

İSTANBUL'DA CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS'IN DOĞAL KAYNAKLARDA VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI*

Gökhan AYGÜN

▼	Giriş
▼	Yöntem-Gereç
▼	Bulgular
▼	Tartışma
▼	Özet
▼	Kaynaklar

Background and Design.- The presence of Cryptococcus neoformans in its natural habitats in Istanbul was studied in modified Staib-Seeliger medium (Guizotia abyssinica-diphenyl-creatinin-antibiotic-dextrose-agar). A total of 100 samples (49 from open area, 42 from coops, 2 from nests and 7 from soil) were cultured and C. neoformans was isolated.

Results.- Cryptococcus neoformans was isolated only in a single sample obtained from coop (1 %). The frequency of this fungus in coops was determined as 2.3% (1/42).

Aygün G. Investigation on the occurrence of Cryptococcus neoformans in natural habitats in İstanbul. Cerrahpaşa J Med 1998; 29 (1): 18-22.

GİRİŞ ▲

Günümüzde fırsatçı mantarların sebep olduğu infeksiyonlar giderek artmaktadır. Bunun en önemli sebepleri; transplantasyon uygulamalarındaki gelişmeler, daha sık ve yoğun uygulanan kemoterapiler, yoğun bakım birimlerindeki gelişmeler, antibiyotik kullanımındaki artış ve edinilmiş bağışıklık yetmezliği sendromu (AIDS) dolayısıyla bu infeksiyona yatkın kişilerin sayısındaki belirgin artıştır.¹ Bunun sonucunda pek çok saprofit mantarın da hastalıklara sebep olabileceği görülmektedir.²

Cryptococcus neoformans; AIDS epidemisi ile sıklığı giderek artan, ciddi hastalıklara yol açan fırsatçı bir mantardır ve "AIDS ile ilgili kompleks" içinde gösterilmektedir.^{3,4} Dünyanın her tarafında rastlanılmakta olan kriptokokkozun epidemiyoloji özellikleri tam olarak bilinmemektedir.^{4,5}

Emmons yaptığı çalışmalarda mantarın güvercin (Columbia livia) dışkılarında ve bu dışkı ile kirlenmiş topraklarda yoğun olarak bulunduğunu göstermiştir.^{6,7} Bu konuda dünyanın pek çok bölgesinde farklı sonuçlar bildirilmiştir.⁸⁻¹¹

Bu çalışmamızda İstanbul ilinin bazı bölümlerinde doğada C. neoformans varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM VE GEREÇLER ▲

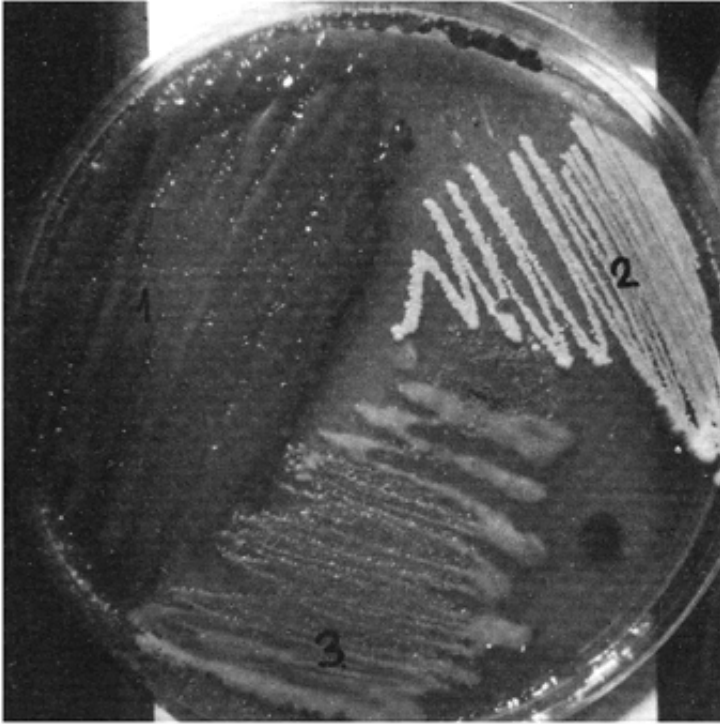
Çalışmamızda Nisan 1993 - Aralık 1995 tarihleri arasında İstanbul'un değişik semtlerindeki açık alanlardan (cami avlusu, saçak, kaldırım...) güvercin kümeslerinden, yuvalardan güvercin dışkısı ve güvercin dışkısı ile kirlenmiş toprak örnekleri toplanarak incelenmiştir.

49 tanesi açık alanlardan, 42 tanesi kümeslerden, 2 tanesi yuvalardan alınan güvercin dışkısı ile kirlenmiş toprak olarak toplam 100 örnek çalışılmıştır. Örneklerin semtlere ve alındıkları yerlere göre dağılımı Tablo I'de gösterilmiştir.

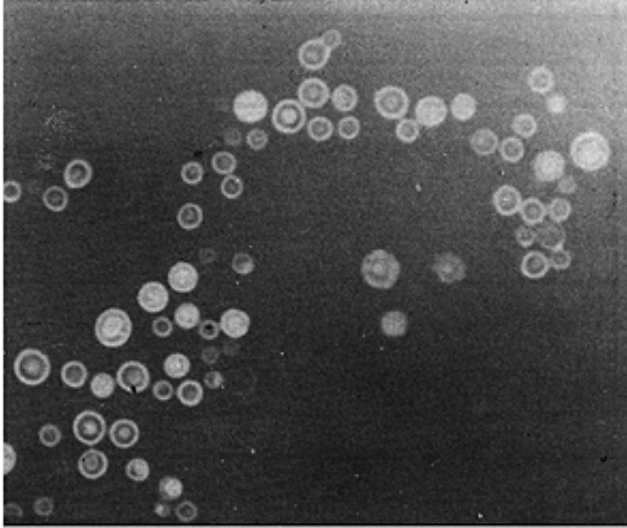
Tablo I. Toplanan Örneklerin İstanbul Semtlerine ve Toplandıkları Yerlere Göre Dağılımı

SEMT	Açık Alan	Toprak	Kümes	Yuva	TOPLAM
Eminönü	8	-	-	-	8
Beyazıt	5	2	-	-	7
Üsküdar	4	1	-	-	5
Kadıköy	1	2	-	-	3
Eyüp	1	-	2	-	3
Çemberlitaş	4	-	-	-	4
Sultanahmet	3	1	-	-	4
Fatih	4	1	-	-	5
Tophane	2	-	-	-	2
Beşiktaş	2	-	-	-	2
Taksim	5	-	-	-	5
Fındıkzade	4	-	4	1	9
Çapa	2	-	-	-	2
Cerrahpaşa	4	-	-	1	5
Esenler	-	-	5	-	5
500 Evler	-	-	2	-	2
Atışalanı	-	-	5	-	5
G.O. Paşa	-	-	3	-	3
Topkapı Kuş Pazarı	-	-	13	-	13
Unkapanı Kuş Pazarı	-	-	5	-	5
Sirkeci Kuş Pazarı	-	-	3	-	3
TOPLAM	49	7	42	2	100

Örnekler temiz dil basacakları ile toplanarak laboratuara ulaştırılmış ve en geç 48 saat içinde işleme alınmıştır. Önce her örnekten steril antibiyotikli (streptomisin + penisilin) su ile karışım hazırlanmış, bir süre beklenmiş kaba partiküller dibe çöktükten sonra üstteki sıvıdan 0.2 ml alınıp Petri kutularındaki besiyerlerine yayılarak ekilmiştir. Her örnekten üç ayrı Petri kutusundaki besiyerlerine ekimler yapılmıştır.



Şekil 1. Değiştirilmiş Staib-Seeliger besiyerinde kontrol kökeni 517, *Candida albicans* (2) ve kümeden üretilen *Cryptococcus neoformans* kökeninin (3) görüntüsü.



Şekil 2. *Cryptococcus neoformans*'ın çini mürekkebi preparatındaki görünüşü (x 100 büyütme).

Besiyeri olarak Tümbay'ın değiştirdiği¹² Staib-Seeliger besiyeri (*Guizotia abyssinica* - difenil - kreatinin - antibiyotik - dekstroz - agar) ön çalışmalarda gözlemler ve literatür bilgilerine dayanarak bazı değişikliklere uğratarak kullanılmıştır.¹³

Özüt 100 g *G.abyssinica* tohumundan hazırlanmış ve ayrıca besiyerine tiamin eklenmiştir. Kullandığımız besiyeri içeriği Tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II. Değiştirilmiş Staib-Seeliger Besiyeri

Guizotia abyssinica* tohumu özütü	- 200 ml
Dekstroz	- 10 g
Kreatinin	- 0.8 g
Difenil	- 100 mg
Gentamisin	- 80 mg
Agar	- 20 g
Tiamin	- 5 mg
Distile Su	- 790 ml

**G. abyssinica* tohumu kuş yemi olarak kullanılan tropikal bir bitkidir. Bu tohum Almanya'dan temin edilmiştir.

Ekim yapılan besiyerleri 26⁰C'da 4 hafta süreyle bekletilmiş ve bu süre içerisinde oluşan kahverengi maya kolonilerinden saf kültür elde edilmiştir.

Staib-Seeliger besiyerinde oluşan koloni yapısı, kapsül oluşumları, 37⁰C'de üreme, üreaz aktivitesi, hif oluşumu belirlenmiş, daha sonra asimilasyon deneyleri (nitrat, kreatinin, glikoz, laktoz, maltoz, sukroz, galaktoz) uygulanarak elde edilen bulgularla tanıma gidilmiştir. Şüpheli kökenlerde farede hastalandırıcılık özelliği araştırılmıştır.

Yaptığımız ön çalışmalarda, besiyerlerinin işlerliğinin kontrolünde, tanım deneylerinde kontrol kökeni olarak hastanemizde AIDS ve kriptokok menenjitisi sebebi ile ölen bir hastanın beyin omurilik sıvısından ürettiğimiz *C. neoformans* kökeni kullanılmıştır.

BULGULAR ▲

Açık alanlardan, topraktan ve yuvalardan alınan güvercin dışkısı örneklerinden *C. neoformans* elde edilmiştir. Toplam 42 kümeden alınan örneklerden Esenler semtindeki bir kümeden alınan örnekte *C. neoformans* üretilmiştir (%2.3). Tüm örnekler göz önüne alındığında İstanbul'da güvercin dışkılarında ve bu dışkılarla kirlenmiş topraklarda % 1 oranında *C. neoformans* varlığı saptanmıştır.

Saptanan *C. neoformans* kökeninin belirlenen özellikleri Tablo III'de gösterilmiştir.

Tablo III. Ayırdığımız *Cryptococcus neoformans* Kökeninin Belirlenen özellikleri

Değiştirilmiş Staib-Seeliger besiyerinde

- Koloni Yapısı: Mukoid
- Koloni Rengi : Açık Kahverengi
- Kapsül: Dar

Üreaz Aktivitesi: pozitif

37°C'de Üreme: pozitif

Hif Oluşumu: negatif

Farede Hastalandırıcılık: pozitif

Assimilasyon Deneyleri:

- KNO₃: negatif
- Kreatinin: pozitif
- Glikoz: pozitif
- Laktoz: negatif
- Sukroz: pozitif
- Galaktoz: pozitif

TARTIŞMA ▲

Cryptococcus neoformans dünyada yaygın olarak bulunan, sıklığı giderek artan fırsatçı bir infeksiyon hastalığı etkenidir. Ülkemizde de bu hastalığa rastlanılmaktadır.¹⁴⁻¹⁷ Yurdumuzda ilk olgu Unat ve arkadaşlarınca bildirildiği gibi dünyada ilk kolon kriptokokkozu olgusu da Unat ve arkadaşları tarafından yayımlanmıştır.^{14,18}

C. neoformans'ın toprakta, özellikle kanatlı dışkıları ile kirlenmiş toprakta yoğun olarak bulunabileceği gösterildikten sonra pek çok yerde bu mantar farklı oranlarda saptanmıştır. Örneğin İsveç'te %0.7 (3/450) oranında bulunurken, Japonya'da bu oranın %50 (4/8) olduğu belirlenmiştir.^{10,11} Bu farklı dağılımın, iklim özellikleri, topraklarda bulunan mikroorganizmalarla (özellikle *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acanthamoeba* ile) etkileşim ve toprak yapısı ile ilgili olabileceği belirtilmiştir.^{4,6,8,19} *C. neoformans* var. *gattii* ise sadece Avustralya ve Kuzey Amerika'nın bazı bölümlerinde *Eucalyptus* ağaçlarında bulunmuştur.²⁰

Ülkemizde bu konuda ilk çalışma 1965 yılında Unat ve Yücel tarafından yapılmıştır ve araştırmacılar İstanbul'da kanatlı dışkısı ile kirlenmiş toprak örneklerinde fareye şırıngalama yöntemi ile *C. neoformans* ve *Histoplasma capsulatum* aramışlar fakat her iki mantarı da saptayamamışlardır.²¹

Daha sonra Tümbay,¹² İzmir'de Staib-Seeliger besiyerine ekim yaparak güvercin dışkılarında % 10.2, diğer kanatlı dışkılarında %3.8 oranında mantarı saptamıştır. Karaman ve arkadaşları,²² Bursa'da %3.2, Yılmaz ve arkadaşları,²³ yine Bursa'da % 13.9 oranında *C. neoformans* saptamışlardır. Daha sonra Sivrel ve Tümbay,²⁴ İzmir'de güvercin

kümeslerinden % 14 oranında mantarı saptamışlar ve tüm kökenlerin amfoterisin-B'ye duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmalarda toprak örneklerinden C. neoformans elde edilememiştir. Araştırmalar toplu olarak Tablo IV'de gösterilmiştir.

Tablo IV. Ülkemizde Konak Dışında Cryptococcus neoformans Araştırılması ile İlgili Çalışmalar

	Güvercin Dışkıları		Toprak	Diğer		Kaynak
	Kümes	Açık Alan		Kanath	Dışkıları	
	% n	% n	% n			
1. Unat, Yücel; İstanbul	-	0 (0/18)	0 (0/45)	0 (0/27)	21	
2. Tümbay; İzmir	10.3 (32/312)	0 (0/132)	-	3.8 (6/132)	12	
3. Karaman ve ark; Bursa	3.2 (2/62)	-	-	0 (0/22)	22	
4. Yılmaz ve ark; Bursa	13.9 (16/115)	-	0 (0/8)	0 (0/14)	23	
5. Sivrel, Tümbay; İzmir	14 (13/91)	-	-	-	24	

Doğada C. neoformans dağılımının epidemiyoloji yönünden önemi belli değildir.^{4,5,9,25} Güvercin dışkısı ile temasın kuş besleyicilerinde antikor yanıtı oluşturduğu saptanmıştır.²⁶ Fakat kriptokokkoz olgularının güvercin dışkıları ile temasını belirleyen ancak birkaç kısıtlı bulgu vardır ve bu konuda yeni çalışmaların yapılması gereklidir.^{27,28}

Güvercinler şehirli kuşlardır ve insanlarla yoğun temas halindedirler. Bu çalışmamız süresince çevremizdeki hastanelerde yoğun bir güvercin topluluğu olduğunu gözlemledik. Bunun sebebi bu binaların güvercinlerin yaşaması için uygun bir yapı özelliği göstermeleri, hastaların ve personelin bu kuşları beslemeleri olabilir. Buna bağlı olarak servislerde yatan hastaların güvercin dışkısıyla temas edebileceğini de saptadık. Bu alanlardan alınan örneklerde C. neoformans saptamamış olmamız bu tehlikenin önemini azaltmaz diye düşünmekteyiz.

Sonuç olarak İstanbul'da güvercin kümeslerinde %2.3, genelde güvercin dışkılarında % 1 oranında C. neoformans varlığı gösterilmiştir. Epidemiyolojisinde yeni bilgi ve bulgulara ihtiyaç olduğundan üzerinde çalışılması gereken bir konu olarak yorumlanmıştır.

ÖZET ▲

İstanbul'da doğal kaynaklarında C. neoformans varlığı değiştirilmiş Staib-Seeliger besiyerine ekim yöntemi ile araştırılmıştır. Toplam 100 örnek (49 açık alan, 42 kümes, 2 yuva, 7 toprak) incelenmiş ve 1 kümes örneğinden C. neoformans elde edilmiştir (%1). Kümeslerdeki oranı %2.3 (1/42) olarak saptanmıştır. Sonuçlar diğer çalışmalar ile karşılaştırılmış ve bu konuda yeni ve kapsamlı çalışmalar gerektiği kanısına varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında değerli yardımlarını gördüğüm ve Guizotia abyssinica tohumlarının Almanya'dan getirtilmesini sağlayan hocam Prof. Dr. Ayhan Yücel'e çok teşekkür ederim.

KAYNAKLAR ▲

1. Denning DW. Epidemiology and pathogenesis of systemic fungal infection in the immunocompromised host. *J Antimic Chemother* 1991; 28 (Suppl B): 1-16.
2. Bodey GP. What's new in fungal infection in leukemic patients. *Leukemia and Lymphoma* 1993; 11: 127-135.
3. Chuck SL, Sande MA. Infection with *cryptococcus neoformans* in AIDS. *NEJM* 1989; 321: 794-799.
4. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. *Cryptococcosis*. In *Medical Mycology*. Philadelphia Lea and Febiger 1992: 397-446.
5. Levitz SM. The ecology of *cryptococcus neoformans* and the epidemiology of *cryptococcus*. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 1163-1169.
6. Emmons CW. Isolation of *cryptococcus neoformans* from soil. *J Bacteriol* 1951; 62: 685-690.
7. Emmons CW. Isolation of *cryptococcus neoformans* in pigeon habitats. *Public Health Reports* 1960; 75: 362-365.
8. Ajello L. Occurrence of *cryptococcus neoformans* in soil. *Am J Hygiene* 1958; 67: 72-77.
9. Ajello L. Comparative ecology of respiratory mycotic disease agents. *Bact Rev* 1967; 31: 6-24.
10. Bergman F. Occurrence of *cryptococcus neoformans* in Sweden. *Acta Med Scan* 1963; 174: 651-665.
11. Yamamoto Y, Kohno S, Nodo T, et al (Abstract). Isolation of *cryptococcus neoformans* from environments pigeon excreta in Nagasaki. *Konsenshogaku-Zasshi* 1995; 69: 642-645.
12. 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; 839-863.
13. Reid JD. The influence of the vitamin B complex on the growth of *Torulopsis (cryptococcus) neoformans* on a syntetic medium. *J Bacteriol* 1949; 58: 777-782.
14. Soysal ŞS, Unat EK, Tahsinoğlu M. Bir *cryptococcus* vakası. *Türk Tıp Encümeni Arşivi* 1953; 4: 115-119.
15. Koçak N, Yenerman M, Ergün Y, Özdoğan E. Karaciğer sirozu vakası üzerine eklenmiş bir *cryptococcus* enfeksiyonu. *Türk Tıp Cem Mecm* 1967; 33: 651-654.
16. Baykal M, Zileli T, Akalın E. Bir *cryptococcus neoformans* menenjit vakası. *Mik Bülteni* 1985; 19: 158-160.
17. Leblebicioğlu H, Saniç A, Günaydın M, Emirler N, Özdemir Ş. Bir *cryptococcus neoformans* menenjitisi olgusu. *Mik Bülteni* 1995; 29: 203-207.
18. Unat EK, Pars B, Kosyak J. Bir kolon *cryptococcosisi* vakası. *İÜ Tıp Fak Mecm* 1965; 28: 247-253.
19. Teoh-Chan CH, Cho PY, Ng MH, Wang PC. Inhibition of *cryptococcus* by *pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol* 1974; 8: 77-81.
20. Ellis DH, Pfeiffer TJ. Natural habitat *cryptococcus neoformans* var *gattii*. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1624-1644.
21. Unat EK, Yücel A. Konak dışında *cryptococcus neoformans* ve histoplasma araştırmaları. *İÜ Tıp Fak Mecm* 1965; 28: 47-52.
22. Karaman A, Tümbay E, Demir O. Bursa'da güvercin ve çeşitli kuş dışkısı örneklerinde *cryptococcus neoformans* aranması. *Türk Mik Cem Derg* 1980; 10: 31-37.
23. Yılmaz A, Göral G, Helvacı S, Kılıçturgay K, Gökırmak F, Töre O, Gedikoğlu S. *Cryptococcus neoformans*'ın güvercin dışkılarındaki dağılımı. *Mik Bülteni* 1989; 23: 121-126.
24. Sivrel A, Tümbay E. İzmir'de güvercin dışkısından izole edilen *cryptococcus neoformans* suşları ve bunların amfoterisin-B'ye in-vitro duyarlılıkları. *İnfeksiyon Derg* 1993; 7: 107-113.
25. Emmons CW. Environmental sources of infection in the mycoses. *Proc 6. Int Cong Trop Med & Malaria* 1959; 4: 582-591.
26. Tümbay E. İzmir yöresinde *cryptococcus neoformans* ve kriptokokkoz. İkinci kısım: Hasta materyalinde ve normal görünüşlü kişilerin serumlarında

- indirekt floresan antikor (IFA) yöntemi ile cryptococcus neoformans'a karşı antikor araştırılması. TÜBİTAK 6'ncı Bilim Kongresi. Tıp Araştırma Grubu Tebliği Tutanağı (17-21 Ekim 1977-Ankara) 1977; 785-797.
27. Muchmore HG, Rhoades ER, Nix GE, Felton FG, Carpenter RE. Occurrence of cryptococcus neoformans in the environment of three geographically associated cases of cryptococcal meningitis. NEJM 1963; 268: 112-114.
28. Unat EK, Yücel A. Tıp Mikolojisi. Unat'ın Tıp Parazitolojisi. Ed. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. 4. Baskı. İstanbul. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları. Ün. Yayın No: 3641, Fakülte yayın No: 162. 1991; 681-860.

-
- **Anahtar Kelimeler:** Cryptococcus neoformans, Doğal kaynaklar; **Key Words:** Cryptococcus neofomas, Natural habitats; **Alındığı Tarih:** 06 Kasım 1997; Uzm. Dr. Gökhan Aygün: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. **Yazışma Adresi (Address):** Dr. G. Aygün, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 34303, Cerrahpaşa, İstanbul.

