

LAODİKEİA REKREASYON ATÖLYESİNDE KERATİNOFİLİK MANTARLARIN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF KERATINOPHILIC FUNGI IN LAODIKEIA'S RECREATION WAREHOUSE

Çağrı ERGİN¹, İlknur KALELİ¹, Ebru ÇEVİK¹, Habibe ÖVET¹

¹ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli. (cagri@pamukkale.edu.tr)

ÖZET

Rekreasyon atölyeleri, arkeolojik buluntuların orijinal hallerine dönüştürülme çalışmalarının yapıldığı, nem oranının yüksek olduğu kapalı alanlardır. Arkeoloji çalışanlarının el ve tırnakları, bu örneklerdeki keratinofilik mantarlar ile doğrudan temas halindedir. Sunulan çalışmada, Laodikeia antik şehri rekreasyon atölyesindeki arkeolojik bulgularda keratinofilik mantarların varlığı ve dağılımının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda, Pamukkale'de Laodikeia antik kenti 2006 yılı buluntu örneklerinin değerlendirildiği rekreasyon atölyesindeki buluntuların çalışıldığı yerlerden, 18 adet farklı örnek alınmış ve örneklerde keratinofilik mantarların varlığı saç tuzağı yöntemi ile araştırılmıştır. İzolatların tanımlanması konvansiyonel mikolojik yöntemlerle yapılmıştır. Örneklerin %38.9 (7/18)'undan keratinofilik mantarlar izole edilmiş ve bu suşlar; *Chrysosporium* spp. (%22.2) (ikisi *C. keratinophilum*), *Aphanoascus* spp. (%5.5), *Auxarthron* spp. (%5.5) ve *Trichophyton rubrum* (%5.5) olarak tanımlanmıştır. Sonuç olarak, rutin mikoloji kültürlerinde üreyen sikloheksimide dirençli keratinofilik mantarların tanımlanmasında, hastanın iş ve yaşam koşullarının sorgulanmasını taniya yardımcı olacağı ve arkeoloji çalışanlarının çevresel keratinofilik mantarlara bağlı hastalıklar konusunda bilgilendirilmesi gerektiği düşüncesine varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Keratinofilik mantar, rekreasyon atölyesi, arkeoloji çalışanları.

ABSTRACT

Recreation ateliers in which archeological remnants are operated to be restored to their original forms, are closed places with high humidity rates. The hands and the nails of archeology workers contact directly with the keratinophilic fungi during recreation facilities. The aim of this study was to investigate the presence and distribution of keratinophilic fungi in Laodikeia antique city's recreation atelier (Pamukkale region; Aegean part of Turkey). A total of 18 archeological remnant samples were collected from Laodikeia recreation atelier during the digging period of 2006. The samples were screened for the prevalence of keratinophilic fungi by hair baiting technique and the isolates were identified by conventional mycological methods. Of the samples 38.9% (7/18) were found positive and the distribution of keratinophilic fungi were as follows; *Chrysosporium* spp. (22.2%) (two of them were *C. keratinophilum*), *Aphanoascus* spp. (11.1%), *Auxarthron* spp. (5.5%) and *Trichophyton rubrum* (5.5%). It was concluded that the patient histories including living and working conditions, may be helpful to identify the keratinophilic fungi growing on cycloheximide containing mycologic media and archeology workers should be informed for the diseases caused by environmental keratinophilic fungi.

Key words: Keratinophilic fungi, recreation atelier, archeology workers.

GİRİŞ

Doğada yaygın olarak bulunan keratinofilik mantarlar için, özellikle organik atıklar ile zenginleşmiş toprak en uygun kolonizasyon ve çoğalma ortamıdır^{1,2}. Bölgesel olarak keratinofilik mantarların kolonizasyon alanlarının ve tür çeşitliliğinin artması, insanlar için risk ve çevresel organik kirliliğin göstergesi olarak kabul edilmektedir³⁻⁵. Meslek olarak toprak ile yakın temas halinde bulunan kişiler çevresel patojen mantarlara doğrudan maruz kalmaktadır.

Arkeolojik rekreasyon atölyeleri genellikle arkeolojik kazı bölgesinde, kapalı ortamlarda ve yaz-sonbahar mevsimlerinde aktif olarak kullanılan gün ışığının dış ortamdan daha az, nem oranının daha çok olduğu kapalı mekanlardır. Rekreasyon atölyesinde, buluntuların topraktan çıkarılması, su ile temizlenmesi, sınıflandırılması, depolanması ve orijinal haline uygun duruma getirilme çalışmaları yoğun insan-toprak ilişkisine yol açmaktadır⁶. Çevresel mantarlara yoğun olarak maruz kalan bölge, farklı keratin yapılarının bulunduğu el ve tırnaklardır.

Sunulan çalışmanın amacı, Laodikeia antik şehri rekreasyon atölyesindeki arkeolojik bulgularda keratinofilik mantarların varlığını ve dağılımını araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Laodikeia kazıları, Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Klasik Arkeoloji Bölümü tarafından sürdürülmektedir. Kazılar sırasında ortaya çıkartılan parçalar, orijinale en yakın halinde birleştirilebilmesi ve onarılması (rekreasyon) için depo olarak da kullanılan atölyeye getirilmektedir. Atölye, kazı alanı içinde hava akımlarına açık kapalı bir ortamdır. Yapıda, çevrede yaşayan kuş ve sürüngenlerin girebileceği yerler bulunmaktadır.

Çalışmamızda, kazı başkanlığının izni ile Laodikeia antik kenti 2006 yılı kazı çalışmaları sırasında rekreasyon atölyesinden örnekler toplandı. Rekreasyon çalışmalarının yapıldığı 18 farklı buluntunun el ile çalışılan yerlerinden (toprak ve mermerden yapılmış buluntuların kenarı, buluntunun üzerinde çalışıldığı kum alan, iskelet ve kafatası yapıları, depoda sınıflanan kutulardaki döküntüler vb.) steril kaplara 20-25 g örnek alındı. Aynı gün içinde oda ısısında laboratuvara ulaştırılan örnekler Vanbreuseghem'in⁷ saç tuzacı yöntemi ile çalışıldı. Bu yöntemde, steril petri kutusu yarıya kadar alınan örneklerin yayılması ile dolduruldu. Örneğin üzeri çoğunluğunu örtecek kadar steril saç parçaları ile kaplandı. Petri plağının kalan kısmına örneklerin üst seviyesine kadar %1 kloramfenikol içeren steril serum fizyolojik ilave edildi. Petri plakları oda ısısında bir ay inkübas-yona bırakıldı. Süre içinde sıvıda eksilme saptanması durumunda ilave yapılarak kurumaya izin verilmedi. Süre sonunda, göz ile üremenin görüldüğü yerlerden %0.4 siklohekzimid içeren Sabouraud dekstroz agar besiyerine ekim yapıldı. Oda ısısında bir ay süre ile inkübe edilen kültürlerde üreyen mantarlar tanımlandı. Tanımlama işleminde yeterli sporulasyon göstermeyen suşlar seri pasajlar halinde patatesli dekstroz agar ve yulaf unu agar besiyerine ekildi. Besiyerlerinde üreyen kolonilerden her hafta laktofenol pamuk mavisi ve selofan bant yöntemi ile preparatlar hazırlandı. Makroskobik tanıda koloni büyüklüğü, yüzey dokusu, pigment oluşumu ve ters yüzey pigmenti özellikleri

kullanıldı. Mikroskopik tanıda mikrokonidya yapısı, hifal özellikler ve içeriği zayıf besiyerlerinde oluşan peridium tipi değerlendirildi⁷⁻⁹. *Chrysosporium* olarak tanımlanan suşlar için kıl delme testi kullanıldı⁷.

BULGULAR

Laodikeia antik kenti buluntularından alınan 18 farklı örneğin 7 (%38.9)'sinde keratinofilik mantar üremesi saptanmıştır. Örneklerin 4 (%22.2)'ünden *Chrysosporium* spp. (iki suş *C. keratinophilum*, iki suş *Chrysosporium* spp.), 2 (%11.1)'sinden *Aphanoascus* spp., birinden (%5.5) *Auxarthron* spp. ve 1 (%5.5)'inden *T. rubrum* izole edilmiştir.

TARTIŞMA

Doğal ortamda yaygın olarak bulunan keratinofilik mantarlar, uygun konak varlığında insanda patojen olabilen düşük virülanslı mikroorganizmalardır^{1,2}. Doğada keratinofilik mantarların varlığı ve dağılımları ile ilgili olarak yabancı literatürde çok sayıda araştırma bulunmaktadır¹⁰. Keratinofilik mantarlara hassas hasta gruplarının (örn. keratoderma) varlığı, farklı yaş ve meslek grupları için risk ortamlarının araştırılması, insan ve hayvan artıklarının neden olduğu çevresel kirliliğin denetimi, özellikle turizm potansiyeli olan bölgelerde varlıklarının ve yoğunluklarının taranması, dericilik-tekstil sektöründe depolama esnasında meydana getirdiği ekonomik kayıplar gibi nedenlerle son 30 yıl içinde keratinofilik mantarların çevresel kolonizasyonu ile ilgili çalışmalar artmıştır^{3-5,10-15}. Keratinofilik mantarların varlığı ve cins dağılımları, farklı iş sektörlerinde biyoindikatör olarak da taranmaktadır¹⁶.

İnsanlarda keratinofilik mantarlar çoğunlukla el, ayak ve tırnak gibi dış etkenlere açık bölgelerde hastalık etkeni olmaktadır. Meslek olarak toprak teması olan kişiler, çevresel keratinofilik mantarlar ile doğrudan karşılaşmaktadır. Çoğunlukla travmalara karşı eldiven, baret ve çizme gibi koruyucu önlemler alınmakla birlikte arkeolojik kazılarda rekreasyon bölümünde çalışan kişiler genellikle çalışmaları esnasında doğrudan toprak ile temas etmektedir. Arkeolojik sahada çalışanlar için mantarlar (enfeksiyon etkeni veya allerjen olarak) ve vektörler ile bulaşan hastalıklar mesleki risk kabul edilen mikrobiyolojik etkenlerdir⁶. Sunulan çalışmada, rekreasyon atölyesinden alınan 18 çevresel örneğin 7 (%38.9)'sinden keratinofilik mantarlar izole edilmiştir. Üretilen mantarlar arasında bulunan *T. rubrum* ülkemizde saç ve saçlı deri hariç hemen her anatomik bölgede en yaygın tinea etkenidir¹⁷. Bölgemizde hastaneye başvuran dermatofitoz olgularında da en sık üretilen tür *T. rubrum*'dur¹⁸. İzole edilen diğer cinsler ise (*Chrysosporium*, *Aphanoascus* ve *Auxarthron*) genellikle doğal ortamda keratinin yıkımına yol açan kolonizan mantarlardır. Ülkemizde henüz çevresel keratinofilik mantarların varlığı ve dağılımı hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. *Chrysosporium* spp. doğada en yaygın bulunan keratinofilik mantar türüdür. Hayvanlarda dermatofit dışı keratinize dokudan enfeksiyon etkeni olarak izole edilebilmektedir. İnsanlarda enfeksiyon etkeni olabilirliliği konusu henüz tartışmalıdır^{19,20}. *Aphanoascus* türleri de, tinea benzeri lezyonlar oluşturan yüzeysel mikoz etkenidir. Hayvanların barındığı ve tüyleri gibi keratinize dokunun yoğun karıştığı topraklardan izole edilmektedir^{8,21}. İnsanda patojen olarak bildirilmeyen *Auxarthron* türleri ise nadiren sü-

rüngenlerde enfeksiyon etkenidir⁹. Çalışmamızda *Aphanoascus* ve *Auxarthron* türlerinin saptanması, ılık ve nemli bir ortam olan rekreasyon atölyesinde, insan aktivitesinin az olduğu zamanlarda hayvan ve sürüngenlerin bulunduğu, dokularından dökülen keratine bağlı yoğun kolonizasyon olduğunun göstergesi olarak kabul edilebilir.

Keratin doku içeren klinik örnekler için kullanılan mikolojik besiyerleri, dermatofitlerin izolasyonuna yönelik olarak genellikle sikloheksimid içermektedir. Sikloheksimide dirençli olması nedeniyle, etkenin araştırıldığı tinea olgularında dermatofit dışı keratinofilik mantarlar izole edilebilir. Çoğu rutin mikoloji laboratuvarında üreyebilen bu keratinofilik mantarların tanımlaması yapılmamaktadır. Bu durumlarda, ardışık örnek alınması ve aynı tür mantarın tekrar izolasyonu durumunda hastanın mesleği, yaşam ve çevre koşulları sorgulanmalıdır. Ancak keratinofilik mantarların henüz yeterince tanınmaması, çoğunlukla çevresel kontaminant olarak değerlendirilmesine yol açmaktadır.

Ülkemizin farklı özelliğe sahip coğrafyalarında, tinea hastalarının yoğunlaştığı bölgelerde ve jeofilik mantar bulaş riski taşıyan meslek grupları için çevresel keratinofilik mantarların taranmasının, ileriye yönelik çalışmaların planlanması ve koruyucu hekimlik açısından veri sağlamanın önemli olduğunu düşünmekteyiz.

TEŞEKKÜR

Taramanın yapılabilmesi için gerekli izni veren Laodikeia kazıları başkanı Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Klasik Arkeoloji Bölümü başkanı Prof. Dr. Celal Şimşek'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Kunert J. Physiology of keratinophilic fungi, pp: 77-85. In: Kushwaha RKS, Guarro J (eds), *Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi*. 2000, Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao.
2. Filippello Marchisio V. Keratinophilic fungi: their role in nature and degradation of keratinic substrates, pp: 86-92. In: Kushwaha RKS, Guarro J (eds), *Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi*. 2000, Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao.
3. Ulfing K. The occurrence of keratinolytic fungi in waste and waste-contaminated habitats, pp: 44-50. In: Kushwaha RKS, Guarro J (eds), *Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi*. 2000, Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao.
4. Mercantini R, Marsella R, Prignano G, et al. Isolation of keratinophilic fungi from the dust of ferry boats and trains in Italy. *Mycoses* 1989; 32: 590-4.
5. Ali-Shtayeh MS, Khaleel TKH, Jamous RM. Ecology of dermatophytes and other keratinophilic fungi in swimming pools and polluted and unpolluted streams. *Mycopathologia* 2003; 156: 193-205.
6. Poirier DA, Feder KL. *Dangerous Places. Health, Safety, and Archaeology*. 2001, Bergin & Garvey, CT.
7. Sharma R, Rajak RC. Keratinophilic fungi: nature's keratin degrading machines! *Resonance* 2003; 8: 28-40.
8. Guarro J, Gené J, Stchigel AM. Developments in fungal taxonomy. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 454-500.
9. Sigler L, Hambleton S, Flis AL, Pare JA. *Auxarthron* teleomorphs for *Malbranchea filamentosa* and *Malbranchea albolutea* and relationships within *Auxarthron*. *Stud Mycol* 2002; 47: 111-22.
10. Ali-Shtayeh MS, Jamous RM. Keratinophilic fungi and related dermatophytes in polluted soil and water habitats, pp: 51-9. In: Kushwaha RKS, Guarro J (eds), *Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi*. 2000, Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao.

11. Filippello Marchisio V. Keratinolytic and keratinophilic fungi of children's sandpits in the city of Turin. *Mycopathologia* 1986; 94: 163-72.
12. Vidyasagar GM, Hosmani N, Shivkumar D. Keratinophilic fungi isolated from hospital dust and soils of public places at Gulbarga, India. *Mycopathologia* 2005; 159: 13-21.
13. Ali-Shtayeh MS. Keratinophilic fungi of school playgrounds in the Nablus area, West Bank of Jordan. *Mycopathologia* 1989; 106: 103-8.
14. Ramesh VM, Hilda A. Incidence of keratinophilic fungi in the soil of primary schools and public parks of Madras City, India. *Mycopathologia* 1998; 143: 139-45.
15. Deshmund SK, Verekar SA. Keratinophilic fungi from the vicinity of meteorite crater soils of Lonar (India). *Mycopathologia* 2006; 162: 303-6.
16. Ulfing K, Plaza G, Worsztynowicz A, Manko T, Tien AJ, Brigmon RL. Keratinolytic fungi as indicators of hydrocarbon contamination and bioremediation progress in a petroleum refinery. *Pol J Environ Stud* 2003; 12: 245-50.
17. İlkit M. Türkiye'de görülen dermatofitler ve mikolojik özellikleri, s: 23-43. II. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Sempozyumu: Dermatofitoz Etkenleri ve Dermatofitozlar. Tutanaklar, 2004. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 48, Kayseri.
18. Ergin Ç, Ergin Ş, Kaleli B, Erdoğan BŞ, Cevahir N, Kaçar N. Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Dermatoloji Polikliniği'ne başvuran hastalarda dermatofitoz etkenleri. *İnfeksiyon Derg* 2004; 18: 339-42.
19. Gugnani HC. Nondermatophytic filamentous keratinophilic fungi and their role in human infection, pp: 109-14. In: Kushwaha RKS, Guarro J (eds), *Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi*. 2000, Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao.
20. Torres-Rodriguez J, Lopez-Jodra O. Epidemiology of nail infection due to keratinophilic fungi, pp: 122-35. In: Kushwaha RKS, Guarro J (eds), *Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi*. 2000, Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao.
21. Torres-Rodriguez JM, Madrenys Brunet N, Farba M. Immunochemical characterization of somatic and metabolic antigens of 4 species of *Aphanoascus*: preliminary results. *Mycopathologia* 1998; 142: 51-5.