



Geliş(Received) :18/10/2018
Kabul(Accepted) :12/12/2018

Araştırma Makalesi/Research Article
Doi:10.30708mantar.471952

Düz kır Mağarasının (Niğde, Aladağlar) İçi ve Dışından Alınan Toprak Örneklerinde *Cryptococcus neoformans* ve *Histoplasma capsulatum* Varlığının Araştırılması

Özlem ABACI GÜNYAR^{1*}, Ayşegül YOLTAŞ²,
Mustafa YAMAÇ³, Alev HALİKİ UZTAN⁴
Sorumlu yazar:ozlemabaci@yahoo.com

^{1,2,4}Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji ABD,
Bornova-İzmir/TÜRKİYE

¹Orcid ID: 0000-0002-4033-1862/ ozlemabaci@yahoo.com

²Orcid ID: 0000-0003-3115-0346/ ayoltas@gmail.com

⁴Orcid ID: 0000-0001-9246-5232/ alev.haliki@gmail.com

³Osmangazi Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26480 Meşelik Kampüsü /
Eskişehir/TÜRKİYE Orcid ID: 0000-0002-7262-0036/ myamac@ogu.edu.tr

Öz: Mağaralar, karanlık, düşük sıcaklık ve yüksek neme sahip ortamlar olup, organik madde girdisinin olmaması gibi koşullar nedeni ile çoğunlukla ekstrem ortamlar olarak tanımlanır. Bu ekstrem koşullar nedeni ile mağaraların mikrobiyal çeşitliliğini başlıca enerji kaynağı olarak indirgenmiş inorganik bileşikler kullanabilen kemolitotrofik mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Ancak insanlar aracılığı ile mağaralara yabancı mikroorganizmaların taşınması ve insan kaynaklı organik maddelerin mağaralara girişi sonucunda da mağaraların doğal biyolojik özellikleri bozulmaktadır. Bunun yanında mağaraların başta yarasalar gibi kanatlı memelilerin dışkıları olmak üzere doğal faunayı oluşturan hayvanların artıkları *Cryptococcus neoformans* ve *Histoplasma capsulatum* gibi birçok patojen organizma için uygun kolonizasyon ortamını oluşturmaktadır. Bu maya türünün insanlarda direkt temas veya solunum yolu ile bulaştığında ciddi hastalıklara yol açtığı düşünüldüğünde, bu mağarayı herhangi bir amaçla ziyaret eden bireyler için tehlike arz edeceği açıktır. Bu nedenle çalışmamızda Niğde'de bulunan Düz kır Mağarasının içinden ve dışından alınan toprak örneklerinde *Cryptococcus neoformans* ve *Histoplasma capsulatum* varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Mağara içine ait toprak örneklerinin birinden *Cryptococcus* genusuna ait bir izolat elde edilmiş, izolatın fenotipik ve genotipik yöntemler kullanılarak tanısı doğrulanmıştır. Ancak *Histoplasma capsulatum* saptanmamıştır. Ayrıca çalışmamız ülkemizde mağara toprak örneklerinden *Cryptococcus neoformans* izolasyonu ile ilgili ilk çalışma olması açısından önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, mağara mikrobiyolojisi



Investigation of *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum* in soil samples taken from inside and outside of Düzkır Cave (Niğde, Aladağlar)

Abstract: Caves are defined as extreme environments because of they are dark, in low temperatures and high in humidity and they lack the entries of organic materials. Due to these extreme conditions, the microbial diversity of caves is composed of chemolithotrophic microorganisms that can use reduced inorganic compounds as their energy source. However, the natural biological properties of caves are deteriorating because of the entrance of new microorganisms and human related organic matters due to humans. Besides this, caves are appropriate colonization environments for pathogenic microorganisms such as *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum*. Since the natural fauna of caves involve winged mammals such as bats and the faeces of these animals. Since this yeast is known to be causing serious health problems by direct contact or inhalation, it is clear that it will possess a risk for people who with any purpose visits these caves. For this reason, this study aims to determine the presence of *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum* in inside and outside of the soils of Duzkir Cave. As a result of this study, one isolate of *Cryptococcus* species was acquired from one of the soil samples taken from inside the cave and it is confirmed as *C. neoformans* by using phenotypical and genotypical methods. However, *Histoplasma capsulatum* was not detected. The presented study is the first study involving *Cryptococcus neoformans* isolation from cave soil samples in Turkey.

Key words: *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, cave microbiology

Giriş

Mağaralar, yüzeyin altında, alacakaranlık bölgesinin ötesine uzanan ve insanların kullanımına açık olan doğal boşluklardır. Mağara ekosistemleri düşük sıcaklık, yüksek nem, daimi karanlık, organik madde girdisinin olmaması gibi koşullar sebebiyle çoğunlukla ekstrem ortamlar olarak tanımlanır. Bu ortamda yaşayan organizmalar genellikle kemolitotrofik ve bu ekstrem koşullara uyum sağlamış organizmalardır. Mağara mikrobiyotası aşırı açlığa adaptasyonlarıyla birlikte, önemli biyomolekülleri barındırma potansiyeline sahiptirler. Benzer ortamlar, yakıt için verimli etanol üretimine, çevre dostu kağıt işleme için enzimlerin üretimini sağlayan mikroorganizmaları barındırmaktadır. Mağara mikroorganizmaları aynı zamanda çok sayıda antibiyotik ve kanser tedavi ajanları üretimi potansiyeline sahiptir (Barton, 2006; Kumaresan ve ark., 2014; Wu ve ark., 2015; De Mandal, 2017; Yasir, 2018).

Bunun yanı sıra mağaralar öncelikle sportif, turistik ya da bilimsel amaçlarla insanlar tarafından ziyaret edilmektedir. ABD'de her yıl yaklaşık 2 milyon insanın milli parklarda bulunan mağaraları ziyaret ettiği belirtilmektedir. Mağaralara giren insanlar nedeniyle mağaraların izolasyon bariyeri yok edilir ve bu da mağara

habitatının dengesinin bozulmasına neden olur. Bu şekilde mağaralar bazı bakteri, filamentli fungus veya mayaların varlığı ve büyümesi için uygun çevresel koşullara sahip olmaktadır. *Cryptococcus neoformans* ve *Histoplasma capsulatum* nedeni ile meydana gelen hastalıklar mağara ile ilişkili en yaygın hastalıklar olarak belirtilmektedir. Özellikle kanatlı dışkıları *Cryptococcus neoformans* ve yarası dışkıları ise *Histoplasma capsulatum* için uygun kolonizasyon ortamını oluşturmaktadır. Bu da insanlara temas ederek veya solunduğunda bulaşabilir ve ciddi hastalıklara yol açabilir (Bastian ve ark., 2010; Jurado ve ark., 2010; Igreja, 2011; Candiroglu ve Dogruoz Gungor, 2017).

Çalışmamızın amacı Aladağlar bölgesinde yer alan Düzkır mağarasında insan sağlığı için risk oluşturabilecek *C. neoformans* ve *H. capsulatum* varlığının araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot

Mağara Bilgileri ve Çalışma Materyali: Bu çalışmada Niğde ilinde bulunan ve giriş ağızı deniz seviyesinden 3344 metre yükseklikte olan Düzkır Mağarasının çeşitli noktaları (C1-C5) ve Aladağların



çeşitli yüksekliklerinden (D1-D5) alınmak üzere toplam 10 toprak örneği çalışma materyali olarak kullanılmıştır.

Cryptococcus neoformans Varlığının

Araştırılması: Toprak örnekleri seyreltme plaka tekniği ile analize alınmıştır. İzolasyonda besiyeri olarak Sun Flower Seed (*Helianthus annuus*) Agar kullanılmış, petriler 30° C'de 30 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi boyunca günlük olarak kontrol edilmiştir. Kahverengi-koyu kahverengi pigmentli maya benzeri koloniler saflaştırılmıştır (Cermeño ve ark., 2006).

Maya İzolatının Biyokimyasal Yöntemler ile

Tanısı: *C. neoformans* olduğu düşünülen izolatların biyokimyasal tanısı için API test kitlerinden ID 32C maya tanılama kiti kullanılmıştır.

Maya İzolatının Genotipik Tanısı:

DNA izolasyonu Liu ve ark. tarafından uygulanan yöntemde bazı modifikasyonlar uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Liu ve ark., 2000). Nüklear ribozomal DNA ITS1- 5.8-ITS2 (ITS) bölgesi ITS1ve ITS4 primerleri ile amplifiye edilmiştir (Leaw ve ark., 2006).

Çalışmamızda amplifiye edilmiş ITS bölgesi baz sırası tayini İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda yaptırılmıştır. Elde edilen veriler Finch TV (Blast) ve Ap E programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Tür tayini araştırmacıların kullanımına açık olan Gen Bankası'nın <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi> web sayfasında, nükleotid dizisinin kıyaslanarak benzerliklerin incelenmesi ile yapılmıştır.

Histoplasma capsulatum varlığının

araştırılması: Seyreltme plaka tekniği ile analize alınarak Sun Flower Seed (*Helianthus annuus*) Agara aktarılan toprak örnekleri, 30° C' de 2 ay inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi boyunca günlük olarak kontrol edilmiştir. Üreyen küf kolonilerinden selofan bant tekniği kullanılarak hazırlanan prepartlarda karakteristik tüberküllü makrokonidya varlığı araştırılmıştır (Cermeño ve ark., 2006).

Bulgular

Cryptococcus neoformans ve Histoplasma

capsulatum varlığının araştırılması: Sun Flower Seed Agar' da üreyen kahverengi-koyu kahverengi pigmentli maya benzeri koloniler, bu renge ve mikroskopik morfolojisine dayanarak *C. neoformans* olarak düşünülmüş ve saflaştırılmıştır. İncelenen örneklerden

mağara içinden alınan C5 No'lu örnekte 1×10^1 cfu/g *C. neoformans* kolonisi saptanmıştır. Ancak *Histoplasma capsulatum* izolasyonu yapılamamıştır.

Maya İzolatının Biyokimyasal Yöntemler ile

Tanısı: İzolatın ileri biyokimyasal tanısı amacıyla, API test kitlerinden ID 32C maya tanılama kiti kullanılmıştır. Mağara iç ortamından izole edilen C5 nolu izolatın biyokimyasal testler ile *C. neoformans* olduğu saptanmıştır.

Maya İzolatının Genotipik Tanısı:

Moleküler identifikasyon için ITS bölgesi dizi analizi yapılmıştır. Sonuç olarak izolatımız *C. neoformans* olarak doğrulanmıştır. İlgili dizi GenBank' ta MH973850 erişim numarası ile depolanmıştır.

Tartışma

Mağaralar fotosentezin olmadığı çoğu besin maddesinin sadece giriş zonunda bulunduğu besin yönünden fakir ortamlardır. Bu ekstrem koşullarda yaşayan mikroorganizmalar büyük öneme sahiptir. Örneğin, Schabereiter-Gurtner ve ark. (2002) İspanya' daki Altamira Mağarasından eski tarih öncesi resimlerinin bozulmasına neden olan mikroorganizmalar izole edip tanımlamışlardır. Bu çalışma mikroorganizmaların bu resimlerin parçalanmasındaki rolleri ve ardından korunması için alınacak önlemlerin anlaşılmasına ve kalsit biriktiren karbonat yüzeylerde kolonize olabilen organizmaların tanımlanmasına olanak sağlamıştır (Schabereiter-Gurtner ve ark. 2002). Benzer şekilde, Carlsbad Mağaraları içinde, plastiklerin üretiminde yer alan ve tehlikeli çevresel kirleticiler olan benzotiyazol ve benzeazülfonik asit gibi kompleks aromatik bileşikler parçalayabilen yeni bir mikroorganizma türü tanımlanmıştır. Bu şekilde mikroorganizmaların kirlenmiş ortamlara inokülasyonu ile bu tür kirleticilerin hızlı bir şekilde bozulması ve doğal remediasyonu sağlanmış olur (Barton, 2006).

Mağara mikrobiyotası aşırı açlığa adaptasyonlarıyla birlikte, önemli biyomolekülleri barındırma potansiyeline sahiptir. Mağara mikroorganizmaları çok sayıda antibiyotik ve kanser tedavi ajanları üretim potansiyeline sahiptir (Barton, 2006; Kumaresan ve ark., 2014; Wu ve ark., 2015; Mandal, 2017; Yasir, 2018).

Mağara mikrobiyotası ayrıca tüberküloz gibi enfeksiyöz ajanlar ve insan ve mağara kriketlerinin parazitlerini ve yarasalarda beyaz burun sendromuna neden olan *Pseudogymnoascus destructans* gibi yıkıcı invaziv mikroorganizmaları içermektedir (Reynolds and



Barton, 2014). Farklı mağara çalışmalarında birçok *Actinobacteria* türünün izole edildiği bildirilmiştir. Özellikle, *Nocardia*, *Mycobacterium*, *Streptomyces* ve *Rhodococcus*'a ait çeşitli türler tespit edilmiştir (Jurado ve ark., 2010). Bu türlerin farklı cilt, akciğer veya beyin enfeksiyonlarına neden olduğu bilinmektedir. Bu bakterilerin neden olduğu hastalıklar öncelikle immün sistemi baskılanmış hastalarda bildirilmiş olsa da, bağışıklık sistemi zarar görmemiş olan kişileri de enfekte edebilmeleri mümkündür. Mağaralarda potansiyel turizm tehlikelerini tespit etmek için yapılan çalışmalarda mağaraların henüz bilinmeyen ve fırsatçı mikroorganizmaların varlığı olasılığı nedeniyle mağara ziyaretçileri için potansiyel bir tehlike oluşturduğunu bildirilmiştir (Igreja 2011; Vanderwolf ve ark., 2013; Wu ve ark., 2015; Yasir ve ark., 2018; Mandal ve ark., 2017).

Yarasa biyologları, speleologlar ve turistlerde bazen mağaraları ziyaret ettikten sonra ateş öksürük gibi semptomların geliştiği görülmüştür. Kuzey ve Latin Amerika'nın yarasa mağaralarında yapılan çalışmalarda yaygın olarak *Histoplasma capsulatum* nedeni ile gelişen pulmoner bir hastalık olan histoplazmoz görülmektedir (Igreja, 2011; Zhang ve ark., 2018).

Yine mağara mikrobiyomu içerisinde sık rastlanan *Cryptococcus neoformans* ve *C. gattii* türleri fungal insan patojenleridir. İnsanların, akciğer alveollerine yerleşecek kadar küçük olan basidiyosporların inhalasyonu ile hastalığa neden olmaktadır. Organizma akciğerlerden merkezi sinir sistemine yayılarak meningoensefalite neden olmaktadır (Nielsen ve ark., 2007; Velagapudi, 2009; Botts ve Hull, 2010; Watkins ve ark., 2017). Mağara toprağı mineral içerikleri yönünden farklılıklar gösterse de içerdiği organik materyalin azlığı nedeni ile kriptokokların üremesi için uygun değildir. Hatta mağaralardan mayaların izolasyonu nadiren gerçekleşmiştir. Ancak güvercin dışkısının önemli rolü olduğu kabul edilmesine rağmen yarasalar da dahil olmak üzere yabani kuş ve hayvanların dışkısı, *Cryptococcus neoformans* ve *Cryptococcus gattii* gibi tıbbi açıdan önemli mayaları içerir ve mağaralardan da izole edildiğini gösteren çalışmalar vardır (Montagna ve ark., 2003; Nielsen, 2007; Chowdhary ve ark., 2011; Escandón ve Castañeda, 2015).

Mağara mikroorganizmaları ve diğer canlılar hakkında farklı bilimsel veriler elde etmek çok önemlidir. Bu konu da dünyada yürütülmüş çalışmaların çoğu son yirmi yıla ait olmakla beraber bu konu ile ilgili çalışmalar son on yılda hız kazanmıştır. Türkiye'de ise mağara mikrobiyolojisi ile ilgili çalışmalar yetersiz kalmıştır. Yücel ve Yamaç (2010), Türk karstik mağaralarından izole ettikleri *Streptomyces* spp.'nin antibiyotik direnci

gösteren mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Şen ve ark. (2011) Düz kır Mağarası'ndan (Aladağlar) izole edilen bakteriyel örneklerin antimikrobiyal aktiviteleri, statin üretme kabiliyeti ve sitotoksik etkilerini araştırmışlardır.

Bu çalışmada ise Niğde ilinde bulunan ve giriş ağızı deniz seviyesinden yaklaşık olarak 3344 metre yükseklikte olan Düz kır Mağarası'nın çeşitli noktaları ve Aladağların değişik yüksekliklerinden alınan toprak örneklerinde *Cryptococcus* ve *Histoplasma* türlerinin varlığını araştırılmıştır.

İncelenen örneklerden mağara içini temsil eden 5 Nolu örnekten *C. neoformans* izolasyonu yapılmıştır. ID 32C maya identifikasyon kiti ile *C. neoformans* olarak tanımlanan suşun tanısı moleküler yöntemler ile doğrulanmıştır. Toprak örneklerinin hiçbirinde *Histoplasma capsulatum* saptanmamıştır.

Montagna ve ark. (2003), yaptıkları bir çalışmada İtalya'nın Apulia bölgesinde yirmi beş mağarada *Cryptococcus* spp. varlığını araştırmışlardır. *C. neoformans*' in varlığı için sadece üç mağara pozitifdir. Bu veri, araştırmacılar tarafından bu mayanın mağara habitatlarında bulunuşu için ilk kayıt olarak vurgulanmıştır. Mağarabilimcilerin hayatı tehdit eden fungal enfeksiyonlarına maruz kalmasında mağaraların potansiyel rolünü gösteren bir çalışmadır.

Japonya'da kanatlıların yaşadığı mağaralarda yapılan araştırmalarda baskın fungal floranın *Trichoporon* spp ve *Cryptococcus* spp olduğu ortaya çıkarılmıştır. Yarasa gübresinin önceden tanımlanmamış maya türlerinden zengin potansiyel bir kaynak olacağını vurgulamışlardır (Sugita ve ark., 2005).

C. neoformans çevresel ortamda sıklıkla güvercin dışkılarında ve ağaçlarda kolonize olmaktadır. Yine ilk kez Rivas ve ark. topraktan izole etmişlerdir (Rivas ve ark., 1999). Bu kolonizasyon ortamlarından solunum yolu ile canlılara bulaşır. Ülkemizde yapılan çevresel *C. neoformans* taramalarında güvercin dışkılarının olduğu bölgelerden yapılan taramalar çoğunluktadır. Çevresel mikrobiyota araştırmalarında ise *Eucalyptus camaldulensis* ile birlikte *Punica granatum* ve *Platanus orientalis* ağaçlarından izolasyon yapılmıştır (Ergin ve ark., 2008; Pelek ve ark., 2011; Gökçen ve Ergin, 2014). Ergin ve ark. (2008), Turistik Denizli Dodurgalar (Keloğlan) mağarası'nda *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans* varlığını araştırmak için yaptıkları çalışmada *C. neoformans* ve *H. capsulatum* izole edilemediğini belirtmişlerdir. Ayrıca mağara mikroorganizmalarının sıklıkla solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olduğunu belirtmişlerdir (Ergin ve ark., 2008).



Çalışmamız ülkemizde mağara toprak örneklerinden *Cryptococcus neoformans*' in izolasyonu ile ilgili ilk çalışmadır. Mağaralar öncelikle sportif, turistik ya da bilimsel amaçlarla insanlar tarafından ziyaret edilmektedir. Mağaradaki mikrobiyomu mağarada yaşayan tüm canlılar ile birlikte mağara turizmi nedeni ile geçici olarak orada bulunan insanlar nedeni ile önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- Barton, H.A. (2006). Introduction to Cave Microbiology: A Review for the Non-Specialist, *Journal of Cave and Karst Studies*, 68 (2) 43–54
- Bastian, F., Jurado, V., Nováková, A., Alabouvette, C. ve Saiz-Jimenez C. (2010). The microbiology of Lascaux Cave. *Microbiology*, 156 (Pt 3) 644-52.
- Botts, M.R. ve Hull, C.M. (2010). Dueling in the lung: how *Cryptococcus* spores race the host for survival, *Curr Opin Microbiol.*, 13(4) 437-42.
- Candiroglu, B. ve Dogruoz Gungor, N. (2017). Cave Ecosystems: Microbiological View. *Eur J Biol.*, 76(1) 36-42.
- Cermeño, J.R., Hernández, I., Cabello, I., Orellán, Y., Cermeño, J.J., Albornoz, R., Padrón, E. ve Godoy, G. (2006). *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum* in dove's (*Columbia livia*) excreta in Bolívar State, *Venezuela. Rev Latinoam Microbiol.*, 48 (1) 6-9.
- Chowdhary, A., Rhandhawa, H.S., Prakash, A. ve Meis, J. (2011). Environmental prevalence of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in India: An update. *Critical Reviews in Microbiology*, 38(1) 1-16.
- De Mandal, S., Chatterjee, R. ve Kumar, N.S. (2017). Dominant bacterial phyla in caves and their predicted functional roles in C and N cycle. *BMC Microbiology*, 17 90. (2017).
- Ergin, Ç., Şengül, M., Mete, E. ve Karatepe, M. (2008). Screening of *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans* and keratinophilic fungi in touristic Denizli dodurgalar (Keloğlan) cave. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.*, 38 (3-4) 132-136.
- Escandón, P. ve Castañeda, E. (2015). Long-term survival of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in stored environmental samples from Colombia. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32 (3) 197-199.
- Gökçen, H. ve Ergin, Ç. (2014). The isolation of *Cryptococcus neoformans* from *Eucalyptus camaldulensis* trees in Muğla-Milas city center. *Pamukkale Medical Journal*, 7(2) 109-112.
- Igreja, R.P. (2011). Infectious Diseases Associated with Caves. *Wilderness & Environmental Medicine*, 22 115–121.
- Jurado, V., Porca, E., Cuezva, S., Fernandez-Cortes, A., Sanches-Moral, S. ve Saiz-Jimenez, C. (2010). *Fungal Outbreak in a Show Cave*, *Sci Total Environ*, 408 3632-8.
- Jurado, V., Laiz, L., Rodriguez-Nava, V., Boiron, P., Hermosin, B., Sanchez-Moral, S. ve Saiz-Jimenez, C. (2010). *Pathogenic and opportunistic microorganisms in caves*. *International Journal of Speleology*, 39 (1) 15-24.
- Kumaresan, D., Wischer, D., Stephenson, J., Hillebrand-Voiculescu, A. ve Murrell, J.C. (2014). Microbiology of Movile Cave-A Chemolithoautotrophic Ecosystem. *Geomicrobiology Journal*, 31: 186–193.
- Leaw, S.N., Chang, H.C., Sun, H.F., Barton, R., Bouchara, J. ve Chang, T.C. (2006). Identification of Medically Important Yeast Species by Sequence Analysis of the Internal Transcribed Spacer Regions. *J Clin Microbiol.*, 44(3): 693–699.
- Liu, D., Coloe, S., Baird, R. ve Pedresen, J. (2000). Rapid minipreparation of fungal DNA for PCR. *J Clin Microbiol*, 38 471.
- Montagna, M.T., Santacroce, M.P., Caggiano, G., Tato, D. ve Ajello, L. (2003). Cavernicolous habitats harbouring *Cryptococcus neoformans*: results of a speleological survey in Apulia, Italy, 1999-2000. *Medical Mycology*, 41 451-455.
- Nielsen, K., De Obaldia, A. ve Heitman, J. (2007). *Cryptococcus neoformans* Mates on Pigeon Guano: Implications for the Realized Ecological Niche and Globalization. *Eukaryotic Cell*, 949–959.
- Pelek, Ş., Altinkaya, S., Korkmaz, U.B. ve Ergin, Ç. (2011). Investigation of *Cryptococcus neoformans* in excreta samples of urban pigeons (*Columba livia*) lived in Denizli city center. *Pamukkale Medical Journal*, 4(1) 21-4.
- Reynolds, H.T. ve Barton, H.A. (2014). Comparison of the White-Nose Syndrome Agent



- Pseudogymnoascus* to Cave-Dwelling Relatives Suggests Reduced Saprotrophic Enzyme Activity. *Plos One* | 9 (1), e86437.
- Rivas, F., De Martin, M.C. ve Rojas, V. (1999). *Cryptococcus neoformans* isolation from the soil in Panama. *Rev Med Panama.*, 24 (1) 4-6.
- Sen, M., Bayburt, C., Aydın, S., Onder, N.I., Incesu, Z., Atli, B. ve Yamac, M. (2011). Düzkır Mağarasından (Aladağlar) Elde Edilen Bakteri İzolatlarının Biyolojik Aktiviteleri. 5. *Ulusal Speleoloji sempozyumu*, İstanbul.
- Claudia Schabereiter-Gurtner, C., Cesareo Saiz-Jimenez, C., Guadalupe Pinar, G., Werner Lubitz, W. ve Sabine Rölleke, S. (2002). Altamira cave Paleolithic paintings harbor partly unknown bacterial communities. *FEMS Microbiology Letters*, 211: 7-11.
- Sugita, T., Kikuchi, K., Makimura, K., Urata, K., Someya, T., Kamei, K., Niimi, M. ve Uehara, Y. (2005). *Trichosporon* Species Isolated from Guano Samples Obtained from Bat-Inhabited Caves in Japan. *Appl Environ Microbiol.*, 71(11) 7626–7629.
- Vanderwolf, K.J., Malloch, D., McAlpine, D.F., Graham, J. ve Forbes G.J. (2013). A world review of fungi, yeasts, and slime molds in caves. *International Journal of Speleology*. 42 (1) 77-96.
- Velagapudi, R., Hsueh, Y., Geunes-Boyer, S., Jo Rae Wright, JR. ve Joseph Heitman, J. (2009). Spores as Infectious Propagules of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun.*, 77(10) 4345–4355.
- Watkins, R.A., King, J.S. ve Johnston, S.A. (2017). Nutritional Requirements and Their Importance for Virulence of Pathogenic *Cryptococcus* Species. *Microorganisms*, 5(4) 1-20.
- Wu, Y., Tan, L., Liu, W., Wang, B., Wang, J., Cai, Y. ve Lin, X. (2015). Profiling bacterial diversity in a limestone cave of the western Loess Plateau of China. *Frontiers in Microbiology*, 6 (Article 244) 1-10.
- Yasir, M. (2018). Analysis of bacterial communities and characterization of antimicrobial strains from cave microbiota. *Brazilian Journal of Microbiology* 49 (2) 248-257.
- Yucel, S. ve Yamac, M. (2010). Selection of *Streptomyces* isolates from Turkish karstic caves against antibiotic resistant microorganisms. *Pak J Pharm Sci*, 23(1) 1-6.
- Zhang, Z., Peng, Zhao, P. ve Lei Cai, L. (2018). Origin of Cave Fungi. *Frontiers in Microbiology*, 9 (1407) 1-10.