Özgün Araştırma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2026;60(2):200-211*/doi: 10.5578/mb.202602157

Geliş Tarihi (Received): 03.12.2025 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 16.02.2026

Depolanan Elmalarda *Exophiala* Varlığı: Tek Sağlık Perspektifinden Değerlendirme

Exophiala on the Stored Apples: Evaluation with One Health Perspective

Nurcihan BİLTEKİN[1](ID), Gözde Gülcan ÜNAL[2](ID), Canan ONAÇ[3](ID), Oğuzhan BİNGÖL[4](ID), Deniz ALKAYA[1](ID), Aylin DÖĞEN[1](ID), Ayşe Sultan KARAKOYUN[5](ID), Nevzat ÜNAL[4](ID), Macit İLKİT[4](ID), Çağrı ERGİN[2](ID)

[1] Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin.
[1] *Mersin University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, Mersin, Türkiye.*

[2] Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
[2] *Pamukkale University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Denizli, Türkiye.*

[3] Pamukkale Üniversitesi, İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Denizli.
[3] *Pamukkale University, Advanced Technology Research and Application Center, Denizli, Türkiye.*

[4] Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.
[4] *Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Adana, Türkiye.*

[5] Dr. Yusuf Azuzoğlu Silvan Devlet Hastenesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Diyarbakır.
[5] *Dr. Yusuf Azuzoğlu Silvan State Hospital, Clinical Microbiology Laboratory, Diyarbakır, Türkiye.*

**Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2023-1-AP4-4805).*

Makale Atıfı: *Biltekin N, Ünal GG, Onaç C, Bingöl O, Alkaya D, Döğen A ve ark. Depolanan elmalarda Exophiala varlığı: Tek sağlık perspektifinden değerlendirme. Mikrobiyol Bul 2026;60(2):200-211.*

ÖZ

Tek sağlık perspektifi, insan, hayvan ve bitki sağlığının birbirleriyle bağlantılı ve bağımlı olduğunu kabul eden ve her birini sürdürülebilir şekilde iyileştirmeyi amaçlayan birleştirici ve bütünleşik bir yaklaşımdır. Özellikle, koronavirüs hastalığı 2019 pandemisi sonrasında bu perspektif önem kazanmış ve halk sağlığının bir bileşeni olarak kabul edilmiştir. Mantar enfeksiyonları da ekinlerden, hayvan ve insanlara dek uzanan ekosistemler için önemli riskler oluşturmaktadır. Bu riskler, kısmen insan ve hayvan hareketliliğinden kaynaklanmakta olup iklim değişikliğiyle birlikte artış göstermiştir. Bu nedenle gıda güvenliği, gelişen toplumların ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Dünya genelinde en çok tüketilen meyve elmadır. Elmanın insan sağlığı yönünden birçok yararı olduğu; özellikle kanser, diyabet, kalp hastalıkları ve inme gibi kronik hastalıkların riskini azalttığı bildirilmiştir. Önceki araştırmalar, dünya genelinde önemli insan patojenleri olan ve çok ilaca dirençli *Candidozyma auris* ve *Candida parapsilosis*'in elma kabuklarından izole edildiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, ender de olsa, elmalarda insan ve hayvanlarda da patojen olabilen *Exophiala dermatitidis* ve *Exophiala phaeomuriformis* gibi esmer mantarlara da rastlanmıştır. Bu çalışmada ülkemizin farklı bölgelerinde üretim sonrası depolama sürecinden geçerek semt pazarlarında satılan elmalarda ekstremotoleran *Exophiala* türlerinin varlığını ve izole edildikleri elmalarda poliaromatik hidrokarbon (PAH) düzeylerini incelemek amaçlanmıştır. Ayrıca, bu moleküllere dirençli olmaları nedeniyle, PAH kirliliğinin biyolojik göstergesi olarak elmalarda *Exophiala* türlerinin kültüre edilebilmesinin değerinin incelenmesi ve çalışma verilerinin tek sağlık perspektifi doğrultusunda tartışmaya açılması ve konu üzerine

İletişim (Correspondence): *Dr. Aylin Döğen, Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (505) 552 6240,* ***E-posta (E-mail):*** *aylinats@mersin.edu.tr*

dikkat çekilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, Türkiye'de 24 farklı ilde semt pazarlarından toplanan 549 elmada esmer mantarların varlığı araştırılmıştır. Elma kabuklarından steril ekövyon ile örnekleme yapılmış ve Sabouraud glikoz agar, Staib agar ve Czapek besiyerlerine ekim yapılmıştır. Esmer mantar ile uyumlu olan izolatlar daha sonra rDNA ITS bölgesi dizilenerek tanımlanmıştır. CLSI mikrodilüsyon yöntemiyle beş ayrı triazole karşı duyarlılık araştırılmıştır. Ayrıca, esmer mantar üretilen elmaların kabuklarından poliaromatik hidrokarbonların (PAH) miktarının belirlenmesi için indikatör olarak benzo[a]antrasen, benzo[b]flüoranten, benzo[a]piren ve krizen ölçümleri yapılmıştır. Çalışmada, dört (%0.7) elmada *E.phaeomuriformis* belirlenmiştir. Bu izolatlara Ankara, Antalya (Finike ilçesi), Kayseri ve Kars (Sarıkamış ilçesi) illerinde rastlanmıştır. İzolatların üçünde antifungal duyarlılık test edilmiş ve flukonazol dışındaki tüm triazol antifungallere karşı düşük MİK değerleri bulunmuştur. Dört elmanın kabuklarında da primer çevresel kirletici olarak kabul edilen dört ayrı bileşik ölçümleri Avrupa Birliği ve Türk Gıda Kodeksi limitlerine göre yüksek olarak saptanmıştır. Bu durum, PAH kirliliğinin göstergesi olarak aromatik hidrokarbonları karbon kaynağı olarak kullanabildiği bilinen *E.phaeomuriformis*'in biyolojik indikatör olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, elma kabuklarının oligotrofik habitat olarak kabul edilebileceği kanısına varılmıştır. Sonuç olarak, gıda güvenliği yanında halk sağlığı hizmetlerinin iyileştirilmesi ve geliştirilmesine olan gereksinim açıktır.

Anahtar kelimeler: *Exophiala; elma; tek sağlık.*

ABSTRACT

The one health perspective is an integrative and holistic approach that recognizes the interconnection and interdependence of human, animal and plant health and aims to improve each sustainably. This perspective has gained particular importance following the coronavirus disease-2019 pandemic and has been acknowledged as a component of public health. Fungal infections also pose significant risks to ecosystems, ranging from crops to animals and humans. These risks partly arise from human and animal mobility and have increased alongside climate change. Therefore, food safety has become an integral part of developing societies. Apples are the most widely consumed fruit worldwide. They are known to have multiple health benefits and have been reported to reduce the risk of chronic diseases such as cancer, diabetes, heart disease and stroke. Previous studies have shown that important human pathogens, including multidrug-resistant *Candidozyma auris* and *Candida parapsilosis* were isolated from apple peels. Moreover, although rarely, dematiaceous fungi such as *Exophiala dermatitidis* and *Exophiala phaeomuriformis*, which can also be pathogenic for humans and animals, have been identified in apples. The aims of the study were to investigate, the presence of extremotolerant *Exophiala* species in apples that undergo post-harvest storage processes and are sold in local markets across different regions of Türkiye, as well as the polyaromatic hydrocarbon (PAH) levels in the apples from which these isolates were obtained. Additionally, given their resistance to these molecules, the value of culturing *Exophiala* species on apples as a biological indicator of PAH pollution and to discuss the findings within the framework of the One Health perspective and to draw attention to this issue were aimed in the study. In the present study, the presence of dematiaceous fungi was investigated in 549 apples collected from local markets in 24 different provinces of Türkiye. Sampling was performed from apple skins using sterile swabs and inoculation was carried out on Sabouraud dextrose agar, Staib agar and Czapek media. Isolates compatible with dematiaceous fungi were subsequently identified by sequencing the rDNA internal transcribed spacer region. Antifungal susceptibility testing against five different triazoles was performed using the CLSI microdilution method. Furthermore, benzo[a]anthracene, benzo[b]fluoranthene, benzo[a] pyrene, and chrysene were measured as indicators to determine the amount of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the skins of apples from which dematiaceous fungi were recovered. In this study, *E.phaeomuriformis* was identified in four apples (0.7%). These isolates were detected in the provinces of Ankara, Antalya (Finike district), Kayseri, and Kars (Sarıkamış district). Antifungal susceptibility testing was performed for three isolates, and low MIC values were found for all triazole antifungals except fluconazole.. The levels of the four compounds, considered primary environmental pollutants were determined to be high in the skins of all four apples according to the European Union and Turkish Food Codex limits. This suggests that *E.phaeomuriformis*, which is known to utilize aromatic hydrocarbons as a carbon source, could be used as a biological indicator of PAH pollution. Additionally, apple skins were

considered to represent an oligotrophic habitat. In conclusion, beyond food safety, the need to improve and strengthen public health services is evident.

Keywords: *Exophiala; apple; one health.*

GİRİŞ

Exophiala cinsi, Herpotrichiellaceae ailesine ait anamorfik bir esmer mantar olup hem bağışıklığı baskılanmış bireylerde, hem de sağlıklı kişilerde enfeksiyon oluşturabilme özelliğine sahiptir. Enfeksiyonları yüzeysel, subkutanöz veya invaziv olabilir. Önceleri bitkisel saprofit olarak adlandırılsalar da pH, sıcaklık ve tuz toleransı gibi çevresel faktörlerin uç değerlerinde kolaylıkla kolonize olur ve hızlıca çoğalmaya başlarlar. Bu durum, ekstremotolerans olarak tanımlanır[1-3]. Bu özellikleri sebebiyle, kutup bölgelerinden çöllerde kayaç yüzeylerine kadar farklı fiziksel ortamlardan izole edilebilmiştir. Ek olarak, soğutulmuş, dondurulmuş, su aktivitesi kontrollü gıdalar ve raf ömrü uzun ürünlerde de varlıklarına rastlanmaktadır[4].

Exophiala izolatları yüksek düzeyde hidrokarbon kirliliği bulunan ortamlarda kolaylıkla kolonize olabilirler. Ülkemizde de krezot bulaşıklığının yüksek olduğu demiryollarından ve hidrokarbon yapılı moleküllerin sık kullanımı sonucu atık bıraktığı bulaşık makinelerinden izole edilmiştir[5-7]. *Candidozyma auris*'in çevresel varlığına yönelik yapılan bir araştırmada ise beklenmedik bir şekilde elmaların yüzeylerinde *Exophiala* kolonizasyonu tespit edilmiştir[8]. Birçok gıdanın üretim ve depolama ortamları, gıdaların kendi yapısının yanı sıra, ekstremotoleran veya ekstremofilik mikrobiyotanın seçilimini kolaylaştırarak bu mikroorganizmaların ortamda yoğun bir şekilde bulunmasını sağlayabilir[4]. Ekstremotoleran *Exophiala dermatitidis* ve *Exophiala phaeomuriformis*'in, düşük besin ortamına, hafif ozmotik ve oligotrofik (yavaş büyüme, düşük metabolizma hızı ve genellikle düşük popülasyon yoğunluğu gösterebilen) ortamlara uyumu çok iyidir. Ancak bu mantarların kolonizasyon sürecinde izledikleri yol henüz aydınlatılamamıştır[9-11].

Poliaromatik hidrokarbonlar (PAH) iki veya daha çok aromatik (benzen) halkasının kaynaşması ile ortaya çıkar. Odun, kömür, petrol, gaz veya katı yağ gibi organik maddelerin eksik yanması sırasında oluşan büyük bir kimyasal bileşik grubudur. Endüstriyel ürünler ile çevreye yayılan PAH bileşiklerin birçoğu Dünya Sağlık Örgütü tarafından primer kanserojen olarak kabul edilmiştir. Çevresel maruziyet; kirlenmiş hava, toprak ve suyun yanı sıra toprak ürünlerinde, sebzelerde ve kabuklu deniz ürünlerinde PAH birikimine yol açabilir. Gıda ile alınan ve genellikle bu formda toksik olmayan PAH bileşikler, karaciğer ve diğer dokulardaki enzimler ile diol epoksitler gibi reaktif ara ürünlere dönüştürülür. Bu reaktif metabolitler, hücresel DNA'ya kovalent olarak bağlanarak DNA-bağlı bileşikleri oluşturur. Bu hasar, DNA replikasyonunu ve onarımını engeller. Dört özgül PAH bileşiği [Benzo(a)antrasen (BaA), Krizen (Chr), Benzo(b)fluoranten (BbF) ve Benzo(a)piren (BaP)] topluca PAH4 olarak adlandırılır. Bu bileşikler, dünya genelinde ve özellikle Avrupa Birliği ülkelerinde düzenleyici amaçlarla en yaygın olarak kullanılan ve en önemli bileşikler arasında yer almaktadır. Kontaminasyonun değerlendirilmesinde gösterge belirteçleri olarak kullanılırlar. Popüler olmalarının sebebi, toplam riski değerlendirmedeki etkinlikleridir.

Bunlar yüksek molekül ağırlıklı PAH'lardır (4 ile 5 halka) ve metabolik ürünleri en güçlü kanserojenler arasında yer alır[12,13].

Bu çalışmada, ülkemizin farklı bölgelerinde üretim sonrası depolama sürecinden geçerek semt pazarlarında satılan elmalarda ekstremotoleran *Exophiala* türlerinin varlığını ve izole edildikleri elmalarda PAH düzeylerini incelemek ve çalışma verilerinin tek sağlık perspektifi doğrultusunda tartışmaya açılması ve konu üzerine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Elmaların Temini ve Örneklemesi

Çalışmada, Nisan–Haziran 2024 ayları arasında 24 farklı ilde bulunan semt pazarlarından 549 elma toplandı. Her pazardan, her satıcıdan en çok beş adet olmak üzere toplam 10–20 elma temin edildi. Bu örnekler, hasat sonrası soğuk hava depolarında bekletilen ürünlerden seçildi. Çapraz kontaminasyonun önlenmesi amacıyla her elma yine aynı satıcıdan alınan ayrı poşetler içine alındı. Elmalar taşıma esnasında birbirleriyle karışmadı. Alınan elmalar kargo şirketleriyle en geç üç gün içinde, oda sıcaklığında ve kapalı paketler içinde laboratuvara ulaştırıldı[8].

Mantar Kültürü

Laboratuvara ulaşan elmalardan, daha önce tanımlandığı şekilde yüzey örneklemesi yapıldı. Kısaca; 2 mL steril serum fizyolojik ile nemlendirilen eküvyon ile elmaların üst (apeks) ve alt (kaliks) bölgelerinden, toplamda 5 cm^2'lik alandan yaklaşık yirmişer saniye süreyle kabuğu delmeyecek şekilde bastırarak örnekler alındı. Alınan örnek yine aynı serum fizyolojik içinde süspanse edildi. İlk olarak %0.4 kloramfenikol içeren Sabouraud glukoz agar (SGA) (Merck, Darmstadt, Almanya) ve %1 bifenil içeren Staib agar besiyerlerine ekildi. Esmer mantarların zenginleştirilmesi amacıyla Isola ve arkadaşları[14] tarafından tarif edildiği şekilde glukoz içermeyen Czapek besiyeri (sodyum nitrat 2.0 g/L, dipostayum fosfat 1.0 g/L, magnezyum sülfat 0.5 g/L, potasyum klorit 0.5 g/L ve ferröz sülfat 0.01 g/L) temel besiyeri olarak kullanıldı. Dört farklı Czapek besiyerinin içine son konsantrasyonları 0.125 g/L olacak şekilde 4-hidroksibenzoik asit, protokatekuik asit, fenil-asetik asit ve katekol ilave edildi. Bakterilerin inhibisyonu için 0.1 g/L kloramfenikol eklendi[14]. SGA ve Staib agar ekimleri 28 °C'de 15 gün süreyle takip edildi. İçlerine aromatik hidrokarbon eklenmiş sıvı besiyerleri ise iki ay boyunca soğuk ortamda (+4 °C'de) bekletildi[15]. Süre sonunda her ekimden 30 µL hacim SGA'ya aktarıldı ve 28 °C'de 10 gün süreyle inkübe edildi. Tüm besiyerlerinde üreyen esmer maya kolonileri tanımlanması için SGA'ya pasajlandı ve işlem zamanına kadar +4 °C'de stoklandı.

Her örnek ayrı ayrı numaralandırılıp, tek tek paketlenerek PAH analizleri yapılıncaya kadar -40 °C'de donduruldu.

DNA İzolasyonu

SGA'da canlandırılan izolatlardan bir öze dolusu hücre 400 µL TEN tamponu [50 mM TrisHCl, 25 mM EDTA, 75 mM NaCl, 10 µL proteinaz K (20 mg/mL) (Sigma, St. Louis,

MO, Amerika Birleşik Devletleri) ve litikaz (5 U/µl) (Sigma)] ve 100 µL %10'luk sodyum dodesil sülfat içeren karışıma eklenerek 10–15 saniye vortekslendi. Ardından 55 °C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üzerine 600 µL fenol/kloroform/izoamil alkol (25:24:1) eklenip vortekslendi. Daha sonra 12000× g'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst faz ayrı bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve üzerine 600 µL soğuk izopropil alkol eklenip karıştırılarak 12000× g'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra çökelti üzerinde kalan faz dökülerek, üzerine 600 µL soğuk %70'lik etil alkol eklendi ve karıştırıldı. Ardından 8000× g'de beş dakika santrifüj edildi. Alkolün uzaklaştırması ve kurutma işleminden sonra 80 µL distile su ile süspanse edildi[16].

ITS Amplifikasyonu ve Dizi Analizi

İç transkripsiyonlu ara bölge [internal transcribed spacer (ITS)] 1-4 primerleri (ITS1: TCC GTA GGT GAA CCT GCG G, ITS4: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] gerçekleştirildi. Toplam hacim 25 µL olacak şekilde, 12.5 µL 2× karışım (Ampliqon Taq DNA Polymerase Master Mix, Odense, Danimarka), 0.5 µL (100 pmol/µL) her bir primer, 10.5 µL distile su ve 1 µL kalıp DNA eklenerek hazırlandı. Amplifikasyon, sıcaklık döngü cihazında (Techne Prime, Staffordshire, Birleşik Krallık) 95 °C'de beş dakika ilk denatürasyonu takiben, 35 döngü 95 °C'de 45 saniye, 57 °C'de 60 saniye ve 72 °C'de bir dakika ve son olarak 72 °C'de beş dakika olacak şekilde gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünleri %1 agaroz jel elektroforezi ile incelendi. ITS bölgeleri PCR'de çoğaltılan örneklere dizileme yapılarak tür düzeyinde tanımlama yapıldı[16].

Genotipleme

Elde edilen dizi analiz sonuçları ClustalW programı ile hizalandı ve MEGA sürüm 12 yazılımı (www.megasoftware.net) kullanılarak filogenetik ağaç analizleri ile karşılaştırıldı. *E.phaeomuriformis*'in genotip dizileri Uijthof ve arkadaşlarının[17] önerilerine göre yapıldı.

Antifungal Duyarlılık Testi

Exophiala izolatlarının triazol antifungaller (flukonazol, isavukonazol, itrakonazol, posakonazol ve vorikonazol) için duyarlılıklarının saptanmasında modifiye edilmiş Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü [Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)]-M38-A2 protokolü uygulandı[18]. Kısaca, flukonazol için MİK-2 (ilaç olmayan kontrol kuyucuğuna göre üremenin yaklaşık %50 inhibe olduğu kuyucuk) kullanılırken, diğer azoller için MİK-0 (üremenin tamamen inhibe olduğu kuyucuk) okuması değerlendirildi.

HPLC analizi

Exophiala türlerinin ürediği elmaların kabuklarında PAH miktarının saptanması için indikatör olarak benzo[a]antrasen, benzo[b]fluroantren, benzo[a]piren ve krizen düzeyi ölçümleri yapıldı[12,13].

Analizlerde kullanmak üzere analitik saflıkta n-heksane (CAS No: 110-54-3), diklorometan, DCM (CAS No: 75-09-2), asetonitril (ACN) (CAS No: 75-03-8), etanol (CAS No: 67-56-1), sodyum sülfat (CAS No: 7757-82-6), siklohegzan (CAS No: 110-82-7),

benzo[a]anthrasen (CAS No: 56-55-3), benzo[a]piren (CAS No: 50-32-8), benzo[b]flüoranten (CAS No: 205-99-2) ve krizen (CAS No: 218-01-9) ticari (Sigma-Aldrich) olarak temin edildi. Deneylerde ultra saf su kullanıldı.

Her bir standardın saflığı göz önünde bulundurularak, ACN içinde 1000 mg/L (ppm) birincil stok çözeltileri hazırlandı. Bu birincil stok çözeltilerinden yine ACN içinde 10 mg/L (ppm)'lik karışık standart çözelti hazırlandı ve seyreltilme ile ara stok çözeltileri elde edildi. Standartlar 2, 4, 6, 8 ve 10 µg/L (ppb) konsantrasyonlarında hazırlanarak yüksek performanslı sıvı kromatografi [high-performance liquid chromatography (HPLC)] sisteminde kalibrasyonda kullanıldı.

PAH ölçümleri için Thermo Ultimate 3000 Pump, Thermo Ultimate 3000 Auto Sampler ve Thermo Ultimate 3000 FLD Detector sistemleri kullanıldı. C18 Hypersil GOLD column (250 × 4.6 mm, partikül boyu 5 µm) PAH4 analizi için seçildi. Gradiyent sıcaklık yönteminde; mobil fazlar ACN (A) ve ACN: Su (40:60, v/v) (B), akış hızı 1 mL/dak, enjeksiyon hacmi 20 µL, uyarım dalga boyları 270 nm, 260 nm ve 256 nm ve çalışma süresi 50 dakika olarak uygulandı.

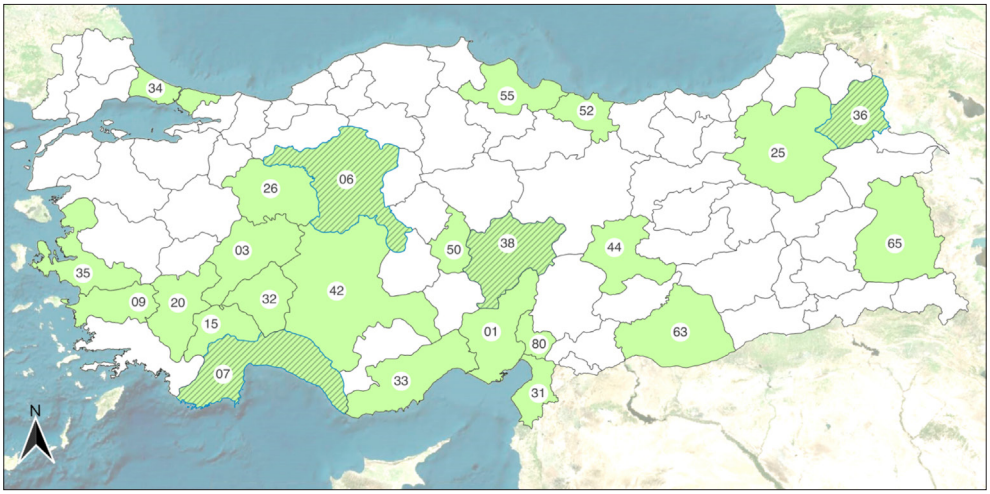
HPLC ile elma kabuklarından PAH ölçümü için; 6 g $MgSO_4$ ve 1.5 g NaOAc, 50 mL'lik vidalı kapaklı bir santrifüj tüpünde tartıldı. Derin dondurucuda saklanmakta olan elma kabukları homojenize edildi. On beş gram elma kabuğu numunesi tüpe eklendi. Ardından, ekstraksiyon çözücüsü olarak %1 asetik asit içeren 15 mL ACN eklendi ve tüp sıkıca kapatılarak iki dakika boyunca kuvvetlice çalkalandı. Karışım, 4000 rpm'de beş dakika santrifüj edildi ve ardından üstteki ACN katmanının yaklaşık 5 mL'si, 1200 mg $MgSO_4$, 400 mg primer-sekonder amin (PSA) ve 400 mg C18 içeren bir Q351 QuEChERS dSPE (ChromaScience Kimya, İstanbul, Türkiye) tüpüne aktarıldı. Bu tüp tekrar iki dakika boyunca kuvvetlice çalkalandı ve 4000 rpm'de beş dakika santrifüjlendi. Son olarak, elde edilen üst tabakanın bir kısmı HPLC analizi için bir otomatik örnekleme şişesine aktarıldı[19].

BULGULAR

Araştırmada incelenen 549 elmanın dördünün (%0.7) yüzeyinden [Sarıkamış (Kars), Ankara merkez, Finike (Antalya) ve Kayseri merkez] *E.phaeomuriformis* izole edilmiştir. Şekil 1'de sistematik elma örneklemesi yapılan iller yeşil renk ile; maya üremesinin olduğu iller siyah yatay tarama ile gösterilmiştir (Şekil 1). *E.phaeomuriformis* genotip dağılımı incelendiğinde Finike-Antalya, Ankara ve Sarıkamış-Kars izolatlarının genotip 1, Kayseri'de saptanan izolatın ise genotip 2 olduğu görülmüştür.

Araştırmaya alınan dört izolattan biri (Ankara izolatı) küf kontaminasyonu ve stoklama sorunları sebebiyle pasajlarda canlılığını yitirmiştir. Üç *E.phaeomuriformis* izolatına ait triazol antifungal duyarlılık testi sonuçları (µg/mL) Tablo I'de verilmiştir.

Araştırmada izole edilen *E.phaeomuriformis* izolatlarının kolonize oldukları elma kabuklarında saptanan dört indikatör PAH (PAH4) ölçüm değerleri Tablo II'de sunulmuştur.



Şekil 1. *E.phaeomuriformis kolonizasyonu taramasının yapıldığı iller (■: Örnekleme yapılan iller, ◪: İzolasyon yapılan iller, ⓘ: İl plaka kodu).*

Tablo I. *CLSI Mikrodilüsyon Yöntemiyle Üç E.phaeomuriformis İzolatına Ait Triazol Antifungal Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Değerleri (µg/mL)*

Antifungal	Sarıkamış-Kars izolatı-genotip 1	Finike-Antalya izolatı-genotip 1	Kayseri izolatı genotip 2
Flukonazol	32	16	16
İsavukonazol	<0.01	<0.01	<0.01
İtrakonazol	0.5	0.25	0.5
Posakonazol	0.25	0.12	0.06
Vorikonazol	0.12	0.06	<0.01

Tablo II. *E.phaeomuriformis Kolonizasyonunun Belirlendiği Elmalara İlişkin Poliaromatik Hidrokarbon Değerleri (µg/L)*

Poliaromatik hidrokarbon	Ankara	Finike-Antalya	Sarıkamış-Kars	Kayseri
Benzo[a]antrasen (CAS 56-55-3)	0.6126	3.3636	4.0646	7.9744
Benzo[b]flüoranten (CAS 205-99-2)	7.4333	31.6349	19.5944	34.9513
Benzo[a]piren (CAS 50-32-8)	2.1616	1.8876	8.3815	6.3274
Krizen (CAS 218-01-9)	1.7884	12.0812	11.6279	16.5231

TARTIŞMA

Bu çalışmada, 24 ilin semt pazarlarından temin edilen ve soğuk hava depolarında saklanan elmalarda esmer mantarların varlığı araştırılmıştır. Toplam 549 elmanın dördünde (%0.7) *E.phaeomuriformis* belirlenmiştir. Ayrıca, bu dört elmanın kabuklarında primer çevresel kirletici olarak kabul edilen dört ayrı PAH bileşiği yüksek olarak saptanmıştır.

Daha önceki bir araştırmada, ülkemizde farklı bölgelerden toplanan elmalarda benzer şekilde *Exophiala* izolasyonlarının yapılmış olması, PAH'ın depolanmış ürünlerde sürekli yüksek bulunabileceğini düşündürmüştür[8]. *Exophiala* saptanan elmalarda aynı zamanda yüksek PAH oranlarının saptanmış olması ve bu elmaların farklı bölgelerden izole edilmiş olması nedeniyle ülkemizin tüm bölgelerinde PAH kirlenmesi riski olduğu düşünülmüştür. Karsinojenik, genotoksik ve teratojenik olan bu bileşiklerin varlığı önemli bir halk sağlık sorunu haline gelmiştir[12,13].

Exophiala cinsi monoaromatik hidrokarbon ve PAH kirleticilerinin olduğu bölgelerde kolaylıkla kolonize olmuştur[5,9,20]. Ekstrasellüler sürfaktan üretimi sayesindeki çevresel hidrokarbonlardan kendisi için gerekli olan karbonu ayrıştırarak kullanıldığı belirlenmiştir[21]. Bu mantarların eşsiz uyum kabiliyeti, farklı pH aralıklarında (2.5–12.5), tuz konsantrasyonlarında (%5–17 NaCl), sıcaklıklarda 5–47 °C), çeşitli metal ortamlarında ve radyasyon varlığında yaşamlarını sürdürmelerine olanak tanımıştır[1,22,23]. Ülkemizde yürütülen bir başka araştırmada, *E.dermatitidis*'ten farklı olarak, *E.phaeomuriformis*'in daha yüksek rakımlarda kolonize olabildiği bildirilmiştir[6]. Çalışmamızda yer alan iki izolatın elde edildiği Kayseri ve Sarıkamış'ta hasat bölgelerinin 1300 metrenin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Önceki bir çalışmamızda, 26 ilden toplanan 528 elmanın beşinden (%1) *Exophiala* (dört *E.phaeomuriformis*, bir *E.dermatitidis*) izole edilirken, bu araştırmada ise yalnızca *E.phaeomuriformis* belirlenmiştir[8]. Yine bir fark olarak, Karakoyun ve arkadaşlarının çalışmasında[8] yüksek irtifada izole edilen *E.phaeomuriformis* izolatı bulunmamıştır. Sunulan çalışmadaki bu veriler, Gümral ve arkadaşlarının[6] yüksek rakımlarda izolasyonların yapılabileceğine ilişkin hipotezini desteklemiştir.

PAH bileşiklerinin hem büyük çeşitliliği, hem de örnekler içindeki miktarlarındaki değişkenlik sebebiyle kantitatif olarak belirlenmelerinin zor olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple tespit, en güçlü ve en önemli PAH bileşiği olarak bilinen BaP (Grup 1 kanserojen)'ye odaklanmıştır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi, BaP analizinin tek başına yeterli olmadığını ve bunun yerine dörtlü PAH (PAH4) sisteminin (BaA, BaP, BbF ve Chr) veya sekizli PAH (PAH8) sisteminin (BaA, BaP, Chr, BkF, BbF, IcdP, Dah ve BgiP) kullanılması gerektiğini belirtmiştir[24]. İnsan sağlığı üzerindeki bu etkiler sebebiyle, Türkiye'de dahil olmak üzere birçok ülkede, insanların bu bileşiklere maruz kalmasını kontrol altına almak için gıdalarda BaP ve dörtlü PAH bileşiklerinin izin verilen maksimum seviyesi belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Kirleticiler Yönetmeliği ve Avrupa Birliği (AB) direktifine göre, PAH bileşiği BaP için üst sınır belirlenmiş olup dört PAH'ın toplamı µg/kg olarak bildirilmiştir. Çoğunlukla tütsülenmiş ve doğrudan alev üzerinde pişirilen gıdalar ön plana alınarak yapılan bu üst sınır değerler TGK ve AB yönergelerine göre; BaP için 1–5 µg/kg (sıvı için µg/L), PAH4 için 1–35 µg/kg (sıvı için µg/L) arasında bildirilmiştir[25,26]. Çalışmamızda BaP düzeyleri Sarıkamış-Kars ve Kayseri'den temin edilen elmalarda, PAH4 düzeyleri ise Ankara dışındaki diğer elmalarda yüksek bulunmuştur (Tablo II).

Elma kabuklarında saptanan PAH varlığının kaynağı kesin olarak belirlenememiştir. Kabuklardaki PAH birikimi hem meyve yetiştiriciliği esnasında kullanılan kimyasallardan hem de depolama sürecinde uygulanan koruyucu kimyasal bileşiklerden kaynaklanmış olabilir. Avrupa'da Paris İklim Sözleşmesi doğrultusunda "Avrupa Yeşil Mutabakatı"nın

uygulanmasına çalışılmaktadır. Bu sözleşme, Avrupa'yı 2050'ye kadar sera gazı emisyonlarının net olarak sıfırlandığı dünyanın ilk iklim-nötr kıtası haline getirmeyi hedeflemiştir. Elma gibi depolanmış ürünlerde kullanılan antimikrobiyal veya biyolojik inhibitörlerin takip edildiği belirlenmiştir[27]. Düşük molekül ağırlıklı PAH'ların, yüzey adsorpsiyonu yoluyla sebze ve meyvelerin işlem görerek mumlanmış yüzeylerinde birikebileceği görülmüştür. Yüksek molekül ağırlıklı PAH'ların kirli hava kaynaklı atmosferik etkileşimler sonucu ürün yüzeylerini kirletebildiği görülmüştür[24]. Elmalarda PAH birikiminin depolanma aşamasında daha yüksek olduğu raporlanmıştır[28]. Bu kirlenmenin havada yüksek oranda PAH kaynaklı olduğu, ürünlerin kuru veya yaş olarak depolandıklarında farklılık gösterdikleri bildirilmiştir[28]. Aynı zamanda ürünlerin kara yolu ile aktarımı sırasında özellikle egzoz atıklarına maruz kalmanın da önemli olduğu vurgulanmıştır[29]. Ayrıca, kırsal alanda meyvelerde PAH maruziyetinin kentsel bölgelerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir[30]. İnsanların elma tüketimi ile almış olduğu PAH dozunun Çekya'da 0.45 µg/gün olduğu hesaplanmıştır[31]. Macaristan'da yapılan bir çalışmada, tüketime yönelik olarak elma yüzeyinden PAH'ın temizlenmesine yönelik yıkama işlemleri başarılı olmamıştır[32]. Ülkemizde ise Karadeniz bölgesinden toplanan farklı meyve ve lifli sebzelerde PAH varlığı araştırılmıştır. Bu araştırmada, çocuklar ve genç tüketiciler için yaşam boyu kanser riski üzerinde düşük etkili olduğu bildirilmiştir[33]. Ancak bulgularımız depolanmış elmaların kabuklarında yüksek miktarda PAH varlığını göstermiştir (Tablo II). Bu çalışmada, PAH yüksekliğini gösteren bir indikatör olarak, esmer bir maya mantarı olan *E.phaeomuriformis*'in varlığı öne sürülmüştür Bununla birlikte, çalışmanın kısıtlılığı olarak, depolanmış örneklerin depolanmadan önceki elma kabuklarındaki PAH verilerine ait ölçümlerin olmadığı tespit edilmiştir. Bu sebeple, elmalardaki depolama öncesi (tarımsal işlemler) ve test aşamasında (depolama sonrası) PAH varlığının değişimi mevcut literatüre göre yorumlanmıştır[27-32].

Çevresel *E.phaeomuriformis* izolatlarının antifungal duyarlılıklarına ilişkin veriler sınırlıdır. Literatürde her birinde ikişer izolatın yer aldığı iki ayrı raporda; flukonazol için 8–256 µg/mL, itrakonazol için 0.25–1 µg/mL, posakonazol için 0.008–1 µg/mL ve vorikonazol için 0.008–0.125 µg/mL MİK aralıkları bildirilmiştir[18,34]. Bu antifungallere yönelik çalışmamızda saptamış olduğumuz MİK değerlerinin de bildirilen aralıklar içinde yer aldığı belirtilmiştir. Henüz yeni bir triazol antifungal olması sebebiyle isavukonazole ilişkin veriler, ulaşılabilen literatürde veri bulunamadığından karşılaştırmalı olarak tartışılamamıştır. Önemli bir kısıtlılık olarak antifungal duyarlılık testi yapılan örnek sayısının az olmasının, antifungal testlerle bulunan sonuçların genellenebilirliğini sınırladığı düşünülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmada, bulgularımız ışığında *E.phaeomuriformis*'in depolanmış ürünler üzerinde PAH kirliliğini gösterebilecek bir biyolojik indikatör olabileceği öne sürülmüştür. Aynı zamanda halk sağlığı açısından depolanmış meyvelerde PAH ile kirlenmiş ürünlere maruziyetin yaratacağı sorunların öngörülerek, daha kontrollü ve dikkatli depolama stratejilerine ihtiyaç bulunduğunu düşünmekteyiz.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2023-1-AP4-4805 no'lu proje ile desteklenmiştir

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma için etik kurul onayı gerekmemektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Dogen A, Kaplan E, Oksuz Z, Serin MS, Ilkit M, de Hoog GS. Dishwashers are a major source of human opportunistic yeast-like fungi in indoor environments in Mersin, Turkey. Med Mycol 2013; 51(5): 493-8. https://doi.org/10.3109/13693786.2012.738313
2. Gostincar C, Lenassi M, Gunde-Cimerman N, Plemenitas A. Fungal adaptation to extremely high salt concentrations. Adv Appl Microbiol 2011; 77: 71-96. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387044-5.00003-0
3. Song Y, Laureijssen-van de Sande WWJ, Moreno LF, Gerrits van den Ende B, Li R, de Hoog S. Comparative ecology of capsular *Exophiala* species causing disseminated infection in humans. Front Microbiol 2017; 8: 2514. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02514
4. Cai S, Snyder AB. Genomic characterization of polyextremotolerant black yeasts isolated from food and food production environments. Front Fungal Biol 2022; 3: 928622. https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.928622
5. Dogen A, Kaplan E, Ilkit M, de Hoog GS. Massive contamination of *Exophiala dermatitidis* and *E.phaeomuriformis* in railway stations in subtropical Turkey. Mycopathologia 2013; 175(5-6): 381-6. https://doi.org/10.1007/s11046-012-9594-z
6. Gümral R, Tümgör A, Saraçlı MA, Yıldıran Ş T, Ilkit M, de Hoog GS. Black yeast diversity on creosoted railway sleepers changes with ambient climatic conditions. Microb Ecol 2014; 68(4): 699-707. https://doi.org/10.1007/s00248-014-0459-5
7. Gumral R, Ozhak B, Tümgör A, Saraçlı MA, Yıldıran ŞT, Ilkit M, et al. Dishwashers provide a selective extreme environment for human-opportunistic yeast-like fungi. Fungal Diversity 2015; 76: 1-9. https://doi.org/10.1007/s13225-015-0327-8
8. Karakoyun AS, Unal N, Metin B, Yıldırım Servi E, Spruijtenburg B, Özarslan MA, et al. Opportunistic yeasts on stored apples: A One Health perspective. One Health Mycol 2023; 1(1): 4-13. https://doi.org/10.63049/OHM.23.11.2
9. de León LR, Moreno-Perlín T, Castillo-Marenco T, Del Rayo Sánchez-Carbente M, Gostinčar C, Ramírez-Durán N, et al. Polyextremotolerant, opportunistic, and melanin-driven resilient black yeast *Exophiala dermatitidis* in environmental and clinical contexts. Sci Rep 2025; 15(1): 6472. https://doi.org/10.1038/s41598-025-88595-z
10. Quan Y, Deng S, Prenafeta-Boldů FX, Mayer VE, Muggia L, Cometto A, et al. The origin of human pathogenicity and biological interactions in Chaetothyriales. Fungal Diversity 2024; 125: 99-120. https://doi.org/10.1007/s13225-023-00518-3
11. Sudhadham M, Prakitsin S, Sivichai S, Chaiyarat R, Dorrestein GM, Menken SB, et al. The neurotropic black yeast has a possible origin in the tropical rain forest. Stud Mycol 2008; 61: 145-55. https://doi.org/10.3114/sim.2008.61.15
12. European Commission. Polycyclic aromatic hydrocarbons - Occurrence in foods, dietary exposure and health effects; European commision health and consumer protection, 2002.

13. Liu T, Zhang L, Pan L, Yang D. Polycyclic aromatic hydrocarbons' impact on crops and occurrence, sources, and detection methods in food: A review. Foods 2024; 13(13): 1977. https://doi.org/10.3390/foods13131977
14. Isola D, Selbmann L, de Hoog GS, Fenice M, Onofri S, Prenafeta-Boldú FX, et al. Isolation and screening of black fungi as degraders of volatile aromatic hydrocarbons. Mycopathologia 2013; 175(5-6): 369-79. https://doi.org/10.1007/s11046-013-9635-2
15. Isola D, Scano A, Orru G, Prenafeta-Boldu FX, Zucconi L. Hydrocarbon-contaminated sites: Is there something more than *Exophiala xenobiotica*? New insights into black fungal diversity using the long cold incubation method. J Fungi 2021; 7(10): 817. https://doi.org/10.3390/jof7100817
16. Turin L, Riva F, Galbiati G, Cainelli T. Fast, simple and highly sensitive double-rounded polymerase chain reaction assay to detect medically relevant fungi in dermatological specimens. Eur J Clin Invest 2000; 30(6): 511-8. https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2000.00659.x
17. Uijthof JM, Van Belkum A, de Hoog GS, Haase G. *Exophiala dermatitidis* and Sarcinomyces phaeomuriformis: ITS1-sequencing and nutritional physiology. Med Mycol 1998; 36(3): 143-51. https://doi.org/10.1046/j.1365-280X.1998.00143.x
18. Gülmez D, Doğan Ö, Boral B, Döğen A, İlkit M, de Hoog GS, et al. In vitro activities of antifungal drugs against environmental *Exophiala* isolates and review of the literature. Mycoses 2018; 61(8): 561-69. https://doi.org/10.1111/myc.12779
19. Lehotay SJ. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate. J AOAC Int 2007; 90(2): 485-520. https://doi.org/10.1093/jaoac/90.2.485
20. Prenafeta-Boldú FX, Summerbell R, de Hoog GS. Fungi growing on aromatic hydrocarbons: Biotechnology's unexpected encounter with biohazard? FEMS Microbiol Rev 2006; 30(1): 109-30. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2005.00007.x
21. Ergin C, Aksoy L, Kaplan E, Ilkit M. A comparison of biosurfactant production between clinical and environmental *Exophiala* isolates. Mikrobiyol Bul 2018; 52(3): 293-99. https://doi.org/10.5578/mb.66755
22. Ergin Ç, Gök Y, Bayğu Y, Gümral R, Özhak-Baysan B, Döğen A, et al. ATR-FTIR spectroscopy highlights the problem of distinguishing between *Exophiala dermatitidis* and *E.phaeomuriformis* using MALDI-TOF MS. Microb Ecol 2016; 71(2): 339-46. https://doi.org/10.1007/s00248-015-0670-z
23. Romsdahl J, Schultzhaus Z, Chen A, Liu J, Ewing A, Hervey J, et al. Adaptive evolution of a melanized fungus reveals robust augmentation of radiation resistance by abrogating non-homologous end-joining. Environ Microbiol 2021; 23(7): 3627-45. https://doi.org/10.1111/1462-2920.15285
24. European Food Safety Authority. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. EFSA J 2008; 724: 1-114. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.724
25. European Union: Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Official Journal of the European Union. L215, 4-8. 2011.
26. T.C. Resmî Gazete. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliği. In. Ankara: Resmî Gazete; 2011.
27. Mikus M, Galus S. Extending the shelf life of apples after harvest using edible coatings as active packaging-A review. Applied Sciences 2025; 15(2): 767. https://doi.org/10.3390/app15020767
28. Salinas RO, Gonzalez GD, Bermudez BS, Tolentino RG, Vega YLS. Presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in apple in rural terrains from Mexico City. Bull Environ Contam Toxicol 2010; 85(2): 179-83. https://doi.org/10.1007/s00128-010-0060-7
29. Paris A, Ledauphin J, Poinot P, Gaillard JL. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables: Origin, analysis, and occurrence. Environ Pollut 2018; 234: 96-106. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.028
30. Di Fiore C, Maio M, Notardonato I, Avino P. Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in various fruit types: A comparative analysis. Atmosphere 2024; 15(9): 1028. https://doi.org/10.3390/atmos15091028
31. Jánská M, Hajslová J, Tomaniová M, Kocourek V, Vávrová M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables grown in the Czech Republic. Bull Environ Contam Toxicol 2006; 77(4): 492-99. https://doi.org/10.1007/s00128-006-1091-y

32. Lányi K, McConville J, Diriczi T. Urban air pollution and food safety: A comparative study of PAH contamination in fruits sold outdoors and indoors. Urban Sci. 2026; 10(2): 76. https://doi.org/10.3390/urbansci10020076

33. Kacmaz S, Altiok E, Altiok D. Polycyclic aromatic hydrocarbon in fruits and vegetables grown in Turkey: Quantitative analysis, dietary exposure, and health risk assessment. Polycyclic Arom Comp 2023; 43(208): 6858-67. https://doi.org/10.1080/10406638.2022.2126507

34. Kondori N, Jaen-Luchoro D, Karlsson R, Abedzaedeh B, Hammarstrom H, Jonsson B. *Exophiala* species in household environments and their antifungal resistance profile. Sci Rep 2024; 14(1): 17622. https://doi.org/10.1038/s41598-024-68166-4

Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.
Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.
©Telif Hakkı 2026 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.