

Platanus orientalis (Doğu Çınarı) Ağaç Kovuklarında Cryptococcus neoformans Kolonizasyonunun Takibi

Surveillance of Cryptococcus neoformans Colonization in Platanus orientalis (Oriental Plane) Tree Trunk Hollows

Çağrı Ergin*, Mustafa Şengül*, Özgün Kiriş*, Recep Yıldırım**, Mehmet Gök**

* Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Denizli

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

Özet

Cryptococcus neoformans kriptokokkozun en yaygın etkenidir. Ağaçların çürümekte olan kovuklarının doğal çevresel kolonizasyon kaynağı olduğu bir çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Daha önceki taramalar ile Denizli şehir merkezinde bir *Platanus orientalis* (Doğu çınarı) ağacında kolonizasyon rapor edilmiştir. Bu araştırmada şehir merkezindeki 100 ağaçtan 8 ay süre ile periyodik bir şekilde eküvyon yöntemi ile örnekleme yapılmıştır. Kültür için basitleştirilmiş Staib agar besiyeri kullanılmıştır. Taramanın yapıldığı bahar-yaz döneminde *C.neoformans* izolasyonu yapılmamıştır. Bu veri, daha önceden saptanan maya izolasyonunun geçici kolonizasyon olduğunu göstermektedir. *Pam Tıp Derg* 2010;3(2):60-62

Anahtar sözcükler: *Cryptococcus neoformans*, *Platanus orientalis*, doğu çınarı, çürüyen ağaç kovuğu, izlem

Abstract

Cryptococcus neoformans is the most common causative agent of cryptococcosis. Decaying tree trunk hollows as an environmental source for *Cryptococcus neoformans* has been reported by many investigators. Colonization in *Platanus orientalis* (Oriental plane) has been previously reported from Denizli city center. In this study, one hundred oriental plane trees have been periodically sampled by swabbing technique during eight months. Simplified Staib agar has been used for culture. No *C.neoformans* has been isolated in spring-summer sampling period. These finding suggest that the previously yeast isolation is a transient colonization.

Pam Med J 2010;3(2):60-62

Key words: *Cryptococcus neoformans*, *Platanus orientalis*, oriental plane, decaying tree trunk hollows, surveillance

Giriş

Cryptococcus neoformans (*C.neoformans*) hayatı tehdit eden infeksiyonlar oluşturan bazidiomiçet bir maya mantarıdır. Çoğunlukla ekzojen infeksiyon olarak doğadan canlıya geçer. Kolonize olduğu ağaç ortamı, maya mantarının yaşam döngüsünü ve virülansını da etkiler [1,2]. Bu nedenle doğada kolonizasyon odakları sürekli olarak taranmakta, yeni odakların varlığı araştırılmaktadır. Bu maya mantarı, dünyanın çeşitli bölgelerindeki ağaçların çürüyen oyuk ve yarıklarından izole edilmiştir [3-5]. Denizli il merkezi'nde yürütülen bir araştırmada, bir Doğu çınarı (*Platanus orientalis*) ağacının kovuklarından *C.neoformans* üretilmiştir. Kısa dönemde yapılan tekrar taramada ise üreme olmamıştır [6]. Doğal ortamda *C.neoformans* farklı kovuklu ağaçlardan izole edilebilmekle birlikte, sürekli kolonizasyon belirli ağaç cinslerinde olmaktadır.

Farklı ağaç türlerinde geçici veya zaman zaman tekrarlayan kolonizasyon raporları bulunmaktadır. *C.neoformans*'ın sürekli kolonize olduğu ağaçlardan 0.7-2.5 yıl arasında izole edilebildiği belirtilmiştir [5].

Sunulan araştırmada, Denizli il merkezinde bulunan kovuklu Doğu çınarı ağaçlarında 8 aylık bahar ve yaz döneminde *C.neoformans* kolonizasyonu araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma Nisan-Kasım 2009 ayları arasında eşit aralıklarla 4 farklı dönemde yapıldı. Çalışmaya daha önce içlerinden birisinden *C.neoformans* izolasyonu yapılan, çevresinde yerleşim alanı olan ve halka açık bölgelerde bulunan 100 adet Doğu çınarı (*Platanus orientalis*) ağacı alındı. Örneklemede Randhawa ve ark.[7] tarafından önerilen eküvyon yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde göre; örnekler steril %0.9 NaCl ile

Çağrı Ergin

Yazışma Adresi: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Denizli

e-mail: cagri@pau.edu.tr

Yazının dergiye gönderilme tarihi: 06.03.2010

Yazının basıma kabul tarihi: 12.05.2010

islatılmış steril eküvyonlarla alındı. Aynı ağacın farklı bölgelerinde örnek almada aynı eküvyon kullanıldı. Örnekleme sabah-öğle arasındaki zaman diliminde yapıldı. Alınan örnek, içinde 5-10 cc steril %0.9 NaCl bulunan steril cam tüpler içinde oda sıcaklığında aynı gün içinde laboratuvara ulaştırıldı. Örnekler %0.1 bifenil ve %0.5 kloramfenikol içeren, 9 cm çapında petri plağında hazırlanan, basitleştirilmiş Staib agar (kreatinin ve potasyum dihidrojen fosfat içermeyen) besiyerine ekildi. Örnekler 37°C'da 10 gün inkübe edildi. Besiyeri kontrolünde *C.neoformans* ATCC 90112 kökeni kullanıldı. Staib agar besiyerinde kahverengi pigment oluşturan, Gram boyamasında maya morfolojisinde, üreaz olumlu ve mısırunlu agarda hif oluşturmeyen kolonilerin varlığı araştırıldı. Sıcaklık ölçümleri standart aletler ile yapıldı.

Bulgular

Araştırmanın yapıldığı bahar-yaz dönemindeki sekiz aylık süre içinde, 4 farklı zamanda alınan 400 sürüntü örneğinde *C.neoformans* üremesi saptanmadı. Bifenil (%0.1 w/vol) içeren Staib agar besiyerinde filamentöz mantar kontaminasyonunun değerlendirmeyi güçleştirdiği görüldü. Örneklerin toplandığı dönemde sıcaklık 11-28°C arasında saptandı.

Tartışma

Çevresel ortamda kolonize olan *C.neoformans* solunum sistemi yolu ile insana bulaşmaktadır [1]. Son yıllarda yürütülen taramalar ile *Polyalthia longifolia*, *Mimusops elengi* (İspanyol kirazı), *Manilkara hexandra*, *Acacia nilotica* (Dikenli akasya), *Aegle marmelos* (Hint ayvası), *Azadirachta indica* (Yalancı tespih ağacı), *Cassia fistula* (Yağmur sinamekisi) ve *Mangifera indica* (Mango) gibi sürekli kolonizasyonun bulunduğu ağaçların yanısıra *Dalbergia sissoo* (Tali), *Ficus religiosa* (Bo ağacı), *Alstonia scholaris* (Hint şeytan ağacı), *Tamarindus indica* (Demirhindi) ve bazı okaliptüs türlerindeki ağaçlarda süreklilik göstermeyen ve çevresel şartlara göre *C.neoformans* kolonizasyonun tanımlandığı ağaç türleri de bulunmaktadır. *C.neoformans*'ın sürekli kolonize olduğu ağaçlardan 0.7-2.5 yıl arasında izole edilebildiği belirtilmiştir. Dünya üzerinde çok yaygın olarak taranan, floranın kriptokokkozis için risk grubu olarak tanımlanmasını gösteren *Eucalyptus camaldulensis* için ise kolonizasyonun geçici olabildiği belirtilmektedir [5].

Doğadan insana bulaşan *C.neoformans*'ın florada bulunması, insanda hastalık için risk faktörü olabilmesi için, konak olan insandaki immünsüpresyonun yanı sıra kolonize olduğu

ortamdaki sürekliliği ve yoğunluğu da önemlidir [1]. Hindistan'da kolonizasyon saptanan ağaçlardan alınan örneklerde yoğun (>100 CFU/eküvyon) üreme görülmüştür [5]. Denizli il merkezinde bulunan ve *C.neoformans* izolasyonu yapılan doğu çınarı ağacında ise tek örnek izolasyonunda 6 CFU/eküvyon üremesi olmuştur [6]. Mayanın dış ortamda canlı kalabilmesi, ortamda fizyolojisi için gerekli olan besinsel desteğin odun dokudan sağlanmasına, ortamın nem ve sıcaklık gibi mikroklimatik özelliklerine bağlı olduğu görülmektedir [8-10]. Çevresel ortamda *C.neoformans*'ın varlığının yüksek oranda saptandığı yerler çoğunlukla sürekli sıcak ve nemli iklime sahip, tropikal iklim özelliklerinin hakim olduğu ülkelerdir [5,11-13]. Ülkemizde de çevresel *C.neoformans*'ın *E.camaldulensis* ağacından izolasyonunun yapılabildiği tek yer yine nemli ve sıcak iklime sahip Gökova bölgesidir [14]. Ancak bu verilere ters olarak benzer iklime sahip Adana bölgesi'nde floradan izolasyon yapılamamıştır [15].

Sunulan çalışmada, ilk izolasyonu takiben aradan geçen sürede (yaklaşık 1,5 yıl) yapılan taramalarda *C.neoformans* izolasyonu *P.orientalis* ağaçlarından yapılamamıştır. Randhawa ve ark. [5] 2 yıllık tarama periyodu süresince bazı ağaç türlerinde tek izolasyon yapabilmişlerdir. Bu durum, bu tür ağaçlarda mayanın varlığını sürdürebilmesi nedeni ile kolonizasyon için risk grubu olarak kabul edilmesine neden olmuştur. Ancak Dünyada bazı bölgelerdeki ağaçlardan yapılan yüksek izolasyon, farklı bölgelerde yapılan taramalar ile desteklenmemiştir. Ağaçların genetik yapılarının farklılıkları ve buna bağlı kimyasal yapılarındaki değişiklikler, mayanın kolonizasyonunda rol oynayabilmektedir [8]. İnsan patojeni olarak kabul edilen *C.neoformans*'ın, canlı ağaçlar üzerinde çürüyen ve kovuklaşan ortamlarında kolonize olması bir fitopatogen olarak kabul edilmesine engeldir. *C.neoformans* coğrafik olarak dünyanın farklı bölgelerinden izole edilse de genetik olarak bölgesel özellikler göstermemektedir [13-16]. Ancak floranın kimyasal yapısında bulunan major farklılıkların, coğrafi dağılımları etkileyecek kadar mayanın kolonizasyonunu etkilediği düşünülebilir. Bu durum ise, *C.neoformans*'ın dünyada sık izole edildiği bölgelerde "sıcak nokta" olarak adlandırılmasındaki ana düşüncüyü desteklemektedir [13]. Ancak ağaç kovuklarının besinsel ve fizikokimyasal özelliklerinin, buralardan izole edilen *C.neoformans* kökenlerinin yaşamlarına etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Çevresel ekolojik ve kimyasal birlikteliklerin *C.neoformans*'ın

yaşam döngüsüne etkisinin incelenmesi, mayanın doğada var olma mücadelesinin değerlendirilmesi, *C.neoformans*'ın insanda infeksiyon etkeni olarak meydana getirdiği infeksiyöz patogenezin aydınlatılmasına da yardımcı olabilir. Bu nedenle ülkemizde saptanabilen kolonizasyon odaklarının uzun süreli ve/veya periyodik takibinin yapılmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Lin X, Heitman J. The biology of the *Cryptococcus neoformans* species complex. Annu Rev Microbiol 2006; 60: 69-105.
2. Xue C, Tada Y, Dong X, Heitman J. The human fungal pathogen *Cryptococcus* can complete its sexual cycle during a pathogenic association with plants. Cell Host Microbe 2007; 1: 263-73.
3. 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.
4. 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. Mycopathologia 2007; 164: 159-70.
5. 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.
6. Ergin Ç, Kaleli İ. Denizli şehir merkezi'nde kovuklu ağaç gövdelerinden *Cryptococcus neoformans* izolasyonu. Mikrobiyol Bul 2010; 44: 79-85.
7. 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.
8. Botes A, Boekhout T, Hagen F, Vismer H, Swart J, Botha A. Growth and mating of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* on woody debris. Microb Ecol 2009; 57: 757-65.
9. Refojo N, Perrotta D, Brudny M, Abrantes R, Hevia AI, Davel G. Isolation of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* from trunk hollows of living trees in Buenos Aires City, Argentina. Med Mycol 2009; 47: 177-84.
10. 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.
11. 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. Mycopathologia 2007; 164: 159-70.
12. Granados DP, Castañeda E. Isolation and characterization of *Cryptococcus neoformans* varieties recovered from natural sources in Bogotá, Colombia, and study of ecological conditions in the area. Microb Ecol 2005; 49: 282-90.
13. Hiremath SS, Chowdhary A, Kowshik T, Randhawa HS, Sun S, Xu J. Long-distance dispersal and recombination in environmental populations of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* from India. Microbiology 2008; 154: 1513-24.
14. Ergin Ç, İkit M, Hilmioğlu S, et al. The first isolation of *Cryptococcus neoformans* from *Eucalyptus* trees in South Aegean and Mediterranean regions of Anatolia despite Taurus Mountains alkalinity. Mycopathologia 2004; 158: 43-7.
15. Ateş A, Turaç Biçer A, İkit M. Sedimentasyon ve eküvyon yöntemleri ile okaliptüs ağaçlarında *Cryptococcus* spp. varlığının araştırılması. Mikrobiyol Bul 2008; 42: 655-60.
16. Xu J, Vilgalys R, Mitchell TG. Multiple gene genealogies reveal recent dispersion and hybridization in the human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. Mol Ecol 2000; 9: 1471-81.