Cilt / *Volume* 48
Sayı / *Number* 4
Aralık / *December* 2018

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✔ Su Kaynaklı Bir Hastalık Olarak Lejyoner Hastalığı ve Çevresel Sürveyans
- ✔ Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde Solunum Sistemi Örneklerinden Izole Edilen *Streptococcus pneumoniae* Izolatlarının Serotip Dağılımı ve Antibiyotiklere Direnç Profili
- ✔ Uzamış Lenfadenopatili Çocuklarda EBV-DNA Saptanması
- ✔ Lavanta, Ada Çayı, Kekik ve Papatya Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması
- ✔ Kahverengi Pigment Üreten *Acinetobacter baumannii* ile Enfekte Bir Hastanın Olgu Sunumu

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 48

Sayı / *Number* 4

Aralık / *December* 2018

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 48 Sayı / *Number* 4 Aralık / *December* 2018

Editör / *Editor in Chief*

Çağrı Ergin
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli

Bölüm Editörleri / *Section Editors*

Sebahat Aksaray; Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Nilay Çöplü; Kastamonu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Ayşe Esra Karakoç; Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Ebru Evren; Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Bedia Dinç; Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Ramazan Gümral; Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Funda Doğruman-Al; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışmanlar Kurulu / *Advisory Board*

Gülay Aral Akarsu, Ankara
Ilgaz Akata, Ankara
Sinem Akçalı, Manisa
Mustafa Altındiş, Sakarya
İmre Altuğlu, İzmir
M. Altay Atalay, Kayseri
Özlem Kurt Azap, Ankara
Gülçin Bayramoğlu, Trabzon
Nural Cevahir, Ankara
Özgür Ceylan, Muğla
Candan Çiçek, İzmir
Hande Dağcı, İzmir
Hadiye Demirbakan, Gaziantep
Gönül Dinç, Manisa
Yavuz Dodurga, Denizli
Bora Doğan, Antalya
Gülfem Ece, İzmir
Beyza Ener, Bursa
Haluk Erdoğan, Antalya
Sevgi Ergin, İstanbul
Şafak Ermertcan, İzmir
Ayşe Everest, Mersin
Selma Gökahmetoğlu, Kayseri
Z. Ceren Karahan, Ankara
Berna Gültekin Korkmazgil, Aydın
Şaban Gürcan, Edirne
Sevim Meşe, İstanbul
Dilek Y. Metin, İzmir
Müşerref Otkun, Çanakkale
Dilara Öğünç, Antalya
Mehmet Özdemir, Konya
Süleyha Hilmioğlu Polat, İzmir
Fatma Mutlu Sarıgüzel, Kayseri
Arzu A. Sayıner, İzmir
Gürkan Semiz, Denizli
Mehmet Sami Serin, Mersin
Güner Söyletir, İstanbul
Şinasi Taner Yıldıran, Ankara
Yakut Akyön Yılmaz, Ankara
Erkan Yurtçu, Ankara

Yayımlanan sayıya ait değerlendirme sürecini kapsamaktadır.

"TÜBİTAK ULAKBİM Tıp Veri Tabanı" ve "Türkiye Atıf Dizini" tarafından indekslenmektedir.

Sahibi / *Owner*

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Adına
On Behalf of The Turkish Society of Microbiology

Prof. Dr. Barış Otlu

Yazışma Adresi / *Correspondence Adres*

Prof. Dr. Çağrı Ergin
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Morfoloji Binası
Kınıklı / Denizli
Tel: 0258 296 24 91
e-posta: tmcdeditor@gmail.com
www.tmc-online.org

Mart, Haziran, Eylül, Aralık olmak üzere yılda 4 kez yayınlanır.

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Her Hakkı Mahfuzdur.
Turkish Society of Microbiology, All Rights Reserved

Copyright © 1993 **Yayın Türü:** Yerel Süreli

Basım Yeri / *Printed by*

Logos Yayıncılık Tic. A.Ş.
Yıldız Posta Cad. Sinan Ap. No. 36 K.12 D.66-67
34349 Gayrettepe-İstanbul
Tel: 0212 288 50 22 - 288 05 41 **Faks:** 0212 211 61 85
e-posta: logos@logos.com.tr
www.logosyayincilik.com

Bu dergi **Acid Free (Alkali)** kağıda basılmaktadır. / *This journal is printed on* ***Acid-Free paper***

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ
JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 48 Sayı / *Number* 4 Aralık / *December* 2018

İÇİNDEKİLER / *CONTENTS*

DERLEME / *REVIEW*

- **Su Kaynaklı Bir Hastalık Olarak Lejyoner Hastalığı ve Çevresel Sürveyans**
  Legionnaires' Disease as a Waterborne Disease and Environmental Surveillance
  Cavit Işık YAVUZ **211-227**

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / *CLINICAL INVESTIGATIONS*

- **Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde Solunum Sistemi Örneklerinden İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* İzolatlarının Serotip Dağılımı ve Antibiyotiklere Direnç Profili**
  Serotype Distribution and Antibiotic Susceptibility Patterns of Respiratory Isolates of Streptococcus pneumoniae from Hacettepe University Adult Hospital
  Belgin ALTUN, Banu SANCAK, Deniz GÜR **228-234**

- **Uzamış Lenfadenopatili Çocuklarda EBV-DNA Saptanması**
  Detection of EBV-DNA in Children with Prolonged Lymphadenopathy
  Şule DURMUŞ, Mustafa ÖNEL, Emin ÜNÜVAR, Ali AĞAÇFİDAN **235-240**

- **Lavanta, Ada Çayı, Kekik ve Papatya Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması**
  Investigation of Antimicrobial Effects of Lavender, Sage Tea, Thyme and Chamomile
  Halil İLKİMEN, Aysel GÜLBANDILAR **241-246**

- ***Blastocystis* spp.'nin Araştırılmasında Modifiye Formol-Eter Çöktürme Yöntemi, Ticari (Feconomics®) ve İki Farklı Modifikasyonunun Karşılaştırılması**
  A Comparison of a Modified Formalin-Ether Sedimentation Technique with a Commercial (Feconomics®) Method and its Two Modifications in the Investigation of Blastocystic spp.
  Merve AYDIN, İlkiz OĞUZ, Katren AL-BAKKOUR, Meryem ÇOLAK, Funda DOĞRUMAN AL, İpek MUMCUOĞLU, Semra KUŞTİMUR, Yusuf Kemal ARSLAN **247-255**

- **Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida* Türlerinin Dağılım ve Antifungal Duyarlılıkları**

  The Distribution and Antifungal Susceptibilities of Candida Species Isolated from Blood Cultures

  Özge KILINÇEL, Nida AKAR, Zeynep Dilara KARAMURAT, Emel ÇALIŞKAN, Şükrü ÖKSÜZ, Cihadiye Elif ÖZTÜRK, İdris ŞAHİN **256-263**

- **Beş Yaşın Altındaki Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs, Enterik Adenovirüs ve Norovirüs İnsidansı**

  Incidence of Rotavirus Enteric Adenovirus and Norovirus in Children Under Five Years of Age with Acute Gastroenteritis

  Gülçin ALP AVCI, Muhsin AKBABA **264-272**

OLGU SUNUMU / *CASE REPORT*

- **Kahverengi Pigment Üreten *Acinetobacter baumannii* ile Enfekte Bir Hastanın Olgu Sunumu**

  A Case Report of a Patient Infected with Brown Pigment Producing Acinetobacter baumannii

  Sebile HARMANKAYA, Seval ÖĞÜT, Özgen Alpay ÖZBEK **273-276**

DİZİN ..... **V-VIII**

YAZARLARA BİLGİ ..... **IX-X**

Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018;48(4):211-227
doi:10.5222/TMCD.2018.211

Derleme

Su Kaynaklı Bir Hastalık Olarak Lejyoner Hastalığı ve Çevresel Sürveyans

Cavit Işık YAVUZ
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara

ÖZ

Lejyoner hastalığı, Legionella pneumophila'nın neden olduğu, sık görülmeyen ancak belirli risk grupları için tehlikeli, ağırlıklı olarak pnömoni ile seyreden bir hastalıktır. Hastalık, suda bulunan Legionella bekterisinin aerosolize olması ve kontamine aeresollerin solunmasıyla bulaşır. Legionella suda ve toprakta doğal olarak bulunabilir. Çok farklı çevresel koşullara dayanıklıdır ve bu koşullarda yaşamını sürdürebilir. Sucul ortamlarda bulunur ve suda belirli şartlarda çoğalır. Hastalıktan korunmada temel strateji, binalarda su sistemlerinde ve suyla ilgili alanlarda önlemler alınmasıdır. Hastalığın kontrolünde çevresel sürveyans önemli bir yer tutmaktadır. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan yasal düzenlemeler ve Hastalık Kontrol Programı başta hastaneler olmak üzere birçok kuruluşa çeşitli yükümlülükler getirmektedir. Bu makalede, Lejyoner hastalığı bulaş yolu ve çevresel sürveyansın özellikleri hakkında bilgi aktarılması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Lejyoner hastalığı, çevresel sürveyans, su, biyofilm, su kaynaklı hastalık*

ABSTRACT

Legionnaires' Disease as a Waterborne Disease and Environmental Surveillance

Legionnaires' disease caused by Legionella pneumophila, is an uncommon but dangerous disease for certain risk groups and courses predominantly with pneumonia. The disease is caused by aerosolization and then inhalation of waterborne Legionella bacteria. Legionella species can be found naturally in water and in soil and they are resistant to environmental conditions. Legionella species are found in aquatic environments reproduce under certain conditions. The basic strategy for prevention is to take measures in the water systems and water related areas of the buildings. Environmental surveillance has an important role in the control of the disease. In our country a legal regulations and Disease Control Program enforced by Ministry of Health impose various obligations to many institutions including hospitals. In this article, it is aimed to give information about the features of transmission routes of Legionnaires' disease and environmental surveillance.

Keywords: *Legionnaires' disease, environmental surveillance, water, biofilm, waterborne disease*

GİRİŞ

İlk olarak 1976'da Amerika Birleşik Devletleri'nde ortaya çıkan ve ciddi düzeydeki pnömoni olgularından oluşan bir salgın incelemesi sonunda 1977 yılında Fraser ve ark. tarafından tanımlanan Lejyoner Hastalığı (LH), bu hastalığa yol açan bakteri grubuna da aynı adın verilmesine neden olmuş, McDade JE ve ark. tarafından *Legionella* bakterisi izole edilmiş ve hastalığın etkeni olduğu gösterilmiştir. Hastalığın adlandırılması Amerika Birleşik Devletleri'nin Philadelphia kentindeki bir otelde gerçekleştirilen "Pennsylvania American Legion" toplantısına dayanmaktadır. Bu toplantı sonrasında 182 kişide akut solunum yolu enfeksiyonu ortaya çıkması ve 29 kişinin ölmesi ile başlayarak 6 ay süren inceleme süreci sonunda hastalık ve etken tanımlanmış ancak bulaş kaynağı çok da net olarak ortaya konamamıştır[1,2]. Bu salgın incelemesi sırasında, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) tarafından, Gram negatif etken bakteri izole edilerek hastalığın görüldüğü gruba ve pnömoni tablosuna gönderme yapılacak biçimde bakteri *Legionella pneumophila* olarak, bu bakterinin

Alındığı tarih: 27.02.2018
Kabul tarihi: 26.06.2018

Yazarın ORCID bilgileri:
Cavit Işık Yavuz ✉ 0000-0001-9279-1740

bulunduğu cins ise *Legionella* olarak adlandırılmıştır[3].

Legionella bakterisinin şu ana kadar 59'dan fazla türü belirlenmiş olup 30 türün insanda enfeksiyon yaptığı gösterilmiştir[4]. *Legionella* bakterileri üç önemli enfeksiyon nedenidir; LH, Pontiac ateşi ve ekstrapulmoner sendrom[1,3]. Bu üç tablodan Pontiac ateşi grip benzeri bulgularla seyreden ateşli bir tablo oluştururken, LH akciğeri, ekstrapulmoner sendrom ise akciğer dışı organları tutarak ciddi klinik tablolara yol açmaktadırlar.

Gerek ölümle sonuçlanan bir pnömoni tablosuna yol açması gerekse de suyla bulaşan bir hastalık olması ve uygun müdahalelerle bulaşın önüne geçilebilmesi nedeniyle LH koruyucu hekimlik açısından önem taşımaktadır. Bu makalede hastalığın klinik boyutundan çok bulaş yolu ve bu yola dair alınması gereken önlemlere değinilmesi, çevresel sürveyansın özellikleri ve ülkemizde bu hastalığın kontrolüne dair mevzuat ve rehber hakkında bilgi verilmesi amaçlanmaktadır.

LEJYONER HASTALIĞI

Lejyoner hastalığı, *L.pneumophila*'nın neden olduğu, "ılımlı bir alt solunum yolu enfeksiyonundan, komaya kadar değişik ağırlıkta klinik görünümlerle" ortaya çıkabilen, ağırlıklı olarak pnömoni ile seyreden bir hastalıktır[5]. Sık görülmeyen ancak belirli risk gruplarında yaşamsal tehlike oluşturan bir hastalıktır. Avrupa'da 2006-2010 yılları arasında yıllık insidansının yüzbinde 1, mortalitesinin ise %6.6 olduğu bildirilmiştir[6].

Belirtileri bakteriyle karşılaşmadan sonra genellikle 2-10 gün arasında ortaya çıksa da 15 gün sonraya kadar uzayabilmektedir[7]. Bakteriyle karşılaşan çoğu sağlıklı bireyde herhangi bir sorunla karşılaşılmazken belirli gruplar hastalık açısından risk grubunu oluşturmaktadır. Küresel ölçekte yapılan değerlendirmelere göre, hastaların %74-91'i 50 yaş ve üzerindedir ve daha çok erkektir, erkeklerde kadınlara göre 1.4 ile 4.3 kat daha fazla görülmektedir[8].

ABD Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) risk gruplarını aşağıdaki başlıklarda sıralamaktadır[9]:

- Yaşlılar (özellikle 50 yaş ve üstü)
- Sigara kullanan ya da geçmişte kullanmış olanlar
- Kronik akciğer hastalığı olanlar (KOAH, amfizem vb.)
- Bağışıklık sistemi zayıflamış olanlar (kanser, diyabet, böbrek yetmezliği vb.)
- Bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaç alanlar (organ nakli sonrası kullanılan ilaçlar, kemoterapi ilaçları vb.)

Bu genel risk grupları yanında görüldüğü formlara göre de risk grupları sınıflandırmaları bulunmakta ve bu sınıflandırmalarda farklı yaş grupları belirtilmektedir (Tablo 1).

Lejyoner hastalığı olgu sayılarında yıllar içerisinde artış dikkati çektiği, olgu insidansının 2000 yılından günümüze ABD'de yaklaşık 4 kat, 1995 yılından bu yana Avrupa'da da yaklaşık 3 kat arttığı belirtilmekte ve ABD'de yılda 8-18 bin kişinin LH nedeniyle hastaneye yattığı tahmin edilmektedir[10,11].

Avrupa Birliği ülkelerinde sıklık 2014 yılı için yüz binde 1.4 olarak belirtilmekte ve bu rakam belirlenen en yüksek düzey olarak dikkat çekmektedir. 2014 yılında 30 Avrupa Birliği ve Avrupa Ekonomik Bölgesi ülkesinde 6412 doğrulanmış LH olgusu bildirimi yapılmış ve 456 ölüm (%8) saptanmıştır[12].

Hastalık üç kategoriye ayrılmakta ve risk grupları da hastalığın bu üç kategorisi için ayrı ayrı sıralanabilmektedir. Bu üç kategori toplum kökenli LH, seyahat ilişkili LH ve nozokomiyal

Tablo 1. Lejyoner hastalığı ve risk faktörleri[1,12].

Özellikler	Toplum tabanlı	Seyahat ilişkili	Nozokomiyal (Hastane tabanlı)
Geçiş yolu	Kontamine aerosollerin solunması	Kontamine aerosollerin solunması	Kontamine aerosollerin solunması Kontamine suyun aspirasyonu (daha ender) Kontamine suyun yara yeri ile teması (daha ender)
Kaynak	Soğutma kuleleri, sıcak ve soğuk su sistemleri, havuzlar (Termal havuzlar, spa havuzları, jakuzi vb.), evlerdeki su tesisatları, nemlendirici cihazlar, saksı toprağı ve kompost hazırlama	Soğutma kuleleri, sıcak ve soğuk su sistemleri, spa havuzları, jakuzi, termal kaplıcalar ve havuzlar, nemlendirici cihazlar	Soğutma kuleleri, sıcak ve soğuk su sistemleri, spa havuzları, jakuziler, doğal havuzlar, termal kaplıcalar, solunum ekipmanları, tıbbi tedavi
Legionella etkeninin bulunabildiği alanlar	Endüstriyel alanlar, alışveriş merkezleri, eğlence yerleri (restoranlar, kulüpler vb.), sosyal tesisler, kişinin yaşadığı konutlar	Oteller, yolcu gemileri, alışveriş merkezleri, eğlence yerleri (restoranlar, kulüpler vb.), sosyal tesisler, spor kulüpleri	Hastaneler, tıbbi ekipman
Çevresel risk faktörleri	Olası bulaş kaynaklarına yakınlık, soğutma suyu sistemlerinin kötü tasarımı ya da bakımsızlığı, personel eğitiminin yetersizliği	Kısa süreli ya da sezonluk olarak konaklanmak üzere tasarlanmış yerlerde kalmak, bu yerlerdeki odaların ve suyun aralıklı kullanımı (durgun su), aralıklı su temini (durgun su) ve sıcaklık kontrolünün dalgalanması (uygun sıcaklıkların sağlanamaması), karmaşık su sistemleri, su sistemini yönetecek eğitimli personel yokluğu.	Karmaşık su sistemleri, uzun boru hatları, su sıcaklığı kontrolünün yetersizliği (uygun su sıcaklıklarının sağlanamaması), düşük su akışı (suyun durgunlaşması)
Kişisel risk faktörleri	Kırk yaşın üstünde olmak Erkek olmak Altta yatan bir hastalığı olmak (diyabet gibi) Kronik kalp hastalığı olmak Sigara içmek Bağışıklığı baskılanmış olmak (özellikle glukortikoidler ve bağışıklık sistemini zayıflatan hastalıklar) Eşlik eden yapısal akciğer sorunları Kronik böbrek yetmezliği varlığı Hematolojik kanserlerin varlığı	Kırk yaşın üstünde olmak Erkek olmak Ağır sigara içicisi olmak Aşırı alkol tüketicisi olmak Altta yatan bir hastalığı olmak (diyabet gibi) Kronik kalp hastalığı olmak Bağışıklığı baskılanmış olmak	Yirmi beş yaşın üstünde olmak Organ tranplantasyonu hastaları Bağışıklığı baskılanmış hastalar Cerrahi müdahale geçiren hastalar (özellikle baş ve boyun cerrahisi) Kanser hastaları Diyabet hastaları Solunum cihazlarıyla tedavi alan hastalar Kronik kalp hastaları Kronik akciğer hastaları Sigara içenler Aşırı alkol tüketenler

LH'dir [1]. Bu üç kategoriden LH olgularının yaklaşık %70'inin toplum kökenli, yaklaşık %20'sinin seyahat ilişkili, yaklaşık %10'unun ise nazokomiyal olduğu belirtilmektedir[10]:

- **Toplum kökenli LH:** Toplum kökenli pnömonilerin %2-9'unun LH'ye bağlı olarak geliştiği tahmin edilmektedir[13]. Toplum kökenli LH'de kontamine su kaynağı ile temas farklı kaynaklarla gerçekleşebilmektedir. Literatürde soğutma kuleleri ile ortaya çıkan toplum kökenli

LH'ye dair yayınlar bulunmaktadır. 2006 yılından beri New York kentinde 6 toplum tabanlı LH salgını ortaya çıkmış ve bunların hepsi soğutma kuleleri ile ilişkili bulunmuş ve bu salgınlarda 213 olgu ortaya çıkmış, 18 kişi yaşamını kaybetmiştir[10].

- **Seyahat ilişkili:** Seyahatle ilişkili LH'de hastalığın inkübasyon döneminde kişinin yaşadığı yer dışında konaklama ve/veya seyahat öyküsü bulunmaktadır. ABD'de ve Avrupa'da bildirimi yapılan LH'lerin %20'sinin seyahat ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir[11].

- **Nozokomiyal LH:** Nasokomiyal LH'de hastanın hastalığın inkübasyon süresi içerisinde bir sağlık kurumunda bulunmuş olması söz konusudur. Nozokomiyal LH'de kesin olgu, LH tanısı almış kişinin semptomların ortaya çıkışından önceki on günlük süre boyunca hastanede bulunuyor olması biçiminde tanımlanmaktadır. Olası olgu ise kişinin semptomlarının başlamasından 10 gün önceki sürenin 1-9 gününde hastanede bulunması ve bulunduğu hastanede LH olgularının bulunması ya da aynı dönemde hastane su sisteminde hastadaki bakteri türü ile aynı izolatların elde edilmesi olarak tanımlanmaktadır[1]. Bazı araştırmalar hastanelerin %12 ile %70'inin su sistemlerinde *Legionella* bakterisinin kolonize olduğunu göstermektedir[13]. Nozokomiyal LH'de bulaş kontamine su ile temas edilen noktalar yanında tıbbi ekipmanlardan da kaynaklanabilmektedir. Solunum cihazları ve bronkoskoplar gibi tıbbi ekipmanların hastalık nedeni olmasında bu ekipmanların kontamine su ile temasının rol oynadığı ve bu ekipmanlardan *Legionella* içeren su damlacıklarının yayılabildiği belirtilmektedir[14]. Hastane kaynaklı LH bulaş yolu olarak bazı kaynaklarda aspirasyon daha sık suçlanmaktadır.

BULAŞ KAYNAĞI ve BULAŞ YOLU

Lejyoner hastalığı kontamine aeresollerin solunmasıyla bulaşır ve esas bulaş kaynağı sudur. Aerosoller, havada asılı katı ya da sıvı parçacıklardır ve her boyutta parçacık içerebilirler[15]. Aerosoller yanında kontamine suyun aspirasyonu da özellikle hastane kaynaklı LH için önemli bir bulaş yoludur ve hastanelerde daha çok üzerinde durulan bir yoldur[16]. Nazogastrik tüpler birçok çalışmada kontamine suyun mikroaspirasyonuna yol açması nedeniyle nozokomiyal *Legionella* için risk faktörü olarak nitelenmiştir[1].

Suyun aerosolize olması, binalardaki su sistemlerine, soğutma kulelerine, jakuzi, termal havuz vb alanlara ve dekoratif çeşme vb. yerlere *Legionella* bakterilerinin yerleşmesi ve çoğalması ile oluşabilmektedir. Kontamine su damlacıkları, duş başlıklarından ve lavabo musluklarından, suyun fışkırtılarak kullanıldığı hidroterapi ekipmanlarından (hidroterapi banyoları), suyla temas etmiş tıbbi ekipmanlardan, buz makinelerinden, soğutma kulelerinden, dekoratif çeşmeler ve peyzaj amaçlı su kaynaklarından, sıcak su tankları ve ısıtıcı sistemlerden ve büyük su tesisatlarından yayılabilir[14]. *Legionella* içeren bu damlacıklar, özellikle basınçla birlikte -duş başlığı örneğinde olduğu gibi- püskürme vb. süreçlerle havaya aerosolize olmakta ve bu aerosoller solunduğunda mikroorganizma vücuda girmektedir. Hastalıktan korunmada en önemli stratejinin başta su sistemlerinde olmak üzere suda mikroorganizmanın kontrolü olduğu belirtilmektedir[17].

Legionella su sistemlerinde her yerde bulunabilir ve bazı protozalarla ve biyofilm tabakalarıyla yakın ilişki içindedir. En az 20 amip ve iki silialı protozoonların *Legionella* için konak olduğu gösterilmiştir[4]. Sudaki biyofilm tabakaları ve amip ve silialı protozalar hem besin kaynağı hem de olumsuz şartlarda korunak görevi görürler ve *Legionella* için hayatta kalma alanlarıdır[18].

Ayrıca *Legionella* türleri, suyun yanında toprakta ve kompostlarda (gübrelerde) amiplerin içinde (*Acanthamoeba* türleri, *Naegleria* türleri, *Vermamoeba* türleri gibi) canlılığını koruyabilmekte ve gelişebilmektedir[6]. Toprak kökenli türleri arasında *Legionella longbeachae* başta gelmektedir ve Avustralya, Yeni Zelanda ve Japonya'da *L. pneumophila* enfeksiyonu kadar sık görüldüğü ve Avrupa'da da olguların %5'lik kısmında ilk sırada gelen etiyolojik etken olduğu belirtilmektedir[19].

Hastalığın bulaş yolunun su olması gerek hastalık sürveyansında gerekse de korunmada çevresel sürveyansın önemini arttırmaktadır.

SUDA *LEGIONELLA*

Legionella suda ve toprakta doğal olarak bulunabilir. Çok farklı çevresel koşullara dayanıklıdır ve bu koşullarda yaşamını sürdürebilir. Sucul ortamlarda bulunur ve suda belirli şartlarda çoğalır. İnsana bulaş açısından risk, içme suyu kaynağı olarak kullanılan yüzeyel ya da yer altı sularında bulunan *Legionella* bakterisinin su depolarına ve bina su sistemlerine ulaşıp yerleşmesi ve belirli fiziksel ve kimyasal koşullarla buralarda çoğalmasıyla ya da bina su sistemleriyle olmasa da bakteriyi içeren su ile farklı amaçlarla temas ile gerçekleşmektedir (Örn. rekreasyonel alanlar, soğutma kuleleri, jakuziler vb.).

Suda *Legionella* bakterinini gelişimini etkileyen bazı faktörler vardır[1]:

- **Suyun sıcaklığı:** *Legionella* bakterisinin önemli bir özelliği su sıcaklığının 20 ºC'nin üzerine çıkmasıyla birlikte suda çoğalmaya başlamasıdır. Bu durum bakterinin su siteminde yaygınlaşması ve bulaş açısından önemli bir risk faktörüdür. Bakteri sıcak suda 70ºC'a kadar yaşayabilmektedir. Yirmi-elli ºC'lık sıcaklık aralığında üreyebilir ve optimal üreme sıcaklık aralığı 32°-42°C olarak belirtilmektedir[20].
- **Suda diğer mikroorganizmaların varlığı:** Suda başka mikroorganizmaların bulunması, *Legionella* bakterisinin suda çoğalması konusunda özendirici bir faktör gibi görünmektedir. Bu durumun, sudaki diğer organizmaların *Legionella* bakterisi için besin kaynağı olarak işlev gören suda çözünmüş madde miktarıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu mikroorganizmalar arasında ilk sırayı protozoalar almaktadır. *Legionella* bakterisi protozoa içinde çoğalabilmektedir (Örn. *Acanthamoeba, Naegleria* ve *Hartmanella* spp). Protozoaların içine yerleşen *Legionella* uygun su sıcaklığı koşulları bulunduğunda burada çoğalmaya başlamakta ayrıca protozoanın içinde dezenfektanlardan korunabilmektedir[1].
- **Biyofilm tabakası:** Biyofilm oluşumu özellikle içme suyu dağıtım sistemleri için önemli risklerden biridir. Biyofilm, ürettikleri bazı maddelerle (hücre dışı polimerik maddeler-ekzopolimerler) yüzeye tutunan bir mikroorganizma kümesidir. Biyofilm su sisteminde suyla temas eden hemen her yerde bulunabilir ve buradan suya sürekli olarak mikroorganizma dökülmesine neden olabilir[21,22]. Biyofilm tabakasının gelişiminde suyun sıcaklığı, pH'sı, mikroorganizmalar için besin maddelerinin konsantrasyonu, hidrodinamik koşullar (akış hızı, su sisteminin dizaynı ve akışın olmadığı noktaların yaygınlığı gibi), su borularının tipi ve yıpranma durumu, var olan mikroorganizmaların tipi ve çeşitliliği ve sediment (tortu, çökelti) birikimi gibi faktörler rol oynayabilmektedir[22]. Su sisteminde ya da suyla temas eden yüzeylerde biyofilm varlığı *Legionella* bakterisinin sudaki varlığı ve çoğalması için önemli bir faktördür. Biyofilm tabakaları ya da alanlarında *Legionella* birçok protozoa türü (özellikle amip türleri) ile birlikte bulunurlar. Protozoa türleri beslenmek için biyofilm alanları üzerine yerleşirler ve *Legionella* da bu protozoa-

Tablo 2. Sıcak ve soğuk su sisteminde biyofilm ve mikrobiyolojik etken gelişimine etki eden bazı faktörler[26].

Soğuk su sistemi	Sıcak su sistemi
Durgunluk ve su akışının az oluşu	Sıcak su talebinin karşılanamaması
Su sıcaklığını uygun derecelerde tutulmaması (Mikrobiyal gelişime elverişli şartlar oluşmasına neden olur. Sıcak suyun 50 °C ve üzerinde, soğuk suyun 25 °C altında olması gerekir, sıcak ve su borularının bağlantılarının uygun yapılmaması soğuk suyun ısınmasına neden olabilir ve mikrobiyolojik gelişime zemin hazırlayabilir.)	Su sıcaklığının 50 °C'ın altında olması • Sıcak su sisteminde izolasyonun iyi olmaması • Sıcak su sisteminde ölü boşluk ve uzun boru alanlarının fazla olması nedeniyle su akışının durgunlaşması • Yüksek hacimli su depolarının kurulması (Durgunluğu destekler ve depoların dibindeki sularda sıcaklık düşer.) • Suyun depolandığı yerlerde yeterli sıcaklığın sağlanamaması • Su sitemi dizaynı ile ilgili sorunlar (su akışı ile ilgili sorunlar ve durgunluğa yol açabilecek sistemler). • Sus sitemi ile ilgili hatalı teknik uygulamalar (sıcaklık düşürücü önlemlerin hatalı yerleşimi vb.)
Kireçlenme ve korozyon (Su sisteminde hidrolik sorunlara neden olur ve yüzeylerde biyofilm tabakası gelişimine yol açacak hasarlar oluşturur.)	Korozyon ve kireçlenme (depoların dibinde sediment ve mikroorganizma birikimiyle sonuçlanır)
Suda askıda katı maddelerin varlığı (Mikrobiyolojik gelişim için besin ortamı oluşturur ve sediment oluşumuna neden olarak biyofilm gelişimine zemin hazırlar.)	Bakım ve temizliğin yetersiz olması
Organik maddeden zengin su yapısı	
Bazı su ekipmanlarının bakımının yetersiz olması ve aralıklı kullanımı (buz makineleri, soğutma kuleleri, kullanım tarihi geçmiş karbon filtreler vb. gibi) mikrobiyal gelişime neden olabilir (*Listeria*, *Pseudomonas, Legionella* ve mantarlar gibi).	

ların içine yerleşerek biyofilm tabakalarında varlığını sürdürmeye başlar. Protozoalar *Legionella* için bir habitat oluştururlar ve suda özellikle amip türü protozoaların varlığı *Legionella* salgını açısından bir risk faktörü olarak değerlendirilir[23]. Sıcak ve soğuk sularda biyofilm ve mikrobiyolojik gelişimi etkileyen bazı faktörler Tablo 2'de belirtilmiştir.

- **Sediment oluşumu:** Su sistemlerinde, depolarında ya da suyun kullanıldığı alanlarda sediment (çökelti, tortu) gelişimi mikrobiyolojik açıdan endişe verici bir durumdur. Sediment alanlarında birçok mikroorganizma yaşama ortamı bulabilmekte ve bu alanlar hem patojen hem de fırsatçı mikroorganizmaları barındırabilmektedir[24]. Bunlar arasında enterik patojenler (*Escherichia coli* ve *Klebsiella* türleri), *Pseudomonas aeruginosa, L. pneumophila,* nontüberküloz *Mycobacteria, Naegleria fowleri* ve bazı *Acanthamoeba* türleri, parazitler ve enterovirusler sayılmaktadır[25,26]. Dolayısıyla sediment *Legionella* bakterisinin yaşam ve gelişimi için oldukça uygun bir ortam sunmakta ve bu alanlardan *Legionella* örneği almak için swab (sürüntü) yöntemini kullanmanın su örneklerinden daha iyi olduğu ve bu yolla bakterinin daha kolay belirlenebileceği belirtilmektedir[24].
- **Suyun durgun oluşu:** Suyun durgunluğu *Legionella* bakterisinin üremesini özendiren bir çevresel koşul oluşturmaktadır. Durgunluk suyun bulunduğu alandan kaynaklanabildiği gibi (süs havuzları vb.), su dağıtım sistemle-

rinde durgunlaştığı bölgelerden ya da dağıtım sisteminin ölü boşluk olarak adlandırabileceğimiz akışı olmayan noktalarından kaynaklanabilir[20]. Özellikle sıcak su sistemlerindeki durgun su *Legionella* bakterisinin üremesi için çok uygun bir ortam oluşturmaktadır. Suyun özellikle kullanım noktasında bir başka deyişle uç noktalarda durgunlaşması *Legionella* kolonizasyonunu arttırmaktadır. Tesisatta sensörlü lavabo muslukları, lavabo drenaj boruları, buz makineleri, dekoratif çeşmeler gibi yerlerdeki durgunlaşmanın nozokomiyal bulaşla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır[27]. 2012 yılında yayımlanan bir çalışmada, *Legionella* bakterisinin elektronik sitemle çalışan lavabo musluklarında manuel musluklara göre daha fazla kolonize olduğunu gösterilmiştir[28].

- **Suyun diğer özellikleri:** Suyun pH'sı (5.0 - 8.5), su dağıtım sisteminin metalik yapısına bağlı korozyona uğraması nedeniyle suda bazı ağır metallerin konsantrasyonlarının artışı (Örn. demir) gibi bazı özellikleri *Legionella* bakterisini üremesini aktive edebilmektedir[20,26].

Suda *Legionella* bakterisi su numunesi alınarak ya da duş başlıkları, musluk vb. yerlerden sürüntü örneği alınarak belirlenebilmektedir. Su örnekleri, şebeke sistemi uç noktalarından, su depolarından, su tanklarından, soğutma kuleleri taban suyundan, dekoratif çeşmelerden, jakuzi ya da kaplıca havuzu gibi yerlerden alınabilmektedir. Sürüntü örnekleri ise duş başlığı, musluk ağızları gibi noktalardan alınır. Hastaneler için tıbbi ekipmanlardan da numune alınması gerekebilir. Bu amaçla "tıbbi nemlendiriciler, inhalasyon cihazları ve solunum terapi cihazlarının (nebülizör, ventilatör, soğuk buhar makinası vb.) en uç noktalarından (oksijen maskesi veya nasal oksijen hortumu)" sürüntü örnekleri ve su haznesi bulunan bu cihazların su haznelerindeki sudan örnek alınabilmektedir[20].

Sağlık Bakanlığı tarafından yayımlanan Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi, binaların su sitemlerinde numune alınması gereken noktalara dair bir çerçeve çizmektedir (Tablo 3).

Tablo 3. Binalarda su numunesi alma noktaları*[17].

Su örnek alım noktası
Sıcak su tankı
Soğuk su tankı
Merkezi havalandırma sistemi soğutma kulesi
Merkezi havalandırma sistemi kondansörü
Binaya giren şebeke suyunun deposu
Her katta en az bir odanın duş başlığı
Her katta en az bir odanın lavabo musluğu
Hastanede yoğun bakım lavabo musluğu
Hastanede ventilatör ve nebulizör suları vb.
Plaj/havuz kenarındaki duş başlıkları (*varsa*)
Dekoratif fıskiye *(varsa)*
Buz makinesi *(varsa)*
Jakuzi *(varsa)*
Türk hamamı *(varsa)*
Termal havuz *(varsa)*
Artezyen kuyusu *(varsa)*
Artezyen suyu deposu *(varsa)*

**Tablo Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi'nden alınmıştır.*

Ülkemizde su sistemlerinden alınan su örnekleri ile ilgili hastane su sistemlerinde *Legionella* üreme sıklığı ile ilgili yayımlanmış istatistik bulunmamakta, bazı çalışmalara rastlanmaktadır. Türkiye'de sayıları sınırlı da olsa su sitemlerindeki kolonizasyon ile ilgili yapılan çalışmalarda otellerde %10-76.2, hastanelerde %7-27.2, evlerde %21.3, soğutma kulelerinde %26, kaplıca termal sularında %11 oranında kolonizasyon saptanmıştır[4].

Bir çalışmada, 1995-1997 yıllarını kapsayan dönemde 21 otelden alınan 324 örneğin %17.5'inde, 2003-2005 yılları arasında turistik bir bölgede 52 otelden alınan 491 su ve sürüntü örneğini kapsayan bir başka çalışmada ise 36 otelde *Legionella* bakterisi üremiştir[29,30]. 2010 yılında yapılan bir başka çalışmada ise, yine önemli turizm merkezlerinden bir ilde faaliyet gösteren 56 otelden alınan 1043 *Legionella* su örnekte analiz edilmiştir. Yirmi bir otelde ve 142 numunede (%10.1) *Legionella* üremesi belirlenmiştir[31]. Bir başka çalışmada, Ankara, İzmir,

Konya ve Alanya'daki hastanelerden alınan 125 örneğin 34'ünde (%27) *Legionella* üremiştir[4]. İstanbul'da bir üniversite hastanesinde yapılan bir araştırmada, hastanenin çeşitli noktalarından alınan su örneklerinde *Legionella* %7 oranına üremiştir[32].

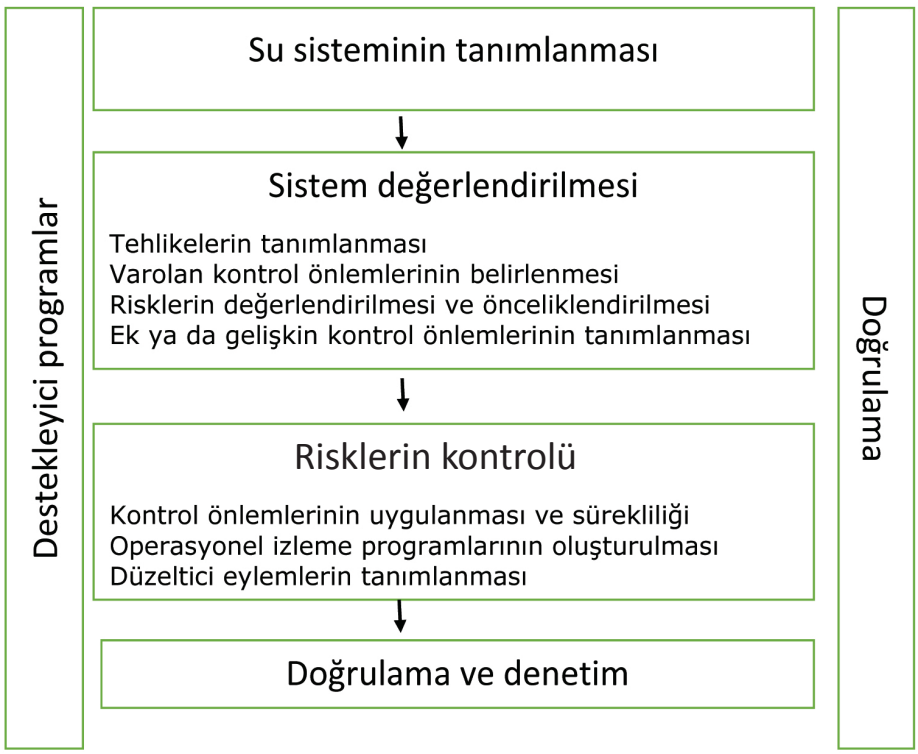
SU YÖNETİM PLANI

Suyla ilişkili alanlara ve su sistemlerine *Legionella*'nın yerleşmesi ve çoğalmasının önlenmesi LH ile ilgili temel korunma stratejisini oluşturmaktadır. Bu su sistemleri bir binanın, hastanenin büyük su sistemleri olabileceği gibi bir soğutma kulesi, spa havuzu, süs havuzu vb. yerler de olabilir. Bu stratejinin geliştirilebilmesi için çeşitli rehberler ve araçlar geliştirilmekte ve bazı standartlar uygulanmaktadır[33].

Bu amaçla özellikle başta hastaneler olmak üzere binalarda bir su yönetim planı oluşturulması gerektiği üzerinde durulmaktadır. Ülkemizde de yapılan son düzenlemeler ile hastanelerin de içinde yer aldığı çeşitli tesisler bir su yönetim planı hazırlamakla yükümlü kılınmıştır. Su yönetim planı aslında sağlıklı ve güvenli bir içme suyu sağlanması için gereklidir. Su yönetim planından temel yaklaşım koruyucu bir risk yönetimi anlayışının benimsenmesidir. Bu plan, hem binadaki su sistemini hem de bu sistemle bağlantılı ekipmanları ve cihazları kapsayan bir yönetim sistemi gerektirmektedir. Binalarda su yönetim planı geliştirme aşamaları DSÖ dokümanında Şekil 1'deki gibi şematize edilmiştir[34].

LEJYONER HASTALIĞINA İLİŞKİN ÜLKEMİZDEKİ YASAL DÜZENLEME ve KONTROL PROGRAMI

Lejyoner hastalığının görüldüğü gruplar ve yerler korunmaya ilişkin önlemleri giderek daha



Şekil 1. Su yönetim planı geliştirme aşamaları.

çok gündeme getirmiştir. Hastalıkla ilgili Avrupa'da bir bildirim ağı oluşturulmuş, özellikle seyahatle ilişkili Lejyoner hastalığına yönelik önlemler ön plana alınmıştır. Bu amaçla 1986 yılında Avrupa'da başlayan çalışmalarda, seyahatle ilişkili Lejyoner hastalığı ile ilgili önce bir çalışma grubu kurulmuş, bildirim ve sürveyans sistemi başlatılmış ve oluşan bu yapı 2010 yılından itibaren Avrupa Lejyoner hastalığı Sürveyans Ağı (European Legionnaires' Disease Surveillance Network/ELDSNet) adını almıştır[35].

Hastalığın kontrolü ile ilgili ülkemizde ise önemli bir tarih olarak 1996 yılı anılabilir. Sağlık Bakanlığı 1996 yılında Lejyoner hastalığı ile ilgili bir genelge yayımlamış, 2001 yılında da yeni bir genelge ile "Seyahat İlişkili Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı" yayımlanmıştır[36]. Uzun yıllar bu programla sürdürülen çalışmalar, 2015 yılında yayımlanan bir "Yönetmelik ve Rehber" ile kapsamı genişleyen bir noktaya gelmiştir. 2015 yılında yayımlanan "Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik" hastalığın izlenmesi, bildirimi ve kontrolü ile ilgili sağlık kurumlarına, gerçek ve tüzel kişilere yükümlülükler getirmiştir. 2016 tarihli "Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi" ise hastalığın klinik özelliklerin, tanı ve bildirimini, çevresel sürveyans çerçevesini ve kontrol stratejilerini belirlemiştir[20,37].

"Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik" kapsamı, yönetmelikte "lejyoner hastalığından korunma amaçlı alınacak önlemler ve koruyucu uygulamaları, lejyoner hastalığının tanısı, bildirimi ve takibini, hastalık saptanan yerlerde alınacak önlemleri, temizlik ve dezenfeksiyon uygulamalarını, hastalığın tanısı ve yapılacak çevresel çalışmalar sırasında numune alımını, numunelerin analizlerini gerçekleştirecek laboratuvarlar ile referans laboratuvarının görevlerini, hastalıktan korunma ve hastalık ile mücadele çalışmalarında gerçek ve tüzel kişilerin görev ve sorumluluklarını kapsar" biçiminde belirtilmektedir. Yönetmelik hükümleri aşağıda özetlenmiştir:

- Yataklı sağlık kurum ve kuruluşları, turizm, rekreasyon amaçlı hizmet veren yerler ve/veya olgu ile ilişkili yerler "konaklama birimi" olarak tanımlanmıştır.
- Belirli mekân ve alanlarda rutin koruyucu önlemlerin uygulanması zorunluluğu getirilmiştir. Bu mekân ve alanlar, sağlık alanları (tüm yataklı sağlık kurum ve kuruluşları), turizm ve rekreasyon alanları (oteller, moteller, tatil köyleri, misafirhaneler gibi turistik konaklama birimleri, kaplıcalar, rehabilitasyon merkezleri, huzurevleri, bakımevleri, konaklamalı yolcu gemileri, büyük alışveriş merkezleri, suyun bulunduğu veya kullanıldığı halkın ortak kullanımına açık rekreasyonel alanlar) ve diğer alanlar (suyun kullanıldığı endüstriyel havalandırma sistemlerinin ve/veya soğutma makinelerinin kullanıldığı iş merkezleri ve işyerleri) olarak sıralanmıştır.
- Konaklama birimlerinde, "su sisteminde *Legionella* kolonizasyonunu önlemeye yönelik" bir "su yönetimi planı" hazırlanması ve "lejyoner hastalığından korunma amaçlı alınacak önlemler ve koruyucu uygulamaların tümünden sorumlu" olacak Legionella konusunda il sağlık müdürlüğü tarafından verilen eğitimi almış bir personel bulundurma zorunluluğu getirilmiştir. Yataklı sağlık kurumlarında bu görevin "hastane teknik servisi ve hastane yönetiminin aktif katılımı ile enfeksiyon kontrol komiteleri tarafından" yürütülmesi gerekmektedir.
- Yataklı tedavi kurumlarından olgu olup olmadığına bakılmaksızın *Legionella* bakterisine yönelik su numunesi alınması zorunluluğu getirilmiştir. Alınacak su numunesi sayısı belirli bir yatak sayısına ve riskli ünite durumuna göre belirlenmektedir. Riskli birim (doku-organ transplantasyon ünitesi, hematoloji veya onkoloji servisleri) olarak tanımla-

nan ünitelere sahip hastanelerden yılda 2 kez, diğer hastanelerden en az 1 kez numune alınacağı belirtilmiştir.

- Yönetmeliğin üçüncü bölümü "Su Sistemlerinin Temizlenmesi ve Dekontaminasyonu" başlığını taşımakta ve bu bölümde konaklama birimi ile ilişkili olgu belirlendiğinde ya da alınan su numunelerinde *Legionella* üredi̇ğinde su sistemlerinde ve suyla ilgili bölümlerde alınması gereken fiziksel önlemler ve dekontaminasyon işlemleri sıralanmaktadır. Fiziksel yöntemler ve dekontaminasyon yöntemleri ile ilgili olarak "Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi"ne atıf yapılarak uygulanacak işlemler sıralanmıştır.
- Fiziksel yöntemler öncelikle bakterinin konaklama birimi su sistem ve alanlarında yaşamasını ve çoğalmasını engellemeyi amaçlamaktadır. Bu amaçla "tanklarda biriken tortu ve sedimentin süpürülüp temizlenmesi, tesisatın tümü ile boşaltılıp doldurulması, soğutma kulelerinin ve depo iç yüzeylerinin fırçalanarak biyofilm tabakasının kazınması, filtrasyon gibi fiziksel yöntemler" belirtilmiştir.
- Dekontaminasyon yöntemleri olarak da bakterinin yaşamasını ve çoğalmasını engelleyecek yöntemlerden en az birinin uygulanması öngörülmüştür. Bu yöntemler termal, kimyasal ve radyasyon ile eradikasyon yöntemleri olarak sıralanmıştır. Yönetmelikte bu yöntemler aşağıdaki gibidir:

  o **"Termal eradikasyon yöntemleri**
  Yüksek ısıtma (Superheating) yöntemi: Sıcak su tanklarındaki suyun sıcaklığı en az 24 saat süresince 70°C'ın üzerine çıkarılır ve son kullanma noktalarında da 60°C'ın üzerinde olması sağlanır. Konaklama biriminin risk durumuna (biyofilm, sediment ve kireç oluşumlarının derecesi, sistemin eskiliği ve benzeri) göre superheating süresi 72 saate kadar uzatılabilir.

  "Flushing": Tanklarda biriken tortu ve sedimentin süpürülüp temizlenmesi ve tesisatın tümü ile boşaltılıp doldurulmasından sonra suyun uç noktalarda 60°C'a ulaşmasından sonra, tüm musluklar ile duş başlıklarından en az 5-10 dk. süreyle akıtılması işlemidir.

  Şok ısıtma: Sistemin belirli bir yerinde bulunan suyun aniden yüksek ısılara (>88°C) çıkarılması ve hemen ardından uygun miktarda soğuk su ile karıştırılarak kullanıma verilmesi işlemidir.

  o **Kimyasal eradikasyon yöntemleri**
  Klorlama: Sudaki klor düzeyinin son kullanma noktalarında en az 2 saat, olabiliyorsa 24 saat süreyle en az 3 ppm olacak şekilde yüksek konsantrasyonda klor (hiperklorinasyon) uygulanmasıdır.
  Ayrıca kullanım yerlerine uygun olarak seçilen etkili biyosidal ürünlerden olan Ozon, Hidrojenperoksit (H_2O_2) veya Bakır (Cu)-Gümüş (Ag) iyonizasyon uygulamalarından herhangi biri kullanılarak dekontaminasyon işlemi yapılabilir.

  o **Radyasyon ile eradikasyon yöntemleri**
  Ultraviyole uygulaması: Optimum sonuç için 40°C'taki suyun ultraviyole (UV) cihazı ile %100 transmisyon esası ile 254 nm UV dalga boyunda işleme tabi tutulmasıdır."
- Yönetmeliğin diğer bölümlerinde sürveyans çalışmaları, laboratuvarlar ve yaptırımlar ile ilgili hükümler bulunmaktadır.

Yönetmelik tarafından getirilen önemli bir düzenleme, su sistem ve alanlarına yönelik rutin koruyucu önlemlerdir. Yukarıda da belirtildiği gibi belirli yerlerde rutin koruyucu önlemlerin uygulanması zorunlu kılınmıştır. Bu önlemler arasında su yönetim planı ve sorumlu personel sayılmış, bunun yanında aşağıda sıralanan ve amacı konaklama birimi faaliyette olduğu süre-

ce su sistemine ve suyun bulunduğu alanlara *Legionella* yerleşmesini ve üremesini önleyeceği düşünülen önlemler belirtilmiştir:

- Su tanklarının/depolarının dibinde oluşan tortu ve çamurun azaltılması ve boşaltılabilmesi amacıyla bu tanklarda/depolarda uygun tahliye muslukları bulunması.
- Soğuk su tanklarının yılda en az iki, sıcak su tanklarının ise üç kez boşaltılması, temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi ve sediment birikimi fazla ise bu aralıkların kısaltılması.
- Su sisteminin fiziksel kontrolünün ayda bir yapılması, sistemde durgunluk oluşumun önüne geçilmesi, ölü bağlantılar ve boşlukların düzeltilmesi.
- Su sisteminin içinin yılda bir kez dezenfekte edilmesi.
- Sıcak su tankının ya da sıcak su sisteminin bir haftadan uzun süre devre dışı kalması durumunda bu tank ya da istemin yeniden kullanılması gerektiğinde "yeniden kullanıma sokulduğu andan itibaren" suyun sıcaklığının "en az bir gün süre ile" 70°C'ın üzerinde tutulması.
- Sıcak su tanklarındaki suyun sıcaklığının yıl boyu 60°C'ta tutulması, bu tanklara geri dönen suyun sıcaklığının da en az 50°C olması.
- Sıcak su tanlarındaki boru bağlantılarının suyun durgun akışına izin vermeyecek biçimde yapılması.
- Kullanılmayan odalardaki sıcak ve soğuk suyun günde 3-5 dk. akıtılması (musluk ve duş başlıklarından)
- Sıcak su sistemindeki suyun sıcaklığının günlük olarak takip edilmesi ve su sıcaklığının uç noktalarda akıtılmaya başlandıktan sonra birkaç dk. içinde 50-60°C arasında bir sıcaklığa ulaşmasının sağlanması.
- Şehir şebekesi dışında bir su kaynağı kullanan konaklama birimlerinde suyun sıcaklığı ve klor düzeyinin günlük olarak takip edilmesi ve kaydedilmesi.
- Sağlık kurum ve kuruluşlarının kullandığı su kaynağı ne olursa olsun (şehir şebekesi ya da değil) "binanın rastgele seçilen birkaç noktasından" suyun sıcaklığı ve klor düzeyinin günlük olarak takip edilmesi ve kaydedilmesi.
- Musluk filtre ve duş başlıklarının aylık olarak uygun maddelerle (kalıntı önleyici/gidericilerle) temizlenerek tortularının giderilmesi ve haftalık olarak dezenfekte edilmesi.
- Kullanılan soğutma kulesi varsa üç ayda bir bakımının yapılması, yılda en az iki kez mekanik olarak temizlenerek dezenfekte edilmesi.
- Kalorifer sisteminin yılda bir temizlenmesi ve dezenfeksiyonu.
- Konaklama biriminin tamamımın ya da bir bölümünün kapalı kalması durumunda yapılması gerekenler (Yönetmelikte ayrıntılı olarak belirtilmiştir.)
- Konaklama biriminde rutin koruyucu önlemler ile ilgili yapılan tüm işlemlerin kayıt altına alınması ve bir dosya oluşturulması.

LEJYONER HASTALIĞINDA SÜRVEYANS

Sağlık Bakanlığı tarafından 2016 yılında yayımlanan "Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi" Lejyoner hastalığını hastalığın kaynağına göre iki başlıkta sınıflandırmaktadır. Bu başlıklar:

1. Hastane kaynaklı LH
2. Toplumdan LH
   a. Seyahat ilişkili LH
   b. Diğer yaşam alanlarından kaynaklanan LH

Rehber ayrıca hastalık ile ilgili il sağlık müdürlüğünün ilgili birimleri tarafından geniş çaplı bir sürveyans yapılmasını öngörmektedir. Bu

sürveyans iki bölümde toplanmıştır: Olgu sürveyansı ve çevresel sürveyans. Olgu sürveyansı olgu tanısı, bildirimi, başka olgu olup olmadığının araştırılmasını kapsarken çevresel sürveyansın ise "toplum-kaynaklı Lejyoner hastalığında olgu bildirimine bağlı olarak; hastane kaynaklı Lejyoner hastalığında ise belirlenen aralıklarla olguların ve salgınların önlenmesi, olgu bildirilmesi durumunda kaynağın araştırılması amacı ile" yapıldığı belirtilmektedir[20].

OLGU SÜRVEYANSI

"Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi" olgu sürveyansı ile ilgili ayrıntılı bir çerçeve çizmektedir. Rehber'de LH'ye yönelik yürütülmekte olan programların temel amacının "olguları tespit etmek ve olguları erken saptamak" olduğu ve bu amaçla aşağıdaki aşamalarla bir akış izlenmesi gerektiği belirtilmektedir[20]:

- Hastalığın akla getirilmesi
- Olgu sorgulamasının yapılması
- Olgu tanımına uygunluğunun değerlendirilmesi ve uygunsa laboratuvar incelemesi
- Laboratuvar bulguları ile birlikte klinik özelliklerin tekrar değerlendirilmesi
- Olgunın bildiriminin yapılması

Bu akışta LH düşündürecek bulgular olması durumunda, ayırıcı tanıda hastalığın akla getirilmesi, semptomlar, önceki tedaviler, risk faktörü olup olmadığını belirlemek açısından ayrıntılı hastalık öyküsü, risk faktörleri, seyahat ve ev dışı konaklama öyküsü başlıklarında ayrıntılı olgu sorgulaması yapılması gerektiği belirtilmektedir.

Olgu sürveyansı, "Sağlık Bakanlığı Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi"nde yer alan standart olgu tanımı esas alınarak yapılmaktadır. Bu olgu tanımı uluslararası bildirim gerekliliklerine de uygun olduğu belirtilmektedir[20]. Standart olgu tanımı üç başlık içermektedir:

- **Klinik tanımlama:** Pnömoniye ait fokal bulguların ve/veya radyolojik olarak pnömoni bulgusunun olmasıdır. Bu tanım yanında "hastanın son on beş gün içinde en az bir geceyi evinden başka bir yerde (otel, hastane ve benzeri) geçirip geçirmediğinin" sorgulanması gerekmektedir.
- **Tanı için laboratuvar kriterleri:** Tanıda kullanılan laboratuvar kriterleri destekleyici ve doğrulayıcı laboratuvar kriterleri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bu kriterler rehberde aşağıdaki gibidir:
  - **Destekleyici Laboratuvar Kriterleri**
    1. Solunum yolu sekresyonları veya akciğer dokusunda, monoklonal reagenlerin kullanıldığı direkt fluoresans antikor (DFA) yöntemiyle antijenin gösterilmesi
    2. Çift serum örneğinde indirekt fluoresans antikor (IFA) veya ELISA ile *Legionella* türlerine karşı (*Legionella pneumophila* Sg 1 hariç) antikor titrelerinin ≥4 kat arttığının gösterilmesi
    3. Tek serum örneğinde IFA veya ELISA ile *Legionella* türlerine karşı antikor titresinin ≥1/256 bulunması
    4. Solunum yolu sekresyonları veya akciğer dokusu veya steril vücut sıvısı örneklerinde *Legionella* spp spesifik nükleik asitlerin saptanması
  - **Doğrulayıcı Laboratuvar Kriterleri**
    1. Balgam, akciğer dokusu, plevral sıvı veya diğer klinik örneklerin kültürlerinde *Legionella* bakterisinin izolasyonu
    2. *Legionella pneumophila* Sg 1 için idrarda spesifik antijen saptanması
    3. Çift serum örneğinde IFA veya ELISA

ile *L. pneumophila* Sg 1'e karşı spesifik serum antikor titrelerinin ≥4 kat arttığının gösterilmesi

- **Olgu sınıflaması**
  - o ***Olası olgu:*** Klinik tanımlamaya uyan ve destekleyici laboratuvar kriterlerinden en az birisi ile doğrulanmış olgu.
  - o ***Kesin olgu:*** Klinik tanımlamaya uyan ve doğrulayıcı laboratuvar kriterlerinden en az birisi ile doğrulanmış olgu.
- Olgu bildirimi

LH, bildirimi zorunlu bir bulaşıcı hastalıktır. Bildirimler Sağlık Bakanlığı'nın düzenlemeleri çerçevesinde yapılmaktadır (Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi, Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği)[20]. Kamu/özel tüm yataklı tedavi kurumları bildirimle yükümlü kılınmıştır. Bildirim, ICD-10 A48.1 hastalık kodu kullanılarak, "olası" ya da "kesin olgu" biçiminde yapılmakta ve bu amaçla iki form kullanılmaktadır: Lejyoner Hastalığı Olgu Bildirim Formu ve Form 014 (Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıklar Bildirim Formu).

ÇEVRESEL SÜRVEYANS

Lejyoner hstalığında çevresel sürveyans hastalığa yol açan kontamine su kaynaklarını belirlemek amacıyla yapılmaktadır. Farklı ülkelerde LH çevresel sürveyansının çoğunlukla ülkelerin hazırladıkları rehberlere göre yapıldığı görülmektedir. Örneğin, Yunanistan'da konu ile ilgili yasal bir düzenleme olmadığı, Avrupa Lejyonella Enfeksiyonları Çalışma Grubu (European Working Group for *Legionella* Infections-EWGLI, yeni adıyla EDSLnet) önerileri doğrultunda bir rehber oluşturulduğu ve bu rehbere göre LH çevresel sürveyansı ile ilgili sağlık kuruluşlarının su sistemleri ve soğutma kulelerinden yılda iki kez örnek alınmasının öngörüldüğü izlenmektedir[38].

Bu noktada çevresel sürveyansla ilgili iki temel yaklaşım dikkati çekmektedir. Bu yaklaşımlardan biri, hastane su sistemlerinde *Legionella* türlerinin izlemini öngörmekte ve sus sitemlerinde *Legionella* varlığını hastane kaynaklı LH için bir risk olarak görmektedir. Bu yaklaşıma alternatif olan ve CDC tarafından savunulan ikinci yaklaşım ise çevresel sürveyansı rutinde kullanmadan yoğun bir klinik sürveyans yürütülmesidir. Buna göre CDC transplantasyon üniteleri dışında, olgu olmadığı sürece rutin bir çevresel sürveyans önermemektedir[39,40].

Bu iki yaklaşıma dair ABD'de ulusal düzeyde yapılan bir çalışmada, 14 eyalette bulunan 20 hastanede çevresel sürveyans yapılmış, 20 hastanenin 14'ünün su sisteminde *Legionella* bulunduğunu belirlenmiştir. Araştırmada bulguların su siteminde *Legionella* kolonizasyonunun belirlenmesinin hastane kaynaklı *Legionella* pnömonisi riskinin belirlenmesinde yararlı olacağına dair güçlü bir kanıt oluşturduğu vurgulanmıştır[39].

Lejyoner hastalığının çevresel sürveyansında temel amaç olgu sürveyansını destekleyecek bir çerçevede, olgunun bulaş kaynağını bulmak ve bu kaynaktan başkalarına bulaşı engellemektir. "Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi" çevresel sürveyans yapılacak yerleri şöyle sıralamıştır:

1. Oteller, moteller, tatil köyleri, misafirhaneler gibi turistik konaklama birimleri
2. Kaplıcalar, rehabilitasyon merkezleri, huzurevleri, bakımevleri
3. Yataklı tedavi kurumları ve ağız ve diş sağlığı merkezleri
4. Konaklamalı gemiler (yolcu ve yük gemileri)

5. Büyük alışveriş merkezleri, rekreasyonel alanlar, fuarlar
6. İş merkezleri ve işyerleri (endüstriyel havalandırma sistemlerinin ve/veya soğutma makinelerinin kullanıldığı fabrikalar vb.)
7 Konutlar (olgunın kendi konutu)
8. Diğer (olgunın, yukarıda sayılanlardan başka, son 15 gün içinde evinin dışında en az bir gece geçirmiş olduğu yer veya konut)

Rehbere göre epidemiyolojik bağlantısı olan LH bildirimi yapıldıktan sonra çevresel sürveyans kapsamında bu birimlere üç kez gidilmesi öngörülmüştür ve her gidişte de yapılması gerekenler sıralanmıştır. Buna göre:

İlk değerlendirme: Çevresel sürveyans kapsamında olgu ile ilişkili olduğu belirlenen birime bildirimi takiben 24-48 saat içerisinde gidilmesi, su ile ilgili herhangi bir müdahalede bulunmadan önce sulardan numune alınması ve birim sorumlularına yapılacak işlemlerle ilgili taahhütname imzalatılması ve bazı formların doldurulması işlemlerini kapsar. Özetle aşağıdaki işlemler yapılır:

- Birimde su sistemi değerlendirmesi yapılır ve rehberin ekinde yer alan ilgili form doldurulur.
- Birim sorumlusuna rehberin ekinde yer alan "Rutin Kontrol Önlemleri Listesi ve Taahhütname" dokümanı verilir. Bu belge birim sorumlusunun alınacak önlemlerle ilgili taahhüdünü içermektedir.
- Su sistemine dekontaminasyon vb. herhangi bir müdahalede bulunulmadan *Legionella* analizi için "su sistemini temsil eder nitelikte su örnekleri" alınır.
- Örnekler alındıktan sonra su siteminde dekontaminasyon işlemleri başlatılır.

Rehber dekontaminasyon işlemi olarak yapılması gerekenleri de ayrıntılı olarak sıralamıştır. Buna göre dekontaminasyonda aşağıda işlemlerin yapılması gerekmektedir:

- Birimde bulunan sıcak su tanklarındaki su sıcaklığının 70 ºC'a çıkarılması ve 24 saat süresince bu sıcaklıkta tutulması sağlanmalıdır (bakteri 70 ºC'ta ölmektedir).
- Sıcaklığı arttırılan su, birimdeki bütün musluk ve duş başlıklarından en az 5-10 dk. süreyle akıtılmalıdır. Bu sırada suyun sıcaklığı en az 60ºC olmalı ve bu seviye 24 saat korunabilmelidir.
- Su sistemi sudaki serbest klor düzeyi en az 3 ppm olacak şekilde klorlanmalı ve bu seviye 24 saat korunabilmelidir.
- Sus sistemindeki ölü boşluklar, durgunluk yaratan noktalar ve tıkanıklıklar ivedilikle belirlenmeli ve düzeltilmelidir.
- Musluk ağzı filtreleri çıkarılmalı, duş başlıkları kireç çözücülerle kireçten giderilmelidir.
- Merkezi havalandırma varsa kapatılmalı, soğutma kuleleri boşaltılarak, tortuları giderilmeli, kirliliği temizlenmeli, iç yüzeyleri temizlenmeli, dezenfeksiyonu sağlanmalıdır.

İkinci değerlendirme: Rehber, sürveyans ekibinin su sisteminde dekontaminasyon işlemleri başlatıldıktan 24 saat sonra birime yine gitmesini ve su sıcaklığı ve klor düzeyinin ölçümünü öngörmekte ve bu sırada ilgili formların doldurulması gerekmektedir.

Üçüncü değerlendirme: Çevresel sürveyans işlemlerinde üçüncü değerlendirmenin ilk değerlendirmenin yapılması sonrasında en geç 15 gün içinde yapılması öngörülmektedir. Bu değerlendirmede dekontaminasyon işlemlerinin uygulanıp uygulanmadığı denetlenir ve ikinci kez su numunesi ve sürüntü örnekleri alınır ve ilgili formlar doldurulur. Burada önemli noktalardan biri olgu ile ilişkili bir sürveyans yapıldığı için alınan ilk numunelerde *Legionella* üremesi olmasa bile üçüncü değerlendirmede mutlaka numune alma gerekliliğidir. Rehbere göre alınan ikinci numuneler uygun gelir ise birimde "Rutin Kontrol

Önlemleri" sürdürülür, ancak numunelerde *Legionella* üremesi olursa dekontaminasyon işlemleri yine başlatılır ve bu işlemlerden 3-5 gün sonra yine numune alınır. Alınan su numuneleri uygun çıkana dek bu döngü sürdürülür.

Rehber olgu ile ilişkilendiren birimlerin değerlendirmelerinde "dekontaminasyon ve dezenfeksiyon sonrasında alınan numune sonuçları negatif olsa dahi" bu birimlerin iki yıl süreyle her iki ayda bir il sağlık müdürlüğü ekipleri tarafından denetlenmesi ve gereksinim görüldüğünde örnek alınması gereğine işaret etmiştir.

Hastane kaynaklı LH çevresel sürveyansında, "kaynak araştırması sırasında" yukarıda belirtilenlere ek olarak "hasta ile ilişkili olduğu düşünülen tıbbi cihazlardan da" *Legionella* örneği alınır.

Sonuç olarak, LH, su kaynaklı bir hastalıktır. *Legionella* bakterisinin su sistemlerine ve su ile ilgili alanlara yerleşmesi, buralarda yaşaması ve uygun koşullar bulduğunda çoğalması bu sularla temas olasılığı bulunan risk gruplarında hastalık açısından risk oluşturmaktadır. Hastalıktan korunmada temel strateji binalarda su sistemlerinde ve suyla ilgili alanlarda önlemler alınmasıdır. Bu amaçla sularla ilgili alınacak önlemler bilinmeli ve bir su yönetim planı oluşturularak koruyucu önlemler sürekliliği olacak biçimde uygulanmalıdır.

CDC, su yönetimi programının yedi anahtar bileşenini "bir su yönetim ekibi kurulması, bina su sisteminin ayrıntılarıyla ve akış diyagramlarıyla tanımlanması, *Legionella* bakterisinin gelişebileceği ve yayılabileceği alanların belirlenmesi, kontrol önlemlerinin nerelerde uygulanacağına ve bu önlemlerin nasıl izleneceğine karar verilmesi, gereksinim hâlinde yapılacak müdahalelerin belirlenmesi, programın planlandığı gibi yürütüldüğünün ve etkili olduğunu kontrolü, tüm aktivitelerin dokümantasyonu ve bildirilmesi" olarak sıralamaktadır. Ayrıca su yönetiminin temel ilkelerinin de "su sıcaklığının *Legionella* gelişimine uygun koşullar sağlayan sıcaklıklar dışında tutulması, su durgunluğunun önlenmesi, yeterli dezenfeksiyon sağlanması, *Legionella* için yaşam alanı ve besin işlevi gören aşınma, korozyon ve biyofilm gelişimi gibi olumsuz faktörlerden korunma" olduğunu vurgulamaktadır [41].

Bunun yanında, LH olgusu ortaya çıktığında yapılacak sürveyans çalışmaları da hastalığın başka kişilere bulaşmaması ve salgına neden olmaması açısından önemlidir. Sürveyansa dair Sağlık Bakanlığı dokümanlarında izlenecek yol belirlenmiştir. Olgu sürveyansı ve çevresel sürveyans biçiminde iki başlıkta ele alınan sürveyans aktiviteleri birbirini tamamlamakta etkenin kaynağını belirlemeye yönelik çalışmalar içermektedir. LH'de çevresel sürveyans suya yönelik olarak kurgulanmıştır. Su ve sürüntü örneklerinin analizi ile etkenin belirlenmeye çalışılmasının yanında olgu ile ilişkilendirilen yerlerde dekontaminasyon işlemlerinin uygulanmasını da içermektedir.

Sağlık Bakanlığı tarafından 2015 yılında yayımlanan "Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik" ve 2016 tarihli "Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi" başta hastaneler olmak üzere LH açısından riskli mekân ve alan olarak değerlendirilen yerlere yeni yükümlülükler getirmiştir. İl sağlık müdürlüğünün ilgili birimleri bu süreçte önemli rol ve işleve sahiptir. Sağlık personelinin ve saha personelinin başta çevresel sürveyans olmak üzere LH ile ilgili bilgilerini arttırması ülkemizde hastalığın kontrolü çabalarına katkı sunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Hornei B, Ewig S, Exter M, et al. Legionellosis. In: Bartram J, Chartier Y, Lee JV, Pond K, Surman-Lee S (eds). *Legionella* and the prevention of legionellosis.

India: World Health Organization, 2007:1-162.
2. Winn WC Jr. *Legionnaires* disease: Historical perspective. Clin Microbiol Rev. 1988;1(1):60-81. https://doi.org/10.1128/CMR.1.1.60
3. Vural T. *Legionella* infeksiyonları. ANKEM Derg. 2014;28(Ek 2):E167-76.
4. Erdoğan H. Lejyoner hastalığı. Mediterr J Infect Microb Antimicrob. 2018;7:2.
5. Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi. Lejyoner Hastalığı. Sağlık Bakanlığı [http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ums/L/Lejyoner-hastaligi.pdf]. (Erişim tarihi 23 Aralık 2017).
6. Conza L, Casati Pagani S, Gaia V. Influence of climate and geography on the occurrence of *Legionella* and amoebae in composting facilities. BMC Res Notes. 2014;7:831. https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-831
7. CDC. Legionnaires' Disease. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, ABD [http://www.cdc.gov/legionella/about/signs-symptoms.html] (Erişim Tarihi 23 Aralık 2017).
8. Phin N, Parry-Ford F, Harrison T, et al. Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. Lancet Infect Dis. 2014;14(10):1011-21. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70713-3
9. CDC. People at risk. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, ABD [http://www.cdc.gov/legionella/about/people-risk.html] (Erişim tarihi 23 Aralık 2017).
10. Fitzhenry R, Weiss D, Cimini D, et al. Legionnaires' disease outbreaks and cooling towers, New York City, New York, USA. Emerg Infect Dis. 2017;23(11):1769-76. https://doi.org/10.3201/eid2311.161584
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for travel-associated Legionnaires disease—United States, 2005-2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2007;56(48):1261-3.
12. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2016 – Legionnaires' Disease. [https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/legionnaires-disease-annual-epidemiological-report-2016-2014-data.] (Erişim tarihi 14 Şubat 2018)
13. Cunha BA, Burillo A, Bouza E. Legionnaires' disease. Lancet. 2016;387(10016):376-85. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60078-2
14. CDC Vital signs 2017. Legionnaires' disease. A problem for health care facilities [https://www.cdc.gov/vitalsigns/pdf/2017-06-vitalsigns.pdf] (Erişim tarihi 17 Ekim 2017).
15. Jones RM, Brosseau LM. Aerosol transmission of infectious disease. J Occup Environ Med. 2015;57(5):501-8. https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000000448
16. Bencini MA, Yzerman EP, Koornstra RH, Nolte CC, den Boer JW, Bruin JP. A case of Legionnaires' disease caused by aspiration of ice water. Arc Env Occup Health. 2005;60(6):302-6. https://doi.org/10.3200/AEOH.60.6.302-306
17. Garrison LE, Kunz JM, Cooley LA, et al. Vital signs: Deficiencies in environmental control identified in outbreaks of Legionnaires' disease - North America, 2000-2014. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2016;65(22):576-84. https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6522e1
18. McBurnett LR, Holt NT, Alum A, Abbaszadegan M. *Legionella* - A threat to groundwater: Pathogen transport in recharge basin. Sci Total Environ. 2018;621:1485-90. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.080
19. Whiley H, Bentham R. *Legionella longbeachae* and *Legionellosis*. Emerg Infect Dis. 2011;17(4):579-83. https://doi.org/10.3201/eid1704.100446
20. Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, TC Sağlık Bakanlığı: Ankara, 2015.
21. Liu S, Gunawan C, Barraud N, Rice SA, Harry EJ, Amal R. Understanding, monitoring, and controlling biofilm growth in drinking water distribution systems. Environ Sci Technol. 2016;50(17):8954-76. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00835
22. Gomes IB, Simões M, Simões LC. An overview on the reactors to study drinking water biofilms. Water Res. 2014;62:63-87. https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.039
23. Abdel-Nour M, Duncan C, Low DE, Guyard C. Biofilms: The stronghold of *Legionella pneumophila*. Int J Mol Sci. 2013;14(11):21660-75. https://doi.org/10.3390/ijms141121660
24. WHO. Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum. Geneva: World Health Organization; 2017.
25. Lu J, Struewing I, Yelton S, Ashbolt N. Molecular survey of occurrence and quantity of *Legionella* spp., *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and amoeba hosts in municipal drinking water storage tank sediments. J Appl Microbiol. 2015;119(1):278-88. https://doi.org/10.1111/jam.12831
26. Rakić A, Perić J, Foglar L. Influence of temperature, chlorine residual and heavy metals on the presence of *Legionella pneumophila* in hot water distribution systems. Ann Agric Environ Med. 2012;19(3):431-6.
27. Decker BK, Palmore TN. Hospital water and opportunities for infection prevention. Curr Infect Dis Rep. 2014;16(10):432. https://doi.org/10.1007/s11908-014-0432-y
28. Sydnor ER, Bova G, Gimburg A, Cosgrove SE, Perl TM, Maragakis LL. Electronic-eye faucets: *Legionella* species contamination in healthcare settings. Infect Control Hosp Epidemiol. 2012;33(3):235-40. https://doi.org/10.1086/664047
29. Akbaş E, Dalkılınç I, Gözalan A, Güvener E. Otel su sistemlerinde *Legionella* spp.: Ege ve Akdeniz bölgelerinde bir çalışma. Flora. 1999;4:258-66.
30. Erdogan H, Arslan H. Colonization of *Legionella* species in hotel water systems in Turkey. J Travel Med. 2007;14(6):369-73. https://doi.org/10.1111/j.1708-8305.2007.00146.x
31. Sepin Özen N, Tuğlu Ataman Ş, Emek M. Exploring the *Legionella pneumophila* positivity rate in hotel water samples from Antalya, Turkey. Environ Sci Pollut Res Int. 2017;24(13):12238-42. https://doi.org/10.1007/s11356-017-8864-1
32. İğnak S, Gürler B. Bir üniversite hastanesi su sistemlerinde *Legionella* türlerinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2012;42:110-4.
33. CDC *Legionella* (Legionnaires' Disease and Pontiac Fever) Water System Maintenance. Centers for Disease

Control and Prevention, Atlanta, ABD [https://www.cdc.gov/legionella/water-system-maintenance.html] (Erişim tarihi 29 Ocak 2018)
34. World Health Organization. Water safety in buildings. Fransa: World Health Organization, 2011.
35. European Legionnaires' Disease Surveillance Network/ELDSNet. [https://ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/eldsnet] (Erişim tarihi 17 Ocak 2018)
36. Seyahat İlişkili Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Genelgesi. 01/05/2001. [http://www.thsk.gov.tr/dosya/mevzuat/genelge/Seyehat_lkili_Lejyoner_Hastal_Kontrol_Program_Genelgesi.pdf] (Erişim tarihi 17 Ocak 2018)
37. Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik. Resmi Gazete Tarihi: 13.05.2015 Resmi Gazete Sayısı: 29354 . [www.mevzuat.gov.tr] (Erişim tarihi 17 Ocak 2018)
38. Alexandropoulou IG, Ntougias S, Konstantinidis TG, Parasidis TA, Panopoulou M, Constantinidis TC. Environmental surveillance and molecular epidemiology of waterborne pathogen *Legionella pneumophila* in health-care facilities of Northeastern Greece: a 4-year survey. Environ Sci Pollut Res. 2015;22(10):7628-40. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3740-8
39. Stout JE, Muder RR, Mietzner S, et al. Role of environmental surveillance in determining the risk of hospital-acquired legionellosis: A national surveillance study with clinical correlations. Infect Control Hosp Epidemiol. 2007;28(7):818-24. https://doi.org/10.1086/518754
40. Moore M, Shelton S. Updated guidelines for the control of *Legionella* in Western Pennsylvania. [https://www.specialpathogenslab.com/perch/resources/2014finallegionellaguidelinesforwesternpa.pdf] (Erişim Tarihi 25.05.2018)
41. CDC. Overview of Water Management Programs. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, ABD [https://www.cdc.gov/legionella/wmp/overview.html] (Erişim Tarihi 25.05.2018).

Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018;48(4):228-234
doi:10.5222/TMCD.2018.228

Araştırma

Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde Solunum Sistemi Örneklerinden İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* İzolatlarının Serotip Dağılımı ve Antibiyotiklere Direnç Profili[§]

Belgin ALTUN*, Banu SANCAK, Deniz GÜR****

**Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Merkez Laboratuvarı, Ankara*

***Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

ÖZ

Amaç: *Streptococcus pneumoniae'ya bağlı solunum yolu enfeksiyonlarında tedavi, çoğunlukla ampiriktir ve kullanılacak antibiyotiğe toplumdaki direnç oranları göz önüne alınarak karar verilmektedir. Antibiyotik direnci belirli serotiplerde daha sık olarak ortaya çıkmaktadır. Kullanılan aşı türüne göre klinikten izole edilen serotipler ve buna bağlı olarak antibiyotiklere direnç sıklıkları değişiklik gösterebildiğinden, S. pneumoniae'nın klinik izolatlarında antibiyotik direncinin sürekli izlenmesi önemlidir. Bu çalışmanın amacı, 2017 yılında Hacettepe Üniversitesi Yetişkin Hastanesi'ne başvuran erişkin hastaların solunum yolu örneklerinden izole edilmiş olan S. pneumoniae izolatlarının serotiplerini ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumunu belirlemektir.*

Gereç ve Yöntem: *Streptococcus pneumoniae izolatları (n=52) 2017 yılında bronkoalveolar lavaj (BAL) (n=4), derin trakeal aspirat (DTA) (n=9) ve balgamdan (n=39), izole edilmiştir. Lateks aglütünasyonu ile 14 serumlu Pneumotest-Latex Kit (Statens Serum Institut, Danimarka) kullanılarak serogruplar, faktör antiserumlar ile serotipleri belirlenmiştir. Penisilin, sefuroksim, seftriakson, vankomisin, moksifloksasin, levofloksasin, meropenem, eritromisin ve klindamisin duyarlılıkları gradient test (Liofilchem® İtalya)) ile EUCAST standartlarına göre çalışılmıştır.*

Bulgular: *Streptococcus pneumoniae'da penisilin, sefuroksim, eritromisin ve klindamisin direnci sırasıyla %61.5, %23.1, %53.8 ve %30.8 bulunmuştur. Seftriakson, meropenem, moksifloksasin, levofloksasin ve vankomisine direnç saptanmamıştır. En sık belirlenen serotipler 3 (n=15), 19F (n=6) ve 8'dir (n=5). Serotip 8 ve 19F olan S. pneumoniae izolatlarının tümü, serotip 3 bulunan izolatların ise 8 tanesi penisiline dirençli bulunmuştur. S. pneumoniae izolatları arasında 19F, 8 ve 3 serotiplerinde makrolidlere direnç oranı sırasıyla %83.3, %100 ve %40 olarak bulunmuştur.*

Sonuç: *Bu çalışma sonuçlarına göre, solunum yolu etkeni olan S. pneumoniae'de penisilin ve makrolid grubu antibiyotiklere direnç yüksek bulunmuş, makrolid grubu antibiyotikler ve penisilinlere direnç gösteren serotiplerin 23 valanlı aşı kapsamında olduğu belirlenmiştir.*

Anahtar kelimeler: *Streptococcus pneumoniae, serotip, direnç*

ABSTRACT

Serotype Distribution and Antibiotic Susceptibility Patterns of Respiratory Isolates of Streptococcus pneumoniae from Hacettepe University Adult Hospital

Objective: *Treatment of respiratory tract infections due to Streptococcus pneumoniae is mostly empirical and depends on the local resistance rates in the relevant community to available drugs. Resistance manifests more frequently in certain serotypes. As serotypes isolated from clinical samples and antibiotic resistance frequencies may vary according to the vaccine used in the population, it is important to monitor the antibiotic resistance in clinical isplates of S. pneumoniae. The aim of this study was to determine the serotypes and resistance patterns to antibiotics of S. pneumoniae strains isolated from respiratory specimens of adult patients at the Adult Hospital of Hacettepe University in 2017.*

Material and Methods: *Streptococcus pneumoniae (n=52) strains were isolated from bronchoalveolar lavage fluids (n=4), tracheal aspirates (n=9) and sputum (n=39). Serogroups were determined by Pneumotest-Latex Kit (Statens Serum Institut, Denmark) with 14 antisera and, serotypes using factor antisera. Susceptibilities to penicillin, cefuroxime, ceftriaxone, vancomycin, moxifloxacin, levofloxacin, meropenem, erythromycin, clindamycin were determined by gradient test (Liofilchem® (Italia)) according to the EUCAST criteria.*

Results: *Rates of resistance against penicillin, cefuroxime, erythromycin and clindamycin in S. pneumoniae isolates were 61,5%, 23,1%, 53,8% and 30,8%, respectively. There was no resistance against ceftriaxone, meropenem, moxifloxacin, levofloxacin and vancomycin. The most common serotypes were 3 (n=15), 19F (n=6) and 8 (n=5). All isolates of S. pneumoniae serotypes 8 and 19F and eight isolates of serotype 3 were penicillin resistant. The rate of resistance to macrolides in serotypes 19F, 8 and 3 among S. pneumoniae isolates were 83,3%, 100% and 40%, respectively.*

Conclusion: *According to the results of this study, resistance to penicillin and macrolide antibiotics is high in respiratory tract isolates of S. pneumoniae. All serotypes resistant to macrolides and penicillins are in the coverage of 23- valent vaccine.*

Keywords: *Streptococcus pneumoniae, serotype, resistance*

Alındığı tarih: 20.06.2018
Kabul tarihi: 16.08.2018

[§] Bu araştırma XIII. Antimikrobik Kemoterapi Günleri'nde (6-8 Nisan 2018, İstanbul) poster (P-50) olarak sunulmuştur.

Yazarların ORCID bilgileri:
Belgin Altun 0000-0002-8352-9692 ✉, Banu Sancak 0000-0002-0098-4674, Deniz Gür 0000-0002-7504-8450

GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae, toplumdan kazanılmış pnömoni etkenlerinin en önemlilerinden biri olarak kabul edilmektedir[1-3]. Bu etkene bağlı toplum kaynaklı pnömonilerde hastanın durumu ve etkenin antibiyotik direnci göz önüne alınarak ampirik tedavi uygulanmaktadır[1-3]. Direnç, *S. pneumoniae*'nin belirli serotiplerinde daha sıktır. Günümüzde tüm serotipleri kapsaması açısından erişkin hastalarda polisakkarit (PPSV23) (serotip 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 1OA, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22, 23F, 33F) ve konjuge (PCV13) (serotip 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F ve 23F) pnömokok aşılarının her ikisinin de kullanılması önerilmekle birlikte son yıllara değin yaygın olarak kullanılmış olan aşı PCV13'dür[4,5].

Yapılan epidemiyolojik çalışma sonuçlarına göre, son yıllarda aşı içeriğinde bulunan serotiplerin sıklığında azalma saptanırken, aşı kapsamında bulunmayan bazı serotiplerde bir artış gözlenmiş, bunun da "serotype replacement," ya da "serotype switching" olarak tanımlanan tek bir klonun serotipindeki değişimden kaynaklandığı ileri sürülmüştür[6,7].

Kullanılan aşı türüne göre klinikten izole edilen serotipler ve buna bağlı olarak antibiyotiklere direnç sıklıkları her toplumda değişiklik gösterebildiğinden *S. pneumoniae*'nın klinik izolatlarında serotiplerin ve antibiyotik direncinin sürekli izlenmesi önemlidir.

Bu çalışmanın amacı, 2017 yılında erişkin hastaların solunum yolu bronkoalveolar lavaj (BAL), derin trakeal aspirat (DTA) ve balgam örneklerinden izole edilmiş olan *S. pneumoniae* izolatlarının serotiplerini ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumunu belirlemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatlar

Streptococcus pneumoniae izolatları (n=52) 1 Ocak-31 Aralık 2017 tarihlerinde Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na gönderilen, 4-82 yaş aralığındaki hastaların BAL, DTA ve balgam örneklerinden klinik olarak anlamlı kabul edilen her biri ayrı hastaya ait olmak üzere ardışık solunum sistemi örneklerinden izole edilmiştir. Direkt mikroskobi değerlendirmesine göre anlamlı kabul edilen ve her hastaya ait tek bir izolat çalışmaya dahil edilmiştir[8].

Çalışmaya dâhil edilen örnekler, BAL (n=4), DTA (n=9) ve balgam (n=39)'dır.

Serogrupların belirlenmesi

Serogruplandırma için 14 "pool" serumlu Pneumotest-Latex Kit (Statens Serum Institut, Danimarka) kullanılmış, pnömokok antiserumları ile kaplanmış lateks partikülleri ile *S. pneumoniae* izolatlarının serogrupları firmanın verdiği şemaya göre (Resim 1) belirlenmiştir. Bunun için bakteriler Mueller-Hinton buyyonda süspanse edilmiş ve bir gece inkübasyona bırakılmıştır. A'dan I'ya ve P'den T'ye lateks partikülü içeren serumlardan 1 damla reaksiyon kartına damlatıldıktan sonra üzerine bir damla bakteri süspansiyonu damlatılmış ve aglütinasyon varlığı araştırılmıştır. Otuz saniye içinde gözlenen aglütinasyonlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Serotiplerin belirlenmesi

Serotiplerin tanımlanması pnömokokkal kapsül polisakkaridi ile homolog antikoru arasındaki in situ immunopresipitasyonu gösteren kapsül şişme testi ile yapılmıştır (Statens Serum Institut, Danimarka). Araştırılacak serotiplerin her biri için özgül faktör serumları kullanılmıştır (19F,

19A, 19B, 19C gibi). Bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden fosfat tamponu ile (pH=7.4) süspansiyon hazırlanmış, lama bir damla bakteri süspansiyonu eklenmiş, üzerine eşit miktarda faktör serum ve bir damla metilen mavisi eklenip, iyice karıştırılmıştır. Süspansiyonun üzeri lamel ile kapatıldıktan sonra mikroskopta 40X ve 100X objektif ile kapsül yapısındaki genişleme ve kümeleşme incelenmiştir. Her serotip tayini için aynı lamele bakterinin faktör serum içermeyen süspansiyonu negatif kontrol olarak eklenmiştir.

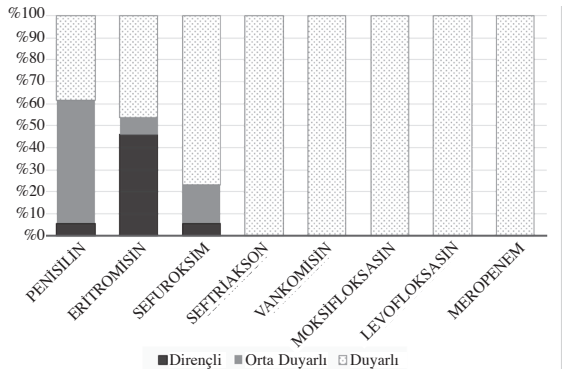
Antibiyotik duyarlılık testleri

Streptococcus pneumoniae izolatları için test edilecek antibiyotikler, toplum kaynaklı pnömonilerde kullanılabilecek olan ve Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) çalışma grubunun kısıtlı bildirim tablosunda bulunan antibiyotikler arasından seçilmiştir[1,9]. Penisilin, sefuroksim, seftriakson, meropenem, moksifloksasin, levofloksasin, eritromisin ve vankomisin duyarlılıkları gradiyent test (G-test; Liofilchem, İtalya) ile EUCAST standartlarına göre Mueller Hinton Fastidious Agarda (MH-F) (%5 defibrine at kanı, 20 mg/L β-NAD) belirlenmiştir. Penisilin için menenjit dışı izolatlar için verilen sınır değerler uygulanmış, MİK değeri ≤0.06 mg/L olanlar duyarlı, >2 mg/L olanlar dirençli, arada kalan değerler orta duyarlı olarak tanımlanmıştır[10].

BULGULAR

Antibiyotik duyarlılık test sonuçları

Streptococcus pneumoniae izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. En yüksek direnç penisiline karşı gözlenmiş, orta duyarlı izolatlar ile birlikte toplam direnç oranı %61.5 olarak bulunmuştur. Penisilin direncini eritromisin ve sefuroksime direnç izlemektedir (Şekil 1).



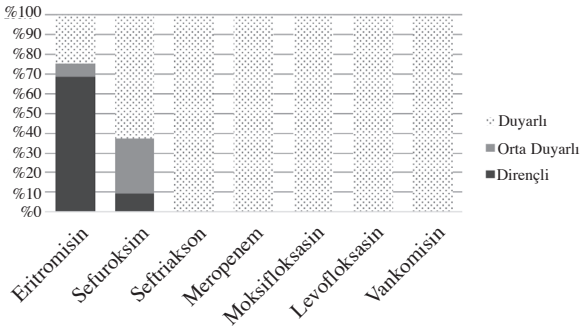
Şekil 1. *Streptococcus pneumoniae*'de antibiyotiklere duyarlılık ve direnç oranları (%).

Çalışılan antibiyotikler arasında yalnızca penisiline dirençli *S. pneumoniae* izolat sayısı sekiz, penisilin ve eritromisine dirençli izolat sayısı da 34 olarak saptanmıştır. Penisiline dirençli izolatlarda diğer antibiyotiklere direnç oranları Şekil 2'de gösterilmiştir. Bu izolatlarda eritromisine ve sefuroksime direnç sırasıyla %75 ve %35.5

Tablo 1. Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde 2017 yılında erişkin hastaların solunum yolu örneklerinden izole edilen *Streptococcus pneumoniae*'ların antibiyotiklere duyarlılık sonuçları (n=52).

	Aralık mg/L	MIC_{50} mg/L	MI_{C90} mg/L	S (%)*	I (%)*	R (%)*
Penisilin	≤0.125-8	0.125	1	38.5	55.7	5.8
Sefuroksim	≤0.125-4	0.125	1	76.9	17.3	5.8
Seftriakson	≤0.125-0.50	0.06	0.25	100	0	0
Meropenem	≤0.125-1	0.06	0.25	100	0	0
Moksifloksasin	≤0.125-0.50	0.125	0.25	100	0	0
Levofloksasin	0.125-1	0.25	0.50	100	0	0
Eritromisin	0.125->256	0.50	>256	46.2	7.7	46.1
Vankomisin	0.125-1	0.50	1	100	0	0

**S: Duyarlı, I: Orta; R: Dirençli*



Şekil 2. Penisiline orta duyarlı ve dirençli *Streptococcus pneumoniae*'ların diğer antibiyotiklere direnç oranları.

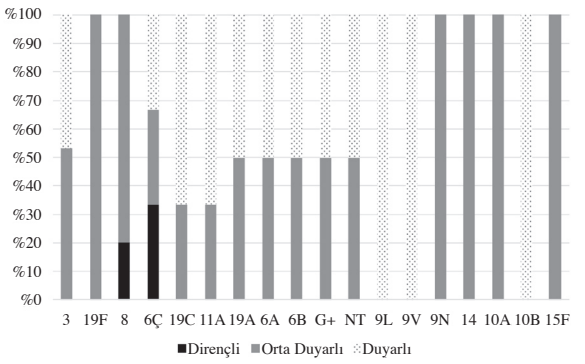
olarak bulunmuş, diğer antibiyotiklere direnç saptanmamıştır.

Serotipler

Solunum yolu izolatlarında en sık belirlenen serotipler 3 (n=15, %28.8), 19F (n=6, %11.5) ve 8'dir (n=5, %15.4). Eldeki kitlerle gruplandırılamayan (NT) iki izolat bulunmuştur. Tüm izolatların serotip dağılımları Şekil 3'te gösterilmektedir.

Serotipler ve antibiyotiklere direnç

Serotip 8 ve 19F olan *S. pneumoniae* izolatlarının tümü, serotip 3 bulunan izolatların ise sekiz tanesi penisiline dirençli bulunmuştur (Şekil 3). Bu serotiplerde eritromisine direnç oranı sırasıyla %100, %83.3 ve %40'tır.



NT: Tiplendirilemeyen

Şekil 3. *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının serotip dağılımları ve penisiline duyarlılıkları.

TARTIŞMA

Son yıllarda sıklıklarının azalmasıyla birlikte *S. pneumoniae*'ya bağlı pnömoniler tüm dünyada en yaygın enfeksiyonlar arasında yer almaktadır[1]. *S. pneumoniae* 1970'lı yıllarda penisilin, eritromisin gibi birçok antibiyotiğe karşı duyarlı iken, 1990'li yıllardan itibaren penisilin ve diğer antibiyotiklere direncin artmaya başlamasıyla, bu etkene bağlı enfeksiyonlarındaki mortalite ve morbidite oranları da artış göstermiş, *S. pneumoniae*'ya bağlı enfeksiyonların önlenmesinde aşı kullanımı büyük önem kazanmıştır[4,11]. *S. pneumoniae*'nın antibiyotiklere direnç durumunun bilinmesi, tedaviye yön göstericidir.

Serotipler ve direnç sıklıkları, kullanılan aşı türüne göre değişiklik gösterebilmektedir. Ülkemizde son yıllara değin 13 valanlı pnömokok aşısı kullanılmakta iken son yıllarda 23 valanlı aşı erişkinlerde rutin aşı programına sokulmuştur. *S. pneumoniae*'nın solunum yolu izolatlarında yaygın olan serotiplerin ve antibiyotiklere direnç durumlarının sürekli izlenmesi gereklidir.

Bu çalışmada, 2017 yılında Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda 4-82 yaş aralığında 52 hastaya ait, ardışık olarak BAL, DTA ve balgam örneklerinden izole edilmiş olan *S. pneumoniae* izolatlarının serotipleri ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumu belirlenmiştir.

Çalışmada, erişkin hastalardan izole edilen *S. pneumoniae* izolatlarında penisilin direnci orta duyarlı izolatlarla birlikte % 61.5 bulunmuştur. Solunum yolu izolatlarında antibiyotiklere direncin araştırıldığı SOAR 2014-2016 sonuçlarına göre penisiline direnç Romanya ve Sırbistan'da %78, Bulgaristan'da %13, Çek Cumhuriyeti'nde %8, Rusya'da %36, Yunanistan'da ise %63 olarak bildirilmiştir[12-15].

Türkiye'de 2002-2009 yıllarını içeren analizde penisilin direncinin yıllara göre artış gösterdiği ve %52.8'e ulaştığı belirtilmiş, 2011-2013 yılları arasında 5 merkezde yapılan SOAR çalışmasında ise bu oran orta duyarlılarla birlikte %61.9 olarak bulunmuştur[16,17]. Hastanemizde izole edilen pnömokoklarda bulunan direnç oranı bu sonuç ile büyük benzerlik göstermektedir. Solunum yolu izolatlarında penisilin direncinin yüksek gibi görünmesine karşın, orta duyarlı izolatlarda penisilin ile tedaviye yanıt alındığı belirtilmektedir[2,3]. Bu nedenle, penisiline yüksek düzeyde dirençli izolatların (MİK >2 mg/L) %5.8 olduğunu belirtmek uygun olur.

Beta-laktam antibiyotik gruplarından seftriakson ve meropeneme direnç saptanmamışken, sefuroksim direnci %23.1 olarak belirlenmiştir. Penisiline dirençli olan izolatlarda sefuroksim direnci % 35.5 olarak bulunmuştur. *S. pneumoniae*'da penisilin bağlayan proteinlerden 1A, 2X ve 2B'de oluşan yapısal değişimler sonucunda, penisilin ve beta-laktam direnci ortaya çıkmaktadır. Bu değişimlerden seftriakson, sefotaksim ve karbapenemler daha az etkilenmektedir. Bu nedenle bu ilaçlar *S. pneumoniae* enfeksiyonlarında penisiline göre daha etkili olarak kalmaktadır[18].

Eritromisine direnç bu çalışmada genel olarak %53.8 olarak saptanmış, penisiline dirençli izolatlarda ise %75 olarak bulunmuştur. Penisiline dirençli olan *S. pneumoniae* izolatlarında en sık saptanan serotipler olan 19F, 8 ve 3 serotiplerinde eritromisine direnç oranı sırasıyla %83.3, %100 ve %40 olarak bulunmuştur. *S. pneumoniae*'ya bağlı olduğu düşünülen pnömonilerde o toplumda eritromisin direnci penisilin direncinden az ise ampirik tedavide eritromisin ilk seçenek olarak önerilmektedir[1-3]. Çalışmamızın sonuçlarına göre ise penisiline direnç (%5.8), eritomisin direncinden (%46.1) düşüktür.

Ülkemizde olduğu gibi Avrupa ve Amerika'da *S. pneumoniae* izolatlarında makrolid direnç oranı dramatik olarak artışını sürdürmektedir[12-15,19,20]. Ülkemizde önceki yıllarda yapılan araştırmalarda eritromisine direnç solunum yolu izolatlarında %9.1, %17.3 ve %37.5 olarak bildirilmiştir[21-23]. Makrolidlere dirençli izolatlarda, aşı kapsamında yer alan serotiplerde belirgin bir azalma görülmüş fakat direnç, aşı kapsamı dışında kalan izolatlarda da görülmeye başlanmıştır. Çalışmamızda, tiplendirilemeyen iki izolattan biri yalnızca penisiline orta duyarlı, diğeri ise test edilen tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Bu durum, ülkemizde özellikle toplumdan kazanılmış pnömoni enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir seçenek olan makrolid kullanımını sınırlamaktadır.

Bu çalışmada, vankomisine dirençli izolat bulunmamıştır; *S. pneumoniae* izolatlarında dünyada henüz vankomisine direnç bildirilmemiştir. Bununla birlikte, enterokoklardan vankomisine direnç genlerinin, stafilokoklarda olduğu gibi bu bakterilere de transfer edilme olasılığı vardır ve vankomisine direnç bu izolatlarda her zaman araştırılmalıdır.

Florokinolon grubu antibiyotiklerden moksifloksasin ve levofloksasine bu araştırmada direnç saptanmamıştır. SOAR 2014-2016 yılları arasında yapılan surveyans çalışma sonuçlarına göre Rusya, Bulgaristan, Yunanistan'da florokinolon direnci belirlenmemiştir[12-14], Çek Cumhuriyeti'nde ise moksiflokasin ve levofloksasine direnç %0.5 olarak bulunmuştur[15]. Türkiye'de *S. pneumoniae* izolatlarında, florokinolon direnci bazı çalışmalarda hiç belirlenemezken, bazı çalışmalarda ise oldukça düşük oranlarda (%1.2) bildirilmiştir[17,24-26]. Florokinolon grubu antibiyotikler ülkemizde toplumdan kazanılmış pnömonilerde sık kullanılmaktadır, bu nedenle günümüzde direnç sıklığı düşük olmakla birlikte, direnç gelişiminin yakından izlenmesi gerekir.

Streptococcus pneumoniae'nın 90'dan fazla

serotipi bulunmaktadır ve invaziv enfeksiyonlarda en sık etken olan serotipleri 14, 4, 1, 6A, 6B, 3, 8, 7F, 23F, 18C, 19F ve 9V'dir. Etken olan serotipler ülkelere göre de değişim göstermektedir[11,23].

PCV7 ve PCV13 polisakkarit aşılarının kullanıma girmesini izleyen 5 yıl içerisinde, aşı kapsamında yer almayan bazı serotipler ile oluşan enfeksiyonlarda artış görülmüştür. PCV7 aşılarından sonra serotip 19A, PCV13'den sonra ise 35B klonlarında artış olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda, 19A bir izolatta bulunmuş, 35B ise saptanmamıştır. Pnömokoklarda kapsül değiştirme (capsular switching) sonucunda, aşı kullanımına bağlı olarak serotiplerin sıklığında değişiklik beklenmekte ve yeni çalışmaların gerekliliği vurgulanmaktadır. Ülkemizde 65 yaş üzerindeki erişkinlerde PCV13 ve PPSV23'ün rutin aşı kapsamında olmasına karşın çalışmamızda tüm izolatlarda en sık belirlenen serotipler aşı içeriğinde olan 3, 19F ve 8'dir. Ülkemizde yapılan araştırmalarda solunum yolu örneklerinde en sık saptanan serotipler, Öksüz ve ark.'nın[23] çalışmasında 3, 19F, 6A, 23F, 8 ve 19A'dır. Diğer bir çalışmada, erişkin hastaların alt solunum yolu örneklerinden izole edilen *S. pneumoniae* izolatlarında en sık belirlenen serogruplar 23, 19 ve 3'tür[24]. Kayseri'de yapılan bir çalışmada ise en sık belirlenen serotipler 19, 23, 14 ve 1'dir[27]. Bu sonuçlar, bölgesel verilerin hastane düzeyinde bile farklı olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışma sonuçlarına göre solunum yolu etkeni olan *S. pneumoniae*'de penisilin ve makrolid grubu antibiyotiklere direnç yüksek bulunmuştur. Makrolid grubu ve penisilinlere direnç gösteren serotipler, aşı kapsamındadır. Bu bulgular pnömokok aşısının erişkinlerde ve risk altındaki bireylerde gerekliliğini ortaya koymaktadır. Solunum yolları enfeksiyonlarından izole edilen *S. pneumoniae*'lerde antibiyotiklere direnç dikkatle izlenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Musher DM, Thorner AR. Community-acquired pneumonia. N Engl J Med. 2014;371(17):1619-28. https://doi.org/10.1056/NEJMra1312885
2. Türk Toraks Derneği Erişkinlerde toplumda gelişen pnömoni tanı ve tedavi uzlaşı raporu. Turk Thorac J. 2009;10(Ek9). http://turkthoracj.org/sayilar/147/buyuk/pdf_Toraksder_6391.pdf (Erişim tarihi: Haziran 2018).
3. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. Clin Infect Dis. 2007;44(Suppl2):S27-71. https://doi.org/10.1086/511159
4. Daniels CC, Rogers PD, Shelton CM. A review of pneumococcal vaccines: Current polysaccharide vaccine recommendations and future protein antigens. J Pediatr Pharmacol J Pediatr Pharmacol Ther. 2016;21(1):27-35. https://doi.org/10.5863/1551-6776-21.1.27
5. Nagaraj S, Kalal BS, Manoharan A, Shet A. *Streptococcus pneumoniae* serotype prevalence and antibiotic resistance among young children with invasive pneumococcal disease: experience from a tertiary care center in South India. Germs. 2017;7(2):78-85. https://doi.org/10.18683/germs.2017.1112
6. Croucher NJ, Kagedan L, Thompson CM, et al. Selective and genetic constraints on pneumococcal serotype switching. PLoS Genet. 2015;11(3):e1005095. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005095
7. Wyres KL, Lambertsen LM, Croucher NJ, et al. Pneumococcal capsular switching: A historical perspective. J Infect Dis. 2013;207(3):439-49. https://doi.org/10.1093/infdis/jis703
8. KLİMUD Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları için Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama rehberi; solunum sistemi örnekleri. https://www.klimud.org/public/uploads/files/solunum-sistemi-ornekleri.pdf (Erişim tarihi: Haziran 2018)
9. TMC-ADTS Kısıtlı Bildirim Tablosu. http://tmc-online.org/userfiles/file/26-37.pdf (Erişim tarihi: Haziran 2018)
10. Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi, MİK ve zon çaplarının değerlendirilmesi için sınır değer tabloları, Sürüm 8.1, geçerlilik tarihi: 15.05.2018. http://tmc-online.org/userfiles/file/EUCAST_2018_Klinik_Sinir_Deger_Tablolari_Surum_8.1.pdf (Erişim tarihi: Haziran 2018)
11. Lynch JP 3rd, Zhanel GG. *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology and risk factors, evolution of antimicrobial resistance, and impact of vaccines. Curr Opin Pulm Med. 2010;16(3):217-25. https://doi.org/10.1097/MCP.0b013e3283385653
12. Torumkuney D, Mayanskiy N, Edelstein M, Sidorenko S, Kozhevin R, Morrissey I. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2014-16 in Russia. J Antimicrob Chemother. 2018;73(Suppl5):v14-v21. https://doi.org/10.1093/jac/dky065
13. Torumkuney D, Nica M, Nistor I, et al. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2014-16 in Bulgaria, Romania, Serbia and Croatia. J Antimicrob Chemother. 2018;73(Suppl5):v2-v13.

https://doi.org/10.1093/jac/dky066
14. Torumkuney D, Papaparaskevas J, Morrissey I. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2014-16 in Greece. J Antimicrob Chemother. 2018;73(Suppl5):v36-v42. https://doi.org/10.1093/jac/dky068
15. Torumkuney D, Zemlickova H, Maruscak M, Morrissey I. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2014-16 in the Czech Republic. J Antimicrob Chemother. 2018;73(Suppl5): v22-v27. https://doi.org/10.1093/jac/dky067
16. Torumkuney D, Gür D, Soyletir G, et al. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2002-09 in Turkey. J Antimicrob Chemother. 2016;71(Suppl): S1:i85-i91. https://doi.org/10.1093/jac/dkw067
17. Soyletir G, Altinkanat G, Gür D, et al. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2011-13 in Turkey. J Antimicrob Chemother. 2016;71(Suppl1):i71-i83. https://doi.org/10.1093/jac/dkw075
18. Liñares J, Ardanuy C, Pallares R, Fenoll A. Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in *Streptococcus pneumoniae* over a 30-year period. Clin Microbiol Infect. 2010;16(5):402-10. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03182.x
19. Vega S, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among Gram-positive and Gram-negative organisms collected from the Latin American region between 2004 and 2015 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2017;16(1):50-66. https://doi.org/10.1186/s12941-017-0222-0
20. Jenkins SG, Farrell DJ. Increase in pneumococcus macrolide resistance, United States. Emerg Infect Dis. 2009;15(8):1260-4. https://doi.org/10.3201/eid1508.081187
21. Gür D, Güçiz B, Hasçelik G, et al. *Streptococcus pneumoniae* penicillin resistance in Turkey. J Chemother. 2001;13(5):541-5. https://doi.org/10.1179/joc.2001.13.5.541
22. Gür D, Mülazımoğlu L, Ünal S, ve e-BASKETT-II çalışma grubu. Solunum yolu enfeksiyon etkenleri *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus pyogenes*'in telitromisin ve 11 antimikrobik ilaca in vitro duyarlılığı: e-BASKETT-II sürveyans çalışmasının Türkiye sonuçları. Mikrobiyol Bul. 2007;41(1):1-9.
23. Öksüz L, Gürler N. Bir üniversite hastanesinde yetişkin hastalardan izole edilen *Streptococcus pneumoniae* serotip dağılımı ve antibiyotik direnci. Mikrobiyol Bul. 2017;51(3):195-208. https://doi.org/10.5578/mb.48638
24. Akgün Karapınar DB. Determination of serotypes and antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. J Clin Anal Med. 2015;6(Suppl4):S443-7. https://doi.org/10.4328/JCAM.3548
25. Altun B, Gur D, Kocagoz S, Ünal S, the Turkish *S. pneumoniae* study group. Molecular epidemiology of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* strains in Turkey. A multicenter study. Ann Microbiol. 2006;56(3):185-90. https://doi.org/10.1007/BF03175003
26. Neriman B, Mumcuoğlu İ, Hayırlıoğlu N, Karahan ZC, Sultan N, Bodur H. *Streptococcus pneumoniae* suşlarının tedavide sık kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılıkları. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2007;37(3):147-51.
27. Esel D, Sümerkan B, Kocagöz S. Epidemiology of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Kayseri, Turkey. Clin Microbiol Infect. 2001;7(10):548-52. https://doi.org/10.1046/j.1198-743x.2001.00320.x

Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018;48(4):235-240
doi:10.5222/TMCD.2018.235

Araştırma

Uzamış Lenfadenopatili Çocuklarda EBV- DNA Saptanması

Şule DURMUŞ*, Mustafa ÖNEL*, Emin ÜNÜVAR, Ali AĞAÇFİDAN****
**İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*
***İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul*

ÖZ

Amaç: *Epstein-Barr virüsü (EBV) yetişkinlerin yaklaşık olarak %90'ında seropozitif olmak üzere dünyanın her yerinde yaygın olarak görülmektedir. Çocukların %90'dan fazlası 6 yaşında bu virüs ile enfekte olmaktadır. Bu çalışmada uzamış lenfadenopatisi olan 0-18 yaş grubu çocuklarda, EBV DNA'nın kantitatif olarak saptanması amaçlanmıştır.*

Gereç ve Yöntem: *İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genel Pediatri Kliniği'ne 2014-2015 yılları arasında lenfadenopati yakınması ile başvuran 0-18 yaş grubundaki çocuk hastalardan aydınlatılmış ve ailesi tarafından gönüllü onam veren 100 çocuk çalışmaya alınmıştır. Real Time PCR (RT-PCR) yöntemi için çalışmaya katılan hastalara ait tam kan örneklerinden viral DNA izole edilmiştir.*

Bulgular: *Olguların 33 (%33)'ünde EBV DNA saptanmıştır. Bu pozitif saptanan olguların 17 (%51.5)'si erkek olup, 16 (%48.5)'sı kız hasta olarak belirlenmiştir. Tüm yaş grupları değerlendirildiğinde, en yüksek EBV DNA kantitatif değerlerinin 0-6 yaş grubu çocuk hastalarında olduğu saptanmıştır.*

Sonuç: *Serolojik testler 0-4 yaş aralığında birinci basamak tetkik olarak yeğlense de çalışmamızdan elde edilen bulgular EBV DNA'nın kantitatif olarak belirlenerek viral yük değerlendirilmesinin tanıda önemli bir yer tutabileceğini düşündürmektedir. EBV'nin onkojenik bir virüs olması ndeniyle ileride gelişebilecek istenmeyen bir klinik tablonun önlenebilmesi için EBV DNA viral yük değerlendirilmesinin özellikle uzun süreli lenfadenopati yakınması olan çocuk hastalarda yapılmasının yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.*

Anahtar kelimeler: *Epstein-Barr virüs, lenfadenopati, gerçek zamanlı PZR*

ABSTRACT

Detection of EBV-DNA in Children With Prolonged Lymphadenopathy

Objective: *Epstein-Barr virus (EBV) is a common virus all around the world with observed seropositivity of 90% in adult population. More than 90% of the children are infected with this virus before the age of 6. This study aims to determine the quantitative viral load of EBV DNA in children between 0-18 years of age with prolonged lymphadenopathy.*

Material and Methods: *Among the patients with lymphadenopathy symptoms, who were admitted to the Istanbul University, Department of General Pediatrics between the years 2014 and 2015, 100 volunteer children between the age of 0-18 whose informed consents were taken from their parents were included in the study. Viral DNA was isolated from the whole blood samples of the patients for Real Time PCR (RT-PCR) method.*

Results: *EBV DNA was found in 33 (33%) of the patients. Of the patients who were positive for EBV DNA 17 (51.5%) were male while the remaining 16 patients (48.5%) were female. The highest quantitative value of EBV DNA was found in patients between the ages of 0 and 6.*

Conclusion: *Despite serological tests were preferred as the first-line tests between 0-4 years of age, the results of our study suggest that viral load may have an important role in the diagnosis by quantitative determination and assessment of EBV DNA. In order to prevent potentially undesirable clinical manifestations that may arise from EBV which is an oncogenic virus, in later years, it is necessary to keep in mind that evaluation of viral load EBV DNA should be performed in children who have prolonged lymphadenopathy complaints.*

Keywords: *Epstein-Barr virus (EBV), lymphadenopathy, real-time PCR*

Alındığı tarih: 15.03.2018
Kabul tarihi: 09.08.2018

Yazarların ORCID bilgileri:
Şule Durmuş ✉ 000-0002-5162-4003, Mustafa Önel 0000-0002-3987-6611, Emin Ünüvar 0000-0003-2685-6483,
Ali Ağaçfidan 0000-0002-5470-296X

GİRİŞ

Epstein-Barr virüs (EBV) herpesviridae gammaherpesvirinae alt ailesinde bulunan lenfokriptovirüs cinsinin bir üyesidir[1]. Enfeksiyonun bulaşmasında çocukluk döneminde sekresyonlarla kontamine gıdaların tüketilmesi, ortak kullanılan bardaklar, ergenlik döneminde ise öpüşme ve yakın temas önem kazanmaktadır. Aile içinde bulaşma da sıklıkla görülen bir tablodur[2]. EBV, yetişkinlerin yaklaşık olarak %90'nında seropozitif olmak üzere dünyanın her yerinde yaygın olarak görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ve sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda enfeksiyonlar erken yaşta ortaya çıkmaktadır[3]. Çocukların %90'dan fazlası 6 yaşında bu virüs ile enfekte olmaktadır. Erken yaşlarda enfeksiyon asemptomatik veya subklinik olarak görülür. Sanayileşmiş ülkelerde EBV enfeksiyonlarının %50'den fazlası geç adolesan veya genç erişkinlik döneminde görülmektedir. Olguların yaklaşık yarısında enfeksiyon kendini enfeksiyöz mononükleoz (EM) olarak göstermektedir[4]. Bu virüs lenfadenopati (LAP)'ye neden olmakta ve klinikte lenf nodu büyüklüğü tablosuyla kendini göstermektedir. Akut enfeksiyonda ilk olarak ortaya çıkan ve üç ay süresince saptanabilen antikor Anti-EBV VCA IgM'dir. Semptomlar başladıktan 4-7 gün sonrasında saptanabilen ve hayat boyu kalıcı olan antikorlar ise Anti-EBV VCA IgG'dir. Enfeksiyöz virüs ve viral genom EM hastalığı geçirenlerde ve seropozitif kişilerin büyük bir bölümünde orofarinks örneklerinde saptanabilmektedir[5]. Klinik örneklerde EBV DNA, PCR gibi amplifikasyona dayalı testler ile saptanabilmekte ve kantitatif olarak değerlendirilip viral yük belirlenebilmektedir[6,7]. Bu çalışmada, uzamış LAP'si olan 0-18 yaş grubu çocuklarda EBV DNA'nın kantitatif olarak saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma için EDTA'lı tüplerde gelen tam kan örnekleri çalışma zamanına kadar derin dondurucuda -20°C'de saklanmak üzere 1.5 mL'lik ependorf tüplerine aktarılmıştır. Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı laboratuvarlarında EBV DNA kantitatif olarak araştırılmıştır. Real Time PCR (RT-PCR) yöntemi için çalışmaya katılan hastalara ait tam kan örneklerinden viral DNA izole edilmiştir. Tam kan örneklerinden EBV DNA izolasyonu için QIAamp (Qiagen, Almanya) DNA minikit kullanılmıştır.

Değerlendirme

Rotor-Gene Q (Qiagen, Almanya) cihazında RT-PCR ile elde edilen ürünlerin analizi için 2 fluoresan boyadan (FAM, JOE) yararlanılmıştır. Reaksiyon gerçekleşirken oluşan fluoresan yoğunluğunun monitörize edilmesiyle PCR ürünlerinin kantitatif olarak saptanması sağlanır. EBV-spesifik sinyaller FAM, internal kontrol-spesifik sinyaller ise JOE kanalında saptanmaktadır. Sonuç olarak, FAM kanalında EBV DNA kantitasyonu belirlenirken, JOE kanalında ise oluşabilecek PCR inhibisyonu belirlenmektedir. Viral DNA miktarının saptanması için eksternal kontrollerin eşik siklusuna (cycle threshold; CT) ve viral DNA konsantrasyonlarına göre standart eğri oluşturularak değerlendirme yapılmıştır.

Elde edilen sonuçların yorumlanması

1) FAM ve JOE kanallarında sinyal pozitif ise örnekte EBV DNA bulunmaktadır. Buna karşılık çalışılan örnekte yüksek kantitasyonda PCR ürünü söz konusu ise yarışma nedeniyle JOE kanalında internal kontrole ait fluoresan sinyalinde bir azalma veya negatiflik oluşabilmektedir.

2) FAM 160 kanalında sinyal negatif, JOE kanalında sinyal pozitif ise değerlendirmeye alınan örnekte EBV DNA bulunmamaktadır.

3) Elde edilen sonuçta meydana gelen bir inhibisyon veya DNA izolasyonu aşamasında oluşabilecek olumsuz durumlarda ise FAM ve JOE kanallarında sinyal negatif olarak bulunur.

Çalışmada kullanılan EBV DNA kantitatif kitine ait dinamik ölçüm aralığı 1000 - 1.000.000 kopya/mL arasındadır.

İstatistik analiz

Veriler IBM SPSS Statistics for Windows (Statistical Package for the Social Sciences, Armonk, NY, ABD) programı, 21.0 sürümü ile değerlendirilmiştir. Bulguların türüne göre sayısal veriler aritmetik ortalama±standart sapma, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde (%) ile belirtilmiştir. İstatistiksel testlerden ki-kare (χ^2) testi kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirilerek $p<0.05$ 170 istatistiksel anlamlılık olarak tanımlanmıştır.

Etik onay ve destek: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'nun izni (21.02.2014 tarihli karar No: 04-405) ile yapılmıştır. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 51348).

BULGULAR

Lenadenopatisi olan 0-18 yaş arası 100 çocuk hasta çalışma kapsamına dâhil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen olguların 57 (%57)'si erkek, 43 (%43)'ü kız olarak belirlenmiştir. Olguların 33 (%33)'ünde EBV DNA saptanmıştır. Bu pozitif saptanan olguların 17 (%51.5)'si erkek olup, 16 (%48.5)'sı kız hasta olarak belirlenmiştir. Erkek çocukların 17 (%29.8)'sinde EBV DNA pozitifliği saptanırken, 40 (%70.2)'ında EBV DNA negatif olarak belirlenmiştir. Kız çocukların 16 (%37.2)'sında EBV DNA pozitifliği saptanırken, 27 (%62.8)'sinde ise EBV DNA negatif olarak belirlenmiştir. Yaş aralıklarında EBV DNA'nın kopya/mL değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Her iki cinsiyet arasında EBV DNA pozitifliği açısından istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır ($p=0.053$). Tüm yaş grupları değerlendirildiğinde en yüksek EBV DNA kantitatif değerlerinin 0-6 yaş grubu erkek çocuk hastalarında, en düşük EBV DNA kantitatif değerlerinin ise 7-12 yaş erkek çocuk hastalarda saptandığı görülmüştür. Kız çocukları açısından değerlendirme yapıldığında en yüksek EBV DNA kantitatif değerlerinin 0-6 yaş grubunda, en düşük EBV DNA değerlerinin erkek hasta grubuna benzer şekilde 7-12 yaş grubunda olduğu saptanmıştır.

Tablo 1. EBV DNA'nın yaş gruplarına ve cinsiyete göre dağılımı.

Yaş grubu	Kız	Erkek
0-6	<1.000 - 160.380 kopya/mL	<1.000 - 746.000 kopya/mL
7 -12	<1.000 - 8.570 kopya/mL	<1.000 - 2.378 kopya/mL
13-18	<1.000 - 32.800 kopya/mL	<1.000 - 10.082 kopya/mL

TARTIŞMA

EBV, tüm dünyada yaygın olarak görülebilen ve bazı malign hastalıkların etiyolojisinde rol alabilen bir virüsdür. Genellikle asemptomatik geçirilen primer enfeksiyon sonrasında virüs yaşam boyu latent olarak kalabilmekte ve reaktivasyon sonucu farklı şekillerde hastalıklar oluşturabilmektedir. En sık görülen hastalık tablosu ise genç ve yetişkin kişilerde ortaya çıkan EM'dir[8].

Dünya genelinde yetişkin yaş grubunda seropozitiflik oranı %90-95 iken, çocuklarda bu oran

%60-70 olarak saptanmıştır[9]. EBV, tükürük ve boğaz salgılarıyla yakın temas, kan ve kontamine eşyalarla bulaşabilme özelliğine sahip bir virüstür[10]. Öncelikle oral kavitedeki lenfoepitelyal hücrelere ve B lenfositlere yerleşerek persistan enfeksiyon oluşturur. İki yaş altında asemptomatik olabilen EBV enfeksiyonlarında en sık klinik bulgular ateş, hâlsizlik, boğaz ağrısı, eksudatif tonsillit ve LAP'tır[9,10].

İmmünsüprese ve immünkompetan bireylerde tedavi yöntemlerinin farklı olması nedeniyle EBV enfeksiyonlarının tanısında da bu kişilere uygun yöntemlerin seçimi oldukça önem taşımaktadır[5]. Günümüzde immünkompetan bireylerde EBV enfeksiyonu tanısında serolojik profilin gösterilmesi, immünsüprese bireylerde ise EBV DNA'nın kantitatif olarak araştırılması sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır[11].

She ve ark.[12] serolojik olarak akut EBV enfeksiyonu olduğu kanıtlanmış hastaların yalnızca %70'inde EBV DNA'nın saptanabildiğini göstermişlerdir. Reaktivasyona bağlı gelişen EBV enfeksiyonlarında ise PCR yöntemi ile EBV DNA'nın sık olarak saptanmadığını belirtmişlerdir. Akut EBV enfeksiyonu olan hastalarda saptanan yüksek viral yükün serolojik profil ile korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Bu nedenle de serolojinin akut EBV enfeksiyonu tanısında PCR'dan daha duyarlı ve daha özgül olduğunu belirtmişlerdir.

Zeytinoğlu ve ark.[13] farklı tip lenfomalı EBV seropozitif hastaların doku örneklerinde EBER (EBV tarafından kodlanan RNA) ve EBV DNA saptanmasını amaçlayan çalışmalarında, anti-EA pozitif olan hastalarda %36.4, anti-EA negatif olan hastalarda ise %27.8 olarak EBER ve EBV DNA pozitifliği saptamışlardır. Sonuç olarak, primer enfeksiyon dışında bu tip hastalarda ki buna post-transplant lenfoproliferatif hastalık (PTLH) da dahil olmak üzere serolojik testlerin kullanımının tanı açısından bir yarar sağlamadığını belirtmişlerdir. Bunun yanında HIV/AIDS'li hastalarda görülebilen lenfoproliferatif hastalıklarının tanısında da antikor testlerinin yerinin kısıtlı olduğu görülmektedir. Bu tip hastalarda EBV tanısında moleküler yöntemlerin kullanılmasının daha yararlı olduğu belirtilmiştir.

EBNA (Ebstein-Barr nükleer antijen) antikorları, EBV enfeksiyonunun başlangıç zamanının belirlenmesinde kullanılır. Enfeksiyoz mononükleozisin etkeni olan EBV virüsü ile karşılaşıldıktan sonraki 6.-8. haftada (konvelesan dönem) pozitifleşir ve ömür boyu pozitif kalır. Çocuklarda veya bağışıklık sistemi yetersiz olan erişkin kişilerde görülen primer EBV enfeksiyonlarında ise EBNA antikorları alışılmışın dışında bazen 8. haftadan sonra saptanabilmektedir. Bu da yeni gelişen EBV enfeksiyonu için yanlış tanı konulmasına sebebiyet verebilmektedir. Ayrıca anneden bebeğe geçen antikorlar da tanıyı güçleştirmektedir.

Chan ve ark.'nın[14] yaptıkları bir çalışmada, erken veya akut primer EBV enfeksiyonunda serum örneklerinde EBV DNA'nın saptanmasında PCR'ın duyarlılığını %80, özgüllüğünü %94, pozitif prediktif değerini %95 ve negatif prediktif değerini %79 olarak saptamışlardır. EBNA antikorlarının yokluğunda anti-EBV VCA IgM ve anti-EBV VCA IgG'nin varlığının primer EBV enfeksiyonunun tanısında tek basına güvenilir olmadığını ileri sürmüşler, ayrıca serum örneklerinde EBV DNA PCR yönteminin serolojik testlerle birlikte doğrulama testi olarak kullanılabileceğini ve özelliklede bu amaç için kullanılan testlerin serolojik panele katkı yapacağını belirtmişlerdir.

Leung ve ark.[15] çalışmalarında, EBV DNA'yı sağlıklı kontrol grubunda %18, hemodiyaliz hastalarında %63, renal transplant alıcılarında %90 ve EM hastalarında %93 oranlarında saptamışlardır. EBV DNA'nın en yüksek viral yük seviyeleri çoğunlukla gençlerin ve çocukların

oluşturduğu EM'li hasta grubunda görülmüştür.

EBV enfeksiyonlarının belirlenmesinde vücut sıvılarında EBV DNA bakılması ve kan örneklerinden EBV serolojisi başlıca kullanılan laboratuvar yöntemleri olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak serolojik testler immünkompetan hastalarda yalnızca akut veya geçirilmiş EBV enfeksiyonlarının konfirmasyonu için uygun görülmektedir. İmmünsüprese hastalarda ise EBV'ye karşı istenilen seviyelerde oluşmayan hümoral yanıtın gelişmesi nedeniyle serolojik testlerin klinik tablonun belirlenmesinde güvenilir bir yöntem olmadığı belirtilmektedir. Bu hastalarda EBV DNA viral yükünün gösterilmesi, klinik olarak EBV enfeksiyonlarının belirlemesi açısından daha güvenilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu çalışma sonuçlarına göre, yüksek EBV DNA seviyeleri gösteren immünsüpresif hastalarla akut EBV enfeksiyonu olan grup arasında korelasyon olduğu görülmüştür.

Gen ve ark.[16] kronik aktif EBV enfeksiyonu (KAEBV) olan 53 çocuk hastayı retrospektif olarak değerlendirmeye almışlardır. Yirmi üç hastada yapılan EBV DNA sonuçları değerlendirildiğinde, dört hasta dışında diğer hastalarda viral yükün fark edilir şekilde arttığı gösterilmiştir. EBV için PCR yönteminin kullanılmasının KAEBV tanısında uygun yöntem olduğu belirtilmektedir. Araştırmacılar bu bulgulara dayanarak KAEBV semptomlarına benzer bir dizi açıklanamayan belirtilerin varlığında EBV DNA viral yükünün belirlenmesinin tanıda uygun bir yöntem olacağını belirtmişlerdir.

Akut EBV enfeksiyonlarında EBV DNA çoğunlukla saptanırken, sağlıklı seropozitif kişilerde ise çok ender olarak belirlenmektedir. Ayrıca EBV DNA viral yükünün miktarının da hastalığın şiddetiyle orantılı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur[17].

Çalışmamızda, LAP yakınması olan 0-18 yaş grubu hastalardan tek seferlik olmak üzere alınan tam kan örneklerinde EBV DNA'nın kantitatif olarak saptanması amaçlanmıştır. Çalışmamızda, yalnızca hastanemiz genel çocuk polikliniğine başvuran hastaların tam kan örneklerinde EBV DNA, PCR yöntemiyle araştırılmıştır. Kliniğe başvuran 100 çocuk hastanın 33'ünde EBV DNA pozitif olarak bulunmuştur. Erkek çocuk hastaların 17'sinde (%51.5) EBV DNA kantitatif olarak saptanırken, kız çocuk hastaların 16'sında (%48.5) EBV DNA kantitatif olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda, 0-6 yaş grubundaki kız ve erkek çocuk hastalarda EBV DNA pozitiflik oranı ve viral yükü diğer yaş gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur.

Sıfır-dört yaş aralığında EBV'ye bağlı tipik EM klinik tablosu görülmeyip spesifik olmayan semptomlar veya asemptomatik klinik tablolar ortaya çıkabilmektedir[18]. Bu yaş döneminde serolojik testler birinci basamak tetkik olarak yeğlense de çalışmamızdan elde edilen bulgular EBV DNA'nın kantitatif olarak belirlenerek viral yük değerlendirilmesinin tanıda önemli bir yer tutabileceğini düşündürmektedir. İmmünsüprese hasta gruplarında serolojik testler negatif sonuçlanabileceği için bu grup hastalarda EBV DNA ve erken ("early") antijen değerlendirilmesi uygun olacaktır. Yaşla birlikte EBV DNA viral yük değerlerinde görülen azalma immün sistemin olgunlaşması nedeniyle virüse karşı olusan immün yanıtın artısıyla açıklanabilmektedir. Biz de çalışmamızın ve diğer çalışmaların sonuçlarına göre, EBV'nin onkojenik bir virüs olması nedeniyle ileride gelişebilecek istenmeyen bir klinik tablonun önlenebilmesi için EBV DNA viral yük değerlendirilmesinin özellikle uzun süreli LAP yakınması olan çocuk hastalarda yapılmasının yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Linde A, Falk K. Epstein-Barr virüs. In: Murray P, Baron E, Jorgensen J (eds). Klinik Mikrobiyoloji. 9. baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık Tic. Ltd; 2009:1564-

70.
2. Erensoy S, Zeytinoğlu A. Epstein-Barr virüs. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3.baskı. İstanbul: Nobel Kitapevi; 2008:1677-8.
3. Gärtner B, Preiksaitis JK. EBV viral load detection in clinical virology. J Clin Virol. 2010;48(2):280:82-90. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2010.03.016
4. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, Chapter 33, 24th Ed, New York, NY, McGraw-Hill, ABD; 2007.
5. Johannsen EC, Kaye KM. Epstein-Barr Virus (Infectious Mononucleosis, Epstein-Barr Virus-Associated Malignant Diseases, and Other Diseases). In: Masters BR, Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia, Elsevier Saunders. 2015:1764-6.
6. Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. J Clin Microbiol. 2004;42(8):3381-7. https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3381-3387.2004
7. Gulley ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr Virus-related diseases. J Mol Diagn. 2001;3:1-10. https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60642-3
8. Özsoy M, Yılmaz N, Gökalp N. Klinik yakınmaları olan ve olmayan bireylerde Epstein-Barr virus göstergelerinin serolojik olarak araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2001;35(3):465-72.
9. Çağlar M, Balcı YI, Polat A, Cevahir N, Çölgeçen S. Enfeksiyöz mononükleoz tanısı alan hastaların değerlendirilmesi. Pam Med J. 2014;7(3):210-3.
10. Fidan I, Yuksel S, İmir T. Değişik yaş gruplarında EBV antikorlarının araştırılması. Infeks Derg. 2005;19(4): 453-6.
11. Akgüç T. Pediatrik hematoloji-onkoloji kliniği hastalarında immünblot yöntemi ile Epstein-Barr virus serolojisi araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2015.
12. She RC, Stevenson J, Phansalkar AR, Hillyyard DR, Litwin CM, Petti CA. Limitations PCR testing for diagnosis acute EBV infections. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;58(3):333-5. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.01.014
13. Zeytinoglu A, Hekimgil M, Erensoy S, ve ark. Lenfomalı hastaların dokularında EBV-DNA ve RNA sının araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2005;39(4):473-81.
14. Chan KH, Ng MH, Seto WH, Peiris JS. Epstein-Barr virus (EBV) DNA in sera of patients with primary EBV infection. J Clin Microbiol. 2001;39(11):4152-4. https://doi.org/10.1128/JCM.39.11.4152-4154;2001
15. Leung E, Shenton BK, Jackson G, Gould FK, Yap C, Talbot D. Use of real-time PCR to measure Epstein-Barr virus genomes in whole blood. J Immunol Methods. 2002;270(2):259-67. https://doi.org/10.1016/S0022-1759(02)00333-2
16. Lu G, Xie ZD, Zhao SY, et al. Clinical analysis and follow-up study of chronic active Epstein-Barr virus infection in 53 pediatric cases. Chin Med J (Engl). 2009 5;122(3):262-6.
17. Geçgel SK, Ersoy A, Sevinir BB, Sınırtaş M, Göral G. Epstein-Barr virüs enfeksiyonlarının tanısında PCR sonuçlarının değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2012;46(4):594-606.
18. Jenson HB. Epstein-Barr virus. Pediatr Rev. 2011;32(9):375-83. https://doi.org/10.1542/pir.32-9-375

Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018;48(4):241-246
doi:10.5222/TMCD.2018.241

Araştırma

Lavanta, Ada Çayı, Kekik ve Papatya Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması

Halil İLKİMEN*, Aysel GÜLBANDILAR**
**Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kütahya*
***Dumlupınar Üniversitesi, Altıntaş Meslek Yüksekokulu, Kütahya*

ÖZ

Amaç: *Günümüzde bitki ekstrelerinden elde edilen bileşenlerin kullanımı özellikle ilaç sanayiinde hızla artmaktadır. Bu çalışmada, lavanta (Lavandula stoechas), ada çayı (Salvia officinalis), kekik (Thymus vulgaris), papatya (Matricaria chamomilla) gibi tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen ekstrelerin antimikrobiyal ve antifungal etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.*

Gereç ve Yöntem: *Bitkilerden elde edilen ekstrelerin antimikrobiyal ve antifungal etkileri, gram (+) bakteri olan Staphylococcus aureus (ATCC 29213), gram (-) bakteri olan Escherichia coli (ATCC 25922) bakterilerine, Candida krusei (ATCC 6258) ve Candida parapsilosis (ATCC 22019) mayalarına karşı belirlenmiştir. Antimikrobiyal özellikleri açısından vankomisin, sefepim, levoflaksasin antibiyotikleriyle, antifungal özellikleri açısından ise flukonazol ile karşılaştırılmıştır.*

Bulgular: *Çalışmamızda, özellikle ada çayı (S. officinalis) bitkisi ekstresinin hem gram (+) ve gram (-) bakteri türlerine hem de maya türlerine karşı aktivite gösterdiği bulunmuştur.*

Sonuç: *Çalışmada, kullanılan bitki ekstrelerinin tümü S. aureus'a karşı etkili bulunurken, en fazla etkiyi lavanta (L. stoechas) ve papatya (M. chamomilla) bitkileri ile en düşük etkiyi kekik (T. vulgaris) bitkisi göstermiştir. Aynı şekilde bu ekstrelerinin tümü E. coli'ye de etkili bulunmuş, sırasıyla M. chamomilla ve T. vulgaris bitkileri ile ada çayı (S. officinalis) ve L. stoechas bitkilerinin daha düşük etkili oldukları belirlenmiştir. Bitki ekstreleri antifungal yönden değerlendirildiğinde ise; C. krusei maya türüne karşı yalnızca S. officinalis bitkisinin etki gösterdiği, C. parapsilosis maya türüne karşı ise; tümünün etkili olduğu belirlenmiştir.*

Anahtar kelimeler: *Tıbbi bitki, aromatik bitki, antimikrobiyal aktivite*

ABSTRACT

Investigation of Antimicrobial Effects of Lavender, Sage Tea, Thyme and Chamomile

Objective: *Use of components derived from plant extracts is rapidly increasing today, especially in the pharmaceutical industry. In this study it is aimed to investigate the antimicrobial and antifungal effects of extracts of medicinal and aromatic plants such as lavender (Lavandula stoechas), sage tea (Salvia officinalis), thyme (Thymus vulgaris) and chamomile (Matricaria chamomilla).*

Material and Methods: *Antibacterial and antifungal activities of extracts of these plants against gram-positive (Staphylococcus aureus [ATCC 29213]), gram-negative (Escherichia coli [ATCC 25922]) bacteria and yeasts as Candida krusei (ATCC 6258), and Candida parapsilosis (ATCC 22019). They were compared with vancomycin, cefepime, levofloxacin as for antibacterial, and with fluconazole as for antifungal agents.*

Results: *In our study, it was found that especially the extract of the plant of the S. officinalis has activity against strains of both gram (+) and gram (-) bacteria and yeasts.*

Conclusion: *All of the plant extracts used in the study were found to be effective against S. aureus strains, while lavender (L. stoechas) and chammomile (M. chamomilla) plants were the most effective and thyme (T. vulgaris) plant was the least. Likewise, all of these extracts were found to be effective against E. coli, and M. chamomilla the highest; and T. vulgaris plant, sage tea (S. officinalis) and L. stoechas plants were found to be less effective in decreasing order. Of the plant extracts, only S. officinalis plant extract was effective against C. krusei, whereas all of them were determined to be effective against C. parapsilosis.*

Keywords: *Medicinal plant, aromatic plants, antimicrobial activity*

Alındığı tarih: 10.04.2018
Kabul tarihi: 27.08.2018

Yazarların ORCID bilgileri:
Halil İlkimen ✉ 0000-0003-1747-159X, Aysel Gülbandılar 0000-0001-9075-9923

GİRİŞ

Tıbbi bitkiler yüz yıllardır hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, geleneksel tıbbın alternatif bir sağlık hizmeti şekli olarak kabul edilmesi ve mevcut antibiyotiklere karşı direncin artması, araştırmacıları bu bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmaya yöneltmiştir[1].

Tıbbi ve aromatik bitkilere ait uçucu yağlardan saf ve etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi bilimsel ve ekonomik açıdan önemlidir. Literatürde bu uçucu yağların yüksek antimikrobiyal ve antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca bu yağların farmakolojik özellikleri de incelenerek tıp, kozmetik ve endüstriyel gibi geniş alanlarda kullanılmaktadır[2]. Bu yağların aktiviteleri içerdikleri etken maddelerin çeşitlerine ve miktarlarına bağlı olarak değişmektedir[3].

Çalışmamızda, *Lavandula stoechas* (lavanta), *Salvia officinalis* (ada çayı), *Thymus vulgaris* (kekik), *Matricaria chamomilla* (papatya) gibi tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ve bazı etken maddelerin antimikrobiyal ve antifungal etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar bitkilerden elde edilen yağların, bakteri, küf ve mayaların metabolik aktivitelerini inhibe eden bileşenler içerdiğini göstermektedir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Araştırmada kullanılan bitkiler, Dumlupınar Üniversitesi Altıntaş yerleşkesinde Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bölümü öğrencilerinin eğitimi amacıyla yetiştirilen tıbbi ve aromatik bitkilerden seçilmiştir. *T. vulgaris* hasadı, uçucu yağ oranının en fazla olduğu dönem olan %50 çiçeklenme döneminde yapılmıştır. Kurutma işlemi ise, kaliteli drog (ürün) elde etmek için yerden 40-50 cm yüksekliğindeki alttan hava alan raflar üzerinde literatürlerde belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir[4]. *S. officinalis*'in biçimi, en uygun biçim zamanı olan çiçeklenmeden önce yapılmıştır çünkü bu dönemdeki yapraklarda etken madde oranının en fazla ve etkisinin de en yüksek olduğu bildirilmektedir. Kurutma gölgede veya suni kurutma raflarında 35°C'yi geçmeyen sıcaklıklarda yapılmıştır[5]. *L. stoechas* Temmuz ayı içerisinde tam çiçeklenme devresine ulaştığı dönemde hasat edilmiş ve gölge bir ortamda kurumaya bırakılmıştır[6]. *M. chamomilla* bitkisinde hasat tam çiçeklenme döneminde yapılmıştır. Hasat edilen örnekler gölge şartlarda kurutulmuş ve incelenmeye alınmıştır[7].

Bitki örnekleri aseptik şartlara uygun olarak kurutulmuş ve 50 g alınıp blenderda toz hâline getirilmiştir. Daha sonra Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile 200 mL etanolde 4 saatte eksterler elde edilmiştir. Kuruluğa kadar uçurulan ekstraktlar dimetilsülfoksit içinde çözündürülmüştür.

Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan sağlanmıştır. Araştırmada; gram (+) bakteri olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), gram (-) bakteri olan *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterileri ile *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) mayaları kullanılmıştır. Kullanılan yöntemin kontrolü ve kullanılan bakteri türlerinin hassasiyetinin için vankomisin, sefepim, levoflaksasin antibiyotikleri ve antifungal olarak flukonazol kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal ve antifungal etkinlikleri kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Mikroorganizma suşları, "Brain Heart

Infusion Broth" (BHİB)'a ekilerek 37°C'de 24 saat süreyle, maya suşları ise "Sabouraud Dextrose Broth" (SDB)'a ekilerek 25°C'da 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve aktivasyonları sağlanmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesi için besiyeri olarak Mueller Hilton Agar (MHA) kullanılmıştır. Yaklaşık $1x10^6$ cfu/mL mikroorganizma içeren 24 saatlik sıvı kültürden alınan bakteri ve mayalar, 0.5 McFarland standardı ile standardize edilmiştir. Daha sonra bu sıvı kültürlerden 0.01 mL alınarak, önceden steril olarak hazırlanan MHA içeren petri kutularına aşılanmıştır. Steril bir öze kullanılarak, katı besiyerinde altı milimetre çapında kuyular açılmış, daha sonra bu kuyular test bitkilerinin ekstrelerinden elde edilen çözeltiler ile doldurulmuştur. Petriler 24 saat 37°C'da inkübe edilmiş, her bir petride yer alan kuyuların etrafında görülen inhibisyon zonu ölçülmüştür[8-10].

Bakteri türlerinin hassasiyetinin için standart olarak vankomisin, sefepim, levoflaksasin antibiyotikleri, maya türlerinin antifungal özelliklerinin değerlendirilmesi için ise flukonazol kullanılmıştır.

Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal hassasiyetleri, yüksek düzeyde duyarlı, orta derecede duyarlı, düşük düzeyde duyarlı veya hiç duyarlılık göstermediği şeklinde belirtilmiştir, sonuçlar kontrol maddeleriyle de karşılaştırılmıştır.

BULGULAR

Bitki ekstrelerinin kullanılan bakteri ve maya türleri üzerine değişik oranlarda antimikrobiyal ve antifungal etkiye sahip oldukları bulunmuştur. Ayrıca sonuçlar, antimikrobiyal özellikleri açısından vankomisin, sefepim, levoflaksasin antibiyotikleriyle, antifungal özellikleri açısından ise flukonazol ile karşılaştırılmıştır. Test edilen bitki ekstrelerinin antimikrobiyal, antifungal etkileri ve kontrol için kullanılan antimikrobiyal ve antifungal maddelerin sonuçları Tablo 1'de gösterildiği gibidir.

Çalışmamızda, özellikle *S. officinalis* (ada çayı) bitkisi ekstresininin incelemeye alınan tüm bakteri ve maya türlerine karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Bitki ekstrelerinin yüksek düzeyde duyarlı, orta derecede duyarlı, düşük düzeyde duyarlı veya hiç duyarlılık göstermediği şeklinde farklı duyarlılık derecelerine sahip oldukları belirlenmiştir. Sonuçlar kontrol maddeleriyle de karşılaştırılmıştır.

Çizelgede de görüldüğü gibi çalışmada kullanılan bitki ekstrelerinin tümü *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili bulunurken, en fazla etkiyi *L. stoechas* (lavanta) ve *M. chamomilla* (paptaya) bitkileri göstermiştir. Bu bitkiler ayrıca, bu bakteriye karşı antibiyotik tedavisinde kullanı-

Tablo 1. Ekstraktların antimikrobial ve antifungal aktiviteleri.

Bitki ekstreleri (10 mg ml^{-1})	***Escherichia coli* (ATCC 25922)**	***Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)**	***Candida krusei* (ATCC 6258)**	***Candida parapsilosis* (ATCC 22019)**
Vankomisin	+++	+++	Test edilmedi	Test edilmedi
Levofloksasin	+++	+++	Test edilmedi	Test edilmedi
Sefepim	+++	+++	Test edilmedi	Test edilmedi
Flukonazol	Test edilmedi	Test edilmedi	-	+
Lavandula stoechas (Lavanta)	+	+++	-	+
Salvia officinalis (Ada çayı)	++	++	+	+
Matricaria chamomilla (Papatya)	+++	+++	-	+++
Thymus vulgaris (Kekik)	+++	+	-	+

++++: Yüksek derece duyarlı. ++: Orta derece duyarlı. +: Düşük derece duyarlı. –: Duyarlı değil.

lan vankomisin, levofloksasin ve sefepime eş değer hassasiyet göstermişlerdir. *T. vulgaris* (kekik) bitkisi ise bakteriye karşı en düşük etkiyi göstermiştir.

Aynı şekilde tüm bitki ekstrelerinin *E. coli*'ye karşı da etkili olduğu bulunmuş, sırasıyla *M. chamomilla, T. vulgaris* bitkilerinin daha yüksek ve çizelgede adı geçen antibiyotiklerle aynı antimikrobiyal etkiyi gösterdikleri belirlenmiştir. *L. stoechas* bitkisinin ise, bakteriye karşı en düşük etkiyi gösterdiği bulunmuştur.

Bitki ekstreleri antifungal yönden değerlendirildiğinde ise *C. krusei* maya türüne karşı yalnızca *S. officinalis* bitkisinin etki gösterdiği, diğer bitki türlerinin ise herhangi bir etki göstermediği belirlenmiştir.

Bitki ekstrelerinin *C. parapsilosis* maya türüne karşı ise tümünün etkili olduğu, *M. chamomilla* bitki ekstresinin en yüksek oranda, diğer bitkilerin ise eşit oranlarda antifungal etkilerinin olduğu belirlenmiştir. *M. chamomilla* bitki ekstresinin *C. parapsilosis*'e karşı gösterdiği aktivitenin mantar tedavisinde ilaç olarak kullanılan flukonazol ile kıyaslandığında ise çok daha iyi olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Günümüzde antibiyotiklere karşı aşırı dirençli suşların ortaya çıkması ve sentetik ilaçların yan etkilerin daha fazla görülmesi, bilim insanlarını doğal kaynaklı ilaçlara araştırmaya yönlendirmiştir[11]. Tıbbi ve aromatik bitkilerdeki etken maddelerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi, hızla artan antibiyotik direncinin önlenmesinde bir çözüm olacaktır[12,13].

Lavandula stoechas, S. officinalis, T. vulgaris ve *M. chamomilla* gibi tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ve bazı etken maddelerin antimikribiyal ve antifungal etkilerini belirlemek amacıyla yaptığımız çalışmada, bu bitki ekstrelerinin farklı antimikribiyal ve antifungal etkiye sahip olduğunu belirledik. Çalışmamızda yer verdiğimiz bu bitkilerin yanı sıra ülkemizde doğal olarak yetişen çok sayıda tıbbi ve aromatik bitki belirlenip, tıp ve endüstri alanında kullanımına katkı sağlanmalıdır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre kullandığımız bitki ekstreleri mikroorganizmalara karşı etkili antimikrobiyal maddeler içermektedir. Bu durum gerek ülkemizde yapılan ve gerekse diğer ülkelerde yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızda özellikle *S. officinalis* bitkisi ekstresinin incelemeye alınan tüm bakteri ve maya türlerine karşı aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Dığrak ve ark.[14], *Salvia aucheri var. aucheri* üzerine yaptıkları bir çalışmada, bu bitkinin *Proteus vulgaris, S. aureus* ve *Bacillus subtilis* bakterileri üzerine antimikrobiyal yönden etkili olduğu belirlemişlerdir.

Nostro ve ark.[15], bazı bitki ekstrelerinin bazı farklı bakteri ve maya suşlarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Haşimi ve ark.[16], rezene ve adaçayı uçuçu yağlarının Gram (-) *E. coli, Pseudomonas aeruginosa* ve Gram (+) *S. aureus, Streptococcus pyogenes* bakterileri üzerine bu yağların antimikrobiyal aktivitesini belirlemek üzere yaptıkları çalışmada her iki uçucu yağın çalışılan bakteriler üzerinde farklı düzeylerde antimikrobiyal etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Pesavento ve ark.[17], ise *S. officinalis* uçucu yağının *S. aureus, Listeria monocytogenes, Campylobacter jejuni* ve *Salmonella enteritis* bakterileri üzerine yaptıkları çalışmada, uçucu yağın farklı düzeylerde mikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Al-Howiriny[18], *Salvia lanigera* (tüylü adaçayı) bitkisinin uçucu yağının *B. subtilis, Staphylococcus epidermidis, P. mirabilis, Mycobacterium smegmatis, Candida albicans* ve *Candida vaginalis* mikroorganizmalarına karşı oldukça iyi aktivite gösterdiğini, ancak *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı dirençli olduğunu belirtmiştir.

Thymus spinulosus (kekik)'dan elde edilen uçucu yağ ile yapılan başka bir çalışmada, *S. aureus, Streptococcus faecalis, B. subtilis* ve *Bacillus cereus, P. mirabilis, E. coli, Salmonella Typhimurium, P. aeruginosa* bakterilerine karşı yüksek oranda antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur[19].

Dadalıoğlu ve Evrendilek[20], yaptıkları benzer bir çalışmada, bazı bitki uçucu yağlarının *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes, S. Typhimurium,* ve *S. aureus* bakterileri üzerine etkisini araştırmışlardır. Bunların güçlü bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini, özellikle de kekiğin tüm bakterilere karşı en yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da kullanılan bitki ekstrelerinin tümü *S. aureus*'a karşı etkili bulunurken, en fazla etkiyi lavanta *L. stoechas* ve *M. chamomilla* bitkileri göstermiştir. Bu bitkiler ayrıca bu bakteriye karşı antibiyotik tedavisinde kullanılan vankomisin, levofloksasin, sefepime eş değer hassasiyet göstermişlerdir. *T. vulgaris* bitkisi ise bakteriye karşı en düşük etkiyi göstermiştir.

Aynı şekilde bitki ekstrelerinin tümü *E. coli*'ye karşı etkili bulunmuş, sırasıyla *M. chamomilla, T. vulgaris* bitkilerinin daha yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdikleri, *L. stoechas* bitkisinin ise, bakteriye karşı en düşük etkiyi gösterdiği bulunmuştur.

Bitki ekstreleri antifungal yönden değerlendirildiğinde ise, *C. krusei* maya türüne karşı yalnızca *S. officinalis* bitkisinin etki gösterdiği, diğer bitki türlerinin ise herhangi bir etki göstermediği belirlenmiştir.

Bitki ekstrelerinin *C. parapsilosis* maya türüne karşı ise tümünün etkili olduğu, *M. chamomilla* bitki ekstresinin en yüksek oranda, diğer bitkilerin ise eşit oranlarda antifungal etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışmanın bu amaçla katkı sağlayacağını düşünerek, yapılacak diğer çalışmaların moleküler yöntemlerle desteklenerek, bu bitkilerin çeşitli endüstriyel alanlarda kullanımın artacağı ve ülke ekonomisine önemli katkı sağlayacağı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Lis-Balchin M, Deans SG. Antimicrobial effects of hydrophilic extracts of *Pelargonium* species (Geraniaceae). Lett Appl Microbiol. 1996;23(4):205-7. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1996.tb00066.x
2. Kırbağ S, Bağcı E. *Picea abies* (L.) Karst., *Picea orientalis* (L.) Link uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir araştırma. J Qafqaz Univ. 2000;3(1):183-90.
3. Toroğlu S, Çenet M. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi. 2006:9(2):12-20.
4. Sarı AO, Oğuz B. Kekik. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü. Yayın No:108, 2002.
5. Ekren S, Sönmez Ç, Sancaktaroğlu S, Bayram E. Farklı biçim yüksekliklerinin adaçayı (*Salvia officinalis* L.) genotiplerinde agronomik ve teknolojik özelliklere etkisinin belirlenmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2007;44(1):55-70.
6. Jianu C, Pop G, Gruia AT, Horhat FG. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula* x intermedia) grown in Western Romania. Int J Agric Biol. 2013;15(4):772-6.
7. Amiragai ME, Koç A. Ekim zamanı ve azot uygulamalarının mayıs papatyasının (*Matricaria chamomilla* L.) verim ve uçucu yağ üretimine etkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2016;47(1):31-4.
8. NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standarts. Performance standarts for antimicrobial disc susceptility tests; 7 ed. Approved Standart M2-A7, Wayne, 2000.
9. Collins CM, Lyne PM. Microbiologicial Methots.

Londra; Buttermorths&Co Ltd. 1987:450.
10. İlkimen H, Yenikaya C, Gülbandılar A, Sarı M. Synthesis and characterization of a novel proton salt of 2-amino-6-nitrobenzothiazole with 2,6-pyridinedicarboxylic acid and its metal complexes and their antimicrobial and antifungal activity studies. J Mol Struct 2016;1120:25-33. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.04.068
11. Dülger B, Gücin F, Malyer H, Bıçakcı A. Antimicrobial activity of marigold (*Tagates minuta* L.). Acta Pharm Turcica. 1997;39(3):115-9.
12. Singh B, Dutt N, Kumar D, Singh S, Mahajan R. Taxonomy, ethnobotany and antimicrobial activity of *Croton bonplandianum, Euphorbia hirta* and *Phyllanthus fraternus*. J Adv Develop Res. 2011;2(1):21-9.
13. Gülbandılar A, Okur M, Öztop N, Dönmez M. Dumlupınar Üniversitesi Altıntaş Meslek Yüksekokulu öğrencilerinin antibiyotiklerle tedavi konusunda bilgi ve tutumlarının belirlenmesi. CBÜ-SBED. 2017;4(2): 581-5.
14. Dığrak M, İlçim A, Alma H, Şen S. Antimikrobiyal activites of the extracts of various plants (Valex, mimosa bark, gallnut powders, *Salvia* sp. and *Phlomis*). Turk J Biol. 1999;23(2):241-8.
15. Nostro A, Germanò MP, D'angelo V, Marino A, Cannatelli MA. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Lett Appl Microbiol. 2000;30(5):379-84. https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00731.x
16. Haşimi N, Kızıl S, Tolan V. Rezene ve adaçayı uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir araştırma. Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi. 2015;5(2):227-35.
17. Pesavento G, Calonico C, Bilia AR, et al. Antibacterial activity of oregano, rosmarinus and thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. Food Control. 2015;54:188-99. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.045
18. Al-Howiriny TA. Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Salvia lanigera*. Pakistan J Biol Sci. 2003;6(2):133-5. https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.133.135
19. De Feo V, Bruno M, Tahiri B, Napolitano F, Senatore F. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Thymus spinulosus* Ten. (Lamiaceae). J Agric Food Chem. 2003;51(13):3849-53. https://doi.org/10.1021/jf021232f
20. Dadalioglu I, Evrendilek GA. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.) and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. J Agric Food Chem. 2004;52(26):8255-60. https://doi.org/10.1021/jf049033e

Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018;48(4):247-255
doi:10.5222/TMCD.2018.247

Araştırma

Blastocystis spp.'nin Araştırılmasında Modifiye Formol-Eter Çöktürme Yöntemi, Ticari (Feconomics®) ve İki Farklı Modifikasyonunun Karşılaştırılması§

Merve AYDIN*,, İlkiz OĞUZ***, Katren AL-BAKKOUR***, Meryem ÇOLAK***, Funda DOĞRUMAN AL****, İpek MUMCUOĞLU*****, Semra KUŞTİMUR****, Yusuf Kemal ARSLAN******

**Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzincan*
***KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya*
****Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara*
*****Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*
******Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara*
*******Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Erzincan*

ÖZ

Amaç: *Çalışmada, ticari olarak geliştirilmiş bir dışkı yoğunlaştırma yöntemi olan Feconomics® (Salubris, Türkiye) ile Feconomics®'in iki farklı modifikasyonunun, modifiye formol eter çöktürme (MFEÇ) yöntemiyle karşılaştırılarak Blastocystis spp.'nin mikroskobik tanısındaki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.*

Gereç ve Yöntem: *Bu amaçla çeşitli gastrointestinal sistem yakınmaları ile gönderilen 750 hastaya ait dışkı örneği nativ-lugol yöntemi ile incelenmiş ve Blastocystis spp. saptanan 90 olgunun dışkı örneği çalışmaya dâhil edilmiştir. Dışkı örnekleri rutin uygulanan MFEÇ yöntemi, Feconomics® ve Feconomics®'in iki farklı modifikasyonu ile yoğunlaştırılmıştır. Örnekler yoğunlaştırmadan önce ve sonra nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemi ile incelenmiştir. Nativ-lugol inceleme ve trikrom boyama yöntemi, her alanda görülen protozoon sayısı ve protozoonların tipik morfolojik özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Verilerin istatistiksel analizinde, IBM SPSS programı yardımıyla ki-kare testi kullanılmıştır ve p<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.*

Bulgular: *MFEÇ yöntemi ile yapılan yoğunlaştırma sonrası nativ-lugol inceleme, direkt nativ-lugol inceleme ile karşılaştırıldığında, her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulunmamıştır (nativ: p=0.104; lugol: p=0.168). Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu ile yapılan yoğunlaştırma sonrası nativ-lugol inceleme, direkt nativ-lugol inceleme ile karşılaştırıldığında ise her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulunmuştur (nativ: p=0.006, p=0.017, p=0.025; lugol: p<0.001, p<0.001, p=0.004). Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrasında yapılan trikrom boyamada Blastocystis spp.'nin morfolojisinin bozulduğu ve tipik görünümlerinin kaybolduğu saptanmıştır.*

Sonuç: *Feconomics®'in nativ-lugol inceleme için parazitoloji laboratuvarlarında hızlı ve etkili bir yoğunlaştırma yöntemi olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.*

Anahtar kelimeler: *Blastocystis spp., dışkı, yoğunlaştırma, trikrom boyama*

ABSTRACT

A Comparison of a Modified Formalin-Ether Sedimentation Technique with a Commercial (Feconomics®) Method and Its Two Modifications in the Investigation of Blastocystis spp.

Objective: *This study comparatively investigated the efficiency of a commercially developed Feconomics® stool concentration method (Salubris, Turkey), its two modifications, and a modified formalin-ether sedimentation (MFES) technique in the microscopic diagnosis of Blastocystis spp.*

Material and Methods: *The stool samples of 750 patients with various gastrointestinal complaints were analyzed using native-lugol method, and 90 samples that were positive for Blastocystis spp. were included in the study. The stool samples were concentrated using the routinely applied MFES method, Feconomics®, and two different modifications of Feconomics®. The samples were analyzed using the native-lugol and trichrome staining methods before and after concentration to evaluate the number of protozoa in each area and their typical morphological characteristics. In the statistical analysis of the data, chi-square test was used with the aid of IBM SPSS program , and a p<0.05 value was accepted as significant.*

Results: *The comparison of the results of the direct native-lugol examination with the direct native-lugol examination after concentration with the MFES method revealed no statistically significant difference concerning the number of protozoa in each area (native: p=0.104; lugol: p=0.168). However, the native-lugol examination after concentration with Feconomics® and two different modifications created a statistically significant difference in the number of protozoa in each area compared to the direct native-lugol examination (native: p=0.006, p=0.017, p=0.025; lugol: p<0.001, p<0.001, p=0.004). The morphology of Blastocystis spp. was observed to deteriorate and typical appearance disappeared after trichrome staining of samples concentrated with Feconomics® and its two modifications.*

Conclusion: *Feconomics® presents as a rapid and efficient concentration method for native-lugol examination in parasitology laboratories.*

Keywords: *Blastocystis spp., stool, concentration, trichrome staining*

Alındığı tarih: 04.06.2018
Kabul tarihi: 05.10.2018

§ 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi (29 Eylül-5 Ekim 2013, Karahayıt, Denizli)'nde poster olarak sunulmuştur.

Yazarların ORCID bilgileri:
Merve Aydın ✉ 0000-0002-1522-6083, İlkiz Oğuz 0000-0002-3664-2991, Katren Al-Bakkour 0000-0002-8856-6783, Meryem Çolak 0000-0001-9876-935X, Funda Doğruman Al 0000-0002-9118-3935, İpek Mumcuoğlu 0000-0002-6392-8880, Semra Kuştimur 0000-0002-8259-740X, Yusuf Kemal Arslan 0000-0003-1308-8569

GİRİŞ

Küresel bir dağılıma sahip olan *Blastocystis*, insan ve birçok hayvanda bulunan ve epidemiyolojik çalışmalarda en sık rastlanan bağırsak protoozonudur[1,2]. Uzun yıllar süren sınıflandırma çalışmaları sonucunda *Blastocystis* heterotrofik ve fotosentetik protozoonların karmaşık evrimsel birleşmesi olan Stramenopiles içinde net bir şekilde sınıflandırılmıştır[3,4].

Blastocystis prevalansı gelişmemiş ülkelerde, gelişmiş ülkelere göre daha yüksek olup, %100'e varan oranlarda rapor edilmiştir[2]. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, *Blastocystis* görülme sıklığı %4.3-%51 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir[5-9].

Polimorfik bir protozoon olan *Blastocystis*'in, vakuoler, granuler, amoeboid, kistik, avakuoler ve multivakuoler formları bulunmaktadır. Dışkıda en yaygın vakuoler formuna rastlanmaktadır[1,10]. *Blastocystis* enfeksiyonları yüksek oranda asemptomatik seyretmektedir. Semptomatik olgularda ishal, karın ağrısı, şişkinlik, bulantı, kusma, kilo kaybı gibi gastrointestinal semptomların yanı sıra dermatolojik semptomlar da görülebilmektedir [11].

Direkt mikroskopi, maliyetinin düşük olması ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle rutin laboratuvarlarda *Blastocystis* tanısında en yaygın kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir. Ancak küçük boyutları nedeniyle kist formlarının gözden kaçması ve polimorfik yapısı nedeniyle *Cyclospora cayetanensis*, maya, makrofajlar, nötrofiller ve yağ damlacıkları ile *Blastocystis*'in karıştırılması mikroskopinin kısıtlayıcı yanlarıdır[3,12-13]. Ayrıca nativ-lugol yönteminin yanı sıra *Blastocystis* tanısında dışkı örneklerini trikrom boyama ile kalıcı boyamanın çok değerli olduğu belirtilmektedir. Trikrom boyama dışında demir hematoksilen, giemsa, field ve wright boyaları da başarıyla kullanılmaktadır. Kültür yöntemi *Blastocystis* tanısında duyarlılığı yüksek bir yöntemdir ancak zaman alıcı bir yöntem olup, sonuçların en az 2-3 gün beklenmesi ve bazı *Blastocystis* izolatlarının kültürde çoğalmaması gibi zorlukları bulunmaktadır[1,3,12-15].

Direkt yayma ve kalıcı boyalı preparat incelemesinde gözden kaçabilen az sayıdaki helmint yumurtaları ile protozoon kistleri dışkı örneklerinin yoğunlaştırılmasıyla daha kolay saptanabilmektedir. Çöktürme ve yüzdürme olmak üzere iki tür yoğunlaştırma yöntemi vardır. Yoğunlaştırma yöntemleri, 1948 yılından beri klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır[16,17]. Yöntem ilk kez Ritchie tarafından ortaya konmuştur[18]. Ridley ve Hawgood[19] tarafından 1956'da geliştirilmiş, Ridley ve Allen[20] ise 1970'de yöntemi basitleştirmiştir. Günümüzde en yaygın kullanılan çöktürme yöntemi formoleter (veya etil asetat) yöntemidir. Yöntemde kullanılan formalin ve eterin tehlikeli yönleri ve metodun emek-yoğun niteliği nedeniyle, 1978 yılından beri Ridley Allen metodu ile karşılaştırılabilir nitelikte ticari dışkı yoğunlaştırma kitleri piyasaya sürülmüştür[16,17].

Yapılan bazı çalışmalarda, intestinal parazitlerin tanısında sıklıkla kullanılan yoğunlaştırma yöntemlerinin *Blastocystis*'in tanısında da kullanıldığı ancak santrifüj aşamasında *Blastocystis*'in vakuoler, multivakuoler ve granüler formlarının parçalandığı bildirilmiştir[13,21,22].

Feconomics®, parazitoloji laboratuvarları için kullanıma hazır ticari bir kittir. Sodyum asetat-asetik asit-formol (SAF) çözeltisi içeren plastik bir kap ve 1 ila 3 mm çaplı emici boncuklar içeren küçük bir plastik torbadan oluşmaktadır. Özel olarak tasarlanmış küçük emici boncuklar sayesinde santrifüj ya da yüzdürmeye gerek duyulmadan dışkının yoğunlaşmasını sağlayabilmektedir.

Bu çalışmada, kullanıma hazır ticari bir kit olarak temin edilen Feconomics® ve üretici firma (Salubris, Türkiye) tarafından hazırlanmış Feconomics®'in iki farklı modifikasyonunun bugün için en yaygın dışkı yoğunlaştırma yöntemi olan modifiye formol-eter çöktürme (MFEÇ) yöntemiyle karşılaştırılarak *Blastocystis* spp. tanısındaki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Sağlık, Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli gastrointestinal sistem şikayetleri ile gönderilen 750 hastaya ait dışkı örnekleri incelemeye dâhil edildi. Vida kapaklı dışkı kaplarına alınan ve laboratuvara teslim edilen tüm dışkı örnekleri bekletilmeden işleme alındı. Tüm örneklerden nativ–lugol yöntemi ile hazırlanan preparat ışık mikroskobunda 10x ve 40x büyütmeli objektif ile ve yine tüm örnekler eşzamanlı olarak trikrom boyama yöntemi ile boyanarak 100x büyütmeli objektif ile incelendi.

Blastocystis spp. saptanan 90 dışkı örneği, rutin uygulanan MFEÇ yöntemi, Feconomics® ve Feconomics®'in iki farklı modifikasyonu (modifikasyon 1 ve 2) (Salubris, Türkiye) ile yoğunlaştırıldı. Örnekler yoğunlaştırmadan önce ve sonra nativ–lugol ve trikrom boyama yöntemi ile incelendi.

MFEÇ yönteminde, 1-1.5 g katı dışkı veya 5-6 ml sıvı dışkı alınarak %10'luk 10 ml formolde ezildikten sonra vortekslendi ve fiksasyonun gerçekleşmesi için 30 dk. bekletildi. Daha sonra iki tabakalı gazlı bezden süzülerek 15 ml'lik konik tüpe aktarıldı. Eter solüsyonundan 3 ml eklendikten sonra tüpün ağzı kapatılıp 30 sn kuvvetli çalkalanarak, 4.000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildi ve üstteki üç tabaka dipteki çökeltiye dokunmadan döküldü. MFEÇ yöntemi ile yoğunlaştırma sonrası çökeltiden preparat hazırlanarak nativ-lugol yöntemi ve tikrom boyama yöntemi ile incelendi[23].

Feconomics® ve Feconomics®'in iki farklı modifikasyonu (modifikasyon 1 ve 2) ile yoğunlaştırma yöntemi ise üretici firmanın önerileri (Salubris, Türkiye) doğrultusunda yapıldı. Homojenizasyon sıvısına 2-3 g dışkı örneği konulduktan sonra homojenize edildi. Daha sonra üzerine emici boncuklar döküldü ve 3 dk. kadar beklendi. Üst sıvıdan birer damla olacak şekilde nativ-lugol inceleme yapıldı ve yayma preparat hazırlanarak trikrom boyama yöntemi ile boyandı.

Yayma preparat hazırlandıktan sonra, kenarları kurumaya başlarken Schaudinn fiksatifine alındı ve en az yarım saat bekletildi. Sırasıyla %70'lik etil alkolde 5 dk., D'Antoni'nin iodin solüsyonunda 3 dk., %70'lik etil alkol içeren iki şalede 2 ve 5 dk., trikrom boya solüsyonunda ise 8 dk. bekletilen lamlar çıkartılarak fazla boyanın süzülmesi sağlandı ve %90 asit–alkole üç kez batırılıp çıkarıldı, %95'lik etil alkol içeren iki şalede çalkalandı. Sırasıyla karbol-ksilen içeren iki şalede 2 ve 5 dk., ksilen içeren iki şalede ise sırasıyla 2 ve 5 dk. bekletildikten sonra kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamların üzerine kapatıcı (Eukitt® Quick-hardening mounting medium, Fluka Biochemika, ABD) damlatılarak lamelle kapatıldı. Preparatlar immersiyon yağı kullanılarak ışık mikroskobunda 100x objektifte incelendi[15].

Verilerin istatistiksel analizinde, IBM SPSS® 19 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanıldı[24]. Veriler özetlenirken, kategorik değişkenler, n (%) olarak belirtildi. Kategorik değişkenlerin analizinde ki-kare (χ^2) testi kullanıldı. Yöntemler arasındaki uyum, düzeltilmiş Kappa ($\varkappa$) istatistiği (Prevalence Adjusted Bias Adjusted Kappa; PABAK) ile araştırıldı.

Düzeltmeler PI (prevelans indeksi) ve BI (bias indeksi)'ya göre yapıldı ve κ<0.20 önemsiz uyum, κ=0.21–40 zayıf uyum, κ=0.41–0.60 orta derece uyum, κ=0.61–0.80 iyi derecede uyum, κ=0.81–1.00 ise mükemmel uyum olarak kabul edildi. p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi[25].

BULGULAR

Çalışmamızda incelenen 750 dışkı örneğinde *Blastocystis* spp. pozitifliği saptanan 90 (%12) hastanın dışkı örneği, konvansiyonel ve ticari dışkı yoğunlaştırma yöntemlerinin etkinliğinin araştırılması amacıyla, nativ-lugol inceleme ve trikrom boyama yöntemiyle değerlendirildi. Çalışmaya dâhil edilen hastaların 34'ü kadın (%37.8), 56'sı erkek (%62.2) cinsiyette idi. Hastalara ait toplam 90 dışkı örneğinin makroskobik incelemesinde %46.7'sinin (n=42) şekilli, %53.3'ünün (n=48) ise ishalli olduğu gözlendi.

MFEÇ yöntemi sonrası yapılan nativ inceleme, direkt nativ inceleme ile karşılaştırıldığında, her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulunmazken (p=0.104), Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrası yapılan nativ inceleme, direkt nativ inceleme ile karşılaştırıldığında her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulundu (p=0.006, p=0.017, p=0.025) (Tablo 1). Direkt nativ inceleme ile Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrası yapılan nativ inceleme arasındaki uyum istatistiksel olarak anlamlı bulundu ancak uyum orta düzeyde idi (κ=0.311, κ=0.444, κ=0.356) (Tablo 1).

MFEÇ yöntemi sonrası yapılan lugol inceleme, direkt lugol inceleme ile karşılaştırıldığında, her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulunmazken (p=0.168), Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrası yapılan lugol inceleme, direkt lugol inceleme ile karşılaştırıldığında her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulundu (p<0.001, p<0.001, p=0.004) (Tablo 2). Direkt lugol inceleme ile Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrası yapılan lugol arasındaki uyum istatistiksel olarak anlamlı bulundu ancak Feconomics® ve Modifikasyon 1 arasında uyum orta düzeyde iken Modifikasyon 2 ile önemsiz derece uyum saptandı (κ=0.469, κ=0.466, κ=0.289) (Tablo 2).

MFEÇ yöntemi ve Feconomics® ve iki farklı

Tablo 1. Direkt nativ inceleme ile modifiye formol eter çöktürme yöntemi (MFEÇ), Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu ile yoğunlaştırma sonrası yapılan nativ incelemenin karşılaştırılması.

		Direkt Nativ			
		Nadir ve 1-3	3'ten fazla	p	PABAK*
MFEÇ Nativ	Nadir ve 1-3	50	6	0.104	0.289
	3'ten fazla	26	8		
Feconomics® Nativ	Nadir ve 1-3	61	6	0.006	0.533
	3'ten fazla	15	8		
Modifikasyon 1 Nativ	Nadir ve 1-3	62	7	0.017	0.533
	3'ten fazla	14	7		
Modifikasyon 2 Nativ	Nadir ve 1-3	57	6	0.025	0.444
	3'ten fazla	19	8		

PABAK: prevalence-adjusted and bias-adjusted kappa (prevalans ve biasa göre düzeltilmiş Kappa)

Tablo 2. Direkt lugol inceleme ile modifiye formol eter çöktürme yöntemi (MFEÇ), Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu ile yoğunlaştırma sonrası yapılan lugol incelemenin karşılaştırılması.

		Direkt Lugol			
		Nadir ve 1-3	3'ten fazla	p	PABAK*
MFEÇ Lugol	Nadir ve 1-3	22	14	0.168	0.133
	3'ten fazla	25	29		
Feconomics® Lugol	Nadir ve 1-3	31	8	<0.001	0.469
	3'ten fazla	16	35		
Modifikasyon 1 Lugol	Nadir ve 1-3	35	12	<0.001	0.466
	3'ten fazla	12	31		
Modifikasyon 2 Lugol	Nadir ve 1-3	25	10	0.004	0.289
	3'ten fazla	22	33		

PABAK: prevalence-adjusted and bias-adjusted kappa (prevalans ve biasa göre düzeltilmiş Kappa)

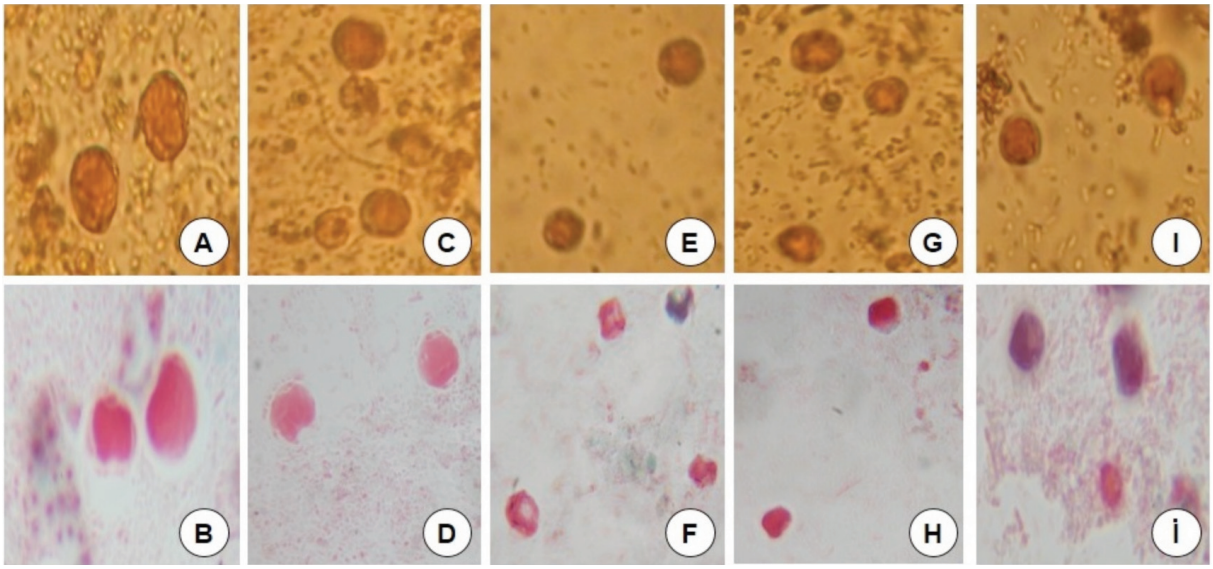
Tablo 3. Direkt trikrom boyama ile modifiye formol eter çöktürme yöntemi (MFEÇ), Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu ile yoğunlaştırma sonrası yapılan trikrom boyamanın karşılaştırılması.

		Direkt Trikrom Boyama			
		Nadir ve 1-3	3'ten fazla	p	PABAK*
MFEÇ Trikrom	Nadir ve 1-3	47	8	0.028	0.311
	3'ten fazla	23	12		
Feconomics® Trikrom	Nadir ve 1-3	69	14	<0.001	0.667
	3'ten fazla	1	6		
Modifikasyon 1 Trikrom	Nadir ve 1-3	66	12	<0.001	0.636
	3'ten fazla	4	8		
Modifikasyon 2 Trikrom	Nadir ve 1-3	66	14	0.007	0.600
	3'ten fazla	4	6		

PABAK: prevalence-adjusted and bias-adjusted kappa (prevalans ve biasa göre düzeltilmiş Kappa)

modifikasyonu sonrası yapılan trikrom boyama, direkt trikrom boyama ile karşılaştırıldığında her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulundu (p=0.028, p<0.001, p<0.001, p=0.007) (Tablo 3). Direkt trikrom boyama ile MFEÇ ve Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrası yapılan trikrom arasındaki uyum istatistiksel olarak anlamlı bulundu ancak MFEÇ ile direkt trikrom boyama arasındaki uyum önemsiz derecede iken, Feconomics® ve iki farklı modikasyonu ile iyi düzeyde uyum saptanmıştır (κ=0.311, κ=0.667, κ=0.636, κ=0.600) (Tablo 3).

MFEÇ yöntemi sonrası yapılan trikrom boyamada 90 örnekten 27'sinde (%30) *Blastocystis* spp.'nin morfolojisinin bozulduğu görülürken, Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrasında yapılan trikrom boyamada sırasıyla 56 (%62.2), 69 (%76.7), 74 (%82.2) örnekte *Blastocystis* spp.'nin morfolojisinin bozulduğu ve tipik görünümlerinin kaybolduğu saptanmıştır (Şekil 1; A-İ).



Şekil 1. (A ve B) Direkt lugol inceleme ve trikrom boyamada *Blastocystis* spp.'nin görünümü; (C ve D) Modifiye formol eter çöktürme yöntemi ile lugol inceleme ve trikrom boyamada *Blastocystis* spp.'nin görünümü; (E ve F) Feconomics® yoğunlaştırma yöntemi ile lugol inceleme ve trikrom boyamada *Blastocystis* spp.'nin görünümü (G, H, I ve İ) Feconomics®'in iki farklı modifikasyonu yoğunlaştırma yöntemi ile lugol inceleme ve trikrom boyamada *Blastocystis* spp.'nin görünümü.

TARTIŞMA

Blastocystis tanısında yoğunlaştırma yöntemleri ile ilgili yapılmış çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte, çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bazı çalışmalarda, diğer protozoa ve parazitler için kullanılan yoğunlaştırma yöntemlerinin *Blastocystis*'in vakuoler, multivakuolar ve granüler formlarının bozulmasına neden olduğu için tanısında kullanımının uygun olmadığı bildirilirken, bazı çalışmalarda duyarlılığın düşük olduğu ve bir çalışmada ise duyarlılığı artırdığı bildirilmiştir[12,21,22,26-31].

Miller ve Minshew[22], trikrom boyamada çok sayıda *Blastocystis* saptadıklarını ancak Ritchie'nin modifiye formalin etil asetat çöktürme yöntemi sonrasında *Blastocystis* formlarının kaybolduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Suresh ve Smith[26], 1000 dışkı örneğinin 39'unda Jones medium kültür yöntemi ile *Blastocystis* spp. saptadıklarını, formalin etil asetat çöktürme yöntemi ile örneklerin hiçbirinde *Blastocystis* saptayamadıklarını rapor etmişlerdir.

Birkaç çalışmada, kültür yönteminin direkt mikroskopiden ve yoğunlaştırma yöntemlerinden daha duyarlığı olduğu ve yoğunlaştırma yöntemlerinin *Blastocystis* tanısında yetersiz kaldığı bildirilmiştir[27-30]. Leeyova ve ark.[27], 900 dışkı örneğinin, 334'ünde kültür ile 142'sinde direkt mikroskopi ile, 64'ünde ise formol etil asetat çöktürme (FEAÇ) yöntemi ile *Blastocystis* spp. pozitifliği saptamışlar. Stensvold ve ark.[28], *Blastocystis* spp. tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi referans alındığında, kültür, trikrom boyama ve FEAÇ yöntemlerinin duyarlılığını sırasıyla %89, %82 ve %50 olarak bildirmiştir. Rene ve ark.[29], kültür yöntemiyle dışkı örneklerinin %11.5'inde *Blastocystis* saptadıklarını, FEAÇ yöntemiyle ise *Blastocystis* pozitifliğini %3.5 olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Diğer çalışmaların aksine, Elghareeb ve ark.[30] ise *Blastocystis* tanısında kültür yönteminin duyarlılığını %100 olarak saptamışlar, ancak FEAÇ yönteminin (%81), nativ-lugol yöntemine (%48) göre daha duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. 2002 yılında Tamasri ve ark.[31], ise 616

dışkı örneğinde 272 (%44.1) *Blastocystis* spp. pozitifliği saptadıklarını, 203'ünü (%75) direkt mikroskopi yöntemi ile ek olarak 69 (%25) örneği ise FEAÇ yöntemi ile belirlediklerini bildirmişlerdir. FEAÇ yönteminin, tanıda mikroskopiden daha duyarlı olduğunu göstermişlerdir[30,31]. Fakat literatürde bu bulguları doğrulayan başka çalışmalara rastlanılmamıştır.

Bugüne kadar Feconomics®'in etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmaktadır. Kurt ve ark.[32] bağırsak parazitlerinin tanısında Feconomics®'in etkinliğini değerlendirmek amacıyla laboratuvara rutin inceleme için gönderilen dışkı örnekleri (1. Grup, n=251) ve ayrıca laboratuvardaki hayvan modellerinden elde edilen helmintleri (2. Grup, n=11) çalışmaya dâhil etmişler. Tüm örnekleri hem rutin uygulanan formol etil asetat çöktürme (FEAÇ) yöntemi ile hem de Feconomics® ile yoğunlaştırarak incelemişlerdir. Dışkı örneklerinden hazırlanan lugol preparatları ile bazı pozitif örnekleri ise trikrom ve aside dirençli boyama yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Yapılan incelemelerde, 1. Grup'taki 251 örneğin 103'ünün (%41.04) bir ya da birden fazla bağırsak paraziti içerdiğini, bunların 76 (%30.2)'sının FEAÇ, 96 (%38.2)'sının ise Feconomics® ile pozitif bulunduğunu ve iki yöntem arasındaki farkın anlamlı olduğunu bildirmişlerdir (p=0.000). İkinci gruptaki 11 örneğin tamamında her iki yöntemle aynı parazitleri tespit etmişlerdir. İnceledikleri 251 dışkı *örneğinin* FEAÇ yöntemi ile 39'unda (%15.5) *Blastocystis* spp. saptarken, Feconomics® ile 54 örnekte (%21.5) *Blastocystis* spp. pozitifliğini bulmuşlardır. Feconomics® ile gerek FEAÇ'a göre daha fazla sayıda parazit saptadıklarını gerekse yalnızca trofozoit formu bulunan *Dientamoeba fragilis* gibi parazitlerin belirleyebildikleri için Feconomics®'in parazitoloji laboratuvarlarında hızlı ve etkili bir yoğunlaştırma kiti olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir[32].

Çalışmamızın bulguları, Kurt ve ark.'nın[32] bulgularını desteklemektedir. Çalışmamızda, Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrası yapılan nativ-lugol inceleme ve trikrom boyama, direkt nativ-lugol inceleme ve trikrom boyama ile karşılaştırıldığında, her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulunmuştur. Ancak Feconomics® ve iki farklı modifikasyonu sonrası yapılan trikrom boyamada *Blastocystis* spp. morfolojisinin bozulduğu görülmüştür.

Çalışmamızda, MFEÇ yöntemi sonrası yapılan nativ-lugol inceleme, direkt nativ-lugol inceleme ile karşılaştırıldığında, her alanda görülen protozoon sayısı açısından istatistiksel fark anlamlı bulunmamıştır. MFEÇ yönteminin, *Blastocystis* spp. tanısına katkı sağlamadığı sonucuna varılmıştır.

MFEÇ yöntemi ucuz bir yöntemdir (~2.25 TL/örnek) ve aynı anda birden fazla örneğin işleme alınmasına olanak verir. Ancak uzun sürmekte (~36 dk.) ve çok basamak içermektedir. Bu tekniğin temel bir ayıracı olarak etil asetat veya dietil eter kullanılmaktadır. Dietil eter tercih eden laboratuvarlar için dietil eterin anestezik etkili ve patlayıcı özellikte olması, solunum yollarının iritasyonuna neden olması gibi özelliklerinden dolayı laboratuvar personeli için potansiyel toksisite riski bulunmaktadır. Ayrıca son santrifüj işleminden sonra, formalinle fikse olmuş parazitlerin yanı sıra çok miktarda dışkı kalıntısı kalmaktadır[16,33].

Feconomics® ise, MFEÇ yöntemine göre daha pahalıdır (~5 TL/örnek). Ancak dietil eter gibi yanıcı patlayıcı madde içermemesi, çalışma süresinin kısa olması (~4 dk.), uygulamasının kolay olması, santrifüj işlemine gerek olmaması ve laboratuvar kontaminasyonunun az olması bu yöntemin avantajlarıdır. Feconomics®'in içeriğinde bulunan, Sodyum asetat-asetik asit-formalin (SAF) çözeltisi, parazitoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılan bir fiksatiftir.

Civa bileşikleri içermemesi nedeniyle daha az toksiktir[17]. Ancak Feconomics® ile yoğunlaştırma sonrasında yapılan trikrom boyamada parazit morfolojisinin bozulması ise önemli bir dezavantajıdır.

Sonuç olarak, bölgemizde diğer parazitleri daha az oranda saptamamız nedeniyle yalnızca *Blastocystis* spp. tanısında Feconomics®'in etkinliğinin araştırılması çalışmamızın kısıtlayıcı yanıdır. Bu nedenle, farklı parazitleri içeren, daha geniş örneklem grubunda yapılacak olan çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızın bulguları, Feconomics®'in tanı duyarlılığını arttırdığını ancak trikrom boyama yöntemi ile uyumsuz olduğunu göstermiştir. Yeni bilgiler, özellikle bağırsak parazitlerinin tanısında Feconomics®'in kullanımını belirlemek ve standartlaştırmak için yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, et al. *Blastocystis*, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. Ther Adv Infect Dis. 2013;1(5):167-78. https://doi.org/10.1177/2049936113504754
2. El-Safadi D, Cian A, Nourrisson C, et al. Prevalence, risk factors for infection and subtype distribution of the intestinal parasite *Blastocystis* sp. from a large-scale multi-center study in France. BMC Infect Dis. 2016;16(1):451. https://doi.org/10.1186/s12879-016-1776-8
3. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev. 2008;21(4):639-65. https://doi.org/10.1128/CMR.00022-08
4. Poirier P, Wawrzyniak I, Vivarès CP, Delbac F, El Alaoui H. New insights into *Blastocystis* spp.: a potential link with irritable bowel syndrome. PLoS Pathog. 2012;8(3):e1002545. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002545
5. Dogruman-Al F, Yoshikawa H, Kustimur S, Balaban N. PCR-based subtyping of *Blastocystis* isolates from symptomatic and asymptomatic individuals in a major hospital in Ankara, Turkey. Parasitol Res. 2009;106(1):263-8. https://doi.org/10.1007/s00436-009-1658-8
6. Inceboz T, Usluca S, Over L, Yalçın G, Tuncay S, Ozkoc S. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ne 2005-2009 yılları arasında başvuran olgularda *Blastocystis hominis* epidemiyolojisinin araştırtılması. Turkiye Parazitol Derg. 2011;35(2):72-6. https://doi.org/10.5152/tpd.2011.19
7. Ozcakir O, Güreser S, Ergüven S, Yilmaz YA, Topaloğlu R, Hascelik G. Türkiye'deki bir üniversite hastanesinde *Blastocystis hominis* enfeksiyonunun karakteristiği. Turkiye Parazitol Derg. 2007;31(4):277-82.
8. Hamamcı B, Cetinkaya U, Delice S, Ercal BD, Gücüyetmez S, Yazar S. Kayseri-Hacılar'da ilköğretim okulu öğrencilerinde bağırsak parazitlerinin araştırılması. Turkiye Parazitol Derg. 2011;35(2):96-9. https://doi.org/10.5152/tpd.2011.24
9. Çulha G, Gülkan B. 2006-2010 yıllarında Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Turk Hij Den Biyol Derg. 2011;68(4):165-74. https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2011.16013
10. Dhurga DB, Suresh K, Tan TC. Granular formation during apoptosis in *Blastocystis* sp. exposed to metranidazole (MTZ). PLoS One. 2016;11(7):e0155390. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155390
11. Coyle CM, Varughese J, Weiss LM, Tanowitz HB. *Blastocystis*: to treat or not to treat. Clin Infect Dis. 2012;54(1):105-10. https://doi.org/10.1093/cid/cir810
12. Stenzel DJ, Boreham PF. *Blastocystis hominis* revisited. Clin Microbiol Rev. 1996;9(4):563-84. https://doi.org/10.1128/CMR.9.4.563
13. Stensvold R, Brillowska-Dabrowska A, Nielsen HV, Arendrup MC. Detection of *Blastocystis hominis* in unpreserved stool specimens by using polymerase chain reaction. J Parasitol. 2006;92(5):1081-7. https://doi.org/10.1645/GE-840R.1
14. Roberts T, Barratt J, Harkness J, Ellis J, Stark D. Comparison of microscopy, culture, and conventional polymerase chain reaction for detection of *Blastocystis* sp. in clinical stool samples. Am J Trop Med Hyg. 2011;84(2):308-12. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0447
15. Aydın M, Adıyaman G, Kaya T, Kuştimur S, Doğruman-Al F. Dışkıda protozoonların araştırılmasında konvansiyonel ve ticari trikrom boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2012;18(Suppl-A):A155-9. https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.6089
16. Manser MM, Saez AC, Chiodini PL. Faecal Parasitology: Concentration methodology needs to be better standardised. PLoS Negl Trop Dis. 2016;10(4):e0004579. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004579
17. CLSI.Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the recovery and identification of parasites from the intestinal tract. Approved guideline M28-A2. 2nd ed. CLSI, Wayne: USA; 2005.
18. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. Bull U S Army Med Dep. 1948;8(4):326.
19. Ridley S, Hawgood BC. The value of formol-ether concentration of faecal cysts and ova. J Clin Pathol. 1956;9(1):74-6. https://doi.org/10.1136/jcp.9.1.74
20. Allen AV, Ridley DS. Further observations on the formol-ether concentration technique for faecal parasites. J Clin Pathol. 1970;23(6):545-6. https://doi.org/10.1136/jcp.23.6.545

21. Zaman V. The diagnosis of *Blastocystis hominis* cysts in human faeces. J Infect. 1996;33(1):15-6. https://doi.org/10.1016/S0163-4453(96)92662-6
22. Miller RA, Minshew BH. *Blastocystis hominis*: an organism in search of a disease. Rev Infect Dis. 1988;10(5):930-8. https://doi.org/10.1093/clinids/10.5.930
23. Kilimcioğlu AA, Ok ÜZ. Yoğunlaştırma yöntemleri. In: Korkmaz M, Ok ÜZ (Eds). Parazitolojide Laboratuvar Kitabı. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, 2011:23-9.
24. IBM Corp. Released 2010. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp.
25. Altman DG. Practical statistics for medical research. 1 st ed. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC Press, 1990.
26. Suresh K, Smith H. Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004;23(6):509-11. https://doi.org/10.1007/s10096-004-1123-7
27. Leelayoova S, Taamasri P, Rangsin R, Naaglor T, Thathaisong U, Munghtin M. In-vitro cultivation: a sensitive method for detecting *Blastocystis hominis*. Ann Trop Med Parasitol. 2002;96(8):803-7. https://doi.org/10.1179/000349802125002275
28. Stensvold CR, Arendrup MC, Jespersgaard C, Mølbak K, Nielsen HV. Detecting *Blastocystis* using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;59(3):303-7. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.06.003
29. Rene BA, Stensvold CR, Badsberg JH, Nielsen HV. Subtype analysis of *Blastocystis* isolates from Blastocystis cyst excreting patients. Am J Trop Med Hyg. 2009;80(4):588-92. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.80.588
30. Elghareeb AS, Younis MS, El Fakahany AF, Nagaty IM, Nagib MM. Laboratory diagnosis of *Blastocystis* spp. in diarrheic patients. Trop Parasitol. 2015;5(1):36-41. https://doi.org/10.4103/2229-5070.149919
31. Taamasri P, Leelayoova S, Rangsin R, Naaglor T, Ketupanya A, Munghtin M. Prevalence of *Blastocystis hominis* carriage in Thai army personnel based in Chonburi, Thailand. Mil Med. 2002;167(8):643-6. https://doi.org/10.1093/milmed/167.8.643
32. Kurt Ö, Akyar I, Görgün S, Kocagöz T, Özbilgin A. Feconomics®: A simple, novel and fast technique for stool concentration in parasitology laboratory. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2012;18(Suppl-A):A161-5. https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.6091
33. Methanitikorn R, Sukontason K, Sukontason KL, Piangjai S. Evaluation of the formalin-tween concentration technique for parasitic detection. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2003;45(5):289-91. https://doi.org/10.1590/S0036-46652003000500009

Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018;48(4):256-263
doi:10.5222/TMCD.2018.256

Araştırma

Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida* Türlerinin Dağılımı ve Antifungal Duyarlılıkları

Özge KILINÇEL*, Nida AKAR,***, Zeynep Dilara KARAMURAT***, Emel ÇALIŞKAN***
Şükrü ÖKSÜZ***, Cihadiye Elif ÖZTÜRK***, İdris ŞAHİN***

**Düzce Atatürk Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Düzce*
***Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*
****Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Düzce*

ÖZ

Amaç: *Candida türleri, insanlarda en sık enfeksiyona neden olan fungal patojenler olup, son yıllarda tanı ve tedavi yaklaşımlarındaki gelişmelere paralel olarak gittikçe önemleri artmaktadır. Bu çalışmada, retrospektif olarak kan kültürlerinden izole edilen Candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.*

Gereç ve Yöntem: *Ocak 2012-Mart 2018 döneminde Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan kültürlerinde belirlenen maya üremeleri, koloni morfolojisi, germ tüp oluşumu, mısır unu-Tween 80 agarda mikroskobik görünümleri ve VITEK 2 Compact otomatize identifikasyon sistemi ile tiplendirilmiştir. Amfoterisin B, vorikonazol, flukonazol ve mikafungin duyarlılıkları aynı otomatize sistem ile belirlenmiştir.*

Bulgular: *Toplam 81 Candida izolatının %55'i Candida albicans, %18'i Candida parapsilosis, %12'si Candida glabrata, %12'si Candida tropicalis, %2'si Candida lipolytica ve %1'i Candida kefyr olarak tanımlanmıştır. İzolatların %7'si amfoterisin B'ye, %12'si vorikonazole, %11'i flukonazole, %19'u mikafungine dirençli olarak saptanmıştır.*

Sonuç: *Çalışmamızda, en sık izole edilen köken Candida albicans, non-albicans Candida türlerinde ise C. parapsilosis olmuştur. İzolatların antifungal direnç oranlarının türler arasında oldukça farklı olduğu gözlenmiştir. Bu durum kandidemi gibi invaziv enfeksiyonlarda, Candida'ların tür düzeyinde tanımlanması ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılması gerektiğini, duyarlılık testi ile Candida'ların antifungal direnç profilleri belirlenerek ampirik tedavide yol gösterici olacağını düşündürtmüştür.*

Anahtar kelimeler: *Antifungal duyarlılık, Candida türleri, kan kültürü, kandidemi*

ABSTRACT

The Distribution and Antifungal Susceptibilities of Candida Species Isolated from Blood Cultures

Objective: *Candida species are the most common fungal pathogens causing infection in human beings, and their importance is increasing in parallel with the developments in diagnosis and treatment approaches in recent years. In this study, it was aimed to determine retrospectively the distribution and antifungal susceptibilities of Candida species isolated from blood cultures.*

Material and Methods: *Yeast growth in blood cultures sent to Microbiology Laboratory of Duzce University, Research and Training Hospital, during January 2012-March 2018 period, were identified by germ tube formation, microscopic appearance on corn meal-Tween 80 agar and typing was performed using VITEK 2 Compact automated identification system. Susceptibilities of amphotericin B, voriconazole, fluconazole and micafungin were determined using the same automated system.*

Results: *A total of 81 Candida isolates were identified as Candida albicans (55%), Candida parapsilosis (18%), Candida glabrata (12%), Candida tropicalis (12%), Candida lipolytica (2%) and Candida kefyr (1%). Of the isolates 7% were found to be resistant to amphotericin B, 12% to voriconazole, 11% to fluconazole, 19% to micafungin.*

Conclusion: *In conclusion, in our study, the most frequently isolated species was C. albicans and among the non-albicans Candida species it was C. parapsilosis. It was observed that the antifungal resistance rates of isolates are quite different among species. This suggests that Candida species should be identified at the species level and antifungal susceptibility tests should be performed in invasive infections such as candidiasis and determining the antifungal resistance profiles of Candida species will guide the empirical therapy.*

Keywords: *Antifungal susceptibility, Candida species, blood culture, candidemia*

Alındığı tarih: 04.06.2018
Kabul tarihi: 05.10.2018

Yazarların ORCID bilgileri:
Özge Kılınçel ✉ 0000-0003-1872-6670, Nida Akar 0000-0001-6524-8224, Zeynep Dilara Karamurat 0000-0001-5033-1527,
Emel Çalışkan 0000-0002-9451-7865, Şükrü Öksüz 0000-0002-4893-5564, Cihadiye Elif Öztürk 0000-0002-4330-2864,
İdris Şahin 0000-0001-6203-5039

GİRİŞ

Candida türleri doku ve organ transplantasyonu gibi cerrahi girişimlerin sayısındaki artış, uzun süre ve fazla sayıda antibiyotik kullanımı, malign hastalıklar nedeniyle uygulanan immun sistemi baskılayıcı tedaviler, santral venöz kateter uygulaması, total parenteral beslenme gibi kolaylaştırıcı faktörlerin varlığında da önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olabilen fırsatçı patojenler hâline gelmişlerdir[1]. Nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonu etkenleri arasında Candida türleri dördüncü sırada yer almaktadır[2,3]. Kandidemi oldukça yüksek mortaliteye sahip bir klinik tablodur[4]. Kandidemi etkenleri coğrafi bölgelere göre değişkenlik göstermekle birlikte, en sık olarak *Candida albicans* izole edilmektedir, ancak son dönemlerde albicans dışı türlerin izolasyonunda da artış gözlenmektedir[5,6].

Günümüzde ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşması, fırsatçı fungal patojenlerin antifungal ilaçlara direnç oranlarında belirgin artışa yol açmaktadır. Ayrıca farklı *Candida* türlerinin antifungal ilaçlara direnç oranları son derece değişkendir[7,8]. Bu nedenle uygun antifungal tedavinin planlanabilmesi amacıyla tür düzeyinde tanımlamanın yapılması ve antifungal duyarlılık paterninin belirlenmesi son derece önem göstermektedir[9].

Bu çalışmada, Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na servis ve yoğun bakım ünitelerinden gönderilen kan kültürü örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıklarının belirlenerek, ampirik antifungal tedavide yol gösterici olması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2012-Mart 2018 tarihleri arasında gönderilen kan kültürü sonuçları geriye dönük olarak incelenmiştir. Servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatan, tüm hastalardan aseptik şartlarda alınıp uygun şişelerde gönderilen kan örnekleri, BACTEC otomatik kan kültür cihazında (Becton Dickinson, ABD) inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince üreme sinyali veren şişelerden, Gram boyama yapılmıştır. Gram boyamasında maya hücresi gözlenen örnekler, %5 koyun kanlı agar (HiMedia, Hindistan) ve Sabouraud dekstroz agar (HiMedia, Hindistan) besiyerine ekilerek 37°C'de, 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda üreme saptanan maya izolatlarının, germ tüp testi, mısır unu-Tween 80 agarda (HiMedia, Hindistan) morfolojik görünümü ve VITEK 2 Compact (BioMérieux, Fransa) tam otomatize identifikasyon sistemi YST kartları kullanılarak tür düzeyinde tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. İzolatların, amfoterisin B, vorikonazol, flukonazol ve mikafungin duyarlılıkları ise VITEK 2 Compact tam otomatize identifikasyon sistemi, AST-YS07 antifungal duyarlılık kartları kullanılarak belirlenmiştir. Mikafungin duyarlılık sonucu Ocak 2015-Mart 2018 tarihleri arasında izole edilen 53 Candida kökeninde araştırılmıştır. Bu çalışmada, antifungal duyarlılık tespit yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmadığından, referans yöntem olan broth mikrodilüsyon yöntemiyle %90'dan fazla uyum gösteren VITEK 2 Compact tam otomatize sistem kullanılmıştır[10-12]. Referans yöntem yerine kulanılma nedeni ise referans yöntem ile ortalama 48 saatte sonuç alınabilirken, bu yöntemle yaklaşık 18 saatte sonuç alınması ve identifikasyon ile antifungal duyarlılık testlerinin bir arada yapılabilmesidir. Sonuçlar, Ocak 2016 tarihinden önce izole edilen kökenler için Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI), Ocak 2016 tarihinden sonra izole edilen kökenler için ise European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kılavuzuna uygun olarak değerlendirilmiştir[13,14]. CLSI kılavuzunda amfoterisin B için belirli bir yorumlayıcı sınır değer olmamasına rağmen,

Candida türlerinin %94-99'unun 1 μg/ml amfoterisin B konsantrasyonunda inhibe olmaları göz önüne alınarak direnç profili belirlenmiştir[15]. Aynı hastadan izole edilen yineleyen izolatlar çalışmaya alınmamıştır.

BULGULAR

Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2012-Mart 2018 tarihleri arasında gönderilen kan kültürlerinde *Candida* türleri üreyen 29'u (%36) kadın, 52'si (%64) erkek hastaya ait toplam 81 örnek incelenmiştir. Örneklerin 70'inin (%86) yoğun bakım ünitesi, 11'inin (%14) ise serviste yatan hastalardan gönderildiği belirlenmiştir. İzolatların %55'i *C. albicans*, %18'i *Candida parapsilosis*, %12'si *Candida glabrata*, %12'si *Candida tropicalis*, %2'si *Candida lipolytica* ve %1'i *Candida kefyr* olarak saptanmıştır. *Candida* türlerinin yaşa ve servislere göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Antifungal duyarlılık testi, amfoterisin B, vorikonazol ve flukonazol için 81 izolatın hepsine mikafungin için Ocak 2015 tarihinden sonra izole edilen 53 izolata uygulanmıştır. Amfoterisin B'ye dirençli dört *C. albicans* (%9), birer *C. parapsilosis* (%7) ve *C. glabrata* (%10) olmak üzere toplam altı izolat; vorikonazole dirençli altı *C. albicans* (%14), iki *C. glabrata* (%20), birer *C. parapsilosis* (%7) ve *C. tropicalis* (%10) olmak üzere toplam 10 izolat; flukonazole dirençli beş *C. albicans* (%11), iki *C. glabrata* (%20), birer *C. parapsilosis* (%7) ve *C. tropicalis* (%10) olmak üzere toplam dokuz izolat, doza bağımlı duyarlı beş *C. glabrata* (%50) ve bir *C. albicans* (%2) olmak üzere toplam altı izolat saptanmıştır. Ayrıca mikafungine dirençli altı *C. albicans* (%21), dört *C. glabrata* (%57) olmak üzere 10 izolat ve orta duyarlı bir *C. parapsilosis* (%10) izole edilmiştir (Tablo 2). Antifungal direnç oranlarının yıllara göre dağılımı Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 1. *Candida* türlerinin yaşa ve klinik servislere göre dağılımı (n).

***Candida* Türleri**	***C. albicans***	***C. parapsilosis***	***C. glabrata***	***C. tropicalis***	***C. lipolytica***	***C. kefyr***	**Toplam**
Yaş							
0-18	3	-	1	-	-	-	4
19-64	19	4	5	2	-	-	30
≥65	22	10	4	8	2	1	47
Klinik							
YBÜ*	36	14	8	9	2	1	70
Servis	8	-	2	1	-	-	11
Toplam	44	14	10	10	2	1	81

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi*

Tablo 2. *Candida* türlerinin antifungal duyarlılıkları (n).

	***C. albicans* (n=44)**			***C. parapsilosis* (n=14)**			***C. glabrata* (n=10)**			***C. tropicalis* (n=10)**			***Diğer türler** (n=3)**		
Antifungal İlaçlar	**H**	**DBD**	**D**	**H**	**DBD**	**D**	**H**	**DBD**	**D**	**H**	**DBD**	**D**	**H**	**DBD**	**D**
Amfoterisin B	40	-	4	13	-	1	9	-	1	10	-	-	3	-	-
Vorikonazol	38	-	6	13	-	1	8	-	2	9	-	1	3	-	-
Flukonazol	38	1	5	13	-	1	3	5	2	9	-	1	3	-	-
Mikafungin	22	-	6	9	1	-	3	-	4	7	-	-	2	-	-

**:C. lipolytica (n=2), C. kefyr (n=1).*
***: Mikafungin için antifungal duyarlılık testi Ocak 2015 tarihinden sonra izole edilen 53 izolat için çalışılmıştır.*
AMB: Amfoterisin B, VOR: Vorikonazol, FLU: Flukonazol, MİK: Mikafungin, H: Hassas, DBD: Doza bağımlı duyarlı, D: Dirençli.

Tablo 3. Antifungal direnç oranlarının yıllara göre dağılımı (n,%).

	Amfoterisin B		Vorikonazo l		Flukonazol		Mikafungin	
Yıl	D	DBD	D	DBD	D	DBD	D	DBD
2012 (n=14)	1 (7)	-	-	-	-	1 (7)	-	-
2013 (n=10)	-	-	-	-	-	1 (10)	-	-
2014 (n=4)	-	-	1 (25)	-	-	-	-	-
2015 (n=10)	-	-	2 (20)	-	2 (20)	1 (10)	2 (20)	-
2016 (n=15)	2 (13)	-	1 (7)	-	1 (7)	2 (13)	3 (20)	1 (7)
2017 (n=23)	3 (13)	-	5 (22)	-	5 (22)	1 (4)	5 (22)	-
2018* (n=5)	-	-	1 (20)	-	1 (20)	-	-	-

**: 2018 yılına ait yalnızca ilk üç aylık veriler mevcuttur.*
***: Mikafungin için antifungal duyarlılık testi Ocak 2015 tarihinden itibaren izole edilen 53 izolat için çalışılmıştır.*
AMB: Amfoterisin B, VOR: Vorikonazol, FLU: Flukonazol, MİK: Mikafungin, D: Dirençli, DBD: Doza bağımlı duyarlı, ORT: Ortalama.

TARTIŞMA

Sağlıklı bireylerde mikrobiyotada bulunabilen *Candida* türleri, immunosupresyonu olan kişilerde fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır[16]. Yapılan çalışmalarda, pek çok kandidoz olgusundan endojen kolonizasyonun sorumlu olduğu gösterilmiştir[17]. *Candida*'lara bağlı kan dolaşımı enfeksiyonları tüm nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarının %8-10'unu oluşturmaktadır[18]. İntravasküler kateter, yanık ve ülserasyon gibi cildin bütünlüğünü bozan herhangi bir durum, antimikrobiyal ilaç kullanımı, cerrahi girişim, uzun süre hastanede yatış, organ transplantasyonu gibi faktörler kandidemi riskini artırmaktadır[11,19]. Özellikle yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda, bu faktörlerin biri veya daha fazlasına rastlanmaktadır. Dolayısıyla *Candida*'lara bağlı kan dolaşımı enfeksiyonları bu grup hastada daha sık gözlenmektedir. Birçok araştırmada bu durum gösterilmiştir[20-22]. Çalışmamızda da bununla uyumlu olarak üreme olan örneklerin %86'sının yoğun bakım ünitesinde, %14'ünün ise serviste yatan hastalara ait olduğu belirlenmiştir. Hastaların yaş dağılımına bakıldığında ise çalışmanın yapıldığı hastanenin hasta profiline göre farklı veriler elde edilmiştir. Alışkan ve ark.[21] çalışmalarında, *Candida* spp. üremesi olan kan kültürlerinin %61'inin çocuk, %39'unun erişkin yaş grubuna ait olduğunu belirtmişlerdir. Savcı ve ark.[23] ile Çalışkan ve ark.[22] ise çalışmalarına dâhil ettikleri hastaların yaş dağılımını incelediklerinde, erişkin yaş grubuna ait hastaların oranını sırası ile %74 ve %70 olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise hastaların %95'inin erişkin, %5'inin ise çocuk yaş grubuna ait olduğu gözlenmiştir. Hastanemiz Çocuk Servis ve Yoğun bakım ünitesi yatak sayısının, erişkin hasta yatak sayısına göre oldukça az olmasının bu durum üzerine etkili olabileceği düşünülmüştür.

Fungal enfeksiyonlarda ilk sırayı *C. albicans* almakla birlikte, antifungal tedaviye daha zor yanıt veren non-albicans *Candida* türleri ile karşılaşma oranı giderek artmaktadır. Bu nedenle tür tayini ve direnç profillerinin belirlenmesi önem taşımaktadır[24]. Johnson ve ark.[25] çalışmalarında, 1.763 adet *Candida* izolatını %51.4 *C. albicans*, %16.4 *C. glabrata*, %13.7 *C. tropicalis*, %10.2 *C. parapsilosis* ve %4.8 diğer türler olarak tanımlamışlardır. Kooshki ve ark.[26] araştırmalarında, sıklık sırasına göre *C. albicans, C. parapsilosis* ve *C. glabrata* izole etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise en sık *C. albicans, C. glabrata* ve *C. tropicalis* kökenleri saptanmıştır[27]. Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde ise Etiz ve ark.[28] en sık olarak *C. parapsilosis, C. albicans, C. tropicalis* ve *C. glabrata* belirlemişlerdir. Yapılan birçok çalışmada, en sık olarak izole edilen türler *C. albicans, C. parapsilosis, C. glabrata* ve *C. tropicalis* olarak sıralanmıştır[22,29-31]. Çalışmamızda ise izolatların %55'i *C. albicans*, %18'i

C. parapsilosis, %12'si *C. glabrata*, %12'si *C. tropicalis*, %2'si *C. lipolytica* ve %1'i *C. kefyr* olarak belirlenmiş olup bulgularımızın diğer çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Son yıllarda *Candida* enfeksiyonlarında görülen artış nedeniyle pek çok yeni antifungal ilaç kullanıma girmiştir. Antifungal ilaçların sık kullanılması, *C. albicans* dışındaki türlerde ve antifungal ilaçlara dirençte artışa neden olmuştur. Bunların sonucu olarak antifungal ilaçlara in vitro duyarlılık saptanmasının önemi artmıştır[32].

Amfoterisin B, polien türevi bir antifungal ilaç olup, amfoterisin B' ye direnç ender görülmektedir. Ancak *C. guilliermondii* ve *C. lusitaniae* gibi türlerde primer direncin olduğu bilinmektedir[33,34]. Marquez ve ark.[27] yaptıkları çalışmada, tüm izolatların %11.1'ini amfoterisin B'ye dirençli olarak saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise, amfoterisin B direnci *C. albicans*'ta %30.4, *C. parapsilosis*'te ise %8.7 olarak rapor edilmiştir[26]. Zer ve Balcı[35] ise amfoterisin B direnç oranını *C. albicans* için %16.52, tüm izolatlar için %19.51 olarak belirlemişlerdir. Bazı çalışmalarda ise, amfoterisin B direncine rastlanmamış veya çok düşük seviyede belirlenmiştir[22,34,36]. Çalışmamızda ise amfoterisin B direnç oranı tüm izolatlarda %7, *C. parapsilosis*'te %7, *C. albicans*'ta %9 ve *C. glabrata*'da %10 olarak saptanmıştır. Bulgularımız literatürdeki çalışmalara benzer olarak değerlendirilmiştir.

Vorikonazol *Candida* türlerini de içeren maya ve birçok küf mantarına etkili, geniş spektrumlu, triazol grubundan bir antifungal ilaçtır[9].Yapılan bazı çalışmalarda, vorikonazol direnci tüm izolatlar için %0.4 gibi oldukça düşük düzeyde saptanmıştır[37,38]. Öztürk ve ark.[31] vorikonazol direncini *C. albicans*'ta %8 olarak, Bayram ve ark.[7] ise tüm izolatlar için %30, *C. albicans* için %66, *C. parapsilosis* için %3.7, *C. glabrata* için %14.2, *C. tropicalis* için %100 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada, vorikonazol direnci %12 olarak belirlenmiştir. Direncin türlere göre dağılımına baktığımızda ise *C. albicans* %14, *C. parapsilosis* %7, *C. glabrata* %20 ve *C. tropicalis* %10 olarak belirlenmiştir. Elde ettiğimiz verilerin literatürle uyumlu olduğu görülmüştür.

Flukonazol, geniş etki spektrumlu olmasından dolayı yaygın kullanılan bir antifungal ilaçtır, ancak yaygın kullanımı flukonazolün direnç oranlarında artışa neden olmuştur[28]. Garnacho-Montero ve ark.[39] önceden flukonazol tedavisi almış olmanın flukonazole dirençli kandidemiler için bağımsız bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir. Boschman ve ark.[10] 101 *Candida* izolatına ait antifungal direnç oranlarını araştırdıkları çalışmada, flukonazol direncini tüm izolatlar için %8.6 olarak belirlemişlerdir. Uluslararası Fungal Survayens Grubunun 12 yıllık çalışmasında, kandan izole edilen 6082 *Candida* türünde flukonazol direnci %3, doza bağımlı duyarlılık %7 olarak saptanmıştır[40]. Öztürk ve ark.[31] flukonazol direncini *C. albicans*'ta %32, tüm izolatlarda ise %20 olarak saptamışlardır. Etiz ve ark.[28] flukonazol direncini %7 olarak rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise izolatların %27.31'i flukonazole dirençli bulunurken, aynı parametre *C. albicans* için %22.6, *C. glabrata* için %50, *C. parapsilosis* için %19.04, *C. tropicalis* için %30.43 olarak belirtilmiştir[35]. Çalışmamızda ise, flukonazol direnci tüm izolatlar için %11, *C. albicans*'ta %11, *C. glabrata*'da %20, *C. parapsilosis*'te %7 ve *C. tropicalis*'te %10 olarak, doza bağımlı duyarlılık ise tüm izolatlarda %7, *C. albicans*'ta %2 ve *C. glabrata*'da %50 olarak saptanmıştır. Verilerimizin diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Mikafungin ekinokandin türevi antifungal ilaç olup *Candida* izolatları arasında ekinokandin direnci oldukça değişken seyretmektedir. Diekema ve ark.[41], mikafungin direncini %0.8

olarak bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise, mikafungin dirençi %4 olarak saptanmış olup, yüksek direncin özellikle *C. glabrata* izolatlarında görüldüğü belirtilmiştir[42]. Çalışmamızda, mikafungin direnci tüm izolatlar için %19, *C. albicans*'ta %21, *C. glabrata*'da %57 olarak saptanmıştır. Çalışmamıza dâhil ettiğimiz tüm izolatlarda mikafungin direnç oranları literatürdeki diğer çalışmalara göre yüksek olarak değerlendirilmiştir. Bu durumun hastanemizde antifungal kullanım politikasına, izolatların çoğunluğunun yoğun bakımda yatan hastalardan gönderilen örneklerden izole edilmesi ve örnek sayımızın az olmasına bağlı olabileceğini düşündürtmüştür.

Yıllar içinde yaygın antifungal ilaç kullanımı direnç oranlarında artışa neden olmuştur[43,44]. Çalışmamızda, yıllara göre direnç oranları incelendiğinde genel bir artış eğilimi içerisinde olduğu görülmektedir. Ancak 2016 yılında vorikonazol ve flukonazol direnç oranında ani bir azalma 2017 yılı itibari ile eski değerlere geri dönüş dikkat çekmektedir. 2018 yılında ise yalnızca ilk üç ay değerlendirmeye tabi tutulduğu için gerçek bilgiyi yansıtmadığı düşünülmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamızda izole ettiğimiz *Candida* türleri içinde en sık izole edilen köken *Candida albicans*, non-albicans *Candida* türlerinde ise *C. parapsilosis* olarak saptanmıştır. İzolatların antifungal direnç oranlarının türler arasında farklı olduğu gözlenmiştir. Bu durum kandidemi gibi invaziv enfeksiyonlarda, *Candida*'ların tür düzeyinde tanımlanması ve tedavinin antifungal duyarlılık test sonuçlarına göre yapılmasını gerektiğini, yapılacak antifungal duyarlılık testi ile *Candida* türlerinin antifungal direnç profilleri belirlenerek ampirik tedaviye yol gösterici olacağını düşündürtmüştür.

KAYNAKLAR

1. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Hastane kaynaklı (nozokomiyal) mantar infeksiyonlarının epidemiyolojisi. Cerrahpaşa J Med. 2001;32(4):259-69.
2. Hazen KC, Howell SA. *Candida, Cryptococcus* and other medically important yeasts. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (Eds.) Manual of Clinical Microbiology. Washington: ASM Press, 2009:1762-88.
3. Kuzucu C, Yetkin G, Çalışkan A. Bir yıl içerisinde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. Erciyes Tıp Derg. 2007;29(2):115-9.
4. Pappas PG. Invasive candidiasis. Infect Dis Clin North Am. 2006;20(3):485-506. https://doi.org/10.1016/j.idc.2006.07.004
5. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistant public health problem. Clin Microbiol Rev. 2007;20(1):133-63. https://doi.org/10.1128/CMR.00029-06
6. Tan TY, Tan AL, Tee NW, Ng LS, Chee CW. The increased role of non-albicans species in candidemia: results from a 3 year surveillance study. Mycoses. 2010;53(6):515-21. https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2009.01746.x
7. Bayram Y, Gültepe B, Özlük S, Güdücüoğlu H. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. Van Tıp Derg. 2012;19(4):177-81.
8. Keçeli Özcan S, Mutlu B, Dündar D, Willke A. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* spp. suşlarının antifungal ilaçlara karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde buyyon mikrodilisyon ile E-test yöntemlerinin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bul. 2010;44(2):263-71.
9. Arıkan S, Rex JH. Antifungal agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (Eds.) Manual of Clinical Microbiology. Washington: ASM Press, 2009:1949-60.
10. Boschman CR, Bodnar UR, Tornatore MA. Thirteen-year evolution of azole resistance in yeast isolates and prevalence of resistant strains carried by cancer patients at a large medical center. Antimicrobial Agent Chemother. 1998;4(42):734-8. https://doi.org/10.1128/AAC.42.4.734
11. Bakır M, Cerikçioğlu N, Barton R. Epidemiyology of *Candida* in Turkish tertiary care hospital. APMIS 2006;114(5):601-10. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2006.apm_359.x
12. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW. Multicenter comparison of the VITEK2 Yeast susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing fluconazole against *Candida* spp. J Clin Microbiol. 2007;45(3):796-802. https://doi.org/10.1128/JCM.01986-06
13. CLSI. Clinical and Laboratory Standarts Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved Standard-3rd ed document M27-A3. Clinical and Laboratory Standarts Institute, Wayne, USA, 2008.
14. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Clinical Breakpoints-fungi (v7.0), www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (erişim tarihi 01.01.2016).
15. Pfaller MA, Rex JH, Rinaldi MG. Antifungal susceptibility testing: Technical advances and potential clinical applications. Clin Infect Dis. 1997;24(5):776-84. https://doi.org/10.1093/clinids/24.5.776
16. Saran B, Karahan ZC, Ağırbaşlı H, Tekeli A, Aksoy

AM. *Candida albicans* klinik izolatlarının "randomly amplified polymorphic DNA" yöntemiyle genotiplendirmesinde kullanılan farklı primerlerin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bul. 2008;42(4):645-54.
17. Trick W, Fridkin SK, Edwards JR, Hajjeh RA, Gaynes RP, National Nosocomial Infections Surveillance System Hospitals. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care uni tpatients in the United States during 1989-1999. Clin Infect Dis. 2002;35(5):627-30. https://doi.org/10.1086/342300
18. Bedini A, Venturelli C, Mussini C, et al. Epidemiology of candidaemia and antifungal susceptibility patterns in an Italian tertiary-care hospital. Clin Microbiol Infect. 2006;12(1):75-80. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01310.x
19. Pullukçu H. Kandidemi. Bamçag Bülteni. 2011;2:1-7.
20. Akgün S, Sayıner HS, Kayalı S. Distribution of *Candida* species isolated from blood cultures over aperiod of four years. EJMI. 2018:2(1)35-9. https://doi.org/10.14744/ejmi.2018.68077
21. Alışkan HE, Bozkırlı ED, Çolakoğlu Ş, Demirbilek M. Hastanemizde üç yıllık süreçte kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* ve non-albicans *Candida* türlerinin etken olduğu kandidemilerdeki risk faktörlerinin incelenmesi. Türk Hij Den Biyol Derg. 2016;73(1):15-24. https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2016.49369
22. Çalışkan E, Dede A, Biten Güven G. Kan kültürlerinde saptanan *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2013;27(1):25-30. https://doi.org/10.5222/ankem.2013.025
23. Savcı Ü, Yılmaz N. Çeşitli örneklerden izole edilen Candidaların tür dağılımı ve antifungal direnç oranları. Turk J Clin Lab. 2017;8(3):85-90.
24. Ener B. Mantar infeksiyonlarında klinikten laboratuvara tanı sorunları. ANKEM Derg. 1998;12(3):248-52.
25. Johnson E, Espinel-Ingroff A, Szekelya A, Hockeyc H, Troked P. Activity of voriconazole, itraconazole, fluconazole and amphotericin B in vitro against 1763 yeasts from 472 patients in the voriconazole phase III clinical studies. Int J Antimicrob Agents. 2008;32(6):511-4. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.05.023
26. Kooshki P, Rezaei-Matehkolaei A, Mahmoudabadi AZ. The patterns of colonization and antifungal susceptibility of *Candida*, isolated from preterm neonates in Khorramabad, South West of Iran. J Mycol Med. 2018;5233(17):30355-4. https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2018.02.010
27. Márquez F, Iturrieta I, Calvo M, Urrutia M, Godoy-Martínez P. Epidemiology and antifungal susceptibility of species producing candidemia in Valdivia, Chile. Rev Chilena Infectol. 2017;34(5):441-6. https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000500441
28. Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının ve antifungal duyarlılıklarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2015;29(3):105-13. https://doi.org/10.5222/ankem.2015.0105
29. Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi. ANKEM Derg. 2010;24(4):202-8.
30. Gültekin B, Eyigör M, Tiryaki Y, Kırdar S, Aydın N. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarında antifungal duyarlılığın ve bazı virülans faktörlerinin araştırılması ve RAPD-PCR ile genotiplendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2011;45(2):306-17.
31. Öztürk T, Özseven AG, Sesli Çetin E, Kaya S. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarının tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. Kocatepe Tıp Derg. 2013;14(1):17-22.
32. Hospenthal DR, Murray CK, Rinaldi MG. The role of antifungal susceptibility testing in the therapy of candidiasis. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004;48(3):153-60. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2003.10.003
33. Pfaller MA. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. Clin Infect Dis. 1996;22(supp 2):S89-94. https://doi.org/10.1093/clinids/22.Supplement_2.S89
34. Yenişehirli G, Bulut Y, Günday E. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* suşlarında antifungallere duyarlılık. ANKEM Derg. 2007;21(3):146-9.
35. Zer Y, Balcı İ. Yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole edilen *Candida* suşlarının identifikasyonu ve antifungal duyarlılıkları. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2002;32(3-4):230-4.
36. Spiliopoulou A, Vamvakopoulou S, Bartzavali C, Dimitracopoulos G, Anastassiou ED, Christofidou M. Eleven-year retrospective survey of candidemia in a university hospital in South western Greece. Clin Microbiol Infect. 2010;16(9):1378-81. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03193.x
37. Santos ER, Dal Forno CF, Hernandez MG, et al. Susceptibility of *Candida* spp. Isolated from blood cultures as evulated using the M27-A3 and new M27-S4 approves breakpoints. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2014;56(6):477-82. https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000600004
38. Borg-von Zepelin M, Kunz L, Rüchel R, Reichard U, Weig M, Gross U. Epidemiology and antifungal susceptibilities of *Candida* spp. to six antifungal agents: results from a surveillance study on fungaemia in Germany from July 2004 to August 2005. J Antimicrob Chemother. 2007;60(2):424-8. https://doi.org/10.1093/jac/dkm145
39. Garnacho-Montero J, Diaz-Martín A, García-Cabrera E, et al. Risk factors for fluconazole-resistant candidemia. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(8):3149-54. https://doi.org/10.1128/AAC.00479-10
40. Pfaller MA, Diekema DJ, International Fungal Surveillance Participant Group. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of blood stream isolates of *Candida*. Clin Microbiol Infect. 2004;10(Suppl1):S11-23. https://doi.org/10.1111/j.1470-9465.2004.t01-1-00844.x
41. Diekema DJ, Messer SA, Boyken LB, et al. In vitro activity of seven systemically active antifungal agents against a large global collection of rare *Candida* species as determined by CLSI broth microdilution methods. J Clin Microbiol. 2009;47(10):3170-7. https://doi.org/10.1128/JCM.00942-09
42. McCarty TP, Lockhart SR, Moser SA, et al. Echinocandin resistance among *Candida* isolates at an academic

medical centre 2005-15: analysis of trends and outcomes. J Antimicrob Chemother. 2018;73(6):1677-80. https://doi.org/10.1093/jac/dky059
43. Arendrup MC, Dzajic E, Jensen RH, et al. Epidemiological changes with potential implication for antifungal prescription recommendations for fungaemia: data from a nationwide fungaemia surveillance programme. Clin Microbiol Infect. 2013;19(8):343-53. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12212
44. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. J Clin Microbiol. 2010;48(4):1366-77. https://doi.org/10.1128/JCM.02117-09

Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018;48(4):264-272
doi:10.5222/TMCD.2018.264

Araştırma

Beş Yaşın Altındaki Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs, Enterik Adenovirüs ve Norovirüs İnsidansı

Gülçin ALP AVCI*, Muhsin AKBABA**

**Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Çorum*

***Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Adana*

ÖZ

Amaç: *Enterik virüsler, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde beş yaş altındaki çocuklarda sıklıkla rastlanan ve yüksek mortalite ve morbiditeye sahip akut gastroenterite neden olurlar. Çalışmamızda. akut gastroenterit şikayeti olan 5 yaşından küçük çocuklarda rotavirüs, enterik adenovirüs ve norovirüs insidansının araştırılması amaçlandı.*

Gereç ve Yöntem: *Çalışmamızda. 2012-2014 tarihleri arasında çocuk polikliniğine akut gastroenterit nedeniyle başvuran beş yaş altı 982 çocuk hastanın dışkı örneklerinde ELISA yöntemi ile rotavirüs (Meridian Diagnostics'in Premier Rotaclone EIA), enterik adenovirüs (DAI- adenovirüs Antigen Detection. Diagnostic Automation Inc., ABD) ve norovirüs GI/GII (RIDASCREEN® Norovirüs (C1401) 3rd Generation, R-Biopharm Darmstadt, Almanya) antijen pozitifliği araştırıldı.*

Bulgular: *Çalışmaya dâhil edilen toplam 982 örnekte viral antijen pozitifliği %38.0 (n=373) olarak belirlendi. Viral antijen taşıyan örneklerin %51.7 (n=193)'sinde rotavirüs %22.5 (n=84)'inde adenovirüs ve %19.3 (n=72)'ünde norovirüs antijen pozitifliği belirlendi. On iki (%3.2) örnekte rotavirüs-adenovirüs, 9 (%2.4) örnekte rotavirüs-norovirüs ve 3 (%0.8) örnekte adenovirüs-norovirüs birlikteliği belirlendi. 6-36 ay arasındaki çocuklarda akut gastroenterit nedeniyle hastane başvurunun yüksek olduğu görülmekle birlikte, özellikle 6-24 ay arasındaki çocuklarda viral insidansın daha yüksek olduğu belirlendi. Norovirüs ve enterik adenovirüs sıklığı 6-36 ay arasında daha yüksek iken, rotavirüsün 6-47 ay arasında daha sık görüldüğü belirlendi. Mevsimsel dağılım açısından rotavirüs kış ve ilkbaharda yüksek oranda görülürken, adenovirüs ve norovirüs kışın daha fazla olmakla birlikte, tüm yıl boyunca salgınlar göstermektedir.*

Sonuç: *Globalleşen dünyada rotavirüs salgılarının yanı sıra enterik adenovirüs ve norovirüs nedeniyle gelişen enfeksiyonların da insidansı giderek artmaktadır. Ülkemizde de epidemiyolojik verilerin artırılması ve gereksiz antibiyotik kullanımının önlenebilmesi için daha fazla viral gastroenterit etkeni ile ilgili çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.*

Anahtar kelimeler: *Akut gastroenterit, rotavirüs, enterik adenovirüs, norovirüs*

ABSTRACT

Incidence of Rotavirus Enteric Adenovirus and Norovirus in Children Under Five Years of Age with Acute Gastroenteritis

Objective: *Enteric viruses are a common cause of acute gastroenteritis with high mortality and morbidity frequently encountered in children under five-years in developed and developing countries. In our study, we aimed to investigate the incidence of rotavirus, enteric adenovirus and norovirus in children younger than 5-years with complaints of acute gastroenteritis.*

Material and Methods: *We investigated rotavirus, enteric adenovirus and norovirus GI/GII antigen positivity in stool-specimens of 982 children who applied to children's polyclinic for acute gastroenteritis between 2012 and 2014 by ELISA method.*

Results: *In the samples, viral antigen positivity was determined as 38.0% (n=373) in a total of 982 samples. Rotavirus, adenovirus and norovirus positivities were detected in 51.7% (n=193), 22.5% (n=84) and 19.3% (n=72) of the samples, respectively. Rotavirus-adenovirus, rotavirus-norovirus and adenovirus-norovirus co-positivity were found in 12 (3.2%), 9 (2.4%) and 3 (0.8%) of the samples, respectively. Although it has been observed that hospital admission is high due to acute gastroenteritis in children between 6-36 months, viral incidence is especially higher in children between 6-24 months. The incidence of norovirus and enteric adenovirus were higher between 6-36 months, while the incidence of rotavirus was higher between 6-47 months. In terms of seasonal distribution, rotavirus infections were highly prevalent in winter/spring, while adenovirus and norovirus infections were more frequent in winter and show epidemics throughout the year.*

Conclusion: *In conclusion, in the globalized world, the incidence of infections due to enteric adenovirus and norovirus as well as rotavirus is increasing steadily. In our country, there is a need to work on viral agents more in order to prevent unnecessary antibiotic use and to increase epidemiological data.*

Keywords: *Acute gastroenteritis, rotavirus, enteric adenoviruses, norovirus*

Alındığı tarih: 24.08.2018
Kabul tarihi: 14.11.2018

Yazarların ORCID bilgileri:
Gülçin Alp Avcı ✉ 0000-0003-4049-0756, Muhsin Akbaba 0000-0003-3028-6698

GİRİŞ

Gastronteritler gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, fekal-oral bulaş gösteren özellikle beş yaş altı çocuklar olmak üzere her yaş grubunu etkileyebilen, yüksek ölüm oranlarının yanı sıra sosyoekonomik kayıplara da neden olan önemli bir sağlık sorunudur[1,2]. Önemli salgınlara neden olan akut gastroenteritler tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptirler. Virüsler, akut gastroenteritlerin en yaygın etiyolojik etkeni olan ajanlardır. Viral gastroenterit diyaresine bağlı olarak dünya genelinde neredeyse her yıl milyonlarca diyare atağı ve poliklinik başvurusu olmaktadır. Üstelik iki milyondan fazla çocuk hastaneye yatırılmaktadır[1]. Akut gastroenterite sıklıkla bakteriler. parazitler ve virüsler neden olmaktadır. Olguların %1.5-5.6'sında bakteriyel ajanlar belirlenir ve en sık görülen bakteriyel ajanların başında *Salmonella* spp. ve *Campylobacter* spp. gelmektedir[3,4]. *Giardia lamblia* ve *Entamoeba histolytica* ise major parazitik etkenlerdir[5]. Akut gastroenterite neden olan viral ajanlar rotavirüs, norovirüs, adenovirüs, bocavirüs, sapovirüs ve astrovirüs olarak sıralanabilir (Tablo 1)[6].

Rotavirüsler, dünya üzerinde prevelansı en yüksek olan viral gastroenterit etkenidir[6]. *Reoviridae* ailesinde rotavirüs cinsine aitlerdir. Tüm viral partiküller küresel, yaklaşık 70-100 nm çapında, ikozahedral kapside sahip ve zarfsızdır. Kapsit iç, orta ve dış kapsit olmak üzere üç protein tabakasından oluşur. İç kapsit ya da çekirdek 11 tane çift zincirli RNA segmenti içeren viral genomu içerir. Her segment spesifik bir viral protein kodlar: viral proteinler (VP) olarak isimlendirilen 6 yapısal protein (VP1, VP2, VP3. VP4.-VP6 ve VP7) ve altı yapısal olmayan protein (NSP1-NSP6)[6,7].

Enterik adenovirüs enfeksiyonları çocuklarda akut ve kronik diyare nedeni olarak rotavirüslerden sonra en fazla belirlenen viral etkenlerdir[8]. *Adenoviridae* ailesinden zarfsız, ikozahedral simetrili, ortalama 70-100 nanometre boyutta enzim içermeyen DNA virüsleridir. Adenovirüsler, molekül ağırlığı 20-30 x 10^6 dalton olan, çift iplikli lineer DNA içerirler ve hücre çekirdeğinde replike olurlar[9,10]. Bu virüsler dünyanın her yerinde ılıman iklimlerde en sık bahar, yaz başı ve kış ortasında olmak üzere yılaşırı görülürler[11-13]. Enterik Adenovirüslerin (tip 40 ve tip 41) oranı gelişmiş ülkelerde %1-8'den gelişmekte olan ülkelerde %2-31'e kadar değişir[12,13], ancak immün baskılanmış hastalarda prevelans oranı artmaktadır[13,14].

Norovirüsler, dünya genelinde görülme sıklığı giderek artan viral gastroenterit etkenlerindendir. *Caliciviridae* ailesinde yer alan virüs, 38 nm çapında, ikozahedral yapıya sahip, zarfsız, tek zincirli RNA virüsüdür. Virusun, yapısal ve yapısal olmayan genleri kodlayan üç açık okuma bölgesi (ORF; open reading frame) bulunmaktadır. ORF1, virüsün replikasyonu için önemli olan viral proteaz enzimi. altı proteinden oluşan yapısal olmayan bir poliproteini

Tablo 1. Çocuklarda akut gastroenterit etkenleri[6].

Virüsler	Bakteriler	Protozoonlar
Rotavirüsler	*Campylobacter jejuni*	*Cryptosporidium*
Norovirüsler (Norwalk)	Nontifoid-*Salmonella* spp.	*Giardia lamblia*
Enterik adenovirüsler	Enteropatojenik *Escherichia coli*	*Entamoeba histolytica*
Calicivirüsler	*Shigella* spp.	
Astrovirüsler	*Yersinia enterocolitica*	**Helmintler**
Enterovirüsler	Shiga toksin üreten *Escherichia coli*	
	Salmonella typhi ve *Salmonella paratyphi*	*Strongyloides stercoralis*
	Vibrio cholerae	

kodlamaktadır[15]. Bu proteinler; p20 (fonksiyonu bilinmeyen protein), p48 (N-terminal protein), NTPaz (nükleozid trifosfataz), VPg (genomun 5'ucuna kovalent bağlı protein), Pro (proteaz) ve Pol (RNA bağımlı RNA polimeraz), ORF2 ve VP1'i kodlamaktadır. Majör kapsid protein, P1 ve P2 olmak üzere iki farklı alt domaine sahip P domainlerine ayrılmaktadır. ORF3, VP1 ile ilişkili olan VP2 (yapısal proteini) kodlamaktadır. VP2 temel aminoasitlerce zengindir[15,16].

Bu çalışma, 1 Eylül 2012 ve 31 Ağustos 2014 tarihleri arasında özel bir çocuk kliniğine akut gastroenterit yakınması ile başvuran 0-5 yaş arası çocuklarda rotavirüs, enterik adenovirüs ve norovirüs insidansının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklerin Toplanması: Çalışmaya, çocuk polikliniğine 1 Eylül 2012 ve 31 Ağustos 2014 arasında karın ağrısı, kusma ve ishal şeklinde gelişen akut gastroenterit yakınması ile başvuran 5 yaşın altındaki 982 çocuk hasta (379 kız/603 erkek) dâhil edildi. Çocuk hastaların yaşı, cinsiyeti, salgınların mevsimlere ve aylara göre dağılımı değerlendirildi. Alınan dışkı örnekleri çalışma yapılıncaya kadar -80°C'de saklandı.

Antijen Tespiti: Üreticinin talimatları doğrultusunda alınan örnekler, kit içindeki örnek sulandırma tamponu ile dilüe edildi ve çalışmanın sonunda mikroplaklar, mikroplak okuyucu spektrofotometrede (Biochrome Anthos 2020, Birleşik Krallık) 450 nm. dalga boyunda okutuldu ve optik dansite (OD) sonuçları üretici talimatlarına ve eşik (cut-off) verilerine göre değerlendirildi.

Rotavirüs Antijeninin Saptanması: Rotavirüs antijenin belirlenmesi için ELISA (Meridian Diagnostics'in Premier Rotaclone EIA kiti) yönteminden üretici firmanın yönergesi doğrultusunda çalışıldı. Üretici yönergesine göre 450 nm. dalga boyunda, optik yoğunluğu 0.150 ve üzeri sonuç veren örnekler pozitif, 0.150'den küçük sonuç veren örnekler negatif olarak değerlendirildi.

Enterik Adenovirüs Antijeninin Saptanması: Enterik adenovirüs (Ad40 ve Ad41) antijen pozitifliğinin belirlenmesinde sandviç-ELISA (DAI Adenovirus Antigen Detection ELISA; Diagnostic Automation, Inc., ABD) yöntemi kullanıldı. Thimerosal ve adenovirüs antijen içeren tampon pozitif kontrol olarak kullanılırken, adenovirüs içermeyen yalnızca thimerosal içeren tampon negatif kontrol olarak kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde, optik yoğunluğu 0.15 ve üzeri sonuç veren örnekler pozitif, 0.15'ten küçük sonuç veren örnekler negatif olarak değerlendirildi.

Norovirüs Antijeninin Saptanması: Norovirüs GI ve GII genogruplarına ait antijen pozitifliğinin belirlenmesinde ELISA yöntemi (RIDASCREEN® Norovirüs (C1401) 3rd Generation, R-Biopharm; Darmstadt, Almanya) kullanıldı. Çalışmada NoV kapsid proteini içeren örnek pozitif kontrol olarak örnek sulandırma tamponu negatif kontrol olarak kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde eşik değer, negatif kontrol yoğunluğu +0.15 olarak belirlendi. Veriler eşik değerin %10 ve üzerinde ise pozitif, altında ise negatif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz: Çalışmanın istatistiksel analizleri IBM SPSS Statistic 22.0 (IBM Co., Armonk, NY, ABD) programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri 0.05 olarak kabul edildi. Hastalara ait yaş ve cinsiyet verileri normalite testleri ile değerlendirildi (Kolmogorov-Smirnov testi, K-S testi). Bu teste göre yaş ve cinsiyet verilerinin normal dağılıma sahip olmadığı belirlendi. Bu iki bağımsız test grubunun birbiri ile karşılaştırılabilmesi için

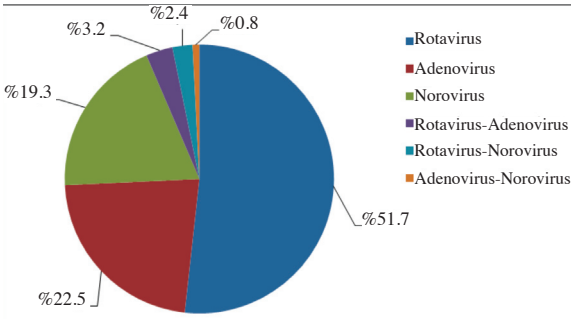
Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Etik Kurul Onayı: Çalışmamız Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan (2012/87 no'lu karar) alınan onay çerçevesinde gerçekleştirildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 982 dışkı örneğinin 379 (%38.6)'u kız, 603 (%61.4)'ü erkek hastaya aitti. Örneklerde viral antijen pozitifliği %38.0 (n=373) olarak belirlendi. Çalışmamız 2 ile 58 ay arasındaki çocuk hastalara ait örnekler ile yapıldı.

Çalışma verileri incelendiğinde viral antijen taşıyan örneklerin %51.7 (n=193)'sinde rotavirüs antijen pozitifliği, %22.5 (n=84)'inde adenovirüs antijen pozitifliği ve %19.3 (n=72)'ünde norovirüs pozitifliği belirlendi. Ayrıca çalışmamızda, viral birliktelikler de saptandı. On iki (%3.2) örnekte rotavirüs-adenovirüs, 9 (%2.4) örnekte rotavirüs-norovirüs ve 3 (%0.8) örnekte adenovirüs-norovirüs birlikteliği belirlenmiştir (Şekil 1). Üç viral etkenin birlikteliği ise gözlenmemiştir. 6-36 ay arasındaki çocuklarda akut gastroenterit nedeniyle hastane başvurunun yüksek olduğu görülmekle birlikte, özellikle 6-23 ay arasındaki çocuklarda viral insidansın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Norovirüs ve enterik adenovirüs sıklığının 6-36 ay arasında daha yüksek iken, rotavirüs 6-47 ay arasında daha sık görüldüğü belirlendi (Tablo 2). Ancak, ELISA



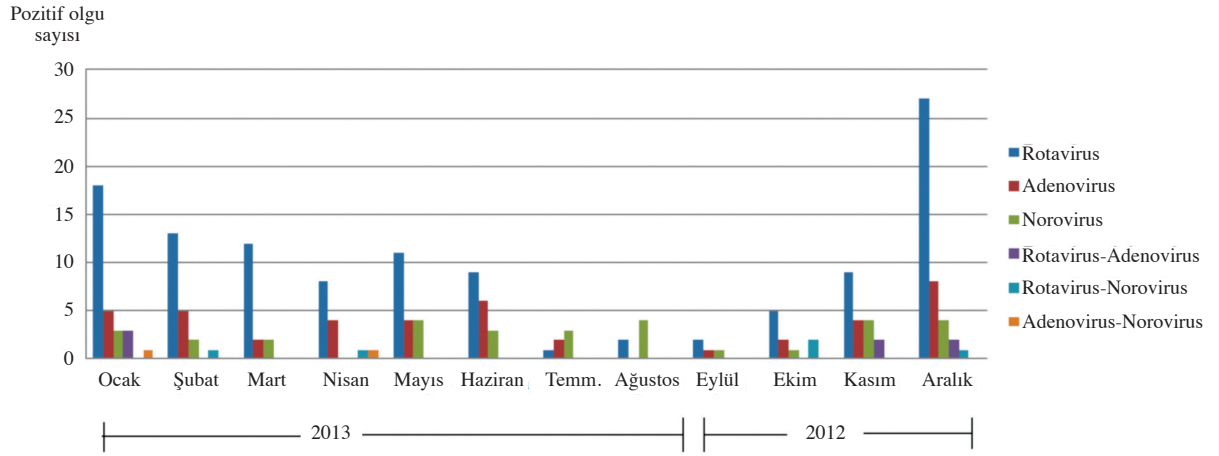
Şekil 1. Viral antijen pozitif örneklerin yüzde dağılımı.

testine göre viral antijen pozitif ve negatif sonuç belirlenen hastaların yaş farkı Mann-Whitney U testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak fark gözlenmedi. Ayrıca cinsiyete göre de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

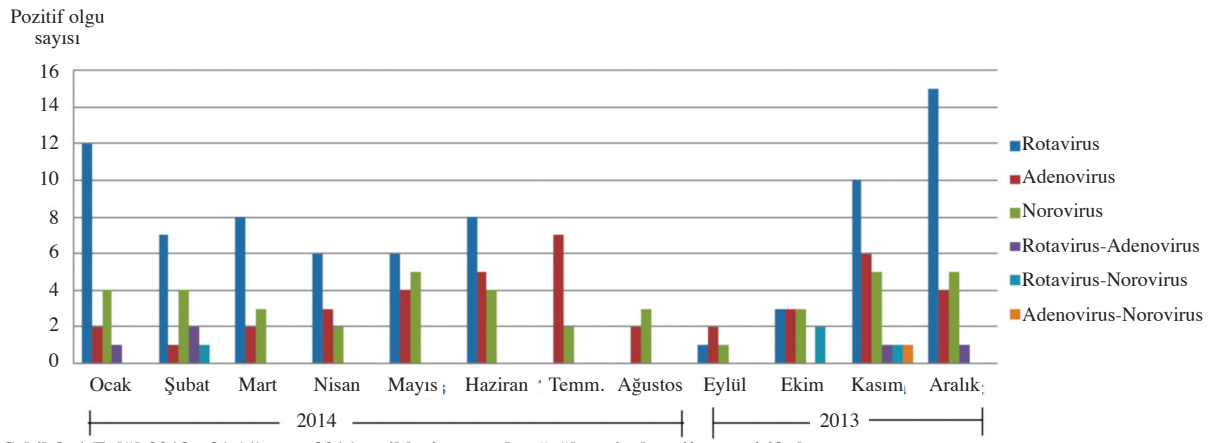
Mevsimsel dağılım açısından değerlendirme yapıldığında ise, akut gastroenterit vakalarının yıl boyunca gözlemlendiği ancak viral etken açısından değerlendirildiğinde rotavirüsün özellikle ilkbahar ve kış aylarında daha fazla olduğu, enterik adenovirüsların ve norovirüslerin ise tüm yıl boyunca dağılım gösterdiği belirlendi (Şekil 2 ve 3). 2012 ve 2014 yılları arasında, rotavirüs antijen pozitif olan 193 olgunun 92 (%47.7)'si kış aylarında, 51 (%26.4)'i ilkbahar aylarında, 20 (%10.4)'si yaz aylarında, 30 (%15.5)'u sonbaharda gözlendi (p>0.05). Enterik adenovirüs antijen pozitif olan 84 olgunun 25 (%29.8)'i kış aylarında, 19 (%22.6)'u ilkbahar aylarında, 22 (%26.2)'si yaz aylarında, 18 (%21.4)'i sonbaharda gözlendi (p>0.05).

Tablo 2. Çalışmaya dâhil edilen 0-5 yaş arası akut gastroenteritli (AGE) çocukların yaş gruplarına göre dağılımı (n=982) ve viral antijen pozitif olgu verileri.

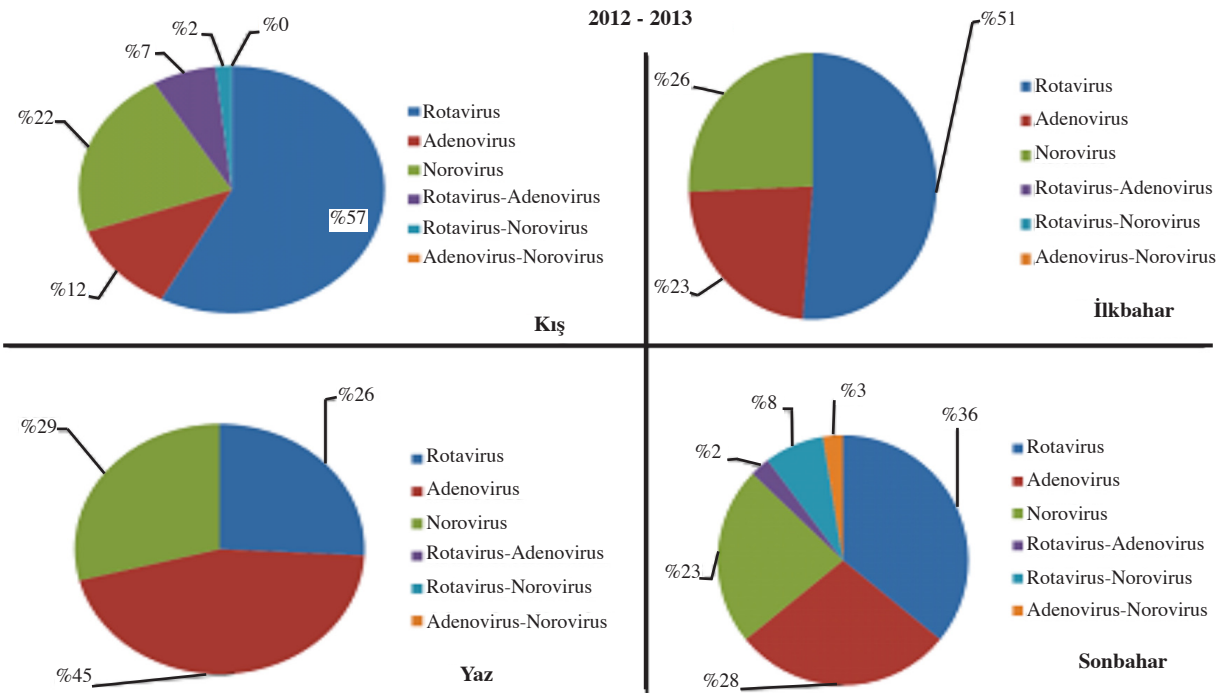
Yaş Grupları	AGE olgu sayısı (n)	Yüzde (%)	Viral antijen pozitif olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
0-5	152	15.5	22	9.0
6-11	205	20.9	64	26.1
12-23	261	26.6	73	29.8
24-35	186	18.9	40	16.3
36-47	102	10.4	38	15.5
48-59	76	7.7	8	3.3
Toplam	982	100	245	100



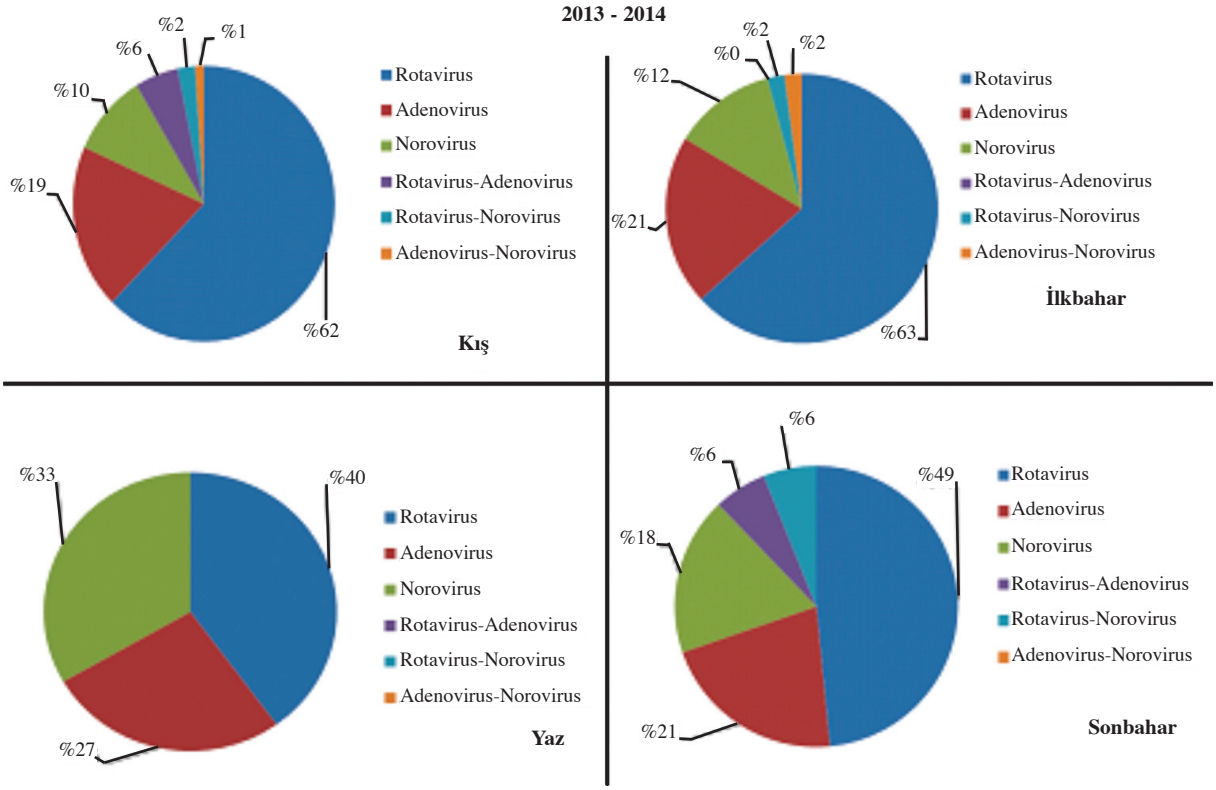
Şekil 2. 1 Eylül 2012 - 31 Ağustos 2013 tarihleri arasında görülen viral antijen pozitif olgu sayısı.



Şekil 3. 1 Eylül 2013 - 31 Ağustos 2014 tarihleri arasında görülen viral antijen pozitif olgu sayısı.



Şekil 4. Viral etkenlerin mevsimsel dağılımı (2012-2013 yılları verileri).



Şekil 5. Viral etkenlerin mevsimsel dağılımı (2013-2014 yılları verileri).

Norovirüs antijen pozitif olan 72 olgunun 22 (%30.6)'si kış aylarında, 16 (%22.2)'sı ilkbahar aylarında, 19 (%26.4)'u yaz aylarında, 15 (%20.8)'i sonbaharda gözlendi (Şekil 4 ve 5). Mevsimsel dağılım açısından viral örneklerin varlığı değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmedi (p>0.05).

TARTIŞMA

Akut gastroenterit, dünya genelinde bebekler ve çocuklar arasında oldukça yaygın bir hastalıktır. Gelişmekte olan ülkelerde diyare, özellikle 5 yaşından küçük çocuklarda yaygın bir mortalite göstermekle birlikte, her yıl tahminen 2 milyon ölüme neden olmaktadır[17]. Viral etkenler arasında rotavirüsler ilk sırada yer almaktadır. Son zamanlarda enterik adenovirüsler ve norovirüsler de sıklıkla ciddi gastroenterit etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmaların birçoğunda rotavirüs ve adenovirüs insidansı birlikte çalışılmış ancak az sayıda norovirüs çalışması mevcuttur. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yapılan çalışmalarda, viral gastroenterit olgularının %10-70'inden rotavirüslerin, %2-24'ünden adenovirüslerin ve %4.5-12'sinden norovirüslerin sorumlu olduğu belirtilmiştir[18-24]. Birçok ülkede özellikle rotavirüs salgınlarına dair pek çok çalışma mevcuttur. Çalışmalarda, 2006'da Tayvan'da[25] %35.4, 2008 yılında Tunus'ta[26] %22.5, 2009'da Japonya'da[22] %16.3, 2011'de Almanya'da[23] %43.8 oranında rotavirüs varlığı bildirilmiştir. ABD'de 2008 yılında yapılan bir çalışmada, gastroenterit yakınması ile hastaneye başvuran 516 çocuk hastanın %43.6'sında rotavirüs pozitif olarak bildirmişlerdir[27]. Norovirüs salgınlarının geçmişi ise rotavirüs ve adenovirüs kadar eski değildir. Amerika'da 2005 ve 2010 yılları arasında farklı araştırma grupları tarafından

yapılan çalışmalar incelendiğinde, bir çalışmada, 2005-2008 yılları arasında Brezilya Rio de Janeiro'da 1087 örneğin %35.1'inde norovirüs pozitifliği belirlendiğini bildirmişlerdir[28]. 2006-2008 yılları arasında 1.913 hasta örneğinin %18'inde norovirüs pozitifliğini bildirmişlerdir[29]. 2010 yılında yapılan başka bir çalışmada Brezilya São Paulo'da gastroenterit salgını nedeniyle hastane başvurusu sonucunda 327 örnekten %32.7'sinde norovirüs pozitifliğini göstermişlerdir[30]. Ayrıca Avrupa'daki birçok ülkede de ciddi norovirüs salgınları görülmektedir. 2002-2008 yılları arasında Almanya'da görülen gastroenterit salgınlarından %10-49'da norovirüs bulgusuna rastlanmıştır[31,32]. 2009 yılında İspanya'da bir çocuk kulübündeki gastroenterit salgınının %50'sinde norovirüs belirlenmiştir[33]. 2010 yılında İngiltere'de geçmişe yönelik taranan örneklerde %4.5 oranında norovirüs belirlemişlerdir[34]. Çin, Kore ve Tayvan gibi Asya ülkelerinde 2005-2009 yılları arasında yapılan çalışmalarda %13.1-45 oranında norovirüs pozitifliğini göstermişlerdir[36-37].

Son yıllarda ülkemizde gastroenterit nedeniyle hastaneye başvuruların artması ve gelişen teknoloji ile birlikte viral gastroenterit etkenlerinin araştırılmasına dair çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Ülkemizde daha çok rotavirüs enfeksiyonu ile ilgili çalışmalar dikkat çekmekte olup, rotavirüs- adenovirüs çalışmaları çoğunluktadır. Norovirüs çalışmaları ise 2008 yılından itibaren bildirilmeye başlanmıştır. Ece ve ark'nın[38] 2008-2010 yılları arasını kapsayan çalışmalarında, 821'i çocuk olan toplam 1112 hastanın 201 (%18.07)'inde rotavirüs, 14 (%1.2)'ünde adenovirüs pozitifliğini bildirmiştir. Türk Dağı ve ark.'nın[39] 2010-2013 yıllarını kapsayan çalışmasında, 2795 çocuk hastada viral gastroenterit etkeni araştırılmış ve %12.1 (n=338) oranında pozitiflik belirlenmişler. Pozitiflikler etken bazında incelendiğinde. %9.8 (n=273) rotavirüs, %1.3 (n=36) adenovirüs, %1.0 (n=29) oranında rotavirüs-adenovirüs pozitifliğini belirlenmişler. Balkan ve ark.'nın[40] çalışmasında, 216 çocuk hastada viral, bakteriyel ve paraziter enfeksiyon etkenlerine bakılmış ve %40.74 viral, %24.98 bakteriyel ve %20.82 parazitik etken varlığı gösterilmiştir. Seksen sekiz olguda rotavirüs, 29 olguda ise adenovirüs belirlenmişlerdir. Altındiş ve ark.'nın[21] 2009 yılı verilerini yayınladıkları çalışmalarında, immunokromatografik yöntemle rotavirüs ve adenovirüs oranlarını bildirmişler. Yüz elli örnekte %40 oranında rotavirüs, 122 örnekte %4.91 oranında adenovirüs varlığını belirlemişlerdir. ELISA yöntemi ile araştırdıkları norovirüs ise 92 örneğin %22.8'inde pozitiflik bulmuşlardır. 2017 yılında Çaycı ve ark.[41] tarafından yayınlanan çalışmada, 1101 çocuk hastadan 129 (%11.7)'unda rotavirüs, 1.254 çocuk hastadan 42 (%3.3)'sinde adenovirüs pozitifliğini bildirmişlerdir. Kızılırmak ve ark.'nın[42] çalışmasında, 1.080 çocuk hastanın 178 (%16)'inde rotavirüs, 65 (%6)'inden adenovirüs pozitifliği belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da viral antijen taşıyan örneklerin %51.7'sinde rotavirüs antijen pozitifliği, %22.5'inde adenovirüs antijen pozitifliği ve %19.3'ünde norovirüs pozitifliği belirlendi.

Tüm yıl boyunca viral gastroenterit salgınları görülebilmesine rağmen, bazı etkenlerin mevsimsel salgınlar meydana getirdiği görülmektedir. Rotavirüs gastroenteriti ılıman iklimlerde kış aylarında, tropikal iklimlerde ise yıl boyu gözlemlenir[43]. Çalışmamızda, rotavirüs enfeksiyonu %47.7 kış, %26.4 ilkbahar, %10.4 yaz ve %15.5 oranında sonbahar mevsiminde ortaya çıktığı belirlenmiştir. Adenovirüs ve norovirüs enfeksiyonları ise genellikle tüm yıl görülebilmektedir. Adenovirüs enfeksiyonunun mevsimsel olarak araştırıldığı bir çalışmada, sonbaharda %20.2, kışın %37.7, ilkbaharda %23.2 ve yazın %21.8 oranında pozitiflik gösterdiğini bildirmişlerdir[44]. Mardin'den bildirilen bir çalışmada, adenovirüsün sonbaharda %2.7, kışın %1.6, ilkbaharda %0.5, yazın ise %1.6 oranında pozitif

olduğu belirtilmiştir[45]. Çalgın ve ark.[46] ise adenovirüs sıklığının ilkbaharda %1.3, yazın %1.4, sonbaharda %4 ve kışın %0.7 olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda da enterik adenovirus sonbaharda %21.4, kışın %29.8, ilkbaharda %22.6 ve yazın %26.2 oranında pozitifliği belirlenmiştir. Bazı çalışmalarda, kuzey yarımkürede norovirüs sıklığının kış ve ilkbahar mevsiminde daha yaygın olduğunu, güney yarımkürede ise daha çok ilkbahar ve yaz mevsiminde ortaya çıktığı belirtilmektedir[47-49]. Yaptığımız çalışmada, norovirüs sıklığının mevsimsel farklılığı çok dikkat çekmemekle birlikte, kışın %30.6 oranıyla en fazla ortaya çıkığı bunu takiben yazın %26.4, ilkbaharda %22.2 ve sonbaharda %20.8 oranlarında pozitiflik elde edilmiştir.

Sonuç olarak, gastroenterit yakınması tüm yıl görülmekle birlikte, viral etkenlerin varlığı özellikle 6-24 ay arası çocuklarda daha sık olduğu belirlenmiştir. Globalleşen dünyada rotavirüs salgılarının yanı sıra enterik adenovirüs ve norovirüs nedeniyle gelişen enfeksiyonların da insidansı giderek artmaktadır. Ülkemizde de epidemiyolojik verilerin artırılması ve gereksiz antibiyotik kullanımının önlenebilmesi için daha fazla viral gastroenterit etkeni ile ilgili çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Anderson EJ. Prevention and treatment of viral diarrhea in pediatrics. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010;8(2): 205-17. https://doi.org/10.1586/eri.10.1
2. Yousefi Rad A, Gözalan A. Detection of rotavirus and enteric adenovirus antigens in outpatients with gastroenteritis. Turkiye Klinikleri J Med Sci. 2010;30(1):74-9. https://doi.org/10.5336/medsci.2008-9735
3. Maragkoudakis S, Poulidaki SR, Papadomanolaki E, et al. Empiric antimicrobial therapy and infectious diarrhea. Do we need local guidelines? Eur J Intern Med. 2011;22(5):e60-2. https://doi.org/10.1016/j.ejim.2011.06.005
4. Avcu G, Bal ZS, Saz EU, Aydemir Ş, Vardar F. Prevalence of bacterial agents in children with acute gastroenteritis in the Pediatric Emergency Department of Ege University School of Medicine. J Pediatr Inf. 2016;10(2):49-53. https://doi.org/10.5152/ced.2016.2301
5. Aranda-Michel J, Giannella RA. Acute diarrhea: a practical review. Am J Med. 1999;106(6):670-6. https://doi.org/10.1016/S0002-9343(99)00128-X
6. Elliott EJ. Acute gastroenteritis in children. BMJ. 2007;334(7583):35-40. https://doi.org/10.1136/bmj.39036.406169.80
7. Meral M, Bozdayı G, Özkan S, Dalgıç B, Alp G, Ahmed K. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus prevalansı, serotip ve elektroferotip dağılımı. Mikrobiyol Bul. 2011;45(1):104-12.
8. Gül M, Garipardıç M, Çıragil P, Aral P, Karabiber H, Güler İ. 0-5 Yaş arası gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve adenovirüs tip 40/41 araştırılması. ANKEM Derg. 2005;19:64-7.
9. Robinson CM, Singh G, Lee JY, et al. Molecular evolution of human adenoviruses. Sci Rep. 2013;3: 1872. https://doi.org/10.1038/srep01812
10. La Rosa G, Della-Libera, Petricca S, et al. Genetic diversity of human adenovirus in children with acute gastroenteritis, Albania. 2013-2015. Biomed Res Int. 2015:2015;142912. https://doi.org/10.1155/2015/142912
11. Santosham M. Oral rehydration therapy: reverse transfer of technology. Arch Pediatr Adolesc Med. 2002:156(12);1177-9. https://doi.org/10.1001/archpedi.156.12.1177
12. Djeneba O, Damintoti K, Denise I, et al. Prevalence of rotavirus, adenovirus and enteric parasites among pediatric patients attending Saint Camille Medical Centre in Ouagadougou. Pak J Biol Sci. 2007:10(23);4266-70. https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.4266.4270
13. Dashti AS, Ghahremani P, Hashempoor T, Karimi A. Molecular epidemiology of enteric adenovirus gastroenteritis in under-five-year-old children in Iran. Gastroenterol Res Pract. 2016;2016:2045697. https://doi.org/10.1155/2016/2045697
14. Leen AM, Rooney CM. Adenovirus as an emerging pathogen in immunocompromised patients. Br J Haematol. 2005:128(2);135-44. https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2004.05218.x
15. Altay A, Bozdayı G. Norovirüsün genomik yapısı, replikasyonu ve epidemiyolojisi. Flora. 2012;17(1):1-10.
16. Tan M, Fang P, Chachiyo T, et al. Noroviral P particle: Structure, function and applications in virus-host interaction. Virology. 2008;382(1):115-23. https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.08.047
17. Granado-Villar D, Sautu B, Granados A. Acute gastroenteritis. Pediatr Rev. 2012;33(11);487-95. https://doi.org/10.1542/pir.33-11-487
18. Parashar UD, Gibson CJ, Bresee JS, Glass RI. Rotavirus and severe childhood diarrhea. Emerg Infect Dis. 2006;12(2):304-6. https://doi.org/10.3201/eid1202.050006
19. Farkas T, Jiang X. Rotaviruses, caliciviruses, astroviruses. enteric adenoviruses and other diarrheic viruses. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML. Pfaller MA (Eds.) Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. Washington: ASM Press. 2007;1453-69.
20. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinje J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. Emerg Infect Dis. 2008;14(8):1224-31.

https://doi.org/10.3201/eid1408.071114
21. Altındiş M, Küçükkurt Ş, Kalaycı R, Aslan FG, Bükülmez A, Yoldaş Y. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs. enterik adenovirüs ve norovirüs sıklığı. Online Türk Sağlık Bilimleri Derg. 2016;1(1):1-12.
22. Nakanishi K, Tsugawa T, Honma S, Nakata S, Yoto Y, Tsutsumi H. Detection of enteric viruses in rectal swabs from children with acute gastroenteritis attending the pediatric outpatient clinics in Sapporo, Japan. J Clin Virol. 2009;46(1):94-7. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2009.06.014
23. Wiegering V, Kaiser J, Tappe D, Weissbrich B, Morbach H, Girschick H. Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients. Int J Infect Dis. 2011;15(6):401-7. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.02.006
24. Zhang S, Chen TH, Wang J, et al. Symptomatic and asymptomatic infections of rotavirus, norovirus, and adenovirus among hospitalized children in Xi'an, China. J Med Virol. 2011;83(8):1476-84. https://doi.org/10.1002/jmv.22108
25. Chen SM, Ni Y, Chen HL, Chang MH. Microbial etiology of acute gastroenteritis in hospitalized children in Taiwan. J Formos Med Assoc. 2006;105(12):964-70. https://doi.org/10.1016/S0929-6646(09)60280-1
26. Sdiri-Loulizi K, Garbi-Kehelifi H, de Rougemont A, et al. Acute infantile gastroenteritis associated with human enteric viruses in Tunisia. J Clin Microbiol. 2008;46(4):1349-55. https://doi.org/10.1128/JCM.02438-07
27. Payne DC, Staat MA, Edwards KM, et al. Active, population-based surveillance for severe rotavirus gastroenteritis in children in United States. Pediatrics. 2008;122(6):1235-43. https://doi.org/10.1542/peds.2007-3378
28. Ferreira MSR, Victoria M, Carvalho-Costa FA, et al. Surveillance of norovirus infections in the State of Rio De Janeiro. Brazil 2005-2008. J Med Virol. 2010;82(8): 1442-8. https://doi.org/10.1002/jmv.21831
29. O'Ryan ML, Pe-a A, Vergara R, et al. Prospective characterization of norovirus compared with rotavirus acute diarrhea episodes in Chilean children. Pediatr Infect Dis J. 2010;29(9):855-9. https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3181e8b346
30. Morillo SG, Lunchs A, Cilli A, et al. Large gastroenteritis outbreak due to norovirus GII in São Paulo, Brazil, summer 2010. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2011;53(2):119-20. https://doi.org/10.1590/S0036-46652011000200011
31. Schmid D, Lederer I, Much P, Pichler AM, Allerberger F. Outbreak of norovirus infection associated with contaminated flood water, Salzburg, 2005. Euro Surveill. 2005;10(6):E050616.3.
32. Terletskaia-Ladwig E, Eggers M, Enders M, Regnath T. Epidemiological aspects of gastrointestinal infections. Dtsch Med Wochenschr. 2011;136(3):69-75. https://doi.org/10.1055/s-0030-1269441
33. Doménech-Sánchez A. Gastroenteritis outbreak caused by norovirus associated with the children's club of a hotel located in Majorca, Spain. Clin Microbiol Infect. 2011;17(6):949-51. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03342.x
34. Phillips G, Tam CC, Conti S, et al. Community incidence of norovirus-associated infectious intestinal disease in England: improved estimates using viral load for norovirüs diagnosis. Am J Epidemiol. 2010;171(9): 1014-22. https://doi.org/10.1093/aje/kwq021
35. Dai Y, Hu G, Zhang X, et al. Molecular epidemiology of norovirus gastroenteritis in children in Jiangmen, China. 2005-2007. Arch Virol. 2011;156(9):1641-6. https://doi.org/10.1007/s00705-011-1010-3
36. Yu JH, Kim NY, Koh YJ, Lee HJ. Epidemiology of foodborne norovirus outbreak in Incheon. Korea. J Korean Med Sci. 2010;25(8):1128-33. https://doi.org/10.3346/jkms.2010.25.8.1128
37. Thongprachum A, Khamrin P, Chaimongkol N, et al. Evaluation of an immunochromatography method for rapid detection of noroviruses in clinical specimens in Thailand. J Med Virol. 2010;82(12):2106-9. https://doi.org/10.1002/jmv.21916
38. Ece G, Samlioglu P, Ulker T, Kose Ş, Ersan G. Rotavirus and adenovirus prevalence at Tepecik education and research hospital (Turkey). Infez Med. 2012;20(2);100-4.
39. Türk Dağı H, Fındık D. Investigation of rotavirus and adenovirus antigens in patients with acute gastroenteritis. J Clin Exp Invest. 2014;5(2):256-60. https://doi.org/10.5799/ahinjs.01.2014.02.0398
40. Balkan EÇ, Karameşe M, Çelebi D, Aydoğdu S, Çalık Z, Yılmaz Y. Acute gastroenteritis agents among 0-5 years-old Turkish children. Kafkas J Med Sci. 2016;6(2):94-7. https://doi.org/10.5505/kjms.2016.30301
41. Tanrıverdi Çaycı Y, Yılmaz G, Birinci A. Akut gastroenterit vakalarında rotavirüs ve adenovirüs sıklığının araştırılması. Pam Tıp Derg. 2017;(1):61-5.
42. Kızılırmak A, Çalışkan E, Temizkan RC. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve adenovirüs sıklığı. Konuralp Tıp Derg. 2017;9(2):35-9. https://doi.org/10.18521/ktd.296653
43. Cook SM, Glass RI, LeBaron CW, Ho MS. Global seasonality of rota-virus infections. Bull World Health Organ. 1990:68(2);171-7.
44. İnan N, Ünsur EK, Demirel A, Mamçu D, Sönmez E, Arısoy A. Akut viral gastroenterit öntanılı vakalarda rotavirüs. adenovirüs ve norovirüs sıklığının araştırılması. ANKEM Derg. 2014;28(1):14-9. https://doi.org/10.5222/ankem.2014.014
45. Tekin A. Mardin'deki akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve enterik adenovirüs sıklığı. Klinik ve Deneysel Araştırmalar Derg. 2010;1(1):41-5.
46. Çalgın MK, Çetinkol Y, Yıldırım AA, Erdil A, Dağlı A. Ordu ilindeki akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve enterik adenovirüs sıklığının araştırılması. ANKEM Derg. 2005:29(2); 59-65.
47. Thornton AC, Jennings-Conklin KS, McCormick MI. Noroviruses: Agents in outbreaks of acute gastroenteritis. Disaster Manag Response. 2004;2(1):4-9. https://doi.org/10.1016/j.dmr.2003.11.001
48. Rohayem J. Norovirus seasonality and the potential impact of climate change. Clin Microbiol Infect 2009;15(6):524-7. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02846.x
49. Ahmed SM, Lopman BA, Levy K. A systematic review and meta-analysis of the global seasonality of norovirus. PLoS ONE. 2013;8(10):e75922. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075922

Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018;48(4):273-276
doi:10.5222/TMCD.2018.273

Olgu Sunumu

Kahverengi Pigment Üreten *Acinetobacter baumannii* ile Enfekte Bir Hastanın Olgu Sunumu[§]

Sebile HARMANKAYA, Seval ÖĞÜT, Özgen Alpay ÖZBEK
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

ÖZ

Acinetobacter baumannii özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda hastane kaynaklı bakteriyemi, pnömoni, menenjit ve idrar yolları enfeksiyonlarına neden olan Gram negatif nonfermentatif bir bakteridir. Acinetobacter cinsi bakterilerin pigmente suşlarına çevresel örneklerde rastlanabilmekte, ancak klinik örneklerde enfeksiyon etkeni olarak ender olarak izole edilmektedir. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji Servisi'ne fournier gangreni ön tanısı ile yatırılan 66 yaşındaki erkek hastanın parsiyel penektomi, üretrektomi, yara yeri debridmanı ile alınan üç örneğinden izole edilen A. baumannii izolatının Mueller Hinton agarda yayılabilen kahverengi pigment ürettiği gözlemlendi. Tanımlama konvansiyonel yöntemlerle birlikte iki ayrı otomatize tanımlama sistemleri ile yapıldı. A. baumannii suşunun ürettiği kahverengi pigmentin biyokimyasal özellikleri karakterize edilmedi. Klinik izolatlarda ender olarak saptanan bu kahverengi pigmentin A. baumannii patojenitesine katkısının araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter baumannii, kahverengi pigment, otomatize tanımlama sistemleri*

ABSTRACT

A Case Report of a Patient Infected with Brown Pigment Producing Acinetobacter baumannii

Acinetobacter baumannii is a gram-negative nonfermentative bacteria that cause hospital-acquired bacteremia, pneumonia, meningitis and urinary tract infections, especially in intensive care units. The pigmented strains of Acinetobacter bacteria can be found in environmental specimens but are rarely isolated in clinical specimens as an etiologic agent of infection. A 66-year-old male patient was admitted to Urology Department of Dokuz Eylül University Medical Faculty Hospital, with the initila diagnosis of Fournier gangrene. We observed that A. baumannii isolated from three specimens obtained by partial penectomy, urethrectomy and wound site debridement, produced a brown pigment that spread on Mueller Hinton agar. Identification was done with conventional methods and with two different automated identification systems. The biochemical characteristics of the brown pigment produced by A. baumannii strain could not be characterized. We think that the contribution of this brown pigment to A. baumannii pathogenicity should be investigated which is rarely found in clinical isolates.

Keywords: *Acinetobacter baumannii, brown pigment, automated identification systems*

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda hastane kaynaklı bakteriyemi, pnömoni, menenjit ve idrar yolları enfeksiyonlarına neden olan zorunlu aerob, Gram negatif kokobasil görünümünde, oksidaz negatif, hareketsiz ve nonfermentatif bir bakteridir[1-4]. Glukozu okside eden bazı *Acinetobacter* türlerininin tirozin içeren kalp infüzyon agarda, glukoz eklenmiş kanlı agarda, MacConkey ve Mueller-Hinton'da kahverengi renk değişikliği yapabildikleri referans kaynaklarda belirtilmiştir[4]. *Acinetobacter* cinsi bakterilerin pigmente suşlarına çevresel örneklerde rastlanabilmekte, ancak klinik örneklerde enfeksiyon etkeni olarak ender olarak izole edilmektedir[5-7]. Bu olgu sunumunun amacı, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nde klinik örneklerden izole edilmiş yayılabilen kahverengi pigment üreten *A. baumannii* suşu ile enfekte bir olgunun sunulmasıdır.

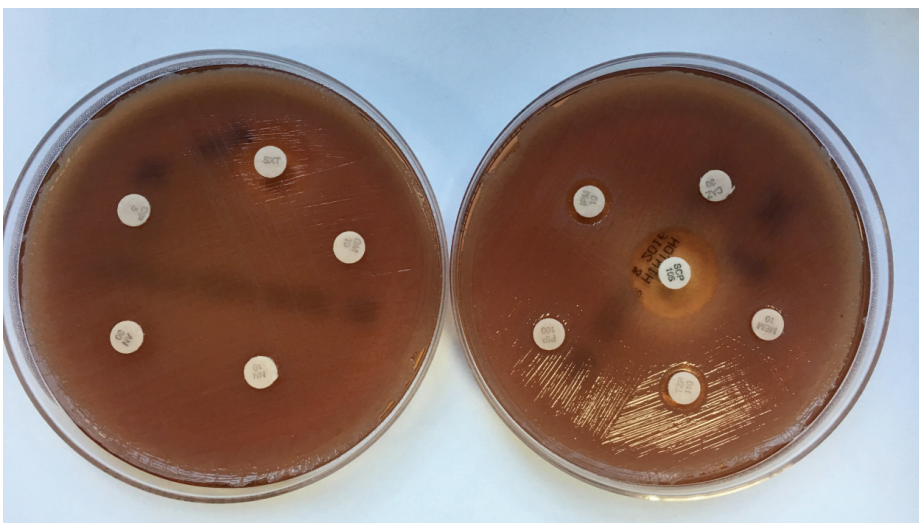
Alındığı tarih: 14.09.2018
Kabul tarihi: 13.10.2018

[§] Uluslararası XXXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (4-8 Kasım 2018, Manavgat-Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

Yazarların ORCID bilgileri:
Sebile Harmankaya 0000-0002-0613-2966, Seval Öğüt 0000-0003-0368-9205, Özgen Alpay Özbek 0000-0003-4415-7205

OLGU

Alt üriner sistem semptomları öyküsü olan 66 yaşındaki erkek hasta pnömoni nedeniyle bir başka hastanede yoğun bakım ünitesinde tedavi edildikten sonra idrar sondası çekilerek taburcu edildi. Hastanın penisinde morluk gelişmesi üzerine Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvurdu. Fizik muayenesinde penisinde nekrotik doku belirlenmesinin dışında diğer bulguları normaldi. Hastanın özgeçmişinde hipertansiyon, diyabet ve böbrek yetmezliği olduğu belirlendi. Üroloji Servisi'ne fournier gangreni ön tanısı ile yatırıldı. Hastaya cerrahi operasyon öncesinde piperasilin/tazobaktam IV 4x2, 25 g ile tedavisine başlandı. Hastadan parsiyel penektomi ve üretrektomi ile alınan materyal kültür ve antibiyogram isteği ile bakteriyoloji laboratuvarına gönderildi. Hastadan gönderilen örneğin Gram boyalı mikroskobik değerlendirmesinde, bol polimorf nüveli lökosit, Gram negatif basil ve Gram labil kok görüldü. Örnek %5 koyun kanlı agar (Becton Dickinson, Almanya), Eozin-metilen blue agar (Becton Dickinson, Almanya), çikolatamsı agara (Becton Dickinson, Almanya) tek koloni ekim yöntemi ile ekildi. Plaklar 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonrasında değerlendirildi. Üreyen mikroorganizmaların konvansiyonel yöntemlerle tanımlama ve CLSI standartlarına uygun disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testleri çalışıldı[8,12]. Hastanın örneğinde üreyen mikroorganizmalar *Acinetobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, D grubu *Streptococcus* olarak tanımlandı. *Acinetobacter* spp. olarak tanımlanan izolatın Mueller Hinton Agar'da yayılan kahverengi pigment ürettiği belirlendi (Resim 1). Konvansiyonel yöntemlerle *Acinetobacter* spp olarak tanımlanan izolatın "VITEK 2 system (bioMérieux, Fransa)" ve "MALDI-TOF mass spectrometry" tanımlama testleri çalışıldı. Her iki sistemle de izolat *A. baumannii* olarak tanımlandı. Üreyen *A. baumannii* izolatının duyarlılık sonucu; piperasilin, piperasilin-tazobactam, imipenem, meropenem, amikasin, gentamisin, tobramisin, seftazidim ve siprofloksasin için dirençli, trimetoprim-sulfametaksazol için orta duyarlı, sulbaktam-sefaperazon duyarlı olarak saptandı. İlk gönderilen örnekten 5 gün sonra hastanın cerrahi operasyon bölgesinde kalan nekrotik dokunun debridmanı da yapılarak 2 ayrı örnek daha bakteriyoloji laboratuvarına gönderildi. Bu örneklerde de ilk örnekle uyumlu olarak kahverengi pigment üreten *A. baumannii* üredi.



Resim 1. Hastadan izole edilen *Acinetobacter baumanii* kökenine ait Mueller Hinton besiyerinde yapılan antibiyogram.

Hastanın sütur hattında akıntı, C-reaktif protein değerinde yükselme ve ateş yüksekliği mevcuttu. Hastanın mevcut tedaviye yanıtsızlığı ile birlikte kültür sonuçları değerlendirildikten sonra antibiyotik tedavisi yeniden planlandı. Hastaya kolistin IV, 5 mg/kg yükleme, 2x2.5 mg/kg idame, sulbaktam/sefaperazon IV 3x2 g, tigesiklin IV 1x100 mg yükleme, 2x50 mg idame başlandı. Tedavisinin 8. gününde klinik tablonun gerilemesi üzerine kolistin tedavisi kesilerek sulbaktam/sefaperazon ve tigesiklin tedavisinin 14 güne tamamlanması planlanarak hasta taburcu edildi.

TARTIŞMA

Çalışmada ender karşılaşılan bir bakteri izolatının tanımlanması konvansiyonel ve ticari testlerle yapılmıştır. Tanımlamanın doğruluğu kullanılan yöntemlerin nonfermentatif bakterileri doğru tanımlayabilme performansları ile ilişkilidir.

Klinik örnek kültürlerinde; koyun kanlı agar ve EMB besiyerinde üremiş Gram-negatif, nonfermantatif, oksidaz negatif, polimiksin B duyarlı, katalaz pozitif ve hareketsiz kokobasillerin *Acinetobacter* olarak tanımlanması önerilmektedir [8].

Otomatize ticari fenotipik tanımlama sistemlerinin Gram negatif nonfermentatif bakterileri doğru tanımlayabilme becerilerinin değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir[9]. Zbinden ve ark.[11] Vitek 2 GN kartının *Pseudomonas aeruginosa* dışındaki nonfermentatif bakterileri tanımlamada gösterdiği performansı 16S rRNA gen sekanslama ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada, Vitek 2 GN kartı izolatların %59'unu tür düzeyinde ve %10'unu cins düzeyinde doğru, %31'ini yanlış tanımlamıştır. Sonuçlar ayrıntılı olarak incelendiğinde, Vitek 2 GN kartının *Acinetobacter* spp. olarak tanımladığı 16 izolatın yalnızca 1 tanesini (%6.1) yanlış tanımladığı görülmektedir.

Gram negatif nonfermantatif bakterileri tanımlamada MALDI-TOF MS sistemlerinin gösterdiği performans Mellmann ve ark.[10] tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmada, 16S rRNa gen sekanslama yöntemi ve MALDI-TOF MS sisteminin sonuçları arasında tür düzeyinde %82.5 cins düzeyinde %95.2 oranında uyum olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, 16S rRNA gen sekanslama yöntemi ile tanımlanamayan 2 örneğin MALDI-TOF MS ile *Acinetobacter* spp. suş DSM 30009 olarak tanımlanmış olması dikkat çekicidir. Yazarlar, MALDI-TOF MS veritabanlarının genişlemesi ile tanımlamada karşılaşılan sorunların üstesinden gelinebileceğini belirtmişlerdir[10].

Bu olgu sunumunun en önemli kısıtlılığı izolatın tanımlanmasında sekanslama yöntemlerinin kullanılmamış olmasıdır. Ancak her iki ticari test yöntemi ile aynı tanımlama sonucu alınmış olması izolatın büyük olasılıkla *A. baumannii* olduğunu düşündürmektedir.

Coelho-Souza ve ark.[7], üç hastaya ait beş klinik örnekten izole ettikleri yayılabilen kahverengi pigment üreten *A. baumannii* şuslarını rapor etmişlerdir. Yazarlar, önce biyokimyasal testler ve *rpoB* gen sekanslama yöntemi söz konusu izolatları *A. baumannii* olarak tanımlamışlardır. Daha sonra yaptıkları çalışmalar sonrasında bu izolatlarda görülen pigmentin tirozin kullanımı ile ilişkili bir ürün olan melanin olduğu sonucuna varmışlardır.

Hastanemizde izole edilen *A. baumannii* suşunun ürettiği kahverengi pigmentin biyokimyasal özellikleri karakterize edilmemiştir. Bu nedenle, pigmentin melanin olduğu söylenemez. Yalnızca Coelho-Souza ve ark.[7] yayınlarında gösterdikleri resimlerle izolatımızın oluşturduğu pigment rengi arasındaki benzerlik olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada, penil doku enfeksiyonundan izole edilen ve Mueller-Hinton agarda yayılan kahverengi pigment üreten bir *A. baumannii* izolatı

bildirilmektedir. Klinik izolatlarda ender olarak saptanan bu kahverengi pigmentin *A. baumannii* patojenitesine katkısının araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Chang HL, Tang CH, Hsu YM, et al. Nosocomial outbreak of infection with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a medical center in Taiwan. Infect Control Hosp Epidemiol. 2009;30(1):34-8. https://doi.org/10.1086/592704
2. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. Clin Infect Dis. 2008;46(8):1254-63. https://doi.org/10.1086/529198
3. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin Infect Dis. 2006;42(5):692-9. https://doi.org/10.1086/500202
4. Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Hollis DG. *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella* and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Patrick R. Murray (ed). Manual of Clinical Microbiology, 9th edition. Washington: ASM. 2007;49:770-802.
5. Pagel JE, Seyfried PL. Numerical taxonomy of aquatic *Acinetobacter* isolates. J Gen Microbiol.1976;96(2): 220-32. https://doi.org/10.1099/00221287-95-2-220
6. Siau H, Yuen KY, Ho PL, et al. Identification of acinetobacters on blood agar in presence of D-glucose by unique browning effect. J Clin Microbiol. 1998;36(5):1404-7.
7. Coelho-Souza T, Martins N, Maia F, et al. Pyomelanin production: a rare phenotype in *Acinetobacter baumannii*. J Med Microbiol. 2014;63(1):152-4. https://doi.org/10.1099/jmm.0.064089-0
8. Identification of Gram Negatif Bacteria. In: Amy L. Leber (ed.), Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4th ed. Washington: ASM.2016;683-704. https://doi.org/10.1128/9781555818814.ch3.18.2
9. Vaneechoutte M, Nemec A, Kämpfer P, Cools P, Wauters G. *Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella* and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Jorgersen JH, Pfaller MA (eds.). Manual of Clinical Microbiology, 11th ed. Washington: ASM. 2015;44:813-37.
10. Mellmann A, Cloud J, Maier T, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria. J Clin Microbiol. 2008;46(6): 1946-54. https://doi.org/10.1128/JCM.00157-08
11. Zbinden A, Böttger EC, Bosshard PP, Zbinden R. Evaluation of the colorimetric Vitek 2 card for identification of Gram-negative nonfermentative rods: Comparison to 16S rRNA gene sequencing. J Clin Microbiol. 2007;45(7):2270-3. https://doi.org/10.1128/JCM.02604-06
12. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty-Fifth Informational Supplement. M100-S25, CLSI, Wayne; ABD:2015.

KONU DİZİNİ

Cilt/Volume 48, 2018

A
Acinetobacter baumannii, 273
Acinetobacter, 66
Akciğer tüberkülozu, 117
Akım sitometri, 78
Akut gastroenterit, 264
Albicans-dışı *Candida*, 38
Algoritmalar, 72
Antibakteriyel, 87
Antibiyotik, 87
Antibiyotik direnci, 1, 134
Antibiyotik duyarlılık, 66
Antifungal duyarlılık, 256
Antifungal duyarlılık profili, 38
Antimikrobiyal aktivite, 241
Antimikrobiyal potansiyel, 21
Aromatik bitki, 241
Aspergilloz, 153
Aspergillus fumigatus, 153
Ateş, 112
Azol direnci, 153

B
Bacillus anthracis, 52
Bakteriyemi, 147
Bdellovibrio bacteriovorus, 29
Biyo-yıkım, 173
Biyofilm, 1, 211
Biyofilm giderimi, 29
Biyofilm saptama, 1
Biyoremediasyon, 100
Blastocystis spp., 247

C
C-reaktif protein, 112
Candida türleri, 256
Cinsel yolla bulaşan hastalıklar, 72
Comamonas testosteroni, 147

Ç
Çevresel sürveyans, 211

D
Deniz mikrobiyolojisi, 100
Dışkı, 247
Difteri toksini, 167
Direnç, 228

E
Enfeksiyon, 112
Enterik adenovirüs, 264
Epstein-Barr virüs, 235
Esmer mantar, 173
Exophiala, 173

F
F-aktin, 167
Flukonazol, 38

G
Genotip, 187, 199
Gerçek zamanlı PZR, 235
Gıda fitokimyasalları, 21
Giardia intestinalis, 187

H
Ham petrol, 100
HBV DNA, 60
HPV DNA, 199
HUVEC, 167

İ
İdrar kültürü, 78
IL28B poliformizmi, 14
İlaç direnci, 117
İnsülin, 180
İnter-kingdom haberleşme, 180
İtrakonazol, 38

K
Kahverengi pigment, 273
Kan kültürü, 66, 147, 256
Kandidemi, 256
Kantitatif HBsAg, 60
Kistik fibröz, 86
Kolonizasyon, 45
Konjenital toksoplazmozis, 125
Kronik HCV enfeksiyonu, 14
Kronik hepatit b, 60
Kuersetin, 21
Kurkumin, 86

L
Lejyoner hastalığı, 211
Levofloksasin, 134
Litik enzimler, 29
Lökosit, 112

M
Malaşit yeşili, 173
Metisilin direnci, 130
Mikrobiyoloji, 141
Moleküler, 192
MRSA, 130
MSSA, 130

N
Nazal sürüntü, 130
Nonfermentatifler, 66
Norovirüs, 264
Nöropinefrin, 180

O
Otomatize tanımlama sistemleri, 273
Östradiol, 180

P
Peginterferon-ribavirin tedavisi, 14
Peridontal patojenler, 21
Petrol kirliliği, 100
Preanalitik evre, 141
Protektif antijen, 52
Pseudomonas, 66
Pseudomonas aeruginosa, 86

R
Real-time PCR, 45, 187
Renksizleştirme, 173
Rotavirüs, 264

S
Seroprevalans, 52, 125
Serotip, 228
Servikal kanser, 199
Sifiliz, 72
Sigmametrik analizi, 141
Staphylococcus aureus, 130
Stenotrophomonas maltophilia, 134
Streptococcus pneumoniae, 228
Su kaynaklı hastalık, 211
Su, 211
Sürveyans, 45

T
Tanı, 205
Tarama testi, 78
Tedavi sonuçları, 117
Tıbbi bitki, 241
Toxoplasma gondii, 125
Treponema pallidum, 72
Trikrom boyama, 247
Trimetoprim sulfametoksazol, 134
Tüberküloz dışı mikobakteri, 205
Tür tanımlaması, 205

Ü
Üreme, 180

V
Vankomisine dirençli
E. faecium, 192
Vankomisine dirençli enterokok, 45
Virulans genleri, 192
Vorikonazol, 38

Y
Yaşlı, 112
Yeni antibakteriyeller, 87
Yeni olgu, 117
Yoğunlaştırma, 247

SUBJECT INDEX

Cilt/Volume 48, 2018

A
Acinetobacter baumannii, 273
Acinetobacter, 66
Acute gastroenteritis, 264
Algorithms, 72
Antibacterial, 87
Antibiotic, 87
Antibiotic resistance, 1, 134
Antibiotic susceptibility, 66
Antifungal susceptibility, 256
Antifungal susceptibility profile, 38
Antimicrobial activity, 241
Antimicrobial potential, 21
Aromatic plants, 241
Aspergillosis, 153
Aspergillus fumigatus, 153
Assemblages, 187
Automated identification systems, 273
Azole resistance, 153

B
Bacillus anthracis, 52
Bacteremia, 147
Biodegradation, 173
Biofilm, 1
Biofilm detection, 1
Biofilms, 211
Bioremediation, 100
Black yeast, 173
Blastocystics spp, 247
Blood culture, 66, 147, 256
Brown pigment, 273

C
C-reactive protein, 112
Cadidemia, 256
Candida species, 256
Cervical cancer, 199
Chronic HCV infection, 14
Chronic hepatitis B, 60
Colonization, 45
Comamonas testosteroni, 147
Comparison, 78
Concentration, 247
Congenital toxoplasmosis, 125
Crude oil, 100
Curcumin, 86
Cystic fibrosis, 86

D
Decolorization, 173
Dietary phytochemicals, 21
Diphtheria toxin, 167
Drug resistance, 117

E
Elderly, 112
Enteric adenoviruses, 264
Environmental surveillance, 211
Epstein-Barr virüs (EBV), 235
Estradiol, 180
Exophiala, 173

F
F-actin, 167
Fever, 112
Flow cytometry and urine cultures, 78
Fluconazole, 38

G
Genotype, 199
Giardia intestinalis, 187
Growth, 180

H
HBV DNA, 60
HPV DNA, 199
HUVEC, 167

I
Identifications, 205
IL28B polymorphism, 14
Infection, 112
Insulin, 180
Inter-kingdom communication, 180
Itraconazole, 38

L
Legionnaires' disease, 211
Leukocyte, 112
Levofloxacin, 134
Lymphadenopathy, 235

M
Malachite green, 173
Marine microbiology, 100
Medicinal plant, 241
Methicillin resistance, 130
Microbiology, 141
Molecular epidemiology, 192
MRSA, 130
MSSA, 130

N
Nasal swab, 130
New antibacterials, 87
New cases, 117
Non-albicans *Candida*, 38
Non-tuberculous *mycobacteria*, 205
Nonfermentative, 66
Norepinephrine, 180
Norovirus, 264

O
Oil contamination, 100

P
Peginterferon-ribavirin treatment, 14
Periodontal pathogens, 21
Preanalytical phase, 141
Protective antigen, 52
Pseudomonas aeruginosa, 86
Pseudomonas, 66
Pulmonary tuberculosis, 117

Q
Quantitative HBsAg, 60
Quercetin, 21

R
Real-time PCR, 45, 187, 235
Resistance, 228
Rotavirus, 264

S
Seroprevalence, 52, 125
Serotype, 228
Sexually transmitted diseases, 72
Sigmametric evaluation, 141
Species identification, 205
Staphylococcus aureus, 130
Stenotrophomonas maltophilia, 134
Stool, 247
Streptococcus pneumoniae, 228
Surveillance, 45
Syphilis, 72

T
Toxoplasma gondii, 125
Treatment outcome, 117
Treponema pallidum, 72
Trichrome staining, 247
Trimethoprim sulfamethoxazole, 134

V
Vancomycin-resistant *E. faecium,* 192
Vancomycin-resistant *enterococcus*, 45
Virulence genes, 192
Voriconazole, 38

W
Water, 211
Waterborne disease, 211

YAZAR DİZİNİ / AUTHORS INDEX

Cilt/Volume 48, 2018

A

Acel DP, 187

Ağaçfidan A, 235

Ağuş N, 130

Akar N, 256

Akbaba M, 264

Akbal AU, 87

Akca G, 21

Aksoy L, 173

Aksu N, 134

Al-Bakkour K, 247

Alp Avcı G, 264

Altındiş M, 125

Altınsu AT, 117

Altun B, 228

Anğ Küçüker M, 180

Araz H, 134

Arslan YK, 247

Ateş F, 66

Avcı E, 141

Ayaydın Z, 147

Aydemir Ö, 125

Aydın M, 247

Aydın N, 14

B

Bakıcı MZ, 199

Bali EB, 21

Balkan ÇE, 52

Bayram A, 130

Bektaş M, 167

Bilgin M, 180

Bülbül R, 14

C

Coşkun A, 14

Ç

Çabuk A, 199

Çalışkan E, 256

Çeken N, 141

Çelebi S, 52

Çelik C, 199

Çiftçi A, 192

Çiftçi N, 66

Çoban AY, 87

Çolak M, 247

D

Delialioğlu N, 60

Demir C, 187

Dinç B, 78

Dinç G, 192

Doğan G, 130

Doğruman Al F, 247

Duran H, 141

Durmuş Ş, 235

Durupınar B, 87

E

Eraç B, 1

Erdönmez D, 21

Eren Topkaya, 86

Ergin Ç, 173

Erkan Türkmen K, 21

Esen N, 205

Etiz P, 117

G

Gülbandılar A, 241

Gülmez D, 153

Gümüş D, 180

Gür D, 228

Gür Vural D, 147

H

Hacıosmanoğlu E, 167

Harmankaya S, 273

Hasbek M, 199

Hazırolan G, 38, 134

de Hoog GS, 173

İ

İlkimen H, 241

İlkit M, 173

K

Kalaycı Yüksek F, 180

Kandemir Ö, 60

Kaplan E, 173

Karaca Derici Y, 130

Karakeçe E, 125

Karakoç AE, 78

Karamurat ZD, 256

Keleş Uludağ S, 192

Keseroğlu BB, 78

Kılınçel Ö, 256

Kırca Ş, 192

Kırdar S, 14

Kocagül Çelikbaş A, 134

Köroğlu M, 125

Kuştimur S, 247

Kutlu M, 112

M

Mater Y, 100

Mumcuoğlu İ, 247

Mutlu R, 86

O

Oğuz İ, 247

Ovla Çelikcan HD, 60

Ö

Öğüt S, 273

Öksüz Ş, 256

Öncü S, 14

Önel M, 235

Özbek ÖA, 273

Özdemir K, 112

Özerman Edis B, 167

Özkan M, 29

Özkarataş MH, 205

Özkütük AA, 205
Öztürk CE, 256

R

Rahmanalı Onur A, 147

S

Sağlam N, 21
Samancı Aktar G, 147
Sancak B, 228
Sayın Kutlu S, 112
Sönmez C, 72

Ş

Şahin İ, 256
Şamlıoğlu P, 130
Şengül M, 173
Şirin MC, 130

T

Taşdan S, 100
Temel A, 1
Temiz H, 147
Tezcan Ülger S, 60
Tuncer İ, 66
Turgut H, 112
Türk Dağı H, 66
Tüzün T, 112

U

Uçar M, 112
Uz G, 180

Ü

Ünlü Söğüt M, 192
Ünüvar E, 235
Üzmez E, 78

V

Varol B, 167

Y

Yağcı S, 78
Yavuz CI, 211
Yılmaz H, 29
Yılmaz Hancı S, 130
Yılmaz N, 130
Yiğit A, 187
Yiş R, 45
Yücel M, 78

YAZARLARA BİLGİ

- Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin yayın organı olup ilgili alanlardaki özgün araştırma, derleme, olgu sunumu, bilimsel haberler, bilimsel kitap ve dergi tanıtım yazıları ile okuyucu mektuplarını yayımlayan hakemli bir dergidir.
- Dergi Mart, Haziran, Eylül ve Aralık olmak üzere üç ayda bir çıkar ve dört sayıda bir cilt tamamlanır.
- Yazılar Türkçe olarak yollanmalıdır.
- Yazıların sorumluluğu yazarlarına aittir.
- Yayımlanması istenen metnin dayandığı çalışma, daha önce bir yerde yayımlanmamış ya da yayımlamak üzere teslim edilmiş veya kabul edilmiş olmamalıdır. Özet biçiminde yayımlanmış bir ön bildirinin bitmiş biçimine yer verilebilir.
- Dergiye gönderilen yazılar, ilk olarak dergi standartları açısından incelenir. Derginin istediği forma uymayan yazılar, daha ileri bir incelemeye gerek görülmeksizin yazarlarına iade edilir. Bu nedenle gereksiz yere zaman ve emek kaybına yol açılmaması için, yazı sahipleri dergi kurallarını dikkatli incelemek zorundadır.
- Dergi kurallarına uygunluğuna karar verilen yazılar Danışma Kurulundan veya konu ile ilgili kişilerden en az iki hakeme gönderilir ve hakemlerden yayına uygun olup olmadığı konusunda görüşleri alınır. Düzeltme isteniyorsa tekrar yazara gönderilir. Bu incelemeden geçen yazılar, Yayın Kurulu tarafından tekrar değerlendirilir ve basılacağı yer ve sayı kararlaştırılır.
- Danışma ve Yayın Kurulları; düzeltme, kontrol ve dizgi aşamasında yayıncı, yazılarda düzeltme yapmak, biçiminde değişiklikler istemek ve yazarları bilgilendirerek kısaltma yapmak yetkisine sahiptir. Yazarlardan istenen değişiklik ve düzeltmeler yapılana kadar, söz konusu yazılar yayın programında sırada bekletilir.
- Teslim edilmiş bir metnin tümünün veya bir bölümünün bir başka yerde yayımlanması söz konusu olursa editörlere bilgi verilmesi zorunludur.

Başvuru

- Sadece on-line başvurular kabul edilir.
- Başvurularda, tüm yazarların adları ve adresleri, açık olarak yazılmalıdır. Tüm yazarların ORCID numaraları başvuru esnasında on-line olarak ilgili alana eklenmelidir. ORCID ID kaydı için **https://orcid.org** adresini kullanınız. Ayrıca, yazının tüm yazarlar tarafından onaylandığını ve daha önce hiçbir yerde yayımlanmadığını ve teklif hakkının dergiye bırakılacağını belirten ve tüm yazarlar tarafından imzalanmış web sayfasındaki belgenin (Copyright-Telif) on-line olarak veya posta ile aşağıdaki adrese gönderilmesi zorunludur.
- İnsanlar üzerinde yapılan klinik araştırmalarla ilgili olarak etik kurulların onaylarının ve gönüllülerden alınmış yazılı onam formlarının da on-line olarak ve posta ile aşağıdaki adrese gönderilmesi zorunludur.

Prof. Dr. Çağrı Ergin
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Kınıklı Kampüsü / Denizli
Tel: 0258 296 2491
E-posta: tmcdeditor@gmail.com

Metin Çeşitleri

- Metin çeşitlerinde on-line olarak yönlendirme bulunmaktadır.
- Özgün Araştırma: Gerekli ve uygun sayıda şekil/tablo/fotoğraf/resim/grafik; en çok 250 sözcük içeren Türkçe ve İngilizce özetler; Türkçe ve İngilizce 3 anahtar sözcük ve ana metinden oluşmalıdır.
- Derleme: 1-4 şekil/tablo/fotoğraf/resim/grafik; en çok 200 sözcük içeren Türkçe ve İngilizce Özetler; 3 anahtar sözcük ve ana metinden oluşmalıdır.
- Olgu Sunumu: Yeterli sayıda şekil/tablo/fotoğraf/resim/grafik; en çok 20 kaynak; 200 sözcüğü geçmeyen İngilizce-Türkçe Özet; 3 anahtar sözcük ve ana metinden oluşmalıdır.
- Editöre Mektup: Daha önce yayımlanmış olan bir yazı hakkında, yeni bir araştırma bulgularının bildirilmesi veya bir görüş bildirimi olabilir. Bir şekil/tablo/fotoğraf/resim/grafik ve en çok 5 kaynak içerebilir.

Metin yazımı esnasında uyulacak kurallar

- Yazının Türkçe başlığı kısa, açık ve içeriği tam yansıtır olmalıdır.
- Yabancı dilde başlık Türkçe başlık ile birebir uyuşmalıdır.
- On-line ilgili formlarda tüm aşamalar doldurulmalıdır
- Araştırma daha önce bir bilimsel toplantıda bildiri (sözlü veya poster) olarak sunulmuş ise, bu bilgi toplantının adı ve tarihiyle birlikte belirtilmelidir.
- Olgu sunumu, derleme, editöre mektup gibi diğer metin çeşitlerinde bölümlü özet hazırlamaya gerek yoktur.
- Özet bölümünde kısaltmalardan mümkün olduğunca kaçınılmalı ve kaynak, şekil, tablo ve atıf yer almamalıdır.
- Ana metin sayfaları, metin çeşidine göre bölümlendirilmelidir. Özgün araştırmalar amacın belirtildiği giriş, gereç ve yöntem, bulgular ve tartışma kısımlarından oluşmalıdır. Bulgu ve tartışmanın kısa olduğu metinlerde iki başlık birleştirilerek de aktarılabilir. Olgu sunumu amacın belirtildiği kısa bir girişten sonra detaylı olgu ve tartışmadan oluşmalıdır. Derlemelerde önce kısa bir giriş yapılmalıdır ve ardından derlemenin konusuna uygun oluşturulmuş bölümleri kapsamalıdır.
- Mikroorganizma adları ve MİK veya PFGE gibi kısaltmalar ilk kullanıldıklarında tam olarak, açık şekilleriyle yazılmalı mikroorganizma adı daha sonraki kullanımlarda cins adının ilk harfi kullanılarak kısaltılmalıdır. *Staphylococcus aureus S. aureus* gibi. Paragraf başında ise bu kısaltma kullanılmamalı, isim tam olarak yazılmalıdır.
- *Escherichia coli* ve *Entamoeba coli* gibi, kısaltmaları aynı olacak adlar aynı yazıda geçtiğinde yazı boyunca kısaltılmadan kullanılmalıdır. Stafilokok, streptokok gibi sadece cins adı geçen cümlelerde dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir.
- Yanında birim gösterilmeyen ondan küçük sayılar yazı ile yazılmalı, rakam ile yazılan sayılara takılar kesme işareti ile eklenmelidir. Üç hasta suşların 28'i gibi. Mümkün olduğunca cümlelere sayılarla başlanmamalıdır.
- Boyama yöntemi olan Gram büyük harfle yazılmalıdır. Bakteri tanımlamasında ise küçük harf kullanılmalıdır. Örneğin gram negatif kok yazılmalıdır. Negatif / pozitif kelimeleri açık olarak yazılmalı; (-) veya (+) kısaltmaları kullanılmamalıdır.

- Bir teşekkür yazısı varsa Kaynaklar'dan önce olmalıdır.
- Çalışma kazanılmış bir burs veya proje ile tamamlanmışsa belirtilmelidir.
- Kaynaklar listesinde yer alan kaynakların tamamının metin içinde kullanılmış olması gereklidir.
- Kaynaklar metin içinde geçiş sırasına göre sıralanmalı ve metin içinde cümle sonuna konacak parantez içine, üst simge olarak yazılmalıdır. Örneğin; ..... gösterilmiştir[1,5,6].....Kaynak yazımı sırasında boşluk bırakmayınız.
- Metinde kaynaklar üst simge olarak bulunmalıdır.
- Metinde kaynak verilirken yazar adı kullanılıyorsa kaynak numarası yazar adının yanına yazılmalıdır. Örneğin; Smith ve Gordon'a[4] göre ..... Kaynak yazımı sırasında boşluk bırakmayınız.
- Henüz yayınlanmamış veriler ve çalışmalar Kaynaklar bölümünde yer almamalıdır.
- Dergimiz, başka çalışmalarda bildirilen kaynakların aktarma şeklinde kullanılmasını kabul etmemektedir. Yazarlar tarafından doğrulanmayan kaynaklara bağlı olarak çalışma değerlendirme dışı bırakılabilir.
- Kaynaklarda, yazar sayısının altı veya daha az olması durumunda tüm yazarların isimleri yazılmalıdır. Yazar sayısının altıdan fazla olması durumunda ise ilk üç yazarın ismi yazılmalı, sonrasında Türkçe makalelerde "ve ark.", İngilizce makalelerde ise "et al." ilave edilmelidir.
- Dergi isimlerinin kısaltılması Index Medicus'taki stile uygun olarak yapılmalıdır (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/). Index Medicus'ta bulunmayan dergi adları kısaltılmadan yazılmalıdır.
- Dergide kaynaklar yazılırken temel olarak Türkçe'ye uyarlanmış Vancouver yazım stili (Örnekler aşağıdadır) esas alınmalı; noktalamalar, kelime ve harf aralıkları, büyük harfler, dergi ve cilt numarası buna göre düzenlenmelidir.

Örnekler

A. Makaleler

Kaynak yazımlarında italik, boşluk, noktalama işaretleri kullanımına kesinlikle dikkat ediniz.

- Standart Dergi Makalesi: Courvalin P, Davies J. Mechanisms of resistance to aminoglycosides. Am J Med. 1977;62(6):868-72. doi:.....
- Dergi Ekinde (Supplement) yer alan makale: Snydman DR. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial *Candida* infections. Chest. 2003;123(Suppl 5):S500-3. doi:.....
- Elektronik dergi makalesi: Lam PV, Tadros M, Fong IW. Mandibular osteomyelitis due to *Raoultella* species. JMM Case Rep. 2018;5. İnternet adresi: http://..... Erişim tarihi: ../../20.. doi:.....

B. Kitaplar

- Kitap: Appanna VD. Human Microbes - The Power Within Health, Healing and Beyond. Singapur: Springer Singapur; 2018.
- e-kitap: Appanna VD. Human Microbes - The Power Within Health, Healing and Beyond. Singapur: Springer Singapur; 2018. İnternet adresi: http://..... Erişim tarihi: ../../20..
- Kitap bölümü: Piret J. Antiviral drug resistance in herpesviruses. In: Berghuis A, Matlashewski G, Sheppard D, Wainberg MA (Eds.) Handbook of antimicrobial resistance. New York: Springer-Verlag, 2017:87-122. (Türkçe kitaplar için; cümle sonuna kitabında ifadesini ekleyiniz.)
- Kurumsal yayın: CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard M27-A3. 3rd ed. CLSI, Wayne: ABD; 2008.
- Süreli resmi yayın: TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 30.05.2007(26537).
- Süreli resmi yayın (internet): TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 2007(26537). İnternet adresi: http://..... Erişim tarihi: ../../20..
- Kongre Bildiri Özeti: Başustaoğlu AC, Süzük S, Mumcuoğlu İ, ve ark. Kan kültürü uygulamalarının değerlendirilmesi: EpiCenter verilerinin kullanımı. XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 16-20 Kasım 2016, Belek, Antalya; 2016:TPS-85.
- Tez: Öktem İMA. Endoservikal sürüntü örneklerinde *Chlamydia trachomatis* hücre kültürü sonuçlarının direk floreson antikor (DFA) ve enzim immunoassay (EIA) yöntemleri ile karşılaştırılması [Tıpta uzmanlık tezi]. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 1998.

C. Sanal Ortam

- Web sitesi: World Health Organization. Global strategy for. Geneva: World Health Organization. 2001 [http://www.who.intemational]. (Erişim tarihi: …….).

Şekil, Tablo, Fotoğraf, Resim, Grafik

- Tablo, şekil, fotoğraf, resim ve grafikler Arap rakamları ile numaralandırılmalı ve yazı içinde geçtiği yerler belirtilmelidir.
- Tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne, sol kenardan başlanarak yazılmalı ve tablo sıra numarasından sonra nokta kullanılmalıdır. Örneğin; Tablo 1. *E. coli* izolatlarının MİK dağılımları, gibi.
- Tablolarda kullanılan kısaltmalar alt kısımda mutlaka açıklanmalıdır.
- Tablolarda metnin tekrarı olmamalıdır
- Şekil, fotoğraf, resim ve grafiklere ait açıklamalar ana metinle beraber en sona eklenerek yollanmalıdır.
- Şekillerde ölçü önemli ise üzerine cm veya mm'yi gösteren bir ölçek çizgisi konmalıdır.
- Fotoğraflar tanınmayı engelleyecek şekilde olmalı ve hastalardan yazılı onam alınmalıdır.
- İsim, baş harfler, hastane kayıt numarası gibi kimlik bilgileri yazılmamalıdır.

Tablo, şekil, fotoğraf, resim ve grafikler gibi dökümanlar başka bir yayından alıntı ise yazılı baskı izni mutlaka gönderilmelidir.