

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY



Cilt / Volume 49

Sayı / Number 1

Mart / March 2019



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 49 Sayı / Number 1 Mart / March 2019

Editör / Editor in Chief

Ça rı Ergin

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli

Bölüm Editörleri / Section Editors

Sebahat Aksaray; Haydarpa a Numune E itim ve Ara tırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

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

Ay e Esra Karakoç; Ankara E itim ve Ara tırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

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

Bedia Dinç; Ankara E itim ve Ara tırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

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

Funda Do ruman-AI; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışmanlar Kurulu / Advisory Board

Elif Akta , stanbul
Osman Akta , Erzurum
I in Akyar , stanbul
Mustafa Altı ndı , Sakarya
Mustafa Altay Atalay, Kayseri
Oktay Alver, Bursa
Aykut Aytaç, Ankara
Orhan Baylan , stanbul
Banu Bayraktar, Ankara
Yunus Emre Beyhan, Van
Gülçin Bayramo lu, Trabzon
Asuman Birinci, Samsun

Fusun Cömert, Zonguldak
Cengiz Çavı o lu, zmir
Feriha Çilli, zmir
Ahmet Hillmi Çon, Samsun
Aylin Dö en, Mersin
Ufuk Hasdemir, stanbul
Gülferm Ece, zmir
Sevgi Ergin, stanbul
Duygu Fındık, Konya
Hüseyin Güdücüo lu, Van
Deniz Gür, Ankara
Selma Gökahmeto lu, Kayseri

Arzu İki, stanbul
Macit İkit, Adana
Ay e Kalkanç, Ankara
Aynur Karadenizli, Kocaeli
Zeynep Ceren Karahan, Ankara
Deniz Bahar Akgün Karapınar, stanbul
Onur Karatuna, stanbul
Çi dem Kayacan, stanbul
Filiz Kibar, Adana
Esra Koço lu, Bolu
Hat ce Güven Külekçi, stanbul
Mine Ho gör Limoncu, zmir

pek Mumcuo lu, Ankara
Ban Otlu, Malatya
Ahmet Özbilgin, Manisa
Nuri Özkütük, Manisa
Bet l Özhak, Antalya
Duygu Perçin Renders, Kütahya
Fatma Mutlu Sangüzel, Kayseri
Ömer im ek, Denizli
Mehtap Ünlü Sö üt, Samsun
Aynur Topkaya, stanbul
Tulay Yalçınkaya, Ankara
Meltem Yalınay, Ankara
Fadile Yıldız Zeyrek, Urfa

Yayımlanan sayıya ait de erlendirme sürecini kapsamaktadır.

"TÜB TAK ULAKB M Tıp Veri Tabanı" ve "Türkiye At f Dizini" taraf ndan indekslenmektedir.

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. Ban Otlu

Yazı ma Adresi / Correspondence Adres

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

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

© Her hakkı saklıdır. Bu dergide yer alan yazı, makale, foto raf ve illüstrasyonların elektronik ortamlarda dahil olmak üzere kullanma ve ço altı ma hakları Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Derne i'ne aittir. Yazılı ön izin olmaksızın materyallerin tamamının ya da bir bölümünün ço altılması yasaktır. Dergi Basım Meslek 'kelleri'ne uymaktadır.

© All rights are reserved. Rights to the use and reproduction, including in the electronic media, of all communications, papers, photographs and illustrations appearing in this journal belong to Turkish Society of Microbiology. Reproduction without prior written permission of part or all of any material is forbidden. The journal complies with the Professional Principles of the Press.

Yayın Türü: Yerel Süreli

Basım Yeri / Printed by

LOGOS YAYINCILIK T. C. A. .
Yıldız Posta Cad. Sinan Apt. No. 36 D. 66/67
34349 Gayrettepe- stanbul



Tel: (0212) 288 05 41
Faks: (0212) 211 61 85
mail: logos@logos.com.tr
web: www.logosyayincilik.com

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



ÇİNDEKİLER / Contents

DERLEME / REVIEW

- Tüberküloz ve TLR Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişki
The Relationship Between Tuberculosis and TLR Gene Polymorphisms
Reika Dilara Vaizo, Tuğba, Ceren ACAR 1-10

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / CLINICAL INVESTIGATIONS

- Bir Üniversite Hastanesinde Ensefalit/Meningit Üstünlü Hastalarda, Beyin Omurilik Sıvısı Örneklerinin Bakteriyel ve Viral Açısından İncelenmesi
Bacterial and Viral Analysis of Cerebrospinal Fluid Samples in Patients with Suspected Encephalitis/Meningitis In a University Hospital
Hüseyin Ağah Terzioğlu, Özlem aydemir, Engin KARAKEÇE 11-16
- Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Klinik İzolatlarında Kolistin Direnç
Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae Clinical Isolates
Ceren Özkul Koçak, Gülşen Hazırolan 17-23
- *Candida parapsilosis*'in Ekstrem Koşullara Toleransında Tuz ve Sıcaklık Stres Direncinin Etkisi
Effect of Salt and Temperature Stress Resistance on the Tolerance of Candida parapsilosis to Extreme Conditions
Engin Kaplan, Macit İliki, G. Sybren de Hoog 24-29
- Strep A Hızlı Antijen Testiyle Grup A Streptokokların Tespitinde İkili Süpürütü Çubuğu Kullanımı Bir Gereklilik mi?⁶
Is It a Necessity to Use Double Swab in the Detection of Group A Streptococci by the Strep A Rapid Antigen Test?
Mehmet Emin Bulut, Elif Aktaş, Gülşahmal Koçoğlu, Vildan YaVuz Özer, Berna Ünal, Banu BAYRAKTAR 30-34

- Kan Kültürlerinden İzole Edilmiş Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* ve Koagülaz Negatif Stafilocok Suşlarının Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin'in Vitro Duyarlılığının Değerlendirilmesi
Evaluation of Ceftaroline, Linezolid and Vancomycin in-vitro Susceptibilities of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus and Coagulase-Negative Staphylococci Strains Isolated from Blood Cultures
Fulya Bayındır Bilman, Barın Çiçek **35-40**
- Tedavi Başarısızlığı Olan Kronik HBV Hastalarında Nükleoz(t)id Direnç Mutasyonları
Nucleos(t)ide Resistance Mutations in Chronic HBV Patients with Treatment Failure
Nafia Canan Gürsoy, Barın Özlü, Yusuf Yakupoğlu, Özkan Yener, Yağar Bayındır, Murat Harputluoğlu, Mehmet Sait Tekerelioğlu **41-46**
- Klorojenik Asit Yüklü PLGA Nanopartiküllerinin Üretimi ve Antimikrobiyal Etkinliğinin Belirlenmesi
Fabrication of Chlorogenic Acid Loaded PLGA Nanoparticles and Determination of Antimicrobial Activity
Yasemin Budama-Kılınç **47-54**
- yazarlara Bilgi **V-VI**

Tüberküloz ve TLR Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişki

The Relationship Between Tuberculosis and TLR Gene Polymorphisms

Reika Dilara Vaizo İlu¹, Ceren Acar²

¹İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Malatya, Türkiye

Öz

Dünyadaki bacterialara sebep olan sorunlarından biri olan tüberküloz, her yıl çok sayıda ölüme neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2018 raporuna göre 2017 yılında 6.7 milyon yeni tüberküloz olgusu bildirilmiştir. Hastalık etkeni, kişi ileri enfekte ettikten sonra çok uzun süre latent evrede kalabilmektedir. Enfekte olan kişilerden bazıları hasta olurken, bazı kişilerde ise hastalık hiçbir zaman gelişmemekte hatta bunların yaklaşık %90'ı bacterialara bulaşık sisteminin verdiği yanıtla kendiliğinden iyileşmektedir. Birçok enfektif hastalıkta olduğu gibi, enfekte olan kişilerin sayısı ve hasta olan kişilerin sayısı arasındaki farklılık, konağın savunması ve organizmanın virülansı arasındaki denge farklılıklarından kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda, bu farklılığın nedeni çoğunlukla, konağın bacterialara bulaşık sisteminin durumu ile ilişkilendirilmiştir ancak yeterli bir yanıt olarak görülmemiştir. Bu durumda, enfektif hastalıklarla konağın arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için enfektif ajanlara verilen yanıtın genetik temellerinin araştırılması gerekmektedir. Bu derlemede *Mycobacterium tuberculosis*'e immun yanıtta ya da yakınlıkta söz konusu olan TLR genlerindeki polimorfizmlerin etkisini inceleyen çalışmalar özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, TLR, genotipleme

ABSTRACT

Tuberculosis, one of the major health problems in the world, causes many deaths every year. According to the 2018 World Health Organization (WHO) report, 6.7 million new tuberculosis cases were reported in 2017. The disease can remain in the latent phase for a very long time after infecting the affected individual. While some of the infected people contract the disease, while the others never develop the disease; even about 90% of the contracted people improve and get well by the immune system's response. As in many infectious diseases, the difference between the number of infected people and the number of people with the disease is due to differences in balance between the host defense and the virulence of the organism. In the studies conducted; this difference was mostly attributed to the state of the immune system of the host, but this is not accepted as an adequate response. With these terms, the genetic basis of the response to infectious agents needs to be investigated in order to understand the relationship between infectious diseases and the host. In this review we have summarized the studies on the effect of polymorphisms of TLR genes which are involved in the immune response and the susceptibility to *Mycobacterium tuberculosis*.

Keywords: Tuberculosis, TLR, genotyping

Alındığı tarih:

12.06.2018

Kabul tarihi:

23.11.2018

Çiğ yayın tarihi:

25.03.2019

ORCID Kayıtları

R. D. Vaizo İlu 0000-0003-4584-0954

C. Acar 0000-0003-1842-9203

✉ ceren.acar@inonu.edu.tr

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), dünya çapındaki ölümlerin en önemli nedenlerinden biridir. *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) tüberküloz hastalığının etkenidir ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2018 raporuna göre; dünya nüfusunun yaklaşık olarak %23'ü (yaklaşık 1.7 milyar

kişi) latent TB enfeksiyonuna sahiptir ve dolayısıyla yaşamaları süresince TB hastalığına gelişme riski taşımaktadırlar. Küresel olarak yaklaşık 10 milyon insan TB hastalığına yakalanmakta ve bu 10 milyonun 5.8 milyonunu erkekler, 3.2 milyonunu kadınlar ve 1 milyonunu çocuklar oluşturmaktadır. Tüberküloz, MTB'nin neden olduğu granülomatöz bir enfeksiyon

hastalıdır. *M. tuberculosis* 90'dan fazla antijen ve çeşitli virülans faktörlerini içerir⁽¹⁾.

Dünya nüfusunun 1/3'i tüberküloz ajanı ile enfekte olmasına rağmen, enfeksiyon genellikle aktif hastalığa dönüşmemektedir. Patojen, hastalığın klinik özelliklerini göstermeyen enfekte kişiler olarak yaklaşık olarak %90'ında latent hâlde kalmaktadır⁽²⁾. Klinik önemine rağmen, MTB patogenezi ve enfekte olanların yaklaşık olarak %10'unun hastalığı geliştirmesini engelleyen konakçı mekanizmaları tam olarak anlaşılabilmemiştir. Enfeksiyonun başlangıç ve birincil yeri olduğu için akciğerin mikro çevresi, patojen ve konakçı arasındaki dinamik etkileşim hakkında fikir sahibi olmamızı sağlamaktadır⁽³⁾.

Biyoloji ve tıp alanlarının temel hedeflerinden birisi, enfeksiyon ajanları ile insan ilişkilerini anlamaktır. Bakterilerin etkileşimini ve insan konak fenotipik çeşitliliğini genetik temelli incelemek esastır. İnsan genom projesinin sonuçları, insan konakçı genetiği hakkında ipuçları vermiştir. Fakat yine de bireylerin ve popülasyonların fenotipik özelliklerinden sorumlu olan genomlar arasındaki, doğal olarak ortaya çıkan genetik özellikler hakkında belirli bir bilgiye ulaşılamamıştır. Yeni geliştirilmiş teknolojilerin yardımıyla değişik coğrafi bölgelerde farklı etnik kökene sahip genom dizilerinin tamamını ve farklı popülasyonlar arasındaki varyasyonları karşılaştırmak kolaydır. Böylece doğal olarak insan genomunda meydana gelen çeşitli varyasyonları ve hastalıklarla olan ilişkilerini anlamamız da aynı ölçüde kolaylaşmıştır. Dolayısıyla, popülasyonların geçmiplerini, göç örüntülerini ve iklim değişikliklerini, beslenme kaynaklarını ve patojen baskılarını içeren bu çeşitli çevresel koşullar *Homo sapiens*'in adaptasyonunun altında yatan genetik mekanizmaları anlamamıza yol açmıştır. Sonuç olarak, insan genetiğinin hastalığa karşı duyarlılığı, hastalık iddeti ve tedaviye yanıt üzerindeki etkileri büyük ölçüde çözülecektir⁽⁴⁾. Konakçı için bulaıcı hastalığıdaki çeşitlilik önemli olduğu kadar hastalığın yayılması ve yaygınlaştırılması da önemlidir. Bu çeşitlilik tam olarak anlaşılamamıştır. Özgül tek nükleotid poli-

morfizmleri (SNP'ler-single nucleotide polymorphisms) yardımıyla hasta bireylerde ve sağlıklı bireylerde hastalıkla ilişkili genomik bölgelerin karşılaştırılması olasıdır⁽⁴⁾.

Tek Nükleotid Polimorfizmleri

Genomda en yaygın dizi varyasyonlarından biri tek nükleotid polimorfizmlerdir. Bunlar birçok hastalığa yatkınlık için belirli belirteçlerdir. SNP'ler, isimlerinden anlaşılacağı üzere, tek bir baz çifti değişikliği üreten değişikliklerin sonucudur. Her varyasyon belirli bir derecede popülasyonda bulunabilir. Kompleks özelliklerde genetik etkileri ve SNP'lerin hastalıklarla ilişkisini anlamak için Genom Boyu İlişkili Çalışmaları (GWAS-Genome-wide association study) kullanılmaktadır⁽⁵⁾. Popülasyonlarda SNP varyasyonlarının sıklığı düşük olsa da bazı durumlarda çok önemli rol oynamaktadır. Genetik alanında yapılan birçok araştırmacı, hastalığa özgü olan SNP'leri bulmaya çalışmaktadır. SNP'ler, fenotipik olarak kodlayıcı olmayan bölgelerin SNP'leri ve kodlayıcı bölgelerin SNP'leri olarak sınıflandırılabilir. Kodlamayan bölgeler, kodlayıcı bölgelere göre daha fazla SNP içerir. SNP'ler genomda heterojen olarak dağılmakta ve genellikle evrim çalışmalarında ve popülasyon genetiği çalışmalarında belirteç olarak kullanılmaktadır. Kodlama bölgesindeki SNP'ler genetik koddaki dejenerasyona bağlı olarak, çoğunlukla amino asit diziliminde önemli değişikliklere neden olmazlar. Protein yapısını değiştiren SNP'ler, ilaç metabolizması ve dolayısıyla farmakogenetik çalışmalarda kullanılır. Kodlama bölgesinde bulunan SNP'ler 2 alt tiptir; protein aktivitesini etkileyen fakat protein dizisini etkilemeyen bazı synonymous SNP'ler ve protein amino asit dizisinde değişikliklere neden olan nonsynonymous SNP'lerdir⁽⁶⁻⁸⁾.

SNP veri tabanları, GWAS üzerinde yapılan araştırmacılar arasında çok popülerdir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan veri tabanı, 6 milyondan fazla insan SNP'i içeren dbSNP'dir. Buna ek olarak, İnsan Gen Mutasyon Veri Tabanı, İnsan OMIM (Çevrimiçi Mendel Mirası), Swiss-Prot ve İnsan Genom Varyasyon Veri Tabanı sıkça kullanılan diğer veri tabanlarıdır⁽⁹⁾.

Genomlarda SNP'lerin yaygın olarak bulunması genetik taramalarda baskın bir belirteç olarak kullanılabilirliğini sağlamak ve bu da etkin taramaların genelleştirilmesine yol açmaktadır. Yeni ilaç keşif projeleri çok sayıda SNP ve birey içerdiği için dolayı, SNP'ler, tarama ve genotiplendirme için yeni teknolojilerin geliştirilmesinde önemli rol oynamıştır⁽⁷⁾.

Mycobacterium tuberculosis

Tüberküloz patogenezi anlamak için yapılan çalışmalar Teophile Laennec ile 19. yüzyılda başlamıştır ve daha sonra 1865 yılında Jean-Antoine Villemin, MTB enfeksiyonunun bulaşabilirliğini göstermiştir. 1882 yılında Robert Koch, tüberküloz basiliyi etiyolojik ajan olarak tanımlamıştır⁽⁹⁾.

Mycobacterium tuberculosis, akciğer tüberkülozu (PTB) hastalarının haptırma, öksürme ve konakçı yoluyla yayılır ve bulaşıcı zayıf insanların enfekte olmasına neden olur. Bu durum, hastalığın yayılmasında tek doğal kaynağın insan olduğunu gösterir⁽¹⁰⁾.

Mikobakteriyel Hücre Duvarı

Bir hücre içi patojeni olan MTB yavaş yavaş ürer ve konakçı makrofajların içinde canlı kalabilme yeteneğine sahiptir. Hidrofobik mikolik asitler hücre duvarında bulunur (kuru ağırlığının %50'si) ve asit dirençli bir bakteridir. *Mycobacteria*'nın yavaş üremesi, besin alımını zorla tıran kalın mikolik asit katmanından kaynaklanmaktadır. Diğer bir yandan kalın olan bu tabaka, lizozomal enzimlere karşı bakteriyeye direnç kazandırır. Çoklulukla hücre duvarının dış kısmında mikolik asitleri taşıyan ve iç kısımda ise esas olarak fosfatidil-miyoinositol mannozidaz (PIM'ler), arabinoalaktan ve peptidoglikan taşımaktadır. Dış kısmında mannoz içeren moleküller bulunur. Bu biyomoleküller mannoglikoproteinler, ilgili lipomannan (LM) ve mannoz kaplı lipoarabinomannan (Man-LAM) olabilir. Bakterilerin dış kapsülü hem arabino-mannan hem de hücre yüzeyinde bulunan mannan tarafından oluşmaktadır. Hücrenin yüzeyinde, en bol bulunan mannozlardan biri Man-LAM'dır ve önemli bir virülans faktörüdür. Tüm patojen bakteriler, hızlı üreyen mikobakteriyel suşlarda bulunmayan mannoz

kaplı motiflerin özelliklerini daha az patojenik olanlar ile paylaşır⁽¹¹⁾. MTB ve insanlar arasındaki konak-patojen etkileşimleri detaylı olarak incelenmiş olsa da tamamen çözümlü değildir. Doğal bulaşıcılık yanıtının aktivasyonunda, ilk amaç patojenin kalıp tanınması ile başlamıştır. MTB'nin patojen ile ilişkili moleküler motifleri (Pathogen associated molecular patterns-PAMP), özgül kalıp tanıma reseptörleri (Pattern recognition receptors-PRR) tarafından saptanır. Tanıma yapıldıktan sonra, proinflatuar sitokinler ve kemokinlerin üretimi; fagositoz, bakteri yok etme ve antijen sunumu gibi olaylar tetiklenir⁽¹¹⁾.

Toll-benzeri Reseptörler (TLR'ler)

Toll-benzeri reseptörler kalıp tanıma reseptör ailesine aittir. Memelilerde, bu aileden on iki üye bulunur. Dendritik hücreler (DC'ler) ve makrofajlar gibi bulaşıcılık hücrelerinin hücre zar yüzeyinde veya endositik vezikül zarlarında belirtilirler. 1985 yılında Christiane Nüsslein-Volhard, *Drosophila* Toll proteininin homologlarının mikrobik enfeksiyona karşı savunmada önemli olduklarını ve evrimsel olarak korunmuş yapılar olduklarını keşfetmiştir⁽¹²⁾. Toll benzeri reseptörler çok çeşitli patojenlere karşı bulaşıcılık gösterirler. N-terminal ektodomeynleri (ECD) ve lösin zengini tekrar (LRR) ile karakteristik düzlemsel atnalı ekline sahiptirler. Toll benzeri reseptörlerin ligand etkileşimleri belirgin olmasına rağmen, hepsi dış tarafta N terminalleri ve orta kısımda C terminalleri ile karakteristik bir m-eklinde dimerik kompleks oluşturur⁽¹³⁾. Ölen hücrelerden veya mikrobiyal patojenlerden gelen endojen moleküller, oldukça korunmuş yapısal motifler olan patojen ile ilişkili moleküler kalıpları gösterir. Tehlike ile ilişkili moleküler kalıplar (Danger Associated Molecular Patterns-DAMP'lar) hücre kaynaklıdır. Patojenik enfeksiyonun varlığında, travma, iskemi ve doku hasarına yanıt olarak bulaşıcı bulaştır ve sürdürürler. Ayrıca TLR'ler tarafından tanınmaktadır⁽¹⁴⁾. PAMP'lar, hücre duvarı bileşenlerini içerir. Bu bileşenler, lipopeptidler, lipopolisakkarid (LPS) ve peptidoglikan (PGN) olarak listelenebilir. Öte yandan viral çift sarmallı RNA, bakteri DNA'sı ve flagellin PAMP olarak sınıflandırılabilir. TLR ailesi tarafından algılanan

PAMP'lar, lipidlerden lipopeptidlere, proteinlere ve nükleik aside kadar değişir. Tehlikeye bağlı moleküler modeller, ısı şoku proteinleri gibi hücreler arası proteinlerin yanı sıra hücre dışı matristen alınan protein parçalarını da içerir⁽¹⁵⁾. Toll-benzeri Reseptörleri, PAMP veya DAMPLar ile indüklenme, AP-1 ve Nükleer faktör kapa- (NF-) aktivasyonuna, aktarım faktörleri gibi interferon düzenleyici faktörlere (IRF'lere) yol açan sinyal basamaklarını tetikler. Pro-inflamatuvar sitokin, efektör sitokin ve interferon (IFN) üretimini yönlendiren uyarlanabilir bağıklık tepkisi, TLR sinyalizasyonunun sonuçlarını oluşturan çeşitli hücresele tepkilerdir. TLR reseptör ailesinin Toll/ Interlökin-1 reseptör (TIR) domeynli adaptörleri olan beş molekül (My-D88, TRIF, Mal, TRAM ve SARM) bu ailenin tüm üyeleri ile etkileşime girer. TLR'ler esas olarak bağıklıkta önemli bir rol oynayan dalak ve periferik kan lökositlerinde belirtilir. Buna ek olarak, akciğerler ve gastrointestinal sistemde açkılanır⁽¹⁶⁾.

Ara tırmaçlar, TLR'leri hücresele konumlarına göre iki gruba ayırır. Farklı noktadaki TLR'ler farklı belirteçlerin tanımlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. İlk grup TLR ailesinden 1, 2, 4, 5, 6'nın hepsi hücre yüzeyi üzerinde sentezlenir ve lipit yapılarını tanımaktadırlar. TLR5, flagellin proteinin tanınmasında ya amsal bir role sahiptir. İkinci grup, Toll-benzeri Reseptörler 3, 7, 8, 9 bakterilerin ve virüslerin genomundan türetilen nükleik asitleri tanıyıp ve hücrelerarası bölgelerde bulunmaktadırlar. Bu moleküllere erişim, hücrenin geç endozomları ya da lizozomları içinde bir miktar bozulma gerektirir. Hücredeki bu reseptörlerin lokalizasyonu ve trafiğinin, ligand tespitine izin vermek için önemli bir mekanizma olduğu giderek daha belirginleşmiştir. Önemli olarak, sinyalizasyon sırasında bazı TLR'lerin hareketi, TLR sinyal yollarının ayrıntılı aktifleşmesini önleyebilir^(16,17). TLR ailesinden 2, 4, 6, 9 ve olasılıkla 8, MTB'nin tanınmasıyla ilgilidir. Aynı zamanda, TLR2 ya TLR1 ya da TLR6 ile heterodimer oluşturur ve bu heterodimerler, LAM, LM, 38-kDa ve 19-kDa mikobakteriyel glikoprotein ve fosfatidilinositol manozu (PIM), triaçillenmi (TLR2/TLR1) veya diaçillenmi

(TLR2/TLR6) lipoproteinler gibi mikobakteriyel hücre duvarı glikolipidlerinin tanınmasında rol oynarlar^(18,19).

Ayrıca MTB ile bağılantılı TLR molekülleri hakkında bilgiler verilmektedir.

TLR1

TLR1, özgül patojen ilişkili moleküler paterni ile Gram pozitif bakterileri tanıyıp. TLR1 aynı zamanda CD281 olarak adlandırılır. TLR1, TLR2 (bir heterodimer olarak) ile birlikte peptidoglikan ve lipoproteinleri tanıyıp ve makrofaj ve nötrofillerin yüzeyinde bulunurlar⁽²¹⁾.

TLR2

TLR2, CD282 olarak adlandırılmaktadır. TLR2, bakteriyel lipoproteinler, lipomannanlar ve lipoteikoik asitler dâhil olmak üzere Gram-pozitif bakterilerin çeşitli PAMP'larının tanınmasında önemli rol oynar⁽²²⁾. TLR2, sırasıyla triaçile veya diaçile lipopeptitleri tanımak için TLR1 veya TLR6 ko-reseptörlerini kullanır. TLR1 ve 6, TLR2 gibi plazma membranında belirtilir⁽²³⁾. TLR2, lipoteikoik asit ve di- ve tri-asetillenmiş sistein içeren lipopeptitler gibi lipit içeren PAMP'lara plazma membranından yanıt verir. Bunu, plazma membranında TLR1 veya TLR6 ile dimerik kompleksler oluşturarak yapar⁽²⁴⁾. Barbalat ve ark.'nın⁽²⁵⁾ yapmış olduğu çalışmada, enflamatuvar monositlerde, TLR2'nin bakteri ile deşil virüs tarafından aktivasyon gösterdiği ve Tip 1 IFN üretimine yol açtığı gösterilmiştir. Ligandların tanınmasında sinyal oluşturumunda TLR2'nin diğer TLR'ler ile dimerize olması gerekmektedir⁽²⁶⁾.

TLR4

TLR4, insanlardaki TLR4 geni tarafından kodlanan ve kromozom 9q-32-33 üzerinde bulunan bir proteindir. Yaklaşık uzunluğu 13 kb'dir. 222 amino asitlik bir proteini kodlayan 3 eksonu vardır^(19,27). TLR4, MTB enfeksiyonuna doğrudan gelen bir bağıklık tepkisinin ortaya çıkmasında ya amsal bir rol oynamaktadır. Bu bakteriyel lipopolisakkaritlerin (LPS) tanınması ile ilgilidir. Aynı zamanda gram negatif bakterilerden lipopolisakkariti algılar ve doğrudan gelen bağıklık

sisteminin aktivasyonuna izin verir⁽²⁸⁾. TLR4, CD284 olarak da adlandırılır ve MD-2 olarak bilinen ba ka bir LRR proteini ile kompleks olu tururlar. LPS ve TLR4 arasında direkt etkile im yoktur, ancak TLR4-MD-2 kompleksinde MD-2, LPS ba lanmas için bir köprü gibi davranır. Di er lipid türlerinin de aktive - tirme yetene inde oldu u gösterilmi tir⁽²⁹⁾.

TLR6

TLR6, insanlarda TLR6 geni tarafından kodlanan bir proteindir ve 2.391 baz çiftinden olu ur. TLR6, monosit, monosit türevi olgunla mamı dendritik hücreler (IDC) ve nötrofillerin hücre yüzeyinde belirtilir⁽³⁰⁾. N-terminal sinyal peptidi, on dokuz tandem yinelenen hücre di i LRR motifleri ve sitoplazmik bölgede bir Toll/IL-1R homoloji alanından olu ur. Bula ıcı ajanlar üzerinde belirtilen PAMP'ları tanır ve etkin ba ıklı ın geli imi için gerekli sitokinlerin üretimine aracılık eder. Fonksiyon, a rlıklı olarak fare hücrelerinde incelenmi tir. NF- ve Jun N-terminal kinaz (JNK) yolları, TLR6'nın temel söylemi ile aktive edilir. nsan hücrelerindeki ara tırmalar, TLR6 ve TLR2'nin monosit plazma zarında yer aldı ını göstermi tir. Bazı popülasyonlarda, kodlanmı proteinin hücre di i alanındaki Ser249Pro polimorfizmi artmı astım riski ile ili kili olabilmektedir^(31,32). Öte yandan, farklı patojenlerin tanınmasındaki, insan TLR6'nın spesifik rolü, TLR1 ve TLR2'ye göre daha az anla ılmı tır⁽³³⁾. Son zamanlardaki çalı malar, TLR6'daki ender SNP'lerin, bazı etnik gruplarda de i en NF- sinyali ve artmı tüberküloz riski ile ili kili oldu unu göstermi tir⁽³⁴⁾.

TLR8

TLR8, filogenetik olarak TLR7'ye çok benzemektedir. TLR8, genel olarak, HIV, VSV (Veziküler Stomatitis Virüs) ve influenza A virüsünden elde edilen R-848, bakteriyel RNA ve ssRNA'yı tanır. TLR8, monositlerde yüksek olmak üzere çe itli dokularda belirtilir ve bakteri enfeksiyonu sonucu ifade düzeyi artar. Ayrıca sitokin salınımını sa lar⁽³⁵⁾.

TLR9

TLR9, insanlarda TLR9 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Ayrıca, CD289 olarak da tanımlanmı tır⁽³⁶⁾.

TLR9, orijinal olarak, bakterilerde sıklıkla bulunan, ancak omurgalılarda ender görülen, metillenmemi 2'-deoksiribo sitidin fosfat-guanosin (CpG) DNA motiflerini tanımaktadır⁽³⁷⁾. Sentetik CpG oligodeoksinükleotitleri (ODN'ler) TLR9 ligandları olarak i lev görür ve DNA'nın TLR9 tanınması, baz dizisinden ba ımsız olarak gerçekleşir. pDC'lerin DNA virüs enfeksiyonu veya belirli CpG ODN'lerine kar ılıklı olarak büyük miktarda tip I IFN ürettikleri göz önüne alındı ında, pDC'ler tarafından belirtilen TLR9, virüs enfeksiyonu için bir sensör olarak görev yapar^(37,38).

MTB-TLR li kisi

Do al ba ıklık sistemi MTB'ye kar ı konak savunmasında önemli bir rol oynamaktadır. İlk amada do u tan ba ıklık sistemi hücreleri MTB'yi tanır. Toll-benzeri Reseptörleri, Nod-benzeri Reseptörleri ve C-tipi lektin reseptörlerini içeren birçok PRR sınıfları MTB'i tanımada rol oynamaktadır. Tüberküloza ba ıklık tepkisinin ba ında, adaptör molekülleri ile TLR4 ve TLR6 en baskın i levlere sahip olanlardır. MTB'i tanımada, TLR4'ün önemi, fare makrofajları ve transfekte CHO hücreleri ile yapılan çalı malarla gösterilmi tir. TLR6, TLR2 ile heterodimer olu turmaktadır. Mikobakteriler de bulunan hücre duvarı glikolipidleri, bu heterodimerler tarafından tanınmaktadır. Bu bilgiler ı ında birçok bilim insanı TLR ailesinin tüberküloz üzerindeki etkisini ara tırmı tır⁽¹¹⁾. Ço u ara tırmacı, farklı popülasyonlarda genotiplendirme yaparak, TLR ailesinin söylemine bakmı ve sonuçlar elde edilmi tir. Bununla birlikte HapMap verileri farklı gruplara uygulanarak meta-analizler de yapılmı tır.

Selvaraj ve ark.⁽³⁹⁾, Güney Hindistan'daki sa ıklık ve hasta popülasyonunda TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, TIRAP ve TLR9 polimorfizmlerinin PTB direnci ve yatkınlı ına etkisini ara tırmı lardır. TLR1 polimorfizminin allel ve genotip frekansları, PTB hastaları ve kontroller arasında anlamlı olarak farklı de ildir. Hem kontrol hem de hasta gruplarında minor allel için homozigot genotipi bulunmadı ını göstermi lerdir. Bununla birlikte, TLR4 polimorfizmlerinin allelleri ve genotip frekansları, kontrol ve PTB hastaları arasında anlamlı olmadı ını bulmu lardır. TLR9 polimorfizmleri ile

ili kili olarak, allellerin ve genotiplerin frekansları sıklıkta hastalarda benzerdir. T allel sıklığı, hastalar arasında sıklıkla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksektir.

Hindistan'da Najmi ve ark.⁽²⁸⁾, TLR4 Asp299Gly ve Thr399Ile polimorfizmleri ile hastalığın iddetli biçiminde PTB'ye duyarlılığını bildirmişlerdir.

Randhawa ve ark.⁽⁴⁰⁾, TLR varyasyonlarının, BCG (Bacillus Calmette-Guérin) aşılarına yönelik dejenere in vivo immün yanıtlarla ilişkili olduğunu bildirmiştir. BCG ile aşılanan Güney Afrika'daki bebekleri incelemiş ve in-vivo BCG aşılamasından 10 hafta sonra TLR polimorfizmlerinin IL-2 veya IFN- γ yanıtları indüksiyonu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca TLR6'nın C745T ve G1083C'sinin, sitokin deneyleri tarafından gösterilen lipopeptit uyarısına tepki olarak bir IL-6 azalmasıyla ilişkili olduğunu da bulmuşlardır. Transfekte edilmiş HEK hücreleri dışarıya lipopeptit veya MTB hücre lizati ile uyarıldıklarında C745T varyant aracılığıyla NF- κ B sinyali düşüktür. Bu araştırmalardan sağlanan tüm veriler incelendiğinde, doal bağımlılıkta, gen kusurlarının T hücreleri tarafından BCG kaynaklı sitokinlerin üretimini deşireterek patojene bağımlı adaptör yanıtlarını düzenlediğini öne sürülmektedir.

TLR genleri TB dahil olmak üzere çeşitli bulaıcı hastalıklara duyarlılıkta önemli bir rol oynamaktadır. Bu amaçla Baker ve ark.⁽⁴¹⁾, Uganda ve Güney Afrika popülasyonlarında TLR genlerinde genetik varyasyonlar üzerinde çalışmışlardır. Güney Afrika ve Uganda'dan elde edilen örneklerde TLR yolunda 4 gende (TLR2, TLR4, TLR6 ve TIRAP) tam ekson dizileme gerçekleştirilmiştir. TLR2 ve TLR6'da Uganda popülasyonları ile HapMap popülasyonları arasındaki haplotip sıklığında belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. Çalışmanın önemli bulgularından biri de TIRAP ve TLR6'da yeni bir polimorfizm grubudur. Pek çok çalışmada, genel olarak, dördüncü ekson içinde kodlanan TLR4 varyantının (Asp299Gly ve Thr399Ile) sinerjik etkisini göstermiştir.

Jahantigh ve ark.⁽²⁷⁾, İran popülasyonundaki akciğer TB enfeksiyonu ve TLR4 ve TLR9 genlerindeki potansiyel ilişkiyi incelemiş ve anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Buna karşılık, Zhang ve ark.⁽⁴²⁾, TLR1, TLR2 ve TLR6 polimorfizmlerinin PTB duyarlılığına ilişkin bir meta-analiz çalışmaları ve TLR6 ve TLR2 ile arasında anlamlı ilişki olduğunu göstermişlerdir.

Zhao ve ark.⁽⁴³⁾, 16 olgu kontrol çalışması üzerinde bir meta-analiz yaparak TLR4 rs4986791 ve TLR9 rs352139 polimorfizmlerinin sırasıyla Afrikalılar ve Asyalılarda artmış PTB riski ile ilişkili olabileceğini göstermişlerdir. Yapılan diğer bir meta analizinde 18907 kişi dâhil edilmiş ve TLR6 ile ilgili bilgiler, rs5743810 için anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Tüm etnik gruplarda bu polimorfizm hastalığa karşı koruma ile ilgilidir. TLR4 rs4986791'in T alelinin Asya alt grubunda TB riskini arttırdığı da bulunmuştur. Ancak, sözü edilen meta-analizde, diğer TLR varyantlarının tüberküloz ile ilişkili olduğunu bulunmamıştır⁽⁴⁴⁾.

Shey ve ark.⁽³¹⁾, TLR6 SNP'lerinin lipopeptidlere ve tüm mikobakterilere karşı dejenere immün yanıtlarla ilişkili olup olmadığını belirlemişlerdir. Polimorfizm ve lipopeptid ile indüklenen IL6 üretiminin bağlantısını anlamak amacıyla genin kodlayan bölgesinin dizilimini analizini çalışmışlardır. C745T ve G1083C polimorfizmlerinin, dejenere edilmiş IL6 salınımı ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Sonuç olarak, TLR6 polimorfizmleri, dejenere lipopeptid ile indüklenen sitokin yanıtları ve MTB'nin tanınmasında yer alabilir.

TARTI MA ve SONUÇ

MTB'nin enfeksiyona neden olduğu moleküler mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır; bu nedenle hastalıkla etkili terapilerle mücadele etmek veya önleme için strateji geliştirmek zordur. Önceki çalışmalar, enfekte olmuş bazı bireylerin enfeksiyöz ajan için güçlü bir bağımlılık yanıtı sergilediğini ve bunun da hastalığın sonucunu belirlediğini göstermiştir⁽¹¹⁾. Doğal bağımlılık tepkisinin bağımlılık noktasının odağında PAMP'lar bulunur. Bunlar, hücre yüzeylerinde

veya hücre içi bölmelerinde veya doku sıvılarında bulunan PRR tarafından tanınır ve kan dolaımında dolanırlar. Bu PRR'ler tarafından tanınan PAMP'lar konakçı ba ıklık yanıtını ba latır ve düzenlerler. MTB'nin tanınması, TLR, konakçıdaki NLR ve C-tipi Lektin reseptörü gibi PRR'ler ile sa lanır⁽⁴⁵⁾.

TLR polimorfizmleri TB'ye yatkınlık üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. TLR'ler için belirli genotipi olan popülasyon üyelerinin, MTB ligandlarına afinitesi farklılık gösterebilir, bu nedenle sinyal iletiminde de iklilikler meydana gelebilir⁽⁴⁶⁾. TLR'ler, birçok patojene do al bir ba ıklık tepkisi uyandıran transmembran proteinlerdir. TLR'ler tarafından tanınan mikobakteriyel ligandlar lipoarabinomannan, lipomannan, fosfatidilinositol manozu ve 19kDa lipoproteindir. Bu ligandların reseptörler tarafından tanınmasından sonra TLR sinyal yolu, TIR alanının MyD88 adaptör proteine ba lanmasıyla aktive edilir. nflatuvar sitokinlerin, özellikle de TNF- seviyelerinin artması, bu durumda bakterilere kar ı do al ba ıklık tepkisini ba latır⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾.

Buna ek olarak, ba ıklık sisteminde konakçı-patojen birlikteliklerinde TLR'lerden farklı birçok molekül vardır. Pek çok çalı ma, MTB'nin tanınmasında TLR4'ün kritik rolü oldu unu göstermiştir⁽²⁷⁾.

Schurz ve ark.⁽⁴⁴⁾, TLR1, 2, 4, 6 ve 9 varyantlarında yaptıkları meta-analiz sonucunda, TLR1 rs4833095'in TB'ye kar ı dirençe ili kili oldu unu göstermiştir. Bu SNP bir serin-asparajin dönüşümüdür. Bu, TLR'lerin katlanması ve liganda ba lanma verimlili ini etkiler ve ayrıca TLR2 ile heterodimer oluşumunu yok eder. TLR2, TLR1 ve TLR6 ile heterodimerler oluşur. Bu yolla çe itli ligandları tanırlar. Çünkü polimorfizmler, bozuk TLR2 aktivasyonuna neden olursa, birden fazla PRR'yi etkileyebilir ve ba ıklık yanıtı üzerinde bile ik bir negatif etkiye neden olabilir.

Asya popülasyonunda da TB'ye yatkınlık TLR4 ili kilendirilmiştir⁽⁴⁹⁾. Najmi ve ark.⁽²⁸⁾ 135 PTB hastası ve 250 sağlıklı birey ile Asya Hint popülasyonunda

TLR4 polimorfizmleri üzerinde çalı mı ve hastalarda TLR4 Asp299Gly mutasyonunun belirgin olarak yüksek frekansa sahip oldu u görülmü tür.

Wu ve ark.⁽⁵⁰⁾, TLR'leri Çin nüfusunda belirteç olarak kullanmışlardır. TLR2, 4, 8 ve 9'un, TB ba ıklık yanıtının ve do al immünitinin aktivasyonunda TLR yollarının aktivasyonunda rol oynadığını öne sürmüşlerdir. DeFranco ve ark.⁽⁵¹⁾, Thr399 ile mutasyonunun TLR4 yapısının hücre dışı alanını de i terebileceğini ve bunun da ligandların TLR4 ile etkileşimini modüle edebileceğini önermektedir. Bu da bozulmuş ba ıklık tepkisine neden olabilir.

Öte yandan, birçok ara tırmacı tarafından yapılan çalı malarda tüberküloz ve TLR SNP'leri arasında herhangi bir ili ki bulunamamıştır. Bunun nedeni olarak TLR'lerin sinyal yolunda birçok molekülün yer aldığı göz önünde bulundurulmalıdır ve ili ki bulmak için birçok aday gen ara tırılmalıdır⁽⁵²⁾.

En çok çalı ılan gen, "Do al Dirence Ba lı Makrofaj Protein 1" geni (NLRP1) olarak bilinen Chr2q35'teki SLC11A1 genidir⁽⁵³⁾. Enfeksiyon hastalıklarında da Chr6p21.3'deki "histokompatibilite lökosit antijeni" (HLA) genleri önemli rol oynamaktadır⁽⁴⁹⁾. IFN-reseptör genleri mutasyonları, mikobakteri enfeksiyonu için özgül ve hayatiidir. Yapılan di er çalı malarda, IL12, IL10 ve TNF- polimorfizmlerinin tüberküloz hassasiyeti ile ili kili oldu u gösterilmiştir⁽⁵⁴⁾. Bunun yanı sıra D vitamini MTB enfeksiyonlarına kar ı do al immüniteye aracılık eder. Literatürde, birçok çalı ma vitamin D reseptörü gen varyasyonları ve tüberkülozun birlikteli ini bildirmektedir^(55,56).

PubMed veritabanında TLR polimorfizmleri ve tüberküloz ile ilgili 62 yayınlanmış makale bulunmaktadır. Bu çalı malardan yalnızca ikisi ülkemizdeki merkezlerde yapılmıştır ve bu ara tırmalar TLR2 ve TLR4 polimorfizmlerine sınırlı sayıda hastada bakılmışlardır^(52,57,58). Ülkemizde tüberküloz önemli bir halk sa lı ı sorunu olduğundan, artan sayıda hasta ve kontrolle yapılan bu çalı malar, bölgedeki literatüre katkıda bulunacaktır.

TE EKKÜR

Bu derleme, nönü Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen 2015/69 numaralı yüksek lisans tez projesi kapsamında tamamlanmı olan R. Dilara Vaizo lu'nun tezinden üretilmi tir. Yazarlar nönü Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne desteklerinden dolayı te ekkür ederler.

KAYNAKLAR

1. Global Tuberculosis Report 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. CDC. Tuberculosis. Centers for Disease Control and Prevention, 2016. <http://www.cdc.gov/tb/statistics/default.html> (Eri im Tarihi: Temmuz 2017).
3. Schorey JS, Schlesinger LS. Innate immune responses to tuberculosis. *Microbiology Spectr*. 2016;4(6). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TB2-0010-2016>
4. Manry J, Quintana-Murci L. A genome-wide perspective of human diversity and implications in infectious disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(1):a012450 <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012450>
5. Fareed M, Afzal M. Single nucleotide polymorphism in genome-wide association of human population: A tool for broad spectrum service. *Egypt J Med Hum Genet*. 2013;14(2):123-34. <https://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2012.08.001>
6. Aitken N, Smith S, Schwarz C, Morin PA. Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery in mammals: a targeted-gene approach. *Mol Ecol*. 2004;13(6):1423-31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02159.x>
7. Garvin MR, Saitoh K, Gharrett AJ. Application of single nucleotide polymorphisms to non-model species: a technical review. *Mol Ecol Resour*. 2010;10(6):915-34. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02891.x>
8. Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clin Genet*. 2000;58(4):250-64. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.2000.580402.x>
9. Daniel TM. The history of tuberculosis. *Respir Med*. 2006;100(11):1862-70. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2006.08.006>
10. Willke Topçu A, Söyletir G, Do anay M. *Mycobacterium* türlerinin genel özellikleri. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 3.Baskı, İstanbul: Nobel Kitapevleri. 2008;2277-83.
11. Kleinnijenhuis J, Oosting M, Joosten LA, Netea MG, Van Crevel R. Innate immune recognition of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Dev Immunol*. 2011;2011:405310. <https://doi.org/10.1155/2011/405310>
12. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the drosophila toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997;388(6649):394-7. <https://doi.org/10.1038/41131>
13. Botos I, Segal DM, Davies DR. The structural biology of toll-like receptors. *Structure*. 2011;19(4):447-59. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.02.004>
14. Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal Os that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev*. 2012;249(1):158-75. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2012.01146.x>
15. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ*. 2006;13(5):816-25. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401850>
16. McGettrick AF, O'Neill LA. The expanding family of MyD88-like adaptors in toll-like receptor signal transduction. *Mol Immunol*. 2004;41(6-7):577-82. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.04.006>
17. McGettrick AF, O'Neill LA. Localisation and trafficking of toll-like receptors: an important mode of regulation. *Curr Opin Immunol*. 2010;22(1):20-7. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2009.12.002>
18. Thoma-Uszynski S, Ochoa MT, Engele M, Sieling PA, Bo PL. Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors. *Science*. 2001;291:15-44. <https://doi.org/10.1126/science.291.5508.1544>
19. Rock FL, Hardiman G, Timans JC, Kastelein R, Bazan JF. A family of human receptors structurally related to drosophila toll. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(2):588-93. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.2.588>
20. Lien E, Ingalls RR. Toll-like receptors. *Crit Care Med*. 2002;30(1 Suppl):S1-11. <https://doi.org/10.1097/00003246-200201001-00001>
21. Farhat K, Riekenberg S, Heine H, et al. Heterodimerization of TLR2 with TLR1 or TLR6 expands the ligand spectrum but does not lead to differential signaling. *J Leukoc Biol*. 2008;83(3):692-701. <https://doi.org/10.1189/jlb.0807586>
22. Oliveira-Nascimento L, Massari P, Wetzler LM. The role of TLR2 in infection and immunity. *Front Immunol*. 2012;3:79. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00079>
23. Underhill DM, Ozinsky A, Hajjar AM, et al. The toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. *Nature*.

- 1999;401(6755):811-5.
<https://doi.org/10.1038/44605>
24. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:335-76.
<https://doi.org/10.1146/annurevimmunol.21.120601.141126>
25. Barbalat R, Lau L, Locksley RM, Barton GM. Toll-like receptor 2 on inflammatory monocytes induces type I interferon in response to viral but not bacterial ligands. *Nat Immunol.* 2009;10(11):1200-7.
<https://doi.org/10.1038/ni.1792>
26. Akira S. Mammalian toll-like receptors. *Curr Opin Immunol.* 2003;15(1):5-11.
[https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(02\)00013-4](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(02)00013-4)
27. Jahantigh D, Salimi S, Alavi-Naini R, et al. Association between TLR4 and TLR9 gene polymorphisms with development of pulmonary tuberculosis in Zahedan, southeastern Iran. *Scientific World Journal.* 2013;2013:534053.
<https://doi.org/10.1155/2013/534053>
28. Najmi N, Kaur G, Sharma SK, Mehra NK. Human Toll-like receptor 4 polymorphisms TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile influence susceptibility and severity of pulmonary tuberculosis in the Asian Indian population. *Tissue Antigens.* 2010;76(2):102-9.
29. Kim HM, Park BS, Kim JI, et al. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell.* 2007;130(5):906-17.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.08.002>
30. Takeuchi O, Kawai T, Sanjo H, et al. TLR6: A novel member of an expanding toll-like receptor family. *Gene.* 1999;231(1-2):59-65.
[https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00098-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00098-0)
31. Shey MS, Randhawa AK, Bowmaker M, et al. Single nucleotide polymorphisms in toll-like receptor 6 are associated with altered lipopeptide- and mycobacteria-induced IL-6 secretion. *Genes Immun.* 2010;11:7:561-72.
<https://doi.org/10.1038/gene.2010.14>
32. Takeuchi O, Kawai T, Muhlradt PF, et al. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int Immun.* 2001;13(7):933-40.
<https://doi.org/10.1093/intimm/13.7.933>
33. Tantisira K, Klimecki WT, Lazarus R, et al. Toll-like receptor 6 gene (TLR6): single-nucleotide polymorphism frequencies and preliminary association with the diagnosis of asthma. *Genes Immun.* 2004;5(5):343-6.
<https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364096>
34. Ma X, Liu Y, Gowen BB, Graviss EA, Clark AG, Musser JM. Full-exon resequencing reveals toll-like receptor variants contribute to human susceptibility to tuberculosis disease. *PLoS One.* 2007;2(12):e1318.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001318>
35. Heil F, Hemmi H, Hochrein H, et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science.* 2004;303(5663):1526-9.
<https://doi.org/10.1126/science.1093620>
36. Du X, Poltorak A, Wei Y, Beutler B. Three novel mammalian toll-like receptors: gene structure, expression, and evolution. *Eur Cytokine Netw.* 2000;11(3):362-71.
37. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al. A toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature.* 2000;408(6813):740-5.
<https://doi.org/10.1038/35047123>
38. Haas T, Metzger J, Schmitz F, et al. The DNA sugar backbone 2' deoxyribose determines toll-like receptor 9 activation. *Immunity.* 2008;28(3):315-23.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.01.013>
39. Selvaraj P, Harishankar M, Singh B, Jawahar MS, Banurekha VV. Toll-like receptor and TIRAP gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis patients of South India. *Tuberculosis (Edinb).* 2010;90(5):306-10.
<https://doi.org/10.1016/j.tube.2010.08.001>
40. Randhawa AK, Shey MS, Keyser A, et al. Association of human TLR1 and TLR6 deficiency with altered immune responses to bcg vaccination in south african infants. *PLoS Pathog.* 2011;7(8):e1002174.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002174>
41. Baker AR, Qiu F, Randhawa AK, et al. Genetic variation in TLR genes in Ugandan and South African populations and comparison with HapMap data. *PLoS One.* 2012;7(10):e47597.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047597>
42. Zhang Y, Jiang T, Yang X, et al. Pulmonary tuberculosis susceptibility: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(5):e63357.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063357>
43. Zhao L, Liu K, Kong X, Tao Z, Wang Y, Liu Y. Association of polymorphisms in toll-like receptors 4 and 9 with risk of pulmonary tuberculosis: A meta-analysis. *Med Sci Monit.* 2015;21:1097-106.
<https://doi.org/10.12659/MSM.893755>
44. Schurz H, Daya M, Möller M, Hoal EG, Salie M. TLR1, 2, 4, 6 and 9 variants associated with tuberculosis susceptibility: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0139711.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139711>
45. Thada S, Valluri VL, Gaddam SL. Influence of Toll-Like receptor gene polymorphisms to tuberculosis susceptibility in humans. *Scand J Immunol.* 2013;78(3):221-9.
<https://doi.org/10.1111/sji.12066>
46. Means TK, Wang S, Lien E, Yoshimura A, Golenbock DT, Fenton MJ. Human Toll-like receptors mediate cellular activation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol.* 1999;163(7):3920-7.
47. Heldwein KA, Fenton MJ. The role of toll-like receptors

- in immunity against mycobacterial infection. *Microbes Infect.* 2002; 4(9): 937-44.
[https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01611-8](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01611-8)
48. Harding CV, Boom WH. Regulation of antigen presentation by *Mycobacterium tuberculosis*: a role for Toll-like receptors. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(4):296-307.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2321>
49. North RJ, Jung Y. Immunity to tuberculosis. *Annu Rev Immunol.* 2004; 22: 599-623.
<https://doi.org/10.1146/annurevimmunol.22.012703.104635>
50. Wu L, Hu Y, Li D, Jiang W, Xu B. Screening toll-like receptor markers to predict latent tuberculosis infection and subsequent tuberculosis disease in a Chinese population. *BMC Med Genet.* 2015; 16: 19.
<https://doi.org/10.1186/s12881-015-0166-1>
51. DeFranco AL, Crowley M, Finn A, Hambleton J, Weinstein SL. The role of tyrosine kinases and map kinases in LPS-induced signaling. *Prog Clin Biol Res.* 1998; 397: 119-36.
52. Vaizoglu RD. Investigation of some TLR polymorphisms in tuberculosis patients in Malatya. [Yüksek Lisans tezi] nönü Üniversitesi, Malatya, 2017.
53. Forget A, Skamene E, Gros P, Miailhe AC, Turcotte R. Differences in response among inbred mouse strains to infection with small doses of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1981; 32(1):42-7.
54. Dorman SE, Picard C, Lammas D, et al. Clinical features of dominant and recessive interferon gamma receptor 1 deficiencies. *Lancet.* 2004; 364(9451):2113-21.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17552-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17552-1)
55. Lewis SJ, Baker I, Davey Smith G. Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and pulmonary tuberculosis risk. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005; 9(10): 1174-7.
<https://doi.org/10.1038/jhg.2010>
56. Qu HQ, Fisher-Hoch SP, McCormick JB. Knowledge gaining by human genetic studies on tuberculosis susceptibility. *J Hum Genet.* 2011; 56(3):177-82.
<https://doi.org/10.1038/jhg.2010.164>
57. Biyikli OO, Baysak A, Ece G, Oz AT, Ozhan MT, Berdeli A. Role of toll-like receptors in tuberculosis infection. *Jundishapur J Microbiol.* 2016; 9(10):e20224.
<https://doi.org/10.5812/jjm.20224>
58. Dalgic N, Tekin D, Kayaalti Z, et al. Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene from infection to disease in pediatric tuberculosis. *Hum Immunol.* 2011; 72(5): 440-5.
<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2011.02.001>

Bir Üniversite Hastanesinde Ensefalit/Meningit Üpheli Hastalarda, Beyin Omurilik Sıvısı Örneklerinin Bakteriyel ve Viral Açdan nçelenmesi

Bacterial and Viral Analysis of Cerebrospinal Fluid Samples in Patients with Suspected Encephalitis/Meningitis In a University Hospital

Hüseyin Agah Terzi[®], Özlem Aydemir[®], Engin Karakeçe[®]

Sakarya Üniversitesi E itim ve Ara tırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya, Türkiye

öz

Amaç: Meningit ve ensefalit, tanısının hızla konarak erken tedavi yapılması gereken komplikasyonları yüksek enfeksiyon hastalıklarıdır. Bu çalı mada, bölgemizde santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları dü ünülen olgulardan gönderilen beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinin bakteriyolojik kültür üremeleri ile Herpes Simplex virüsü (HSV-1/2) sıklı ının ara tırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: SSS enfeksiyonu üpheli 192 hastanın BOS örne i retrospektif olarak incelendi. BOS örneklerinden üreme olan kolonilerin tür düzeyinde tanımlamaları ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için VITEK 2 otomatize sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanıldı. BOS glukoz, protein ölçüm de erleri de kaydedildi. BOS örneklerinin HSV-1/2 yönünden kalitatif olarak incelenmesinde, Artus®HSV ½QS-RGQ kiti (Qiagen, Almanya) ve Rotor-Gene Q 5Plex HRM (Corbett Research 6000, Avustralya) real-time PZR sistemi kullandı.

Bulgular: 192 BOS örne inin 11'inde (%6) üreme saptandı. zole edilen mikroorganizmalar arasında Streptococcus pneumoniae (%45), Staphylococcus epidermidis (%18), Klebsiella pneumoniae (%9), Citrobacter koseri (%9), Pseudomonas aeruginosa (%9) ve Listeria monocytogenes (%9) saptandı. Laboratuvarımıza viral etken dü ünülerek gönderilen 110 örne in be inde (%4.5) HSV-1 DNA saptandı. BOSun biyokimyasal parametreleri de erlendirildi inde, üreme saptanan 11 örne in tümünde glukoz düzeyleri dü ük, protein düzeyleri ise yüksek bulundu. HSV-1 pozitif hastaların BOS glukoz düzeyi dördünde yüksek, protein düzeyi ise üç hastada yüksek bulundu.

Sonuç: Bölgemizde meningit ve ensefalite neden olan patojenlerin epidemiyolojisi süreyans verilerine katkı sa layacaktır. zole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılık profillerinin düzenli olarak izlenmesi de etkin tedavi stratejilerinin geli tirilmesine katkı sa layabilir.

Anahtar kelimeler: Akut bakteriyel meningit, beyin omurilik sıvısı, ensefalit, Herpes simpleks virüs

ABSTRACT

Objective: Meningitis and encephalitis are infectious diseases with high risk of complications that must be diagnosed and treated immediately. In this study we aimed to investigate the bacteriological culture results of cerebrospinal fluid (CSF) samples and the frequency of Herpes Simplex Virus (HSV-1/2) in suspected cases of viral infections of central nervous system (CNS).

Method: CSF samples of a total of 192 patients with suspected CNS infection were evaluated retrospectively. VITEK 2 (bioMérieux, France) automated system was used for the identification of species, and antibiotic susceptibility tests. Protein and glucose levels in CSF samples were also recorded. Presence of HSV-1/2 DNA was qualitatively evaluated with real-time PCR technique by using Artus®HSV ½QS-RGQ (Qiagen, Germany) kits on Rotor-Gene system (Qiagen, Germany).

Results: Bacteria were isolated in 11 (6%) of 192 CSF samples. Isolated microorganisms were Streptococcus pneumoniae (45%), Staphylococcus epidermidis (18%), Klebsiella pneumoniae (9%), Citrobacter koseri (9%), Pseudomonas aeruginosa (9%), and Listeria monocytogenes (9%). HSV-1 DNA was detected in five (4.5%) of the 110 samples sent to our laboratory with the thought of viral etiology. The CSF glucose levels were found to be lower and protein levels higher in 11 patients whom we obtained bacterial isolates from culture. Also in the CSF samples of the HSV-1 positive group higher glucose levels in 4, and protein levels in 3 patients were detected.

Conclusion: Epidemiology of pathogens causing meningitis and encephalitis in our region will contribute to surveillance data. Also monitoring the antibiotic susceptibilities of the isolated bacteria regularly can contribute to improve efficient therapy strategies.

Keywords: Acute bacterial meningitis, cerebrospinal fluid, encephalitis, Herpes simplex virus

Alındı ı tarihi:

09.08.2018

Kabul tarihi:

06.12.2018

Ç ıı yayı n tarihi:

25.03.2019

ORCID Kayı tları

H. A. Terzi 0000-0003-2343-439X

Ö. Aydemir 0000-0003-4533-6934

E. Karakeçe 0000-0003-1941-621X

✉ agah.terzi@yahoo.com

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creat ve Commons At-Fayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Turkish Society of Microbiology. This journal published by Logos Medical Publishing. Licensed by Creat ve Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

GR

Menenjit, beyin ve omurilik çevreleyen zarların inflamasyonu olarak tanımlanır. Bakteriyel menenjit olguların çoğu çocukluk çaığında meydana gelmekte ve akut bakteriyel menenjit yüksek oranda mortalite ve ciddi morbidite riski içeren ölümcül ve acil bir durum olarak nitelendirilmektedir⁽¹⁾. Bu nedenle erken tanı ve uygun antibiyotik tedavisi ileriki komplikasyonların önlenmesi açısından çok önemlidir.

Bakteriyel menenjite sıklıkla neden olan etkenler arasında *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Haemophilus influenzae* type b'nin olduğu bildirilmektedir^(2,3). Ancak menenjit patojenlerinin prevalansı ve menenjit etiyojisi, hastaların yaşı, coğrafik bölgeler, mevsim, popülasyonun belirli etkenlere karşı duyarlılığı, genetik yapı, sosyoekonomik koşullar ve lokal endemik faktörlere bağlı olarak görece değişiklik gösterebilir⁽¹⁾.

Viral santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları; menenjit, ensefalit, postenfeksiyöz ensefalomyelit ve yavaş ilerleyen nörolojik hastalıklar gibi pek çok farklı klinik tablo ile karşımıza çıkabilir⁽⁴⁾. Bu klinik tablolar her yaştan görülebilmekte ve aseptik menenjit ve ensefalit olarak iki genel kategoride incelenmektedir. Enfeksiyonun tipine göre akut, subakut ya da kronik olabilen durumlara yol açabilmektedir⁽⁴⁾.

Akut menenjit ve ensefalit enfeksiyonlarının etkenleri arasında Herpes Simpleks Virüs (HSV) önemli bir yere sahiptir. Hızlı ilerleyen, ölüme veya kalıcı sekelere neden olabilecek şekilde ciddi seyir gösterebilen bu enfeksiyonların kesinlikle erken tanı ve tedavisi gerekmektedir⁽⁵⁾. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), bu enfeksiyonların tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip hızlı bir yöntem olarak kullanılmaktadır⁽⁶⁾. Beyin omurilik sıvısında (BOS) PZR ile HSV DNA'nın saptanması, HSV ensefaliti tanısında altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir⁽⁷⁾.

Bölgemizde SSS enfeksiyonlarının bakteriyel ve viral açıdan incelenmesiyle ilgili veri bulunmamaktadır. Bu

çalışmada, bölgemizde SSS enfeksiyonları dü ünlü olgulardan gönderilen BOS örneklerinin bakteriyolojik kültür üremeleri ile Herpes Simpleks virüsü (HSV-1/2) sıklığı ve incelenen BOS örneklerinin biyokimyasal özelliklerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2016 ile Aralık 2017 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen ensefalit/menenjit şüpheli 192 hastanın BOS örneği çalışılma kapsamında incelendi.

Hastaların BOS glukoz, protein değerlerine bakıldı ve hücre sayımı yapıldı. Laboratuvara gelen örnekler santrifüj edildikten sonra Gram boyama yapıldı ve koyun kanlı agar, eozin metilen blue agar ve çikolata tamsı agara ekimleri yapıldı. Besiyerleri 24-48 saatlik inkübasyona bırakıldı. On sekiz-yirmi dört saatlik inkübasyon sonunda üreme olan kolonilerin tür düzeyinde tanımlamaları ve antibiyotik duyarlılıklarının tespiti için VITEK 2 otomatize sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanıldı. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçları güncel CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre değerlendirildi⁽⁸⁾. BOS glukoz normal değeri 40-70 mg/dL, BOS protein normal düzeyi ise 15-45 mg/dL olarak kabul edilmiştir.

HSV-1/2 istemiyle gönderilen 110 BOS örneklerinin de e zamanlı olarak bakteriyolojik kültürleri yapıldı. BOS örneklerinin HSV-1/2 yönünden kalitatif olarak incelenmesinde, Artus® HSV½ QS-RGQ kiti (Qiagen, Almanya) ve Rotor-Gene Q 5Plex HRM (Corbett Research 6000, Avustralya) real-time PZR sistemi kullandı. BOS örneklerinden nükleik asit izolasyonu spin kolon yöntemi ile QIAmp®DNA Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

BOS örnekleri çalışılan hastaların 86'sı (%45) kadın, 106'sı (%55) erkek olup, ortanca yaşı 38 (yaş aralığı: 0-95 yıl) olarak bulunmuştur. Hastaların 61'i (%32) çocuk (yaş aralığı: 0-18 yıl), 131'i (%68) erişkin (yaş aralığı: 19-95 yıl) yaş grubundadır. İlemlenilen

192 BOS örneğinin 11'inde (%6) üreme saptandı. Üreyen etkenlerin kliniklere göre dağılımına bakıldığında, en sık acil ve çocuk hastalıkları servisinde olmak üzere intaniye ve beyin cerrahi kliniklerinden gönderilen örneklerde üreme belirlendi. Üreme saptanan örneklerin beş hidrosefali nedeni ile intant takılan hastalarda saptanırken, diğer hastalarda ise travma veya geçirilen bir operasyon öyküsü bulunmaktaydı. İzole edilen mikroorganizmalar arasında *Streptococcus pneumoniae* (%45), *Staphylococcus epidermidis* (%18), *Klebsiella pneumoniae* (%9), *Citrobacter koseri* (%9), *Pseudomonas aeruginosa* (%9) ve *Listeria monocytogenes* (%9) belirlendi. Tüm numunelerden yapılan hücre sayımlarında 1.000/mm³ üzerinde hücre görüldü. Üreme saptanan tüm hastaların BOS proteinleri artmış, glukoz düzeyleri azalmıştı (Tablo 1).

Streptococcus pneumoniae su larında en yüksek direnç trimetoprim sülfametaksazole (%75) karşı saptanırken, penisilin, seftazidim, seftriakson,

levofloksasin, vankomisin direncine rastlanmadı. *S. epidermidis* su larının hepsinde penisilin ve oksasilin (%100) direnci saptandı (Tablo 2).

Laboratuvarımıza PCR istemiyle gönderilen 110 örnekte HSV-1/2 çalışıldı. Yüz on örneğinin beşinde (%4.5) HSV-1 pozitif saptanırken, HSV-2 hiçbir örnekte belirlenmedi (Tablo 1). HSV-1 DNA tespit edilen örneklerde kültür üremesi saptanmamıştır. HSV-1 pozitif olan dört hastanın BOS glukoz düzeyi yüksek bulundu. Protein düzeyi ise iki hastada normal, üç hastada yüksek bulundu.

Çalışmamızda, BOS'un biyokimyasal parametreleri tüm örnekler arasında değerlendirildiğinde; 86'sında (%44) BOS glukoz düzeyleri yüksek düzeylerde, 125'sinde (%65) ise BOS protein düzeyleri yüksek düzeylerde saptandı. Viral ve bakteriyel etkenlerin izole edildiği BOS örneklerinin protein ve glukoz düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. BOS örneklerinin bakteriyel ve viral açıdan laboratuvar incelemesi.

Sayı	Etken	BOS Glukoz (mg/dL)	E zamanlı kan glukoz (mg/dL)	BOS protein (mg/dL)	Lökosit-PNL	Hücre sayısı
5	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1-13	96-159	222-578	çok sayıda	1000
2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5-11	42-298	276-320	çok sayıda	1000
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	149	350	çok sayıda	1000
1	<i>Citrobacter koseri</i>	25	109	258	çok sayıda	1000
1	<i>Listeria monocytogenes</i>	1	122	374	çok sayıda	1000
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	113	298	çok sayıda	1000
5	Herpes Simpleks Virüs	71-203	91-354	29-56	-	-

Tablo 2. İzole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları ve kliniklere göre dağılımı.

		AMC	TZP	GM	AN	T	CXM	CRO	P	OXA	SXT	VAN	TEC	IMP	MEM	GIP	LEV	E	Servis
1	<i>S. pneumoniae</i>	-	-	-	-	R	S	S	S	-	S	S	S	-	-	S	S	R	Acil
2	<i>S. pneumoniae</i>	-	-	-	-	S	S	S	S	-	R	S	S	-	-	S	S	S	Çocuk hastalıkları
3	<i>S. pneumoniae</i>	-	-	-	-	R	S	S	S	-	S	S	S	-	-	S	S	S	Çocuk hastalıkları
4	<i>S. pneumoniae</i>	-	-	-	-	S	S	S	S	-	R	S	S	-	-	S	S	S	Acil
5	<i>S. pneumoniae</i>	-	-	-	-	S	S	S	S	-	R	S	S	-	-	S	S	S	Acil
6	<i>S. epidermidis</i>	-	-	R	-	R	-	-	R	R	S	S	S	-	-	-	-	-	Çocuk hastalıkları
7	<i>S. epidermidis</i>	-	-	R	-	R	-	-	R	R	S	-	-	-	-	-	-	-	Beyin cerrahi
8	<i>K. pneumoniae</i>	S	S	S	S	-	R	R	-	-	S	-	-	S	S	S	-	-	Acil
9	<i>C. koseri</i>	S	S	S	S	-	R	R	-	-	S	-	-	S	S	S	S	-	Çocuk hastalıkları
10	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	S	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	S	S	intaniye
11	<i>P. aeruginosa</i>	-	S	S	S	R	S	-	-	-	-	-	-	S	S	S	S	-	Çocuk hastalıkları

S: Duyarlı, R: Dirençli, AMC: Amoksisilin/Klavulanik Asit, TZP: Piperasilin/Tazobaktam, GM: Gentamisin, AN: Amikasin, T: Tetrasiklin, CXM: Sefuroksim/Aksetil, CRO: Seftriakson, P: Penisilin, OXA: Oksasilin, SXT: Trimetoprim/Sulfametaksazol, VAN: Vankomisin, TEC: Teikoplanin, IMP: mipenem, MEM: Meropenem, GIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, E: Eritromisin

TARTI MA

Akut bakteriyel menenjit çocuklarda ve yenido an bebeklerde dünya genelinde önemli bir sağlık sorunu oldu undan erken tanı konarak acil tedavi edilmesi gerekmektedir^(2,3,9). Bazı geli mekte olan ülkelerde, akut bakteriyel menenjitin mortalite oranı yeni ve etkili antibiyotikler bulunmasına rağmen hâlâ çok yüksektir (%16-32)^(9,11).

Menenjite neden olan bakterilerin sıklığı, bölgeler arasında farklılıklar gösterebilmektedir. Batı ülkelerinde, yeti kinlerde *S. pneumoniae*, yenido anlarda ve küçük çocuklarda ise *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* en sık menenjite neden olan etkenler olarak bildirilmiştir⁽¹²⁾. Van de Beek ve ark.'nın⁽¹³⁾ toplum kökenli akut bakteriyel menenjit hastalarını inceledikleri bir çalışmada ise, *S. pneumoniae* (%51) ve *N. meningitidis* (%37) en sık rastlanan patojenler olarak belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise, bakteriyel menenjitli çocuklardan izole edilen dominant bakteri olarak *N. meningitidis* serogrup W135 rapor edilmiştir⁽¹⁴⁾. Yine ülkemizde akut bakteriyel menenjitli hastaların dokuz yıllık etken dağılımının incelendiği bir başka çalışmada; *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* sıklıkları sırasıyla %27, %11 ve %11 oranlarında bildirilmiştir⁽¹⁵⁾. Çalışmamızda ise en sık *S. pneumoniae* (be hastada) saptanırken, sonrasında *S. epidermidis* (iki hastada) saptanmıştır. Bunların yanında birer hastada *K. pneumoniae*, *C. koseri*, *P. aeruginosa* ve *L. monocytogenes* saptanmıştır. Bu çalışmalara bakıldığında, menenjitten sorumlu patojenlerin sıklıklarının nispeten değişebildiği görülmektedir.

Çocuklardaki akut bakteriyel menenjitin epidemiyolojisinde son zamanlarda bazı değişiklikler gözlenmektedir⁽¹⁶⁾. Bu değişikliklerden biri bazı gelişmiş ülkelerde aşı uygulamasına bağlı olarak *S. pneumoniae*, *H. influenzae* type b ve *N. meningitidis* prevalansındaki anlamlı azalmadır^(17,18). Çalışmamızda da, benzer olarak akut bakteriyel menenjitin sık etkenleri arasından *H. influenzae* tip b ve *N. meningitidis* rastlanılmadı. *S. pneumoniae* ise

gönderilen örneklerin beşinde (%3) üretti. Bu bulgular menenjit aşı uygulanan gelişmiş ülkelerdeki verilerle uyumlu olarak ülkemizde de aynı şekilde prevalanstaki bir azalmayı doğrular niteliktedir.

Akut bakteriyel menenjit epidemiyolojisindeki bir değişimde değişiklik ise dünya genelinde pnömokokuslarındaki direnç artıdır. Bilinçsiz ve uygun olmayan antibiyotik kullanımı da dirençli bakterilerin seçilmesini artırarak tedaviye dirençli menenjit olgularının gelişimine katkıda bulunmaktadır^(19,20).

Viral SSS enfeksiyon etkeni olan HSV, ensefalit ve menenjit gibi hastalıklara neden olabilmektedir⁽²¹⁾. Aseptik menenjitlerde çocuklarda en sık etken enteroviruslar olmakla birlikte, HSV diğer önemli virus grubunu oluşturmaktadır⁽²²⁾. HSV-2'nin sorumlu tutulduğu menenjit tabloları, daha çok genital herpes enfeksiyonları sonrası reaktivasyonla oluşan sınırlı bulgulara sahip ve kendiliğinden düzelebilen özellikte olmaktadır⁽²³⁾.

Viral ensefalitler için bugüne kadar elde edilen bulgulara göre en sık karışılılan etiyolojik ajanın HSV-1 olduğu gösterilmiştir. Yıllık insidansı 1-4/1 milyon olan HSV-1; ensefalit olgularının %0.8-30'unda, nekrotizan ensefalitlerin %20-75'inde etken olarak rapor edilmiştir⁽²⁴⁾. Son yıllardaki bazı araştırmaların sonuçları ise HSV-1 ile beraber, VZV, enteroviruslar ve influenza A virusu gibi ajanların başlıca viral etkenler olduğu göstermektedir⁽²⁵⁾. HSV-2'ye bağlı gelişen ensefalit ise özellikle infantlar olmak üzere her yaş grubunda nadiren ciddi ensefalit tablolarına neden olabilmektedir⁽²³⁾.

Akut HSV ensefaliti, önceleri morbiditesi çok yüksek bir hastalık iken asiklovir'in kullanımıyla tedavi edilebilir bir hastalık haline gelmiş ve HSV ensefaliti ile ilişkili morbidite oranı son yıllarda %5-15'e kadar düşmüştür⁽²⁶⁾. Fakat antiviral ilaç kullanımı, HSV'ye bağlı mortaliteyi erken tanı ve tedavide daha etkin olarak azaltmaktadır. Kötü prognozlu HSV ensefaliti ise hastalığın tedavisinde gecikme olduğu zaman rastlanılmaktadır⁽²⁷⁾. Bu nedenle SSS

enfeksiyonunun en kısa sürede tanımlanması, etkenin belirlenip tedavinin başlanması büyük önem göstermektedir. PZR, bu enfeksiyonların laboratuvar tanısında kullanılan altın standart yöntemdir⁽⁵⁾. HSV'nin ensefalit/meningit üpheli olgulardaki etiyolojik rollerini araştırdığımız bu çalışmada, HSV DNA'sının gösterilmesini sağlayan real-time PZR yöntemi kullanılmıştır.

HSV'ye bağlı SSS enfeksiyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, Bhaskaran ve ark.⁽²⁸⁾ 1663 BOS örneğinde %0.9 oranında HSV DNA pozitif bulmuşlardır. Bir başka çalışmada, viral SSS enfeksiyonu düşünülen 662 hastanın BOS örneğinde %2.87 oranında HSV-1 DNA, %1.5 oranında HSV-2 DNA pozitif saptanmıştır⁽²⁹⁾. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise, elde edilen verilere göre HSV DNA pozitiflik oranının %1-19 arasında saptandığı gözlenmektedir⁽³⁰⁻³²⁾. Çalışmamızda ise, literatürle uyumlu olarak PCR istemi olan 110 BOS örneğinin beşinde (%4.5) HSV-1 DNA pozitif olarak saptanmıştır. Ancak, HSV-1 DNA'nın enfeksiyonun ilerleyen günlerinde saptanmasındaki zorluk veya hastalara asiklovir tedavisi başlandıktan sonra örnek gönderilmesi gibi nedenler, çalışmamızdaki HSV-1 DNA saptanma oranlarını düşürmüştür.

Çalışmamızda, BOS'un biyokimyasal parametreleri tüm örnekler arasında değerlendirildiğinde, 86'sında (%44) BOS glukoz düzeyleri, 125'inde (%65) ise BOS protein düzeyleri yüksek düzeylerde saptandı. Bakteriyel menenjitlerde BOS glukoz konsantrasyonu <40 mg/dL'dir ve BOS/serum glukoz konsantrasyonu oranı hastaların %70 kadarında 0.3'ün altındadır. BOS proteini ise bütün hastalarda artmaktadır. Çalışmamızda, klavuzlarla uyumlu olarak, üreme saptanan örneklerle ait BOS glukoz düzeyleri düşük, protein düzeyleri ise yüksek saptandı. BOS'un incelenmesinde glukoz normal, protein normal/artmış saptanması olası viral ensefalit düşündürmektedir. Yine çalışmamızda, HSV-1 pozitif olan hastalardaki BOS glukoz ve protein düzeyleri klavuzlardan farklı olarak çoğunlukla yüksek düzeyde saptandı.

SSS enfeksiyonlarında mortalite ve morbidite oranı

yüksek olduğundan etkenin çok hızlı tanımlanması ya da amsal öneme sahiptir. Herpes virüslerinin neden olduğu ensefalit olguları ile daha sık karşılaşılmalıdır. Herpes viral ve bakteriyel etkenler de akılda tutulmalıdır. Bölgemizde menenjitte neden olan patojenlerin epidemiyolojisi sürveyans verilerine katkı sağlayacaktır. İzlenen bakterilerin antibiyotik duyarlılık profillerinin düzenli olarak izlenmesi de etkin tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Aynı zamanda elde edilen verilerle, etken bakterilere karşı ilaçlamada hedeflerin belirlenmesinde kolaylık sağlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Gonzalez-Granado LI. Acute bacterial meningitis. *Lancet Infect Dis.* 2010;10(9):596. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70184-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70184-5)
2. Kuti BP, Bello EO, Jegede TO, Olubosede O. Epidemiological, clinical and prognostic profile of childhood acute bacterial meningitis in a resource poor setting. *J Neurosci Rural Pract.* 2015;6(4):549-57. <https://doi.org/10.4103/0976-3147.165424>
3. Briand C, Levy C, Baumie F, et al. Outcomes of bacterial meningitis in children. *Med Mal Infect.* 2016;46(4):177-87. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2016.02.009>
4. Us AD. Viral santral sinir sistemi enfeksiyonları. In: Us AD, Ergünay K (ed). *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2012:271-94.
5. Glaser CA, Gilliam S, Schnurr D, et al. In search of encephalitis etiologies: diagnostic challenges in the California Encephalitis Project, 1998-2000. *Clin Infect Dis.* 2003;36(6):731-42. <https://doi.org/10.1086/367841>
6. Delbue S, Tremolada S, Ferrante P. Application of molecular tools for the diagnosis of central nervous system infections. *Neurol Sci.* 2008;29(Suppl 2):S283-5. <https://doi.org/10.1007/s10072-008-0965-7>
7. Boivin G. Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *Herpes.* 2004;11(Suppl 2):48A-56A.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute. 28th ed. Wayne, PA USA, 2018.
9. Jarousha AM, Afifi AA. Epidemiology and risk factors associated with developing bacterial meningitis among children in Gaza Strip. *Iran J Public Health.* 2014;43(9):1176-83.
10. Namani S, Milenkovic Z, Kuchar E, Koci R, Mehmeti M.

- Mortality from bacterial meningitis in children in Kosovo. *J Child Neurol.* 2012;27(1):46-50.
<https://doi.org/10.1177/08833073811413280>
11. Nickerson JW, Attaran A, Westerberg BD, Curtis S, Overton S, Mayer P. Fatal bacterial meningitis possibly associated with substandard ceftriaxone-Uganda, 2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;64(50-51):1375-7.
<https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6450a2>
 12. Saez-Llorens X, McCracken GH. Acute bacterial meningitis beyond the neonatal period. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG (eds). *Principles and practice of pediatric infectious diseases.* 3th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2008:284-91.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-3468-8.50048-1>
 13. van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med.* 2004;351(18):1849-59.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa040845>
 14. Kilic A, Urwin R, Li H, Saradi MA, Stratton CW, Tang YW. Clonal spread of serogroup W135 meningococcal disease in Turkey. *J Clin Microbiol.* 2006;44(1):222-4.
<https://doi.org/10.1128/JCM.44.1.222-224.2006>
 15. Özdemir H, Tapsız A, Çiftçi E, nce E, Do ru Ü. Çocuklarda akut bakteriyel menenjit. *Çocuk Enf Derg.* 2010;4(1):9-14.
 16. Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(3):467-92.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00070-09>
 17. Ba O, Fleming JA, Dieye Y, et al. Hospital surveillance of childhood bacterial meningitis in Senegal and the introduction of *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(6):1330-5.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0346>
 18. Nwadioha SI, Nwokedi EO, Onwuezebe I, Egesie JO, Kashibu E. Bacterial isolates from cerebrospinal fluid of children with suspected acute meningitis in a Nigerian tertiary hospital. *Niger Postgrad Med J.* 2013;20(1):9-13.
 19. Iregbu KC, Abdullahi N. Profiles of acute bacterial meningitis isolates in children in National Hospital, Abuja. *Niger Med J.* 2015;56(4):297-300.
<https://doi.org/10.4103/0300-1652.169749>
 20. Toprak D, Soysal A, Torunoglu MA, et al. PCR-based national bacterial meningitis surveillance in Turkey: years 2006 to 2009. *Pediatr Infect Dis J.* 2014;33(10):1087-9.
<https://doi.org/10.1097/INF.0000000000000378>
 21. Nadelman CM, Newcomer VD. Herpes simplex virus infections. *Postgrad Med.* 2000;107(3):189-200.
<https://doi.org/10.3810/pgm.2000.03.948>
 22. Bamberger DM. Diagnosis, initial management, and prevention of meningitis. *Am Fam Physician.* 2010;82(12):1491-8.
 23. Momméja-Marin H, Lafaurie M, Scieux C, Galicier L, Oksenhendler E, Molina JM. Herpes simplex virus type 2 as a cause of severe meningitis in immunocompromised adults. *Clin Infect Dis.* 2003;37(11):1527-33.
<https://doi.org/10.1086/379520>
 24. Logan SA, MacMahon E. Viral meningitis. *BMJ.* 2008;336(7634):36-40.
<https://doi.org/10.1136/bmj.39409.673657.AE>
 25. Kennedy PG. Viral encephalitis: causes, differential diagnosis, and management. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004;75(Suppl 1):10-5.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.07.017>
<https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.034280>
 26. Sili U, Kaya A, Mert A. Encephalitis Study Group. Herpes simplex virus encephalitis: clinical manifestations, diagnosis and outcome in 106 adult patients. *J Clin Virol.* 2014;60(2):112-8.
<https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.03.010>
 27. Bradshaw MJ, Venkatesan A. Herpes simplex virus-1 encephalitis in adults: pathophysiology, diagnosis, and management. *Neurotherapeutics.* 2016;13(3):493-508.
<https://doi.org/10.1007/s13311-016-0433-7>
 28. Bhaskaran A, Racsca L, Gander R, Southern P, Cavuoti D, Alatoon A. Interpretation of positive molecular tests of common viruses in the cerebrospinal fluid. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;77(3):236-40.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.07.017>
 29. Studahl M, Hagberg L, Rekabdar E, Bergström T. Herpesvirus DNA detection in cerebral spinal fluid: differences in clinical presentation between alpha-, beta-, and gamma-herpesviruses. *Scand J Infect Dis.* 2000;32(3):237-48.
<https://doi.org/10.1080/00365540050165857>
 30. Ka ifo lu N, Aslan M, Durmaz G, Us T. Santral sinir sistemi enfeksiyonlarında, herpes simplex virüs varlığının beyin omurilik sıvısı örneklerinde real-time PZR yöntemiyle araştırılması. *Osmangazi Tıp Dergisi.* 2017;39(3):62-7.
<https://doi.org/10.20515/otd.307373>
 31. Zeytinolu A, Altulu , Sayiner A, et al. Herpes ensefalitinin beyin omurilik sıvısı örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu ile tanısı. *Flora.* 2000;5(3):179-82.
 32. Altuglu I, Zeytinoglu A, Sirin H, Yuceyar N, Erensoy S. Comparison of different polymerase chain reaction methods for detection of herpes simplex virus types 1 and 2 encephalitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006;25(10):669-71.
<https://doi.org/10.1007/s10096-006-0202-3>

Karbapeneme Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Klinik İzolatlarında Kolistin Direnci

Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae Clinical Isolates

Ceren Özkul Koçak*¹, Gül en Hazırolan**²

*Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

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

Öz

Amaç: Karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae* ile gelişen enfeksiyonların tedavisinde yaşanan kısıtlılıklar, son yıllarda yüksek morbidite ve mortalite ile ilgili değerlendirilmiştir. Bu enfeksiyonlara karşı son seçeneğe ilaç olarak görülen kolistin yaygın kullanımı sonucu kolistin direncinde artış görülmektedir.

Yöntem: Bu çalışmada, Eylül 2018-Aralık 2018 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş ve karbapeneme direnci belirlenmiş 81 *K. pneumoniae* izolatında kolistine duyarlılık sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle EUCAST standartlarına göre belirlenmiştir.

Bulgular: Test edilen izolatların %39.5'inde (n=32) kolistin direnci saptanmıştır. İdrar izolatlarının %35'i, kan izolatlarının %56'sı kolistin dirençli bulunmuştur. Çalışmaya dâhil edilen 3 beyin omurilik sıvısı örneğinde kolistin dirençli olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Yüksek kolistin direnç oranları çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavilerinde sorun yaşanmasına neden olacaktır.

Anahtar kelimeler: Karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae*, kolistin, antimikrobiyal duyarlılık

ABSTRACT

Objective: The limitations of treatment options in carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* infections have been related to high morbidity and mortality in recent years. The wide usage of colistin as the last-line treatment for those infections has led to the development of an increasing resistance to colistin.

Method: In the present study, a total of 81 carbapenem-resistant *K. pneumoniae*, which were isolated from various clinical specimens in Central Laboratory of Hacettepe University Medical Faculty between September 2018-December 2018, were tested against colistin by using broth microdilution method according to the EUCAST standards.

Results: Colistin resistance was determined in 39.5% (n=32) of the isolates tested. According to the sample site, 35% of the urine isolates and 56% of the blood isolates were resistant to colistin. Isolates all of the total 3 cerebrospinal fluid samples included in the analysis were also resistant to colistin.

Conclusion: The high prevalence of colistin resistance may cause limitations in treatment options in multiple-drug resistant *K. pneumoniae* infections.

Keywords: Carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*, colistin, antimicrobial susceptibility

Alındığı tarih:

20.12.2018

Kabul tarihi:

22.01.2019

Çıktı yayın tarihi:

25.03.2019

ORCID Kayıtları

C. Özkul Koçak 0000-0002-0921-5863

G. Hazırolan 0000-0003-4546-9729

✉ cerenozkul@hacettepe.edu.tr

G R

Çok ilaca dirençli Gram-negatif bakteriler dünyada birçok ülkeden artan oranda rapor edilmektedir⁽¹⁾.

Karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae* yüksek mortalite oranlarının görüldüğü salgınlara neden olabilen, özellikle yoğun bakım hastalarından sıklıkla izole edilen nozokomiyal patojenlerdendir⁽²⁾. Çok

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creat ve Commons At-Fayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Turkish Society of Microbiology. This journal published by Logos Medical Publishing. Licensed by Creat ve Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

ilaca dirençli, geni lemi spektrumlu beta laktamaz (ESBL) ve karbapenemaz enzimlerini bulunduran izolatlar özellikle gelişmekte olan ülkelerde, antibiyotiklerin a rını ve yanlış kullanımı ile birlikte yüksek prevalans göstermektedir^(3,4).

Geni etki spektrumu olan karbapenemler, ESBL üreten enterik bakterilerde ilk seçenek tedavilerdendir⁽⁵⁾. Karbapenem dirençli bakteriyel enfeksiyonlarda en sık izole edilen etken *K. pneumoniae*'dir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2014 yılında yayınlanan global direnç raporuna göre *K. pneumoniae* karbapenem dirençli izolatlar %50 üzerinde bildirilmi ve bu oranın oldukça kritik seviyelerde olduğu vurgulanmıştır⁽⁶⁾. DSÖ CAESAR 2018 yılı raporuna göre ise Türkiye'de kan ve beyin omurilik sıvısı örneklerinden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarında ertapenem direnci %43, mipenem/meropenem direnci %38 olarak bildirilmiştir⁽⁷⁾.

Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisinde son seçenek tedavi alternatifi olan kolistin (Polimiksin E) kullanılmaktadır. Kolistin, polimiksin grubu eski bir antibiyotik olup, daha önceki yıllarda nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi yan etkilerinden dolayı kullanımı yasaklanmıştır^(8,9). Ancak günümüzde kolistin, karbapenem dirençli Gram-negatif etkenlerin tedavisinde için tigesiklin ile birlikte tek tedavi alternatifi olarak artan oranda kullanılmaktadır. Kolistin, özellikle karbapenem dirençli *K. pneumoniae* kan dolaşımı enfeksiyonlarında, konsantrasyona bağlı bakterisidal etkisi ve serumda yeterli konsantrasyona ulaşabilme özellikleri ile tek seçenek tedavidir⁽¹⁰⁾.

Kolistin karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'de tek seçenek tedavi olması ile birlikte kullanımı yaygınlaşmış ve kolistin direnci artmaya başlamıştır. Kolistin direnci kromozomal mutasyonlar sonucu veya plazmid aracılı olabilmektedir^(11,12). Karbapenem dirençli enterik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda tek seçenek tedavi olan kolistine karşı direnç günümüzde önemli klinik sorunların başında gelmektedir.

Bu çalışmada, Eylül 2018-Aralık 2018 tarihleri arasında

çeğitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direnç prevalansının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Eylül 2018-Aralık 2018 tarihleri arasında izole edilen çeğitli klinik örneklerden izole edilen 81 *K. pneumoniae* izolatı dâhil edilmiştir. Kan kültürü örnekleri BD BACTEC Fx (Becton Dickinson, Maryland, ABD) otomatize sisteminde inkübe edilmiştir. Üreme sinyali veren örnekler Gram boyama ile lenime tabi tutulmuş ve %5 koyun kanlı agar, çukulata agar, MacConkey agar besiyerlerine ekilerek 24-48 saat süresince inkübe edilmiştir. drar örnekleri %5 koyun kanlı agar ve MacConkey agar besiyerlerine, solunum sistemi örnekleri %5 koyun kanlı agar, çukulata agar, MacConkey agar besiyerlerine, periton sıvısı, doku ve safra örnekleri ise %5 koyun kanlı agar, çukulata agar, MacConkey agar ve Tiyoglukonatlı sıvı besiyerlerine ekilerek 24-48 saat süresince inkübe edilmiştir. Besiyerlerinde üreme gözlenen mikroorganizmaların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve MALDI TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) kullanılmıştır. *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri Phoenix™ 100 otomatize sistemi (Beckton Dickinson, ABD) ile saptanmıştır. Otomatize sistem ile karbapenemlerden en az birine karşı direnç saptandıında gradiyent test ile konfirmasyonu yapılmış ve gradiyent test sonuçları baz alınmıştır. Dolayısıyla, Phoenix™ 100 otomatize sisteminden elde edilen imipenem, meropenem ve ertapenem duyarlılık sonuçları gradient test (Biomérieux, Fransa) ile konfirme edilmiş, gradient testle de imipenem, meropenem ve ertapenem direnci saptanan izolatlar, karbapenem dirençli olarak kabul edilmiştir.

Hastane merkez laboratuvarına gönderilen çeğitli klinik örneklerden izole edilen 81 adet *K. pneumoniae* izolatının kolistine duyarlılığı sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle EUCAST standartlarına göre saptanmıştır. Duyarlılık kategorileri EUCAST v8.1'de belirtilen klinik duyarlılık sınırlarına göre belirlenmiştir. Kolistin için MK 2 mg/L bulunan izolatlar duyarlı olarak

kabul edilmi tir⁽¹³⁾. Özetle, Mueller Hinton Broth eklenen 96 kuyucuklu mikropklarda kolistin 0.0625-64 µg/mL aralı ındaki iki kat azalan konsantrasyonları hazırlanmı tir. Kolistin sülfatın kullanım konsantrasyonu (Sigma, ABD) 128 µg/mL olarak hazırlanmı tir. Kolistine duyarlı ve kolistin dirençli kontroller için sırasıyla *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *mar1* pozitif *E. coli* NCTC 13846 standart bakterileri kullanılmı tir.

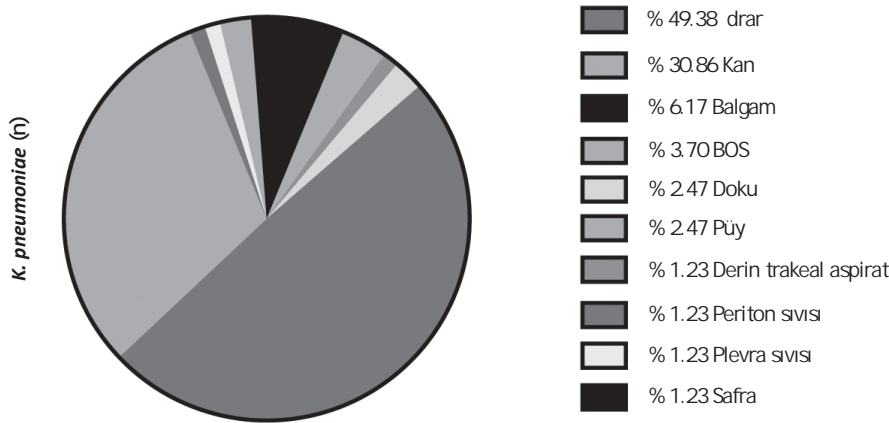
BULGULAR

Çalı maya dâhil edilen 81 *K. pneumoniae* izolatının izole edildikleri klinik örneklerin sıklı ı sırasıyla 40 (%49.4) idrar, 25 (%30.9) kan, 5 (%6.2) balgam, 3

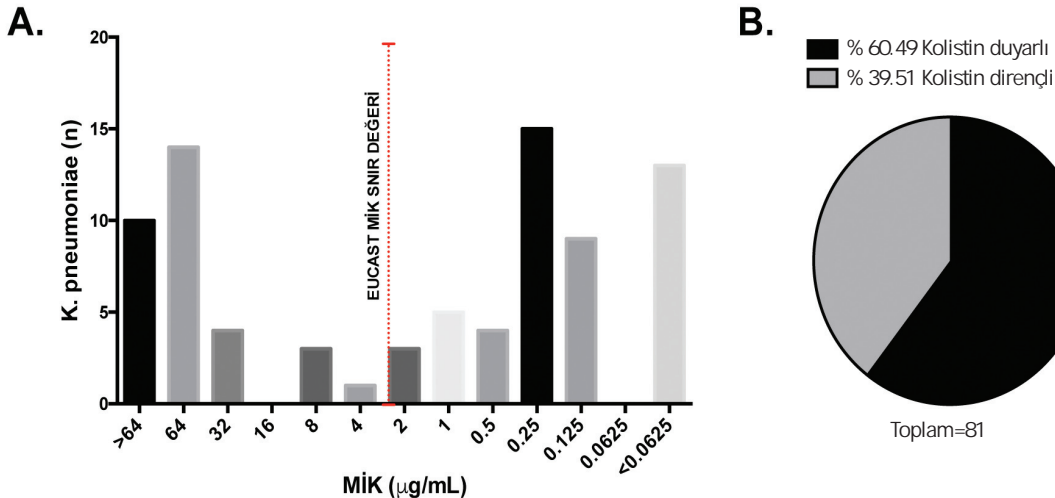
(%3.7) beyin omurilik sıvısı, 2 (%2.5) doku, 2 (%2.5) pü, 1 (%1.2) periton sıvısı, 1 (%1.2) plevra sıvısı, 1 (%1.2) safra, 1 (%1.2) derin trakeal aspirat olarak sınıflandırılmı tir (ekil 1).

Karbapeneme dirençli olarak belirlenen 81 izolatın kolistin direnci EUCAST tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmi ve izolatların %39.51'i dirençli olarak saptanmı tir (ekil 2).

Sözgelimi, alındı ı bölgeye göre de erlendirildi inde balgam, derin trakeal, aspirat, doku, periton sıvısı, safra örneklerinden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının tümünün kolistin duyarlı oldu u saptanmı tir.



ekil 1. Çalı maya dâhil edilen klinik örneklerin alındı ı bölgeye göre yüzde dağılımı.



ekil 2. Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında, A) Kolistin minimum inhibitör konsantrasyon de erine göre bulunan izolat sayısı; B) Kolistine duyarlı ve dirençli izolatların yüzde dağılımı.

Tablo 1. Örneklerin alındığı bölgeye göre kolistin direnç oranları.

	Kolistin dirençli (n)	Kolistin duyarlı (n)	Toplam (n)
drar	14	26	40
Kan	14	11	25
Balgam	0	5	5
Beyin omurilik sıvısı	3	0	3
Doku	0	2	2
Püvy	1	1	2
Derin trakeal aspirat	0	1	1
Periton sıvısı	0	1	1
Plevra sıvısı	0	1	1
Safra	0	1	1

Tablo 2. Çalışmamızda ve literatürde diğer bazı çalışmalarda septan karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında kolistin direnç (CoIR) yüzdeleri.

Referans	Yöntem	Değerlendirme kriteri	n	CoIR (%)
Bizim çalışmamız	Sıvı mikrodilüsyon	EUCAST	81	39.5
Rojas ve ark., 2017 ⁽¹⁴⁾	Sıvı makrodilüsyon, E-test	CLSI ve FDA	246	13.0
Souli ve ark., 2010 ⁽²⁰⁾	E-test	EUCAST	50	14.0
Meletis ve ark., 2011 ⁽²⁷⁾	Sıvı mikrodilüsyon	EUCAST	20	20.0
Samonis ve ark., 2012 ⁽²⁸⁾	E-test	EUCAST	65	24.6
Capone ve ark., 2013 ⁽¹⁵⁾	VITEK2, Sıvı mikrodilüsyon	EUCAST	97	36.1
Halaby ve ark., 2013 ⁽²⁹⁾	E-test	EUCAST	134	55.2
Chen ve ark., 2011 ⁽³⁰⁾	Agar dilüsyon	EUCAST	68	4.4

Çalışmamıza dâhil edilen 3 BOS örneğinin tümünde kolistin dirençli izolatlar olduğu belirlenmiştir. drar örneklerinde kolistin dirençli izolat oranı %35 olarak belirlenmiştir. Kan örnekleri tek başına değerlendirildiğinde ise, kolistin dirençli izolatlar %56 oranında saptanmıştır (Tablo 1).

TARTI MA

Kolistin (Polimiksin E), kuvvetli katyonik polipeptid antibiyotiklerdendir. Gram-negatif bakterilerin dışı membranında bulunan lipopolisakkaritlere bağlanarak hücre membranının bozulmasına ve bakterinin ölümüne neden olur. Kolistinin dâhil olduğu polimiksin grubu antibiyotikler ilk kez 1947 yılında izole edilmiştir ancak toksik etkileri nedeniyle kullanımı tercih edilmemiştir⁽⁶⁾. Karbapenem dirençli enterik bakterilerin son yıllardaki hızlı artışı sonucu bu enfeksiyonlarda kolistin kullanımı tek seçenek tedavi olarak yeniden gündeme gelmiştir^(3,10).

Klebsiella pneumoniae türlerindeki artan direnç yayı-

lı tedavi alternatiflerini sınırlandırması nedeniyle önemli bir sorun haline gelmiştir. Karbapenem dirençli izolatlar bütün beta-laktamlara in-vitro dirençli olup, bu bakterilerde sıklıkla kinolon gruplarına da direnç gözlenmektedir ve son seçenek tedavi alternatifi olarak kolistin kullanılabilir⁽³⁾. Karbapenem dirençli enterik bakterilerde kolistinin yaygın kullanımı sonucu *K. pneumoniae* suşlarında kolistin direnci kritik seviyelere ulaşmaya başlamıştır^(14,15). Kolistin direnci kromozomal mutasyonlar sonucu oluşabilir gibi, plazmid aracılı direnç gelişimi de gözlenebilmektedir^(7,11,12). Plazmid aracılı kolistin direncinden sorumlu olan *mcr-1*, *mcr-2* ve *mcr-3* genlerinin 2015 ve 2017 yılları arasında tanımlanması ve horizontal geçişin kolistin direncinin hızlı yayılımındaki rolü fark edilmiştir^(9,11,12).

Dünyada farklı referans yöntemlerin kullanılarak yapıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Farklı çalışmalarda ve çalışmamızda belirlenen kolistin direnç yüzdesi Tablo 2'de özetlenmiştir. Kolistin duyarlılığı için referans yöntem EUCAST önerilerine

Tablo 3 Türkiye'de çeşitli bildirimlerde sunulmuş olan Enterik bakterilerde kolistin direnç (CoIR) prevalansı.

Referans	Yöntem	Değerlendirme kriteri	n	CoIR (%)
Yi, 2018 ⁽³¹⁾	Sıvı mikrodilüsyon	EUCAST	108	43.8
Arabacı ve ark., 2018 ⁽²⁴⁾	Phoenix	EUCAST	57	60.0
Yıldız ve ark., 2018 ⁽²⁶⁾	Sıvı mikrodilüsyon	EUCAST	147	76.2
Çayı ve ark., 2018 ⁽²⁵⁾	Sıvı mikrodilüsyon	EUCAST	101	29.7

göre sıvı mikrodilüsyon olarak belirlenmiştir⁽¹⁶⁾. Bu nedenle literatürde gradient test yönteminin kullanıldığı çalışmalarda farklı düzeyde hata oranları bildirilmektedir^(14,17). Disk difüzyon yöntemi uygulama kolaylığı nedeniyle kolistin duyarlılığında sık kullanılan bir yöntem olmakla birlikte sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında güvenilir olmayan sonuçlar verdiği bilinmektedir⁽¹⁸⁾. Örnek olarak laboratuvarlarda bakterilerin hızlı tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Tan ve ark.⁽¹⁹⁾, antimikrobiyal duyarlılık yöntemlerini karşılaştırdıkları validasyon çalışmasında otomatize sistemlerden VITEK 2 ile agar dilüsyon yöntemini karşılaştırmış, VITEK 2'nin kolistin duyarlılığını belirlemede güvenilir olmayan sonuçlar verdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada da, kolistin duyarlılığında referans yöntem olan polisorbata-80 ilavesiz sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış ve sonuçlar EUCAST kolistin sınırları tablosuna göre değerlendirilmiştir.

Rojas ve ark.⁽¹⁴⁾ tarafından yapılan çalışmada, 2011-2014 yılları arasında *K. pneumoniae* ile enfekte veya kolonize hastalarda kolistin duyarlılığı 246 hastada araştırılmış ve %13 oranında kolistin direnci saptanmış ve kolistin dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarını yüksek mortalite ile ilişkilendirmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada gradient test ile yapılan kolistin duyarlılık sonuçlarının sıvı dilüsyon yöntemlerine göre %35 hata oranı verdiğini ve güvenilir olmadığını da belirtmiştir. Souli ve ark.⁽²⁰⁾, 2007-2008 yılları arasında yoğun bakım servisinde yatan hastalardan izole ettikleri karbapenemaz-2 (KPC-2) üreten 50 *K. pneumoniae* suşunda E-test ile %10 kolistin direnci bildirmişlerdir. Bu yöntemle çalışmaya dâhil edilen suşlarda kolistin MK 0.125-48 µg/ml aralığında deñer konsantrasyonlarda saptanmıştır. Çalışmamızda 81 izolatta kolis-

tin direnç oranı %39.5 olarak literatüre göre oldukça yüksek saptanmıştır. Ayrıca kolistin MK deñeri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile <0.0625->64 µg/ml aralığında deñer konsantrasyonlarda olmak üzere deñer çalışmalara göre daha geniş bir aralıkta bulunmaktadır. Bu durum, deñer birçok çalışmanın kolistin duyarlılık testlerinde otomatize sistemleri veya gradient testleri kullanılmaması ile açıklanabilir. Aynı zamanda 2018 yılında izole edilmiş olan yeni izolatlarla yaptığımız çalışmamızda kolistin direnci prevalansının yıllar içinde dramatik bir şekilde artmış olduğunu da göstermektedir.

Çalışmamıza benzer bir örneklem büyüklüğü ile ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direnci %36.1 oranında bulunmaktadır⁽¹⁵⁾.

Ülkemizde sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'de kolistin direnci prevalansını bildiren sınırlı sayıda çalışmamız vardır. Türkiye'den yapılan çalışmalardan biri olan Kalem ve ark.⁽²¹⁾'nin çalışmasında, karbapenem dirençli 4 *K. pneumoniae* suşunda klonal ilişkisi incelenmiş aynı zamanda suşların tümü kolistine dirençli bulunmaktadır. Guducuoglu ve ark.⁽²²⁾ tarafından yapılan yeni bir çalışmada, karbapenemaz üreten kolistine dirençli *K. pneumoniae* salgını bildirilmiştir. Bu çalışmada, yoğun bakım ünitesinde yatan 6 hastadan izole edilen 7 *K. pneumoniae* suşu klonal olarak çoklu direnç gösteren ST11 tipinde bulunmuş, kolistin ve test edilen diğer tüm antibiyotiklere karşı dirençli bulunmuştur. Yüksek mortalite ile ilişkilendirilmiş olan bu suşlar için enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması gerekliliği vurgulanmıştır.

Türkiye'den yapılan çalı maları içeren farklı bildirilerdeki direnç oranları Tablo 3'te özetlenmiştir. Kahraman ve ark.⁽²³⁾ retrospektif olarak yaptıkları çalı mada, kök hücre nakli yapılan hastalarda nakil sırasında geli en enfeksiyonlardan 2012-2018 yılları arasında izole edilen karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının %20'sinin kolistin dirençli oldu unu saptamıştır. Bu tabloya göre kolistin direnç oranları yakın tarihlerde izole edilen enterik bakterilerde oldukça yüksek bulunmu tur. Diğer çalı malara göre daha düşük bulunan kolistin direnci daha eski yıllarda izole edilen örneklerinde çalı maya dâhil edilmemesi ile açıklanabilir. Daha yakın tarihlerde izole edilen izolatların kullanıldığı çalı malarda ise direnç oranları daha yüksek bulunmu tur⁽²⁴⁻²⁶⁾. Bu durum kolistin direncinin yıllar içerisinde arttığını ve yüksek yayılım gösterdiğini göstermektedir. Bizim çalı mamızda da, oldukça yüksek oranda bulunan kolistin direnci, ilerisi için önlemler alınması gerekliliğini vurgulamaktadır. Kolistin tek başına yüksek dozlarda kullanımı yerine kullanımında olan diğer antibiyotiklerle sinerjik etkilerinin değerlendirilmesi ve kombinasyon tedavilerinin uygulanması hızla yayılan kolistin direncinin önüne geçebilmek için en uygun seçenek gibi görünmektedir.

KAYNAKLAR

- Pereira GH, Garcia DO, Mostardeiro M, Fanti KS, Levin AS. Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: two-year epidemiologic follow-up in a tertiary hospital. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108(1):113-5. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762013000100019>
- Maltezou HC. Metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria: introducing the era of pan-resistance? Int J Antimicrob Agents. 2009;33(5):405 e1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.09.003>
- Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis. 2009;9(4):228-36. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70054-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70054-4)
- Pitout JD, Nordmann P, Poirel L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. Antimicrob Agents and Chemother. 2015;59(10):5873-84. <https://doi.org/10.1128/AAC.01019-15>
- Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. Lancet Infect Dis. 2008;8(3):159-66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70041-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70041-0)
- World Health Organization. Antimicrobial resistance global report on surveillance. 2014. <https://www.who.int/drugresistance/documents/surveillance-report/en/> (Erişim tarihi: Aralık 2018).
- World Health Organization. Central asian and eastern european surveillance of antimicrobial resistance (CAESAR), Annual report. 2018 <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/publications/2017/central-asian-and-eastern-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance.-annual-report-2017-2018> (Erişim tarihi: Aralık 2018).
- Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis. 2005;40(9):1333-41. <https://doi.org/10.1086/429323>
- Kaye KS, Pogue JM, Tran TB, Nation RL, Li J. Agents of last resort: Polymyxin resistance. Infect Dis Clin North Am. 2016;30(2):391-414. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.005>
- Neuner EA, Yeh JY, Hall GS, et al. Treatment and outcomes in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011;69(4):357-62. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.10.013>
- Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaïou DK. Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. Drug Resist Updat. 2010;13(4-5):132-8. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2010.05.002>
- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016;16(2):161-8. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
- Eucast. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, 2017. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf (Erişim tarihi: Aralık 2018)
- Rojas LJ, Salim M, Cober E, et al. Colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory detection and impact on mortality. Clin Infect Dis. 2017;64(6):711-8. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw805>
- Capone A, Giannella M, Fortini D, et al. High rate of

- colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. Clin Microbiol Infect. 2013;19(1):E23-E30.
<https://doi.org/10.1111/1469-0691.12070>
16. Eucast. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) As recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. 2016. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf (Erişim tarihi: Aralık 2018).
 17. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, et al. Comparative evaluation of colistin susceptibility testing methods among carbapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(8):4625-30.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00868-15>
 18. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederem BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(10):3726-30.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01406-06>
 19. Tan TY, Ng SY. Comparison of Etest, Vitek and agar dilution for susceptibility testing of colistin. Clin Microbiol Infect. 2007;13(5):541-4.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01708.x>
 20. Souli M, Galani I, Antoniadou A, et al. An outbreak of infection due to beta-lactamase *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. Clin Infect Dis. 2010;50(3):364-73.
<https://doi.org/10.1086/649865>
 21. Kalem F, Ergun A, Ertugrul Ö, et al. Colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains. Biomed Res. 2016;27(2):368-72.
 22. Gündüço lu H, Gursoy NC, Yakupo ullari Y, et al. Hospital outbreak of a colistin-resistant, NDM-1- and OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae*: High mortality from pandrug resistance. Microb Drug Resist. 2018;24(7):966-72.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0173>
 23. Kahraman S, Ece G, Ocakçı S, Ça ırğan S. Hastanemize ba vuran hematolojik maligniteli hastalarda allogeneik hematopoetik kök hücre nakli esnasında geli en enfeksiyonların de erlendirilmesi. XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-040.
 24. Arabacı Ç, Dal T, Ba yit T, Geni el N, Durmaz R. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnç mekanizmalarının de erlendirilmesi ve *mcr-1* geninin ara tırılması. XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-084.
 25. Çaya YT, Hacıemino lu K, Birinci A. Karbapenem dirençli enterobacteriaceae izolatlarının tedavisinde tigesiklin, kolistin, fosfomisin ve gentamisin antibiyotiklerinin etkinli inin ara tırılması. XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-109.
 26. Yıldız SS, Ka katepe B, im ek H, Sarıgüzel FM. Fosfomisin çok ilaca dirençli enterobacteriaceae türlerinde çare mi, çaresiz mi? XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, 2018:SS-085.
 27. Meletis G, Tzampaz E, Sianou E, Tzavaras I, Sofianou D. Colistin heteroresistance in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. The J Antimicrob Chemother. 2011;66(4):946-7.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkr007>
 28. Samonis G, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Falagas ME. Synergy of fosfomycin with carbapenems, colistin, netilmicin, and tigecycline against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012;31(5):695-701.
<https://doi.org/10.1007/s10096-011-1360-5>
 29. Halaby T, Al Naiemi N, Kluytmans J, van der Palen J, Vandenbroucke-Grauls CM. Emergence of colistin resistance in *Enterobacteriaceae* after the introduction of selective digestive tract decontamination in an intensive care unit. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(7):3224-9.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02634-12>
 30. Chen S, Hu F, Zhang X, et al. Independent emergence of colistin-resistant *Enterobacteriaceae* clinical isolates without colistin treatment. J Clin Microbiol. 2011;49(11):4022-3.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01233-11>
 31. Yi R. Karbapenem dirençli *Enterobacterales* (KDE) izolatlarında kolistin duyarlılı ını ne kadar do ru saptıyoruz? XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-039.