

T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS'IN GÜVERCİN DIŞKILARINDAKİ DAĞILIMI

Dr.Ahmet Yılmaz

UZMANLIK TEZİ  
BURSA 1987

T. C.  
Yükseköğretim Kurulu  
Dokümantasyon Merkezi

## Ö N S Ö Z

Günümüzde, fırsatçı enfeksiyonların önemi giderek artmaktadır. Fırsatçı bir mikoz olan kriptokokkoz da bunlardan biridir. Etkeni olan C neoformans doğada en sık olarak güvercin dışkılarında bulunmaktadır. Yaygın immunosupresif tedavi ile invazif tanı ve tedavi yöntemlerinin giderek artan oranlarda kullanılmasına bağlı olarak kriptokokkozun ülkemizde artacağını sanmaktayız. Bu nedenle mantarın yöremizdeki dağılımını araştırdık.

Bana bu konuda çalışma olanağı sağlayan, yetişmem ve mesleki ilerlemem için her türlü fedakarlığı esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden her konuda yararlandığım Sayın Hocam Prof.Dr.Kaya Kılıçturgay'a, çalışmalarımda daima yardımcı olan, yol gösterici tavsiyelerini esirgemeyen Sayın Hocam Prof.Dr.Feridun Gökırmak'a saygı ve şükranlarımı arz eder, bana her zaman destek olan, cesaret veren Sayın Doç.Dr.Okan Töre'ye, ayrıca Sayın Yrd.Doç.Dr.Güher Göral, Yrd.Doç.Dr.Suna Gedikoğlu ve Öğ.Gör.Dr.Safiye Helvacı'ya en içten duygularla teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Dr.Ahmet Yılmaz

## İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No</u>
GİRİŞ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	3
GEREÇ VE YÖNTEM .....	15
BULGULAR .....	24
TARTIŞMA .....	29
SONUÇ .....	32
ÖZET .....	33
KAYNAKLAR .....	34

## G İ R İ Ő

Son yıllarda geniş etki alanlı antibiyotik, sitostatik, kortikosteroid ve başka immuno-supresif ilaçların uygulanması; ışın tedavisi ve bazı cerrahi girişimler sonucu mantarların öldü-cü sistemik hastalıklara neden olabildiklerinin saptanması, miko-loji alanındaki çalışmalara yaygınlık ve hız kazandırmıştır(25).

Sayıları yüzbinlerin üzerinde olan mantarlardan 50-100 kadarının insan enfeksiyonlarında etken olduğu bildirilmiştir. İnsan enfeksiyonlarında bazılarının çok görülmesi (Tinea pedis), bazılarının az olmakla beraber tehlikeli enfeksiyonlar oluşturmaları ile (Kriptokok menenjitleri) önem taşıdıkları vurgulanmıştır (17).

Cryptococcus neoformans'ın insan vücudunun çeşitli yerlerine ve bu arada akciğerlere ve meninkslere yerleşerek veya bütün vücuda yayılarak subakut veya kronik bir mikoz olan kriptokokkoza yol açtığı tanımlanmıştır (28).

Hastalığın coğrafi dağılımı tüm dünyaya yayılmıştır (8). Amerika Birleşik Devletleri'nde mikotik etkenlerin yol açtığı ölüm nedeni olarak histoplazmoz'dan sonra ikinci sırada yer almıştır (14). Kriptokokkoz Türkiye'de de saptanmıştır (1,15).

Enfeksiyon kaynağı, C neoformans'ın virülen tiplerinin genellikle eski güvercin gübresi birikintilerinde bulunduğunu Em-

mons (1955) rapor edene kadar açıklanamamıştır (8). Kriptokokkozlu insan ve hayvanlarda, enfeksiyonun diğer kaynakları bulunana kadar, güvercin pisliğine temasın çok anlamlı ve önemli olduğu belirtilmiştir (8). Nitekim ülkemizde yapılan iki çalışmayla da C neoformans'ın doğal kaynağının güvercin dışkısı olduğu gösterilmiştir (11,24).

Biz de çalışmamızda modern tıpta giderek artan oranda kendini hissettiren fırsatçı enfeksiyonlardan birinin etkeni olarak C neoformans'ın yöremiz doğal kaynaklarındaki dağılımını göstermeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

Mantarlar doğada çeşitli ortamlarda biraz organik madde ve nemin bulunduğu her yerde yaşayabilen canlılardır. Onlar yağlar, fenoller, asfalt, lastik borular... da dahil her türlü organik maddeye saldırırlar. Bunlar patoloji laboratuvarındaki formaldehidli örnekleri bile bozarlar. Bunların çoğu saprofittir. Mantarlar bitkilerde ve hayvanlarda hastalıklara yol açarlar.

Mantarlar arasında saprofitlikten parazitliğe geçişin çok güzel örnekleri bulunmaktadır. Direnci kırık insanlarda hastalık yapabilenler gittikçe önem kazanmaktadır.

Mantarlar parazitlikle hastalık yapabildikleri gibi zehirlenmelere veya allerjiye yol açarak da insan sağlığını bozmaktadırlar.

Mantarlar arasında insana yararlı olanlar da vardır(28).

Mantarlar ökaryonlu klorofilsiz absorpsiyonla beslenen canlılardır. Vücutları bir hücreli veya birçok hücreli ipliğimsidir, fakat hücreler organlar yapmak üzere ayrışmalar göstermezler. Hücrenin kitinli sert bir duvarı vardır (28).

Mantarlar vücutları bakımından mayalar ve küfler olarak kabaca ikiye ayrılabilir:

Mayaların vücudu birer birer duran veya süreli olarak birbirlerine yapışabilen ve aslında bir hücreli varlıklardan ya-

pılıdır.

Küflerde vücut dallanan ince ve çok kez bölmeli borucuklardan yani hiflerden yapılıır. Hiflerin dallanması, birbirlerine sarılması ve bazen birbirleriyle birleşmesi ile meydana gelen dokuya misel denir.

Mantar kolonileri miselin bulunup bulunmadığına göre iki türdür.

Maya kolonisi: Bu hamur kıvamında, yumuşak ve kendinden iğne ile kolaylıkla madde alınabilen kolonidir. Bu koloni, başlıca üreme şekli tek hücreden ibaret olan mantarlarda görülür, bunların gerçek miseli yoktur.

Küf kolonisi: Bu koloniden, miselin varlığı dolayısıyla, parça kolaylıkla alınamaz, az çok koloninin yırtılması ile elde edilir; bu kolonilerin kıvamı hamur gibi değildir. Bu gibi koloniler, hava miselleri oluşmazsa, düz veya balmumu gibi görünürler (28).

Kriptokokkoz, C neoformans adlı mantarın primer bir fokus olarak akciğerlerde ve genellikle daha sonra meninkslere ve bazen de böbreklere, kemiklere ve deriye yayılmasıyla oluşturduğu bir enfeksiyon hastalığıdır (2). Etken genellikle güvercin dışkılarında ve daha az olarak da diğer kuş dışkılarında ve toprakta bulunur (14,24). Kuş yuvaları, özellikle güvercinlerinki, insan ve hayvan enfeksiyonlarının başlıca kaynağını oluştururlar (14). Bununla beraber, güvercinler C neoformans için konak değillerdir (28). Bu mantar kreatininden zengin kanatlıların dışkısına gelin-

ce burada kolayca çoğalabilmektedir. Mantar, kreatinin bakımından çok zengin olan güvercin dışkısında, tavuk dışkısına göre beş defa daha iyi gelişmektedir (9,28).

İlk kez Sanfelice, 1894'de C neoformans'ı şeftali suyundan izole ederek Saccaromyces neoformans olarak adlandırmıştır(8). Daha sonra 1951'de Emmons mantarın toprakta binde yedi oranında bulunduğunu göstermiştir (6). Yine Emmons 1955'de C neoformans'ın güvercin dışkılarında % 57 oranında bulunduğunu ortaya çıkarmıştır (7). Bu oran 1975'de güvercin dışkılarında Swinne-Desgain tarafından % 45 olarak saptanmıştır (23).

Ülkemizde ise, bu oran İzmir yöresindeki güvercin dışkılarında Tümbay (24) tarafından % 10.3 ve Bursa bölgesindeki güvercin dışkılarında da Karaman (11) tarafından % 3.2 olarak bulunmuştur.

Güvercin dışkılarından izole edilen bu C neoformans suşlarının kriptokokkoz vakalarından elde edilen suşlardan daha az virulan olduğu gösterilmiştir (10).

C neoformans yüzeyinde herhangi bir bölgeden tomurcuklanarak, bazen de değişik bölgelerden aynı anda pekçok tomurcuklar oluşturarak çoğalan yuvarlak bir mantardır (8,Resim 2). Bu mantar parazit durumunda hemen hemen toparlak, 5-10 mikrometre çapında, etrafı az çok kalın bir kapsülle çevrili organizmalar halinde gözükür; kapsülle birlikte 10-15 mikrometre kadardır (28, Resim 2). Kapsül kalınlığı mantarın suşuyla değişir ve genellikle dokuda kültürden daha büyüktür. Kültürde kapsüller maddenin ya-



pımı % 1'lik pepton çözeltisiyle arttırılabilir (8,25).

C neoformans aeroptur, kullanılan bütün besiyerlerinde ve bu arada Sabouraud'nun glikozlu agarında ve oda sıcaklığında ve 37°C'ta da ürer (25,28). Orta hızda veya hızlı ürer; 3-10 günde üreme gösterir. Çoğunlukla hastalık yapmayan diğer Cryptococcus türleri genellikle 26°C'ta ürerler; 37°C'ta ya hiç üremezler veya çok güçsüz bir üreme gösterirler (25).

Sabouraud'nun glikozlu agarında koloni önce parlak sümüğümsü görünüşte ve beyaz sarımtırak renktedir; yaşlandıkça koyulaşır, kahverengimsi olur. Bol sümüksü yapıdaki koloniler dik tutulan eğri besiyerinde yukarıdan aşağıya doğru akabilirler ve dipte bir kitle yapabilirler (28). C neoformans için selektif bir besiyeri olarak tanımlanan Guizotia abyssinica agarda (21) ve bizim de kullandığımız soya fasulyesi küspesi hidrolizati besiyerinde (27, Resim 1) sadece bu mantar kahverengi koloniler oluşturmaktadır.

C neoformans tiplerinin karbonhidratları kullanma özellikleri farklıdır, fakat laktoz ve melibioz'u sindirememektedirler. Kreatininden yararlanırlar. İn vitro 37°C'ta üreme özelliği, ve fare patojenite testi diagnostik olarak yararlıdır (8).

Bugün C neoformans'ın bir Basidiomycet olduğu ve Lökosporidiyum genusunda bulunduğu Shadomy (1970) tarafından gösterilmiştir. Nispeten kısa olan septalı hiflerin oluşmasıyla belirlenmiştir (8). Kriptokok türlerinin ayırımı Tablo 1'de gösterilmiştir (13).

Tablo 1. Kriptokok türlerinin ayrımı.

	Kuş yemi ağarında rengi	SDA'da 37°C'ta üreme	25°C'ta siklohek-similit üreme	Yalanca hif (kise)	Üreaz (25°C, 4 gün)	Özümsemeler												
						Dekstroz	Maltoz	Sukroz	Laktoz	Galaktoz	Meliblöz	Sellablöz	Inositol	Ksilöz	Rafinoz	Trehaloz	Dulsiitol	KNO <sub>3</sub>
C neoformans	Kahverengi	+	0	0 <sup>R</sup>	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0
C uniguttulatus	Beyaz	0	0	0	+	+	+	+	0	0 <sup>x</sup>	0	0 <sup>x</sup>	+	+	+	+	0	0
C albidus var. albidus	Beyaz	0 <sup>x</sup>	0	+	+	+	+	+	+	0 <sup>x</sup>	0 <sup>x</sup>	+	+	+	+	+	+	+
C albidus var. diffluens	Beyaz	+	0	0 <sup>x</sup>	+	+	+	+	0	0 <sup>x</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+
C laurentii	Beyaz veya yeşilimsi olarak	+	0 <sup>x</sup>	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
C luteolus	Beyaz	0	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0 <sup>x</sup>	+	+	0
C terreus	Beyaz	+	0	0 <sup>x</sup>	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+
C gastricus	Beyaz	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0

+ = pozitif 0 = negatif x = değişken R = seyrek görülür

Genel laboratuvar hayvanlarının çoğu deneysel kriptomokkoza duyarlıdır. Tavşan nispeten dirençlidir ve bu, özellikle onun yüksek beden ısısından ( $39.6^{\circ}\text{C}$ ) dolayı olabilir. C neoformans  $37^{\circ}\text{C}$ 'ta iyi üremesine rağmen,  $40^{\circ}\text{C}$  üzerindeki ısılar onu inhibe eder. Bundan dolayı kuşlar mantarın konakları değildir ve güvercin gübrelerinin eski birikintileri C neoformans'ların karakteristik kaynakları olmalarına rağmen, güvercinlerin vücut ısıları deneysel olarak düşürülmedikçe, güvercinlerin konak olmadıkları ve deneysel temasa duyarlı bulunmadıkları belirtilmiştir (8).

Ayrıca sağlıklı görünümdeki güvercinlerin bağırsak içeriklerinden izole edilen bakteriyel flora, in vitro C neoformans'ın gelişmesinde tam bir inhibitör etki göstermektedir. Bu sebeple, güvercinler C neoformans'ın doğal dağılımında aktif biyolojik bir rol oynamaktadırlar (9).

Başka bir araştırmacı grup tarafından da C neoformans'ın kaynağının güvercinler olmadığı rapor edilmiştir (12).

Kriptomokkoz, sıklıkla Hodgkin hastalığı, lenfosarkom, lösemi ve diyabetli hastalarda, ve uzun süre steroid tedavisi alanlarda görülmektedir (14). Hastalık en sık 20-40 yaşlarında ve daha fazla olarak erkeklerde saptanmaktadır (28). Hodgkin hastalıklı 423 kişilik bir seride, bu enfeksiyonun insidensi yaklaşık % 2 olarak saptanmıştır. Lenforetiküler hastalıklara eğilimli hastalar arasında kriptomokkozun % 1-2'lik insidensi her ne kadar düşükse de, genel popülasyonda bu enfeksiyonun bilinen sıklığından çok daha yüksektir (22).

Mantar, solunum yolundan girer (16,25,28). Önce akciğerlerde belirtisiz veya hafif bir klinik enfeksiyon yapar. Enfeksiyon ya kendiliğinden geçer veya yayılır. Kan yolu ile yayılım sonucu mantar santral sinir sistemine yerleşerek çoğu kez öldürücü olan bir enfeksiyona yol açar. Etken ayrıca deri, kemikler veya vücudun herhangi bir organında lezyonlar oluşturabilir (25).

Pulmoner kriptokokkoz öksürük, ve nadiren mukoid veya kanlı balgamla birlikte olabilir. Bazı vakalarda düşük derecede ateş, kırıklık ve ağırlık kaybı ortaya çıkar. Bronşit, konsolidasyon, perküsyonla matite, raller ve plevral effüzyon belirtileri olabilir (8). Hastalığın başlangıcındaki radyoloji bulguları hastalığa özel değildir, daha ileri dönemlerde tüberkülozunkine benzeyen şekillerden başka sınırları belirgin, yuvarlak koyu gölgeler görülebilir. Alt loplara tutulması daha sıktır. Bazı hallerde erime odakları gelişebilir (28). Kaviteleşme vakaların % 10-16'sında görülür (29). Akciğerlerde tümöre benzeyen bir tek lezyonlu vakalar bulunmaktadır ki bunlar lobektomi ile şifa bulabilirler (28). Aktif lezyonlar granülomatöz veya miksomatözdür. Kriptokokkozun pulmoner lezyonları iyileşince kireçlenmezler (8). Akciğer kriptokokkozu yavaş gelişen kanser, sarkoidoz, akciğer tüberkülozu, bronşektazi, pnömokonyoz, kist hidatik ve diğer mikozlarla karışabilir (28). Pulmoner kriptokokkozlu tüm hastaların yalnız % 10'u immun yetmezliğin bulgusuna sahiptirler (29).

Santral sinir sistemi kriptokokkozunda hastalık en sık olarak menenjit ve meningo-ensefalit şeklinde görülür. Yavaş yavaş

ortaya çıkan belirtiler özellikle tüberküloz menenjitte ve bazen beyin tümörü ve absesine benzer ve bundan dolayı akut meningo-ensefalit ve kafa içi toruloma'sı şekilleri kabul edilmektedir(28). Beyin ve omurilikte lokalize olmuş kriptokok granüloması tümör, abse, subdural hematoma veya herniyi hatırlatan semptomlar ve nörolojik belirtiler oluşturabilir ve leptomenenjit belirtileriyle birlikte olması şart değildir. Kriptokok menenjitini genellikle prodromal semptomlar olmaksızın sinsice başlar. Başlangıçta aralıklı, daha sonra devamlı ve ilerledikçe daha çok şiddetlenen baş ağrısı çoğu kez ilk şikayettir. Genellikle bulantı, kusma, baş dönmesi, ense sertliği, pozitif Kernig ve Brudzinski belirtileri, belirgin papilla ödemi, retinal eksüdatlar ve diğer göz bulguları, ve artmış spinal sıvı basıncının fiziksel bulgularıyla birlikte. Tedavi edilmemiş kriptokok menenjitinin ortalama süresi 6 ay kadar olup genellikle ölümlerle sonlanır (14).

Deri kriptokokkozunu genellikle sistemik bir enfeksiyonla birlikte ve muhtemelen bir respiratuvar enfeksiyonla başlamaktadır, fakat vakalar önceden var olan bir pulmoner lezyonu tanımlamaksızın teşhis edilirler. Kutanöz lezyonlar papüller, akneiform püstüller veya ülserlere olan subkutanöz abselerdir. Ülserler soliter veya multipl olabilirler (8). Deri ve muköz membranların tutulumu vakaların % 10-15'inde görülür (29).

Kemik lezyonları rapor edilen kriptokokkoz vakalarının % 10 kadarında ortaya çıkarlar. Genellikle aylarca süren ağrı ve şişmeyle birlikte (8). Eklem tutulumu son derece azdır (29).

Bazen eksploratris cerrahi ve biyopsi, mantar hücreleri az miktarda olduğu zaman veya özel boyalar kullanılmadığı zaman Hodgkin hastalığı veya osteojenik sarkoma teşhisine yol açabilir (8).

Diğer tutulum yerleri karaciğer (hepatit,hepatik nekroz), böbrekler (üriner sistem semptomları,piyelonefrit,papiller nekroz), prostat (prostatizm), adrenaller (adrenal yetersizlik), dalak, lenf nodülleri ve testisleri kapsayabilirler (29).

Kriptokokkozda lezyonların tazeleri jelatinimsi, eskileri granülocludur (28). Mukoid özellik C neoformans hücrelerinin çok ve hücreyel reaksiyonun hafif olduğu lezyonlarda görülür. C neoformans bariz bir sellüler reaksiyonu harekete geçirdiği zaman, lezyonlar diğer granüloomatöz hastalıklarınkinden histopatolojik olarak ayırt edilemezler (8).

C neoformans genellikle az tepkiye yol açan bir mantardır; vücutta enfeksiyon uzun süre sessiz bir halde kalabilir. Bu gizli halin enfeksiyon hastalığı haline geçmesi için vücut direncinin kırılması gerekmektedir. Biz bu hastalığı lenfogradüloomatöz, tüberküloz, lösemi, endokarditis, diyabet, gebelik, piyelonefrit, histoplazmoz ve yaygın kandidiyaz gibi hastalıklarla birlikte veya direnç kıran bazı ilaçların kullanılması sırasında görürüz(28).

Ayırıcı tanıda, kriptokokkoz, mantarın gösterilmesiyle akciğerlerin enfeksiyöz ve maliyn hastalıklarından ayrılmalıdır. Kriptokok menenjiti tüberküloz menenjite benzeyebilir ve, genellikle daha kronik olmasına rağmen, C neoformans'ın gösterilmesi veya izolasyonu ile ayrılmalıdır. Deri lezyonları, yine yaymada

mantarı bularak veya kültürde izole ederek farklı etyolojili benzer lezyonlardan ayrılmalıdır (8).

Kriptokokkozun laboratuvar tanısında direkt muayene, direkt kültür, hayvanlara inokülasyon ve serolojik yöntemler kullanılır.

Direkt muayenede temiz bir lama bir damla çini mürekkebi konur, üzerine bir damla spinal sıvı ilave edilip karıştırılır ve üzerine bir lamel konularak azaltılmış ışıkta, yuvarlak C neoformans hücreleri ve onları kuşatan kapsülleri aranır. Kapsül mantar ve çini mürekkebi parçacıkları arasında bir halo şeklinde gözükür (Resim 2). Eğer mantar acil muayenede bulunamazsa, dakikada 3000 devirde 10 dakika süreyle santrifüjde döndürülüp dikkatlice mikroskopik muayene ve kültür için pipetle sediment alınır. Balgam veya cerahat muayeneden önce % 10'luk NaOH ile karıştırılmalıdır. Uygun olarak hazırlanmış bir örnekte, cerahat hücreleri ve özellikle hücresel yıkıntılar, hidrokside dirençli olan kapsülün şeklini çizerler (8). Çini mürekkebi preparatı, kriptokok menenjitli vakaların yaklaşık olarak sadece % 50'sinde pozitifdir; oysa BOS kültürleri % 95'inde pozitifdir (29).

Direkt kültürde materyel neopepton-glikoz agar veya % 1-2 şeker ihtiva eden diğer besiyerleri üzerine yayılır. Kloramfenikol (0.05 mg/ml) bakteriyel kontaminantların üremesini inhibe etmek için agara dahil edilmelidir, fakat sikloheksimit C neoformans'ı inhibe ettiğinden kullanılmaz. Virülan C neoformans tipleri 37°C'ta iyi ürerler ve bu ısıda inkübasyon bir kısım kontami-

nantları inhibe eder (8). Balgam kültürleri pulmoner enfeksiyonların sadece % 20'sinde pozitifler. Kanser ve yaygın kriptokokkozlu hastaların bir serisinde, kan kültürlerinin % 15'i ve idrar kültürlerinin % 27'si pozitif bulunmuştur (29).

Laboratuvar hayvanları deneysel kriptokokkoza duyarlıdır- lar ve hastalık kemoterapötik çalışmalarda kullanılan farelerde oluşturulabilir.

Diğer mikozlarda kullanılan standart metodlar, genellikle doğrulanmış kriptokokkoz vakalarında antikriptokok antikorlarının varlığını gösteremediğinden kriptokokkozun serolojik tanısı çoğunlukla tatmin edici değildir. C neoformans'ın zayıf antiijenik olduğu veya antikorların dolayan antiijenlerle bloke edildiği düşünölmektedir. Gerçekten, kriptokok polisakkariti mikozun aktif fazı süresince serumda gösterilebilir, ve onun varlığı antikorların gösterilmesiyle ortadan kalkmaktadır. 1961'den beri, floresan antikör tekniğı, hemaglutinasyon testleri, duyarlandırılmış lateks veya bentonit partiküllerinin kullanılması ve intradermal uygulanan kriptokokkin testi geliştirilmiştir. Bununla beraber, pekçok çapraz reaksiyonlar vardır, ve kriptokokkozun serolojik tanısı hala patolojik örneklerde C neoformans'ın gösterilmesine veya onun kültürde izolasyonuna karşı test edilmekte olan bir araştırma yöntemi olarak değerlendirilmelidir (8). Bu nedenle seroloji pratik tanıda pek yararlı değildir (18).

Pulmoner kriptokokkozun tedavisi iyice tarif edilmemiştir, fakat beş ila sekiz haftanın (günaşırı 50 mg'a kadar) üze-



rinde intravenöz olarak verilen amfoterisin B'nin total 1 g'lık keyfi bir dozunun çoğu vakaları kontrol edeceği umulmaktadır. İmmunosupresif hastalar daha agresif tedavi gerektirebilirler (29).

Kriptokok menenjititi için tedavi prensipleri daha açık olarak belirlenmiştir. Amfoterisin B ve flusitosin'le kombine tedavi son zamanlarda üç nedenle tercih edilmektedir: (1) iki drog in vitro olarak kriptokoklara karşı sinerjiktirler; (2) flusitosin güvenilir derecede kan-beyin bariyerini geçer; ve (3) geniş işbirliğine dayalı bir çalışma intravenöz amfoterisin B'ye (0.3 mg/kg/gün) oral flusitosin'in (150 mg/kg/gün) ilavesiyle birlikte altı haftalık bir tedavi süresinin çoğu hastaları iyileştirdiğini göstermiştir ve bu 0.4 mg/kg/gün'lük on hafta süreyle tek başına verilen amfoterisin B'den daha az nefrotoksisite ile birlikte dir. Flusitosin mantarlar tarafından oluşturulan drog rezistansının yüksek riskinden dolayı tek başına hiçbir zaman kullanılmamalıdır (29).

Amfoterisin B bulunmadan önce, kriptokok menenjitli hastaların % 80'i iki yılda ölmekteydiler. Son tedavi programlarıyla hastaların % 80-90 kadarı tedavi edilebilmektedirler (29).

Korunmada, sulandırılmış kireç veya sodyum hidroksit evcil güvercinlerin dışkılarında kriptokok üremesini kontrol etmek için kullanılabilir. Şehre ait alanlarda güvercin topluluklarının kontrolunun, bu yön vermede kriptokokkoza yakalanma riskini azaltacağı umulmaktadır (29).

## G E R E Ç V E Y Ö N T E M

Biz bu çalışmamızda, Bursa merkezindeki farklı güvercin kümeslerinden elde edilen 115 güvercin dışkısı örneğindeki C neoformans dağılımını araştırdık. Kontrol grubu olarak da tavuk kümeslerinden toplanan 14 tavuk dışkısı örneğini ve farklı yerlerden sağlanan 8 toprak örneğini aldık.

Bütün örnekler steril penslerle ağzı kapanabilen özel steril kağıt keseciklere konuldu. Örnekler toplandıktan sonra 48 saat içinde incelemeye alındı. Ayrıca araştırmanın başından sonuna kadar, örneklerin bulunduğu kağıt kesecikler buzdolabında saklandı.

C neoformans'ın doğal kaynaklarındaki dağılımını araştırmak için Tümbay tarafından ülkemiz şartlarına uygun selektif bir besiyeri tanımlanmıştır. Bu besiyerinin bileşimi şöyledir(25,27):

Dekstroz	1 g
Kreatinin	1 g
Gentamisin	40 mg
Difenil	100 mg
Soya fasulyesi küspesi hidrolizatı	50 ml
$KH_2PO_4$	1 g
Distile su	950 ml
Agar	15 g

Besiyerinde kullanılan soya fasulyesi k spesti hidrolizati  etin'in (3,4) tarif ettiği ve  t k' n (19) bu yöntemde yapmış olduğu değişikliklere göre elde edildi. Hidrolizati yapmak için önce aşağıdaki bileşim hazırlandı:

Soya fasulyesi k�spesti	300 g
Kloroform	13.3 ml
Toluen	6.6 ml
Pankreatin	33 mg
Distile su	700 ml

Bu bileşimin pH'ı 8'e ayarlandı. Daha sonra ağızı hava geçirmeyecek şekilde sıkıca kapanan bir şişeye konan bu bileşim, 60 C'lık bir Benmari'de  c saat süre ile tutuldu. Bu süre içinde şişe sık sık kuvvetlice çalkalandı.  c saat sonra şişenin kapağı açılarak şişe on dakika süre ile kaynar suya konuldu. Daha sonra şişe içeriği   katlı gazlı bezden ve arkasından filtre kağıdından s z ld . Bunun sonunda s z nt  bir litreye tamamlandı. Bu sıvı 121 C'ta 15 dakikada sterilize edildi. şişede oluşan  okeltinin üstündeki sıvı stok soya fasulyesi k spesti hidrolizati olarak kullanılmak üzere buzdolabında saklandı.

Besiyeri, Tümbay'ın (25,26,27) modifiye ederek tanımladığı yönteme göre hazırlandı. 50 ml soya fasulyesi k spesti hidrolizati, 1 g kreatinin, 1 g dekstrozu, 1 g  $KH_2PO_4$ , 15 g agar, 40 mg gentamisin ve 950 ml distile su iki litrelik bir balona konularak pH'ı 7'ye ayarlandı. Daha sonra 121 C'ta 15 dakikada sterilize edildi. Besiyeri 56 C'ta kadar soğuması için bekletildi. Besiye-

rinin ısısı yaklaşık 56°C olunca daha önce sterilizasyon şartlarına uyularak % 95'lik 10 ml alkolde eritilen 100 mg difenil besiyerine ilave edilerek iyice karışması için çalkalandı. Bundan sonra da besiyeri 9 cm çaplı steril Petri kutularına, yine sterilizasyon kurallarına uygun olarak her Petri'ye 15-20 ml besiyeri gelecek tarzda döküldü. Böylece araştırmamızda kullanmış olduğumuz selektif besiyerimizi hazırlamış olduk.

Besiyerindeki kreatinin C neoformans'ın daha kolay üremesini sağlamaktadır. Soya fasulyesi küspesi hidrolizati sadece C neoformans kolonilerinin kahverengi renkte oluşmasına yol açmaktadır. Belirli orandaki difenil de maya türü mantarların üremesini engellemeden küf mantarlarının üremesini kısmen önlemektedir. Gentamisin bakteriyel kontaminantların gelişmesini inhibe etmektedir.

Güvercin dışkılarından C neofonmans izolasyonu amacıyla hazırlamış olduğumuz bu besiyerimizde İstanbul'da bulunan KÜKEM'den temin ettiğimiz kontrol C neoformans suşunun açık kahverengi renkte koloniler oluşturduğunu gözledik. Aynı anda kontrol amacıyla ektiğimiz Candida albicans'ın beyaz renkte koloniler oluşturduğunu saptadık.

Bundan sonra araştırma materyellerini hazırladık. Bunun için her örnekten 5 g güvercin dışkısı steril penslerle steril kağıtlar üzerinde tartılarak ağzı sıkıca kapanabilen 175 ml hacimli vidalı kapaklı şişelere ayrı ayrı konuldu. Her şişeye 25'er ml antibiyotikli steril fizyolojik tuzlu su eklendi. Antibiyotik-

li steril fizyolojik tuzlu su aşağıki gibi hazırlandı (20):

Penisilin G	2 milyon unite
Streptomisin sülfat	2 gram
Steril fizyolojik tuzlu su	200 ml

Antibiyotikli steril fizyolojik tuzlu sudaki örnekler, şişede beş dakika süreyle ęalkalandı ve sonra 20 dakika oda ısısında bırakılarak kaba partiküllerin dibe ękmesi sağlandı. Üstteki sıvı kısım , steril huni ile üç katlı gazlı bezden süzülerek steril deney tüpüne alındı. Buradaki steril fizyolojik tuzlu sudaki antibiyotikler materyellerdeki bakteriyel kontaminantları baskılamak amacıyla kullanıldı.

C neoformans izolasyonu amacıyla, ekim yöntemi olarak Tümbay'ın modifiye direkt plak yöntemi kullanıldı (24). Besiyeri olarak da yukarıda belirttiğimiz gibi, yine Tümbay'ın C neoformans için tanımladığı selektif soya fasulyesi küspesi hidrolizatı agarı kullanıldı.

Deney tüpüne alınan her sznt, 9 cm ęapındaki Petri kutularındaki dört plak besiyerine (her plağa 0.2 ml gelecek şekilde) steril bir pipetle aktarıldı ve steril bir pamuklu telle plak yüzeyine yayıldı. Plaklar 26°C'ta dört hafta süre ile tutuldu ve gün aşırı kontrol edilerek kahverengi koloniler arandı.

şüpheli kolonilerden önce lakto-fenol pamuk mavisi boyası ile yaş preparatlar yapıldı ve hücrelerin maya hcreci morfolojisinde olup olmadıkları araştırıldı. Saptanan maya hücrelerinin kapsüllü olup olmadıkları daha sonra yapılan ęini mürekkebi pre-

paratı ile saptandı.

Mikroskopik olarak incelenen koloniden (maya hücrelerinin görülmesi üzerine) tekrar soya fasulyesi küspesi hidrolizatı agar tek koloni düşecek şekilde pasaj yapılarak bir hafta süreyle 26°C'ta enkübe edildi. Enkübasyon sonunda, pigment tonu ve kültürün saflığı kontrol edildi. Saf kültür elde etmek için kolonilerden biri Sabouraud-Dekstroz-Agar plağına ekilerek 26°C'ta bir hafta süreyle tutuldu.

Bu amaçla çalışmamızda Sabouraud-Dekstroz-Agar (Difco) kullanıldı (5). Bu besiyerinden 65 g tartılarak 1000 ml distile suya konulup 121°C'ta 15 dakikada sterilize edildi. Daha sonra 9 cm çaplı Petri kutularına 15-20 ml gelecek şekilde dağıtılarak Sabouraud-Dekstroz-Agar besiyeri hazırlandı.

Saf kültür elde edildikten sonra, sırasıyla aşağıda belirtilen deneyler uygulandı:

1. Üreaz Deneyi: Sabouraud-Dekstroz-Agar'da üreyen saf maya kültüründen bir öze dolusu, Christensen'in üre agarına ekildi ve 26°C'ta 48 saat enkübe edildi. Bir hafta içinde bu derecede üremeyen suş atıldı, üreyen suş ile idantifikasyona devam edildi.

Christensen'in üre agarı aşağıdaki şekilde hazırlandı(25):

A. Üre agar anabesiyeri                      29 g  
(urea agar base)

Distile su                                      100 ml

Besiyeri suda eritildikten sonra Seitz filtresinden geçirilerek sterilize edildi.

B. Agar 15 g  
Distile su 900 ml

Agar suda eritildi ve 121°C'ta 15 dakikada sterilize edildi ve 50°C'ta kadar soğutuldu. Buna steril 100 ml A katıldı. İyice karıştırıldı ve steril koşullarda 5'er ml olarak tüplere dağıtıldı. Dikey ve eğri bölümleri olacak şekilde soğutuldu. Böylece üre agar anabesiyeri (Difco)'li besiyerimiz hazırlanmış oldu (5,25).

Rengi sarı-beyaz olan bu besiyerinin ekimden sonra pembe renge dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi.

2. 37°C'ta Üreme Kontrolü: Üreyi parçalayan saf maya kültüründen yatık Sabouraud-Dekstroz-Agar'a ekim yapılarak bir hafta 37°C'ta enkübe edildi. Bir hafta içinde bu derecede üremeyen suş atıldı, üreyen suş ile idantifikasyona devam edildi.

3. Mısırunu-İnfüzyon-Agar'da Hif Kontrolü: 37°C'ta üreyen ve üreyi parçalayan maya suşunun hiflenme gösterip göstermediğini saptamak için mısırunu-infüzyon-agar plağı kullanıldı.

Mısırunu-İnfüzyon-Agar (Difco)'dan 17 g tartılarak 1000 ml distile suya konuldu ve 121°C'ta 15 dakikada sterilize edildi (5). Daha sonra sterilizasyon kurallarına uyularak Petri kutularına döküldü. Böylece mısırunu-infüzyon-agar besiyerimiz hazırlanmış oldu.

Maya suşu, iğne ile plak besiyerini çizecek şekilde, birbirine yakın paralel çizgiler halinde ekildi, ekim çizgilerinin

üzerine steril bir lamel kapatılıp hafifçe bastırıldıktan sonra plak 26°C'ta üç gün enkübe edildi. Enkübasyon sonunda, plağın ka- pağı açılarak mikroskop altında kuru sistem ile lamel altındaki ekim çizgileri kontrol edildi. Hakiki veya yalancı hif yapan suş atıldı, hif yapmayan ve salt blastospor şeklinde hücresel yapı gösteren suş ile idantifikasyona devam edildi.

4. Nitrojen Özümleme Deneyi: 37°C'ta üreyen, üreyi parça- layan, hif yapmayan ve soya fasulyesi kışpesi agarda kahverengi koloni yaparak üreyen maya suşu ile nitrojen özümleme deneyi ya- pıldı. Deneyde, nitrojen kaynakları olarak potasyum nitrat ve kreatinin kullanıldı.

Maya suşunun Sabouraud-Dekstroz-Agar'da 26°C'ta üretilen 48 saatlik kültüründen, aşağı yukarı 20 milyon hücre/ml olacak şekilde bir tuzlu su süspansiyonu yapıldı. Çapı 9 cm olan steril bir Petri kutusuna dökülen nitrojen-özümleme-besiyeri'nin yüzeyi- ne, hazırlanmış olan hücre süspansiyonundan 0.2 ml konularak ste- ril pamuklu telle sürüldü. Bundan sonra plak, 37°C'lık etüvde ka- pağı alta gelecek şekilde açık konarak, yüzeyin kuruması sağlan- dı. Daha sonra besiyerinin yüzeyinin bir kenarına ince bir spatül ucu ile az miktarda potasyum nitrat ve karşı kenara da aynı şekil- de kreatinin konarak, konan maddelerin üzerine işaretli birer ste- ril karton disk kapatıldıktan sonra, plak 26°C'ta bir hafta enkü- be edildi. Enkübasyon sonucu, potasyum nitrat ve kreatinin'in ya- yılma sahalarına uyan sahalarda daire şeklinde üreme görülmesi, bu maddelerin maya suşu tarafından nitrojen kaynağı olarak kulla-



nılıp özümlediğini; maddelerin yayılma sahalarında besiyerinden farklı hiç bir değişikliğin görülmemesi ise, maya süşunun bu maddeleri nitrojen kaynağı olarak kullanamayıp özümleyemediği şeklinde değerlendirildi.

Nitrojen özümleme deneyinde karbonlu maya anabesiyeri (yeast carbon base, Difco) kullanıldı (5). Bu besiyerinden 11.7 g'lık bir miktar 100 ml distile suda eritildi. Eriyik Seitz filtresinden geçirilerek sterilize edildi. 900 ml distile suya 20 g agar konarak 121°C'ta 15 dakikada sterilize edildi ve sıcaklığı yaklaşık 50°C olunca sterilizasyon kurallarına uyularak, buna steril 100 ml karbonlu maya anabesiyeri eklendi. Steril Petri kutularına dökülerek nitrojen özümleme besiyerimiz bu şekilde hazırlanmış oldu.

5. Karbon Özümleme Deneyi: Bu deney ile maya süşunun glikoz, maltoz, laktoz, sukroz ve galaktoz'u karbon kaynağı olarak kullanıp kullanamadığı saptandı. Aynı nitrojen özümleme deneyinde olduğu gibi şeker-özümleme-besiyeri'nde de bu şekerler kullanıldı. Her şeker ince bir spatül ile yüzeyin bir kenarına konuldu ve üzerine işaretli steril bir karton disk kapatılarak 26°C'ta bir hafta enkübe edildi ve her gün kontrolü yapıldı. Enkübasyon sonucu, her şekerin yayıldığı alan içinde daire şeklinde üremenin görülmesi, maya süşunun o şekerini karbon kaynağı olarak özümleyebildiği şeklinde değerlendirildi.

Karbon özümleme deneyi için nitrojenli maya anabesiyeri (yeast nitrogen base, Difco) kullanıldı (5). Bu besiyerinden 6.7

g'lık bir miktar 100 ml distile suda eritilerek karbonlu maya anabesiyerinde olduğu gibi filtrasyonla sterilize edildi. Bu da yine karbonlu maya anabesiyerinde uygulanan yöntemle, 900 ml distile suda sterilize edilen 20 g agara eklenerek büyük Petri kutularına döküldü. Bu şekilde de karbon-özümleme-besiyeri'miz hazırlanmış oldu.

Örneklerden izole edilen ve C neoformans'ın morfolojik ve biyosimik özelliklerini gösteren maya suşu C neoformans olarak kabul edildi.

## B U L G U L A R

Çalışmamızda güvercin ve tavuk dışkısı ile toprak örneklerini içeren, 137 materyelde C neoformans arandı. İnceleme sonucunda, Bursa İl Merkezinden toplanan örneklerden 16 C neoformans suşu izole edildi. Suşların tümü güvercin dışkısında bulundu.

Güvercin dışkısı örnekleri Bursa İl Merkezindeki kenar mahallelerde bulunan güvercin kümeslerinden elde edildi. Bu araştırmaya Yeşilova, Başaran, Bahar, Kemerçeşme, Tuna, Çirışhane, Küplüinar, Soğanlı, Gençosman, Yeşilyayla, Yediselviler, Selamet, Namık Kemal, Fatih, Papazçeşme, Koğukçınar, Değirmenli Kızık, Kırcaali, Ulu, Zafer ve Piremir mahalleleri alındı. En yeni kümes bir haftalık, en eski kümes ise yaklaşık 15 yıllıktı. Bu kümeslerde, dışkı örneği alınan tarihe kadar, barınan güvercin sayısı iki ila iki bin arasında değişiyordu. Güvercin dışkısı örnekleri genellikle eski yığıntıların hafif nemli kısımlarından alındı.

137 örneğin 115'i güvercin dışkısı, 14'ü tavuk dışkısı 8'i de topraktı. Tavuk dışkısı örnekleri tavuk kümeslerinden, toprak örnekleri ise rastgele farklı yerlerden alındı.

Toplam 115 güvercin dışkısı örneğinin 16'sından C neoformans izole edildi. 14 tavuk dışkısı ve 8 toprak örneğinin incelenmesi sonucu C neoformans elde edilemedi.

Materyellerin mahallere göre dağılımı ve bunlardan izole C neoformans suşları Tablo 2'de gösterildi.

Tablo 2. Güvercin dışkılarının mahallelere göre dağılımı ve bunlardan izole edilen C neoformans suşları.

Mahallenin adı	Güvercin dışkısı sayısı	İzole edilen C neoformans suşları
Yeşilova	29	2
Başaran	7	1
Bahar	11	-
Kemerçeşme	7	1
Tuna	10	1
Çirişhane	1	-
Küplüpınar	12	6
Soğanlı	2	-
Gençosman	1	-
Yeşilyayla	4	-
Yediselviler	2	-
Selamet	3	-
Namık Kemal	5	-
Fatih	2	2
Papazçeşme	2	1
Koğukçınar	8	1
Değirmenli Kızık	1	-
Kıcaali	1	-
Ulu	1	-
Zafer	5	1
Piremir	1	-

Suşların hepsi laboratuvar tanı kriterlerine tam bir uyum gösterdiler. 16 suşun tümünün in vitro olarak kapsüllü olduğu saptandı (Resim 2). Suşlar, hif oluşturmadılar (Resim 3); üreyi 24 saat içinde parçaladılar; 1-3 gün içinde 37°C'ta ürediler; şekerlerden glikoz, maltoz, sukroz ve galaktoz'u özümlediler, fakat laktoz'u özümlemediler. Gerek şekerleri özümleme deneyinde, gerekse kreatinin ve potasyum nitrat özümleme deneyinde kesin sonuç genellikle üçüncü günün sonunda alındı. Soya fasulyesi küşpesi hidrolizatı besiyerine yapılan ekimlerde, 26°C'ta bir haftalık enkübasyondan sonra, izole edilen 16 C neoformans suşunun 16'sının da açık kahverengi pigmentli koloniler yaptıkları görüldü (Resim 1).

İzole edilen 16 C neoformans suşunun laboratuvar tanı bulguları Tablo 3'te gösterildi.



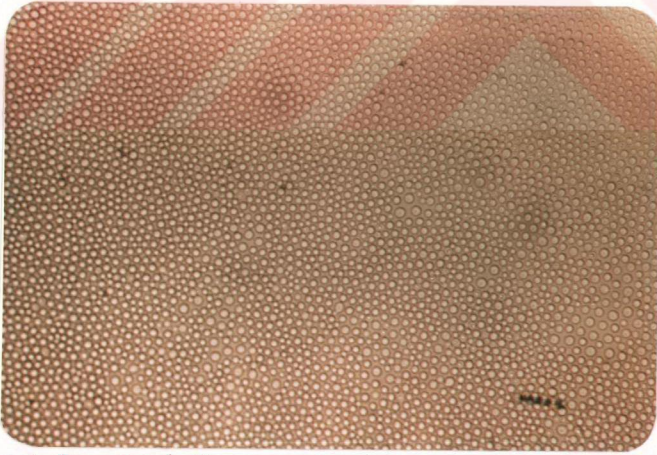
Resim 1. Soya fasulyesi küşpesi hidrolizatı agarda açık kahverengi C neoformans kolonileri. 26°C'ta 24 günlük kültür. Güvercin dışkısından ekim (Lab.No:84).

Tablo 3. İzole edilen 16 C neoformans suşunun laboratuvar tanı bulguları.

Laboratuvar No:	Koloni	Kapsül	37°C'ta üreme	Hif	Kahverengi koloni	Üreaz	KNO <sub>3</sub> 'ü özümlene	Kreatinin özümlene	Şeker özümlene				
									Glikoz	Maltoz	Sukroz	Galaktoz	
3	S tipi	İnce	+	Yok	+	+	-	+	+	+	+	+	-
38	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
42	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
64	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
68	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
72	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
74	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
77	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
78	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
81	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
82	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
84	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
87	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
89	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
95	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-
97	"	"	+	"	+	+	-	+	+	+	+	+	-



Resim 2. Kùltürden yapılan preparatta kapsüllü ve tomurcuklanan C neoformans hücreleri. Tuzlu su-çini mürekkebi preparatı. Büyütme: x 1000 (Lab.No:84).



Resim 3. Mısırunu-İnfüzyon-Agar'da hif yapmayan C neoformans hücreleri. 26°C'ta 3 günlük kültür. Büyütme: x 400 (Lab.No:84).

## T A R T I Ő M A

C neoformans'ın konak dışı kaynaklardan izolasyonunda iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan biri, ilk kez Emmons (6) tarafından ortaya konan fare inokülasyon yöntemi ve diğeri ise değişik yazarların önerilerini göz önüne alarak, Tümbay'ın (24) uygun modifikasyon yaparak tanımladığı direkt plak yöntemidir. Fare inokülasyon yöntemi, uzun zaman alan, zahmetli ve masraflı bir yöntemdir. Bu yöntemde, her materyel suspansiyonunun en aşağı dört fareye intrakraniyal, intravenöz veya intraabdominal olarak verilmesi; bundan sonra 4-6 hafta kadar beklenip her materyel için dört fare otopsisinin yapılıp organlarda C neoformans'ın aranması, saf kültür elde edildikten sonra biyoşimik özelliklerinin uygunluk göstermesi halinde tekrar 2-4 fareye kültürün inokülasyonu ve bir ay sonra tekrar fare otopsislerinin yapılması sonucu fazla zaman harcanması; beyaz fare bulunmasındaki ve bakımındaki güçlükler; ve ayrıca fazla sayıda fare kullanılmasından ötürü ortaya çıkabilecek masraf göz önüne tutularak, bu yöntem yerine, direkt plak yöntemi kullanılmaktadır.

Direkt plak yönteminde büyük bir dezavantaj, toprak ve kanatlı dışkıları gibi materyelde çok sayıda bulunan küf mantarlarının C neoformans'tan çok daha hızlı üreyip besiyeri yüzeyini örtmeleri ve böylece üreyecek olan C neoformans'ın izolasyon ve



tanısını önlemeleridir. Diğer bir dezavantaj da, besiyeri yüzeyinde üreyen ve tipik mukoid koloni yapmayan C neoformans kolonilerinin bazı diğer maya ve maya benzeri mantarların kolonilerinden ayırılmelerindeki zorluktur.

Amerika Birleşik Devletleri'nde Shields ve Ajello Guizotia abyssinica-Kreatinin-Antibiyotik-Difenil-Agar besiyerini geliştirdiler (21). Besiyerinde kullanılan Guizotia abyssinica Afrika'da yetişen siyah tohumlu bir bitkidir. Bunun tohumları karnarya yemi olarak kullanılmaktadır. Ancak bu bitkinin tohumları ülkemizde bulunmamaktadır. Bu nedenle temini güçtür. Guizotia abyssinica tohumlarından elde edilen infüzyon ile hazırlanan bu katı besiyerinde C neoformans kahverengi koloniler yapmakta, buna karşılık diğer Cryptococcus türleri ve çeşitli maya ve maya benzeri mantarlar kahverengi koloniler yapmamaktadırlar.

Benzer bir besiyeri, ülkemizde Tümbay tarafından Soya fasulyesi küspesi hidrolizatı-Kreatinin-Antibiyotik-Difenil-Agar olarak tanımlanmıştır (26,27). Besiyerinde kullanılan soya fasulyesi küspesi yağ sanayinin bir yan ürünü olduğundan besiyerinin maliyeti çok düşüktür. Bu besiyerinde de C neoformans kahverengi koloniler yapmakta, buna karşılık diğer maya türü mantarlar kahverengi koloniler yapmamaktadırlar.

Bütün bu özellikleri dikkate alındığında her iki besiyerinin de C neoformans'ı doğal kaynaklarında araştırmaya eşit oranda uygun olduğu görülmektedir. Ancak soya fasulyesi küspesi hidrolizatından elde edilen besiyerinin maliyetinin düşük olması

ve ülkemizden sağlanması gibi üstünlükleri vardır. Bu nedenle biz araştırmamızda soya fasulyesi küspesi hidrolizatından hazırlanmış olan besiyerini tercih ettik.

Gözlemlerimize göre, Tümbay'ın besiyeri küf mantarlarının üremesini kısmen önlemektedir. Besiyerindeki difenil 1 g/l'ye çıkarılınca küf mantarlarının üremesi oldukça baskılanmakta, ancak bu kez C neoformans'ın gelişmesi yavaşlamaktadır.

Bugün kabul edilen, başka doğal kaynaklar saptanana kadar, C neoformans'ın doğal kaynağının güvercin dışkısı olduğudur.

Mantarın en sık olarak güvercin dışkısından izole edildiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (9,11,24). İlk izolasyonu yapan Emmons, Amerika Birleşik Devletleri'nde Loudoun Bölgesinde (Virjinya) eski güvercin tünekleri altından toplanan kurumuş güvercin dışkısı, taze güvercin dışkısı ve güvercinlerin gezindiği parklardan alınan toprak örneklerini içeren 111 materyelli incelemiş ve bunların 63'ünden (% 57) C neoformans izole edebilmiştir (7).

Yurdumuzda ise Tümbay (24) İzmir yöresinde mantarın güvercin dışkılarında % 10.3, Karaman (11) da Bursa'da % 3.2 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Ayrıca Tümbay yapıların dam ve pencere kenarlarından ve alanlardan toplanan 40 güvercin dışkısı örneğinden mantar izole edememiş, fakat evlerde bulunan kapalı güvercin kümeslerinin içinden alınan 272 dışkı örneğinden 32 C neoformans suşu elde ettiğini rapor etmiştir. Bu durumun literatüre uygunluğunu da bu

raporunda belirtmiştir (24).

Biz de bu nedenle, çalışmamızda, özellikle bu bilgiye dayanarak evlerdeki kapalı güvercin kümeslerinin içinden alınan, nemli dışkı örneklerinde C neoformans'ın varlığını araştırdık.

Toplam 115 güvercin dışkısı örneğinden 16 C neoformans suşu izole ettik. Böylece C neoformans'ın Bursa'da güvercin dışkılarında % 13.9 oranında bulunduğunu saptadık.

Bu oran Amerika Birleşik Devletleri'ndeki ve Avrupa ülkelerindeki oranlardan düşüktür. Ancak yurdumuzda yapılan çalışmalarla saptanan oranlardan daha yüksek bir oran saptanması nedeniyle, bunlarla da uyum göstermemektedir. Bu da kanaatimizce güvercin dışkısı örneklerini yalnız kümeslerden toplamamızdan kaynaklanmaktadır.

Araştırmamıza göre, C neoformans'ın güvercin dışkılarındaki dağılımı, özellikle Bursa'nın Küplüpınar bölgesinde yoğunluk göstermiştir. Bu durum enfekte bir kümeden çevredeki kümeslerin de enfekte edildiğini düşündürmektedir. Yine C neoformans suşları, daha çok eski ve güvercin sayısının yüksek olduğu kümeslerden izole edilmişlerdir. Buradaki durum da, kümeslerin, eskidikçe ve güvercin sayısı arttıkça enfekte olma olasılıklarının artmasına bağlanabilir.

Örnek toplama sırasında güvercin sahiplerinden edinilen bilgiye göre, adı geçen şahıslar da dahil olmak üzere çevresindekilerden hiçbiri solunum ve merkezi sinir sistemi hastalığına yakalanmamıştır. Bu belki de mantar enfeksiyözitesinin düşük oluşu-

na bağlanabilir.

14 tavuk dışkısı ve 8 toprak örneğinden C neoformans izo-  
le edemedik. Bu bulgumuz Tümbay'ın (24) çalışmasıyla uyum göster-  
mektedir.

Tüm çalışmalarda saptandığı gibi, bizim çalışmamız da C  
neoformans'ın doğal kaynağının güvercin dışkıları olduğunu gös-  
termektedir.



## S O N U Ç

Bursa'daki güvercin dışkılarından izole edilen C neoformans oranı, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki ve Avrupa ülkelerindeki oranlara göre düşüktür. Yine ülkemizde immunosupresif tedavi ve invazif tanı ve tedavi yöntemleri giderek artmasına rağmen insidens adı geçen ülkelerden daha düşüktür. Ancak araştırmamızın sonucu, az bir olasılıkla da olsa ülkemizde, özellikle genel vücut direnci düşük hastaların kriptokokkoz tehlikesi ile karşı karşıya gelebileceklerini düşündürmektedir.

Bundan dolayı, kriptokokkoz'un doğru tanısı ve uygun tedavisinin yapılabilmesi için klinik materyelin bakteriyolojik olduğu kadar mikolojik yönden de incelenmesi kanımızca uygun olacaktır.

## Ö Z E T

Bursa İl Merkezi'ndeki kenar mahallelerdeki evlerde bulunan güvercin kümeslerinden elde edilen güvercin dışkısı örneklerindeki C neoformans'ın dağılımı araştırıldı. 115 güvercin dışkısı örneğinden 16 C neoformans suşu izole edildi ve bu suşların morfolojik ve biyosimik özellikleri incelendi. 14 tavuk dışkısı ve 8 toprak örneğinden ise C neoformans izole edilemedi.

Bursa'daki güvercin dışkılarında, C neoformans'ın dağılım oranı % 13.9 olarak saptandı.

## K A Y N A K L A R

1. Baykal M, Zileli T, Akalın E: Bir *Cryptococcus neoformans* menenjitisi vakası. Mikrobiyol Bül 19:158-160, 1985.
2. Berkow R: The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. Thirteenth Edition, Merck Sharp and Dohme Research Laboratories, Rahway, 1978, p.141.
3. Çetin E T, Büğet N, Ötük G: Soya fasulyesi ve kütüsesinden hazırlanan besiyerleri. Kükem Derg 2:56-60, 1979.
4. Çetin E T, Ötük G: Preparation of enzymatic hidrolyzates from soybean waste and their use in bacteriology. J Kükem 8:26-32, 1985.
5. Difco Manual, Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology. Tenth Edition, Michigan USA, 1984, p.250-1138.
6. Emmons C W: Isolation of *Cryptococcus neoformans* from soil. J Bact 62:685-690, 1951.
7. Emmons C W: Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*). Am J Hyg 62:227-232, 1955.
8. Emmons C W, Binford C H, Utz J P: Medical Mycology. Second Edition, Philadelphia, Lea and Febiger, 1970, p.186-206.
9. Gabal-Abou M, Atia M: Study of the role of pigeons in the dissemination of *Cryptococcus neoformans* in nature. Sabouraudia 16:63-68, 1978.

10. Hasenclever H F, Emmons C W: The prevalence and mouse virulence of *Cryptococcus neoformans* strains isolated from urban areas. *Am J Hyg* 78:227-231, 1963.
11. Karaman A, Tümbay E, Demir O: Bursa'da güvercin ve çeşitli kuş dışkıları örneklerinde *Cryptococcus neoformans* aranması. *Mikrobiyol Cem Derg* 10:31-40, 1980.
12. Khan Z U, Pal M, Randhawa H S, Sandhu R S: Carriage of *Cryptococcus neoformans* in crops of pigeons. *J Med Microbiol* 11:215-217, 1978.
13. Larone D H: *Medically Important Fungi*. Harper and Row Publishers, Maryland, 1976, p.49.
14. Littman M L, Walter J E: Cryptococcosis: Current status. *Am J Med* 45:922-932, 1968.
15. Meço O, Bayraktar M, Ekmen H, Onul B, Yurttaşen M, Ata H, Özyüçer B: Bir subakut *Cryptococcus neoformans* meningo-ensefalitisi olgusu. *Mikrobiyol Bült* 14:309-317, 1980.
16. Neilson J B, Fromtling R A, Bulmer G S: *Cryptococcus neoformans*: Size range of infectious particles from aerosolized soil. *Infect Immun* 17:634-638, 1977.
17. Onul M: *Sistemik İnfeksiyon Hastalıkları*. İkinci Baskı, Ay-yıldız Matbaası A.Ş., Ankara, 1983, s.8.
18. Öbek A: *İç Hastalıkları*. Korkmaz Ofset, Bursa, 1986, s.166.
19. Ötük G, Çetin E T: Preparation of the media by the enzymatic hydrolysis of soybean waste in a short time. *J Kükem* 9:26-32, 1986.



20. Rage G J: Laboratory Medicine. Volume 2, Harper and Row Publishers, Maryland, 1973, p.16.
21. Shields A B, Ajello L: Medium for selective isolation of *Cryptococcus neoformans*. Science 151:208-209, 1966.
22. Symmers W St C: *Cryptococcus neoformans* in the bird droppings. Lancet 1:159-160
23. Swinne-Desgain D: *Cryptococcus neoformans* of saprophytic origin. Sabouraudia 13:303-308, 1975.
24. Tümbay E: İzmir yöresinde *Cryptococcus neoformans* ve kriptokokkoz I. Kısım: *Cryptococcus neoformans*'ın doğal kaynaklarından izolasyonu. Tübitak Altıncı Bilim Kongresi, Tıp Araştırma Grubu Tebliğleri, Ankara, Tübitak Yayınları No:429, 1979, s.839-866.
25. Tümbay E: Pratik Tıp Mikolojisi. 1.Baskı, Bilgehan Basımevi, Bornova, İzmir, 1983.
26. Tümbay E, Akalın T, Demir O: Use of soybean waste-hydrolysate medium in mycology. Part II: Cultivation of yeasts. A preliminary report.. J Kükem 7:27-29, 1984.
27. Tümbay E, Demir O, Akalın T: Use of soybean waste-hydrolysate medium in mycology. Part III: Use of soybean waste-hydrolysate agar as a selective medium for *Cryptococcus neoformans*. J Kükem 8:11-16, 1985.
28. Unat E K: Tıp Parazitolojisi. 3.Baskı, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları No:113, İstanbul, Fatih Gençlik Vakfı Matbaa İşletmesi, 1982, s.693-750.

29. Wyngaarden J B, Smith L H: Cecil Textbook of Medicine. Sixteenth Edition, W.B.Saunders Company, Toronto, Canada, 1982, p.1703-1705.



**T. G.**  
Yükseköğretim Kurulu  
Dokümantasyon Merkezi