

## GÜNLÜK KULLANIMDAKİ SU ISITICILARINDA İNSAN PATOJENİ SİYAH MAYA KOLONİZASYONUNUN KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

### INVESTIGATION OF HUMAN PATHOGEN BLACK YEAST COLONIZATION IN DAILY WATER HEATERS BY CULTURE METHOD

Fatma BELGER\*, Başak BEGGİ\*, Süheyla ATALAY\*, Çağrı ERGİN\*\*

\*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Özel Çalışma Modülü Programı, Denizli.

\*\*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AD., Denizli.

#### Özet

Çevresel ortamda kolonize olan siyah mayalar immün sistemi baskılanmış konakta nadiren enfeksiyona yol açarlar. Bu grupta en sık enfeksiyon etkeni *Exophiala dermatitidis*'dir ve sıklıkla santral sinir sistemi ile gastrointestinal sistemde etkindir. Siyah mayalar yüksek ısı, yüksek nem ve düşük besin ortamlarında kolaylıkla kolonize olabilmektedir. Sunulan çalışmada, günlük yaşamda sıcak su üreten ortamlarda (elektrikli su ısıtıcısı "kettle" ve çay ocağı) insan patojeni siyah maya kolonizasyonu araştırıldı. Halka açık çayocaklarından, kahvehanelerden, kafelerden ve ev çaymatiklerinden toplanan 104 farklı örnek kaynatılmış kiraz agar besiyerinde kültür ile araştırıldı. Örneklerin hiçbirinde siyah maya üretilmedi. Sonuç olarak, çay ocağı ve elektrikli su ısıtıcısı gibi günlük kullanımdaki sıcak su üreten cihazların, siyah maya kolonizasyonu yönünden sağlık riski oluşturabilmesi için uygun ortamı sağlamadığı düşünüldü. (Pam Tıp Derg 2009;2(3):131-3).

**Anahtar kelimeler:** Siyah maya, *Exophiala dermatitidis*, elektrikli su ısıtıcısı, çay ocağı.

#### Abstract

Environmental black yeasts are rarely infectious in humans especially immunocompromised host. *Exophiala dermatitidis* as causing agent in central nervous and gastrointestinal systems, is the most isolated pathogen in group. It was observed that black yeasts colonize in high temperature, high moisture and low nutrition medium. In this study, human pathogen black yeast colonization was investigated in daily electrical water heaters (kettles and tea makers) and their taps by culture method. On hundred and four tap scrub samples from public places such as cafés, schools, canteens, restaurants, house's entrances and hospitals were cultured by decoction cherry agar. No black yeast colony has been isolated. As a result, it has been observed that kettles and tea makers in daily use yield no risk to health in terms of colonization of pathogenic black yeast. (Pam Med J 2009;2(3):131-3).

**Keywords:** Black yeast, *Exophiala dermatitidis*, kettle, tea makers.

#### Giriş

Siyah (Esmer, "dematiceous") mayalar melanin ve benzer renk pigmentleri taşıyan, yüksek sıcak ve yüksek nemli çevresel ortamlarda kolaylıkla kolonize olabilen mantarlardır. Taksonomik bir grup olmamakla birlikte, yaşam döngülerinin bazı aşamalarında tomurcuklanan hücreler oluşturabilen *Exophiala*, *Hortaea*, *Aurebasidium*, *Hormonema* ve benzerleri için kullanılmaktadır [1]. Siyah mayalar içinde insanda en sık enfeksiyona yol açan *Exophiala dermatitidis*'dir [1-3]. Epidemiyolojik araştırmalar ve veriler sonucu bu türün insanlarda santral sinir sistemini tutmaya eğilimi olduğu saptanmıştır [2]. *Exophiala dermatitidis*'in sebep olduğu santral sinir sistemi enfeksiyonla-

rı kroniktir, fakat enfekte hastaların ölümü yalnızca Asya'dan rapor edilmiştir [1, 4]. Farklı raporlarda derin doku enfeksiyonlarına, travma sonucu deri enfeksiyonlarına, yüzeysel kutanöz enfeksiyonlara, keratite, onikomikoza, otitis eksternaya, subklinik olarak kistik fibrozisli hastaların akciğerlerinde enfeksiyonlara ve çok nadir olarak beyni kapsamayan yaygın enfeksiyonlara neden olduğu rapor edilmiştir [4-10]. *Exophiala dermatitidis* Avrupa'da buhar banyolarında ve hastane atık sularında izole edilmiştir [2,11].

Günümüzde iş ve ev ortamında sıklıkla elektrikli su ısıtıcıları kullanılmaktadır. Bu

Çağrı ERGİN

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD., Denizli.

e-mail:cagri@pau.edu.tr

elektrikli su ısıtıcılarında üstü açık biçimde zaman zaman su ısıtılmakta (ev ve işyeri tipi, sebil) veya yarı kapalı bir ortamda ısıtılan su bir musluk ile (özellikle kahvehane ve çay ocaklarında) kullanıma alınmaktadır. Bu sistemlerde yüksek su sıcaklığı nedeni ile mikrobiyolojik ajanların varlığı beklenmemekle birlikte, termofilik patojenler olan siyah mayalar için uygun ortam kabul edilebilir. Bu araştırma; günlük kullanımdaki elektrikli su ısıtıcılarının musluklarında, insan patojeni siyah mayaların aranması amacı ile aktif eğitim sisteminde uygulanan özel çalışma modülü kapsamında yürütülmüştür.

### Gereç ve Yöntem

Araştırma Kasım 2008 - Nisan 2009 tarihleri arasında yürütüldü. Örnek alımı için hazırlanan steril eküvyonlar işlem öncesinde % 0.9 NaCl ile ıslatıldı. Eküvyon sıcak su musluğunun ağzından içeriye 1-2 cm. uzunluğunda sokularak saat yönünde birkaç defa çevrildi. Alınan sürüntü örneği içinde 2 ml. steril su ve %1 kloramfenikol bulunan cam tüpe daldırılarak aynı gün içinde laboratuvara ulaştırıldı. Örneğin alınması esnasında, eğer biyofilm tabakası veya kireçlenme katmanları var ise, bu bölgelerinde sürüntü ile alınmasına, eküvyon ile kazınmasına özen gösterildi. Araştırmaya katılmayı kabul eden Denizli il merkezindeki lokantalardan (31 örnek), kafelerden (28 örnek), okul kantinlerinden (16 örnek), çay ocaklarından (10 örnek), kahvehanelerden (9 örnek), hastanelerden (8 örnek) ve ev çaymatiklerinden (2 örnek) toplam 104 örnekleme yapıldı. Aynı gün içerisinde Pamukkale Üniversitesi Morfoloji binası Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilen örnekler, laboratuvarında daha önceden hazırlanmış olan %1 kloramfenikol içeren kaynatılmış kiraz agar besiyerlerine, her biri ikişer petri plağına, yaygın ekim tekniği ile ekildi. Örnekler biri 37°C'de diğeri 42°C'lik nemlendirilmiş etüvlerde üç hafta inkübe edildi. Bu süre içerisinde besiyerlerinde mukoid, iğne başı büyüklüğünde kahverengi-siyah renkli koloni varlığı araştırıldı. Şüpheli örnekler biyomikroskop ile incelendi ve laktofenol pamuk mavisi yardımı ile tanındı [12].

### Bulgular

Araştırma amacı ile alınan 104 örneğin hiç birisinden siyah maya izolasyonu yapılamadı. Ekim yapılan örneklerin 6 tanesinde *Aspergillus* sp, 2 tanesinde *Chrysosporium* sp, 1 tanesinde *Alternaria* sp ve 2 tanesinde tanımlanamayan küf olmak üzere toplam 11 (%10.6) örnekte siyah maya dışında küf mantarı üremesi gözlemlendi.

### Tartışma

Siyah mayalarında bulunduğu Herpotrichiellaceae familyasının anamofları yüksek ısı, yüksek nem ve düşük besin ortamında kolaylıkla kolonize olabilirler ve enfeksiyona yol açmalarında çevresel kolonizasyonun rolü çok önemlidir. Özellikle *Exophiala dermatitidis* çok yüksek miktarda ekstrasellüler polisakkarit (EPS) oluşturarak yüksek nem ve ısı ortamlarında varlığına devam edebilmektedir [2,13-16]. *Exophiala* ve yakın türleri toksik bileşiklerinde dahil olduğu mikro ortamlarda yaşayabilmektedir [1]. İnsanlarda hastalık etkeni olan siyah maya türleri taşlardan, kreozot (Renksiz ve keskin kokulu, kayın ağacının distilasyonu ile elde edilen yağlı sıvı) ile işlenmiş ağaç ürünlerinden, hidrokarbon ile kirlenmiş topraktan, şapkalı mantar ve likenlerin hiperparazitizm oluşturduğu ortamlardan izole edilmiştir [17]. Daha önceden sauna, klimalar ve halka açık havuzlardan *Exophiala* sp. izolasyonu yapılmıştır [2,11,13]. Bölgemizdeki farklı kimyasal içeriklerin, "ekstrem" şartların bulunduğu turistik Karahayit kaplıcalarında yürütülen bir taramada ise kültür yöntemi ile siyah mayalar izole edilememiştir [18]. Klasik izolasyon tekniklerinin kullanıldığı yöntemler çevresel siyah maya izolasyonlarında başarısız kalabilmektedir. Çevresel çalışmalar için pahalı kabul edilen moleküler tekniklerin yerine, farklı yağlı bileşiklerin çevresel izolasyonlarda kullanıldığı yöntemlerin geliştirilmesine çalışılmaktadır. Bu çalışmaların temelinde de hidrokarbon bileşiklerinin yoğun olduğu ortamlardan izolasyonların daha kolay yapılabilir olması rol oynamaktadır [19].

Küf ve maya mantarlarının çevresel kolonizasyonunu etkileyen önemli değişkenler besin kaynağı, ısı, anorganik mineral ve bileşikleridir. Sunulan çalışmada sürüntü örneği alınan noktaların sıcaklığının gün içinde değişken olması, alınan musluklardan suyun sürekli akması, Denizli içinde çok farklı yer altı suyunun çıkıyor olması ve kullanılması, kireç oranı nedeni ile mineral dengesinin değişmesi araştırmada farklılıklar oluşturan, kontrol dışı etkenlerdir. Ekim öncesi zenginleştirme işlemi bulunmaması, kültür için henüz tanımlanamamış olan optimum koşulların sağlanamamasının da siyah mayaların saptanmasına engel olabileceği düşünülebilir. Kullanılan yöntem sıcak su ortamında bulunabilecek siyah mayaların biyofilm veya tutunabileceği pürtüklü musluk yüzeyinde varlığını kültür yöntemi ile araştırmıştır. Pahalı teknik olmakla birlikte moleküler yöntemlerin kullanılması, mayanın varlığı-

nın gösterilmesini sağlayabilir. Ancak sunulan araştırmada amaç, insanda patojen etki oluşturabilecek kadar yüksek sayıda siyah maya varlığını araştırmaktır. Her ne kadar bu araştırma ile siyah mayaların varlığı gündelik kullanımda olan elektrikli su ısıtıcılarından kültür ile gösterilememiş olsa da; benzer şekilde sıcak su-insan etkileşimlerinin bulunduğu ortamlarda siyah mayaların varlığının taranmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.

### Kaynaklar

1. Yıldırım ŞT. Feohifomikoz etkenleri. *Infeks Derg* 2008; 22: S17-20.
2. Matos T, de Hoog GS, de Boer AG, de Crom I, Haase G. High prevalence of neurotropic *Exophiala dermatitidis* and related oligotrophic black yeasts in sauna facilities. *Mycoses* 2002;45:373-7.
3. Nishimura K, Miyaji M, Taguchi H, Tanaka R. Fungi in bathwater and sludge of bathroom drainpipes. Frequent isolation of *Exophiala* species. *Mycopathologia* 1987;97:17-23.
4. Zeng JS, Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG, Harrak MJ, de Hoog GS. Spectrum of clinically relevant *Exophiala* species in the United States. *J Clin Microbiol* 2007; 45:3713-20.
5. Kim DS, Yoon YM, Kim SW. Phaeohyphomycosis due to *Exophiala dermatitidis* successfully treated with itraconazole. *Korean Med Mycol* 1999;4:79-83.
6. Benoudia F, Assouline M, Pouliquen Y, Bouvet A, Gueho E. *Exophiala*(*Wangiella*) *dermatitidis* keratitis after keratoplasty. *Med Mycol* 1999; 37: 53-6.
7. Kerkmann ML, Piontek K, Mitze H, Haase G. Isolation of *Exophiala* (*Wangiella*) *dermatitidis* in a case of otitis externa. *Clin Infect Dis* 1999;29:939-40.
8. Haase G, Skopnik H, Groten T, Kusenbach G, Posselt HG. Long-term fungal cultures from sputum of patients with cystic fibrosis. *Mycoses* 1991;34: 373-6.
9. Kabel PJ, Illy KE, Holl RA, Buiting AGM, Wintermans RGF. Nosocomial intravascular infection with *Exophiala dermatitidis*. *Lancet* 1994;344:1167-8.
10. Blaschke-Hellmessen R, Lauterbach I, Paul KD, Tintelnot K, Weissbach G. Nachweis von *Exophiala dermatitidis* (Kano) de Hoog 1977 bei Septikämie eines Kindes mit akuter lymphatischer Leukämie und bei Patienten mit Mukoviszidose. *Mycoses* 1994; 37: 89-96.
11. Nucci M, Akiti T, Barreiros G, et al. Nosocomial outbreak of *Exophiala jeanselmei* fungemia associated with contamination of hospital water. *Clin Infect Dis* 2002;34: 1475-80.
12. Wang Q, Szanislo PJ. Roles of the pH signaling transcription factor PacC in *Wangiella* (*Exophiala*) *dermatitidis*. *Fungal Genet Biol* 2009;46:657-66.
13. de Hoog GS, Matos T, Sudhadham M, Luijsterbrug KF, Haase G. Intestinal prevalence of the neurotrophic black yeast *Exophiala* (*Wangiella*) *dermatitidis* in healthy and impaired individuals. *Mycoses* 2005;48:142-5.
14. Yurlova NA, de Hoog GB. Exopolysaccharides and capsules in human pathogenic *Exophiala* species. *Mycoses* 2002;45:443-8.
15. Sterflinger K. Fungi as geologic agents. *Geomicrobiol J* 2000;17:97-124.
16. Haase G, Sonntag L, Melzer-Krick B, de Hoog GS. Phylogenetic inference by SSU-gene analysis of members of the Herpotrichiellaceae with special reference to human pathogenic species. *Stud Mycol* 1999;43:80-97.
17. Vicente VA, Attili-Angelis D, Pie MR, et al. Environmental isolation of black yeast-like fungi involved in human infection. *Stud Mycol* 2008; 61: 137-44.
18. Ergin Ç, Mete E, Kaleli İ, Polat Y. Pamukkale (Hierapolis) ve Karahayıt bölgesi termal yüzme havuzlarında *Exophiala dermatitidis* ve diğer siyah mayaların varlığının araştırılması. *Infeks Derg* 2006;20:125-6.
19. Satow MM, Attili-Angelis D, de Hoog GS, Angelis DF, Vicente VA. Selective factors involved in oil flotation isolation of black yeasts from the environment. *Stud Mycol* 2008;61:157-63.