

## ANADOLU ANIT AĞAÇLARINDA *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*'IN ARAŞTIRILMASI

### INVESTIGATION OF *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* IN ANATOLIAN MONUMENTAL TREES

Aylin ATEŞ<sup>1</sup> Çağrı ERGİN<sup>2</sup> Macit İLKİT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana

<sup>2</sup> Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli

**Anahtar Sözcükler:** *Cryptococcus neoformans*, ekoloji, anıt ağaçlar, Anadolu

**Keywords:** *Cryptococcus neoformans*, ecology, monumental tree, Anatolia

Geliş: 12 Mayıs 2005

Kabul: 26 Mayıs 2005

## ÖZET

Yaşlı ağaçların çürümekte olan gövdelerinde bulunan ve büyük iç hacimli oyuklar *Cryptococcus neoformans*'ın doğal yerleşim yerleridir. Bu çalışmada, Anadolu'da farklı 11 bölgede bulunan anıt ağaçlarda *C. neoformans*'ın varlığı, bifenil içeren *Guizotia abyssinica* besiyerinde araştırılmıştır. Anadolu'nun kırsal bölgelerinde bulunan anıt ağaçlardan *C. neoformans* soyutlanamamıştır. Doğal flora ortamının maya mantarları için kaynak konumunda bulunmasında çevresel kimyasal yapı çok önemlidir. Anadolu'nun alkalin yapıya sahip ortam özelliklerinin *C. neoformans*'ın yayılması ve kolonizasyonunda engelleyici rol oynadığı düşünülmüştür.

## SUMMARY

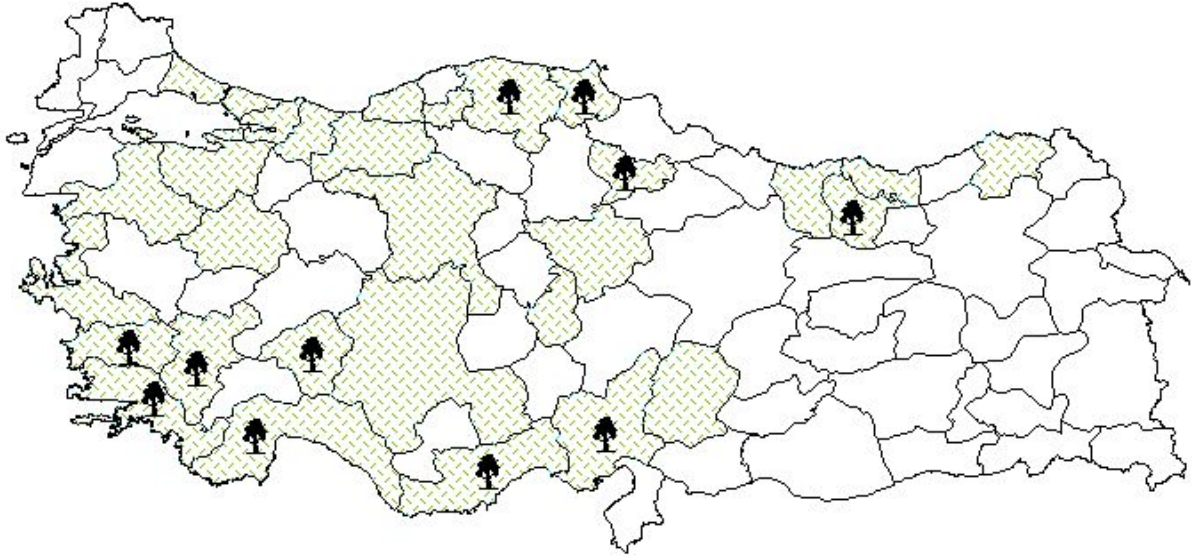
The close relationship between *Cryptococcus neoformans* and natural flora shows that decaying wood inside tree trunk hollows is a natural source of *C. neoformans* in urban regions. In this study, many monumental trees from 11 different provinces in Anatolia, Turkey, were investigated for the presence of *C. neoformans* using *Guizotia abyssinica* agar containing biphenyl for isolation. No *C. neoformans* was isolated from monumental trees. Natural flora might be reservoir for the yeasts which are strongly dependent on environment chemistry. The alkaline property of Anatolian soil may constitute a barrier for the spread and colonization of the yeast.

## GİRİŞ

*Cryptococcus neoformans* basidiomycet sınıfından, çevresel bulaşlı odaklardan havayolu ile insana bulaşan kapsüllü bir maya mantarıdır (1). Kanatlı çıkartıları ve çeşitli odunsu yapılar maya için doğal kaynak haline gelebilirler. Yaşayan ağaçların üzerinde çürüyerek oluşan büyük oyukların *C. neoformans* için doğal üreme ortamı oluşturabileceği bildirilmiştir. Doğal ortamdaki bu yapılar, kolonizasyon için mikroklima özelliği sağlamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, mayanın doğada yayılmasında ağaçların oyuklarının potansiyel kaynak olduğu belirtilmektedir (2-4). Çoğunluğunda büyük ve derin oyukların bulunduğu anıtsal ağaçlar; köy

yaşantılarının bir parçası olabildiği gibi aynı zamanda turistik ve dinsel önemler de taşıyabilmektedirler.

Anadolu'da bulunan anıt ağaçların büyük çoğunluğu Orman ve Çevre Bakanlıklarında kayıtlı olarak bulunmaktadır. Bu anıtsal ağaçlar, Anadolu köylerimizde mistik söylemlerle anılmaktadır. Bu nedenle, kutsal kabul edilerek korunmakta, çevresinde zaman geçirilmekte ve oyuklarına girilmektedir. Anadolu'da anıtsal ağaçlar, yoğun ormanlık alanlardan, kıraç dağlık tepelere kadar tek ağaç şeklinde çok farklı coğrafi ortamlarda bulunmaktadır. Bu çalışmada, Anadolu anıtsal ağaçlarının bir kısmında *C. neoformans*'ın varlığının araştırılması amaçlanmıştır.



Şekil 1. Anadolu'da Çevre ve Orman Bakanlıkları kayıtlarına göre anıtsal ağaçların bulunduğu ve çalışmada örnekleme yapıldığı iller

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya yalnızca çevresinde yoğun yerleşim alanı olan ağaçlar alındı. Kırsal kesimdeki yerleşim yerlerinin çevresinde kayıtlı bulunan 85 anıtsal ağacın 46 (%56.5)'sından örnek alındı. Çalışma grubunu 11 farklı ilde bulunan karaçam (*Pinus nigra*), meşe (*Quercus spp*), ladin (*Picea prientalis*), köknar (*Abies spp*), kayın (*Fagus spp*), çınar (*Platanus orientalis*), okaliptüs (*Eucalyptus camaldulensis*), sedir (*Cedrus libani*) ve ardıç (*Juniperus spp*) ağaçları oluşturdu (Şekil 1).

Örnekler; 2003 yılı yaz aylarında ağaçların oyuk olarak bulunan gövde kesimlerdeki odunsu ve bitki kökenli debrislerin kazınması ile alındı (2). Her ağaçtan steril idrar kabına yaklaşık 5-10 gr örnek alındı ve oda sıcaklığında laboratuvarlara ulaştırıldı. Her örneğe 50 ml steril tuzlu su çözeltisi eklendi. Örnekler, kuvvetli şekilde çalkalandıktan sonra 45 dakika çökelmeye bırakıldı. Çözeltinin yüzeyinden 100 µl supernatant alındı ve % 0.1 bifenil (Sigma B6890) içeren kuştohumu yemi besiyerine ekildi. Kültürler 28°C'de 3 hafta süre ile inkübe edildi. Besiyerinin denetimi *C. neoformans* ATCC 90112 kökeni ile yapıldı. Nemli kahverengi pigment oluşturan koloniler Sabouraud glikoz agarı pasajı yapıldı ve çoğaltıldı. Maya mantarları; Gram boyama, kapsül varlığı, üreaz tepkimesi ve 37°C'de üreme özelliği yönünden incelendi.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan anıtsal ağaçlardan *C. neoformans* soyutlanamadı. Besiyerinin içerisine bifenil eklenmesine karşın, ilk haftanın sonunda çok sayıda filamentöz mantarın ürediği ve değerlendirmeyi güçleştirdiği görüldü. Bu nedenle, etkili değerlendirme ancak araştırmanın ilk haftası içinde yapılabildi.

## TARTIŞMA

*Cryptococcus neoformans*'ın ekolojisi henüz yeterince belirgin değildir. Bununla birlikte çevresel çalışmalar infeksiyonun kaynağı olarak floranın önemi üzerine yoğunlaşmışlardır. İklimin uygun olmadığı ortamlarda bile mikroklimatize ortamlarda mayanın varlığı gösterilmiştir (2-4). Ancak Türkiye, Ürdün ve Mısır'ı içeren Doğu Akdeniz platformunda hedef kabul edilen floranın varlığına karşın, *C. neoformans* beklenenden daha az oranlarda saptanmaktadır. Türkiye'deki flora ve kanatlı dışkılarını tarama yöntemleri ile araştırılan *C. neoformans*'ın soyutlama bölgeleri; nem, iklim ve toprak kimyası bakımından uygun coğrafya özellikleri ile sınırlandırılmaktadır (5, 8).

*Cryptococcus neoformans*, tropikal ağaçlardan soyutlanabilmektedir. Anadolu kültürlerince kutsal kabul edilen yaşlı ağaçlar, özellikle yerleşim birimlerine yakın konum-

larda bulduklarında yörenin folklorik özelliklerine göre turistik veya kültürel değişik aktivitelere odak olabilmektedirler. Yöresel halkın bu ağaçlarla devamlı iç içe yaşaması, turistik aktivitelerin bu ağaçların çevresinde yoğunlaşması, yatır ve türbe gibi halkın zaman zaman uğradığı mekanlarda sık bulunan yaşlı ve dolayısı ile içinde yer yer çürümeye bağlı oyukların olduğu bu yapılar, mikroklimatize ortamda mayaların üremesine olanak sağlamaktadır. İlginç olarak Anadolu'da bu ağaçların yayılım alanları incelendiğinde, özellikle güvercin dışkısından yapılan çalışmalarda saptanan *C. neoformans*'in soyutlama bölgeleri ile benzer dağılım gösterdiği görülmektedir (8). Bu durum, iklim ve yükseklik farkları göz önüne alındığında, zaten kolonizasyona yatkın olduğu gösterilen *C. neoformans*'in risk ortamı olarak anıtsal ağaçlarda aranmasını desteklemektedir.

Brezilya yağmur ormanlarında ve Hindistan'da ağaç kovuklarında *C. neoformans*'in soyutlanabilmesine karşın, sunulan bu araştırmada saptanmamıştır (2, 4). Anadolu topraklarının Toros Dağları'ndan itibaren alkalin özellik göstermesi ve bu oluşumun Ürdün'e kadar uzaması *C. neoformans*'in yaşam döngüsü için olumsuz bir ortam oluşturmaktadır. Bu durum, mayanın çevresel ortamda yayılmasını engellemekle birlikte ağaç kovuklarında bu olumsuzluk söz konusu değildir. Doğu Akdeniz iklimine sahip benzer Akdeniz ülkelerinde *C. neoformans* yüksek oranlarda soyutlanabilmektedir (5, 9-11). Alkalin yapının, toprak ile kontamine olduğu kabul edilen okaliptüs florasındaki mayaları veya kanatlı hayvan çıkartılarını baskılaması olasıdır. Ancak, ağaç kovukları gibi doğal ortamdan ayrı bir iklim ve çevresel koşullar oluşturan ortamlarda *C. neoformans*'in bulun-

maması ortamda farklı inhibitör maddelerin bulunabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda alınan örneklerde bifenile karşın, hızlı üreyen çürükçül filamentöz mantarların bulunması da örneklerin değerlendirilmesini zorlaştırmıştır. Son çalışmalarda ağaçlardan toplanan örneklerden patojen mantarların aranmasında filamentöz küflerin bulaşından korunmak için eküvyon ile örnek toplama yöntemi etkili bulunmuştur (12).

Avrupa'da *Cryptococcus* süveyans programları ile elde edilen sonuçlarda değişik çevresel ortamlardan soyutlanan *C. neoformans*'in serotiplerinde önemli bölgesel farklılıklar olduğu ortaya konulmuştur (13). Türkiye'de çok geniş alanlarda ve halkın yaşam bölgelerinde okaliptüs gibi *C. neoformans* için kaynak kabul edilen floraya karşın kriptokokkoz nadir görülmektedir (14). Çevresel flora örneklerinden yoğun soyutlamaların yapılabildiği Fransa'da HIV-olumsuz hastalarda kriptokokkoz Türkiye'de göre yaklaşık sekiz kat daha fazla görülmektedir (15). Ülkemizde saptanan hastaların tamamına yakınının yaşam bölgeleri çevresinde infeksiyon için risk kabul edilen lokal etmenler bulunmaktadır.

*Cryptococcus neoformans*'in ekolojisinin anlaşılması, yaşamı tehdit eden infeksiyonlar oluşturan bu mantarın insanlara bulaş yollarının saptanması ve kolaylıkla mücadele edilebilmesine olanak sağlayacaktır. Yukarıda tartışıldığı gibi *C. neoformans*'in düşük oranda soyutlandığı bölgelerde hasta odaklı tarama programları ve insan için riskli bölgelerin saptanması ile bu maya mantarının ekolojisine yönelik bilgilerin artmasına katkıda bulunmakta, daha da önemlisi ekolojik farklılıklar ve insana bulaşma yollarının açıklanmasına yardımcı olmaktadır.

#### KAYNAKLAR

1. Casadevall A, Perfect JR. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. Casadevall A, Perfect JR, eds. *Cryptococcus neoformans*. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1998: 41-70.
2. Randhawa HS, Mussa AY, Khan ZU. Decaying wood in trunk hollows as a natural substrate for *Cryptococcus neoformans* and other yeast-like fungi of clinical interest. *Mycopathologia* 2000; 151: 63-9.
3. Lazera MS, Pires FDA, Camillo-Coura L, et al. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. *J Med Vet Mycol* 1996; 34: 127-131.
4. Fortes ST, Lazera MS, Nishikawa MM, Macedo RC, Wanke B. First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from native jungle tree in the Brazilian rainforest. *Mycoses* 2000; 44: 137-140.
5. Ergin Ç, İllit 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.
6. Hamasha AMS, 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.
7. Mahmoud YA. First environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* and var. *gattii* from the Gharbia Governorate, Egypt. *Mycopathologia* 1999; 148: 83-6.

8. **Yıldıran ŞT, Saraçlı MA, Gönülüm A, Gün H.** Isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* from pigeon droppings collected throughout Turkey. *Med Mycol* **1998**; 36: 391-4.
9. **Baró T, Torres-Rodríguez JM, Morera Y, Conception A, López O, Mendez R.** Serotyping of *Cryptococcus neoformans* isolates from clinical and environmental sources in Spain. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 1170-2.
10. **Lo Passo C, Pernice I, Gallo M, et al.** Genetic relatedness and diversity of *Cryptococcus neoformans* strains in the Maltese Islands. *J Clin Microbiol* **1997**; 35: 751-5.
11. **Criseo G, Gallo M.** Serotyping of *Cryptococcus neoformans* isolates from environmental and clinical sources in extreme southern Italy (Calabria and Sicily, central Mediterranean area). *Mycoses* **1997**; 40: 95-100.
12. **Randhawa HS, Kowshik T, Khan ZU.** Efficacy of swabbing versus a conventional technique for isolation of *Cryptococcus neoformans* from decaying wood in tree trunk hollows. *Med Mycol* **2005**; 43: 67-71.
13. **Tintelnot K, Schär G, Polak A.** Epidemiological data of *cryptococcosis* in Austria, Germany and Switzerland: part of ECMM survey in Europe. *Mycoses* **2001**; 44: 345-50.
14. **Hilmioğlu S.** Kandidoz ve aspergilloz dışındaki fırsatçı mantar infeksiyonları. Yeğenoğlu Y, Erturan Z, ed. 3. *Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi - Tutanaklar*'da. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayın No: 46. İstanbul: Çatı Grafik, **2003**: 233-244.
15. **Dromer F, Mathoulin S, Dupont B, Laporte A.** Epidemiology of *cryptococcosis* in France: a 9-year survey (1985-1993). French *cryptococcosis* study group. *Clin Infect Dis* **1996**; 23: 82-90.

#### İLETİŞİM

Doç. Dr. Macit İLKİT  
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
01330 Balcalı, ADANA  
e-posta: milkit@cu.edu.tr