemelerinde, *Malassezia* türlerinin hücre duvarlarının kalın, elektron-yoğun ve çok katmanlı yapılar sahip, fibriler bir yapıda olduğu görülmüştür¹². Bu yapının türler arasında farklılık gösterdiği EM çalışmaları ile bildirilmiştir⁹. FT-IR spektroskopisi temel prensipleri düşünüldüğünde bu durumun bir farklılık oluşturması beklenmelidir. Kalinowska-Pujdak ve arkadaşlarının⁶ çalışmasında, klinik ve standart suşların FT-IR spektroskopisi analizi sonunda, beş farklı *Malassezia* türü arasında *M.furfur*'un diğer suşlardan ayrılabilirdiği; bir klinik izolatin da sadece bu yöntem ile *M.furfur* olarak tanımlanabildiği bildirilmiştir. Bu araştırmacılar ayrıca, *M.globosa* ve *M.obtusa*'nın FT-IR spektroskopisi ile çok yakınlık gösterdiğini belirtmişlerdir⁶. Bizim çalışmamızda, *M.globosa* suşu, Kalinowska-Pujdak ve arkadaşlarının⁶ çalışmalarında yakın tür olarak belirtilen *M.sympodialis* ile birlikte *M.pachydermatis*'e de benzer spektrum vermiştir. *M.pachydermatis* bulunduğu konağa uyum gösteren, genetik olarak heterojen bir türdür^{13,14}. Bu durumun hücre duvar yapısında farklılıklara yansımaları beklenbilir. Benzer ayırım grubunda bulunan *M.dermatis*'in tanımlanmasında ise moleküler tekniklerin daha "akılcı" olduğu belirtilmektedir¹⁰. Sunulan araştırmada M2 grubunu, grup içinde daha az benzerlik gösteren *M.yamatoensis*, *M.furfur*, *M.japonica*, *M.nana* ve *M.slooffiae* oluşturmaktadır. Kalinowska-Pujdak ve arkadaşlarının⁶ araştırmalarında kullanılan örnek sayısı, istatistiksel analiz için yeterli olmakla birlikte test edilen tür sayısı azdır ve bizim çalışmamızda incelenen bazı türler (*M.yamatoensis*, *M.nana*, *M.slooffiae* vb.) bulunmamaktadır. Bu nedenle "*M.furfur*'un FT-IR spektroskopisi analizi ile tanımlanabileceği" şeklindeki sonuç, bizim çalışmamızda elde edilememiştir. *M.furfur*, tüm dalga boyu analizinde *M.yamatoensis*'ten, lipid bölge ve farklı bölgelerin analizlerinde ise *M.yamatoensis*'e ilaveten *M.nana* ve *M.slooffiae*'dan ayrılamamaktadır. Elde etmiş olduğumuz verilere göre *M.slooffiae* bu grubun dışında bulunan FT-IR spektrumunda ayrı bir grup olarak değerlendirmeye yatkındır (Şekil 4). Yapılan tüm filogenetik analizlerde *M.slooffiae*'nın farklı bir grup olabileceği, filogenetik ağaçtaki yerinin daha belirgin olabilmesi için ileri araştırmalara gereksinim olduğu belirtilmektedir^{10,15}.

Şekil 1'de, elde edilen tüm spektrumda 900-1200 cm⁻¹ arası çeşitli polisakkaridleri, 1200-1250 cm⁻¹ arası nükleik asit kaynaklı PO₂ yapıları; 1500-1700 cm⁻¹ arası protein-

lerden C = O ve N-H yapıları; 1720-1750 cm^{-1} arası lipid esterlerinden C = O yapıları; 2800-3000 cm^{-1} arası protein ve lipidlerden CH yapıları ve 3200-3100 cm^{-1} arası proteinerden NH yapıları görülmektedir^{4,5}. FT-IR spektroskopisi incelemesinde grafik olarak aktarılan verilerin amplitüdü, ortamdaki madde miktarı ile ilişkili değildir. Lipid bağların bulunduğu bölgelerdeki (Şekil 2) farklı dalga yapılarının görülmesinin, *Malassezia* türlerinin hücre duvarlarındaki farklı lipid oluşumlarına bağlı olabileceği öne sürülebilir. Protein ve nükleik asit kaynaklı yapılarla bağlı verilerdeki farklılıklar ise *Malassezia* türlerinin hem yaşam dönemindeki fazlarına hem de hif ve maya formlarındaki moleküllerin farklılıklarından kaynaklanabileceğini kuvvetle düşündürmektedir. Bu nedenle tüm spektrumun değerlendirilmesi yerine, ileri araştırmalarda, sınırlı bir bölgede keskin pik gösteren lipid bölgesinin araştırılması önemlidir.

Lipofilik özellik gösteren *Malassezia* suşları, üreme ve yaşamları için ortamda uzun zincirli (12-24 karbonlu) yağ asitlerinin bulunmasına ihtiyaç duyar. Bu özellik günümüzde, *Malassezia* suşlarının laboratuvar tanısında sıklıkla kullanılmaktadır¹⁰. *Malassezia* suşlarına ait FT-IR spektroskopisi verilerinde ayırım yaratabilecek bölgelerden biri de, Şekil 1'de görüldüğü gibi, lipid ester yapılarının göstergesi olan bölgelerdir. Modifiye Dixon agar besiyerinde üretilen suşlarda bile hücre duvarı lipid bölgelerinde farklılıklar izlenmektedir. Besiyerinin içinde bulunan bileşiklerin, hücre duvarı üzerinde farklı yapılarla katılması ve bunların FT-IR spektrumunda saptanabilmesi ayırım gücünü artırmaktadır. Benzer bir durum Tween 80 ilave edilen ortamlarda üretilen dermatofit suşlarında da görülmüştür¹⁶. Bu nedenle, farklı lipid bileşik içeren ortamlarda üretilen *Malassezia* suşlarının hücre duvarlarında oluşan farklılıkların, tür ayırımında kullanılması ile ilgili araştırmalar planlanmalıdır.

Sunulan araştırmanın bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Yapılan PCA analizinin ve HCA dendrogramının istatistik gücü, aynı grup içinde yapılacak ölçüm sayısının yüksek olmasını gerektirmektedir. Çalışmamız, şimdiye kadar insanlarda patojen olarak tanımlanan 10 *Malassezia* türünü içermekle birlikte, LSU-rRNA sekanslama ile tanımlanmış çok sayıda suş ile bu analizlerin sonuçları test edilmelidir. Bir diğer sınırlayıcı nokta ise *Malassezia* suşlarının yapısıdır. Suşların sadece elipsoidal maya formunda bulunmaması, psödohif ve *M.furfur* gibi bazı türlerde spontan olarak filamentöz forma geçme eğiliminin olması, *Malassezia* suşları ile yapılacak bütün FT-IR spektroskopi analizlerinin zayıf noktasını oluşturacaktır. Dolayısıyla, öncelikle tüm *Malassezia* türleri için eş morfolojik üreme özelliği sağlayacak bir besiyerinin araştırılması ve bunu takiben FT-IR spektroskopi analizinin yapılması, verilerin değerlendirilmesini kolaylaştıracaktır.

FT-IR spektroskopisi hızlı ve kolay uygulanabilen bir yöntemdir. Günümüzde birçok kurumda mikroorganizmaların tanımlanması, biyofilm araştırmaları ve mikrobiyal kontaminasyonun analizi gibi konularda FT-IR spektroskopisi araştırmaları yürütülmektedir¹⁶⁻²¹. Rutin uygulamalar ile geliştirilecek teknoloji spektroskopi cihazlarının maliyetlerini düşürecektir. Yöntemin bugün için eksik olan tarafı ise "mikrobiyal tanı kütüphanesi"nin yeterli olmamasıdır. Spektroskopi cihazının ana maliyeti dışında, sunulan yöntem hızlı, ucuz ve basittir. Bu nedenle, FT-IR spektroskopisi tekniğine dayalı yöntemler geliştirilmeli ve rutin kullanıma uygun hale getirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Hay RJ, Midgley G. Introduction: *Malassezia* yeasts from a historical perspective, pp. 1-16. In: Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser P, Velegriki A (eds), *Malassezia and The Skin. Science and Clinical Practice*. 2010, Springer, Berlin-Heidelberg.
2. Erdik E. Kırmızı ötesi (Infrared) spektroskopisi, s: 82-182. *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*. 1993. Gazi Büro Kitabevi, Ankara.
3. Naumann D. FT-Infrared and FT-Raman spectroscopy in biomedical research. *Appl Spectrosc Rev* 2001; 36(2-3): 239-98.
4. Rodriguez MPQ. Fourier transform infrared (FTIR) technology for the identification of organisms. *Clin Microbiol Newsletter* 2000; 22(8): 57-61.
5. Beekes M, Lasch P, Naumann D. Analytical applications of Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy in microbiology and prion research. *Vet Microbiol* 2007; 123(4): 305-19.
6. Kalinowska-Pujdak A, Schmalreck A, Hausteil UF, Nenoff P. Species differentiation of yeasts of the genus *Malassezia* with Fourier transform infrared spectroscopy. *Hautarzt* 2006; 57(2): 127-36.
7. Aparicio R. Characterization: Mathematical procedures for chemical analysis, pp: 285-354. In: Aparicio R, Harwood J (eds), *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties*. 1999, 1st ed. Springer-Verlag, New York.
8. Dıraman H, Özdemir D, Hışıl Y. Ayrılık zeytin çeşidinden üretilen erken hasat natürel zeytinyağlarının yağ asitleri bileşenlerine göre kemometrik karakterizasyonu. *Gıda Teknolojileri Elektronik Derg* 2009; 4(3): 1-11.
9. Guillot J, Breugnot C, de Barros M, Chermette R. Usefulness of modified Dixon's medium for quantitative culture of *Malassezia* species from canine skin. *J Vet Diagn Invest* 1998; 10(4): 384-6.
10. Guého-Kellermann E, Boekhout T, Begerow D. Biodiversity, phylogeny and ultrastructure, pp: 17-64. In: Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser P, Velegriki A (eds), *Malassezia and The Skin. Science and Clinical Practice*. 2010, Springer, Berlin-Heidelberg.
11. Saadatzadeh MR, Ashbee HR, Holland KT, Ingham E. Production of the mycelial phase of *Malassezia* in vitro. *Med Mycol* 2001; 39(6): 487-93.
12. Winiarczyk S. The ultrastructure of *Pityrosporum pachydermatis*. *Arch Vet Pol* 1992; 32(3-4): 5-13.
13. Guillot J, Guého E, Chévrier G, Chermette R. Epidemiological analysis of *Malassezia pachydermatis* isolates by partial sequencing of the large subunit ribosomal RNA. *Res Vet Sci* 1997; 62(1): 22-5.
14. Midreuil F, Guillot J, Guého E, Renaud F, Mallié M, Bastide JM. Genetic diversity in the yeast species *Malassezia pachydermatis* analysed by multilocus enzyme electrophoresis. *Int J Syst Bacteriol* 1999; 49(Pt 3): 1287-94.
15. Cabañes FJ, Theelen B, Castellá G, Boekhout T. Two new lipid-dependent *Malassezia* species from domestic animals. *FEMS Yeast Res* 2007; 7(6): 1064-76.
16. Ergin Ç, İlkit M, Gök Y ve ark. FT-IR spektroskopisi analizi ile *Trichophyton mentagrophytes* ve *Trichophyton rubrum* kökenlerinin ayırımında Tween 80 etkisi. XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 7-10 Kasım 2010, Girne, Kıbrıs. Kongre Kitabı, Sözlü Sunum No: 11.
17. Fischer G, Braun S, Thissen R, Dott W. FT-IR spectroscopy as a tool for rapid identification and intra-species characterization of airborne filamentous fungi. *J Microbiol Methods* 2006; 64(1): 63-77.
18. Bastert J, Korting HC, Traenkle P, Schmalreck AF. Identification of dermatophytes by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). *Mycoses* 1999; 42(9-10): 525-8.
19. Rebuffo-Scheer CA, Kirschner C, Staemmler M, Naumann D. Rapid species and strain differentiation of non-tuberculous mycobacteria by Fourier-transform infrared microspectroscopy. *J Microbiol Methods* 2007; 68(2): 282-90.
20. Rellini P, Roscini L, Fatichenti F, Morini P, Cardinali G. Direct spectroscopic (FT-IR) detection of intraspecific binary contaminations in yeast cultures. *FEMS Yeast Res* 2009; 9(3): 460-7.
21. Karadenizli A, Kolaylı F, Ergen K. A novel application of Fourier-transformed infrared spectroscopy: classification of slime from staphylococci. *Biofouling* 2007; 23(1-2): 63-71.