

DENİZLİ-KARAHAYIT BÖLGESİNDEKİ *EUCALYPTUS CAMALDULENSIS* AĞAÇLARINDAN *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

SCREENING OF *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* FROM *EUCALYPTUS* *CAMALDULENSIS* TREES IN DENİZLİ-KARAHAYIT REGION

Feyzullah ERDEM*, Melih AKIDAN*, Buğra DUMAN*, Çağrı ERGİN**

*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Özel Çalışma Programı, Denizli.

**Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

Özet

Basidiomycetlerden kapsüllü bir maya olan *Cryptococcus neoformans* çoğunlukla immünsistemi baskılanmış hastalarda (transplant alıcılarında, radyoterapi, kemoterapi ve immünsüpresif tedavi görenlerde, immün yetmezlik yaratan hastalığı olanlar gibi) primer infeksiyon etkenidir. *Eucalyptus* spp ağaçları sıklıkla kolonize olduğu flora elemanlarıdır. Bu çalışmada, Denizli'de turistik Karahayit kasabesindeki *Eucalyptus camaldulensis* florasında insan patojeni *C.neoformans* varlığının aranması hedeflenmiştir. Karahayit kasabesinde bulunan 37 *E.camaldulensis* ağacından eküvyonla örneklem tekniği ile 117 örnek alındı. Kültür için Staib agar besiyeri kullanıldı. Sonuç olarak, yoğun örneklem metodu uygulanmasına rağmen Karahayit bölgesinde insan patojeni *C.neoformans*'ın kolonize olduğu *E.camaldulensis* ağacı bulunamamıştır. Yoğun nüfusa sahip ve turizmin önemli olduğu bölgelerde çevresel insan patojeni mayaların varlığının taranması koruyucu hekimlik açısından önemlidir. (Pam Tıp Derg 2009;2(3):134-6).

Anahtar sözcükler: *Cryptococcus neoformans*, *Eucalyptus camaldulensis*, flora, çevresel, eküvyonla örneklem tekniği

Abstract

Cryptococcus neoformans, an encapsulated basidiomyceteus yeast, causes diseases primarily immunocompromised individuals such as transplant recipients, patients with immunodeficiency disorders, and patients undergoing chemo-, radio- and immunosuppressive therapy. *Eucalyptus* spp is the major environmental host of the yeast. In aim of the study is to screening of human-pathogen *C.neoformans* presence from *Eucalyptus camaldulensis* trees in touristical Karahayit region in Denizli. By swap sampling technique, 117 samples from 37 trees were collected. All samples have cultured on Staib agar. In result, no *C.neoformans* has been cultured from sampled *E.camaldulensis* despite the excessive screening methods. Environmental human-pathogen yeast screening procedures are important for preventive medicine especially for tourism centers and densely populated regions. (Pam Med J 2009;2(3):134-6).

Keywords: *Cryptococcus neoformans*, *Eucalyptus camaldulensis*, flora, environmental, swab sampling

Giriş

Cryptococcus neoformans özellikle immünsüprese hastalarda hayatı tehdit eden hastalıklara yol açabilen bazidiomycet cinsinden fırsatçı bir maya mantarıdır. Doğada kontamine odaklarda çoğalır. İnfeksiyöz partikülleri bu kontamine odaklardan havaya karışarak solunum yolu ile konağa bulaşır [1,2]. Güvercin gibi kanatlıların çıkartılarında, çok çeşitli ağaçların gövdelerinde kolonize oldukları gösterilmiştir [2-4]. *Eucalyptus camaldulensis* ağaçlarında yoğun çevresel *C.neoformans* kolo-

nizasyonu bildirilmiştir [3-7]. *E.camaldulensis* ülkemizde de Güney Anadolu ve Ege bölgelerimizde yaygın olarak bulunmaktadır. Dünya'da *E.camaldulensis* ağaçlarından sıklıkla *C.neoformans* izole edilirken ülkemizde bir çok sahada yürütülen taramalara rağmen izolasyon oranı çok azdır [7-9]. Bu çalışmada Denizli-Karahayit bölgesinde yetişen *E.camaldulensis* ağaçlarında *C.neoformans* varlığı yoğun örneklem yapılarak araştırılmıştır.

Çağrı ERGİN

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD., Denizli

e-mail:cagri@pau.edu.tr

Gereç ve Yöntem

Bu araştırmada 2008 yılının Kasım ayında Denizli-Karahayit Kasabasında bulunan *E.camaldulensis* ağaçları çalışmaya alındı. Karahayit Kasabası Denizli'ye yaklaşık 25 km., Pamukkale'ye yaklaşık 5 km uzaklıkta bulunan, termal kaplıca bölgesidir. Karahayit kasabasında turizm ve konaklama alanı içinde bulunan, üzerinde oyuk, kovuk ve kayıplı hasar bulunan, 37 ağaç inceleme için belirlendi. Araştırma için Randhawa ve ark. tarafından önerilen steril eküvyon ile sürüntü alma tekniği kullanıldı [10]. Ağaçların gövdesinde bulunan, farklı yerlerindeki yarıklardan, steril eküvyon yardımıyla alınan sürüntü örnekleri %1 kloramfenikol içeren fizyolojik su içinde süspanse edildi. Aynı gün içinde laboratuvara ulaştırılan örnekler, içinde %0.5 bifenil ve %1 kloramfenikol bulunan Staib agar besiyerine ekildi [7-9]. Besiyeri *C.neoformans* ATCC 90112 standart kökeni ile kontrol edildi. Ekimler oda sıcaklığında, karanlıkta iki hafta süre ile enkübe edildi. Günaşırı inceleme yapılan besiyerlerinde S morfolojisinde, kahverengi pigmentli koloni varlığı arandı. Şüpheli koloniler nativ preparat yapılarak, maya morfolojisi varlığı incelendi.

Bulgular

Örneklerin ekildiği 117 besiyerinin 3 hafta boyunca takibinde *C.neoformans* üremesi olmamıştır. Enkübasyon sırasında bazı besiyerlerinde yoğun olarak filamantöz küf mantarı üremesinin besiyerlerini kaplayarak değerlendirilmeyi zorlaştırdığı görülmüştür.

Tartışma

Günümüzde fırsatçı infeksiyon etkenleri önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. *C.neoformans* özellikle immünsüpressif konakda ölümcül seyredebilen önemli bir fırsatçı patojendir. Çevresel kolonize ortamlar *C.neoformans*'ın insana bulaşında önemli bir basamaktır. En sık karşılaşılan ortamlar güvercin gibi kanatlı çıkartılarının bulunduğu bölgeler ve odunsu bitkilerdir [1,2]. Kanatlı çıkartılarının önemli bir kolonizasyon bölgesi oluşturması nedeni ile bu ortamlar riskli kabul edilmektedir [3,11]. Ancak odunsu floranın yaygınlığı ve çeşitliliği, *C.neoformans*'ın daha geniş alanlarda varlığının taranmasına yol açmıştır. Doğal ortamdaki *Eucalyptus* spp. ağaçlarından çok sayıda maya izolasyonu yapılabilmekle birlikte, farklı cinslerdeki kovuklu ağaçlardan da izolasyon yapılabilmektedir [4,12-14]. Ancak ülkemizde farklı cinslerdeki kovuklu yaşlı ağaç floralarında bu maya izole edilememiştir [15].

Ülkemizde yapılan taramalarda *E.camaldulensis* florasından az sayıda *C.neoformans* izole edilebilmiştir [7-9]. Dünya'nın birçok bölgesinden yüksek oranlarda izolasyon bildirilirken Doğu Akdeniz bölgesinde (Anadolu ve Ürdün arasındaki sahil şeridi) *Eucalyptus* spp. kökenli izolat sayısı düşüktür [7-9, 16]. Bu izolasyon azlığı hakkında çeşitli hipotezler ileri sürülmüş ise de konu henüz aydınlatılamamıştır [7,17,18]. Denizli bölgesi yer altı suları yönünden zengin, ılıman iklime sahip, farklı turistik bölgelerin bulunduğu bir alandır. Uygun iklim şartları sonucunda *Eucalyptus* spp florasının yaygın olduğu küçük bölgeler vardır. Bu çalışmada turizm aktiviteleri nedeni ile yoğun insan hareketinin bulunduğu Karahayit kasabasında bulunan *E.camaldulensis* florası *C.neoformans* taşıyıcılığı yönünden incelenmiştir. Sonuç olarak bölgemizdeki floradan yapılan taramada Anadolu'nun birçok yerinde olduğu gibi *C.neoformans*'ın izolasyonu yapılamamıştır. Yapılan çalışmalarda, çoğunluğu tropik/subtropik ağaçların olduğu geniş bir yelpazede çok sayıda ağaçtan izolasyon yapılabilmektedir [4,12-14]. Daha önceki izolasyonların yapıldığı bölgelerde kontaminasyonun saptandığı ağaçların bölgemizde varlığının bulunması, bu ağaçların taranması, çevresel kolonizasyonun aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

Bu araştırmada izolasyon yapılamamasının bir diğer olası nedeni de, bir hipotez olarak, *Eucalyptus* spp florasının primer üreme yeri değil, mayanın çoğalmasına yardımcı, zenginleştirici faktör olarak bulunması olabilir. Botes ve ark., *C.neoformans*'ın V8 besiyerinde %46, mayaözütü-karbon temel besiyerinde %80 ve *Acacia mearnsii* debrisinde %26 eşeyli üreme veya filament geliştirme özelliği gösterirken bu oranın *E.camaldulensis* debrisinde sadece %8 olduğunu raporlamışlardır [19]. Aynı zamanda burada önemli olan diğer bir faktör de *E.camaldulensis* yapılarının coğrafi farklılıklara göre çeşitli kimyasal değişimler gösterebileceğidir. Ülkemizde bulunan *E.camaldulensis* yapılarında önemli kimyasal farklılıklar vardır [20]. Bu kimyasal farklılıklar da *C.neoformans*'ın çevresel kolonizasyonunda etkili olabilir.

Sunulan çalışmada üreyen diğer küf mantarları *C.neoformans*'ın üremesini inhibe etmiş veya besiyerini kaplayarak görülmesine engel oluşturmuş olabilir. Bu nedenle çevresel insan patojeni varlığı taramalarında besiyerinin seçiciliğini yükseltmek amacı ile besiyerine eklenebilecek farklı kimyasal maddelerin

araştırılması da gereklidir. Özellikle az sayıda izolasyonun yapılabildiği çalışma alanımız gibi bölgeler için, kullanılabilecek yeni küf inhibitörlerinin saptanması önemlidir.

Sonuç olarak, yoğun nüfusa sahip ve turizmin önemli olduğu bölgelerde, çevresel insan patojeni mayaların varlığının taranmasının koruyucu hekimlik açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Casadevall A, Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*. American Society for Microbiology, Washington; 1998.
2. Lin X, Heitman J. The biology of the *Cryptococcus neoformans* species complex. Ann Rev Microbiol 2006; 60: 69-105.
3. Tümbay E. İzmir yöresinde *Cryptococcus neoformans* ve kriptokokkoz. Birinci kısım: *Cryptococcus neoformans*'ın doğal kaynaklarından izolasyonu. TÜBİTAK 6'ncı Bilim Kongresi, Tıp Araştırma Grubu Tebliği Tutanağı (17-21 Ekim 1977- Ankara) 1977; 839-63.
4. Randhawa HS, Kowshik T, Chowdhary A, et al. The expanding host tree species spectrum of *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* and their isolations from surrounding soil in India. Med Mycol 2008; 46: 823-33.
5. Pfeiffer T, Ellis D: Ecology, life cycle, and infectious propagule of *Cryptococcus neoformans*. Lancet 1990; 336: 923-5.
6. Gujnani HC, Mitchell TG, Litvintseva AP, et al. Isolation of *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* var. grubii from the flowers and bark of Eucalyptus trees in India. Med Mycol 2005; 43: 565-9.
7. Ergin Ç, İlkit M, Hilmioğlu S, et al. The first isolation of *Cryptococcus neoformans* from Eucalyptus trees in south Aegean and Mediterranean region of Anatolia in Turkey despite Taurus Mountains alkalinity. Mycopathologia 2004; 158: 43-7
8. Derici Y, Tümbay E. İzmir ilinde doğal ve klinik *Cryptococcus neoformans* kökenlerinin varyete ve serotipleri. Infeksi Derg 2008; 22: 53-8.
9. Ateş A, Biçer AT, İlkit M. Sedimentasyon ve eküvyon yöntemleri ile okaliptüs ağaçlarında *Cryptococcus* spp. varlığının araştırılması. Mikrobiyol Bul 2008; 42: 655-60.
10. Randhawa HS, Kowshik T, Khan ZU. Efficacy of swabbing versus a conventional technique for isolation of *Cryptococcus neoformans* from decayed wood in tree trunk hollows. Med Mycol 2005; 43: 67-71.
11. Costa AK, Sidrim JJ, Cordeiro RA, Brilhante RS, Monteiro AJ, Rocha MF. Urban pigeons (*Columba livia*) as a potential source of pathogenic yeasts: A focus on antifungal susceptibility of *Cryptococcus* strains in Northeast Brazil. Mycopathologia (In Press), 2009.
12. Randhawa HS, Kowshik T, Preeti Sinha K, et al. Distribution of *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* in decayed trunk wood of *Syzygium cumini* trees in north-western India. Med Mycol 2006; 44: 623-30.
13. Randhawa HS, Kowshik T, Khan ZU. Decayed wood of *Syzygium cumini* and *Ficus religiosa* living trees in Delhi/New Delhi metropolitan area as natural habitat of *Cryptococcus neoformans*. Med Mycol 2003; 41: 199-209.
14. Grover N, Nawange SR, Naidu J, Singh SM, Sharma A. Ecological niche of *Cryptococcus neoformans* var. grubii and *Cryptococcus gattii* in decaying wood of trunk hollows of living trees in Jabalpur City of Central India. Mycopathol 2007; 164: 159-70.
15. Ateş A, Ergin Ç, İlkit M. Anadolu anıt ağaçlarında *Cryptococcus neoformans*'ın araştırılması. Infeksi Derg 2006; 20: 57-60.
16. Hamasha AM, Yıldırım ŞT, Gönülüm A, Saraçlı MA, Doğanç L. *Cryptococcus neoformans* varieties from material under the canopies of Eucalyptus trees and pigeon dropping samples from four major cities in Jordan. Mycopathologia 2004; 158: 195-9.
17. Ergin Ç, Şengül M, Kaleli İ, Gürbüz M. Eucalyptus debris küf mantarı florasında antikriptokokkal aktivitenin araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2005; 35: 256-9.
18. Ergin Ç, Şengül M, Kaleli İ, Mete E. Güney-batı Anadolu kökenli okaliptüs sıvı besiyerinde *Cryptococcus neoformans* ve *Cryptococcus gattii* serotiplerinin üreme dinamikleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2007; 37: 94-97.
19. Ozel MZ, Göğüs F, Lewis AC. Composition of *Eucalyptus camaldulensis* volatiles using direct thermal desorption coupled with comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry. J Chromatogr Sci 2008 ; 46: 157-61.