

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**HATAY YÖRESİNDE EVCİL GÜVERCİNLERDE
CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS SAÇILIMININ
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gamze Özge ÖZMEN

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Zafer CANTEKİN

HATAY – 2015

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**HATAY YÖRESİNDE EVCİL GÜVERCİNLERDE
CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS SAÇILIMININ
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gamze Özge ÖZMEN

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Zafer CANTEKİN

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 9446 nolu proje olarak desteklenmiştir.




HATAY – 2015

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI


**HATAY YÖRESİNDE EVCİL GÜVERCİNLERDE
CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS SAÇILIMININ
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gamze Özge ÖZMEN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 06/03/2015 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Yrd. Doç. Dr. Zafer CANTEKİN 
Üye: Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ 
Üye: Prof. Dr. Sadık DİNÇER 

Bu tez enstitümüz Mikrobiyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.....


Doç. Dr. Yaşar ERGÜN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca fikir ve yönlendirmeleriyle bana yol gösteren, tez konumun seçiminden tamamlanmasına kadar geçen her aşamada bana maddi, manevi yardım ve bilgisiyle her türlü desteği sağlayan, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı, değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Zafer CANTEKİN'e şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Tez aşamasındaki çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen hocam Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ' a, manevi desteğini hiç bir zaman esirgemeyen değerli arkadaşım Sibel ELMACIOĞLU' na ve kıymetli zamanlarını ayırarak birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli arkadaşlarım Melek DEMİR, Zeynep YILMAZ ER ve Naci GÖVCE' ye teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen, maddi manevi hep yanımda olan değerli annem Gülümser ÖZMEN, babam Erdoğan ÖZMEN, abim Özgür ÖZMEN ve ablam Özlem ÖZMEN İSPİR' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatıma girdiği kısa süre içerisinde manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen güzel insan Mehmet Sabri ZEYTİNELİ' ne tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Mantar Enfeksiyonları.....	1
1.1.1. Gerçek mantar enfeksiyonları.....	2
1.1.2. Fırsatçı mantar enfeksiyonları.....	2
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2 Etiyoloji.....	6
2.2.1 Morfolojik Yapı ve Çoğalma.....	6
2.2.2. Antijenik Yapı ve Serotipler.....	9
2.2.3. Virülens Faktörleri.....	10
2.2.3.1. Polisakkarid kapsül.....	10
2.2.3.2. Fenol oksidaz.....	10
2.2.3.3. 37°C'de üreyebilme özelliği.....	11
2.3. Epidemiyoloji.....	11
2.4. Ekoloji.....	13
2.5. İnsanlarda Kriptokokkoz.....	15
2.5.1. Kriptokokkozun Klinik Şekilleri.....	16
2.5.1.1. Akciğer Kriptokokkozu.....	16
2.5.1.2. Merkezi Sinir Sistemi Kriptokokkozu.....	17
2.5.1.3. Diğer Klinik Şekiller.....	17
2.6. Hayvanlarda Kriptokokkoz.....	18
2.7. Kriptokokkozise Karşı Bağışıklık.....	19

2.8. Patoloji.....	19
2.9. Teşhis.....	20
2.9.1. Klinik tablolar.....	20
2.9.2. Etkenin Doğal kaynaklardan İzolasyonu.....	22
2.9.2.1. Fare deneyleri	22
2.9.2.2. Kültür yöntemi	22
2.10. Tedavi.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Gereç	24
3.1.1. Örnekler ve örneklerin alınması	24
3.2. Yöntem	27
3.2.1. İzolasyon ve identifikasyon.....	27
3.2.2. Moleküler Analizler	29
3.2.3. DNA İzolasyonu.....	29
3.2.4 İzolatların PCR ile Konformasyonu	30
3.2.5 Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme.....	31
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA.....	36
6. SONUÇ	40
7. KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 3.1. Sabouraud Dextrose Agar'da üreyen <i>C. neoformans</i> kolonileri.	27
Şekil 3.2. Kloramfenikol (200 µg/L) içeren Kanlı Agar'da üreyen <i>C. neoformans</i> kolonilerinin.....	28
görünümü.....	28
Şekil 3.3. <i>C. neoformans</i> 'ın Gram boyama ile mikroskopik görünümü.....	29
Şekil 4.1. <i>C. neoformans</i> 'a özgü 600 bp'lik bantların agaroz jelde görüntülenmesi. (M; Marker, 1000 bp plus, 1-6; Agaroz Jelde <i>C. neoformans</i> 'a özgül bantlar (600 bp).N; Negatif Kontrol).....	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan örneklerin alındığı ilçeler ve sayıları	24
Çizelge 3.2. Örneklerin alındığı ilçeler, güvercin ırkları ve dışkı kıvamı	25
Çizelge 3.2. Örneklerin alındığı ilçeler, güvercin ırkları ve dışkı kıvamı (devamı).....	26
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan primer dizileri	30
Çizelge 4.1. İnkübasyonu yapılan örneklerde üreme durumu ve üreyen koloni sayısı ..	32
Çizelge 4.1. İnkübasyonu yapılan örneklerde üreme durumu ve üreyen koloni sayısı (devamı).....	33
Çizelge 4.1. İnkübasyonu yapılan örneklerde üreme durumu ve üreyen koloni sayısı (devamı).....	34
Çizelge 4.2. <i>C.neoformans</i> 'a spesifik bantların gözlemlendiği güvercin dışkı örnekleri	35

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri (USA)
AIDS	Edinilmiş Bağışıklık eksikliği Sendromu (Acquired Immune Deficiency Syndrome)
BHIA	Brain Heart Infusion Agar
CGB	Canavanine Glycine Bromothymol Blue
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
GMX	Glucorono-xylomannan
IFA	Indirect Fluorescent Antibody
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
SDA	Sabouraud Dextroz Agar
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
TBE	Tris Borate Ethylenediamine Tetraacetik Acid Buffer
TES	Tris Ethylenediamine Tetraacetik Acid Sodium
UV	Ultraviolet

ÖZET

Hatay Yöresinde Evcil Güvercinlerde *Cryptococcus neoformans* Saçılımının Araştırılması

Cryptococcus neoformans, başta güvercinler olmak üzere, kreatinin içeriği yüksek olan zengin kanatlı hayvan dışkılarının bulunduğu yerlerden sıklıkla izole edilmektedir. Ancak bu etkenden ileri gelen klinik hastalıklar kanatlılarda görülmez. Etkenin insanlara bulaşması esas olarak solunum yoluyla olmasına rağmen deri yoluyla da vücuda girebilmektedir.

Bu çalışmada Hatay ili ve ilçelerinde (İskenderun, Kırıkhan, Altınözü, Ekinci ve Antakya) hobi amaçlı yetiştiriciliği yapılan evcil güvercinlerin dışkılarında *Cryptococcus neoformans*'ın saçılımının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla Hatay ili ve ilçelerinde 58 farklı kümesten güvercin dışkı örnekleri alındı. Alınan dışkı örnekleri kültür için kloramfenikol içeren Sabouraud Dextrose Agar besi yerine ekilerek 37°C'de 3-7 gün inkübe edildi. İzole edilen kolonilerden DNA ekstraksiyonu yapıldı ve Polimeraz zincir reaksiyonu ile *C. neoformans*'a spesifik bantlar arandı. Yapılan analizler ile örnekleme yapılan 58 kümesin 12 (%20.68)'sinde *C. neoformans* izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirildi.

Hatay ili bulunduğu coğrafi konum itibariyle sıcak ve nemli bir bölge olduğundan güvercin dışkısında bulunan etkenin uzun süre bölgede varlığını sürdürmesine imkân vermekte ve bu durumun insan sağlığı açısından bir tehdit unsuru olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: *Cryptococcus neoformans*, güvercin, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Hatay

ABSTRACT

Investigation Shedding of *Cryptococcus neoformans* on Domestic Pigeons in the Hatay Region

Cryptococcus neoformans is commonly isolated from poultry feces, especially pigeons, known has high creatinine contents. However, clinical disease resulting from this agent cannot be seen in birds. Although transmission of agents to human is inhalation, they can entire to body through skin.

For this purpose, totally 58 different pigeon stool samples were taken from pigeon coops in the Hatay and districts. The stool samples were streaked into Sabouraud Dextrose Agar containing chloramphenicol and were incubated 3-7 days at 37 ° C. Genomic DNA extraction was performed from isolated colonies and Polymerase chain reaction was made for *C. neoformans* detection. In the result of the analyses, *C. neoformans* was detected in the 12 (20.68%) of 58 different pigeon coops.

In this study were showed that the presence and distribution *C. neoformans* in the Hatay region. As the geographical location, the province of Hatay is a hot and humid region. This condition can cause longer life of the agent in pigeon droppings and can be dangerous for human health for living and pigeon breeding in this area.

Key Words: *Cryptococcus neoformans*, Pigeon, Polimerase Chain Reaction, Hatay

1. GİRİŞ

Mantarlar, çok hücreli ve tek hücreli olabilen ökaryotik canlıları kapsayan bir canlılar alemidir. Latince *Fungus* mantar, *Fungi* ise mantarlar anlamına gelmektedir. Mayalar ise genellikle tek hücreli, ancak bazı türleri çok hücreli olan mantarlardır.

1.1. Mantar Enfeksiyonları

Günümüzde, mantarlara bağlı enfeksiyonlar giderek artmakta ve dolayısıyla onlara olan ilgi de artmaktadır. Gereken önem verildikçe “*Candida sendromu*” ve “*Alerjik aspergillus sinüziti*” gibi yeni tablolar tanımlanmaktadır (Denning ve ark. 1990, Richardson ve Wamock 1994).

Doğada bilinen yaklaşık 250.000 mantar türü arasından insanlarda hastalık yapan türlerin sayısı 200 civarındadır. Geçmişte, normal flora üyesi veya apatojen olarak değerlendirilen *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.*, *Drechslera spp.*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi birçok mantar, günümüzde enfeksiyöz etken olarak tanımlanmaktadır (Boday 1993, Richardson ve Wamock 1994, Unat ve ark. 1995).

Maya ve mantar kaynaklı enfeksiyonların sayısındaki artışın sebepleri Denning ve ark. (1990) tarafından şu şekilde açıklanmıştır;

- Yoğun ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı,
- Organ nakillerinin daha sık uygulanır olması,
- Protez uygulamalarının artması,
- Damar içi ilaç uygulamalarındaki artış,
- Parantral besleme uygulamalarındaki artış,
- Ulaşım imkânlarındaki gelişmeler ile birlikte endemik birçok mantar türüyle fazla temas oluşması,
- Özellikle AIDS (Edinilmiş bağışıklık yetmezliği sendromu) gibi bağışıklık sistemini baskılayan hastalıkların yaygınlığının artması.

Mantar enfeksiyonlarının patogenezi yeterince tanımlanamamış olsa da, konağın direnci, hastalığın oluşumunda en belirleyici faktör olarak gösterilmiştir. Ortamdaki ya da temas edilen mantar sporlarının miktarı, 37°C'de üreyebilme özelliği, düşük oksidasyon-redüksiyon potansiyellerine uyum sağlayabilme gibi özellikler mantarların derin dokuları tutan enfeksiyon oluşturabilmesini sağlayan temel özelliklerdir. Tüm bu

bilgiler ışığında, mantar enfeksiyonları gerçek mantar enfeksiyonları ve fırsatçı mantar enfeksiyonları olarak ayrılmaktadır. Son yıllardaki belirgin artışın ise özellikle fırsatçı mantar enfeksiyonlarında olduğu bildirilmiştir (Unat ve ark. 1995).

1.1.1. Gerçek mantar enfeksiyonları

Bu gruptaki mantarlar, genellikle belirli bölgelerde endemik olarak bulunurlar ve bu bölgedeki insanlarda sıklıkla gizli enfeksiyonlara neden olurlar. Ancak bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde, ağır hastalık tabloları oluşturabilirler. Genellikle bu mantarlar da "termal dimorfizm" görülür. Bunlar insanların vücut ısısı olan 37°C'de maya kolonileri oluştururken, 26°C'de besiyerlerinde küf kolonileri oluştururlar. Bunların en iyi bilinen örnekleri *Coccidioides immitis* ve *Histoplasma capsulatum*'dur (Unat ve ark. 1995).

1.1.2. Fırsatçı mantar enfeksiyonları

Bu gruba giren mantarlar normalde herhangi bir enfeksiyona neden olmadan ortamlarda yaygın olarak bulunurlar. Ancak bağışıklığı baskılanmış insanlarda enfeksiyona neden olurlar. Bu gruptaki mantarlarda termal dimorfizm görülmemektedir. Bu grubun en iyi bilinen örnekleri *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* ve *Cryptococcus (C.) neoformans*'dır. Bu örneklerin dışında da geçmişte insanlar için apatojen olarak bilinen pek çok mantarın hastalık etkeni olabileceği gösterilmiştir (Boday 1993).

Fırsatçı mantarlar grubunda bulunan mantarların büyük çoğunluğu (*Aspergillus spp*, *Pseudoallescheria boydii*, *C. neoformans* gibi) toprakta ve çevrede bol miktarda bulunmaktadır. Bulaşma çeşitli araçlarla deri, mukoza ve solunum yollarından olabilir. İnsandan insana bulaşma genelde kutan mikozislerde karşılaşılmaktadır. İç organlarda enfeksiyon yapan mantarların ise insandan insana bulaşmadığı, bunların çevreden edinildiği bildirilmiştir (Ajello 1967, Unat 1993, Unat ve ark. 1995).

Toprağın mantarlar için önemli bir kaynak olduğu ilk olarak Emmons'a (Emmons 1951, 1958) tarafından bildirilmiştir. Daha sonraları ise özellikle bazı mantarlar için toprağın özelliklerinin belirleyici olduğu bildirilmiştir. Örneğin *Coccidioides immitis* ancak belli toprak yapısına sahip bölgelerde saptanabilen endemik bir mantardır. *Histoplasma capsulatum* kuş, tavuk ve yarası dışkıları ile kirlenmiş toprakta;

C. neoformans özellikle güvercin dışkıları ile kirli alanlarda yoğun olarak bulunur (Ajello 1967, Seeliger ve Tümbay 1974, Unat ve ark. 1995).

C. neoformans'ın etkeni olduğu “Kriptokokkoz” hastalığı, günümüzde sıklığı ve önemi giderek artan fırsatçı bir mantar enfeksiyonudur. Özellikle AIDS hastalarındaki belirgin sıklığı ile dikkat çekmektedir (Levitz 1991, Richardson ve Wamock 1994). *C. neoformans*'ın toprakta bulunduğu da ilk kez Emmons (Emmons 1951) tarafından bildirilmiştir. *C. neoformans*'ın güvercin başta olmak üzere, çeşitli kanatlı hayvanlara ait dışkıları ile kirli alanlarda yoğun olarak bulunduğunu ve dünyanın farklı yerlerinden alınan örneklerde farklı yoğunluklarda *C. neoformans* saptandığı bildirilmiştir (Ajello 1967, Bergman 1963, Castanon-Olivares ve Lopez-Martinez 1994, Sotgiu 1966, Tümbay 1977 b). Farklı yoğunluklarda oluşunun sebebi, toprağın yapısı, içerdiği mikroorganizma kompozisyonu bileşimi ve coğrafya özellikleri ile açıklanmaktadır (Ajello 1967, Emmons 1958, Tümbay 1977 b, Unat 1993, Unat ve ark. 1995). Rosario ve ark. (2005, 2010) ile Costa ve arkadaşları (2010) güvercin dışkısıyla bulaşan ortamlarda *C. neoformans*'tan *C. albidus*, *C. laurentii*, *C. uniguttulatus* gibi başka diğer kriptokok türlerinin de bulunabileceğini göstermişlerdir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Günümüzde *C. neoformans* olarak adlandırılan etken ilk olarak 1894 yılında patolog Busse ve cerrah Buschke tarafından 31 yaşındaki bir hastanın tibiasından izole edilmiştir. "Neoformans" sözcüğü, etkenin deride kutanöz ülserlere ve bölgesel lenfadenopatiye neden olduğu olgularda, şişliğin ortaya çıkmasından dolayı kullanılmıştır (Kasımoğlu 1998). Ayrıca etken meyve suyundan ve domuz akciğerinden izole edilmiştir (Emmons 1951, Graybill 1992, Kwon-Chung ve Bennet 1992, Ruiz ve ark. 1981). Zaman içinde çeşitli kaynaklardan izole edilen etken incelenerek sınıflandırılmış ve *C. neoformans* olarak adlandırmıştır (Hay 1991, Kasımoğlu 1988).

İnsan ve hayvan örneklerinden izolasyonunun yanı sıra, 1950'li yıllara gelindiğinde Emmons (1951) bu etkenin doğal kaynağı olarak toprağı ve güvercin dışıklarının olduğunu belirlemiştir. Daha sonra Staib'in (1962 a, 1962 b) öncü çalışmaları ve daha sonradan, Seeliger (1974), Ajello (1955, 1967), Shields (1966) gibi araştırmacıların katkılarıyla *C. neoformans*'in kolayca tanımlanabildiği besiyerleri geliştirilmiştir.

1960'ların sonlarında yapılan çeşitli ekolojik, biyokimyasal ve genetik çalışmalar sonrasında *C. neoformans*'in çeşitli özellikleri birbirinden farklı olan var. neoformans ve var. gattii olmak üzere iki varyetesi ve bunların da kapsül antijenlerine, aglütinasyon ve immunofluoresans deneylerine göre farklılıklar gösteren serotipleri olduğu ortaya konmuştur. Serotiplerine göre var. neoformans'da serotip A, D ve AD, var. gattii'de ise serotip B ve C olmak üzere toplam beş adet tip serotip bildirilmiştir (Kwon-Chung ve ark. 1992 a, Yücel 2001). Son zamanlarda yapılan genotipik çalışmalarla ortaya çıkarılan iki genotip farklılığı ve daha önce bildirilen fenotip ayrılıkları dikkate alınarak *C. neoformans* var. *grubii* olarak yeni bir varyete önerilmiştir (Cleare ve ark. 1999, Franzoi ve ark. 1999). Buna göre serotip A ve D izolatlarının *grubii* ve *neoformans* olarak bilinen iki varyeteye ayrılması kararlaştırılmıştır (Cleare ve ark. 1999). Serotip A ve D kökenleri çaprazlandığında gelişen tele morf şekil *Filobasidiella neoformans* var. *neoformans*, B ve C kökenleri çaprazlandığında *Filobasidiella neoformans* var. *bacillispora* olarak adlandırılmıştır (Cox ve Perfect 2000, Yücel 2001).

C. neoformans var. *gattii*'ye yönelik çalışmalarda bu varyetenin doğal kaynağının okaliptus ağaçları (*Eucalyptus camaldulensis*) olduğu saptanmıştır (Ellis ve Pfeiffer 1990, Kwon-Chung ve ark. 1992 b). Daha sonra mitokondriyal DNA polimorfizmi gibi yöntemlerle karyotip haritaları oluşturulmuştur (Dramer ve ark. 1994).

Türkiye'de, kriptokokkoz ile ilgili ilk olgu 1953 yılında bildirilmiştir (Soysal ve ark. 1953). Anđ ve ark. (1973) yılında pankreas kanserli bir hastanın balgamından izole ettikleri *C. neoformans* yurdumuzda ilk defa incelenen tür olmuştur. Doğal kaynaklarından *C. neoformans* araştırılması konusundaki ilk çalışma ise 1965 yılında Unat ve Yücel (1995)'in İstanbul'da yaptıkları "Konak dışında *Histoplasma capsulatum* ve *C. neoformans* araştırmaları" isimli çalışmadır. Araştırmacılar her iki mantarın da inceledikleri örneklerde bulunmadığını bildirmişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda, Tümbay (1977 b) İzmir'de, Karaman ve ark. (1980), Bursa'da güvercin dışkılarından etkeni izole etmişlerdir. Sivrel ve Tümbay (1993) İzmir'de yaptıkları bir başka çalışmada güvercin dışkılarından *C. neoformans* izole etmişler ve bu izolatların in vitro amfoterisin B duyarlılıklarını araştırmışlardır.

C. neoformans'ın yurdumuzda ilk defa insan kanından ve idrarından üretilmesi Vural ve ark. (1977) tarafından, bir menenjit olgusundan ilk izolasyonu ise Meço ve ark. (1980) tarafından ve kütanöz lezyonlardan ayrılarak üretilmesi ile ilgili ilk bildirim Kantarcıoğlu ve ark. (2001) tarafından yapılmış, aynı olgu bildiriminde belli Avrupa ülkelerinde dağılım gösterdiği bilinen serotip D'nin Türkiye' deki varlığı da gösterilmiştir.

Türkiye'de yapılan araştırmalarda doğadan en yüksek izolasyon oranı Ordu ilinden toplanan örneklerde % 35 olarak bulunmuş (Açıkgöz ve Aksu 2001), en düşük oranlar ise İstanbul'da yapılan çalışmalarda % 1,0 olarak bildirilmiştir (Aygün 1996, Saraçlı ve ark. 2003).

2.2 Etiyoloji

C. neoformans kapsüllü, fırsatçı patojen olarak enfeksiyonlar yapabilen dimorfik bir mantardır. Aşağıdaki şekilde sınıflandırılan *C. neoformans*'ın iki varyetesinden *var. neoformans*'ın seksüel formuna (teleomorph) *Filobasidiella neoformans*, *var. gatti*'nin seksüel formuna ise *Filobasidiella bacillispora* adı verilmektedir (Hoogde ve Guarro 1995).

Alem:Fungi

Bölüm:Basidimycota

Sınıf:Basidiomycetes

Takım:Filobasidiales

Aile:Filobasidiaceae

Cins: Filobasidiella (Cryptococcus)

Tür: *C. neoformans*

2.2.1 Morfolojik Yapı ve Çoğalma

C. neoformans aerop olup bazı karbohidratları fermente etmeksizin oksidasyon yolunu kullanır. Karbohidratlara etkisi değişkendir. Çoğu glukozu, bazıları ise galaktoz, mannoz, fruktoz, sakkaroz ve maltozu asit oluşturarak, fakat gaz oluşturmadan fermente edebilmektedir. Etken, potasyum nitrat ve laktozu asimile etmezken, pepton, üre ve kreatinini azot kaynağı olarak kullanır. Üreaz enziminin gösterilmesi *Torulopsis glabrata* isimli mayadan ayırımında faydalı olmaktadır (Yücel 1988). Ancak *C. neoformans*'ın bazı suşları da üreaz negatif olabilmektedir (Levitz 1991).

Mikroskopik olarak *C. neoformans* infekte dokularda küçük ve dar tabanlı bir şekilde tomurcuklanmış yavru hücreleri bulunan maya hücreleri şeklinde görülür. Genel olarak etkenin şekli yuvarlak ve çapıda 5-10 µm arasında değişmektedir. Etrafı ince bir kapsülle çevrilidir ve kapsül ile birlikte çapı genellikle 10-15 µm'ye kadar ulaşabilir. Uygun örneklerin ve kültürlerin incelenmelerinde çini mürekkebi ile ortamın boyanması, kolay ve belirgin bir şekilde kapsülün görülmesini sağlar. Gram boyama yöntemiyle boyandıklarında kapsül boyanmadan kalır, hücreler ise kristal viyoleyi tutar ve Gram pozitif olarak görülürler (Tümbay 1983, Yücel 1988). Doğadan ve çevresel kaynaklardan izole edilen suşlar genellikle ince kapsüllüdürler (Levitz 1991).

Bazı hücreler tomurcuklanır ve ana hücreye dar bir boyunla bağlanırlar. Bunun dışında yalancı hif, klamidospore ve çimlenme borusu oluşturmazlar. Bazen küçük çıkıntılar yapabilirler. Elektron mikroskopu ile incelemelerde hücre duvarında iç ve dış tabakalar ayırt edilebilir. Varyetelerin ayırımında monoklonal antikolar, biyokimyasal farklılıklar, üreme ve yaşama özellikleri kullanılabilir (Levitz 1991). Ayrıca varyetelerin ayırımında kullanılmak üzere bazı özel besiyerleri de tanımlanmıştır (Kwon-Chung ve ark. 1982). *C. neoformans*, genellikle bu cinsin diğer türlerinden ve birçok mayadan farklı olarak kreatininden yararlanır. Bu nedenle başta güvercin olmak üzere, kreatininden zengin kanatlı hayvan dışkılarının bulunduğu yerlerde bol olarak bulunurlar (Yücel 2001).

C. neoformans'ın laboratuvar ortamında üretilmesi için SDA (Sabouraud Dekstroz Agar) yeterli olur ve bu besiyerinde oda sıcaklığında veya 37°C'de ürer. *C. neoformans*'ın 37°C'de üremesi, diğer *Cryptococcus* türlerinin bu ısı derecesinde üretilmemesi nedeniyle önem kazanır. Etken, 37°C'de genellikle 38-72 saat içinde ürer. Ekilen madde çerisinde hücre sayısı az ise üreme 7 gün veya daha fazla sürebilir (Tümbay 1983, Yücel 2001). Bunun dışında, Unat'ın balıklı buyyonu ile hazırlanan çukulatamsı agar, % 5 koyun kanlı agar, adi jelöz besiyerlerinde *C. neoformans*'ın 48-72 saat içinde saydam, küçük, düzgün yüzeyli koloniler oluşturduğu, birkaç gün içerisinde de sarımsı-mat kolonilere dönüştüğü izlenmiştir (Unat ve Yücel 1965, Unat ve ark. 1995). SDA'da üreyen kolonilerin rengi başlangıçta beyaz-kremimsi iken, kültürler eskidikçe koyulaşır ve sarımsı-bronz renge döner. Oluşan kapsülün polisakkaridleriyle ilgili olmak üzere koloniler kabarık ve mukoid görünümlüdürler. Kapsüllü etkenlerin oluşturduğu koloniler, eğimli besiyeri yüzeyinde üst kısımlardan aşağıya doğru akarak dipte bir kitle oluşturacak şekilde toplanabilirler. Sıvı besiyerlerinde üstte zar yapmadan ürerler. (Ajello 1955, Tümbay 1983, Warren ve Shadomy 1991).

C. neoformans'ın, fenollerden melanine benzer bir pigment oluşturan fenol oksidaz sentezini yapması ayrıca etkenin identifikasyonunda önem taşımaktadır. Bu olayda ortaya çıkan pigmentin rengi substrata, yani fenol oksidazın etkilediği fenol çeşidine bağlı olmaktadır. Staib (1962 b), bir kuşyemi olan *Guizotia abyssinica* tohumlarının özünü besiyerlerine koyarak (Niger Seed veya Bird Seed Agar), bu ortamda *C. neoformans*'ın kahverengi-esmer koloniler meydana getirdiğini göstermiştir. *Guizotia abyssinica*'daki fenol bileşiği kafeik asittir ve bu bileşiğin bulunduğu özel

besiyerinde *C. neoformans*'ta bulunan enzimin etkisiyle maya kolonileri renklenmekte ve bu olay *C. neoformans*'ın diğer mayalardan ayrımı için kullanılmaktadır (Tümbay 1983, Warren ve Shadomy 1991, Yücel 2001).

Etkenin hücre duvarında yer alan ve yapısal bir molekül olan melanin, *C. neoformans*'ın önemli bir patojenite faktörüdür. Ayrıca melaninin, etkeni doğada UV (ultraviyole) ışınları gibi çeşitli zararlı etkilerden korurken, oksitleyici maddeler ve iyonize radyasyon gibi çok çeşitli çevresel baskılara karşıda koruduğu bildirilmiştir (Eisenman ve Casadevall 2012, Chaskes ve Tyndall 1975).

Melanin gibi kahverengi-siyah pigmentlerin sentezinde öncül olabilecek maddeleri içeren farklı besiyerleri, çevresel ve klinik *C. neoformans* varlığının araştırılmasında kullanılmaktadır (Eisenman ve Casadevall 2012, Chaskes ve Tyndall 1975). Bu besiyerleri arasında, günlük hayatta kullanılan bitki ve tohumları içeren formülasyonlar önemli yer tutar; zira hem malzemelerin sağlanması kolay hem de maliyeti diğer kimyasal içerikli besiyerlerine göre daha düşüktür. *Guizotia abyssinica* (Nijer tohumu, kuşyemi) ile Staib agar (Staib 1962 c, Korth ve Pulverer 1971), *Helianthus annuus* (Ayçiçeği) ile Pal besiyeri (Pal 1997, Khan ve ark. 2004), *Brassica nigra* (Hardal) tohumu agar (Nandhakumar ve ark. 2006), Tütün agar (Tendolkar ve ark. 2003), *Mucuna pruriens* (Kadife fasülye) tohumu agar (Gokulshankar ve ark. 2011), *Perilla frutescens* (Çin fesleğeni) tohumu agar (Feng ve ark. 2011), *Rubus fruticosus* (Böğürtlen) agar (Mseddi ve ark. 2011) ve öğütülmüş kırmızıbiber agar (Stepanovic ve ark. 2012) bunlara en iyi bilinen örneklerdir. Bu besiyerlerinde *C. neoformans*'ın 2,3- ve 3,4- dihidroksibenzoik asit ve delfinidin gibi öncül maddeleri sayesinde etki ettikleri düşünülmüştür (Eisenman ve Casadevall 2012, Chaskes ve Tyndall 1975, Mseddi ve ark. 2011).

C. neoformans olduğu belirlenen bir izolatın varyetesinin belirlenmesinde sıklıkla içinde L-canavanine (C), glycine (G) ve bromothymol blue (B) bulunan besiyeri (CGB) kullanılır. *C. neoformans var. neoformans* CGB besiyerinde üremez veya ürese bile besiyerinin rengini değiştirmezken, *C. neoformans var. gattii* ortamın rengini maviye çevirerek üremektedir (Diamond 1990, Dromer ve ark. 1993, Kwon-Chung ve ark. 1982, Kwon-Chung ve Bennet 1992, Nishikawa ve ark. 1996, Patterson ve Andriole 1989, Yücel 1988). Besiyerinin rengi 1-5 günde maviye döner. Tutarsız sonuçlar, kontamine kültürden çalışıldığında ve her iki varyetenin karışık olduğu durumlarda

görülmektedir. CGB besiyerinin tüp yerine 5 cm çaplı petrilerde hazırlanması önerilmektedir. D-prolin'in sadece var. gattii tarafından tek azot kaynağı olarak kullanılması da bir diğer ayırım yöntemidir, ancak fazlaca test edilmemiştir (Kwon-Chung ve ark. 1982, Kwon-Chung ve Bennet 1982, Nishikawa ve ark. 1996). Kwon-Chung ve ark. (1982), CGB besiyerini creatinine-dextrose-bromothymol blue ve glycine-cycloheximide-phenol red besiyerlerine karşı test etmişler ve CGB besiyerinin daha üstün olduğunu, 143 izolatın tamamının CGB besiyeri ile doğru olarak varyetelere ayırdığını bildirmişlerdir. Nishikawa ve ark. (1996), D-prolin asimilasyonu ile CGB besiyerini kıyaslamışlar ve CGB besiyerinin medikal mikoloji laboratuvarları için önerilen teknik olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca *C. neoformans* var. *neoformans* malik, fumarik ve süksinik asitleri asimile edemezken, *C. neoformans* var. *gattii* bu asitleri asimile edebilmektedir (Yücel 2001).

C. neoformans türlerinin ayırımında pulsed-field jel elektroforezi (Lewitz 1991) ve polimeraz zincir reaksiyonu yolu ile DNA fingerprinting (Meyer ve ark. 1993) metotları gibi moleküler yöntemlerde kullanılmıştır.

2.2.2. Antijenik Yapı ve Serotipler

C. neoformans'ın antijen tiplerinin belirlenmesinde, bu mantarın mannoz, ksiloz, glukronik asit ve o-acetyl'den oluşmuş bir polimer olan kapsülü büyük rol oynar (Cherniak ve ark. 1991, Diamond 1990, Yücel 1988). Kapsüler polisakkaridi oluşturan "glucurono-xylomannan (GMX)" tabakadaki küçük yapısal farklılıklara göre 4 serotip (A, B, C ve D) saptanmıştır (Cherniak ve ark. 1991, Diamond 1990, Hay 1991). Bu 4 serotip üzerinde yapılan çalışmalarda A ve D serotiplerinin benzer özellikler taşıdığı, ekolojik, epidemiyolojik, biyokimyasal ve genetik yönlerden B ve C serotiplerinden farklılık gösterdiği ortaya konmuştur. A ve D serotipleri *C. neoformans* var. *neoformans*, B ve C serotipleri ise *C. neoformans* var. *gattii* olarak sınıflandırılmıştır (Bhattacharjee 1984, Hay 1991, Kwon-Chung ve Bennet 1984).

DNA hibridizasyon çalışmalarında bu iki varyete arasında sadece %55-63 homoloji saptanmıştır (Bhattacharjee 1984). Kapsülsüz mutantların tiplendirilememesi GMX'in serotiplendirmedeki önemini ortaya koymaktadır (Cherniak ve ark. 1991). Bazı suşlar ise hem A hem de D antiserumları ile reaksiyon verir ve serotip AD olarak ifade edilir (Levitz 1991).

Serotiplendirme, çeşitli poliklonal hiperimmün serumların ya da kapsüller polisakkaride spesifik monoklonal antikörlerin kullanılmasıyla yapılmaktadır. Serotipler arasındaki farklılığa yol açan antijenik yapılar, kapsülün esas polisakkarid komponenti olan GMX'de yer almaktadır. Değişik serotiplerde, α (1-3) mannoz çatısı etrafındaki yan zincir ve O-acetyl gruplarının miktarlarında farklılıklar söz konusudur (Dromer ve ark. 1993).

Serotipler arası antifungal duyarlılık farklılıklarının ortaya konulmasına yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada serotipler arası antifungal duyarlılık farkı bulunamazken, retrospektif incelemeler sonucunda iki varyetenin klinik seyir açısından farklılıklar gösterdiği ve *var. gattii*'nin neden olduğu enfeksiyonların daha uzun süre tedavi gerektirdiği saptanmıştır (Bhattacharjee ve ark. 1984). Genel olarak *var. gattii* daha çok sağlıklı populasyonda, *var. neoformans* ise immün sistemi baskılanmış hastalarda belirlenmiştir. Ayrıca *var. gattii* daha virulent olmakla birlikte, *var. neoformans* ile insanlar da fazla bir sıklıkta karşı karşıya gelmektedirler (Levitz 1991).

2.2.3. Virülens Faktörleri

2.2.3.1. Polisakkarid kapsül

Kapsül yapısı etkenin en önemli virülens faktörüdür. Kapsülsüz hücrelerin hızla fagosite edildiği ve kapsüllü etkenlerin, fagosite edilemeyerek vücudun bağışıklık sisteminden korunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, mutasyonla kapsül yapıcı özelliğini kaybeden suşların hastalık oluşturmadıkları gözlemlenmiştir. Ancak, kapsül büyüklüğü ile virülens arasında belirgin bir ilişki kurulamamıştır (Leblebicioğlu ve ark. 1995).

2.2.3.2. Fenol oksidaz

Fenol oksidaz mantarın di-polifenol yapılarının varlığında boya oluşturmasını sağlar. Bu özelliği selektif besiyeri oluşturulmasında kullanılmıştır. Bu enzim aynı zamanda önemli bir virülens faktörüdür ve bu enzim etkinliği kaybolan *C. neoformans* suşlarının farelerde hastalık oluşturmadıkları bildirilmiştir. Fenol oksidazın etkisi ile oluşan melaninin, mantarı konağın oksidatif sistemlerinden koruduğu sanılmaktadır. Ayrıca, fenol oksidazın noradrenalin, DOPA, dopamin gibi katekolaminleri substrat

olarak kullanabilmesi, meningoensefalit yapmasında kolaylaştırıcı bir faktör olduğu kabul edilmektedir (Leblebicioğlu ve ark. 1995).

2.2.3.3. 37°C'de üreyebilme özelliği

37°C'de üreyemeyen mantarlar kapsülleri ve fenol oksidaz etkinlikleri bulunsa bile farelerde hastalık oluşturmamaktadırlar. Doğal kaynaklardan izole edilen türler daha geç ürerler ve daha düşük virülense sahiptirler. Bunlardan başka etkenin proteolitik etkinliklerinin de bir virülens özelliği olabileceği bildirilmiştir (Brueske 1986).

2.3. Epidemiyoloji

İnsanlarda, *C. neoformans*'ın meningoensefalit ve akciğer enfeksiyonları başta olmak üzere çok değişik klinik tablolar oluşturabildiği bildirilmiştir. Ancak genel olarak insanlarda oluşturduğu hastalık “kriptokokkoz” olarak adlandırılır. Ayrıca geçmişte torulozis, Busse-Buschke hastalığı ve Avrupa blastomikozu gibi isimler de verilmiştir. Hayvanlarda ise hastalık, merkezi sinir sistemi ve solunum sistemi organlarıyla bunlara bağlı bölgesel lenf yumrularında nodüllerin oluşumuyla karakterizedir. *C. neoformans* enfeksiyonları genellikle 30-60 yaşları arasında ki insanlarda bildirilmiş ve erkek kadın oranı 3/1 iken, ırklar arası her hangibir farklılık bildirilmemiştir (Vidinel 1988).

İnsanlarda *C. neoformans* enfeksiyonları ile AIDS arasında bir bağıntı olduğu öne sürülmüştür. Zimmermann ve Littmann (1956) tüm dünyada genelinde 300 vaka belirlemişken, sadece 1976 yılında A.B.D.'de teyit edilmiş vaka sayısı 338 olarak bildirilmiştir. *C. neoformans*, son yıllarda AIDS olan hastalarda ortaya çıkan enfeksiyonlardan sorumlu etkenler arasında *Pneumocystis carinii*, sitomegalovirüs ve mikobakterilerin ardından hayatı tehdit eden dördüncü enfeksiyon etkeni olarak ön sıralarda gösterilmiştir (Diamond 1990, Patterson ve Andriole 1989). Bu hasta grubunda %7.5-10 arasında görülmektedir (Patterson ve Andriole 1989). A.B.D.'de bildirilen tüm kriptokokkoz vakalarının yarısından fazlası AIDS olan hastalardır (Kwon-Chung ve Bennet 1992).

AIDS epidemisi öncesi yapılan çalışmalar *var. neoformans*'a bağlı enfeksiyonların tüm dünyada yaygın olmasına karşın *var. gattii* enfeksiyonlarının tropikal ve subtropikal bölgelerde lokalize olduğunu göstermiştir. AIDS hastalarındaki artışın aksine *var. gattii*'nin neden olduğu enfeksiyonlarda belirgin bir azalmanın görülmüş

ancak bu azalma *var. neoformans*'a göre göreceli bir azalma olduğu bildirilmiştir. Çünkü *var. gattii*'nin prevalansı AIDS öncesi ve sonrası dönemde aynı kalmıştır (Kwon-Chung ve ark. 1992 b). Ellis ve Pfeiffer (1990) bu göreceli azalmayı, AIDS olan hastaların *var. gattii*'nin bilinen tek rezervuarı olan *Eucalyptus camaldulensis* ile daha az temaslarının olmasına bağlamışlardır. AIDS öncesi dönemde kriptokokkozlu erkek/kadın oranının 3/1 olması da erkeklerin doğal kaynak ile daha fazla karşılaşmaları ile açıklanmaktadır.

Kriptokokkoz insidansında mesleğe bağlı belirgin bir farklılık saptanmamıştır. Güvercin besleyenler, *C. neoformans* ile temasın büyük bir oranda gerçekleştiği gruptur. Ancak bu insanlarda kriptokokkoz tablosu çok ender gelişmekle birlikte, bu kişilerde toplumdan daha yüksek antikor titrasyonlarının bulunması da bu meslek veya hobi grubunda immün baskılanma varlığında enfeksiyon riskinin yüksek olduğunu düşündürmüştür (Graybill 1992, Kwon-Chung ve ark. 1992, Tümbay 1977 b). Laboratuvar çalışanlarında, organizmanın aerosollerine sıklıkla maruz kalmalarına rağmen laboratuvar kaynaklı pulmoner veya dissemine kriptokokkoz olgusu bildirilmemiştir (Diamond 1990).

Genelde, insanlarda gözlenen hastalıklarda etkenin A serotipi daha çok izole edilmiştir (Graybill 1992). Ayrıca, serotiplerin izolasyonunda belirgin coğrafik farklılıklar da görülmektedir (Kwon-Chung ve ark. 1992 b, Patterson ve Andriole 1989). İngiltere ve Güney Kaliforniya hariç, Avrupa ve A.B.D.'de *var. neoformans* daha yaygın olarak bildirilmiştir (Kwon-Chung ve Bennet 1984, Levitz 1991). Avrupa ve A.B.D.'nin doğu kıyılarında birçok enfeksiyondan A serotipi izole edilmiş, Japonya ve Arjantin'de de benzer şekilde enfeksiyonlardan en çok serotip A izole edilmiştir (Kwon-Chung ve Bennett 1984). D serotipi ise Avrupa'daki olgularda daha fazla bildirilmiştir ve özellikle Danimarka, İtalya ve İsviçre serotip D'nin en çok izole edildiği ülkelerdir (Kwon-Chung ve Bennett 1984, Patterson ve Andriole 1989, Levitz ve Ellis 1993). B ve C serotiplerinden kaynaklanan enfeksiyonlar genellikle Avustralya ve Güney Kaliforniya'da dahil olmak üzere özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde bildirilmiştir (Patterson ve Andriole 1989). Brezilya, *var. gattii*'nin yaygın olduğu bir ülkedir (Kwon-Chung ve Bennett 1984). Avustralya'da gerçekleştirilen bir çalışmada (Pfeiffer ve Ellis 1993) izole edilen tüm *C. neoformans var. gattii* izolatları serotip B olarak tespit edilmiştir. Avrupa'da *var. gattii*'nin izole edildiği tek ülke İngiltere'dir

(Levitz 1991). Kriptokokkoz ile ilgili epidemiyolojik çalışmaların önemi, özellikle AIDS pandemisi başladığından buyana artmıştır (Dromer ve ark. 1993).

İnsanlar arasında veya hayvanlardan insana bulaşma tartışmalıdır. Ancak kornea nakillerinde ve kontamine kan inokülasyonu ile laboratuvar bulaşması sonucunda gerçekleşen vakalar bildirilmiştir Solunum yolu dışında, infekte hayvan derilerini sokan sineklerle ve hasta hayvanlara ait tımar ve koşum takımları yoluyla hayvandan hayvana bulaşma mümkündür (Levitz 1991).

2.4. Ekoloji

C. neoformans genel olarak tüm dünyada bulunmakta ve belirgin bir endemik alan dağılımı göstermemektedir (Diamond 1990, Graybill 1992). *C. neoformans*'ın, ilk kez Sanfelice tarafından 1894 yılında meyve suyundan izole edilmesine karşın bilinen en önemli doğal kaynağı güvercin gübresi ve çeşitli kuş dışkıları ile bulaşık topraklardır (Emmons 1951, Graybill 1992, Kwon-Chung ve Bennett 1992, Ruiz ve ark. 1981). *C. neoformans*'ın normalde toprakta bulunmamasının sebebi olarak toprak mikrobiyotasında bulununan *Basillus subtilis* ve *Pseudomonas aureginosa* başta olmak üzere çeşitli bakterilerin ve toprakta bulunan bir amip olan *Acanthamoeba polyphaga* ile etkileşimi sonucu sindirilmesi olarak ileri sürülmüştür (Rippon 1988, Unat 1993, Unat ve ark.1995). Topraktaki yaşamını olumsuz etkileyen diğer faktörler ise yüksek sıcaklık, düşük pH, direkt güneş ışığına maruz kalma ve anaerobik ortamdır (Kwon-Chung ve Bennett 1992, Levitz 1991). Rüzgârın mekanik etkisiyle toprak ile birlikte havaya karışması nedeniyle *C. neoformans* havadan da izole edilmiştir. Eskimiş güvercin dışkılarında mantar daha bol bulunur. Bunun sebebi mantarın kuruluğa dayanıklı olmasıdır. Fekal materyalin gramında yaklaşık 5×10^7 maya hücresi mevcuttur. Taze ve yaş dışkılarda bu miktar daha düşüktür. Çünkü ıslak dışkıdaki bakterilerin sebep olduğu alkalinizasyon mantarın üremesini inhibe etmektedir (Kwon-Chung ve Bennett 1992). Ruiz ve ark. (1981) kuru dışkının yaş olandan 300 kat daha fazla canlı kriptokok içerdiğini göstermişlerdir. Şimdiye kadar, güvercin dışkılarından sadece var. neoformans izole edilmiş olup, birçok bölgede serotip A serotip D'den daha yaygın bulunmuştur. *C. neoformans*'ın dış ortamda yaygın olarak bulunmasında güvercinlerin taşıyıcı olarak rol oynadığı kabul edilmiş, ancak güvercinlerin vücut ısıları 42°C olduğundan hastalanmadıkları da vurgulanmıştır (Kasımoğlu 1988, Kwon-Chung ve

Bennett 1992). Kriptokokların kırsal bölgelerde kuru ot yığınları, samanlıklar gibi güneş ışığı almayan rutubetli yerlerde bulunduğu belirlenmiştir. Etken ayrıca meyve kabuğu, meyve suyu, süt ve topraktan da izole edilmiştir (Kasımoğlu 1988, Levitz 1991).

C.neoformans insan ve memelilerde normal ağız ve bağırsak florasında bulunmaz (Kasımoğlu 1988). Solunum sistemi ve deride geçici, asemptomatik olarak kolonize olabilecekleri bildirilmiştir (Kwon-Chung ve Bennett 1992, Lucho ve ark. 1990).

Özellikle *var. neoformans*'ın güvercin dışkılarından sıklıkla izole edilmiş sebebi dışkının kreatinin içeriğine bağlanmıştır. Ancak *var. gattii*'nin de azot kaynağı olarak kreatinini kullanması sebebiyle bu hipotez ekolojik dağılımdaki önemini yitirmiştir. Ayrıca *var. gattii Eucalyptus camaldulensis* ağacının çiçeklenme döneminde izole edilmiştir. Çiçeklenme dönemi çok kısa sürmekte olup ilkbahar sonu ve yaz başı arasındadır. Ancak çiçeklenme ve *var. gattii* üremesi arasındaki ilişki bilinmemektedir. *C. neoformans var. gattii*'nin dikaryotik miselyumunun kış aylarını bitkinin erkek veya dişi organlarında geçirdiği, çiçeklenme ile birlikte enfeksiyöz yapılar olan basidiosporlar oluşarak çevreye saçıldığı düşünülmüştür. Duyarlı konakta uygun sporu bularak eşleşme sonucu dikaryotik miçelyum oluşmakta ve enfeksiyona yol açmakta ya da duyarlı olmayan konakta kapsüllü maya şekline dönüşmektedir. İnfeksiyöz basidiosporların çevrede bulunma süresi sadece birkaç gün olarak tahmin edilmektedir. Şimdiye kadar *var. gattii*'nin bir bitki patojeni mi yoksa flora üyesi mi olduğu da açıklığa kavuşturulmamıştır. Diğer *Eucalyptus spp.* türlerinden etkenin izole edilememiş olması da bir diğer karanlık noktadır ((Kwon-Chung ve ark 1992 b).

Avustralya'da yapılan bir çalışmada, *Eucalyptus camaldulensis* ağacından izole edilen 131 *var. gattii* izolatının tamamının B serotipi olduğu bildirilmiştir (Pfeiffer ve Ellis 1993). Avustralya'dan *Eucalyptus camaldulensis*'in ihraç edildiği yörelerden San Francisco'da *var. gattii* izole edilebilmiştir (Ellis ve Pfeiffer 1990, Kwon-Chung ve Bennett 1992). *Var. gattii* ekolojisi ile ilgili olarak ileri sürülen bir hipotezde, etkenin ilk izole edildiği hayvan olan koala'nın tercih ettiği bitki türünün 6 *Eucalyptus* türünden *Eucalyptus camaldulensis* olmasıdır. Bu şekilde koalanın sindirim sistemine ve daha sonra da dışkısına geçtiği ifade edilmekte, aynı mekanizmanın güvercinler ve güvercinlerin beslendiği bitkiler ile *C.neoformans var. neoformans* arasında da bulunabileceği düşünülmüştür. Epidemiyolojik açıdan iki varyetenin sebep olduğu enfeksiyonlar arasındaki farklılık güvercinlerin tüm dünyada yaygın olmasına karşın

koalaların sadece coğrafik olarak sınırlı bir alanda yaşamalarına bağlanmıştır (Ellis ve Pfeiffer 1990). Lazera ve ark. (1993) *var. neoformans*'ı, *Syzyguim jabolana* ağacındaki bir oyuktan, odun ve diğer bitki artıklarından ve yarasalarca istila edilmiş bir ev enkazından izole ettiklerini bildirmişlerdir. Yine farklı bir çalışmada Lazera ve ark. (1996), yedi farklı ağaç kovuğundan alınan 31 örneğin 8'inden *C. neoformans var. neoformans* izole etmiştir. Ancak yukarıdaki her iki çalışmada da ağaç kovuklarından yapılan izolasyon, bu kovukların buraları barınak olarak kullanan kanatlılarca kontamine edilmiş olabileceğini düşündürmektedir.

2.5. İnsanlarda Kriptokokkoz

Cryptococcus türleri içinde insanda enfeksiyona yol açabilen ve patojen olarak kabul edilen tek tür *C. neoformans*'dır (Kwon-Chung ve Chang 1999, Walker 1998). Ancak çok nadir durumlarda *C.albidus* ve *C.laurentii* de izole edilmiştir (Levitz 1991, Mitchell ve Perfect 1995). Doğada yaygın bir şekilde bulunması nedeniyle insanların *C. neoformans* ile sık sık enfeksiyona uğramalarının mümkün olduğu düşünülebilir. Asemptomatik enfeksiyonların varlığının bilinmesi de bu görüşü güçlendirmektedir. Ancak duyarlı ve doğru sonuç veren testlerin henüz elde bulunmaması, enfeksiyonu geçirmiş olan kişilerin oranının bilinmesini engellemektedir (Vidinel 1988).

C. neoformans sıklıkla immün yetmezliği olan kişilerde enfeksiyona yol açmaktadır (Hay 1991, Vidinel 1988). Lökozların birçok değişik türünde, Hodgkin lenfoma, sarkoidoz, multipl myelom, tüberküloz, diyabet, böbrek hastalıkları, uzun süreli kortikosteroid tedavisi, uzun süreli antibiyotik tedavisi ve doku/organ transplantasyonu gibi durumlarda hastalık sık görülmektedir (Bhattacharjee ve ark. 1984, Diamond 1990, Graybill 1992, Hay 1991, Kwon-Chung ve Bennett 1992, Vidinel 1988).

Bulaşma genellikle mantarı içeren toprak, toz ve kuş gübrelere inhalasyonuyla oluşmaktadır. Bunun yanında etkenin plasenta yolu ile de bulaştığı bir yeni doğan enfeksiyonu bildirilmiştir (Vidinel 1988).

Akciğerlerde ortaya çıkan enfeksiyondan sonra mantar kan yoluyla merkezi sinir sistemine, meninklere, kemiklere, deriye ve diğer iç organlara yayılabilir. Nadir olarak inokülasyon sonucu deri yolu ile vücuda girebildiği gösterilmiştir (Hay 1991, Vidinel 1988).

C. neoformans'ın fenoloksidaz aktivitesi ve bazı katekolamin prekürsörlerinden melanin üretmesi, katekolaminlerden zengin merkezi sinir sistemine ilgisini açıklamada bir mekanizma olarak ifade edilmektedir (Levitz 1991).

Elimizde daha yeni anti-fungal ajanlar bulunmasına rağmen *C. neoformans*'ın oluşturduğu enfeksiyonlar, immün yetmezlikli hastalarda önemli derecede morbidite ve mortalite kaynağı olmaya devam etmektedirler. Tedavide flucytosine ile birlikte veya yalnız başına amphotericin B etkilidir. Triazololler de etkin tedavi sağlamaktadır (Patterson ve Andriole 1989).

2.5.1. Kriptokokkozun Klinik Şekilleri

2.5.1.1. Akciğer Kriptokokkozu

Etkenin akciğerlerde yaptığı enfeksiyon şeklindedir. Ancak, akciğerlerde hastalığın meydana getirdiği semptom ve fiziki bulguların hiçbirisi teşhis için yeterli değildir. Pulmoner kriptokokkozun klinik şekilleri üç ana başlık altında incelenebilir (Hay 1991):

- Asemptomatik taşıyıcılık
- Subklinik form
- Dissemine form (Merkezi sinir sistemi, deri, kemik, prostat vb.)

Asemptomatik taşıyıcılık tüm dünyadan bildirilmiştir. Vakalar çoğunlukla kronik akciğer hastalığına sahip kişilerdir. Klinik ve radyolojik bulgu olmamasına karşın respiratuvar örneklerden tekrarlanan etken izolasyon durumları asemptomatik taşıyıcılık olarak kabul edilmektedir (Hay 1991).

Subklinik formda hafif ateş, öksürük, az ve mukoid balgam ve balgamda az miktarda kan görülebilir (Graybill 1992). Akciğerde yavaş seyreden kriptokokkoz muhtemelen hafif ve minimal enfeksiyona bağlıdır. Otopside kapsülle çevrili granülomlar şeklinde lezyonlar görülür. Akciğerde aktif bir şekilde bulunan kriptokokkozda ise bol miktarda maya hücresi vardır ve dokular mayalar tarafından sıkıştırılmış haldedir (Hay 1991, Vidinel 1988).

Akciğer radyografisinde tek veya çoklu kitleler şeklinde lezyonlar görülebilir ve kitleler bazen 10 cm büyüklüğe erişebilirler. Pnömonik infiltrasyonlar geniş ve ufak benekler şeklinde olabilir. Kavitasyon oldukça nadirdir ve kalsifikasyon oluşmaz (Graybill 1992). Hastalık subakut ve remisyonlarla seyredişi nedeniyle akciğer

tüberkülozuna klinik olarak benzerdir (Vidinel 1988). Pulmoner kriptokokkoz sıklıkla geride kapsülle çevrili bir granülom bırakarak iyileşir (Hay 1991).

2.5.1.2. Merkezi Sinir Sistemi Kriptokokkozu

Merkezi sinir sistemi hastalığı yavaş seyirli bir başlangıç gösterir. Erken safhada tamamen asemptomatik seyredebilir (Graybill 1992, Hay 1991). İntermittant olan baş ağrıları gitgide artar ve sürekli bir hale gelebilir. Genellikle frontal ve temporal bölgede izlenir. Ateş orta derecededir. Kusma, vertigo, ataksi, ense sertliği, mental bozukluklar yavaş yavaş ortaya çıkar. Depresyon, oryantasyon (uyum) bozukluğu, apati, huzursuzluk, irritabilite ve delirium görülebilir. Nabız nadiren 100'ün üzerindedir ve hastalık bu klinik tablosuyla tüberküloz menenjitini taklit eder. Tedavi edilmediği takdirde, ne kadar kronik seyrederse seyretsin, merkezi sinir sistemi hastalığının sonucu ölümdür. AIDS olan hastalarda, subakut ensefalit ve toksoplazmozdan sonra en sık görülen üçüncü nörolojik hastalıktır (Clark ve ark. 1990, Hay 1991). Yapılan bir çalışmada (Clark ve ark. 1990) HIV ile infekte 68 hastanın 51 (%75)'inde AIDS düşünülmesine sebep olan tablo olarak *C. neoformans* enfeksiyonu gösterilmiştir.

2.5.1.3. Diğer Klinik Şekiller

Kriptokokkoz vakalarının %10-15'inde deri lezyonları görülür. Kutanöz lezyonlar subkutan şişlik, şişkin granülomata, dermal plak ve nodüller ya da ülseratif şekilde olabilir. Bunlar dışında nadiren sellülit şeklinde izlenebilir (Hay 1991). Kutanöz kriptokokkozda cilt lezyonları genellikle sistemik ve akciğer enfeksiyonlarıyla beraber görülürler. Ülserler tek veya multiple olabilir ve cilt kanseri ile benzerlik gösterebilirler. Cilt lezyonları bölgesel lenf bezlerinde büyüme olmadığı takdirde primer inokülasyon yeri olarak kabul edilmezler. Bazen travmalardan sonra primer olarak nadiren granülamatöz lezyonlar gelişebilir (Hoogde ve Guarro 1995). *C. neoformans* ile karşılaşmayı takiben klinik enfeksiyon gelişmeksizin sensitizasyonun oluşması subklinik enfeksiyon olabileceğini düşündürmektedir. Normal kişilerde %32 oranında, güvercin besleyenlerle laboratuvar çalışanlarında önemli düzeyde pozitif intradermal reaksiyonun gösterilmiş olması da subklinik enfeksiyon fikrini desteklemektedir (Hay 1991).

2.6. Hayvanlarda Kriptokokkoz

C. neoformans'ın at, sığır, keçi, leopar, kedi, köpek, gelincik, ceylan, fare, kobay, maymun gibi birçok hayvanda hastalık yaptığı bildirilmiştir. Hayvanlarda bulaşma genelde solunum yoluyla olmaktadır ayrıca, deri ve meme dokusu da giriş yeri olabilmektedir. Genel olarak hayvanlarda solunum, sinir sistemi ve deri formu görülür. Sığır, koyun, keçi gibi hayvanlarda *C. neoformans* 'tan ileri gelen mastitis sık rastlanan bir klinik tablodur (Davis 1986, Kwon-Chung ve Bennett 1992, Palmer 1981, Safrin ve ark. 1986, Unat ve ark. 1995, Yücel 1988).

Kedilerde, hastalık çeşitli organ ve sistemlerde görülebilir. Belirtiler haftalar hatta aylar boyunca sürebilir ve yavaş yavaş daha şiddetli hale gelebilir. Üst solunum yolu hastalığı (unilateral veya bilateral kronik rinit veya sinüzit) kedilerde kriptokokkozisin en yaygın şeklidir. Belirtileri hapsirme, horlama ve burun akıntısı şeklinde olabilir. Polip benzeri kütleler, bir veya her iki burun deliklerinde görülebilir. Servikal lenf düğümleri büyümüş ve ülseratif veya proliferatif lezyonlar bazen dil, gingiva veya damakta bulunabilir. Pulmoner belirtiler nadirdir. *C. neoformans* özellikle yüz ve cilt lezyonlarına neden olabilir. Tipik olarak, bir veya birden fazla sert, nodüler, kutanöz veya cilt altı şişlikler baş, özellikle yüz, burun, yan köprü ve üst dudakta bulunur. Bazı lezyonlar ülserleşebilir. Lezyonlu bölgede kaşıntı çok az veya hiç görülmez (Oie 2005).

Kriptokokkoz, çoğu köpekte ciddi yaygın bir hastalıktır. Nörolojik formu hastalığın köpeklerde en sık görülen formudur ve kedilerdeki hastalığa benzer. Oküler lezyonlar yaygındır ve granülomatöz korioretinit ve optik nevrit şekillenebilir. Hastalık aynı zamanda diğer organlarda meydana gelebilir ve köpeklerde nadiren burun boşluğunu etkiler (Oie 2005).

Kriptokoksik mastitis salgınları ineklerde meydana gelir. İştahsızlık, azalmış süt üretimi ve meme üstü lenf düğümlerinin büyümesi gibi semptomlar görülebilir. Hasta hayvan sütleri; yapışkan, mukuslu ve grimsi-beyaz olabilir (Oie 2005).

Koyun ve keçilerde akciğer hastalığı ve mastitis belirlenmiştir. Bir çalışmada, *C. neoformans* alopesik eksüdatif cilt lezyonu ve kafada da eksüdatif cilt lezyonu ile ilişkili bulunmuştur (Oie 2005).

Atlarda meningoensefalit, akciğer hastalığı, frontal sinüs ve paraorbital bölgeyi etkileyen üst solunum yolu hastalıkları ve yavru atmalar görülen klinik belirtiler

arasındadır. Burun boşluklarında obstrüktif büyümelerde sıklıkla yer almaktadır (Oie 2005).

Kanatlıların vücut ısıları yüksek olduğu için etkene dirençlidir (Kasımoğlu 1988, Kwon-Chung ve Bennette 1992). Bununla birlikte, kriptokokkoz kuşlarda çok nadir olmakla birlikte mikotik rinit ve sinüzite neden olmaktadır. Ayrıca, etken özellikle güvercinlerin dışkısında bulunabilir (Oie 2005).

Laboratuvar hayvanları içinde fareler; kobay, sıçan ve tavşanlara göre etkene daha duyarlıdır. Periton içi, damar içi ve beyin içi yollarla bulaştırma ile duyarlı hayvanlarda hastalık oluşturabilir. Genelde bu mantar ile enfekte edilen hayvanlar 4 hafta içinde ölürlür. Tavuk embriyonları da damar içi yolla enfekte edilebilirler (Kligman ve ark. 1951).

2.7. Kriptokokozise Karşı Bağışıklık

Glukonaksilomannan yapısındaki kapsül antijeni ile yapılan deneysel çalışmalarda, sağlıklı gönüllülerde IgM, IgA ve IgG yanıtı elde edilebilir. Kriptokok enfeksiyonu sırasında ise antikor yanıtı belirlenmemektedir. Kriptokoklar alternatif komplement yolunu uyarırlar ve hızla komplement tükenmesine sebep olurlar. Ölü kriptokoklar, hücre yapıları, kapsül antijenleri ile yapılan çalışmalarda koruyucu yanıt sağlanamamıştır. Korunmada asıl hastalığın iyileştirilmesi en etkili yoldur.

Kriptokoklara karşı etkili savunma T-lenfositleri ve makrofajlar yoluyla gerçekleşir. Nötrofiller ilk yanıtta etkin rol oynar (Diamond 1974, Weinberg 1987). AIDS hastalarında sıklıkla görülmesinin sebebi T- hücre etkisinin azalmasıdır (Chuck ve Sande 1989, Denning 1991).

2.8. Patoloji

İnfeksiyonda genelde kronik veya subakut iltihabi reaksiyon ile uyumlu bulgular belirlenir ve nötrofil yanıtı çok azdır. Kapsül yapıları sebebiyle jelatin kıvamında harabiyet izlenir. Nadir olarak kronik granümatöz odaklar ve nekrozlu odaklar saptanır. Beyin ve beyin zarları enfeksiyonuna sıklıkla rastlanır. Dokulardan yapılan boyalı preparatlarda çevresi boş maya hücreleri olarak görülürler (Kwon-Chung ve Bennett 1992, Oruç 1979, Rippon 1988, Unat ve ark. 1995)

2.9. Teşhis

2.9.1. Klinik tablolar

Öncelikle kriptokokkoz ayırıcı tanı akıla gelmelidir. Direkt bakteriyoskopik tanı iyi, çabuk ve kolay bir tanım yöntemidir (Buttler ve ark. 1964). Preparat, çini mürekkebi, nigrosin ve gümüş çözeltilisi ile hazırlanabilir. Kapsüllü, tomurcuklanan, yuvarlak-değirmenimsi maya hücreleri görülerek tanıya gidilebilir. Balgam, abse, doku gibi örnekler % 10 sodyum hidroksit ile muamele edilerek çini mürekkebi ile incelenebilir (Tümbay ve Seeliger 1974). Kriptokok meningoensefalitinde çini mürekkebi preparatı ile başarıya ulaşma şansı % 25-50'dir (Richardson ve Wamock 1994).

Boyama yöntemlerinden Gram, Giemsa genelde çok yardımcı olmamaktadır. Bu boyalarla boyanan kriptokoklar lenfositler olarak yorumlanmakta, bazen atipik lenfosit olarak bildirilmektedir (Bottone 1980, Tümbay ve Seeliger 1974). Dokularda Haematoxylene-Eosin ile çevresi boş maya hücreleri olarak izlenir. Mucicarmin, Masson-Fontana daha iyi yöntemlerdir. Nadiren *C. neoformans*'lar kısa yalancı hif benzeri yapılar oluşturabilmektedir (Kwon-chung ve Bennett 1992).

Kültür için rutin besiyerleri kullanılabilir. Sikloheksimid (aktidiyon) içermeyen SDA, kanlı agar, beyin-yürek infuzyon agar (BHIA) kullanılabilir besiyerleridir (Kwon-Chung ve Bennett 1992, Tümbay 1988, Tümbay ve Seeliger 1974, Unat ve ark. 1995). Selektif besiyeri yapısındaki ortamların (Bird seed agar) daha duyarlı ve çabuk sonuç verdiği gösterilmiştir (Denning ve ark. 1990). En iyi 26° C'de ürer. 37° C'de de üreyebilmesi önemlidir. Üreme genelde iki-üç gün içinde olur. SDA'da beyaz, mukoid koloniler oluşturur. Bekletilen kültürlerde renk biraz koyulaşır ve dipte yoğunlaşma izlenir. "Bird seed" agar (Niger seed agar, Staib-Seeliger besiyeri) besiyerinin yüzeyinde tipik kahverengi koloniler oluşturduğu için, bu besiyerine ekim hızlı, kolay ve duyarlı bir tanım yöntemi olarak önerilmektedir (Denning ve ark. 1990, Tümbay 1974). Özellikle balgam, idrar gibi kirli örneklerden kültür yapılırken bu besiyeri kullanılmalıdır. Bol sıvı şeklindeki örneklerin kültürününün, filtre yöntemi ile yapılması uygundur.

Ayrıca duyarlı bir şekilde *C. neoformans* saptayabilen CN screen agar, L-DOPA agar, inositol-üre- kaffeik asit besiyeri gibi besiyerleri de geliştirilmiştir (Cooper 1980, Healey 1977, Oruç 1979).

Üreme süresi iki haftayı bulabilir ve kimi zaman 4-6 hafta sonunda üremeler olabilmektedir. Üreyen mantarı ayırmak için yalancı hif yapmadığı, üreaz enzimi etkinliği, inosidi etkileyip etkilemediği araştırılır ve böylece cryptococcus cinsine ait olup olmadığı belirlenebilir. *Cryptococcus spp.*'nin diğer üyelerinden *C. neoformans*'ı ayırmak için kreatinin asimilasyonu, karbonhidrat asimilasyon deneyleri, 37° C'de üreyebilme ve fareyi hastalandırabilme özellikleri araştırılır (Ajello 1955, Emmons 1951, Tümbay 1977 b) Floresanslı antikorlar, lateks, izoenzim elektroforez testleri de geliştirilmiştir (Kaufman ve Blumer 1973, Pidcoe ve Kaufman 1968, Safrin ve ark. 1986).

Yaygın kriptokokkoz tanımında özellikle radyometrik teknikle çalışan hemokültür sistemleri ve "lysis-centrifugation" yöntemi önerilir. Başarı şansı % 10-35 arasında değişebilmektedir (Kwon-Chung ve Bennett 1992, Richardson ve Wamock 1994).

Tanımda seroloji yöntemleri de faydalı olabilir. Antijen saptanarak tanımda GXM kapsül antijeni aranmaktadır. ELISA, floresans antikor teknikleri önerilmişse de en uygunu lateks aglutinasyon yöntemidir (Dromer ve ark. 1993, Kwon-Chung ve Bennett 1992, Chaskes ve Tyndall 1975, Pidcoe ve Kaufman 1968, Richardson ve Wamock 1994).

Tedavisiz kriptokok meningoensefali olgularında bu test %90 olumlu sonuç vermektedir. Bazı bakteri (DF-1 gibi) ve mantar (*Trichosporon beigeli* gibi) enfeksiyonlarında yalancı pozitif sonuç alınabilir. Fakat asıl romatoid faktörün belirlenmesi ve uzaklaştırılması önemlidir (Gordon ve Lopa 1974). Az sayıda mantar olması, kapsül yapısının belirgin olmayışı yalancı negatif sonuç alma sebeplerindedir (Richardson ve Wamock 1994). Çok duyarlı ve özgül DNA probları da vardır (Diamond 1974, Leblebicioğlu ve ark. 1995). Tedaviye alınan yanıtın ve prognozun belirlenmesi açısından seroloji yöntemiyle kapsül antijeninin izlenmesi faydalı, fakat antikorun izlenmesi faydalı değildir.

2.9.2. Etkenin Doğal kaynaklardan İzolasyonu

Doğal kaynaklarından mantarın izolasyonu için başlıca iki yöntem tarif edilmektedir:

2.9.2.1. Fare deneyleri

İlk kez Emmons (1951) tarafından tanımlanmıştır. Örneklerin tuzlu sudaki süspansiyonları bekletilerek çöktürülür ve üst sıvı 4- 8 adet fareye 0.5-1 ml olarak periton içi yolla verilir. Dört-altı hafta sonra fareler öldürülür veya bu süre içinde ölen farelere hemen otopsi yapılır. Farenin beyin, karaciğer, dalağı steril olarak çıkarılarak, SDA'da kültürleri yapılır. Üreyen kolonilerden çeşitli tanımlayıcı işlemler yapılır ve sonuçta gerekirse tekrar farelere verilerek hastalandırıcılık deneyi yapılır.

Bu yöntem zor, zaman alıcı bir yöntemdir. Ayrıca iyi bir hayvan laboratuvarı ile hayvan bakım ünitesi gerektirmektedir.

2.9.2.2. Kültür yöntemi

Kullanılabilecek diğer bir yöntemdir. Seçici bir besiyerine ekilen örnekle üreyen koloniler arasında tipik yapıdaki *C. neoformans* kolonilerinin belirlenmesi ilkesine dayanır (Tümbay 1977 b).

En çok önerilen besiyeri niger seed agar (bird seed, *Guizzotia abyssinica*, difenil-kreatin agar, Staib-Seeliger besiyeri) besiyeridir. Staib'in (Shields ve Ajello 1966, Staib 1962 b, Staib 1962 a) *C. neoformans*'ın *G. abyssinica* tohumları varlığında kahverengi boya yapmasını tanımladığı ve kreatinin asimilasyonunu tanıtıcı bir özellik olduğunu bildirdiği çalışmalarından sonra, seçici besiyerleri tanımlanmış ve geliştirilmiştir. Doğal kaynaklarından *C. neoformans* izolasyonu için, bu besiyeri sıklıkla kullanılmıştır.

2.10. Tedavi

Kriptokokkozis'in tedavisinde genellikle amfoterisin B ve 5-flosetozin önerilmektedir (Bardana ve ark. 1968, Denning ve ark. 1990). Ayrıca flukanazolün de etkili olduğu gösterilmiştir (Shuttleworth ve ark. 1989, Sugar ve Saunders 1988). Ülkemizde Sivrel ve Tümbay (1993) İzmir'de güvercin dışkılarından ürettikleri 11 *C. neoformans* izolatının amfoterisin B'ye duyarlılığını araştırmışlar ve tüm izolatların duyarlı olduğunu bulmuşlardır.

Hatay şehir merkezinde Cantekin ve ark. (2012) 10 farklı güvercin kümesinden yaptıkları çalışmada kümeslerin 4'ünde *C. neoformans* belirlenmiş ve bu saçılımın insan sağlığı açısından öneminden dolayı geniş kapsamlı araştırma yapılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır. Bu bilgiler ışığında konunun daha ayrıntılı ve geniş çaplı olarak incelenmesi düşünülerek bu tez çalışması kapsamında Hatay yöresinde hobi amaçlı güvercin yetiştiriciliği yapılan barınaklardan örnek alınarak *C. neoformans* yönünden incelenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örnekler ve örneklerin alınması

Çalışma materyali olan güvercin dışkı örnekleri Aralık 2012-Mayıs 2013 tarihleri arasında Hatay ili ve ilçelerinde (İskenderun, Kırıkhan, Altınözü, Ekinci ve Antakya) bulunan 58 farklı güvercin kümesinden alındı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan örneklerin alındığı ilçeler ve sayıları

İlçe Adı	Kümes Sayısı
İskenderun	9
Kırıkhan	10
Altınözü	3
Ekinci	18
Antakya	18
Toplam	58

Örnekler güvercin kümesinin zeminindeki gübre yığınınından 25-30 gr miktarda kuru ve yaş olmak üzere kıvamları dikkate alınarak spatül ile steril plastik falkon tüplere alındı. Her bir örnek güvercin cinsleri göz önünde bulundurularak ayrı kümeslerden alındı. (Çizelge 3.2). Örnek bulundurulan tüpler numaralandırılıp, örneğin alındığı kaynaklar kayıt edildi.

Çizelge 3.2. Örneklerin alındığı ilçeler, güvercin ırkları ve dışkı kıvamı

Örnek Sayısı	İlçe Adı	İrk	Kuru	Yaş	Yaş+Kuru
1	İskenderun	Posta Kuşu	+	-	-
2	İskenderun	Kül İspir	+	-	-
3	İskenderun	İsraili	+	-	-
4	İskenderun	Şami	-	-	+
5	İskenderun	Bağdadi	-	-	+
6	İskenderun	Kaşmir	+	-	-
7	İskenderun	Şerebi	-	+	-
8	İskenderun	Kırmızı Kalem	+	-	-
9	İskenderun	Güllü	-	+	-
10	Kırıkhan	Posta Kuşu	+	-	-
11	Kırıkhan	İstanbullu	+	-	-
12	Kırıkhan	Güllü	+	-	-
13	Kırıkhan	Müsevvet	+	-	-
14	Kırıkhan	Bağdadi	+	-	-
15	Kırıkhan	Kırmızı Kalem	+	-	-
16	Kırıkhan	İsraili	-	-	+
17	Kırıkhan	Kaşmir	-	-	+
18	Kırıkhan	Şami	+	-	-
19	Kırıkhan	Rakkas	+	-	-
20	Altınözü	Güllü	-	-	+
21	Altınözü	İsraili	-	-	+
22	Altınözü	Kırmızı Kalem	-	-	+
23	Ekinci	Posta Kuşu	-	-	+
24	Ekinci	Bağdadi 1	-	-	+
25	Ekinci	Kül İspir	+	-	-
26	Ekinci	İsraili	+	-	-
27	Ekinci	İstanbullu	-	+	-
28	Ekinci	Müsevvet 1	-	+	-
29	Ekinci	Şami	+	-	-

Çizelge 3.2. Örneklerin alındığı ilçeler, güvercin ırkları ve dışkı kıvamı (devamı)

Örnek Sayısı	İlçe Adı	İrk	Kuru	Yaş	Yaş+Kuru
30	Ekinci	Bağdadi 2	-	-	+
31	Ekinci	Kırmızı Kalem	+	-	-
32	Ekinci	Kaşmir	+	-	-
33	Ekinci	Şerebi	+	-	-
34	Ekinci	Kırmızı nakışlı	-	+	-
34	Ekinci	Müsevvat 2	-	+	-
36	Ekinci	Rakkas	+	-	-
37	Ekinci	Taklacı	+	-	-
38	Ekinci	Başı Sarı	+	-	-
39	Ekinci	Başı Kara	-	-	+
40	Ekinci	Hünkari	+	-	-
41	Antakya	İstanbulu	+	-	-
42	Antakya	Şerebi	+	-	-
43	Antakya	İsraili 1	-	-	+
44	Antakya	Müsevvat	+	-	-
45	Antakya	Rakkas	-	-	+
46	Antakya	Kaşmir	+	-	-
47	Antakya	Gözü Büyük 1	-	+	-
48	Antakya	Şami	+	-	-
49	Antakya	Kül İspir	+	-	-
50	Antakya	Posta Kuşu 1	-	-	+
51	Antakya	Taklacı	+	-	-
52	Antakya	Başı Kara	-	-	+
53	Antakya	Hünkari	+	-	-
54	Antakya	Başı Sarı	-	-	+
55	Antakya	Kırmızı Kalem	-	-	+
56	Antakya	İsraili 2	-	+	-
57	Antakya	Gözü Büyük 2	+	-	-
58	Antakya	Posta Kuşu 2	+	-	-

3.2. Yöntem

3.2.1. İzolasyon ve identifikasyon

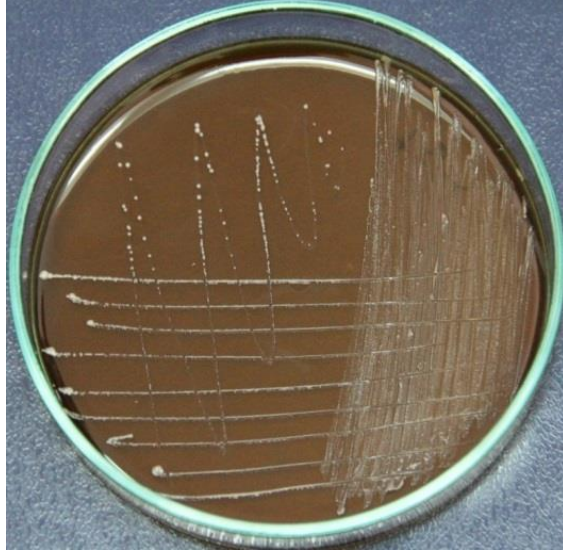
Steril falkon tüpler içinde laboratuvara getirilen örnekler bekletilmeden izolasyon için ön sulandırma işlemine tabi tutuldu. Bu amaçla, her bir örnekten filtreli steril poşet (Stomacher Bag) içine 10 gr alınıp 100 ml steril kloramfenikol (200 µg/L) PBS içerisinde süspansiyon edildi ve kaba partiküllerin çökmesi için 30 dakika süre bekletildi. Süre sonunda üst sıvıdan 50 µl alınıp kloramfenikol (200 µg/L) ilave edilmiş Sabouraud Dextrose Agar besiyerine ahşap saplı ve pamuk uçlu steril eküvyon çubuk ile ekilerek 37 °C'de 3-7 gün inkübe edildi. İnkübasyon sırasında yoğun küf üremesi gerçekleştiğinden sürekli üreyen maya kolonileri makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirildi ve kloramfenikol ilave edilmiş kanlı agar (kloramfenikol 200 µg/L) ve SDA (kloramfenikol 200 µg/L) besiyerine yuvarlak uçlu öze kullanılarak pasajları yapıldı.

Kloramfenikol (200 µg/L) ilave edilmiş Sabouraud Dextrose Agar besiyerine tek koloni düşecek şekilde pasajlanarak saflaştırılan koloniler Şekil 3.1'de gösterildi.



Şekil 3.1. Sabouraud Dextrose Agar'da üreyen *C. neoformans* kolonileri.

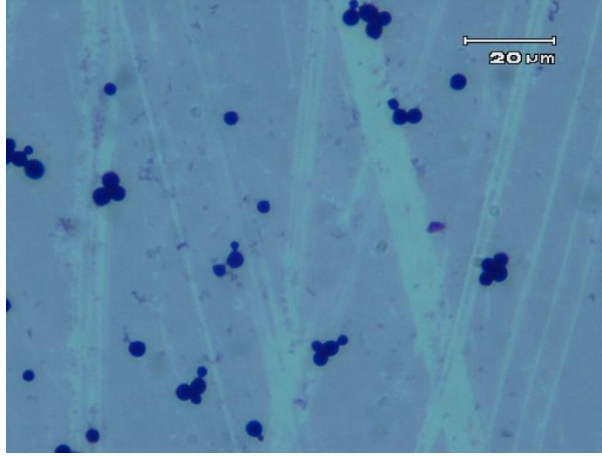
İlk izolasyonda SDA (kloramfenikol 200 µg/L)'da üreyen kolonilerden aynı şekilde antibiyotikle selektifleştirilmiş kanlı agar (kloramfenikol 200 µg/L) kullanılarak pasajları yapıldı ve üreyen koloniler Şekil 3.2'de gösterildi.



Şekil 3.2. Kloramfenikol (200 µg/L) içeren Kanlı Agar'da üreyen *C. neoformans* kolonilerinin görünümü

Gerçekleştirilen işlemlerin hepsi bunzen beki etrafında steril koşullara yakın bir ortamda gerçekleştirildi. Yapılan pasajlarda saf olarak üreyen koloniler Gram boyama yöntemiyle mikroskopik olarak incelendi (Quinn ve ark. 1994).

SDA (kloramfenikol 200 µg/L) ve selektifleştirilmiş kanlı agar (kloramfenikol 200 µg/L)' da inkübasyon sonrasında oluşan *C. neoformans* kolonilerinin Gram boyama sonucu mikroskopik görünümü Şekil 3.3'te gösterildi.



Şekil 3.3. *C. neoformans*'ın Gram boyama ile mikroskopik görünümü.

3.2.2. Moleküler Analizler

3.2.3. DNA İzolasyonu

Çalışma kapsamında izole edilen maya kültürlerinden DNA izolasyonu fenol/kloroform yöntemi kullanılarak yapıldı (Sambrook ve ark, 2001).

SDA'da pasajı yapılan maya kültürlerinden bir öze dolusu alınarak 1 ml steril PBS içeren endorf tüplere aktarıldı ve PBS içerisinde vortekslenerek süspansiyon edildi. Bunun ardında tüpler 3500 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi ve süpernatant atılarak dipteki pellet, 1ml TES buffer (10 mM Tris-HCL [pH 8], 1 mM EDTA, 1 mM NaCl) eklenerek süspansiyon edildikten sonra tekrar santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra pellet, lizozim (12.5 µg/ml) içeren 500 µl TES buffer ile süspansiyon edilerek 37 °C de 30 dakika süreyle inkübe edildi. Bu sürenin sonunda 20 µl %10 'luk Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) ve 10 µl Proteinaz K (10 µg/µl) ilave edildikten sonra 65 °C 20 dakika inkübe edildi. Protein ve diğer hücre artıklarının bağlanması için karışım üzerine, eşit miktarda fenol/kloroform:izoamil alkol (25:24:1) ilave edilip vortekslendikten sonra 10 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabaka dikkatlice yeni bir tüpe alınarak üzerine 0.1 hacim 3 M sodium acetate ve 1 hacim absolut etanol

ilave edilerek -20 °C’ de bir gece tutuldu. Karışım 13 000 rpm’de 10 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra süpernatant atıldı. Önce pellet % 90 sonra % 70’lik etanol ile yıkandı. Pellet kurutulduktan sonra 100 µl DEPC su (Dietil pirokarbonat ile muamele edilmiş distile su) ile süspanse edildi. Bu süspanسیون -20 °C’de PCR analizlerinde kullanılmak üzere saklandı. Bu sıvıdan 2 µl alınarak PCR’de kalıp DNA olarak kullanıldı.

3.2.4 İzolatların PCR ile Konformasyonu

Çalışmada *C. neoformans* ’nın PCR ile tanısı Kano ve ark. (2001) tarafından önerilen primerler ve protokol kullanılarak gerçekleştirildi. PCR analizleri sonucunda 600 bp uzunluğunda band veren örnekler pozitif kabul edildi. Çalışmada Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği için kullanılan primerler Çizelge 3.2’de gösterildi.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan primer dizileri

Primer Adı	Primer dizisi	Ürün uzunluğu
<i>Cap1(Cn)</i>	5’-GAGTGTCTCCGCAACCCGCA-3	600 bp
<i>Cap2(Cn)</i>	5’-CCTACTCTGCCAAATCAACTC-3’	

Her bir örnek için PCR Karışımı; 2,5 µl 10x PCR tamponu, 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTP (10 mM), 20 pmol Cap 1, 20 pmol Cap 2 ve 1U Taq DNA Polimeraz katıldı ve toplam hacmi 23 µl olacak şekilde distile su eklenerek tamamlandı.

Bu ana karışımdan 23’er µl dağıtıldı ve her tüpe 2 µl örnek DNA’sı eklenerek toplam reaksiyon hacmi 25 µl’ye tamamlandı. Tüm PCR karışımları aynı oranda hazırlandı. Bu karışıma göre hazırlanan örnekler çoğaltma için önceden programlanmış Thermal Cycler cihazına yerleştirildi. PCR analizleri sırasında sırasındaki hata ve kontaminasyonları belirlemek için pozitif ve negatif kontrol kullanıldı.

Amplifikasyon işlemi, 94 °C’de 3 dakika süreyle ön denatürasyon, 94 °C’de 45 saniye DNA sarmalındaki zincirlerin ayrılması (denatürasyon), 60 °C’de 45 saniye primer bağlanması (annealig), 72 °C’de 60 saniye tutularak yeni DNA zincirinin

sentezlenmesi(ekstensiyon) protokolü uygulanarak gerçekleştirildi. Bu protokol kullanılarak toplam 35 döngü yapıldı. En son aşamada 72 °C'de 7 dakika bekletilerek reaksiyon tamamlandı.

3.2.5 Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme

Yapılan amplifikasyon işleminden sonra Agaroz jel elektroforezi için %1,5'lik 200 ml jel hazırlandı. Hazırlama sırasında 3 g agaroz (Vivantis) 200 ml 0,5X TBE buffer (Tris Borat EDTA Buffer) ile karıştırıldı. İyiye eritildikten sonra içerisine 10 µl ethidium bromür ilave edilerek soğuması beklendi. Daha sonra kalıp içine döküldü ve taraklar yerleştirildi. Jelin katılaşmasının ardından jel kalıbı ile beraber elektroforez tankına yerleştirilerek amplifikasyon ürünleri taraklar tarafından oluşturulan çukurlara 10 µl olacak şekilde 6X Gel Loading Dye ile karıştırılarak yüklendi. Yüklenen PCR ürünleri jel elektroforezinde 180 V'da 60 dakika boyunca koşuruldu. Çıkan sonuçlar UV ışık altında incelenerek fotoğrafları çekildi. Değerlendirmede, marker (Vivantis, 100 bp plus) kullanıldı. *C. neoformans* için spesifik olduğu bildirilen 600 bp'lik, bandlar araştırıldı.

4. BULGULAR

Hatay ili ve ilçelerinde (İskenderun, Kırıkhan, Altınözü, Ekinci ve Antakya) bulunan 58 farklı kümeden alınan güvercin dışkı örneklerinden ilk izolasyonda Sabouraud Dextrose Agar (kloramfenikol 200 µg/L) kullanılarak toplam 69 maya kolonisi izole edildi.

Örnek alınan 58 farklı kümeden yapılan ekimler sonucunda her bir örnek için üreme durumu ve üreyen koloni sayıları Çizelge 4.1’de gösterildi.

Çizelge 4.1. İnkübasyonu yapılan örneklerde üreme durumu ve üreyen koloni sayısı

Örnek Sayısı	Üreme Durumu		Üreyen Koloni Sayısı
	Var	Yok	
1	-	+	-
2	-	+	-
3	-	+	-
4	-	+	-
5	-	+	-
6	-	+	-
7	+	-	1
8	+	-	1
9	-	+	-
10	+	-	1
11	+	-	1
12	+	-	2
13	+	-	1
14	+	-	1
15	+	-	1
16	+	-	1
17	+	-	1

Çizelge 4.1. İnkübasyonu yapılan örneklerde üreme durumu ve üreyen koloni sayısı (devamı)

Örnek Sayısı	Üreme Durumu		Üreyen Koloni Sayısı
	Var	Yok	
18	+	-	1
19	+	-	1
20	+	-	3
21	+	-	2
22	+	-	1
23	+	-	2
24	+	-	1
25	+	-	2
26	+	-	1
27	+	-	1
28	+	-	1
29	+	-	1
30	+	-	2
31	+	-	3
32	+	-	1
33	+	-	1
34	+	-	1
34	+	-	1
36	+	-	1
37	+	-	2
38	-	+	-
39	-	+	-
40	-	+	-
41	+	-	2
42	+	-	2
43	+	-	2
44	+	-	1
45	+	-	1
46	+	-	2

Çizelge 4.1. İnkübasyonu yapılan örneklerde üreme durumu ve üreyen koloni sayısı (devamı)

Örnek Sayısı	Üreme Durumu		Üreyen Koloni Sayısı
	Var	Yok	
47	+	-	2
48	-	+	-
49	+	-	2
50	+	-	1
51	-	+	-
52	+	-	2
53	+	-	1
54	+	-	2
55	+	-	2
56	+	-	2
57	+	-	3
58	+	-	2
Toplam			69

İzolasyonu yapılan DNA' lar da *C. neoformans*'a spesifik primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizleri sonucunda örnekleme yapılan 58 adet kümesin 12 (%20.68)'sinde *C. neoformans* belirlendi.



Şekil 4.1. *C. neoformans*'a özgü 600 bp'lik bantların agaroz jelde görüntülenmesi. (M; Marker, 1000 bp plus, 1-6; Agaroz Jelde *C. neoformans*'a özgül bantlar (600 bp).N; Negatif Kontrol).

C. neoformans'a spesifik bantların gözlemlendiği 12 maya kolonisinde örneklerin farklı ilçelerden ve farklı güvercin ırklarından izole edildiği gözlemlendi (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *C. neoformans*'a spesifik bantların gözlemlendiği güvercin dışkı örnekleri

Örnek Sayısı	İlçe Adı	İrk
10	Kırıkhan	İstanbullu
11	Kırıkhan	Güllü
12	Kırıkhan	Müsevvet
14	Kırıkhan	Kırmızı Kalem
18	Kırıkhan	Rakkas
27	Ekinci	Müsevvet
31	Ekinci	Kırmızı Kalem
54	Antakya	Başı Sarı
55	Antakya	Kırmızı Kalem
56	Antakya	İsraili
57	Antakya	Gözü Büyük
58	Anyakya	Posta Kuşu
Toplam		12

5. TARTIŞMA

C. neoformans dünya genelinde yaygın olarak bulunan, bildirim sıklığı giderek artan fırsatçı bir enfeksiyon etkenidir. Yurdumuzda ilk olgu Unat ve arkadaşlarınınca bildirildiği gibi dünyada ilk kolon kriptokokkozu olgusu da Unat ve arkadaşları tarafından yayımlanmıştır (Unat ve Yücel 1965). İlerleyen zaman için de ülkemizde bu etkenin neden olduğu farklı enfeksiyonlar zaman zaman bildirilmiştir (Leblebicioğlu ve ark. 1995). Etkenin ana rezervuarı olarak güvercin dışkıları gösterilmiştir. Ancak son yıllarda bazı süs kuşlarının dışkı ve sekretlerinde de belirlenmiş ve bu kuşların insanlar ile daha yakın temasından dolayı hastalığın bulaşmasında önemli bir kaynak teşkil edebilecekleri vurgulanmıştır (Oie 2005).

C. neoformans'ı ilk kez 1951 yılında Emmons (1951) toprakta varlığını göstermiştir ve incelenen 716 farklı toprak örneğinin 4 (%0.5) adedinde *C. neoformans* izole ettiğini bildirmiştir. Daha sonra Ajello (1958) 1950-1955 yılları arasında ABD, Panama, Hawaii, Nijerya ve Kanada'da toplam 1127 toprak örneğini incelemiş ve örneklerin 14 (%0.3)'ünde *C. neoformans* izole ettiğini bildirmiştir. Sotgiu ve ark. (1966) ise, İtalya'da 166 toprak örneğinin 4 (%2)'ünde *C. neoformans* belirlemişlerdir. *C. neoformans*'ın topraktan izole edilme şansı genelde çok daha düşüktür. Ülkemizdeki çalışmalarda toprakta *C. neoformans* üretilmemiştir (Tümbay 1977 a, Unat ve Yücel 1965). Bu konuda diğer mikroorganizmaları baskılayıcı etkisi önemlidir. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* gibi bakteriler üremeyi önleyici maddeler salgılayabilmektedir. Teoh-Chan ve ark. (1974) deney koşullarında *P. aeruginosa*'nın bu etkisini araştırmışlar ve üremeyi baskılayıcı bir maddeyi gösterebilmişlerdir. Ayrıca toprak amipleri (özellikle akantomobalar) de önemli bir baskılayıcı etmendir. Bir *A. palestinensis*'in günde 84 kriptokok yiyebildiğinin saptandığı bildirilmiştir (Koçak ve ark. 1967, Unat ve ark. 1995). Güneş ışığında *C. neoformans*'ın çoğalmasını baskılamaktadır (Unat ve ark. 1995).

Buna karşın daha sonraları Emmons (1960), direkt olarak güvercin dışkı örneklerinden etken izolasyonuna yönelik olarak yaptığı bir çalışmada, 91 adet güvercin dışkısı örneğinin 63'ünde (% 67) bu etkeni izole ettiğini bildirmiştir. Staib (1962 b) doğada kanatlı dışkılarının *C. neoformans* üremesi ve yaşaması için en uygun ortamlar

olduğunu ortaya koymuştur. Zarrin ve ark. (2010), İran'da yaptıkları çalışmada güvercin dışkıları ile *C. neoformans* saçılımını araştırmışlar ve bölgeler arasında farklılıklar olmakla beraber (10 farklı bölgeden en düşük %17, en yüksek %86) 65 örneğin 22 (%34)'sinden *C. neoformans* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Ülkemizde ise, Unat ve Yücel (1965), İstanbul'un çeşitli semtlerinde farklı kanatlı dışkıları ile kirli toprak örneklerinde *C. neoformans* ve *Histoplasma capsulatum* varlığını araştırmışlar, ancak çalıştıkları örneklerin hiç birinde her iki mantarı da saptayamamışlardır. Tümbay (1977 b), İzmir ve ilçelerinden toplanan çeşitli örneklerde *C. neoformans* izolasyon oranının, güvercin dışkılarında % 10.2 oranında, diğer kanatlı dışkılarında kanarya, bülbül, tavuk, muhabbet kuşu gibi çeşitli süs kuşlarını içeren kuşların dışkılarında ise %3.8 oranında bulunduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada, toprak ve saman örneklerinin hiçbirinde bu etkenin izole edilmediğini bildirmiştir. Benzer şekilde Karaman ve ark. (1980), Bursa'da yaptıkları bir çalışmada güvercin dışkılarında *C. neoformans* oranını %3.2 olarak belirlemişlerdir. Diğer kanatlı türlerine ait dışkı örneklerinde ise etkeni izolasyonu olmadığını bildirmişlerdir. Sivrel ve Tümbay (1993), İzmir'de sadece güvercin kafeslerinden alınan örnekleri incelemişler ve bu örneklerde %14 oranında *C. neoformans* varlığı saptamışlardır. Ülkemizin farklı illerde bulunan güvercinliklerde *C. neoformans* araştırması yapan Yıldırım ve ark. (1998) çoğunlukla daha nemli ve sıcak iklime sahip olan kıyı bölgelerimizde izolasyon olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında *C. neoformans*'ı Antalya ve Mersin bölgelerinden toplanan örneklerde belirlerken, Isparta bölgesinden izolasyon olmadığını bildirmişlerdir. Türkiye'de yapılan diğer araştırmalardan doğadan en yüksek ayırım oranı Ordu'dan toplanan örneklerde %35 bulunmuş, en düşük oran ise İstanbul'da yapılan çalışmalarda %1.0 bildirilmiştir (Aygün 1998, Açıkgöz Aksu 2001, Saraçlı ve ark. 2003).

Bu çalışmada ise, Hatay ili ve ilçelerinden (İskenderun, Kırıkhan, Altınözü, Ekinci ve Antakya) *C. neoformans* saçılımını araştırmak için 58 farklı güvercin kümesinden örnek alınmış ve Sabouraud Dextrose Agar (kloramfenikol 200 µg/L)'a ekim yapılmıştır. Ekimler sonucunda 69 maya kolonisi izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen 69 kolonide yapılan analizler sonucunda 58 farklı küme örneğinin 12 (%20.68) adedi *C. neoformans* olarak tanımlanmış ve bu tanımlamalar spesifik primerlerin kullanıldığı PCR analizleri ile teyit edilmiştir. İzolasyon oranının bölgesel

farklılıklara göre değiştiği görülmektedir. Bu çalışmada elde edilen oran (%20.68) diğer çalışmalar ile uyumludur. Bu bulgular Hatay yöresinde hobi amaçlı beslenen güvercinlerde *C. neoformans* taşıyıcılığının varlığını göstermektedir.

Taze dışkı örnekleri alkali olmaları ve diğer mikroorganizmalar için de uygun ortam oluşturmaları sebebiyle daha az kriptokok barındırmalarına karşın, kurumuş dışkılarda uzun bir süre yoğun olarak kriptokok bulunabileceği gösterilmiştir. Ayrıca bir örnekte 3 yıl boyunca *C. neoformans*'ın canlılığını koruyabildiği ve kuru bir güvercin dışkısının 1 gramında 50 milyon *C. neoformans* bulunabileceği vurgulanmıştır (Tümbay 1977, Unat ve ark. 1995). *C. neoformans*'ın neden olduğu kriptokokkozun meydana gelmesinde konağın bağışıklık özellikleri ve mayanın virlansı ile birlikte dış ortamdan vücuda alınan infektif mayanın sayısında önemlidir (Casadevall ve Perfect 1998). Bu nedenle çok sayıda maya kolonizasyonunun bulunduğu gvercinliklerde alışanlar *C. neoformans*'a karşı antikor seviyeleri daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Kwon-Chung ve Bennet 1992). Güvercin besleyicilerinde *C. neoformans*'a karşı spesifik antikor varlığı ve düzeyinin tespitine yönelik bir çalışmada, İzmir' de sağlıklı güvercin besleyicilerinden alınan 125 ve kanatlılarla ilgisi olmayan kişilerden alınan 375 serum örneğinde indirekt floresan antikor (IFA) yöntemi ile incelemeler yapılmıştır. Yapılan incelemeler neticesinde, *C. neoformans* kapsül antijenine karşı antikor yanıtının güvercin besleyicilerinde % 16, kuşla ilgisi olmayanlarda % 5 oranında olduğu saptanmıştır (Saraçlı ve ark. 2003). Bu literatürler ışığında alışmamızda Hatay yöresinde hobi amaçlı yetiştirilen güvercin barınaklarından toplanan örneklerin %20.68'inde *C. neoformans* belirlenmesi bu yetiştiriciliği yapan ve gün içerisinde bu hayvanlarla ve barnakları ile temas halinde bulunan insanlar açısından önem arz etmektedir.

Ayrıca genel olarak güvercinlerde ya da güvercin dışkıları ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, farklı kuş türlerini de içeren çalışmalar yapılmıştır. Tay ve ark. (2005) bölgesel hayvanat bahçelerinden, pet hayvan satılan mağazalardan ve parklar gibi halka açık alanlardan topladıkları toplam 544 kuş dışkı örneğinin 20 tanesinden *C. neoformans* izolasyonu yaptıklarını bildirmişlerdir. Gonzalez-Hein ve ark. (2010), 15'i güvercin 98'i ss kuşları olmak üzere 113 farklı kaynaktan aldıkları dışkı örneklerinden yaptıkları çalışmada güvercin örneklerinin 13'nde, diğer ss kuşlarından alınan örneklerin 4'nden *C. neoformans* izolasyonu yaptıklarını bildirmişlerdir. Yapılan bu

Çalışma ile güvercin dışkı örnekleri incelenmiştir, bunun dışında gelecek çalışmalarda, özellikle Hatay’da yaygın olarak beslenen papağanlar olmak üzere çeşitli ss kuşlarını içeren kafes kuşları yetiştirilen yerlerden ve kuş barınaklarından alınan örneklerden ve ayrıca halka açık park, bahçe, cami ve kilise gibi bahçesinde şehir güvercinlerinin sıklıkla bulunduğu ortamlardan örnekler alınarak *C. neoformans* yayılımının araştırılmasına yönelik olarak yapılabilicek çalışmalar yararlı veriler sağlayabilecektir.

6. SONUÇ

Bu çalışma ile Hatay ili ve ilçelerinde (İskenderun, Kırıkhan, Altınözü, Ekinci ve Antakya) ilk kez güvercin dışkılarından *C. neoformans* izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirildi. Yapılan identifikasyonlar polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak *C. neoformans*' a özgül bantlar (600 bp) gözlemlenmesiyle teyit edildi. Hatay'da hobi olarak yaygın güvercin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Hatay sıcak ve nemli iklime sahip olması güvercin dışkısında bulunan etkenin uzun süre varlığını sürdürmesine imkân vermekte ve bu durumun insan sağlığı açısından bir tehdit unsuru olabileceği sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. **Açıköz Aksu Ö.** İstanbul ve çevresindeki kuş dışkılarında *Cryptococcus neoformans* görülme sıklığı. Uzmanlık Tezi. İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD. İstanbul, **2001**.
2. **Ajello L.** Recent advances in medical mycology. Bull of National Association of Clin Lab, **1955**, s. 7: 11-16.
3. **Ajello L.** Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in soils. Am J of Hygiene, **1958**, s. 67:1; 72-77.
4. **Ajello L.** Comparative ecology of respiratory mycotic disease agents. Bact Rev, **1967**, s. 31:6- 24.
5. **Anğ Ö, Tümbay E, Büğet E, Güvener Z.** Balgamdan izole edilen *Cryptococcus neoformans* suşu. İstanbul Tıp Fak. Mec,**1973**, s. 36:850
6. **Aygün G.** İstanbul’ da doğal kaynaklardan *Cryptococcus neoformans* araştırılması. Uzmanlık Tezi. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve klinik mikrobiyoloji ABD. İstanbul, **1998**.
7. **Bardana EJ, Kaufmann L, Benner EJ.** Amphotericin B and cryptococcal infection. Arch of Int Med, **1968**, s. 122:517-20,
8. **Bergman F.** Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in Sweden Acta Med Scan , **1963**, s. 174:651-55.
9. **Bhattacharjee AK, Bennett JE, Glaudemans CPJ.** Capsular polysaccharides of *C. neoformans*. Review of Infectious Diseases, **1984**, s. 6: 619-624.
10. **Boday GP.** What’s new in fungal infection in leukemic patients leukemia and lymphoma , **1993**, s. 11: 127-35.
11. **Bottone EJ.** *Cryptococcus neoformans* pitfalls in diagnosis through evaluation of Gram-stained smears of purulent exudates. J Clin Microbiol, **1980**, s. 12:790-1.
12. **Brueske CH.** Proteolytic activity of a clinical isolate of *Cryptococcus neoformans*. J Clin Microbiol, **1986**, s. 23:631-33.
13. **Buttler WT, Ailing DW, Spichart A, Utz JP.** Diagnostic and prognostic value of clinical and laboratory findings in Cryptococcal meningitis. NJM, **1964**, s. 270:59-67.
14. **Cantekin Z, Özmen GÖ, Yılmaz E, Ülker H, ve Solmaz H.** “Antakya (Hatay) Evcil Güvercinlerde Dışkı ile *C. neoformans* Saçılımının Araştırılması”, X. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), (2012) 24-27 Eylül, Aydın.
15. **Casadevall A, Perfect J.R.** *Cryptococcus neoformans* American Society for Microbiology, Washington, (1998)
16. **Castanon-Olivares LR, Lopez-Martinez R.** Isolation of *C. neoformans* from pigeon (*Columba livia*) droppings in Mexico City. Mycoses, **1994**, s. 37(9-10): 325- 327.
17. **Chaskes S, Tyndall RL.** Pigment production by *Cryptococcus neoformans* from para- and ortho-diphenols. Effects of the nitrogen source. J CUn Microbiol, **1975**, s. 1:509-514.
18. **Cherniak R, Morris LC, Anderson BC, Wleyer SA.** Facilitated isolation, purification, and analysis of glucuronoxylomannan of *C. neoformans*. Infection and Immunity, **1991**, s. 59: 59-64.
19. **Chuck SL, Sande MA.** Infections with *Cryptococcus neoformans* in the AIDS. NJM, **1989**, s. 321:794-99.

20. **Clark RA, Greer D, Atkinson W, Valainis GT, Hyslop N.** Spectrum of neoformans infection in 68 patients infected with human immunodeficiency virus. *Review of Infectious Diseases*, **1990**, s. 12: 768-777.
21. **Cleare W, Brandt ME, Casadevall A.** Monoclonal antibody 13F1 produces annular fluorescens patterns on *Cryptococcus neoformans* serotype AD isolates. *J Clin Microbiol* **1999**, s. 37: 3080.
22. **Criseo G, Bolignano MS, De Leo F. and Staib F.** Evidence of canarydroppings as an importantreservoir of *Cryptococcus neoformans*.*ZentralblBakteriol*, April, (**1995**), s. 282(3): 244- 54.
23. **Cooper BH.** Clinical laboratory evaluation of a screening medium (CN Screen) for *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol*, **1980**, s. 11:672-74.
24. **Costa AK, Sidrim JJ, Cordeiro RA, Brilhante RS, Monteiro AJ ve ark..** Urban pigeons (*Columba livia*) as a potential source of pathogenic yeast: a focus on antifungal susceptibility of *Cryptococcus* strains in Northeast Brazil. *Mycopathologia* **2010**, s. 169:207-213.
25. **Cox GM, Perfect JR.** *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* and *gattii* and *Trichosporon species*. In: Coklier L, Balows A, Sussman M. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9th ed. Vol 4 Ajello L, Hay RJ vol eds. *Medical Mycology* **2000**, s. 461-486.
26. **Davis CE.** *Cryptococcus* in infectious Disaese *Medical Mikrobiology* pp (Ed. Braude A.I, Fierer J, Davis C.E) 2 Baski W.B Saunders Comp. Philadelphia, **1986**, s. 564-71.
27. **Denning DW, Stevens DA, Hamilton JR.** Comparison of Guizzotia abyssinica seed extract (Bird Seed) agar with conventional media for selective identification of *Cryptococcus neoformans* in patients with ADDS. *J Clin Microbiol*, **1990**, s. 28:2565-67.
28. **Denning DW.** Epidemiology and pathogenesis of systemic fungal infections in the immunocompromised host *J Antimicrobiol Chemother*, 28 (Suppl B)**1991**, s. 1-16.
29. **Diamond RD.** Antibody dependent killing of *Cryptococcus neoformans* by human peripheral blood mononuclear cells. *Nature*, **1974**, s. 247:148-9.
30. **Diamond RD.** *C. neoformans*. *Principles and Practise of Infectious Diseases*, (Eds) Mandell, G.L., Douglas, R.G., Bennett, J.E. 3rd Ed., New York, Edinburgh, London, Melbourne, Churchill Livingstone **1990**, 1980-1989.
31. **Dromer F, Gueho E, Ronin O, Dupont B.** Serotyping of *C. neoformans* by using a monoclonal antibody specific for capsular polysaccharide. *Journal of Clinical Microbiology*, **1993**, s. 31: 359-363.
32. **Dramer F, Varma H, Ronin O, Mathoulin S, Dupont B.** Molecular typing of *Cryptococcus neoformans* serotype D clinical isolates. *J Clin Microbio*, **1994**, s. 32:2364-71.
33. **Eisenman HC, Casadevall A.** Synthesis and assembly of fungal melanin. *Appl Microbiol Biotech* **2012**, s. 93(3): 931-40.
34. **Emmons CW.** Isolation of *Cryptococcus neoformans* from soil. *J Bacteriol*, **1951**, s. 62:685- 90.
35. **Emmons CW.** Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columbia livia*). *Am J Hyg*, (**1955**), s. 62: 227-232.
36. **Emmons CW.** Environmental sources of infection in the mycoses. 6th international Congresson Tropical Medicine and Malaria , September **1958**, s. 5-13.
37. **Emmons CW.** Prevalence of *Cryptococcus neoformans* in pigeon habitats. *Pub Health Report*, **1960**, s. 75:4; 362-65.

38. **Ellis DH.** *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in Australia. J Clin Microbiol, **1986**, s. 25:430-31.
39. **Ellis DH, Pfeiffer TJ.** Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. J Clin Microbiol, **1990**, s. 28:1642-44.
40. **Feng X, Yao Z, Ling B, Ren D, Liao W.** Perilla frutescens seed agar, a new medium for identification of the *Cryptococcus* species complex: evaluation for all major molecular types. J Microb Method **2011**, s. 84(2): 359-61.
41. **Franzot SP, Fries B, Hamdan JS, Casadevall A.** Analysis of electrophoretic karyotypes of *Cryptococcus neoformans* strains from temperate and tropical regions. 96th general meeting of the American Society for Microbiology, New Orleans, Louisiana (Abstract), F-8, **1996**, p:28.
42. **Franzot SP, Salkin IF, Casadevall A.** *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype isolates. J Clin Microbiol **1999**, s. 37: 838-840.
43. **Gokulshankar S, Babu K, Valli S, Ranjitsingh AJ, Ranjith MS.** Cowitch seed agar medium a simple new medium for identification and melanin production of *Cryptococcus neoformans*. Mycoses **2011**, s. 54(4): 208-10.
44. **Gonzalez-Hein G, Gonzalez-Hei, J. and DiazJarabran MC.** Isolation of *Cryptococcus neoformans* in droppings of captive birds in Santiago, Chile. J Avian Med Surg, September, (**2010**), s. 24(3): 227-36.
45. **Goodman JS, Kaufman L, Koenig MG.** Diagnosis of cryptococcal meningitis. NJM, **1971**, s. 285:434-6.
46. **Gordon AM, Lopa EW.** Elimination of rheumatoid factor in the latex test for cryptococcosis. Am J Clin Pathol, **1974**, s. 61:488-494.
47. **Graybill JR.** *C. neoformans* Infectious Diseases, (Eds) Gorbach, S.L., Bartlett, Y.G., Blacklow, N.R., Philadelphia, W.B. Saunders Co. **1992**, 1895- 1899.
48. **Hay RJ.** Clinical manifestations and management of cryptococcosis in the compromised patient. Fungal infections in the compromised patient, (Eds) Warnock, D.W., Richardson, M.D., England, John Wiley & Sons Ltd. **1991**, s. 85-115.
49. **Healey EM, Dillavou Ci, Taylor GE.** Diagnostic medium containing inositol, urea and caffeic acid for selective growth of *Cryptococcus neoformans*. J Clin Microbiol, **1977**, s. 6:387-91.
50. **Hoogde GS, Guarro J.** Atlas of Clinical Fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Spain, Universitat Rovira i Virgili **1995**, s. 1-15, 210-211.
51. **Irokanulo EA, Akueshi CO, Makinde AA.** Differentiation of *Cryptococcus neoformans* serotypes A and D using creatinine dextrose bromothymol blue thymine medium. Br. J. Biomed. Sci., (Abstract) **1994**, s. 51(2): 100-103.
52. **Kano R, Fujino Y, Takamoto N, Tsujimoto H. and Hasegawa A.** PCR detection of the *Cryptococcus neoformans* CAP59 gene from a biopsy specimen from a case of feline cryptococcosis. J Vet Diagn Invest, (**2001**), s. 13: 439-442.
53. **Kantarcioglu AS, Yücel A.** Deri lezyonlarından ayrılan bir *Cryptococcus neoformans* kökeni: Laboratuvar tanımı, deney farelerinde infeksiyon oluşturulması ve NCCLS M27-A makrodilüsyon yöntemi ile yedi antifungal duyarlılığının belirlenmesi. Cer tıp fak derg. **2001**, s. 4: 205-211.
54. **Karaman A, Tümbay E, Demir O.** Bursa'da güvercin ve çeşitli kuş dışkı örneklerinde *Cryptococcus neoformans* aranması. Türk Mik Cem Der, **1980**, s. 10:31-37.

55. **Kasimoğlu Ö.** *C. neoformans'* in ekolojisi, dağılımı ve kriptokokkoz epidemiyolojisi. *C. neoformans* ve Kriptokokkoz, (Eds) Tümbay, E., Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No: 12, İzmir, Bilgehan Basımevi **1988**, s. 1-8.
56. **Kaufman L, Blumer S.** Latex cryptococcal antigen test Am J Clin Pathol, **1973**, s. 60:285- 6.
57. **Khan ZU, Ahmad S, Mokaddas E, Chandy R.** Simplified sunflower (*Helianthus annuus*) seed agar for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. Clin Microbiol Infect **2004**; 10(6): 590-2.
58. **Kligman AM, Crane AP, Norris RF.** Effect of temperature on survival of chick embryos infected intravenously with *Cryptococcus neoformans* (*Torula histolytica*) **1951**, s. 221:273-78.
59. **Koçak N, Yenerman M, Ergün Y, Özdoğan E.,** Karaciğer vakası üzerine eklenmiş bir *Cryptococcus* enfeksiyonu. Türk Tıp Cem, **1967**, s. 33:651-54.
60. **Korth H, Pulverer O.** Pigment formation for differentiating *Cryptococcus neoformans* from *Candida albicans*. Appl Microbiol **1971**, s. 21(3): 541-2.
61. **Kwon-Chung KJ, Polacheck I, Bennet EJ.** *Cryptococcus neoformans* Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var *gattii* (serotypes B and C). J din Microbiol, **1982**, s. 15:535-37.
62. **Kwon-Chung KJ, Bennett JE.** Epidemiologic Differences Between The Two Varieties of *C. neoformans*. American Journal of Epidemiology, **1984**, s. 120: 123- ISO.
63. **Kwon-Chung KJ, Bennet EJ.** Cryptococcosis. In Medical Mycology, pp. 4. baskı, Lea&Fabiger, Philedelphia, **1992**, s. 397-446.
64. **Kwon-Chung KJ, Edman JC, Wickes BL.** Genetic association of mating types and virulence in *Cryptococcus neoformans*. Infect Immun **1992a**, s. 60: 602-605.
65. **Kwon-Chung KJ, Kozel TR, Edman JC, Polacheck I, Ellis D ve ark..** Recent advances in biology and immunology of *Cryptococcus neoformans*. Journal of Medical and Veterinary Mycology, 30(Supplement 1): **1992b**, s. 133-142.
66. **Kwon-Chung KJ, Chang YC.** Cryptococcus and cryptococcosis. 5th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (June 3-6 1999, Dresden, Germany) Abstracts, **1999**, s. 142-143.
67. **Lazera MS, Wanke B, Nishikawa MM.** Isolation of both varieties of *Cryptococcus neoformans* from saprophytic sources in the city of Rio de Janeiro, Brazil. Journal of Medical and Veterinary Mycology, **1993**, s. 31: 449-454.
68. **Lazera MS, Pirez FDA, Camillo-Coura L, Nishikawa MM, Bezerra CF ve ark..** Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. Journal of Medical and Veterinary Mycology, **1996**, s. 34: 127-131.
69. **Leblebicioğlu H, Saniç A, Günaydın M, Emirler N, Özdemir Ş.** Bir *Cryptococcus neoformans* meninjitisi olgusu. Mik Bül, **1995**, s. 29:203-7.
70. **Levitz SM.** The ecology of *C. neoformans* and the epidemiology of cryptococcosis. Reviews of Infectious Diseases, **1991**, s. 13: 1163-1169.
71. **Love GL, Bayd GD, Grear DL.** Large *Cryptococcus neoformans* isolated from brain abscess. J Clin Microbiol, **1985**, s. 22:1068-70.

72. **Lucho VJ, Ginsburg V, Krivan HC.** *C. neoformans*, *Candida albicans*, and Other Fungi Bind Specifically to the Glycosphingolipid Lactosylceramide (Gaipi-4Glcpi-1Cer), a Possible Adhesion Receptor for Yeasts. *Infection and Immunity*, **1990**, s. 58: 2085-2090.
73. **Meço O, Bayraktar M, Erkmén H ve ark.** Bir subakut *Cryptococcus neoformans* meningoşefalitis olgusu. *Mikrobiyoloji Bül.* **1980**, s. 14: 309.
74. **Meyer W, Mitchell TG, Freedman EZ, Vilgalys R.** Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Clinical Microbiology*, **1993**, s. 31(9): 2274-2280.
75. **Mitchell TG, Perfect JR.** Cryptococcosis in the era of AIDS-100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microbiol rev* **1995**, s. 8: 515-548.
76. **Mseddi F, Sellami A, Sellami H, Cheikhrouhou F, Makni F ve ark.** Two new media *Pinus halepensis* seed agar and blackberry agar for rapid identification of *Cryptococcus neoformans*. *Mycoses* **2011**, s. 54(4): 350-3.
77. **Nandhakumar B, Kumar CP, Prabu D, Menon T.** Mustard seed agar, a new medium for differentiation of *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol* **2006**, s. 44(2): 674
78. **Nishikawa M, Sant'anna OD, Lazera MS, Wanke B.** Use of D-proline assimilation and CGB medium for screening Brazilian *Cryptococcus neoformans* isolates. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, **1996**, s. 34: 365- 366.
79. **Oie .** Cryptococcosis. Erişim adresi: <http://www.cfsph.iastate.edu>. may 1,**2005**.
80. **Oruç N.** Mantar hastalıklarının patomorfolojisi. tÜ. CTF Yayınlan, Rektörlük No:2602, Dekanlık No:63, Nazım Terzioğlu Matematik Araştırma Enstitü Baskı Atölyesi, İstanbul, **1979**.
81. **Pal M.** First report of isolation of *Cryptococcus neoformans var. neoformans* from avian excreta in Kathmandu, Nepal. *Rev Iberoam Micol* **1997**, s. 14(4): 181-3.
82. **Palmer AC, Herrtage M, Kaplan W.** Cryptococcus infection of the central nervous system of a dog in the U.K *J Small Anim. Prac.* **1981**, s. 22:579-86.
83. **Patterson TF, Andriole VT.** Current Concepts in Cryptococcosis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **1989**, s. 8: 457- 465.
84. **Pfeiffer TJ, Ellis DH.** Serotypes of Australian Environmental and Clinical Isolates of *C. neoformans*. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, **1993**, s. 31: 401-404.
85. **Pidcoe V, Kaufman L.** Flourescent antibody reagent for the identification of *Cryptococcus neoformans*. *Appl Microbiol*, **1968**, s. 16: 271-5.
86. **Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR.** *Clinical Veterinary Microbiology.*, Mosby-Year Book Europe Limited, Lynton House, London WC1H9LB, England. **1994**, 395-401.
87. **Richardson MD, Wamock DW.** *Fungal infection: Diagnosis and management*, 2. baskı, Blackwell Scientific Pub, London, Paris, Edinburgh, Boston, Melbourn, Berlin, Vienna, **1994**.
88. **Rippon JW.** *Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*, pp 582-609, 3.baskı, W.B. Saunders Comp, Philadelphia, **1988**.
89. **Rosario I, Hermosa de Mendoza M, Deniz S, Soro G, Alamo I ve ark.** Isolation of *Cryptococcus* species including *C. neoformans* from cloaca of pigeons. *Mycoses* **2005**, s. 48:421-424.

90. **Rosario I, Deniz S, Soro G et al.** Presences of *C. albida*, *C. laurentii* and *C. uniguttulatus* in crop and droppings of pigeon lofts (*Columba livia*). *Mycopathologia* **2010**, s. 169:315-319.
91. **Ruiz A, Fromtling RA, Bulmer GS** . Distribution of *C. neoformans* in a natural site. *Infection and Immunity*, **1981**, s. 31(2): 560-563.
92. **Safrin RE, Lanchester LA, Davis CE, Braude AI** . Differentiation of *Cryptococcus neoformans* serotypes by isoenzym electrophoresis. *Am J Clin Pathol*, **1986**, s. 86:204-8.
93. **Sambrook J. and Russell W.** Molecular cloning: a laboratory manual (3rd ed.), Cold Spring Harbor Press, New York.A8.9-A8.10. **2001**, P:2049-2050.
94. **Saraçlı MA.** *C. neoformans* varyete *neoformans*'ın Türkiye'deki Ekolojik Dağılımı. Uzmanlık Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akedemisi ve Askeri Tıp Fakültesi, Ankara/Türkiye, **1997**.
95. **Saraçlı MA, Yildiran ST, Sener K, Gonlum A, Dogancı L.** Karyotyping of Turkish environmental *Cryptococcus neoformans* variant *neoformans* isolates by pulsed-field gel electrophoresis. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases ECCMID (Glasgow, UK, 10-13 may 2003) *Clin Microbiol Infect* **2003**, s. 9 (Suppl 1): 221.
96. **Seeliger HPR, Tümbay E.** Mykosen der Lunge unter besonderer Berücksichtigung der opportunistischen Infektionen. *Immun und Infek*, , **1974**, s. 2:138-45.
97. **Shields AB, Ajello L.** Medium for selective isolation of *Cryptococcus neoformans*. *Science*, **1966**, s. 151:208-9.
98. **Shuttleworth D, Philpot CM, Knight AG.** Cutaneous cryptococcosis treatment with oral fluconazole. *Br J Dermatol*, **1989**, s. 120:683-7.
99. **Sivrel A, Tümbay E.** İzmir'de güvercin dışkılarından izole edilen *Cryptococcus neoformans* suşları ve bunların amfoterisin B'ye in vitro duyarlılıkları. *İnfek Der*, **1993**, s. 7:107-13.
100. **Sotgiu G, Mazzoni A, Manyovani A, Ajello L, Palmer J.** Survey of soil spor human pathogenic fungi from thr Emilia-Ramagna region of Italy. *Am J Epidemiol*, **1966**, s. 83:329- 37.
101. **Soysal ŞS, Unat EK, Tahsinoğlu M.** Bir *Cryptococcus* vakası. *Türk Tıp Encümeni Arşivi*, **1953**, s. 4:115.
102. **Staib F.** *Cryptococcus neoformans* beim Kanarienvogel. *Zbl f Bakt Orig (Abstr)*, **1962 a**, s. 185:129.
103. **Staib F.** Kreatinin Assimilation ein neues Spezifikum für *Cryptococcus neoformans*. *Zbl f Bakt Orig*, **1962 b**, s. 186:274.
104. **Staib F.** *Cryptococcus neoformans* and *Guizotia abyssinica* (syn. *G.oleifera* D.C.) *Z Hyg Infektionskr* **1962 c**, s. 148(5): 466-75.
105. **Stepanovic S, Vukovic D, Radonjic I, Dimitrijevic V, Svabic-Vlahovic M.** Ground red hot pepper agar in the isolation and presumptive identification of *Cryptococcus neoformans*. *Mycoses* **2002**, s. 45(9-10): 384-8.
106. **Sugar AM, Saunders C.** Oral flucanazole as supportiv therapy disseminated cryptococcosis in patients with AIDS. *AMJ*, **1988**, s. 85:481-9.
107. **Tay ST, Chai HC, N SL, Hamimah H, Rohani MY ve ark..** Theisolation,characterization and antifungal susceptibilities of *Cryptococcus neoformans* from birdexcreta in KlangValley, Malaysia. *Mycopathologia*, **(2005)**, s. 159: 509–513.
108. **Tendolkar U, Tainwala T, Jog S, Mathur M.** Use of a new medium - Tobacco agar, for pigment production of *Cryptococcus neoformans*. *Indian J Med Microbiol* **2003**, s. 21(4): 277-9.

109. **Teon-Chan CH, Chou PY, Ng MH, Wong PC.** İnhibition of *Cryptococcus neoformans* by *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol, **1974**, s. 8: 77-81.
110. **Tümbay E, Seeliger HPR.** Observation in the laboratory diagnosis of *Cryptococcus neoformans* infections. Castallania Trop Med-Dermatol, **1974**, s. 2:4-8.
111. **Tümbay E.** İzmir yöresinde *Cryptococcus neoformans* ve kriptokokkoz. Birinci kısım: *Cryptococcus neoformans* 'ın doğal kaynaklarından izolasyonu. TÜBİTAK 6. Bilim Kongresi, Tıp Araştırma Grubu Tebliğleri (17-21 Ekim, 1977, Ankara) Tutanağı, **1977 a**, s, 839.
112. **Tümbay E.** İzmir yöresinde *Cryptococcus neoformans* ve kriptokokkoz. II. Kısım. Hasta materyalinde ve normal görünüşlü kişilerin serumunda indirekt-floresan antikor (IFA) yöntemi ile *Cryptococcus neoformans* 'a karşı antikor araştırılması. Tübitak 6. Bilim Kongresi Tıp Araştırmaları Tebliğleri, Ankara **1977 b**, s. 785.
113. **Tümbay E.** Pratik Tıp Mikolojisi. 1. baskı. Bilgehan Basımevi, İzmir 1983, s. 49- 50.
114. **Tümbay E.** (Editör) *Cryptococcus neoformans* ve kriptokokkoz. Türk Mik Cem Yayınlan, No 12, Bilgehan Basımevi, İzmir, **1988**.
115. **Unat EK, Yücel A.** Konak dışında *Cryptococcus neophormans* ve *Histoplasma capsulatum* araştırmaları İ.Ü. Tıp Fak. Mec. **1965**, s. 28:47.
116. **Unat EK.** Temel Mikrobiyoloji 2. Baskı, İ.Ü. CTF Yayınları Rektörlük NO: 3749, Fak. NO: 176, Doyuran Matbaası , İstanbul **1993**.
117. **Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M.** Tıp parazitolojisi, insanın ökaryonlu parazitleri ve bunlarla oluşan hastalıkları. 5.baskı, İ.Ü. CTF vakfi Yayınlar,15, Doyuran Matbaası, İstanbul, **1995**.
118. **Vidinel İ.** İnsanda kriptokokkoz. *C. neoformans* ve Kriptokokkoz, (Ed) Tümbay, E., Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No: 12, Bilgehan Basımevi, İzmir **1988**, s. 25-28.
119. **Vural T, Özbek H, Ang Ö.** Septisemi ile seyreden jeneralize bir kriptokokkoz vakası. 18. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (24-26 Ekim **1978**, İstanbul) nde bildirilmiştir.
120. **Walker TS.** Cryptococcosis and *Cryptococcus neoformans*. Microbiology London, WB Saunders **1998**, s. 313-319.
121. **Walsh TJ, Schlegel R, Moody MM, Castertan JW, Salcman M.** Venticulo-atrial shunt infection due to *Cryptococcus neoformans*: An ultrastructural and quantitative microbiological study. Neurosurg, **1986**, s. 18:373-5.
122. **Walter JE, Coffee EG.** Distribution and epidemiologic significance of the serotypes of *Cryptococcus neoformans*. American Journal of Epidemiology, **1968**, s. 87(1): 167-172.
123. **Warren NG, Shadomy HJ.** Yeasts of medical importance. Manual of Clinical Microbiology, (Eds) Balows, A. Herrmann, K.L. Isenberg, H.D. Shadomy, H.J., 5th Ed., Washington DC., American Society for Microbiology **1991**, s. 617-662.
124. **Weinberg, PB. Becker S, Granger DL, Koren US.** Growth inhibition of *Cryptococcus neoformans* by human alveolar macrophages. Am Rev Res Dis, **1987**, s. 136:1242-7.
125. **Yıldıran ŞT, Saraçlı MA, Gönlüm A, Gün H.** Isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* from pigeon dropping collected throughout Turkey. Med mycol **1998**, s. 36: 391.
126. **Yücel A.** *C. neoformans*'ın mikolojisi. *C. neoformans* ve Kriptokokkoz, (Ed) Tümbay, E., Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No:12, Bilgehan Basımevi, İzmir **1988**, s. 9-21.

- 127. Yücel A.** Kriptokok ve Diğer Maya formundaki mantarlar. İnfeksiyon Hastalıklar' ında 2nci baskı. Ed. Wilke A, Söyletir G, Doğanay M. **2001**
- 128. Yücel A, Kantarcıoğlu A.S.** Doğadan ayırdığımız dört *Cryptococcus neoformans* kökeni ve bu mantarın ekolojisinde bitkinin yeri. İnfeksiyon Derg. **2001**, s. 2:205-214.
- 129. Zarrin M, Jorfi M. Amirrajab N. and Rostami M.** Isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon droppings in Ahwaz, Iran. Turk J MedSci, **2010**, s. 40(2): 313-316.
- 130. Zimmerman LE, and Littman ML.** Cryptococcosis. Grune&Stratton, New York **1956**.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Erzurumda doğdu. Orta öğrenimine Erzurum 70. Yıl İlk Okulu'nda başladı ve 1995 yılında Adana Emine Sapmaz İlk Okulu ve Sıtkı Kulak İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Lise öğrenimini Adana Mehmet Kemal Tuncel Lisesi'nde tamamladı. 2006 yılında kazandığı Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2010 yılında mezun oldu. 2012 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı'da yüksek lisansa başladı. 2013 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi, Üniversite-Sanayi İşbirliği Teknoloji Transfer Ofisi'nde Proje Uzmanı olarak işe başladı. 2015 yılında TeknoparkHatay A.Ş.'ne Genel Müdür Yardımcısı olarak görevlendirildi. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, İşletme Anabilim Dalı Başkanlığı'nda (Uzaktan Eğitim Tezsiz Yüksek Lisans (e-MBA) yüksek lisansa başladı.