Cilt / *Volume* 49
Sayı / *Number* 2
Haziran / *June* 2019

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

✔ Enfeksiyöz Ajanlarla Mücadelede Yenilikçi Bir Molekül: Skualamin

✔ Kan Örneklerinden İzole Edilen *Candida parapsilosis* Kompleks Suşlarının Tür Düzeyinde Tanımlanması ve Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

✔ Kolistin Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarına Karşı Karvakrol ile Kolistin Kombinasyonunun in vitro Değerlendirilmesi

✔ İstanbul'da Satılan Pişmiş Tavuk Dönerlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması

✔ Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Laboratuvarı'nda Anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgG Avidite Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 49

Sayı / *Number* 2

Haziran / *June* 2019

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 49 Sayı / *Number* 2 Haziran / *June* 2019

Editör / *Editor in Chief*

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

Bölüm Editörleri / *Section Editors*

Sebahat Aksaray; Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı
Nilay Çöplü; Kastamonu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Ayşe Esra Karakoç; Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı
Ebru Evren; Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Bedia Dinç; Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı
Ramazan Gümral; Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Funda Doğruman-Al; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışmanlar Kurulu / *Advisory Board*

Osman Aktaş, Erzurum
Aykut Aytaç, Ankara
Ayşe Erbay, Yozgat
Ahmet Celal Başustaoğlu, Ankara
Orhan Baylan, İstanbul
Zeynep Taş Cengiz, Van
Nural Cevahir, Ankara
Kayhan Çağlar, Ankara
Ahmet Hilmi Çon, Samsun
Tülin Demir, Kırşehir
Gülfem Ece, İzmir
Zayre Erturan, İstanbul
Mete Eyigör, Antalya
Şaban Gürcan, Edirne
Ramazan Gökçe, Denizli
Ayşe Kalkancı, Ankara
Ülkü Karaman, Ordu
Filiz Kibar, Adana
Esra Koçoğlu, İstanbul
Mine Hoşgör Limoncu, İzmir
Dilek Yeşim Metin, İzmir
Ayşe Ferdane Oğuzöncül, Elazığ
Cüneyt Özakın, Bursa
Tuncer Özekinci, Diyarbakır
Duygu Perçin Renders, Kütahya
Fatih Şahiner, Ankara
Pınar Şanlıbaba, Ankara
Didem Şöhretoğlu, Ankara
Necla Tülek, Ankara
Nilgün Ünal, Kırıkkale
Tülay Yalçınkaya, Ankara

Yayımlanan sayıya ait değerlendirme sürecini kapsamaktadır.

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

Sahibi / *Owner*

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

Prof. Dr. Barış Otlu

Yazışma Adresi / *Correspondence Adres*

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

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

©Her hakkı saklıdır. Bu dergide yer alan yazı, makale, fotoğraf ve illüstrasyonların elektronik ortamlarda dahil olmak üzere kullanma ve çoğaltılma hakları Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derneği'ne aittir. Yazılı ön izin olmaksızın materyallerin tamamının ya da bir bölümünün çoğaltılması yasaktır. Dergi Basım Meslek İlkeleri'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 TİC. A.Ş.
Yıldız Posta Cad. Sinan Apt. No. 36 D. 66/67
34349 Gayrettepe-İstanbul

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

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

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ
JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 49 Sayı / *Number* 2 Haziran / *June* 2019

İÇİNDEKİLER / *CONTENTS*

DERLEME / *REVIEW*

- **Enfeksiyöz Ajanlarla Mücadelede Yenilikçi Bir Molekül: Skualamin**
  Ann Innovative Molecule to Combat Infectious Agents: Squalamine
  Emine Merve ALAN, Mehmet Erman OR, Banu DOKUZEYLÜL **55-60**

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / *CLINICAL INVESTIGATIONS*

- **Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida parapsilosis* Kompleks Suşlarının Tür Düzeyinde Tanımlanması ve Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi**
  Identification of Candida parapsilosis Complex Strains Isolated from Blood Samples at Species Level and Determination of Their Antifungal Susceptibilities
  Burcu DALYAN CİLO, Harun AĞCA, Beyza ENER **61-66**

- **Kolistin Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarına Karşı Karvakrol ile Kolistin Kombinasyonunun in vitro Değerlendirilmesi**
  In vitro Evaluation of Carvacrol and Colistin Combination Against Colistin Resistant Acinetobacter baumannii Strains
  Elif ODABAŞ KÖSE, Özlem KOYUNCU ÖZYURT **67-73**

- **İstanbul'da Satılan Pişmiş Tavuk Dönerlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması**
  Investigation of Microbiological Quality of Cooked Chicken Doner Sold in Istanbul
  Ayla ÜNVER ALÇAY **74-85**

- **Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı; 10 Yıllık Değerlendirme**
  The Distribution of the Intestinal Parasites Detected in Ege University Medical Faculty Parasitology Direct Diagnosis Laboratory; 10-Years Evaluation
  Özlem ULUSAN, Orçun ZORBOZAN, Kardelen YETİŞMİŞ, Seray TÖZ,
  Ayşegül ÜNVER, Nevin TURGAY **86-91**

- **Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Laboratuvarında Anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgG Avidite Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi**
  Retrospective Evaluation of Anti-Toxoplasma gondii IgG, IgM and IgG Avidity Results in the Laboratory of Akdeniz University Hospital
  Hatice YAZISIZ, Gözde ÖNGÜT, Feryal ÖZTÜRK ERYİĞİT, Betil ÖZHAK, Dilara ÖĞÜNÇ, İmran SAĞLIK, Dilek ÇOLAK **92-97**

- **Denizli'de Sığır ve Besicilerden İzole Edilen Enterokok Türlerinin Antibiyotik Direnç Paternleri**
  Antibiotic Resistance Patterns of Enterococcus species Isolated from Cattle and Cattle Farmers in Denizli, Turkey
  Ergun METE, İlknur KALELİ **98-103**

- **Kızılay'ın İlk Hastaneleri (1877-1878): Yatan Hastalarda Görülen Enfeksiyonlar ve Mortalite Oranları**
  The First Hospital of the Red Crescent (1877-1878): Infections and Mortality Rates in Hospitalized Patients
  Eray Serdar YURDAKUL **104-112**

YAZARLARA BİLGİ ..... **V-VI**

Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(2):55-60
doi:10.5222/TMCD.2019.055

Derleme / *Review*

Enfeksiyöz Ajanlarla Mücadelede Yenilikçi Bir Molekül: Skualamin

An Innovative Molecule to Combat Infectious Agents: Squalamine

Emine Merve Alan, Mehmet Erman Or, Banu Dokuzeylül

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Alındığı tarih:
19.07.2018
Kabul tarihi:
17.01.2019
Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCİD Kayıtları

E. M. Alan 0000-0002-4422-2241
M. E. Or 0000-0002-8764-1956
B. Dokuzeylül 0000-0003-3086-4726

mervealan1213@gmail.com

ÖZ

İnsan ve hayvan sağlığı için önemli bir tehdit faktörü olan antibiyotik direnci her geçen gün dünyanın daha büyük bir sorunu hâline gelmektedir. Özellikle, artan bilinçsiz ve kontrolsüz antibiyotik kullanımı antimikrobiyal tedavi yönetimini zorlaştırmıştır. Bu nedenle, son yıllarda, yenilikçi moleküller olan aminosterol türevlerinin antimikrobiyal etkilerine olan ilgi artmıştır.

Bu derlemede, antibakteriyel, antiviral, antiparaziter, antifungal etkinlikleri üzerine çalışmalar yapılmış olan ve veteriner alanda enfeksiyöz ajanlarla mücadele için yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceğine inandığımız skualamin hakkında detaylı bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Skualamin, aminosterol, veteriner hekimlik*

ABSTRACT

Antibiotic resistance, an important threat to human and animal health, is becoming a greater problem for the world every day. In particular, the increase in unconscious and uncontrolled use of antibiotics has complicated the management of antimicrobial therapy. For this reason, the interest in the antimicrobial effects of the aminosterol derivatives, a group of innovative molecules has increased in recent years.

In this review, it is aimed to provide detailed information about squalamine, which has been the subject of various studies due to its antibacterial, antiviral, antiparasitic and antifungal activities and we believe that it may provide a new therapeutic approach for combating viral infectious agents in veterinary field.

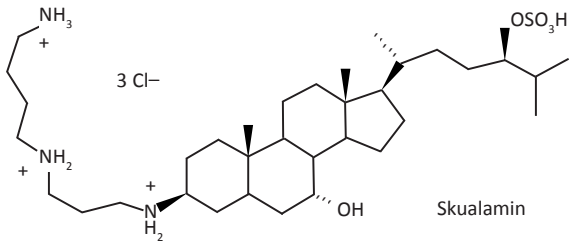
Keywords: *Squalamine, aminosterol, veterinary medicine*

GİRİŞ

İnsan ve hayvan sağlığını tehdit eden antibiyotik direnci, tedavide güçlüklere neden olarak her geçen gün daha büyük bir sorun hâline gelmekte ve bunun için yeni çözüm yolları aranmaktadır[1]. Günümüzde, çoklu ilaca dirençli bakterilere karşı geliştirilmiş ajanlardan, kolistin ve aminoglikozidlerin uzun süreli intravenöz kullanımının, başta renal toksisite olmak üzere, birçok toksik etkiye neden olduğu bildirilmiştir[2-4]. Dolayısıyla, çok ilaca dirençli bakterilere karşı yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine gereksinim duyulmuştur[3,5]. Bu bağlamda, son yıllarda, yenilikçi moleküller olan aminosterol türevlerinin antimikrobiyal etkilerine olan ilgi artmıştır[3,6].

Skualamin, ilk kez 1993 yılında, köpek balığı Squalus acanthias'ın dokularından ve daha sonra 2007 yılında parazitik bir balık türü olan Petromyzon marinus'un beyaz kan hücrelerinden identifiye edilmiş doğal bir aminosteroldür[7-9]. Kimyasal olarak, bir polar olmayan merkeze ve iki polar uca sahip katyonik ampifilik bir moleküldür. Aynı zamanda suda çözünebilir bir yapıya sahiptir[1,3,7]. Bugüne kadar yapılmış in vivo ve in vitro çalışmalarla kanıtlanan, antimikrobiyal ve antianjiogenik özellikler de dâhil olmak üzere birçok terapötik etkinliğe sahip yenilikçi bir moleküldür[1,10].

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır.
Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.
© Copyright Turkish Society of Microbiology. This journal published by Logos Medical Publishing.
Licenced by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)



Şekil 1. Skualamin'in kimyasal yapısı[1].

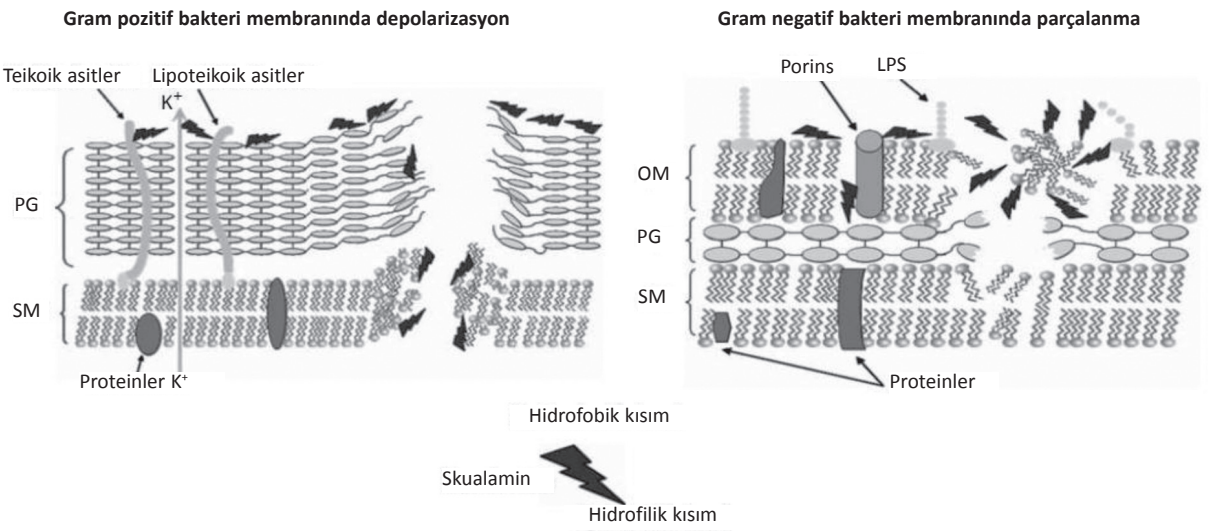
Antibakteriyel

Gram negatif bakterilerin dış zarı, antibiyotik penetrasyonuna ek bir engel oluşturmakta ve bu nedenle Gram pozitif bakterilere karşı etkili olan çok sayıda antibiyotik, Gram negatif bakterilere karşı daha az etkinlik göstermektedir[11-14]. Salmi ve ark.[15] skualamin'in Gram negatif bakterilerdeki etki mekanizması hakkında yaptıkları bir çalışmada, skualamin'in pozitif yüklü amino gruplarıyla, lipopolisakkarit yapısındaki negatif yüklü fosfat gruplarının etkileşime girdiğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda, etki mekanizmasının, effluks pompasının direncinden etkilenmediğini ileri sürerek bakteriyel membran bütünlüğünü hedef alan aktif bir molekül olduğunu bildirmişlerdir.

Beşeri alanda yapılan bir çalışmada, kistik fibroz hastalarının balgamlarından izole edilen çeşitli çok ilaca dirençli Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı skualamin etkinliği araştırılmış ve bakterilerin dış membranıyla etkileşime girerek membran yapısının destabilizasyonuna neden olduğu, böylece bakterinin dış ortama olan geçirgenliğini arttırdığı saptanmıştır[16].

2010 yılında yapılan bir çalışmada, minimum inhibitör konsantrasyon düzeyinde skualamin kullanımının, Gram pozitif ve Gram negatif patojenlerin canlılığını yalnızca 1-2 saat içinde yüksek oranda düşürdüğü tespit edilmiş ve skualamin'in Gram negatif (Örn: *Pseudomonas aeruginosa*) ve Gram pozitif (Örn: *Staphylococcus aureus*) bakterilere karşı hızlı bir bakterisidal etkinliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır[1,3,17].

Bakteriyel direncin önüne geçmek için etkili diğer bir yaklaşım, dirençli suşların içerisine girebilen antibiyotik konsantrasyonunu arttıracak kemosensitizer bir maddenin geliştirilmesidir. 2010 yılında yapılan bir çalışmada, skualamin'in bilinen klasik antibiyotiklerle kombine kullanımında, hücre içi antibiyotik konsantrasyonunda meydana getirdiği değişiklik araştırılmıştır. Bu çalışmada test edilmiş olan *Escherichia coli, Enterobacter aerogenes* ve *P. aeruginosa* için skualamin'in kemosensitizer etkinlik gösterdiği ve hücre



Şekil 2. Skualamin'in antibakteriyel etkisini gösteren şema[1].

PG; peptidoglikan, SM; sitoplazmik membran, DM; dış membran.

içi antibiyotik konsanstrasyonunu arttırdığı belirtilmiştir. Bu sonuç, skualamin ve antibiyotik kombinasyonu yapıldığında, az miktarda antibiyotik kullanımıyla da terapötik etkinlik sağlanabileceğini göstermiştir[13].

Bazı antibiyotiklerin sınırlı akciğer penetrasyonu nedeniyle inhale antibiyotik kullanımı, tedavi konusunda daha etkili olabilmektedir. Ayrıca inhale antibiyotik kullanımı, sistemik kullanıma göre daha az toksik etki meydana getirmektedir[3]. Kistik fibroz hastalarında yapılan çalışmada, inhalasyon yoluyla antibiyotik kullanımıyla, ilacın solunum sisteminde yüksek lokal konsantrasyon sağlayabildiği ve solunum fonksiyonlarını iyileştirdiği görülmüştür[3,18]. 2011 yılında yapılan başka bir çalışmada ise, skualamin türev formulasyonlarının aerosol kullanımı için uygun olduğu kanıtlanmıştır[3,18]. Bunun üzerine, *P. aeruginosa* kaynaklı pnömoni şekillenen ratlarda skualamin'in aerosol kullanımının etkinliği araştırılmıştır[3]. Yapılan çalışmada, pnömonili ratlara altı gün boyunca inhalasyon yoluyla günde iki kez olmak üzere 3 mg skualamin verilmiştir. Akciğerin bakteriyel yükünü ve histolojik lezyonlarını azalttığı sonucuna varılmıştır. *P. aeruginosa* ve diğer bakterilerin antibiyotik dirençli suşlarını tedavi etmek için yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gereksinimi göz önüne alındığında, skualamin'in kronik bakteriyel akciğer enfeksiyonu ve kolonizasyonu için etkili bir tedavi stratejisi olabileceği sonucuna varılmıştır.

Nebulizatörlerin bakteriyel kontaminasyonu, kistik fibrozis hastaları için nebulizatör performansının azalmasına ve kontamine bakteriler tarafından hastanın reenfeksiyon riskinin artmasına neden olan önemli bir faktördür. Bu doğrultuda, geniş spektrumlu antimikrobiyal bir bileşik olan skualamin'in nebulizatör dezenfektanı olarak kullanımı üzerine çalışma yapılması amacıyla %2.5 skualamin içeren çözünür nitelikte tablet geliştirilmiştir. Skualamin'in *P. aeruginosa, S. aureus, Aspergillus niger* ve *Candida albicans* ile kontamine edilen nebulizatör üzerindeki dezenfeksiyon çalışmasının başarıyla sonuçlandığı bildirilmiştir[19].

Acinetobacter baumannii, sıklıkla üriner sistem, solunum sistemi ve deri ile ilgili hastane enfeksiyonlarına neden olan nozokomiyal bir patojendir. Bakterinin çoklu ilaca direnç kazanması, enfeksiyonların nüksüne ve kronik hastalık oluşumuna neden olmasıyla tedavilerin etkinlik oranını azalttığı bilinmektedir. 2018 yılında in vitro ortamda, kolistin'le karşılaştırmalı olarak skualamin'in *A. baumannii* popülasyonu üzerindeki etkinliği ölçülmüş ve skualamin'in, kolistin'den farklı olarak minimal hemolitik konsantrasyonda kullanılmış olmasına rağmen, patojene karşı büyük bir etkinlik gösterdiği saptanmıştır[20].

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada[21], skualamin'in pomad olarak kullanımındaki etkinliği test edilmiş ve *S. aureus* kolonizasyonu olan farelere %1'lik pomad uygulamasından yalnızca 1 saat sonra *S. aureus*'un canlılık oranının 4 kat azalmış olduğu görülmüştür. Böylece, skualamin'in burun ve deri dekolanizasyonu için yararlı olabileceği ve cerrahi operasyon öncesinde cilt ve burun antisepsisi için güçlü bir alternatif olabileceği düşünülmüştür.

Brunel ve ark.[22] tarafından 2017 yılında yapılan çalışmada, skualamin'in kutanöz toksisitesi, tıraşlı farelerin sırtlarına pomad tarzında uygulanarak 15 gün süreyle incelenmiş ve tedavi sonrası farelerde hiçbir cilt lezyonu, kızarıklık veya inflamasyon görülmediği ve bu farelerin yeme içmesinde de herhangi bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Skualamin'in dezenfeksiyon alanındaki etkinliği de yine aynı araştırıcıların yaptığı çalışmayla incelenmiştir. Çalışmaya göre; skualamin ve analoglarıyla muamale edilen ekipmanlarda herhangi bir bozulma meydana gelmediği görülmüş ve skualamin'in, kontamine olan herhangi bir malzemeyi dezenfekte etme konusunda hızlı, basit ve etkili bir madde olabileceği kanıtlanmıştır.

2014 yılında, antimikrobiyal olarak güvenli kullanımının sağlanabilmesi için skualamin ve metabolitlerinin genotoksisitesinin ölçülmesi gerektiği düşünülmüş ve tüm deneysel sonuçlar skualamin'in genotoksik olmayan bir molekül olduğunu göstermiştir. Bileşiğin uzun vadeli güvenliğini belirlemek amacıyla in vivo

deneylerin de yapılması gerektiği bildirilmiş olup 21. yüzyılın antienfeksiyöz ajanları arasında lider olabileceği görüşüne varılmıştır[23].

2013 yılında mikobakteriler ile yapılan çalışmada, skualamin'in mikobakteriler üzerinde yeterli bir etkinlik sağlayamadığı sonucuna varılmıştır[24].

Antiviral

Skualamin'in antibakteriyel özellikleri üzerine yapılan çalışmaların yanı sıra antiviral etkinliği üzerine de çalışmalar yapılmış ve son zamanlarda geniş spektrumlu antiviral aktivitesinin keşfedilmesiyle terapötik etkinlik alanı genişlemiştir[25].

Zasloff ve ark.[25] skualamin'in elektrostatik yükünün membrana bağlı proteinlerle yer değiştirebilme kabiliyeti üzerine yoğunlaşarak, antiviral etkinlik gösterebileceği fikrini öne sürmüşlerdir. Skualamin'in, bazı RNA ve DNA viruslarına karşı hem in vitro hem de in vivo ortamdaki etkinliğini inceleyen araştırıcılar, skualamin parenteral uygulamadan sonra dolaşımdan karaciğer-safra yoluyla atıldığı için, karaciğeri enfekte eden viruslar üzerine ilk araştırmalarını yoğunlaştırmışlardır. İn vitro çalışmalar sırasında, skualamin'in Dengue, Hepatit-B ve Hepatit Delta viruslarının (HDV) hareketini etkili bir şekilde durdurabildiğini saptamışlardır. Toksisite açısından yapılan değerlendirmede, Dengue virusunu %100 oranında inhibe eden ve Hepatit B virusunu inaktive etmek için kullanılan skualamin konsantrasyonunun herhangi bir toksisiteye neden olmadığı fakat HDV için etkili konsantrasyondaki skualamin kullanımının sitotoksik olduğu bildirilmiştir[25,26].

Skualamin'in, Yellow Fever Virus (YFV), Equine Encephalitis Virus (EEV) ve Murine Cytomegalovirus (MCMV) enfeksiyonlarını önlemedeki etkinliğini belirlemek için fare ve hamster üzerinde yapılan bir çalışmada[25], hayvanlara virus enfeksiyonundan bir gün önce, subkutan ve intraperitoneal yollarla skualamin tedavisi uygulanmaya başlanmıştır. Bu uygulamanın, daha sonraki intraperitoneal ve subkutan uygulamalara da bağlı olarak, virusu kusursuz bir şekilde inhibe edebildiği görülmüştür.

Antiparaziter

Skualamin'in anti-leishmanial ve anti-tripanasomal etkinliği olup olmadığını belirlemek isteyen bazı araştırıcılar, *Trypanosoma brucei* ve *Leishmania donovani* suşlarına karşı in vitro ortamda etkinlik gösterdiğini, Trypanosoma cruzi'ye karşı ise az etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir[27].

Antifungal

İnvaziv mantar enfeksiyonları, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda önemli bir risk teşkil etmektedir[28-30]. Salmi ve ark. [31] yaptıkları bir çalışmada, aminosterollerin antifungal etkisini sınırlı sayıdaki maya suşunda bildirmişlerdir. 2011 yılında yapılan başka bir çalışmada ise, araştırıcılar fungemi vakalarından topladıkları 21 maya izolatına karşı skualamin'in hücre içi ATP atılımını indükleyerek mayaların hücre membranında bozulmaya yol açtığını ve bu şekilde fungisid etki gösterdiğini saptamışlardır[28].

Dermatofitler üzerine yapılan başka bir çalışmada[32], skualamin'in, *Trichophyton rubrum, T. mentagrophytes, Trichophyton soudanense, Microsporum canis, Microsporum audouinii, Microsporum persicolor, Microsporum cookie* ve *Microsporum gypseum* izolatlarına karşı in vitro ortamda antifungal aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Yakın zamanda Coulibaly ve ark.[33] tarafından yapılan bir çalışmada, Tinea kapitis yakınmalı, 6-15 yaş aralığındaki erkek çocuklardan 5'i %1'lik skualamin merhem ile 15'i ise plasebo ile 3 hafta süreyle tedavi edilmiştir. Tedavi süresinin sonunda, skualamin'in herhangi bir yan etkiye neden olmadığı ve plasebo ile tedavi edilenlere kıyasla daha iyi bir saç büyüme skoru meydana getirdiği gözlenmiştir. Tam bir klinik iyileşme sağlanmamış olmasına rağmen, skualamin'in sistemik antidermatofit ilaçlarla kombine kullanımının yararlı olabileceği konusunda ileri çalışmalar yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak, geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliğe sahip ve kolayca sentezlenebilir bir molekül olan skualamin'in önümüzdeki yıllarda hem beşeri alanda hem veteriner alanda antienfeksiyöz ajanlar arasında önemli bir yere sahip olabileceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Alhanout K, Malesinki S, Vidal N, Peyrot V, Rolain JM, Brunel JM. New insights into the antibacterial mechanism of action of squalamine. J Antimicrob Chemother. 2010;65(8):1688-93. https://doi.org/10.1093/jac/dkq213
2. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. Crit Care. 2006;10(1):R27. https://doi.org/10.1186/cc3995
3. Hraiech S, Brégeon F, Brunel JM, et al. Antibacterial efficacy of inhaled squalamine in a rat model of chronic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. J Antimicrob Chemother. 2012;67(10):2452-8. https://doi.org/10.1093/jac/dks230
4. Maviglia R, Nestorini R, Pennisi MA. Role of old antibiotics in multidrug resistant bacterial infections. Curr Drug Target. 2009;10(9):895-905. https://doi.org/10.2174/138945009789108846
5. Livermore DM, Blaser M, Carrs O, et al. Discovery research: the scientific challenge of finding new antibiotics. J Antimicrob Chemother. 2011;66(9): 1941-4. https://doi.org/10.1093/jac/dkr262
6. Alhanout K, Rolain JM, Brunel JM. Squalamine as an example of a new potent antimicrobial agents class: a critical review. Curr Med Chem. 2010;17(32):3909-17. https://doi.org/10.2174/092986710793205417
7. Moore KS, Wehrli S, Roder H, Rogers M, Forrest, JN, McCrimmon D, Zasloff M. Squalamine: an aminosterol antibiotic from the shark. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1993;90(4):1354-1358. https://doi.org/10.1073/pnas.90.4.1354
8. Yun SS, Li W. Identification of squalamine in the plasma membrane of white blood cells in the sea lamprey, Petromyzon marinus. J Lipid Res. 2007;48(12):2579-86. https://doi.org/10.1194/jlr.M700294-JLR200
9. Wehrli SL, Moore KS, Roder H, Durell S, Zasloff M. Structure of the novel steroidal antibiotic squalamine determined by two-dimensional NMR spectroscopy. Steroids. 1993;58(8):370-8. https://doi.org/10.1016/0039-128X(93)90040-T
10. Brunel JM, Salmi C, Loncle C, Vidal N, Letourneux Y. Squalamine: a polyvalent drug of the future? Curr Cancer Drug Targets. 2005;5(4):267-72. https://doi.org/10.2174/1568009054064642
11. Davin-Regli A, Boll JM, James CE, et al. Membrane permeability and regulation of drug "influx and efflux" in enterobacterial pathogens. Curr Drug Targets. 2008;9(9):750-9. http://doi.org/10.2174/138945008785747824
12. Falagas ME & Bliziotis IA. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? Int J Antimicrob Agents. 2007;29(6):630-6. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.12.012
13. Lavigne JP, Brunel JM, Chevalier J, Pagès JM. Squalamine, an original chemosensitizer to combat antibiotic-resistant gram-negative bacteria. J Antimicrob Chemother. 2010;65(4):799-801. https://doi.org/10.1093/jac/dkq031
14. Pagès JM, James CE, Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. Nat Rev Microbiol. 2008;6(12):893-903. http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1994
15. Salmi C, Loncle C, Vidal N, et al. Squalamine: an appropriate strategy against the emergence of multidrug resistant gram-negative bacteria? PLoS One. 2008;3(7):e2765. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002765
16. Alhanout K, Brunel JM, Raoult D, Rolain JM. In vitro antibacterial activity of aminosterols against multidrug-resistant bacteria from patients with cystic fibrosis. J Antimicrob Chemother. 2009;64(4):810-4. https://doi.org/10.1093/jac/dkp281
17. Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. Int J Antimicrob Agents. 2014;44(5):377-86. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001
18. Alhanout K, Brunel JM, Dubus JC, Rolain JM, Andrieu V. Suitability of a new antimicrobial aminosterol formulation for aerosol delivery in cystic fibrosis. J Antimicrob Chemother. 2011;66(12):2797-800. https://doi.org/10.1093/jac/dkr380
19. Djouhri-Bouktab L, Alhanout K, Andrieu V, et al. Soluble squalamine tablets for the rapid disinfection of home nebulizers of cystic fibrosis patients. J Cyst Fibros. 2012;11(6):555-9. https://doi.org/10.1016/j.jcf.2012.05.006
20. Nicol M, Mlouka MAB, Berthe T, et al. Anti-persister activity of squalamine against *Acinetobacter baumannii*. Int J Antimicrob Agents. 2019;53(3):337-42. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.11.004
21. Djouhri-Bouktab L, Alhanout K, Andrieu V, Raoult D,

Rolain JM, Brunel JM. Squalamine ointment for *Staphylococcus aureus* skin decolonization in a mouse model. J Antimicrob Chemother. 2011;66(6):1306-10. https://doi.org/10.1093/jac/dkr114

22. Brunel JM, Raoult D, Rolain JM. "Use of squalamine or analogue as a disinfecting agent.", 2017. ABD. Patent # 9,700,051. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
23. Alhanout K, Giorgio CD, Méo MD, Brunel JM. Non-genotoxic assessment of a natural antimicrobial agent: squalamine. Anti-Infective Agents. 2014;12(1):75-9. https://doi.org/10.2174/22113525113119990114
24. Ghodbane R, Ameen SM, Drancourt M, Brunel JM. In vitro antimicrobial activity of squalamine derivatives against mycobacteria. Tuberculosis (Edinb). 2013;93:565-6. https://doi.org/10.1016/j.tube.2013.04.006
25. Zasloff M, Adams AP, Beckerman B, et al. Squalamine as a broad-spectrum systemic antiviral agent with therapeutic potential. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(38):15978-83. https://doi.org/10.1073/pnas.1108558108
26. Ozaslan M. Squalamine: May be an effective viral control. Int J Virol. 2012;8(3):285-7. https://doi.org/10.3923/ijv.2012.285.287
27. Khabnadideh S, Tan CL, Croft SL, Kendrick H, Yardley V, Gilbert IH. Squalamine analogues as potential anti-trypanosomal and anti-leishmanial compounds. Bioorg Med Chem Lett. 2000;10(11):1237-9. https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)00196-7
28. Alhanout K, Djouhri, L, Vidal N, Brunel JM, Piarroux R, Ranque S. In vitro activity of aminosterols against yeasts involved in blood stream infections. Med Mycol. 2011;49(2):121-5. https://doi.org/10.3109/13693786.2010.502189
29. Fisher BT, Zaoutis TE. Treatment of invasive candidiasis in immunocompromised pediatric patients. Pediatr Drugs. 2008;10(5):281-98. https://doi.org/10.2165/00148581-200810050-00003
30. Klepser ME. *Candida* resistance and its clinical relevance. Pharmacotherapy. 2006;26(6Pt2):68S-75S. https://doi.org/10.1592/phco.26.6part2.68S
31. Salmi C, Loncle C, Vidal N, Laget M, Letourneux Y, Brunel JM. Antimicrobial activities of 3-amino-and polyaminosterol analogues of squalamine and trodusquemine. J Enzyme Inhib Med Chem. 2008;23(6):860-5. https://doi.org/10.1080/14756360701809910
32. Coulibaly O, Alhanout K, Ollivier C, et al. In vitro activity of aminosterols against dermatophytes. Med Mycol. 2013;51(3):309-12. https://doi.org/10.3109/13693786.2012.724773
33. Coulibaly O, Thera MA, Koné AK, et al. A double-blind randomized placebo-controlled clinical trial of squalamine ointment for tinea capitis treatment. Mycopathologia. 2015;179(3-4):187-93. https://doi.org/10.1007/s11046-014-9849-y

Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(2):61-66
doi:10.5222/TMCD.2019.061

Araştırma / *Research Article*

Kan Örneklerinden İzole Edilen *Candida parapsilosis* Kompleks Suşlarının Tür Düzeyinde Tanımlanması ve Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Identification of Candida parapsilosis Complex Strains Isolated from Blood Samples at Species Level and Determination of Their Antifungal Susceptibilities

Burcu Dalyan Cilo*, Harun Ağca, Beyza Ener****

*SBÜ. Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji / Tıbbi Mikoloji Laboratuvarı, Bursa, Türkiye
**Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Dünyada ve ülkemizde birçok merkezde, fırsatçı bir enfeksiyon olan kandidemilere ikinci sıklıkta neden olan tür Candida parapsilosis tür kompleksidir. Bu tür kompleksi içinde yer alan Candida parapsilosis sensu stricto, Candida orthopsilosis ve Candida metapsilosis türleri fenotipik olarak birbirinden ayrılamaz ve tanımlanmaları için çeşitli moleküler yöntemlere gereksinim duyulur. Bu çalışmada, laboratuvarımızda kan kültürlerinden izole edilen C. parapsilosis tür kompleksi suşlarının antifungal duyarlılıklarının incelenmesi ve tür düzeyinde tanımlama yapılması amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı stoklarından 118 kan izolatı kullanıldı. İzolatların flukonazol, vorikonazol, itrakonazol, posakonazol, amfoterisin B ve anidulafungine in vitro duyarlılığı CLSI-M27 dokümanına göre saptandı. C. parapsilosis tür kompleksindeki türler, sekonder alkol dehidrogenaz enzimini kodlayan gen bölgesinin (SADH) "polimeraz chain reaction-restriction fragment length polymorphism" (PCR-RFLP) yöntemiyle incelenmesiyle belirlendi.*
Bulgular: *Bu çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen 118 C. parapsilosis tür kompleksi suşunda flukonazol direncinin %26.3 oranında olduğu, amfoterisin B ve anidulafunginde ise direncin yok denecek kadar az olduğu saptandı. Antifungal duyarlılığı belirlenen bu suşlar arasında C. orthopsilosis ve C. metapsilosis türlerine rastlanmadı.*
Sonuç: *Bu çalışma ile merkezimizdeki C. parapsilosis tür kompleksindeki yüksek flukonazol direncinin kompleks içindeki türlerle ilişkili olmadığı görüldü. Suşlar arasındaki klonal ilişkinin ve direncin genetik temellerinin araştırılması için ek çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varıldı.*

Anahtar kelimeler: *Candida parapsilosis tür kompleksi, antifungal duyarlılık, PCR-RFLP*

ABSTRACT

Objective: *Candida parapsilosis species complex is the second most common cause of candidiasis which is an opportunistic infection, in many centers in the world and in our country. Candida parapsilosis sensu stricto, Candida orthopsilosis and Candida metapsilosis within this species complex are indistinguishable from each other phenotypically and various molecular methods are needed for their identification. In this study, we aimed to investigate the antifungal susceptibility of C. parapsilosis species complex isolated from blood cultures in our laboratory and to identify them at species level.*
Method: *A total of 118 blood isolates from the stock culture of Uludağ University Faculty of Medicine Department of Microbiology were used. The in vitro sensitivity of the isolates to fluconazole, voriconazole, itraconazole, posaconazole, amphotericin B and anidulafungin was determined according to the CLSI-M27 document. The species in the C. parapsilosis species complex were determined by the investigation of the gene region encoding the secondary alcohol dehydrogenase enzyme (SADH) using "polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism" (PCR-RFLP) method.*
Results: *In this study, fluconazole resistance was found to be 26.3% in the 118 C. parapsilosis species complex isolated from blood cultures, and the resistance to amphotericin B and anidulafungin was almost none. There were no C. orthopsilosis and C. metapsilosis species among these strains.*
Conclusion: *In this study, it was shown that high fluconazole resistance in C. parapsilosis species complex in our center was not associated with different species in the complex. It is concluded that additional studies should be done to search for clonal relationship between strains and genetic basis of resistance.*

Keywords: *Candida parapsilosis species complex, antifungal susceptibility, PCR-RFLP*

Alındığı tarih:
11.01.2019
Kabul tarihi:
01.03.2019
Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCİD Kayıtları

B. Dalyan Cilo 0000-0002-6158-9360
H. Ağca 0000-0002-2651-2034
B. Ener 0000-0002-4803-8206

bdalyan@yahoo.com

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

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

GİRİŞ

Candida türleri insanlarda hastalık oluşturan fırsatçı mantarlar arasında birinci sırada olup, nozokomiyal enfeksiyonların %10-15'ine neden olmaktadır[1]. Kuzey Amerika ve Avrupa'da yapılan sürveyans çalışmalarına göre *Candida* türleri, kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilen patojenler arasında %8-10 oran ile dördüncü sırada yer alır[2,3]. *Candida albicans,* en fazla izole edilen tür olup, bunu çoğunlukla *Candida parapsilosis* ya da *Candida glabrata* izler[4]. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, genellikle ikinci sırada izole edilen tür *C. parapsilosis* tür kompleksidir[5-8].

Candida parapsilosis tür kompleksi izolatları fenotipik olarak ayırt edilememekle birlikte genotipik olarak heterojendir. Genetik farklılık gösteren suşlar, 2005 yılına kadar *C. parapsilosis* tür kompleksi içinde üç grupta toplanırken (Grup I, II, II), son yıllarda yapılan moleküler çalışmalarla bu grupların farklı türler olduğu anlaşılmıştır. Bu türler polimeraz chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ve internal transcribed spacer (ITS) gen dizi analizi gibi yöntemlerle ayrılarak; *C. parapsilosis* sensu stricto (Grup I), *Candida orthopsilosis* (Grup II) ve *Candida metapsilosis* (Grup III) olarak adlandırılmışlardır. Yapılan çalışmalar bu türlerin virülans özellikleri ile antifungal duyarlılık paternlerinin birbirinden farklı olduğunu ortaya koymaktadır[9-11].

Candida parapsilosis tür kompleksi içindeki türler rutin mikrobiyolojik yöntemlerle birbirinden ayırt edilememekte, yeni türlerin düşük oranda da olsa (~%5) klinik örneklerden izole edildiği bildirilmektedir[12-15]. Ülkemizde ise *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* izolasyon oranları ile ilgili veriler sınırlıdır[16-18]. *C. parapsilosis* tür kompleksi, hastanemizde kan örneklerinden ikinci sıklıkta izole edilen *Candida* türüdür ve flukonazol direncinin beklenenden yüksek olduğu saptanmıştır[19]. Ancak bu tür kompleksi içindeki türlerin hastanemizdeki dağılım oranları ve türe özgü direnç oranları ile ilgili lokal epidemiyolojik verilerimiz bilinmemektedir.

Bu çalışmamızda, laboratuvarımızda kan kültürlerinden izole edilen *C. parapsilosis* tür kompleksi suşlarının antifungal duyarlılıklarının incelenmesi ve sekonder alkol dehidrogenaz enzimini kodlayan gen bölgesinin (*SADH*) PCR-RFLP yöntemiyle incelenerek tür düzeyinde tanımlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Suşlar: Bu çalışmada, kan kültürlerinden 2010-2014 yılları arasında izole edilen, mısır unu-tween 80 besiyerindeki morfolojisi ve API ID 32C (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) sistemiyle *C. parapsilosis* tür kompleksi olarak tanımlanan ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı -80°C stoklarından Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerine pasajlanarak saf olarak canlandırılabilen 118 suş kullanıldı. Her bir suş ayrı bir hastaya aitti. Ayrıca, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258, *C. orthopsilosis* ATCC 96141 ve *C. metapsilosis* ATCC 96144 suşları kalite kontrol amaçlı kullanıldı.

İn vitro antifungal duyarlılık testleri: Flukonazol (Sigma Aldrich, St Louis, MO, ABD), vorikonazol (Pfizer Central Research, New York, NY, ABD), itrakonazol (Sigma Aldrich, ABD), posakonazol (Sigma Aldrich, ABD), amfoterisin B (Amresco, OH, ABD) ve anidulafungin'in (Pfizer Central Research, ABD), *C. parapasilosis* tür kompleksi suşlarına karşı in vitro aktivitesi CLSI M27-A3 dokümanına göre saptandı[20]. Antifungal ilaçlar, %0.2 glukoz içeren RPMI 1640 besiyerinde sulandırılarak U tabanlı mikrodilüsyon plaklarına uygun konsantrasyonda dağıtıldı. İnokulum süspansiyonu son konsantrasyonu 0.5×10^3-2.5×10^3 hücre/ml olacak şekilde ayarlandı ve değişik konsantrasyonlarda antifungal bulunan mikrodilüsyon kuyucuklarına dağıtıldı. Plaklar 35°C'da inkübe edildi. Minimum inhibitör konsantrasyonlar (MİK=µg/ml) 24 saat sonra görsel değerlendirildi. Yetersiz üremenin olduğu durumlarda inkübasyon 48. saate uzatıldı. Amfoterisin B için kontrol kuyucuğuna göre üremenin tam inhibe edildiği kuyucuk, diğer ilaçlar için ise belirgin azaldığı kuyucuk MİK olarak belirlendi. MİK değerleri CLSI klinik sınır değerlere göre duyarlı (S), doza bağlı duyarlı (S-DD), orta duyarlı (I) veya dirençli (R) olarak yorumlandı. Klinik sınır değerlerin olmadığı durumlarda epidemiyolojik eşik değerler kullanıldı ve epidemiyolojik eşik değer veya altında olanlar wild-type (WT), epidemiyolojik eşik değerin üzerinde olanlar ise non wild-type (non-WT) olarak belirlendi[20,21] (Tablo 1).

Tablo 1. CLSI referans yönteme göre *Candida parapsilosis* tür kompleksi için epidemiyolojik eşik ve klinik sınır değerler[20].

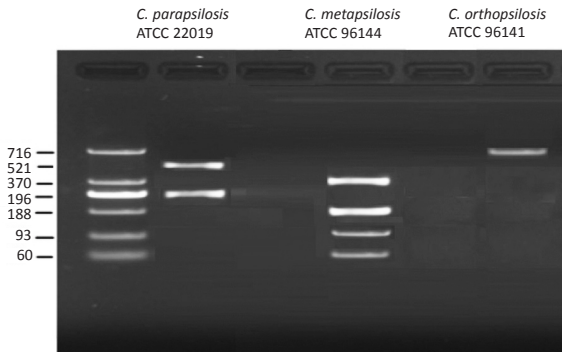
	Epidemiyoljik eşik değer (µg/ml)		Klinik Sınır Değerler (µg/ml)			
Antifungal Ajanlar	**WT**	**Non-WT**	**S**	**S-DD**	**I**	**R**
Amfoterisin B	≤2	>2	-	-	-	-
Flukonazol	≤2	>2	≤2	4	-	≥8
Itrakonazol	≤0.5	>0.5	-	-	-	-
Vorikonazol	≤0.125	>0.125	≤0.125		0.25-0.5	≥1
Posakonazol	≤0.25	>0.25	-	-	-	-
Anidulafungin	≤4	>4	≤2		4	≥8

S: Duyarlı, S-DD: Doza bağlı duyarlı, I: Orta duyarlı, R: Dirençli, WT: wild-type, non-WT: non wild-type

***Candida parapsilosis* tür kompleksi içindeki türlerin belirlenmesi:** *C. parapsilosis* tür kompleksi olarak tanımlanan ve antifungal duyarlılıklarına bakılan suşlardan DNA izolasyonu ticari bir kit (SP Fungal Kit: Omega Bio-tek, Inc., GA, ABD) kullanılarak kitin önerileri doğrultusunda yapıldı. *C. parapsilosis* tür kompleksi içindeki türlerin ayrımını sağlayan *SADH* (716 baz çifti) genine özgü primerler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi. Her PCR karışımı 2.5 µl 10x PCR tampon (magnezyum içermeyen), 1.5 µl $MgCl^2$, 200 µM dNTPs (Qiagen=Katalog no: 201912, Ankara), 10 µM primerler [(*SADH*-F GTTGATGCTGTTGGATTGT) ve (*SADH*-CAATGCCAAATCTCCCAA) (Qiagen)], 1.5 U Taq polimeraz (Qiagen, Katalog no: 201205) ve 2 µl ekstrakte DNA içerecek şekilde toplamda 25 µl olarak hazırlandı. Amplifikasyon Roche LightCycler 480 (Roche, Almanya) cihazında 94°C'de 5 dakika denatürasyon, sonrasında 94°C'de bir dakika, 36°C'de bir dakika, 72°C'de bir dakika olarak 35 siklus ve 72°C'de 10 dakika uzama basamağı ile sonlandırıldı. Tür tanımlaması için *SADH*-PCR ürünü (716 bp) BanI restriksiyon enzimi ile (Fermentas, Katalog no: FD1004, Massachusetts, MA, ABD) kesilerek %2 ethidyum bromid (0.05 µg/ml) ile boyalı agaroz jelde yürütüldü ve ultra viyole ışığı altında incelendi. İki bant (196 ve 521 bp) oluşması (restriksiyon enzimi ile bir yerden kesildiğini gösterir) *C. parapsilosis* sensu stricto, dört bant (370, 188, 93, 60, bp) oluşması (restriksiyon enzimi ile üç yerden kesildiğini gösterir) *C. metapsilosis*, bir bant (716 bp) oluşması (restriksiyon enzimi ile hiç kesilmediğini gösterir) *C. orthopsilosis* olarak değerlendirildi[11] (Resim 1).

BULGULAR

Bu çalışmada, değerlendirilen 118 *C. parapsilosis* tür kompleksi suşunun altı antifungale in vitro duyarlılığı Tablo 2'de görülmektedir. *C. parapsilosis* tür kompleksi kandidemilerinde en sık kullanılan ilaç olan flukonazol direncinin %26.3 olduğu belirlenmiştir. Flukonazole dirençli suşların diğer azollere de değişik oranlarda dirençli olduğu saptanmıştır. Amfoterisin B'ye dirençli suş saptanmazken, bir suşta anidulafungin duyarlılığının azaldığı (%0.8) belirlenmiştir.



Resim 1. Standart suşların *SADH*-PCR ürününün BanI restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan bantlar.

SADH geninin PCR-RFLP yöntemiyle incelenmesi sonucu izolatlarımızın tamamının (%100) *C. parapsilosis* sensu stricto olduğu anlaşıldı. Tür kompleksi içindeki diğer iki türe rastlanılmadı.

TARTIŞMA

Candida parapsilosis tür kompleksi, diğer *Candida* türlerinden farklı olarak mukozalardan çok deride kolonize olan bir türdür. Biyofilm oluşturma özelliği ile hastanelerde cansız yüzeylerde de bulunabilir ve sağlık çalışanlarının elleriyle gerçek anlamda nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilir. En fazla yeni doğanlar ile pediatrik ve erişkin yoğun bakımlardaki damar içi kateterli hastalarda kandidemiler

Tablo 2. *Candida parapsilosis* tür kompleksi suşlarının (118 suş) in vitro antifungal duyarlılığı.

	Klinik sınır değerlere göre değerlendirme, n (%)				Epidemiyolojik eşik değerlere göre değerlendirme, n (%)	
İlaçlar	**S**	**S-DD**	**I**	**R**	**WT**	**Non-WT**
Amfoterisin B					118 (%100)	
Flukonazol	86 (%72.9)	1 (%0.8)		31 (%26.3)		
İtrakonazol					117 (%99.2)	1 (%0.8)
Vorikonazol	116 (%98.3)	2 (%1.7)				
Posakonazol					100 (%84.7)	18 (%15.3)
Anidulafungin	117 (%99.2)		1 (%0.8)			

S: Duyarlı, S-DD: Doza bağlı duyarlı, I: Orta duyarlı, R: Dirençli, WT: wild-type, non-WT: non wild-type

oluşturur[10,22]. Dünya genelinde yapılan birçok tek veya çok merkezli kandidemi çalışmalarında, *C. parapsilosis* tür kompleksinin *C. albicans*'dan sonra ikinci sırada görüldüğü bildirilmektedir[2,3,23-25]. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da pek çok merkezde *C. albicans*'dan sonra en fazla *C. parapsilosis* tür kompleksine rastlanılmaktadır[5-8,19,26-29].

Merkezimizde de *C. parapsilosis* tür kompleksi *C. albicans*'dan sonra ikinci sırada belirlenmiştir[19]. *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis*'in farklı türler olduğu 2005 yılında belirlenmiş olsa da günümüzde hâlen rutin incelemelerle bu türleri *C. parapsilosis* sensu stricto'dan ayırt etmek mümkün olamamaktadır.

Bu çalışmada, hastanemizde kan kültürlerinden izole edilen ve *C. parapsilosis* tür kompleksi olarak tanımlanan suşların tamamının *C. parapsilosis* sensu stricto olduğu saptanırken *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* suşuna rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalarda *C. metapsilosis*'in kan kültür izolatlarında çok çok az olduğu, daha çok solunum yolları, idrar, mukoza süründü örneklerinden izole edildiği vurgulanmaktadır. Bunun ötesinde bu türün virülansı en düşük tür olduğu da bildirilmiştir[30]. *Candida orthopsilosis*'in ise %0-23.3 oranlarında kan kültürlerinden izole edildiği gösterilmiştir[12-15]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, %1.5 oranında *C. orthopsilosis* tespit edilmiş olsa da, üreme kan değil idrar örneğine ait bulunmuştur[16]. Yapılan diğer çalışmada da kan kültür izolatlarının hepsi bizim çalışmada olduğu gibi *C. parapsilosis* sensu stricto olarak bulunmuştur[17]. İklimsel, sosyoekonomik ve sanitasyon olanaklarının *C. parapsilosis* tür kompleksi içindeki diğer türlerin izolasyon oranlarına etkili olabileceği vurgulanmaktadır[12,14].

ITS1/ITS2 sekanslama *C. parapsilosis* tür kompleksi içindeki türleri belirlemede kullanılabilecek altın standart bir yöntemdir. Ancak pahalı ve zaman alıcı olması en önemli dezavantajı olup, farklı yöntem arayışları sürmektedir[11,14]. *SADH* geninin PCR-RFLP yöntemiyle incelenmesi *C. parapsilosis* tür kompleksi içindeki türleri belirlemede kullanılan güvenilir bir yöntemdir. Ancak bazı çalışmalarda, *C. metapsilosis*'in yanlış olarak *C. orthopsilosis* olarak tanımlandığı ileri sürülmektedir[14]. Bu çalışmada, bu iki tür izole edilmediği için yönteme ilişkin yanlış tanımlama hakkında yorum yapılamamıştır.

Ülkemizde farklı merkezlerde yapılan çeşitli çalışmalarda, *C. parapsilosis* tür kompleksi suşlarında flukonazole (%0 - %7.4) arasında değişen direnç oranları bildirilmiştir[31-34]. Merkezimizde daha önce yapılmış olan çalışmalarda da saptandığı gibi çalışmamızda, flukonazol direnci (%26.3) ülkemiz verilerinin üstünde bulunmuştur[8,19]. Benzer şekilde flukonazol direnci Güney Afrika (%63), Çin (%19.3) ve İsveç'de (%15) de belirlenmiştir[35-37]. Ancak dirençli suşlar arasındaki moleküler epidemiyolojik ilişkinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma vardır[38,39].

Candida orthopsilosis ve *C. metapsilosis* suşlarının antifungal duyarlılıklarının incelendiği çalışma az olmakla birlikte, yapılan çalışmalarda bu türlerin *C. parapsilosis* sensu stricto'ya göre amfoterisin B ve ekinokandinlere duyarlılığının daha yüksek, flukonazole duyarlılığının ise daha düşük olduğu bildirilmektedir[12,14,40,41]. Bu çalışma merkezimizdeki *C. parapsilosis* tür kompleksindeki yüksek flukonazol direncinin kompleks içindeki türlerle ilişkili olabileceği düşüncesiyle yapılmıştır. Ancak böyle bir ilişki

belirlenememiştir. Bundan sonraki süreçte *C. parapsilosis* tür kompleksi izolatlarının duyarlılık paterni takip edilerek dirençli ve duyarlı suşlar arasındaki klonal ilişki ve direnç genlerinin araştırılacağı yeni çalışmalara gereksinim vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (KUAP (T) - 2014/3).

KAYNAKLAR

1. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. Lancet Infect Dis. 2003;3(11):685-702. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00801-6
2. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis. 2004;39(3):309-17. https://doi.org/10.1086/421946
3. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, et al. Epidemiology of candidemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004;23(4):317-22. https://doi.org/10.1007/s10096-004-1103-y
4. Diekema DJ, Pfaller MA. Nosocomial candidemia: an ounce of prevention is better than a pound of cure. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004;25(8):624-6. https://doi.org/10.1086/502451
5. Yapar N, Uysal U, Yücesoy M, Çakır N, Yüce A. Nosocomial bloodstream infections associated with *Candida* species in a Turkish university hospital. Mycoses. 2005;49(2):134-8. https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01187.x
6. Çelebi S, Hacımustafaoğlu M, Özdemir O, Özkaya G. Nosocomial candidemia in children: results of a 9-year study. Mycoses. 2008;51(3):248-57. https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01464.x
7. Bakır M, Çerikcioğlu N, Bartaon R, Yağcı. Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital. APMIS. 2006;114(9):601-10. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2006.apm_359.x
8. Gürcüoğlu E, Ener B, Akalın H, et al. Epidemiology of nosocomial candidaemia in a university hospital: a 12-year study. Epidemiol Infect. 2010;138(9):1328-35. https://doi.org/10.1017/S0950268809991531
9. Nosek J, Holesova Z, Kosa P, Gacser A, Tomaska L. Biology and genetics of the pathogenic yeast *Candida parapsilosis*. Curr Genet. 2009;55(5):497-509. https://doi.org/10.1007/s00294-009-0268-4
10. Trofa D, Gácser A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*: an emerging fungal pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008;21(4):606-25. https://doi.org/10.1128/CMR.00013-08
11. Tavanti A, Davidson AD, Gow NAR, Maiden MCJ, Odds FC. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. J Clin Microbiol. 2005;43(1):284-92. https://doi.org/10.1128/JCM.43.1.284-292.2005
12. Lockhart SR, Messer SA, Pfaller MA, Diekema DJ. Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in comparison to the closely related species *Candida parapsilosis*. J Clin Microbiol. 2008;46(8):2659-64. https://doi.org/10.1128/JCM.00803-08
13. Chen Y, Lin Y, Chen K, Lii J, Teng H, Li S. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis* sensu stricto, *C. orthopsilosis*, and *C. metapsilosis* in Taiwan. Diag Microbiol Infect Dis. 2010;68(3):284-92. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.07.004
14. Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Rodriguez D, et al. Prevalence and susceptibility profile of *C. metapsilosis* and *C. orthopsilosis*: results from population-based surveillance of candidemia in Spain. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(4):1506-9. https://doi.org/10.1128/AAC.01595-07
15. Mirhendi H, Bruun B, Schønheyder HC, et al. Molecular screening for *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* among Danish *Candida parapsilosis* group blood culture isolates: proposal of a new RFLP profile for differentiation. J Med Microbiol. 2010;59(Pt 4):414-20. https://doi.org/10.1099/jmm.0.017293-0
16. Cebeci Güler N, Tosun İ, Bayramoğlu G, Buruk K, Aydın F. Klinik örneklerden izole edilen *Candida parapsilosis* kompleks türlerinin (*C. parapsilosis* sensu stricto, *C. metapsilosis* ve *C. orthopsilosis*) genotipik olarak tanımlanması ve dağılımlarının belirlenmesi. Mikrobiyol Bul. 2011;45(4):723-8.
17. Hilmioğlu-Polat S, Sharifynia S, Öz Y, et al. Genetic diversity and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis* sensu stricto isolated from bloodstream infections in Turkish patients. Mycopathologia. 2018;183(4):701-8. https://doi.org/10.1007/s11046-018-0261-x
18. Tosun İ, Akyüz Z, Cebeci Güler N, et al. Distribution, virulence attributes and antifungal susceptibility patterns of *Candida parapsilosis* complex strains isolated from clinical samples. Med Mycol. 2013;51(5):483-92. https://doi.org/10.3109/13693786.2012.745953
19. Kazak E, Akın H, Ener B, et al. An investigation of *Candida* species isolated from blood cultures during 17 years in a university hospital. Mycoses. 2014;57(10): 623-9.

https://doi.org/10.1111/myc.12209
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard-third edition. CLSI document (M27-A3). 2008. CLSI, Wayne, PA.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: 3rd informational supplement (M27-S3). 2008. CLSI, Wayne, PA.
22. Delfino D, Scordino F, Pernice I, et al. Potential association of specific *Candida parapsilosis* genotypes, bloodstream infections and colonization of health workers' hands. Clin Microbiol Infect. 2014;20(11):946-51.
https://doi.org/10.1111/1469-0691.12685
23. Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, et al. Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002-2010). Intens Care Med. 2014;40(9):1303-12.
https://doi.org/10.1007/s00134-014-3408-3
24. Pfaller MA, Moet GJ, Messer SA, Jones RN, Castanheira M. Geographic variations in species distribution and echinocandin and azole antifungal resistance rates among *Candida* bloodstream infection isolates: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2008-2009). J Clin Microbiol. 2011;49(1):396-9.
https://doi.org/10.1128/JCM.01398-10
25. Pemán J, Cantón E, Quindós G, et al. Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. J Antimicrob Chemother. 2012;67(5):1181-7.
https://doi.org/10.1093/jac/dks019
26. Çalışkan E, Dede A, Biten G. Kan kültürlerinde saptanan *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2013;27(1):25-30.
https://doi.org/10.5222/ankem.2013.025
27. Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının ve antifungal duyarlılıklarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2015;29(3):105-13.
https://doi.org/10.5222/ankem.2015.0105
28. Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi. ANKEM Derg. 2010;24(4):202-8.
29. Kılınçel Ö, Akar N, Karamurat ZD, ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2018;48:256-63.
https://doi.org/10.5222/TMCD.2018.256
30. Orsi CF, Colombari B, Blasi E. Candida metapsilosis as the least virulent member of the '*C. parapsilosis*' complex. Med Mycol. 2010;48(8):1024-33.
https://doi.org/10.3109/13693786.2010.489233
31. Hazırolan G, Yıldıran D, Baran I, Mumcuoğlu İ, Aksu N. Yatan hasta örneklerinden izole edilen *Candida* izolatlarının tür dağılımlarının ve antifungal duyarlılık profillerinin değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg. 2015;72(1):17-26.
https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2015.75010
32. Çalgın MK, Çetinkol Y. Distribution and antifungal susceptibility patterns of *Candida* species at a university hospital in Northern Turkey. J Infect Dev Ctries. 2018;12(2):97-101.
https://doi.org/10.3855/jidc.9698
33. Kiraz N, Öz Y. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility of clinical *Candida isolates* from a university hospital in Turkey over a 5-year period. Med Mycol. 2011;49(2):126-31.
https://doi.org/10.3109/13693786.2010.503195
34. Dizbay M, Fidan I, Kalkancı A, et al. High incidence of *Candida parapsilosis* candidaemia in non-neutropenic critically ill patients: epidemiology and antifungal susceptibility. Scand J Infect Dis. 2010;42(2):114-20.
https://doi.org/10.3109/00365540903321572
35. Govender NP, Patel J, Magobo RE, et al. Emergence of azole-resistant *Candida parapsilosis* causing bloodstream infection: results from laboratory-based sentinel surveillance in South Africa. J Antimicrob Chemother. 2016;71(7):1994-2004.
https://doi.org/10.1093/jac/dkw091
36. Liu W, Tan J, Sun J, et al. Invasive candidiasis in intensive care units in China: in vitro antifungal susceptibility in the China-SCAN study. J Antimicrob Chemother. 2014;69(1):162-7.
https://doi.org/10.1093/jac/dkt330
37. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. 2007;20(1):133-63.
https://doi.org/10.1128/CMR.00029-06
38. Pinhati HM, Casulari LA, Souza AC, Siqueira RA, Damasceno CM, Colombo AL. Outbreak of candidemia caused by fluconazole resistant *Candida parapsilosis* strains in an intensive care unit. BMC Infect Dis. 2016;16(1):433.
https://doi.org/10.1186/s12879-016-1767-9
39. Magobo RE, Naicker SD, Wadula J, et al. Detection of neonatal unit clusters of *Candida parapsilosis* fungaemia by microsatellite genotyping: results from laboratory-based sentinel surveillance, South Africa, 2009-2010. Mycoses. 2017;60(5):320-7.
https://doi.org/0.1111/myc.12596
40. Tavanti A, Hensgens LAM, Ghelardi E, Campa M, Senesi S. Genotyping of *Candida orthopsilosis* clinical isolates by amplification fragment length polymorphism reveals genetic diversity among independent isolates and strain maintenance within patients. J Clin Microbiol. 2007;45(5):1455-62.
https://doi.org/10.1128/JCM.00243-07
41. Van Asbeck E, Clemons KV, Martinez M, Tong AJ, Stevens D. Significant differences in drug susceptibility among species in the *Candida parapsilosis* group. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008;62(1):106-9.
https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.019

Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(2):67-73
doi:10.5222/TMCD.2019.067

Araştırma / *Research Article*

Kolistin Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarına Karşı Karvakrol ile Kolistin Kombinasyonunun in vitro Değerlendirilmesi

In vitro Evaluation of Carvacrol and Colistin Combination Against Colistin Resistant Acinetobacter baumannii Strains

Elif Odabaş Köse*, Özlem Koyuncu Özyurt**

*Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Antalya, Türkiye
**Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Günümüzde birçok araştırıcı dirençli bakteri sorununun üstesinden gelmek amacıyla antimikrobiyal aktiviteye sahip bitki kaynaklı etken maddeler üzerine çalışmaktadır. Bu çalışmada kolistin dirençli Acinetobacter baumannii suşlarına karşı karvakrol ile kolistin kombinasyonunun aktivitesi değerlendirilmiştir.*
Yöntem: *Sekiz adet A. baumannii suşu üzerine karvakrol ve kolistinin antimikrobiyal aktivitelerini saptamak amacıyla sıvı mikrodilüsyon testi yapılarak Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları belirlenmiştir. Kolistin ve karvakrolün kombinasyon aktiviteleri ise Dama Tahtası (Checkerboard) Sinerji Testi ile çalışılmıştır.*
Bulgular: *Çalışmada, test edilen sekiz adet A. baumannii suşuna karşı karvakrolün antimikrobiyal aktivitesi 64-128 µg/ml MİK değerleri aralığında saptanmıştır. Kolistin ve karvakrolün kombinasyon aktivitesi sonucunda ise sekiz suşun beşinde sinerjistik etki saptanmıştır. İki suşta 0.5, diğer iki suşta 0.375 ve bir suşta ise 0.25 FİKİ değerleri elde edilmiştir. Diğer üç A. baumannii suşunda ise 1, 0.625 ve 0.53 FİKİ değerleri ile aditif etki tespit edilmiştir.*
Tartışma: *Elde ettiğimiz sonuçlara göre, karvakrol A. baumannii suşlarına karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Kolistin ile kombin edildiğinde sekiz suşun beşinde sinerjistik etki üçünde ise aditif etki saptanmıştır. Yani karvakrol kolistinin antibakteriyel aktivitesinde artışa neden olarak kolistin direncinin düşmesini sağlamıştır.*

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter baumannii, karvakrol, kolistin*

ABSTRACT

Objective: *Today, plant-based active agents with antimicrobial activity are being investigated by many researchers to overcome the problem of resistant bacteria. In this study, the activity of carvacrol and colistin combination against colistin- resistant Acinetobacter baumannii strains were evaluated.*
Method: *In order to determine the antimicrobial activity of carvacrol and colistin against eight A. baumannii strains, the minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined by broth microdilution method. Combined activities of colistin and carvacrol were studied with Checkerboard Synergy Test.*
Results: *In the study, the antimicrobial activity of carvacrol against eight A. baumannii strains tested was determined within the range of MIC values of 64-128 µg/ml. As a result of the combined activity of colistin and carvacrol, the synergistic effect was found in five of eight strains. The FICI values were 0.5 for two strains, 0.375 for the other two strains and 0.25 for one. Additive effects, and FICI values of 1, 0.625 and 0.53, were obtained in the other three A. baumannii strains.*
Conclusion: *According to our results, carvacrol showed antibacterial activity against A. baumannii strains. When combined with colistin, the synergistic effect was determined in five of the eight strains and the additive effect was found in the remaining three. In other words, carvacrol caused a decrease in colistin resistance by increasing antibacterial activity of colistin.*

Keywords: *Acinetobacter baumannii, carvacrol, colistin*

Alındığı tarih:
20.02.2019
Kabul tarihi:
04.04.2019
Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCİD Kayıtları

E. Odabaş Köse 0000-0002-3943-571X
O. K. Özyurt 0000-0003-1260-0671

elifkose@akdeniz.edu.tr

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

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

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii, Moraxellaceae familyasına ait Gram negatif, hareketsiz, non-fermentatif bir bakteridir[1-3]. İlk olarak 1911 yılında Beijerink tarafından tanımlanmıştır. O yıllarda bu türlerin çoğunluğunu çevresel organizmalar oluşturmaktaydı[1,2]. Son yıllarda ise bu tür, dünya çapında yaygın yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkili nozokomiyal salgınların major nedeni olarak tanımlanmaktadır[4]. *A. baumannii* üriner sistem enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları, bakteremi, menenjit, ventilatör-ilişkili pnömoni gibi çok çeşitli enfeksiyonlara sebep olmaktadır[1,5,6]. *A. baumannii* birçok antimikrobiyale karşı doğal dirençlidir. Ayrıca yeni antimikrobiyal direnç determinantlarını da kolaylıkla alabilme kapasitesine sahiptirler. Bu özelliklerinden dolayı günümüzde tedavisinde kullanılan birçok antibiyotiğe karşı (β-laktamlar, florokinolonlar, tetrasiklinler ve aminoglikozitler gibi) direnç geliştirmişlerdir. Çoklu direnç mekanizmalarına sahip olan bu patojen dünya çapında Çoklu İlaç Dirençli (ÇİD) *A. baumannii* olarak rapor edilmektedir[7]. Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme merkezlerinin (ECDC ve CDC), sağlık bakımıyla ilişkili birçok enfeksiyona neden olan organizmalarda ilaç direncini karakterize etmek için önerdiği tanıma göre, üç veya daha fazla antibiyotik sınıfında en az bir ilaca dirençli olan suşlar ÇİD olarak tanımlanmıştır[8]. ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak etkili antibiyotiklerin sayısının sınırlı olması ciddi klinik problemlere neden olmaktadır[3].

Kolistin, polimiksin grubundan eski bir antibiyotik olup nefrotoksik ve nörotoksik özelliklerinden dolayı kullanımından vazgeçilmiştir. ÇİD gram negatif türlerin ortaya çıkması ve *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olması kolistini yeniden tedavi seçeneği hâline getirmiştir[6]. Fakat tedavide kullanılmaya başlanmasını takiben kolistine dirençli ve heterodirençli *A. baumannii* suşları rapor edilmektedir. Bu durumda klinik tedavideki başarıyı arttırmak için kolistin temelli kombinasyon terapileri ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde uygun seçenek olarak uygulanmaktadır[9].

Çoklu ilaç dirençli Gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisi için amaçlanan potansiyel stratejiler arasında antibiyotiklere alternatif antimikrobiyal etken maddelerin keşfi ya da geliştirilmesi yer almaktadır. Ayrıca doğal bir bileşik ve antibiyotiğin kombinasyonu ile antimikrobiyal etkinin arttırılması da diğer bir strateji olarak düşünülmektedir[10]. Günümüzde antimikrobiyal özellikli doğal bileşikler gerek tek başına gösterdikleri etki ile gerekse kombinasyon terapilerindeki aktiviteleri ile dikkat çekmektedirler[11]. Bitki ekstaktları ve onların ikinci metabolitleri (kumarinler, flavonoidler ve non-flavonoid polifenoller ve terpenler gibi) antimikrobiyal özellik sergileyen bileşiklerdir[12]. Fenolik monoterpen olan karvakrol, Origanum ve Thymus gibi bitki türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşen olup, antik çağlardan beri geleneksel tıpta yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Anti-inflamatuvar, antioksidant, antitümör ve insektisidal gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olan karvakrol aynı zamanda birçok patojene karşı çok güçlü antimikrobiyal aktivite sergilemektedir[13]. Çeşitli antibiyotikler ile kombinasyonları sonucunda sinerjistik aktivite sergilediği de son zamanlarda rapor edilmektedir[14].

Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada kolistin dirençli *A. baumannii* suşuna karşı karvakrol ile kolistin kombinasyonlarının in vitro etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bakteri suşları ve antimikrobiyal etken maddeler: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji bölümünde klinik örneklerden izole edilmiş ÇİD sekiz *A. baumannii* suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Suşlar koyun kanlı agar besiyerine (Becton Dickinson, ABD) ekilen ve 35±2°C'de bir gece inkübasyonu takiben üreyen kolonilerden MALDITOF-MS (Bruker Biotyper Daltonik, Almanya) yöntemi ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılarak tanımlanmıştır.

Suşların kolistine in vitro duyarlılıkları kolistin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Kolistin sülfat (C4461, Sigma Aldrich) kullanılarak, 128 ile 0.125 µg/ml konsantrasyonlar arasında, çift kat dilüsyonlar şeklinde hazırlanan mikroplaklarda ISO-standart sıvı mikrodilüsyon yöntemi (20776-1) uyarınca ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)/The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerilerine göre çalışılmıştır. Sonuçlar EUCAST standartlarında belirlenen klinik sınır değerlere göre (≤2 µg/ml duyarlı ve >2 µg/ml dirençli) değerlendirilmiştir. Suşların diğer antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları ise BD Phoenix otomatize sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılarak belirlenmiş, sonuçlar EUCAST standartlarında belirlenen klinik sınır değerlere göre değerlendirilmiştir. Çalışmada, test edilen suşlar üç veya daha fazla antibiyotik sınıfında en az bir ilaca dirençli olduğundan ÇİD olarak belirlenmiştir. Sekiz *A. baumannii* suşunun antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 1'de verilmiştir.

ÇİD olarak belirlenen sekiz *A. baumannii* suşunda karvakrolün Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri saptanmıştır. Dama Tahtası (Checkerboard) Sinerji Testi ile de kolistin ve karvakrolün kombinasyon aktiviteleri değerlendirilmiştir. Kalite kontrol suşları olarak duyarlı suş *Escherichia coli* ATCC 25922 ve dirençli suş *E. coli* NCTC 13846 kullanılmıştır.

Kolistin antibiyotiğinin stok çözeltisi (512 µg/ml) distile suda çözülerek porsiyonlanıp -80°C'de saklanmıştır. Karvakrol (W224511, Sigma-Aldrich) saf etanolde çözülerek stok solüsyon (10 mg/ml) testin uygulanacağı zaman günlük olarak hazırlanmıştır.

Karvakrol ve kolistinin MİK değerlerinin saptanması: Karvakrol ve kolistinin MİK değerlerinin belirlenebilmesi için CLSI tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır[15,16]. Besiyeri olarak, katyon eklenmiş Mueller Hinton Broth (MHB, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. İlk olarak, 50 µl besiyeri 96 kuyucuklu steril mikrodilüsyon plaklarının her bir kuyucuğuna eklenmiştir. Daha sonra kolistin (512 µg/ml) veya karvakrol (512 µg/ml) solüsyonlarından 50 µl alınarak ilk kuyucuğa konulup seri dilüsyonları yapılmıştır. Her bir kuyucukta final bakteri konsantrasyonu $5x10^5$ hücre/ml olacak şekilde inokulum süspansiyonu eklenmiştir. Ayrıca bakteri için bakteri üreme kontrolü (MHB+mikroorganizma), her mikrodilüsyon plağı için besiyeri sterilite kontrolü (MHB) çalışılmıştır. Mikrodilüsyon plakları 35°C'de 16-20 saat süre ile aerop koşullarda etüvde inkübe edilmiştir. Antibiyotik içeren kuyucuklardaki üreme yoğunluğu her test setinde kullanılan kontrol kuyucuklarındaki (antibiyotiksiz) üreme yoğunluğu ile kıyaslanarak MİK değerleri belirlenmiştir. MİK, bakterilerin mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden ve çıplak gözle belirlenebilen

Tablo 1. Sekiz *Acinetobacter baumannii* suşunun antibiyotiklere duyarlılıkları.

Antibiyotik	*A. baumannii* -1	*A. baumannii* -2	*A. baumannii* -3	*A. baumannii* -4	*A. baumannii* -5	*A. baumannii* -6	*A. baumannii* -7	*A. baumannii* -8
Siprofloksasin	R	R	R	R	R	R	R	R
Levofloksasin	R	-	R	-	R	R	-	-
Kolistin	R	R	R	R	R	R	R	R
Gentamisin	R	R	R	R	R	R	R	R
Amikasin	R	R	R	R	R	R	R	R
Netilmisin	-	-	-	R	-	-	R	R
Tobramisin	R	-	R	-	R	-	-	-
İmipenem	R	R	R	R	R	R	R	R
Meropenem	R	R	R	R	R	R	R	R
Trimetoprim/Sulfametoksazol	S	R	R	R	R	R	S	R

en düşük antimikrobik ilaç konsantrasyonudur. Her bir deney üç kere yinelenmiştir.

Dama Tahtası (Checkerboard) sinerji testi: Karvakrol ve kolistinin kombine etkisinin araştırılması için Dama tahtası (Checkerboard) yöntemi uygulanmış olup, bu test mikrodilüsyon esasına dayanan sinerji testlerinden biridir. Besiyeri olarak, katyon ayarlı MHB kullanılmıştır. Her iki farklı madde kombinasyonunun etkinliği, her bir izolat için 96 kuyucuklu plak üzerinde test edilmiştir. Konsantrasyon aralığı daha önce tespit edilen MİK değerlerinin iki ila dört katı (2xMİK, 4xMİK) konsantrasyondan başlayacak şekilde ayarlanmış olup, karvakrol için altı ila yedi dilüsyon (1/64xMİK, 1/128xMİK), kolistin için ise dört ila beş dilüsyon aşağı konsantrasyonlara (1/16xMİK, 1/32xMİK) kadar inilmiştir. Her iki maddenin stok solüsyonları farklı konsantrasyonlarda sulandırılarak hazırlanmıştır. Plak üzerinde her iki ilacın MİK değerleri dama tahtası testi ile eşzamanlı olarak yine çalışılmıştır. Kuyucuklara her bir antimikrobiyal etken maddeden 50 µl, toplamda bir kuyucukta 100 µl konsantrasyon olacak şekilde kombin edilerek konulmuştur. Ayrıca bir kuyucuk bakteri üreme kontrolü, başka bir kuyucuk da besiyeri sterilite kuyucuğu olarak kullanılmıştır. Bakteri inokulumu ilk olarak steril %0.9 NaCl solüsyonunda 0.5 McFarland ($1x10^8$ hücre/ml) standart yoğunluğuna göre hazırlanmış olup, kuyucuklardaki en son bakteri konsantrasyonu $5x10^5$ hücre/ml olacak şekilde kuyucuklara eklenmiştir. Mikrodilüsyon plakları 35°C'de 16-20 saat süre ile aerop koşullarda etüvde inkübe edilmiştir. Her bir deney üç kere belirlenmiştir.

Sonuçların yorumlanması için önce her iki antimikrobiyal etken maddenin ayrı ayrı Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyonu (FİK) hesaplanmıştır. Buna göre FİKa=(a maddesinin kombinasyondaki MİK değeri/a maddesinin tek başına MİK değeri), FİKb=(b maddesinin kombinasyondaki MİK değeri/b maddesinin tek başına MİK değeri) formüllerine göre FİK değerleri bulunmuş olup FİKa ile FİKb toplanarak FİK indeks (FİKİ) hesaplanmıştır. Çıkan değerde; FİKİ ≤ 0.5 ise sinerjistik etki, 0.5 < FİKİ ≤ 4 ise aditif etki, FİKİ > 4 ise antagonistik etki olarak yorumlanmıştır[17].

BULGULAR

Bu çalışmada, karvakrolün kolistin dirençli *A. baumannii* suşları üzerine tek başına ve kolistin ile kombine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada test edilen sekiz adet *A. baumannii* suşuna karşı karvakrolün MİK değerleri 64-128 µg/ml aralığında elde edilirken, kolistin MİK aralığı ise 16-64 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu değerler ile çalışmada kullanılan *A. baumannii* suşlarının kolistin direnci doğrulanmıştır. Kontrol olarak kullanılan *E. coli* NCTC 13846 ve ATCC 25922 için kolistin MİK değerleri sırasıyla 4 µg/ml ve 0.5 µg/ml olarak belirlenmiş olup, bu değerler CLSI/EUCAST'ın belirlediği MİK değerleri aralığında bulunmuştur. Sekiz suşa karşı antimikrobiyal etken maddelerin aktivitesini belirlemek amaçlı uygulanan mikrodilüsyon testi sonuçlarına göre elde edilen MİK değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı karvakrol ve kolistinin MİK değerleri.

	MİK (µg/ml)	
Suşlar	**Kolistin**	**Karvakrol**
A. baumannii -1	16	64
A. baumannii -2	64	128
A. baumannii -3	32	128
A. baumannii -4	32	128
A. baumannii -5	16	128
A. baumannii -6	16	64
A. baumannii -7	32	64
A. baumannii -8	8	128
E. coli NCTC 13846	4	128
E. coli ATCC 25922	0.5	128

Karvakrol ve kolistinin kombinasyonu sonucu elde edilen verilere göre sekiz suşun beşine karşı sinerjistik etki, üçüne karşı ise aditif etki belirlenmiştir. Kombinasyon testinin sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. Sinerjistik etki belirlenen suşların ikisinde 0.5, diğer iki suşta 0.375 ve bir suşta ise 0.25 FİKİ değerleri elde edilmiştir. Diğer üç *A. baumannii* suşunda ise 1, 0.625 ve 0.53 FİKİ değerleri ile aditif etki belirlenmiştir. Antibiyotik ve karvakrol için elde edilen MİK değerleri kombinasyondaki MİK değerleri ile karşılaş-

Tablo 3. Kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı karvakrol ile kolistinin kombinasyonu sonucu elde edilen değerler.

Suşlar	Etken maddeler	Kombinasyondaki MİK (µg/ml)	FİK	FİKİ	Sonuç
A. baumannii -1	Kolistin Karvakrol	0.5 32	0.03 0.5	0.53	Aditif
A. baumannii -2	Kolistin Karvakrol	8 16	0.125 0.125	0.25	Sinerji
A. baumannii -3	Kolistin Karvakrol	4 32	0.125 0.25	0.375	Sinerji
A. baumannii -4	Kolistin Karvakrol	8 32	0.25 0.25	0.5	Sinerji
A. baumannii -5	Kolistin Karvakrol	4 32	0.25 0.25	0.5	Sinerji
A. baumannii -6	Kolistin Karvakrol	2 32	0.125 0.5	0.625	Aditif
A. baumannii -7	Kolistin Karvakrol	16 32	0.5 0.5	1	Aditif
A. baumannii -8	Kolistin Karvakrol	2 16	0.25 0.125	0.375	Sinerji

tırıldığında en az iki kat azalma saptanmıştır.

TARTIŞMA

Direnç sorununun üstesinden gelebilmek için önerilen alternatif stratejilerden birisi antimikrobiyal özelliğe sahip bitki uçucu yağları ve onların içeriğinde bulunan maddelerin kullanılmasıdır. Diğer bir olasılık da varolan antibiyotiklerin bir fitokimyasal ile kombin edilerek antibiyotiğin etkinliğinin arttırılmasıdır. Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışma ile karvakrolün kolistin dirençli *A. baumannii* suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi ortaya konulmuştur. Ayrıca kolistin ile olan kombinasyon etkisi değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre karvakrol *A. baumannii* suşlarına karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Kolistin ile kombin edildiğinde sekiz suşun üçünde aditif etki belirlenirken, beşinde sinerjistik aktivite gözlenmiştir. Yani karvakrol kolistinin antibakteriyel aktivitesinde artışa neden olarak kolistin direncinin düşmesini sağlamıştır.

Literatürde karvakrolün antibakteriyel aktivitesi ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların bazıları kombinasyon ile ilgili olup, karvakrolün birçok antibiyotik ile sinerjistik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Magi ve ark.[14] eritromisin dirençli Grup A Streptokoklara karşı karvakrolün antimikrobiyal aktivitesini 64-256 µg/ml MİK aralığında bulmuşlardır. Eritromisin ile karvakrol kombinasyonunun ise 32 türün 21'inde sinerjizm ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir. Nalidiksik aside dirençli bakterilere karşı karvakrol ve nalidiksik asit kombinasyonunun araştırıldığı diğer bir çalışmada, sekiz bakteri türünün beşine karşı sinerjistik aktivite saptanmıştır[18]. Karvakrolün, *Salmonella* Typhimurium'a karşı ampisilin, tetrasiklin, penisilin, eritromisin ve novobiyosinle, *Staphylococcus aureus*'a karşı ampisilin, penisilin ve basitrasinle, *Streptococcus pyogenes*'e karşı da eritromisinle kombinasyon aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada ise sinerjistik aktivite elde edilmiştir[19].

Monoterpen yapısındaki karvakrol uçucu yağlarda bulunan fenolik bir bileşiktir. Yapısındaki aromatik zincirden dolayı hidrofobik, fenolik –OH grubundan dolayı da hidrofilik özellik sergileyebilmektedir. Karvakrolün kimyasal yapısındaki bu özellikler antimikrobiyal aktivitesinin nedeni olarak görülmektedir[20]. Karvakrolün bakteriler üzerinde membran bütünlüğünü bozarak, membran akışkanlığını arttırarak, ATPaz aktivitesini inhibe ederek, hücre iyon dengesizliği oluşturarak ve proton motiv gücünü redükte ederek aktivite

gösterdiği belirlenmiştir[10].

Dirençli *A. baumannii* suşlarına karşı birçok bitkisel kökenli bileşenin antibakteriyel aktivitesi direnç sorununa çözüm bulmak adına birçok araştırmacı tarafından araştırılmaktadır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada *Myrtus communis* uçucu yağının 20 adet ÇİD *A. baumannii* suşuna karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu uçucu yağın polimiksin B ve siprofloksasin antibiyotikleri ile ayrı ayrı kombin edilmesi sonucunda 0.5 ve altında FİKİ değerleri ile sinerjizm gösterdiği saptanmıştır[3]. Diğer bir çalışmada ise, *Eucalyptus camaldulensis* uçucu yağının ÇİD *A. baumannii* suşlarına karşı 0.5-2 µl/ml MİK değerleri ile antibakteriyel aktivite gösterdiği saptanmıştır. Siprofloksasin, gentamisin ve polimiksin B antibiyotikleri ile yapılan kombinasyonlarda ise sinerjistik etki gözlenmiştir[21]. Duarte ve ark.[22] ise *A. baumannii*'nin iki referans türüne karşı altı farklı antibiyotik ile kişniş yağının kombinasyon etkisini araştırdıkları çalışmalarında, kloramfenikol, siprofloksasin, gentamisin ve tetrasiklin antibiyotikleri ile uçucu yağın sinerjistik etki gösterdiğini bulmuşlardır.

Bu çalışma elde edilen literatür araştırmalarına dayanarak kolistin dirençli *A. baumannii* suşlarına karşı karvakrolün kolistin ile kombinasyon etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmanın sonuçlarına göre, kolistin dirençli *A. baumannii* enfeksiyonları için uygulanan kombinasyon tedavilerinde karvakrol, kolistinin etkinliğini arttırmak için gelecekte bir seçenek olarak kullanılabilir. Bu bağlamda güvenli ilaç kombinasyonlarının geliştirilebilmesi için in vivo çalışmalar gibi daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmamız süresince desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Dilara Öğünç'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Tiwari V, Roy R, Tiwari M. Antimicrobial active herbal compounds against *Acinetobacter baumannii* and other pathogens. Front Microbiol. 2015;6:618 https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00618
2. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. Virulence. 2012;3(3):243-50. https://doi.org/10.4161/viru.19700
3- Aleksic V, Mimica-Dukic N, Simin N, Stankovic Nedeljkovic N, Knezevic P. Synergistic effect of Myrtus communis *L. essential* oils and conventional antibiotics against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* wound isolates. Phytomed. 2014;21:1666-74. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.08.013
4. Chusri S, Villanueva I, Voravuthikunchai SP, Davies J. Enhancing antibiotic activity: a strategy to control *Acinetobacter* infections. J Antimicrob Chemother. 2009;64(6):1203-11. https://doi.org/10.1093/jac/dkp381
5. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. Int J Antimicrob Agents. 2010;35(3):219-26. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.10.024
6. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. J Antimicrob Chemother. 2012;67(7):1607-15. https://doi.org/10.1093/jac/dks084
7. Michalopoulos A, Falagas ME. Treatment of *Acinetobacter* infections. Expert Opin Pharmacother. 2010;11(5):779-88. https://doi.org/10.1517/14656561003596350
8. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012;18(3):268-81. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
9. Ni W, Shao X, Di X, Cui J, Wang R, Liu Y. In vitro synergy of polymyxins with other antibiotics for *Acinetobacter baumannii*: a systematic review and meta-analysis. Int J Antimicrob Agents. 2015;45(1):8-18. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.10.002
10. Langeveld WT, Veldhuizen EJA, Burt SA. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. Crit Rev Microbiol. 2014;40(1):76-94. https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219
11. Betts JW, Wareham DW. In vitro activity of curcumin in combination with epigallocatechin gallate (EGCG) versus multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. BMC Microbiol. 2014;14(1):172. https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-172
12. Marchese A, Barbieri R, Coppo E, et al. Antimicrobial

activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. Crit Rev Microbiol. 2017;43(6):668-89.
https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1295225

13. Nostro A, Papalia T. Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future prospectives. Recent Pat Antiinfect Drug Discov. 2012;7:28-35.
https://doi.org/10.2174/157489112799829684
14. Magi G, Marini E, Facinelli B. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. Front Microbiol. 2015;6:165.
https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00165
15. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M07-A10, 10th ed. CLSI, Wayne: ABD; 2015.
16. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Informational Supplement M100-S25. 25th ed. CLSI, Wayne: ABD; 2015.
17. Moody J. Synergism testing: broth microdilution checkerboard and broth macrodilution methods. In: Isenberg HD (Ed.) Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, 2007: p.5.12.1-5.12.23.
18. Choi JG, Kang OH, Lee YS, et al. Antibacterial activity of methyl gallate isolated from *Galla rhois* or carvacrol combined with nalidixic acid against nalidixic acid resistant bacteria. Molecules. 2009; 14(5):1773-80.
https://doi.org/10.3390/molecules14051773
19. Palaniappan K, Holley RA. Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. Int J Food Microbiol. 2010;140:164-8.
https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.001
20. Memar MY, Raei P, Alizadeh N, Aghdam MA, Kafil HS. Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. Rev Med Microbiol. 2017;28(2): 63-8.
https://doi:10.1097/MRM.0000000000000100
21. Knezevic P, Aleksic V, Simin N, Svircev E, Petrovic A, Mimica-Dukic N. Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oils and their interactions with conventional antimicrobial agents against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. J Ethnopharmacol. 2016;3(178):125-36.
https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.008
22. Duarte A, Ferreira S, Silva F, Domingues FC. Synergistic activity of coriander oil and conventional antibiotics against *Acinetobacter baumannii*. Phytomedicine. 2012;19:236-8.
https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.11.010

Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(2):74-85
doi:10.5222/TMCD.2019.074

Araştırma / *Research Article*

İstanbul'da Satılan Pişmiş Tavuk Dönerlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması

Investigation of Microbiological Quality of Cooked Chicken Doner Sold in Istanbul

Ayla Ünver Alçay

İstanbul Aydın Üniversitesi, Anadolu BİL Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlarda tavuk ve tavukla hazırlanan ürünlerin önemli bir yeri tuttuğu bilinmektedir. Günümüzde, ülkemizde hızlı-hazır yemek sektörü hızla gelişmiştir ve bu sektörün önde gelen yiyeceklerinin başında, ekonomik olması nedeniyle kanatlı etlerinden yapılan dönerler gelmektedir. Bu çalışmada, İstanbul'da sevilerek ve yaygın olarak tüketilen tavuk dönerlerin mikrobiyolojik açıdan kalitesinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Toplam 30 adet pişmiş tavuk döner numunesi, İstanbul şehir merkezinden, nisan-temmuz 2018 tarihleri arasında rastgele olarak restoranlardan alınmış ve toplam mezofilik aerob bakteri sayısı (TAMB), Enterobacteriaceae sayısı, Escherichia coli, Salmonella spp. ve Staphylococcus aureus mikrobiyal kalite göstergesi olarak araştırılmıştır.*
Bulgular: *Pişmiş tavuk döner örneklerinde TAMB sayısı $2.4x10^3$-$5x10^5$ cfu/g, Enterobacteriaceae sayısı <10 cfu/g-$4x10^2$ cfu/g, Staphylococcus aureus sayısı <10 cfu/g-$4x10^4$ cfu/g, Escherichia coli sayısı ise <10 cfu/g-$2x10^1$ cfu/g olarak bulunmuştur. Dönerlerden izole edilen bakterilerden Gram negatif olanların identifikasyonu yapılmış ve Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Klebsiella oxytoca, Serratia liquefaciens, Serratia odorifera biogp 1, Serratia liquefaciens, Pantoea agglomerans saptanmıştır. Bir örnekte Salmonella spp. belirlenmiştir ve Salmonella Arizonae olarak identifiye edilmiştir.*
Sonuç: *Yapılan analizler sonucunda, bazı tavuk dönerlerin gıda güvenliği ve halk sağlığı açışından risk oluşturabileceği sonucuna varılmıştır.*

Anahtar kelimeler: *Tavuk döner, mikrobiyolojik kalite*

ABSTRACT

Objective: *It is known that chicken and chicken products have an important role in foodborne infections and intoxications. Nowadays, the fast-food sector has developed rapidly in our country and the leading food of this sector, is doner kebab made of poultry meat, because of its economical price. In this study, it is aimed to evaluate the microbiological quality of chicken doner kebab which is widely, and fondly consumed in Istanbul.*
Method: *A total of 30 cooked chicken doner kebab samples were collected randomly from different restaurants in the city center of Istanbul between April and July 2018 and the total number of aerobic mesophilic bacteria (TAMB), and the number of Enterobacteriaceae, Escherichia coli, Salmonella spp. and Staphylococcus aureus were investigated as indicators of microbial quality.*
Results: *In the cooked chicken doner samples; the number of TAMB ($2,4x10^3$-$5x10^5$ cfu/g), Enterobacteriaceae (<10 cfu/g-$4x10^2$ cfu/g), S. aureus (<10 cfu/g-$4x10^4$ cfu/g) and Escherichia coli (<10 cfu/g-$2x10^1$ cfu/g) were identified as indicated. Of the bacteria isolated from the doner kebab samples gram-negatives bacteria, Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Klebsiella oxytoca, Serratia liquefaciens, Serratia odorifera biogp 1, Serratia liquefaciens, Pantoea agglomerans were identified. In one sample, Salmonella spp was detected and identified as Salmonella Arizonae.*
Conclusion: *As a result of the analysis, it was concluded that some chicken doner kebaps could pose a risk to food safety and public health.*

Keywords: *Chicken doner kebap, microbiological quality*

Alındığı tarih:
18.01.2019
Kabul tarihi:
24.04.2019
Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCİD Kayıtları

A. Ünver Alçay 0000-0003-3254-155X

aylaalcay@aydin.edu.tr

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

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

GİRİŞ

Türkiye'de hızlı-hazır (fast-food) yiyecekler içerisinde ilk sıralarda gelen, ülkemizin çok bilinen bir gastronomik değeri olan döner kebap, Türkiye dışında, başta Türklerin yoğun olarak yaşadığı Almanya, Hollanda, Belçika, Balkan ülkeleri olmak üzere Sibirya'dan Amerika Birleşik Devletleri'ne, Japonya'dan Senagal kadar birçok ülkede beğenilerek tüketilmektedir[1]. Yunanistan'da "gyros", Avustralya'da "yeeros", İran'da "törki kebap", Hollanda'da "shaverma", Suudi Arabistan ve Ürdün'de ise "shawarma" şeklinde isimlendirilmektedir[2,3]. Bu özel kebabın ızgara şekli, tat ve malzemeleri ülkeden ülkeye biraz farklı olabilir. Döner kebap üretiminde, günümüzde başlıca kuzu eti, koyun eti, sığır eti, keçi, tavuk veya hindi eti kullanılabilmektedir[4].

Döner kebabın tarihçesi net olarak bilinmemektedir. Yazılı ve görsel belgelere dayanılarak döner kebabın 17. yüzyılda İstanbul'un saray çevresinde bilinen bir lezzet olduğu anlaşılmaktadır[5,6]. Anadolu'da gezen bir Fransız olan Bertrandon de la Brocquière[8], 1433 yılında Bursa'da kendisine, kızarırken içinin pişmesini beklemeden dilimler kesilen bir koyun kebabı ikram edildiğinden bahseder. 1852 yılında İstanbul'a seyahat eden Fransız Théophile Gautier[9], dönerde şişin dik olduğundan ilk bahseden kişidir. Şişin dik duruma getirilmesinin nedeninin üretim esnasında daha az yer kaplaması için kebapçıların geliştirdikleri çözüm olduğu düşünülmektedir[6]. Döner kebabın ilk yazılı kaydı Evliyâ Çelebi'nin ''Seyahatnamesi''nde geçmektedir[7]. Bu kitapta, Bin altı yüzlü yıllarda, Kırım Tatarları'nın yatay şişte hazırladıkları ve özellikle konukseverliği göstermek için misafirlerine ikram ettikleri kebap tarif edilmektedir. İlk dönerin Bursa veya Kastamonu illerinde yapılmış olduğuna dair rivayetler de vardır[1,5,10].

Son yıllarda, ekonomik olması nedeniyle tavuk dönerine olan talep artmış ve de ülkemizde çok sevilen ürünler arasında tavuk döner yerini almıştır. Özçelik ve Sürücüoğlu[11], yaptıkları araştırmada Ankara'da 5 ayrı lokantada, 400 kişi (187 erkek, 213 kadın) ile anket araştırması yapmışlar ve tüketiciler en çok tercih ettiği geleneksel hızlı-hazır yiyeceğin et döneri olduğunu, bunu tavuk dönerinin takip ettiğini belirlemişlerdir.

Türk Gıda Kodeksi "Çiğ Kırmızı Et ve Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları Tebliği"[12]ne göre döner, büyük ya da küçükbaş hayvanın etlerinden bir tanesi veya daha fazlasından hazırlanan karışımına; lezzet arttırıcı maddeler, kuyruk yağı, süt, yumurta vb. ürünlerden bazılarının ilavesiyle pişmeye hazır duruma gelmesiyle hazırlanmış et karışımları olarak adlandırılmaktadır. Piyasada sucuk baharatları ile terbiye edilip hazırlanan sucuk döner, hindi etlerinin terbiye edilip şişlere takılması ile hazırlanan hindi döner ve hatta az da olsa somon balığı ile hazırlanan somon döner de bulunmaktadır. Ancak bu ürünler mevcut gıda mevzuatımızda henüz yerini almamıştır.

Döner kebap üretiminde ilk olarak etlerin çeşni verici maddeler (örneğin süt, süt tozu, yoğurt, sıvı yağ, domates suyu veya salçası, limon suyu, sirke, yumurta, üzüm şırası) ilave edilerek ve çeşitli özel baharatlar (kırmızıbiber, karabiber, kimyon, yenibahar, kekik) karışımı ile 3-12 saat dinlendirilerek marinasyonu yapılır. Tavuk ve hindi etlerinden hazırlanan kıyma hamuru daha yumuşak yapıda olduğundan, hamura süt tozu, soya unu gibi kıvam arttırıcılar da katılmaktadır. Marinasyondan sonra etler döner şişine yerleştirilirler; traşlanır ve ateş karşısında devamlı çevrilerek dönerin pişmesi sağlanır. Odun ateşi kullanılan ocaklarda pişirilen dönerlerin, duyusal açıdan daha üstün olduğu ve daha çok tercih edildiği bilinmektedir[1]. Günümüzde ağırlıklı olarak LPG'li ve elektrikli ocaklar kullanılmaktadır. Piştikten sonra, uzun bıçaklarla, yukarıdan aşağıya doğru 3-5 mm kalınlığında parçalar kesilerek ya sade olarak ya da pilav üstünde, ekmek, pide ya da lavaş içinde; turşu, sotelenmiş sebze, garnitür veya salata ile birlikte servisi yapılır[1,13-16].

Döner kebabın mikrobiyolojik kalitesi, kullanılan kırmızı veya kanatlı etlerin florasında bulunan mikroorganizmalar, pişirme ve servis sırasındaki kontaminas-

yonlar ve ayrıca birlikte servis edildiği garnitürler ile yakından ilişkilidir. Döner, bileşimine, ürünün şekline ve boyutuna bağlı olarak, ısı transferleri için ideal bir et ürünü değildir. Dönerin ortasındaki başlangıç sıcaklığı, düzensiz şekli ve büyüklüğü nedeniyle pişirme sırasında uzun süre sabit kalır. Dönerin bu yapısı merkezden kütlenin çevresel kısımlarına bakteri çoğalmasına izin verebilecek bir sıcaklık gradyanı yaratır. Döner kitlesinin iç kısımlarına yeterli sıcaklık ulaşmaması nedeniyle pişmemiş kalan yerlerdeki ve ayrıca hızlı servis nedeniyle yetersiz pişirilerek kesilen dilimlerdeki patojenik mikroorganizmaları imha etmek mümkün olmayabilir[17].

Ülkemizde yapılan birçok araştırmayla tüketime hazır döner kebapların mikrobiyolojik kalitesinin iyi olmadığı belirlenmiştir. Türkiye'de birçok çalışma çiğ veya pişmiş döner örneklerinde patojenlerin varlığına işaret etmektedir. Bu yapılan araştırmalarla koliform, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Listeria monocytogenes, Escherichia coli* O157:H7 varlığı tesbit edilmiştir[2,3,23,31,35]. Bu çalışmada, İstanbul'da satılan dönerlerin mikrobiyolojik kalitesini ortaya koymak amacıyla, farklı işletmelerden rastgele örnekleme metoduyla 30 adet pişmiş tavuk döner örneği toplanmış; toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı (TAMB), *Enterobacteriaceae* bakterileri, *Salmonella* spp, *E. coli* ve koagulaz pozitif stafilokok indikatör olarak seçilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örnek alımı: İstanbul şehir merkezinden, Nisan-Temmuz 2018 tarihleri arasında, rastgele örnekleme ile seçilen lokanta ve döner servisi yapılan büfelerden toplam 30 yerden, 30'ar adet pişmiş tüketime hazır tavuk döner, ayrı ayrı steril tek kullanımlık numune kapları içerisine, usulüne uygun olarak alınmış ve soğuk şartlarda laboratuvara getirilerek bekletmeden analize başlanmıştır.

Örneklerin analize hazırlanması: Mikrobiyolojik analizler amacıyla, aseptik şartlarda, pişmiş tavuk döner örnekleri 25 g miktarında steril bir poşete tartılarak üzerine ¼ Ringer (Merck, 115525 -Almanya) çözeltisinden 225 ml miktarında ilave edilmiş ve Stomacher (Easy Mix Stomacher, AES Chemunex, Fransa) cihazında homojen hale getirilmiş ve on katlı dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Mikrobiyolojik analizler: Pozitif kontrol suşları (Kontrol suşları) olarak *E. coli* ATCC 25922 (BD Cat. No. 254986), *S. aureus* ATCC 25923 (BD, Cat. No 254995) ve *Salmonella* Typhimurium ATCC (BD Cat. No. 254993) kullanılmıştır.

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı: Hazırlanmış olan dilusyonlardan dökme plak yöntemiyle steril petrilerdeki besiyerlerine (Plate Count Agar (PCA)-Merck, 1.05463, Almanya) ekimler yapılmıştır[18] ve 30±1°C'de 3 gün inkübe edilmiş ve koloni görülen petri kapları değerlendirmeye alınmıştır. PCA'da üreyen koloniler sayılarak dilusyon faktörüyle çarpılmış ve Toplam Aerob Mezofilik Bakteri (TAMB) sayısı hesaplanmıştır.

Enterobacteriaceae sayımı: Hazırlanan dilusyonlardan, Violet Red Bile Glucose Agar (Merck 1.10275, Almanya) besiyerine ekim yapılmış ve 30±1°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkubasyon sonunda, 1-2 mm çaplı, kırmızı ve etrafında halka şeklinde hâle oluşturan kolonilere oksidaz testi (Merck 1.13300, Almanya) uygulanmıştır. Negatif sonuç veren tipik koloniler sayılmıştır[19].

Escherichia coli sayımı: *E. coli* sayımı için ISO 16649-1:2018'e uygun olarak Tryptone Bile X-Glucuronide Agar (LAB-M HAL003) besiyeri kullanılmıştır[20]. Plaklar 44°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiş; opak mavimsi yeşil renkteki koloniler sayılarak değerlendirilmiştir.

Koagulaz pozitif stafilokok saptanması ve sayımı: Örneklerin dilusyonla seyreltilmesinden sonra, Baird Parker Agar (BPA) (Oxoid CM 275) besiyerine 50 ml/L miktarında Egg Yolk Tellurite Emulsion (Oxoid SR 54) eklenmiş ve oda sıcaklığında besiyeri donması beklendikten sonra her bir seyreltmeden ekim yapılmış

ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bu besiyerinde üreyen, şeffaf zonla çevrili, siyah renkli tipik koloniler ile atipik kolonilerden 5'er adet seçilerek koagulaz testi uygulanmış ve koagulaz pozitif stafilokok sayısı belirlenmiştir[21].

Salmonella spp. sayımı: ISO 6579-1[22] yöntemiyle yapılmıştır. Tüm örnekler aseptik koşullarda 25'er g steril Stomacher torbalarına tartılmış ve üzerine steril mezür yardımıyla 225 ml Buffered Peptone Water (BPW, Merck 107228) ilave edilmiştir. Stomacher cihazında homojenizasyon işlemi yapılmıştır. Homojen hale gelen süspansiyon, ön zenginleşme için 37˚C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkubasyondan sonra bu örneklerden 0.1 ml alınarak 10 ml Rappaport Vassiliadis Soya (RVS) Broth'a, (LABM, LAB086) 1 ml alınarak 10 ml Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin (MKTTn) Broth'a (LAB202- LABM) inoküle edilmiş ve MKTTn Broth'da 37˚C'de 24 saat, RVS Broth'da 41.5°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Üreme olan, RVS Broth ve MKTTn Broth besiyerlerinden (Xylose Lysine Desoksikolat (XLD) Agar (LABM-LAB032) ve *Salmonella* ABC Agar (LabM, HAL001) selektif besiyerlerine pasajlanmış ve 37˚C 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. XLD Agar'da siyah, *Salmonella* ABC Agar besiyerinde ise açık yeşil tonlarında şüpheli kolonilerden saflaştırma için Nutrient Agara (Merck 1.05450) pasajlanıp 37˚C de 24 saat inkübe edilmiştir.

Nutrient agara geçilen şüpheli kolonilere katalaz ve oksidaz testleri yapılmıştır. Gelişen koloniler öze yardımıyla alınarak oksidaz test stripine (Bactident Oxidase, Merck 113300) sürülmüş ve mor rengin oluşumu oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Katalaz pozitif, oksidaz negatif kolonilerin Api 20 E test stribine (bioMérieux, Fransa) inokulasyonu yapılmıştır. Strip 37˚C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Web tabanı ile karşılaştırılarak sonuçları alınmıştır.

Gram negatif bakterileri identifikasyonu: İdentifikasyon için API 20E (bioMérieux, Fransa) kiti kullanılmıştır ve yöntem üretici kit talimatına göre uygulanmıştır.

İstatistik analiz: Döner örneklerine ait mikroorganizma sayıları ortalama logaritmik değerlere çevrilmiştir. İstatistiki analizlerin yapılmasında SPSS 19 programı kullanılmıştır. Farklı firmalara ait örnekler arası kontroller bağımsız örnekleme t testi ile belirlenmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada, İstanbul'da satılan 30 adet pişmiş tavuk döner mikrobiyolojik kalite düzeyinin belirlenmesi amaçlanmış ve TAMB, *Enterobacteriaceae* bakterileri, *Salmonella* spp. ve koagulaz pozitif stafilokok gösterge olarak seçilmiştir. Sonuçlar Tablo 1'de görülmektedir.

Pişmiş tavuk döner örneklerinde sırasıyla ortalama olarak; TAMB sayısı $2.4x10^3$ cfu/g-$5x10^5$ cfu/g (3.38-5.70 log_{10}/g), *Enterobacteriaceae* bakterileri <10 cfu/g-$4x10^2$ cfu/g, koagülaz pozitif stafilokok <10 cfu/g-$4x10^4$ cfu/g, *E. coli* sayısı ise <10 cfu/g - $2x10^1$ cfu/g olarak bulunmuştur. Bir örnekte *Salmonella* Arizonae izolasyonu yapılmıştır. Bulguların dağılımları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde (2011) dönerde *Staphylococcus aureus* (koagulaz pozitif) için maksimum düzey 10^3 cfu/g olarak belirlenmiş; *Salmonella* spp. varlığına izin verilmemiştir.

Tablo 1. İncelenen tavuk dönerin mikrobiyolojik analiz sonuçları.

İncelenen mikroorganizma	Pozitif numune sayısı (adet)	cfu/gr	log_{10}/gr
TAMB	30	$2.4x10^3$-$5x10^5$	3.38-5.70
Enterobacteriaceae	12	<10-$4x10^2$	<1 -2.60
Escherichia coli	6	<10-$2x10^1$	<1 -1.30
Salmonella spp.	1	<10	0
Staphylococcus aureus	5	<10-$4x10^4$	<1 - 4.60

TAMB: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri Sayısı

Tablo 2. Tavuk döner örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçlarına göre frekans dağılımları.

		0-<10		≥10-<10^2		≥10^2- <10^3		≥10^3- <10^4		≥10^4- <10^5		≥10^5		
İncelenen Mikroorganizma	**n**	**f**	**p_i**	**f**	**p_i**	**f**	**p_i**	**f**	**p_i**	**f**	**p_i**	**f**	**p_i**	**$\bar{x}\pm S\bar{x}$**
TAMB	30	0	0	0	0	0	0	12	40	9	30	9	30	4.353±0.149
Enterobacteriaceae	30	15	50	0	0	0	30	3	10	3	10	0	0	1.902±0.276
Escherichia coli	30	27	90	3	10	3	0	0	0	0	0	0	0	0.121±0.067
Staphylococcus aureus	30	3	10	15	50	15	30	0	0	3	10	0	0	2.12±0.2
Salmonella spp	30	30	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.023±0.023

TAMB: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri Sayısı
** Her bir bakteri grubu için, aynı sütunda ve farklı satırlarda yer alan ortalama değerler arasındaki farklılık önemlidir (p<0.05)*

Tablo 3. Tavuk döner örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçlarına göre betimsel istatistik sonuçları (log_{10}).

Mikroorganizma	**Σ**	**$\bar{x}$**	**σ**	**σ2**	**$S\bar{x}$**	**Min**	**Max**	**Ranj**
TAMB	130.6	4.353	0.819	0.671	0.149	3.17	5.74	2.57
Enterobacteriaceae	57.05	1.902	1.512	2.285	0.276	0	4.95	4.95
Escherichia coli	3.62	0.121	0.37	0.137	0.067	0	1.3	1.3
Staphylococcus aureus	63.61	2.12	1.094	1.197	0.2	0.3	4.9	4.9
Salmonella spp	0.69	0.023	0.126	0.016	0.023	0	0.69	0.69

TAMB: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri Sayısı

İncelenen parametreler ve Türk Gıda Kodeksi yönetmeliğinde yer alan standart değer arasındaki fark (p>0.05) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Tablo 2 ve Tablo 3'de tavuk döner örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçlarına göre betimsel istatistik sonuçları verilmiştir.

TARTIŞMA

Bu araştırmada, TMAB, *Enterobacteriaceae* bakterileri, *Salmonella* spp. ve koagulaz pozitif stafilokok sayıları belirlenerek, İstanbul'da satılan 30 adet pişmiş tavuk döner örneğinin mikrobiyolojik kalitesi saptanmıştır. Hazır pişmiş tavuk döner numunelerinde TAMB sayısı $2.4x10^3$ cfu/g-$5x10^5$ cfu/g aralığında bulunmuştur. Gıdaların mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde önemli önemli bir kriter olan TAMB sayısının bu tür ürünlerin sınır değeri <5 log_{10} cfu/g'dır[14,23]. Pişmiş döner örneklerinin 9 adedinin (%30) sınır değeri olan <5 log_{10} cfu/g'ın üzerinde olduğu saptanmıştır.

Kayışoğlu ve ark.[3], Tekirdağ/Türkiye'de beş farklı hızlı-hazır yemek restoranından aldıkları toplam 60 adet ham ve pişirilmiş döner kebap örneklerinde TAMB sayısını sırasıyla 5.68 ve 4.92 cfu/g aralığında, ortalama 4.86 log_{10} cfu/g olarak saptamışlardır. Vazgeçer ve ark.[24]'nın yaptıkları araştırmada, 72 kuruluştan 72 adet tavuk döner kebabı numunesi alınmış, TMAB sayıları $1.0x10^2$-$64x10^5$ g^{-1} aralığında belirlenmiştir. Cebirbay[25] piyasadan toplanan döner numunelerinde TMAB sayısını ortalama 4.97 log_{10} cfu/g olarak; Ergönül ve Kundakçı[26] Manisa'da aldıkları çiğ tavuk döner örneklerinde 6.51 log_{10} cfu/g TAMB saptamışlardır. Hampikyan ve ark.[27], İstanbul'da satılan 95 adet ızgara tipi gıda (ızgara et, köfte, kebap, döner ve kokoreç) örneğinde TAMB sayısını $1.2x10^1$–$5.4x10^6$ cfu/g aralığında saptamıştır. Bostan ve ark.[24]'nın araştırmasında Avcılar/İstanbul'da 20 farklı hızlı-hazır yemek restoranlarından toplam 30 adet döner örneği toplanmış ve TMAB sayısı ağırlıklı olarak 10^3 - 10^4 cfu/g miktarında belirlenmiş; bazı örneklerde ise 10^6 cfu/g gibi yüksek bir düzeyde de saptanmıştır. Yuksek ve ark.[29]'nın araştırmasında Bursa'da yemeye hazır pişmiş kırmızı et ve tavuk dönerlerde $1.7x10^3$ cfu/g TAMB tesbit edilirken, Öksüztepe ve Beyazgül[4], Elazığ'da satışa sunulan 80 adet pişmiş (40 adet et, 40 adet tavuk) döner örneği alarak yaptıkları araştırmada, pişmiş et ve tavuk döner örneklerinde sırasıyla ortalama olarak

TAMB sayısını 4.98 ve 5.11 log_{10} cfu/g olarak belirlemişlerdir.

Toplam aerobik mezofilik bakteri açısından, tüm bu yapılan çalışmalarla bu araştırmanın sonucu karşılaştırıldığında, farklı sonuçların ve dönerden dönere geniş bir aralıkta TAMB saptanmasının sebebinin, hammaddeden bitmiş ürünün servisine kadar olan tüm aşamalarda farklı mikroorganizma kontaminasyon seviyelerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Gıdalarda, TAMB sayımı laboratuvarda saptanması kolay ve ucuz olduğundan yaygın olarak kullanılan bir mikrobiyolojik kalite parametresidir. Bu araştırmada, pişmiş tavuk döner örneklerinden 9 adedinin (%30) sınır değeri olan <5 log_{10} cfu/g'ın üzerinde olduğunun saptanmış olması, tavuk dönerlerin tüketiciye ulaşana kadar yeterince hijyenik koşularda üretilmediğine ve bazı uygunsuz durumların varlığına işaret etmektedir.

Bu çalışmada tüketime hazır pişmiş tavuk döner örneklerinde *Enterobacteriaceae* bakterileri sayısı ortalama olarak <10 cfu/g ve $4x10^2$ cfu/g (<1-2.6 log_{10} cfu/g) aralığında bulunmuştur. *E. coli* sayısı ise <10 cfu/g ve $2x10^1$ cfu/g olarak bulunmuştur. Bir örnekte *Salmonella* spp. belirlenmiştir. Tüketime hazır ürünlerde *Enterobacteriaceae* sayısının $\geq 10^4$ cfu/g; *E. coli* sayısının ≥100 cfu/g üzerinde olması uygunsuz olarak değerlendirilmektedir[30]. Bu araştırmada iki pişmiş tavuk döner örneğinde $\geq 10^4$ cfu/g *Enterobacteriaceae* sayısı belirlenmiştir. *E. coli* sayısı ≥100 cfu/g üzerinde tesbit edilmemiş olmakla birlikte, üç örnekte $\geq 10\text{-}10^2$ cfu/g aralığında *E. coli* saptanmıştır.

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı gıdalarda mikrobiyolojik durumunun genel bir ölçütü olmasına rağmen, TAMB sonuçları ve mevcut patojenlerin sayısı her zaman ilişkili olmayabilir. Bu nedenle insan ve hayvanların bağırsaklarında ve çevrede yaşayan bir grup indikatör organizma olan *Enterobacteriaceae* sayımı, patojenik organizmaların var olma riskinin daha iyi bir göstergesidir. Gıdalarında *E. coli*'nin bulunması, yetersiz hijyenik koşulları veya yetersiz ısıl işlemi (proses kontrolünün olmaması) göstermesi nedenleriyle istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle, gıdalarında *E. coli* bulunmamalıdır; genel olarak, mikrobiyolojik özellikler belirlendiğinde, *E. coli* için <10 cfu/g veya <3 en muhtemel sayı/g (normal test yöntemlerinin saptanması sınırı) mikrobiyolojik limiti tipiktir. *E. coli*'nin 100 cfu/g'ı aşan seviyeleri, patojenlerin hayatta kalmasına izin veren durumlarla ilişkili olabilecek bir kirlenme seviyesi olarak yorumlanır[31]. Öte yandan *E. coli* için limit değerler TS 11859[17] Çiğ Döner Standardı'nda $m=1x10^2$ cfu/g, $M = 1x10^3$ cfu/g olarak belirlenmiştir. *Enterobacteriaceae, E. coli* ve TAMB'nin sayısını azaltan kontrol önlemleri, karkaslarda ve işlenmiş etlerde bulunan patojenik bakterilerin var olma riskini azaltacaktır.

Kayışoğlu ve ark. [3], genel olarak tavuk dönerlerde, sığır eti dönerinden daha yüksek sayıda TAMB, psikrofilik bakteri ve koliform sayısı belirlemiştir. Pişmiş dönerlerde koliform bakteri 1.00-3.46 cfu/g aralığında ve 48 adet örnekte *Salmonella* spp. belirlenmiştir. Ham kebapların tamamının *Salmonella* spp. içermesine rağmen, pişirilmiş tavuk dönerlerin %80'i ve pişirilmiş sığır eti döner örneklerinin %40'ının, bu patojeni içerdiğini belirlemişlerdir. Vazgeçer ve ark.[24]'nın araştırmasında tavuk döner kebap örneklerinde *Salmonella* saptanmamış, numunelerinin %39'unda koliform sayısının; %8'inde *E. coli* sayısının 10^2 cfu/g'dan fazla olduğu belirlenmiştir. Örneklerin %31'inde 2.0x10 ile 5.0 $x10^2$ g^{-1} aralığında *E. coli* belirlenmiştir. Elmalı ve ark.[32], Kars'ta çeşitli fastfood lokantalarından pişmiş 100 adet sığır eti döneri numunesinin mikrobiyolojik kalitesini incelemiş, TAMB sayısının $<10^2$ ila 10^6 cfu/g, koliform sayısının $<10^4$ ila 10^6 cfu/g, *S. aureus* sayısının $<10^2$'den 10^4 cfu/g aralığında olduğunu belirlemişlerdir. Bu araştırmada, incelenen 100 döner numunesinden 54 adedinin *E. coli* ve 14 adedinin *Salmonella* spp. içerdiği tesbit edilmiştir. Hampikyan ve ark.[27], analiz edilen 20 adet döner numunesinden beşinde $10^1\text{-}10^5$ cfu/g aralığında koliform ve bir tanesinde *E. coli* ($4.5x10^2$ cfu/g) saptadıklarını belirtmişlerdir. Bu numunelerde *Salmonella* spp.'ye rastlanmamıştır. Avustralya'daki dönercilerden alınan döner numunesinin 48 tanesi-

nin 29'unda (%60.4), *E. coli* sayısının 3 cfu/g'dan az; yalnızca üç tanesinde (%6.2) 100 cfu/g'dan fazla bulunduğu tespit edilmiştir[33].

Yüksek ve ark.[29]'nın hazır kırmızı et ve tavuk dönerlerin mikrobiyolojik kalitesini değerlendirmek amacıyla yaptıkları araştırmada, pişmiş ve servise hazır dönerlerde toplama tepsisi ve personel elleri ana çapraz ve/veya sonrası başlıca kontaminasyon kaynakları olarak belirlenmiştir. Bu araştırmada pişmiş dönerlerde <$1.0x10^1$ cfu/g aralığında koliform ve *E. coli*, $2.1x10^2$ cfu/g stafilokok, <$1.0x10^2$ cfu/g koagulaz pozitif stafilokok belirlenmiştir. Bostan ve ark.[24]'nın Avcılar/İstanbul'da 20 farklı hızlı-hazır yemek restoranlarında toplam 30 adet döner örneği toplayarak yaptıkları araştırmasında örneklerin önemli bir kısmında *Enterobacteriaceae* (%36.6) ve *E. coli* (%56.6) saptanmamış, ancak bazı numunelerde adı geçen bakterilere sırasıyla 10^4 ve 10^3 cfu/g seviyesinde rastlanmıştır. Başka bir çalışmada, piyasada tüketime sunulan döner örneklerinde, ortalama koliform sayısı 1.46 log_{10} cfu/g olarak bildirmişlerdir[25].

Öksüztepe ve Beyazgül'ün[4] Elazığ'dan 40 adet pişmiş tavuk döner örneği alarak yaptıkları araştırmada, ortalama olarak koliform bakteri 2.13 log_{10} cfu/g, *Enterobacteriaceae* 4.03 log_{10} cfu/g, *E. coli* sayısı ise 2.19 log_{10} cfu/g olarak bulunmuştur. İncelenen tavuk dönerlerin 18'inde (%45) 1.0 log_{10} cfu/g'ın üzerinde *E. coli* belirlenmiştir.

Gokmen ve ark.[34], tarafından Balıkesir'de satılan bazı tüketime hazır gıdalar (et döner, tavuk döner, fermente sucuk, kavurma, beyaz peynir, höşmerim, helva, rus salatası, sebze salatası) *Salmonella* spp. yönünden, klasik kültür tekniği kullanılarak yapılan araştırmasında, 30 adet et ve 30 adet tavuk döner örneğinde, *Salmonella* spp. tavuk döner ve kavurma örneklerinde sırasıyla birer (%3.3 ve %10) adedinde saptanmıştır.

Nur ve ark.[35], Antakya ilçesinin değişik bölgelerindeki 15 farklı satış bölgesinden toplam 50 adet tavuk döner örneği toplamışlar ve 7 numune *Salmonella* spp. yönünden pozitif sonuç vermiştir.

Kaya[36]'nın araştırmasında, İstanbul'da çiğ ve pişmiş döner üretimi yapan işletmelerden 30 çiğ döner (15 kırmızı et ve 15 tavuk) numunesi 30 pişmiş döner (15 kırmızı et ve 15 tavuk) numunesi olmak üzere, toplam 60 numune toplanmıştır. *Salmonella* spp. pişmiş tavuk döner örneklerinden herhangi birinde bulunamamıştır.

Al-Shadefat[37], Amman'da (Ürdün) bulunan toplam 12 lokantada beyaz ve kırmızı etlerdeki *Salmonella* varlığını belirlemek amacıyla yaptığı araştırmada, 144 tavuk eti ve 144 kırmızı et döneri olmak üzere toplam 288 numune analize alınmıştır. Üretim esnasında, günde üç defa örnekleme yapılmıştır. Analize alınan 288 numunenin PCR yöntemi ile 15'inde (%5.2) *Salmonella* belirlenmiştir ve tüm numunelerde yalnızca *Salmonella* Enteritis izole edilmiştir, diğer suşlarına rastlanılmamıştır. Kanatlı dönerlerde yedi, kırmızı et dönerlerinde ise sekiz örnekte *S.* Enteritis saptanmıştır.

Bu araştırmada, dönerlerden izole edilen bakterilerden Gram negatif olanların identifikasyonu yapılmış ve *E. coli, Enterobacter cloacae, Klebsiella oxytoca, Pantoea agglomerans, Serratia liquefaciens ve Serratia odorifera* biogp 1, *Salmonella* Arizonae saptanmıştır. Bağırsak florasında bulunan Gram negatif enterik bakterilerden *Enterobacter* cinsi bakteriler, *Enterobactericeae* ailesinin diğer üyelerine göre antiseptiklere ve antimikrobiyal ajanlara büyük oranda dirençli olan, fırsatçı patojenlerdir[38]. *K. oxytoca* çiğ tavuk etinden ve *E. cloacae* dışkı örneklerinden izole edilmiştir[39]. Ayrıca *E. cloacae* ve *P. agglomerans,* ticari kanatlı yemlerinden de izole edilmiştir[40].

Etler üzerinde *Enterobacteriaceae* kaynağını araştırmak için yapılan bir araştırmada, iki paketleme tesisi çalışması esnasında et işleme yüzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ambalajlama tesislerinde ve perakende tesislerinde et örneklerinden, çalışma yüzeylerinden toplam 2.343 *Enterobacteriaceae*

izole edilmiş ve tanımlanmıştır. *E. coli* biyotip I ve *S. liquefaciens*, et işlemesinin tüm aşamalarında belirlenmiştir. *P. agglomerans* ve *S. liquefaciens*, perakende seviyesinde baskın olan *Enterobacteriaceae* olarak belirlenmiştir[41].

Döner kebap örnelerinden izole edilen suşlardan *K. oxytoca, Enterobacteriaceae* ailesi üyesi, opportunistik gram negatif bakterilerdir. Erişkinlerde hastane kaynaklı enfeksiyona neden olan ve yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı çoklu ilaç direncine sahip olan önemli bir bakteridir[42]. *Serratia*'lar *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer türlerinden; gastrointestinal yola daha az yerleşmesi, lipaz, jelatinaz ve DNase enzimlerinin olması ile ayrılırlar[43]. *P. agglomerans* (daha önceki adı *Enterobacter agglomerans*) *Enterobacteriaceae* familyasında hareketli, sporsuz, gram-negatif, aerobik bir basildir. Su, toprak, kanalizasyon, tohumlar, sebzeler ve gıda maddeleri gibi ekolojik nişlerde yaygın olarak bulunur ve hayvanların ve insanların hem kommensal ve hem de fırsatçı patojenleri olarak rapor edilir[44].

Toplam *Enterobacteriaceae* sayımı, gıda işletmeler için önemli bir hijyen kriteridir. *Enterobacteriaceae* familyasında bulunan *E. coli*, sıcakkanlı hayvanların ve insanların bağırsaklarında doğal flora üyesi olarak bulunan önemli bir türdür. Gram negatif, kısa çomak şeklinde, fakültatif anaerobik, sporsuz bir bakteri olan *E. coli*'nin varlığı doğrudan veya dolaylı bir fekal kontaminasyonun ve gıdanın üretim ve depolama esnasındaki yetersiz hijyen uygulamalarının bir göstergesidir[45,46].

Salmonella da, *E. coli* gibi *Enterobacteriaceae* familyası üyesi, fakültatif anaerob, Gram negatif bir basildir. Günümüzde *Salmonella*'lardan kaynaklanan gıda enfeksiyonları hala bir çok ülkede tüm gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlar arasında önemli sırada yer almaktadır[47]. Bu araştırmada pişmiş tavuk döner örneklerinden bir adedinde *S.* Arizonae saptanmıştır.

Bu çalışmada tüketime hazır pişmiş tavuk döner örneklerinde koagulaz pozitif stafilokok sayısı ortalama <10 cfu/g ve $4x10^4$ cfu/g aralığında bulunmuştur. *Staphylococcaceae* familyasında yer alan *S. aureus*, Gram pozitif, kok şeklinde, hareketsiz, sporsuz, bazı suşları kapsüllü, fakültatif, uygun ortam koşullarında 7-48°C arasında üreyebilen mezofilik bir bakteridir[48]. Etken, insan ve hayvanların deri, üst solunum sistemi, alt ürogenital sistem ve sindirim sistemi mukozalarında kommensal olarak bulunmasının yanı sıra, insan ve hayvanlarda çok çeşitli infeksiyonlar ve besin zehirlenmelerinden en sık izole edilen patojendir[48,49]. *S. aureus* hava, toz, kanalizasyon suları, gıda ve üretim ekipmanlarında da bulunabilmesi ihtimal dahilindedir[44].

Vazgeçer ve ark.[24] yaptıkları çalışmada, çeşitli örnekler koagülaz pozitif stafilokokların varlığını gösteren koloniler vermesine rağmen, temsili izolatlar *S. aureus* olarak tanımlanmamıştır. Küpeli ve Kaya[50]'nın araştırmasında, alınan 40 pişmiş döner numunesinin 16 tanesinde *S. aureus* bakterisine rastlanmıştır. Elmalı ve ark.[32], pişmiş döner numunelerinde *S. aureus* sayısının $<10^2$-10^4 cfu/g, aralığında değiştiğini ve numunelerin %27'sinde S. aureus bulunduğunu belirlemişlerdir. Topçu[51], 25 pişmiş tavuk döneri örneğinin altısında *S. aureus* saptamıştır. Bostan ve ark.[28]'nın Avcılar/İstanbul'da, toplam 30 adet döner örneği toplanmış, yapılan araştırmada hiçbir örnekte *S. aureus* varlığına rastlanmamıştır. Öksüztepe ve Beyazgül'ün[4] çalışmasında, Elazığ'da 40 adet tavuk döner örneği alarak yapılan araştırmada, pişmiş döner örneklerin hiç birinde *S. aureus* belirlenememiştir. Nur ve ark.[35], 50 adet tavuk döner örneği ile yapılan analizler sonucu, 2 numune koagülaz pozitif stafilokok için pozitif sonuç bulmuştur. Koagülaz pozitif *Staphylococcus* sayıları gıda güvenilirliğini tehdit eden değerlerin altında bulunmuş, pozitif sonuç veren pişmiş tavuk döner numunelerinde koagülaz pozitif *Staphylococcus* için en yüksek $2x10^2$ cfu/g değeri tespit edilmiştir.

Doğada yaygın olarak bulunan, insan ve hayvanların deri ve mukozalarda normal floranın bir parçası olan *S. aureus*, gıdalarda ve gıda ekipmanlarında da bulu-

nabilir; ayrıca insanlarda ve hayvanlarda farklı klinik belirtilerle seyreden hastalıklara de neden olmaktadır[48,49,52]. *S. aureus* gıda zehirlenmesi intoksikasyon tipi zehirlenme olup hastalık etmeni bu organizmanın salgıladığı enterotoksindir. *S. aureus* ısıl işlem esnasında öldürülür, ancak toksinler tahrip edilemez ve gıda kaynaklı hastalığa neden olabilir. Kontamine gıdaların alınmasını takiben 1-6. saatler arasında kusma, şiddetli karın ağrısı, kramp ve ishal ile karakterize belirtiler ortaya çıkmaya başlar[47,51]. Bu bakterinin yol açtığı intoksikasyonun önlenmesinde personel hijyeni ve ısıl işlem görmeden tüketilecek gıdaların soğukta saklanması en önemli noktaları oluşturur. Korunmak için öncelikle, elinde yaralar veya enfeksiyonlar olanlar, ishal veya kusma belirtileri olan kişiler üretimde çalıştırılmaması, ellerin yıkanması, eldiven giyilmesi ve gıdaları güvenli minimum iç sıcaklığını gösteren termometrelere göre pişirilmesi gereklidir[52]. Ayrıca, yetersiz pişirme veya ısıl işlem ve gıdayı bakterinin gelişebileceği sıcaklıklarda bekletmek, tüketimden uzun zaman önce gıdaların hazırlanmasında önemli noktaları oluşturur.

Bu çalışmanın verileri ve diğer bahsi geçen araştırmalardaki *Enterobacteriaceae, E. coli, Salmonella* spp ve koagülaz pozitif stafilokok sonuçları karşılaştırıldığında farklı değerler elde edilmesinin nedeni hammaddeden son ürüne kadar farklı kontaminasyon düzeyleri ile ilişkili olduğu ihtimali olarak değerlendirilmiştir.

Son üründeki mikrobiyal yükün belirlenmesinde, döner üretimi esnasında et ve diğer katkıların çeşidi, miktarı ve ilk işlem görmemiş üründeki mikrobiyal yükü önemlidir. Ülkemizde, kesimhaneler, işleme tesisleri, depolar ve satış yerlerinde hijyenik şartlarda eksikliklerin devam ettiği; tavuk etlerinin çok sayıda indikatör ve patojen mikroorganizma içerebildiği belgelenmiştir[53,54]. Kanatlı kesimhanelerinden satışa sunulan birimlere kadar her aşamada soğuk zincir iyi korunmalı ve uygun olmayan ortamlarda kesim, depolama, nakliye ve satışlar kesinlikle önlenmelidir[53].

Hammadde dışında, ısıl işleminin yetersiz uygulanmış olması da servis edilen dönerlerdeki mikroorganizma sayısının yüksek olmasına sebep olmaktadır. Özellikle yemek servisinin yoğun olduğu saatlerde döner kebapların iyi pişirilmeden kesilerek servis edildiği sıklıkla görülmektedir. Üretimin ve servisin yapıldığı ortamda havasındaki mikroorganizma sayısı, servisi yapan personelin kişisel hijyeni, primer servis malzemelerinin temizliğini de mikroorganizma sayısını etkileyen diğer faktörler arasında saymak mümkündür. Tüm bu sebepler, bu çalışmada elde edilen bulgulardaki mikroorganizma sayısının geniş bir aralıkta saptanmış olmasını açıklamaktadır.

Günümüzde, Türkiye'de şüphesiz döner en yaygın hızlı-hazır yemektir ve günde 500 tondan fazla döner üretildiği bilinmektedir[55]. Ancak Türkiye'de gün geçtikçe tüketimi artan döner kebapla ilgili yapılan bilimsel araştırmalar, gıda güvenliği ve hijyen açısından aynı oranda bir iyileşme olmadığı, mikrobiyolojik analiz sonuçlarında yıllar boyunca tatmin edici sonuçlar alınamadığı ve bu durumun geliştirilmesi gerektiği bu araştırmada ve yukarıda bahsi geçen birçok araştırmayla tespit edilmiştir.

Döner üretiminde, gerekli hijyen ve sanitasyon önlemlerinin alınmasının yanı sıra ve ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi ve ISO 22000 gibi Gıda Güvenliği Yönetim Sistemlerinin uygulanması da oldukça önemlidir. Uygun şartlarda ve metotlarla hazırlanmayan, depolanmayan ve satışa sunulmayan tüketime hazır dönerlerin birçok patojen yönünden risk taşıyabilmesi muhtemeldir. Hammaddelerde mikroorganizma yükünün fazla olması veya patojen barındırması, yetersiz ısıl işlem, kontamine katkılar (gıda katkıları, baharat vb.), uygun olmayan şartlarda depolama, yetersiz tesis hijyeni, eğitimsiz personel ve diğer çok sayıda faktör bu durumun nedenleri arasında sıralanabilir.

Döner kebabın tüm üretim aşamalarda gereken gıda güvenliği kurallarına uyulması, toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır. Dönerlerin günümüzde sokağa açık, toz toprak ve diğer dış ortam kontaminantla-

rı ile temasına uygun şekilde pişirilip servis edilmesinden bir an önce vazgeçilmeli, en azından güçlü havalandırmalı ve camekânlı bir alanda pişirme ve servis işlemi yapılmalıdır. Kesilmiş dönerler, uzun süre bekletilmeden hemen servise sunulmalı, aksi taktirde buzdolabında muhafaza edilmelidir. Pişirme işlemi etkin ve yeterli bir şekilde yapılmalı, özellikle döner iç kısımlarında bulunan sıcaklığı ölçen bir termometre kullanılarak ısıl işlem uygulanmalıdır. Aksi taktirde mikroorganizmalar tahrip edilemeyeceğinden gıda zehirlenmelerine ve çeşitli hastalıklara yol açabilecek patojen bulaşması riski bulunmaktadır.

Uzun yıllardır yapılan araştırmalara dayanarak, Türkiye'de oldukça yoğun tüketilen ve yüksek riskli bir gıda grubu olarak, döner üretim, pişirme ve servis işletmelerinde iyileşme sağlamak gerektiği açıktır. Devlet kurumları tarafından, gıda hijyeni ve işletme hijyeni kontrollerinin daha etkin yapılması ve ayrıca numune alınarak ve kamuya ait laboratuvarlara yollanarak piyasa denetimlerinin sıklaştırılması ve gerektiği taktirde kanuni müeyyidelerin uygulanması ile gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından riskli döner kebapların piyasada satışına son verilmesi önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Acar MS. Kasaplık hayvan etleri ve tavuk etinden yapılan döner kebapların mikrobiyolojik kalitesinin karşılaştırmalı araştırılması [Doktora Tezi]. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 1996.
2. Acar MS, Ciftcioglu, G. Investigation of microbiological content of doner Kebabs manufactured with beef and chicken meat. J Fac Vet Med Istanbul Univ. 1997;23,395-404.
3. Kayışoğlu S, Yılmaz İ, Demirci M, Yetim H. Chemical composition and microbiological quality of the doner kebabs sold in Tekirdağ Market. Food Control. 2003;14:469-74. https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00103-2
4. Öksüztepe G, Beyazgül P. Elazığ'da satılan pişmiş et ve tavuk dönerlerin mikrobiyolojik kalitesi. FÜ Sağ Bil Vet Derg. 2014;28(2):65-71.
5. Sirkeci I. Transnational Döner Kebab taking over the UK. Transntl Market J. 2016;4(2):143-58. https://doi.org/10.33182/tmj.v4i2.397
6. Işın PM. Döner Kebabın Geçmişi. Aydın MBZ, Aydın R. (Eds.) Osmanlı'da mimari, sanat ve yemek kültürü Kitabında. İstanbul: Mahya Yayıncılık, 2017:357-374. ISBN 978-605-5222-55-0.
7. Işın PM. Evliya Çelebi'nin diliyle 17. yüzyıl yiyecek manzaraları. Osmanlı Mutfak İmparatorluğu Kitabı'nda. İstanbul: Kitap Yayınevi - İnsan ve Toplum Dizisi, 2014:189-202. ISBN: 978-605-105-136-9
8. Bertrandon B, Le Voyage d'Outremer B, ed.: Ch. Schefer, (Paris: Ernest Leroux, 1892, s. 130.
9. François, T. Memoirs of the Turks and Tatars, 2 cilt, (London: G.G.J. and J. Robinson, 1785, I, 2. kısım, s. 70.
10. Yaman R. Döner kebabın hikayesi. Türk Mutfak Kültürü Üzerine Araştırmalar Kitabı'nda. İstanbul: Türk Halk Kültürünü Araştırma ve Tanıtma Vakfı Yayınları, No: 3, 1993:92-101.
11. Özçelik AÖ, Sürücüoğlu MS. Tüketicilerin fast food türü yiyecek tercihleri. Gıda. 1998;23:437-47.
12. TC Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. Türk Gıda Kodeksi. Kırmızı Et ve Hazırlanmış Kırmızı Et karışımları Tebliği. Tebliğ No: 2006/ 31, Ankara: 2006.
13. Jöckel S, Stengel G. Döner kebab untersuchung und beurteilung einer Türkischen spezialitat. Fleischwirthschaft. 1984;64 (5):527-38.
14. Stolle A, Eisgruber H, Kerschofer D, Krauße G. Döner kebab untersuchungen zur verkehrsauffassung und mikrobiologisch-hygienischen beschaffenheit in raum München. Fleischwirthschaft. 1993;73(8):834-7.
15. TSE, TS 11658. Döner yapım kuralları-Pişmemiş. Türk Standartları Enstitüsü, 1995:1-9.
16. TSE, TS 11859. Döner eti-pişmemiş. Türk Standartları Enstitüsü. 2003:1-7.
17. Todd ECD, Szabo R, Spiring F. Dönerler (Gyros) - potansiyel tehlikeler ve kontrol. Gıda Koruma Dergisi. 1986;49(5):369-77. https://doi.org/10.4315/0362-028X-49.5.369
18. ISO 4833:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs horizantal method for the enumeration of microorganisms colony count technique at 30°C. 9s, The International Organization for Standardization. Switzerland.
19. Harrigan WF, McCance ME. Laboratory methods in food and dairy microbiology. London: Academic Press, 1976.
20. ISO 16649-1:2018.Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* -- Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide.
21. ISO 6888-2. Horizontal method for the enumeration of coagulase-Positive staphyloccoci Part-2:Technique

using rabbit plasma fibrinogen agar medium, Microbiyology of food and animal feding stuffs, 2003.
22. ISO 6579. Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* Part 1: Detection of *Salmonella* spp. Microbiology of the food chain, 2017.
23. Aran N. İstanbul piyasasında tüketime sunulan bazı hazır gıdaların tüketici sağlığı yönünden değerlendirilmesi. Gıda Sanayii. 1988;2:36-42.
24. Vazgeçer B, Ulu H, Oztan A. Microbiological and chemical qualities of chicken döner kebab retailed on the Turkish restaurants. Food Control. 15.4 (2004):261-4. https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00065-3
25. Cebirbay MA. Dönerlerde satış süresi boyunca mikrobiyolojik kalitede meydana gelen değişmelerin araştırılması [Yüksek Lisans Tezi]. Konya: Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
26. Ergönül B, Kundakçı A. Kanatlı eti dönerlerinin üretimi, depolanması ve tavuk dönerlerinin dondurarak depolama sırasındaki kalite değişimleri. Gıda Dergisi. 2006;31(1):29-31.
27. Hampikyan, H, Ulusoy B, Bingöl EB, Çolak H, Akhan M. İstanbul'da tüketime sunulan bazı ızgara tipi gıdalar ile salata ve mezelerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2008;38(2):87-94.
28. Bostan K, Yılmaz F, Muratoğlu K, Aydın A. Pişmiş Döner Kebaplarda Mikrobiyolojik Kalite ve Mikrobiyel Gelişim Üzerine Bir Araştırma. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2011;17(5):781-6.
29. Yuksek N, Evrensel SS, Temelli S, Anar S, Sen MC. A microbiological evaluation on the ready-to-eat red meat and chicken donair kebabs from a local catering company in Bursa. J Biol Environ Sci. 2009;3(7):7-10.
30. Food Standards Australia New Zealand (FSANZ). Guidelines for the microbiological examination of ready-to-eat foods. Food Standards Australia New Zealand, 2001. [http://www.foodstandards.gov.au/scienceandeducation/publications/guidelinesformicrobi1306.cfm]. (Erişim tarihi:22.02.2011).
31. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. Response to questions posed by the department of defense regarding microbiological criteria as ındicators of process control or insanitary conditions: Adopted 10 June 2017, Washington, DC. Journal of Food Protection 2017;81(1):115-41. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-294
32. Elmalı M, Ulukanlı Z, Tuzcu M, Yaman H, Cavlı P. Microbiological quality of beef doner kebabs in Turkey. Arch Lebensmittelhyg. 2005;56:25-48.
33. Jansson E, Bird P, Saputra T, Arnold G. Food safety survey of retail doner kebabs in NSW. Food Australia. 2008;60(3):95-98. http://www.foodauthority.nsw.gov.au/_Documents/scienceandtechnical/kebab_poster.pdf. Erişim Tarihi:16.01.2018.
34. Gokmen M, Akkaya L, Kara R, Onen A. Prevalence of *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* in some ready to eat foods sold retail in Balıkesir. Van Veterinary Journal. 2016;27(1).
35. Nur G, Deveci HA, Kırpık MA, Nur Ö, Ayata E. Gıda güvenilirliği kriterlerine göre Hatay'da satılan tavuk dönerlerinde mikrobiyolojik kalite. Fen Bil Enst Derg. 2016;9(2):14-22.
36. Kaya A, Özpinar H, Çakmak Sancar B. Investigation of microbiological quality of raw and cooked "doner kebab" consumed in Istanbul. Asian J Agric Food Sci. 2018;(06)02:78-83.
37. Al-Shadefat B. Tüketim sürecinde döner kebaplarda *Salmonella* Spp. varlığının araştırılması [Doktora Tezi]. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 2011.
38. Yazıcı Y, Aydın F, Tosun İ, Kaklıkkaya N, Çaylan R, Köksal, İ. Klinik örneklerden izole edilen *Enterobacter* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2004;34:29-32.
39. Gwida M, Hotzel H, Geue L, Tomaso H. Occurrence of *Enterobacteriaceae* in raw meat and in human samples from Egyptian retail sellers. Int Sch Res Notices. 2014; 1-6. https://doi.org/10.1155/2014/565671
40. Cox NA, Bailey JS, Thomson JE, Juven BJ. *Salmonella* and other *Enterobacteriaceae* found in commercial poultry feed. Poultry Science. 1983;62(11):2169-75. https://doi.org/10.3382/ps.0622169
41. Stiles ME, Ng LK. *Enterobacteriaceae* associated with meats and meat handling. Appl Environ Microbiol. 1981;41(4):867-72.
42. Minami J, Saito S, Yoshida T, Uemura T, Okabe A. Biological activities and chemical composition of a cytotoxin of *Klebsiella oxytoca*. Microbiology. 1992; 138(9):1921-7. https://doi.org/10.1099/00221287-138-9-1921
43. Bozkurt H, Güdücüoğlu H, Bayram Y ve ark. Klinik örneklerden üretilen *Serratia* cinsi bakterilerin çeşitli infeksiyonlardaki rolü ve antimikrobiyallere duyarlılıkları. Van Tıp Dergisi. 2004;12(3):182-8.
44. Mardaneh J, Dallal MMS. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Pantoea* (*Enterobacter*) *agglomerans* isolated from consumed powdered infant formula milk (PIF) in NICU ward: First report from Iran. Iran J Microbiol. 2013;5(3): 263.
45. Doyle MP, Cliver DO. *E. coli,* In: Cliver DO (Eds.) Foodborne Disease. London: Academic Press Ltd., 1990;209-15.
46. Gonzales RD, Tamagnini LM, Olmos PD, de Sousa GB. Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat

foods. Food Microbiol. 2002;20:601-4.
https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00178-8

47. Sağlam D, Şeker E. Gıda kaynaklı bakteriyel patojenler. Kocatepe Vet J. 2016;9(2):105-13.
https://doi.org/10.5578/kvj.23164
48. Peacock S. *Staphylococcus aureus*. In: Gillespie SH, Hawkey PM (Eds.) Principles and Practice of Clinical Bacteriology. England: John Wiley&Sons Ltd., 2006:73-98.
https://doi.org/10.1002/9780470017968.ch5
49. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial Diseases. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2004.
50. Küpeli Gençer V, Kaya, M. Yaprak dönerin mikrobiyolojik kalitesi ve kimyasal bileşimi. Turk J Vet Anim Sci. 2004;28:1097-103.
51. Topçu S. Ankara'da satışa sunulan döner kebap çeşitlerinden *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Aeromonas hydrophila* izolasyonu ve çeşitli antibiyotiklere dirençlilikleri [Yüksek Lisans]. Ankara: Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2006.
52. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res. 2003;2(1):63-76.
53. Sağun E, Sancak YC, Ekici K, Durmaz H. Van'da tüketime sunulan piliç, but ve göğüs etlerinin hijyenik kalitesi üzerine bir araştırma. YYU Veteriner Fakultesi Derg. 1996;7(1):62-6.
54. Altun SK, Atasever M. Erzurum'da tüketime sunulan tavuk etlerinin bazı patojen bakteriler yönünden incelenmesi. Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences. 2018;8(1):36-50.
55. Özsaraç N, Kolsarici N, Demirok Soncu E, Haskaraca G. Formation of heterocyclic aromatic amines in doner kebab cooked with different methods at varying degrees of doneness. Food Addit Cont. 2019; Part A, 1-11.
https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1562230

Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(2):86-91
doi:10.5222/TMCD.2019.086

Araştırma / *Research Article*

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı; On Yıllık Değerlendirme

The Distribution of the Intestinal Parasites Detected in Ege University Medical Faculty Parasitology Direct Diagnosis Laboratory; 10-Years Evaluation

Özlem Ulusan*, Orçun Zorbozan*, Kardelen Yetişmiş, Seray Töz*, Ayşegül Ünver*, Nevin Turgay***

*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
**Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarı'na başvuran hastaların dışkı parazitolojik inceleme sonuçları geriye dönük değerlendirilerek parazit dağılımlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Dışkıda parazit incelemesi için örnek gönderilen hastalarda; selofan bant değerlendirilmiş, dışkı örneği salin-lugol yöntemiyle incelenmiş, etil asetat çöktürme, modifiye Kinyoun asit-fast ve trikrom boyama yöntemleri uygulanmıştır. Çalışmamızda Ocak 2008 - Aralık 2017 tarihleri arasında laboratuvarımıza başvuran hastaların dışkı parazitolojik inceleme sonuçları değerlendirilmiştir.*
Bulgular: *Bu sürede başvuran 58.669 hastanın %18,3'ünün dışkısında en az bir parazit saptanmıştır. En yüksek oranda saptanan bağırsak paraziti Blastocystis spp.'dir (%39.8). Takiben sıklık sırasına göre %37.4 Cryptosporidium spp., %7.7 Cyclospora spp., %4.6 Enterobius vermicularis, %3.9 Giardia intestinalis, %2.8 Entamoeba coli ve %1.8 Entamoeba histolytica/ dispar saptanmıştır.*
Sonuç: *Parazit pozitifliğinin 2010-2014 yılları arasında daha yüksek seyredip sonraki yıllarda kademeli olarak azaldığı saptanmıştır. Parazit saptama yüzdesindeki dalgalanmanın nedenleri, nüfus artışı ile İzmir ve çevresinin uluslararası nüfus hareketliliğinin güzergahı üzerinde yer alması olabilir. Sonuçlarımıza göre, 2011-2013 yılları arasında özellikle Cryptosporidium spp. yüksek bulunmuştur. Cryptosporidium spp. klorlamaya dirençli bir parazit olup, dezenfeksiyonunda ilave işlemlere gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca Cryptosporidium spp. yüksekliğinin bir nedeni de 2009-2010 yılları arasındaki yağış miktarındaki fazlalık olabilir. Türkiye'de intestinal parazitlerle ilgili veriler daha çok bölgesel çalışmalardan kaynaklanmakta ve ulusal düzeyde yapılacak sürveyans çalışmalarına gereksinim duymaktadır.*

Anahtar kelimeler: *Parazit, prevalans, trikrom*

ABSTRACT

Objective: *The aim of the study was to retrospectively evaluate the parasitological examination results of the patients who applied to Ege University Medical Faculty Parasitology Direct Diagnosis Laboratory.*
Method: *In patients from whom samples were collected for parasitic examination in feces; cellophane (Scotch) tape preparations were evaluated; and stool samples were examined by native-lugol, ethyl acetate precipitation, modified Kinyoun acid-fast and trichrome staining methods. In our study, fecal parasitological examination results of the patients admitted to our laboratory between January 2008 and December 2017 were evaluated.*
Results: *At least one parasite was found in the feces of 18,3% of 58.669 patients. Most frequently detected parasite was Blastocystis spp. (39.8%). Other parasites detected in decreasing order of frequency were Cryptosporidium spp (37.4%), Cyclospora spp. (7.7%), Enterobius vermicularis (4.6%), Giardia intestinalis (3.9%), Entamoeba coli (2,8%) and Entamoeba histolytica / dispar (1.8%).*
Conclusion: *Parasite positivity was higher between 2010-2014 and decreased gradually in the following years. The reason for fluctuations in parasite detection rates may be the increase in population and Izmir and its environs are on the route of international population mobility. According to our results especially Cryptosporidium spp. was found at higher rate especially between 2011 and 2013. Cryptosporidium spp. is chlorination-resistant and additional treatment is required for its disinfection. Another reason for its high detection rate may be the higher amounts of rainfall between 2009-2010. The data related to intestinal parasites in Turkey are mostly from regional studies, and thus national surveillance studies are needed.*

Keywords: *Parasite, prevalence, trichrome*

Alındığı tarih:
21.02.2019
Kabul tarihi:
18.04.2019
Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCİD Kayıtları

Ö. Ulusan 0000-0002-9695-5703
O. Zorbozan 0000-0002-9645-7085
K. Yetişmiş 0000-0001-7111-5807
S. Töz 0000-0001-5957-8665
A. Ünver 0000-0001-7431-5505
N. Turgay 0000-0003-4517-3223

drozlemulusan@gmail.com

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

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

GİRİŞ

Protozoon ve helmintlerin etken olduğu enfeksiyonlar gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde bir halk sağlığı sorunu olarak önemini korumaktadır. Amibiyazis, askariyazis, çengelli solucan enfeksiyonları ve trişuriyazis dünyada görülen enfeksiyon etkenleri arasında ilk onda yerlerini almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü yeryüzünde 3.5 milyar kişinin bağırsak parazitleri ile enfekte olduğunu ve 450 milyon kişinin semptomatik olarak hastalık geçirdiğini belirtmiştir[1]. Bu enfeksiyonların prevalansı gelişmiş ülkelerde %2'nin altında seyrederken, gelişmekte olan ülkelerde %30-60 arasında bildirilmektedir[2]. İntestinal helmintik enfeksiyonlardan en fazla *Ascaris lumbricoides* görülmektedir ve dünyada bir milyardan fazla insanı etkilediği bilinmektedir[3]. Protozonlardan en sık *Giardia* türleri görülmektedir. *Entamoeba histolytica* ölüme neden olan parazitler arasında üçüncü sıradadır. *Crytosporidium* spp. sıklıkla AIDS'li hastalarda ve beş yaş altı çocuklarda görülen bir enfeksiyon etkenidir. Geçmiş yıllarda *Cyclospora* spp.'nin etken olduğu salgınlar görüldüğü bildirilmiştir[4]. Yoksulluk, kalabalık yaşam koşulları, eğitimsizlik ve düşük sanitasyon koşulları özellikle intestinal helmintik enfeksiyonlardan sorumludur. Dolayısıyla bu enfeksiyonlar sıklıkla gelişmemiş ülkelerde görüldüğü için sağlık otoritelerinin dikkatini çok çekememektedir.

İntestinal paraziter enfeksiyonlar fekal oral yolla bulaşan hastalıklardır. Doğrudan kontamine olmuş eller aracılığıyla bulaş gerçekleşebileceği gibi, hasta veya taşıyıcıların dışkısıyla kontamine olmuş su ve gıdalarla da bulaş olabilir. Bu hastalıkların toplumda yayılışı insanların yeme ve tuvalet alışkanlıklarına, hijyen davranışlarına, temizliğine ve eğitim düzeyine bağlıdır. Hastalık döngüsünde semptom vermeyen ancak dışkılarıyla bu parazitleri yayan insanların (taşıyıcıların) rolü büyüktür. Çevresel olarak ise bir paraziter hastalığın toplumda yayılışında iklim koşullarına bağlı olarak değişiklik gösteren sıcaklık, nem, yağış, toprak cinsi ve bitki örtüsünü kapsayan ekolojik faktörler rol oynamaktadır [5].

Paraziter hastalıklar büyüme çağındaki çocuklar başta olmak üzere toplumun tüm kesimlerini etkilemektedir. Genellikle semptomsuz seyredebilen bağırsak parazitleri, zihinsel ve bedensel gelişme geriliğine neden olmalarının yanı sıra iş gücü kaybına da neden olarak ülke ekonomisine zarar verebilmektedir[6]. Paraziter hastalıklar devletin topluma sunduğu sağlık hizmetlerinin dolaylı göstergesi olarak nitelendirildiği için bu konuda yapılan epidemiyolojik çalışmalar önemli yer tutmaktadır.

Paraziter hastalıkların tanısında zorluklar yaşanmaktadır. Rutin laboratuvarda uygulanan prosedürlere ek olarak başka yöntemler uygulamak gereklidir. Tanı konulması için deneyimli personele ve parazitoloji alanında eğitim almış uzmanlara gereksinim duyulmaktadır. Bu imkanların olmadığı yerlerde paraziter hastalıkların gözden kaçırılabileceği aşikardır.

Bu çalışmada, Ocak 2008 ve Aralık 2017 tarihlerini kapsayan 10 yıllık dönemde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarı'na başvuran hastaların dışkılarında saptanan parazitlerin dağılımının ortaya konması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2008 ve Aralık 2017 tarihlerini kapsayan dönemde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Direk Tanı Laboratuvarı'na gönderilen 58.669 hastanın dışkı ve selofan bant örneklerinde saptanan parazitler geriye dönük olarak değerlendirmeye alınmıştır.

Dışkı örnekleri önce makroskopik olarak, sonrasında salin ve lugol ile hazırlanan preparatlar 20'lik ve 40'lık objektifte incelenmiştir. Tüm dışkı örnekleri modifiye formol etil asetat çöktürme yöntemi ile çoklaştırılmış, çökeltiden salin ve lugol ile hazırlanan örnekler yine incelenmiştir. Çoklaştırma sonrası hazırlanan yaymalar Kinyoun asit fast boyama yöntemi ile boyanmıştır. Bu preparatlar 100'lük objektifte değerlendirilmiştir.

İshalli ve kist ayırıcı tanısının yapılamadığı örneklere

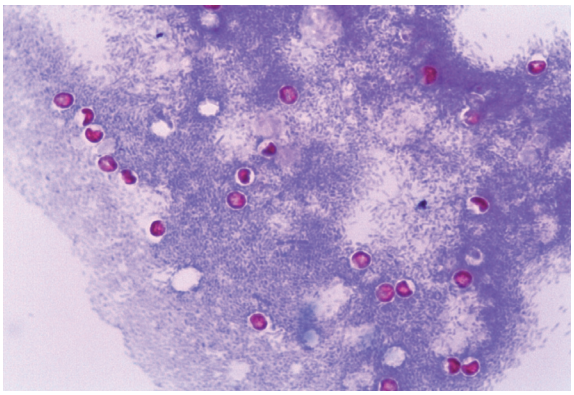
trikrom boyası uygulanmış ve preparatlar 100'lük objektifte değerlendirmeye alınmıştır. Tüm hastalardan alınan selofan bant örnekleri 10'luk objektifte incelenmiştir. Klinikler tarafından immünsuprese olduğu belirtilen hastalara modifiye trikrom, modifiye asit fast ve giemsa boyama yöntemleri ayrıca uygulanmış ve preparatlar 100'lük objektifte değerlendirilmiştir.

BULGULAR

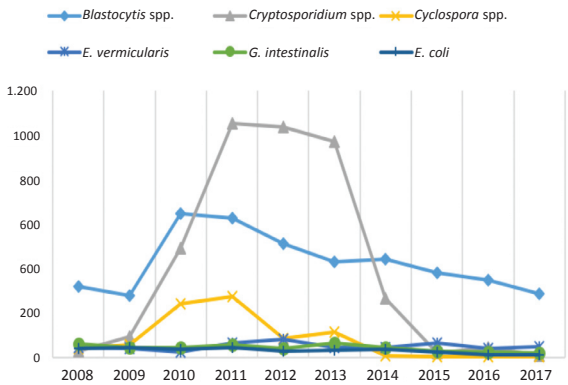
Geriye dönük olarak incelenen 58.669 örneğin 10.726 tanesinde (%18.3) en az bir bağırsak paraziti saptanmıştır. Parazit saptanan örnekler içerisinde en yüksek oranda saptanan bağırsak paraziti *Blastocystis* spp. (%39.8) olmuştur. İkinci sıklıkta görülen parazit %37.4 oranında *Cryptosporidium* spp. olarak bulunmuştur. Kinyoun asit fastla boyanmış *Cryptosporidium* spp. ookistinin 100'lük objektifteki görüntüsü Şekil 1'de verilmiştir.

Saptanan diğer parazitlerin sayıları, parazit saptanan örnekler içerisindeki yüzdesi ve tüm örnekler içerisindeki yüzdesi Tablo 1'de verilmiştir. 2008-2017 yılları arasında en yüksek oranda saptanan altı parazitin yıllar içindeki dağılımları Şekil 2'deki grafik üzerinde gösterilmiştir.

Ocak 2008 - Aralık 2017 tarihleri arasında yıllara göre dışkıda en az bir parazit saptanan örneklerin yüzdeleri Şekil 3'te gösterilmiştir.



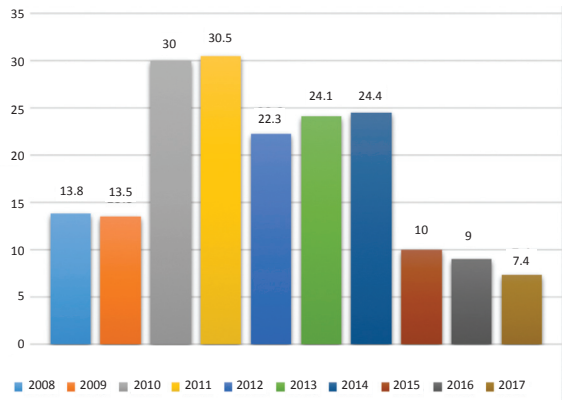
Şekil 1. *Cryptosporidium* spp. ait mikroskop görüntüsü (Kinyoun asit fast boyama-100'lük objektif).



Şekil 2. Ocak 2008-Aralık 2017 tarihleri arasında en sık saptanan altı parazitin yıllara göre dağılım grafiği.

Tablo 1. 2008-2017 yılları arasında saptanan parazitlerin dağılımı.

Parazitler	Toplam sayı	Parazit saptanan örnekler içindeki oranı	Tüm örnekler içindeki oranı
Blastocystis spp.	4271	%39.8	%7.3
Cryptosporidium spp.	4010	%37.4	%6.8
Cyclospora spp.	828	%7.7	%1.4
Enterobius vermicularis	497	%4.6	%0.8
Giarida intestinalis	423	%3.9	%0.7
Entamoeba coli	298	%2.8	%0.5
Entamoeba histolytica/dispar	197	%1.8	%0.3
Iodamoeba bütschlii	104	%1	%0.2
Taenia saginata	51	%0.5	%0.09
Chilomastix mesnili	11	%0.1	%0.02
Microsporidium	11	%0.1	%0.02
Dientamoeba fragilis	10	%0.09	%0.02
Isospora belli	7	%0.07	%0.01
Endolimax nana	2	%0.02	%0.003
Ascaris lumbricoides	2	%0.02	%0.003
Entamoeba hartmannii	2	%0.02	%0.003
Hymenolepis nana	2	%0.02	%0.003



Şekil 3. 2008-2017 yılları arasındaki gaita en az bir parazit saptama yüzdesi.

TARTIŞMA

İntestinal protozoon ve helmint enfeksiyonları özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle büyüme çağındaki çocukları etkilemekte, zihinsel ve bedensel gelişimlerinde bozulmaya yol açabilmektedir. Korunma önlemlerinin planlanabilmesi için bölgesel ve ulusal düzeyde yapılacak epidemiyolojik çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmektedir.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarı dışkı muayenesinin detaylı olarak yapıldığı bir rutin hizmet laboratuvarıdır. Her hastaya çoklaştırma yöntemi sonrasında Kinyoun asit fast boyama yöntemi uygulanmaktadır. Ayrıca immün sisteminin baskılanmış olduğu klinik tarafından belirtilen hastalara Kinyoun asit fast boyasına ilave olarak modifiye asit fast, giemsa, modifiye trikrom boyama yöntemleri yapılmaktadır. Ayrıntılı mikroskobik inceleme ile özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. ve *Microsporidium* saptanma duyarlılığı artmaktadır. Birçok rutin laboratuvarda deneyimli uzman ve teknisyen eksikliği nedeniyle bu kadar ayrıntılı mikroskobik muayene yapılamadığı bilinmektedir.

Bu çalışmada, Ocak 2008 ve Aralık 2017 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarı'na başvuran 58.669 hastanın dışkı örnekleri geriye dönük incelenmiştir ve %18.3'ünün dışkısında en az bir parazit saptanmıştır. Çalışmamızda 10 yıllık süreç değerlendirildiğinde, en sık saptanan parazit %39.8 ile *Blastocystis* spp. olmuştur. *Blastocystis* spp.'yi %37.4 ile *Cryptosporidium* spp. izlemektedir. Turgay ve ark.[7] tarafından 2009-2010 yılları arasında yapılan çalışmada, en fazla saptanan parazit %33.47 ile *Cryptosporidium* spp.'dir. *Cryptosporidium* spp. ve *Cyclospora* spp. protozoonları immünitesi baskılanmış konaklarda ağır enfeksiyonlara neden olmaktadır ve laboratuvarımıza İzmir çevresindeki hastanelerden özel olarak gastrointestinal sistem yakınması olan immunsuprese olgular ileri tanı yöntemleri için yönlendirilmektedir.

Uyar ve ark.[8] tarafından 2011-2013 yılları arasında yapılan çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvuran 20.698 hastanın dışkı örneği incelenmiş, %15.4'ünde en az bir parazit saptanmıştır. En sık görülen parazit tüm incelenen örnekler içinde %13.1 oran ile *B. hominis* olmuştur. Baştemir ve ark.[9] tarafından Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi'ne 2011-2015 yılları arasında başvuran 19.042 hastanın gaita örneği incelenmiş, %9.79'unda en az bir parazit saptanmış ve tüm incelenen örnekler içinde %6.63 oran ile *Blastocystis* spp.'nin en sık görülen parazit olduğu bildirilmiştir. Söz edilen çalışmalara uygun olarak bizim çalışmamızda da %7.3 oran ile *Blastocystis* spp. en sık görülen parazit olmuştur. Son yıllarda *Blastocystis* spp.'nin mikrobiyotanın da bir parçası olabileceği gündeme gelmiş ve patojenliği tartışılmakla birlikte, gastrointestinal yakınması olup, altta yatan başka bir neden bulunamayan kişilerde 'olası' etken olarak kabul edilmekte ve tedavisi planlanmaktadır[10].

Ocak 2008 ile Aralık 2017 tarihleri arası incelendiğinde, en az bir parazit pozitif saptama yüzdesinin 2008'den 2011'e kadar artış gösterdiği, 2011 yılında pik yaptığı, 2012'de azalmakla birlikte yine de yüksek seyrettiği, 2013 ve 2014 yıllarında kademeli olarak artış gösterdiği görülmüştür. 2015'ten başlayarak azalma eğilimine girmiş ve 2017 yılında %7.4 olarak bulunmuştur Bir yılda saptanan parazit sayısında yıl-

lar arasındaki değişimlerin birkaç nedeni olabileceği düşünülmektedir. İzmir, ülke içi ve ülke sınırlarının ötesini de kapsayan nüfus hareketliliğinin coğrafi olarak güzergâhı üzerinde yer alan ve göç alan büyük şehirlerden biridir. Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK) verilerine göre 2007 yılında 3.739.353 olan İzmir nüfusu; 2017 yılında 4.279.677'ye yükselmiş ve 10 yıllık süreçteki nüfus artışı %14.4 olarak hesaplanmıştır. Nüfus artışı beraberinde bazı sorunları getirebilmektedir. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Ege bölgesindeki tüm iller tarafından başvurulan, hasta spektrumu oldukça geniş bir hastanedir. Bu nedenle incelenen hastaların yalnızca İzmir değil, Ege bölgesinde şehir merkezlerinden kırsala kadar, daha geniş bir coğrafyanın sonuçlarını yansıttığı düşünülmektedir.

2011-2013 yılları arasında en fazla görülen parazit *Cryptosporidium* spp. olmuştur. *Cryptosporidium* spp. fiziksel ve kimyasal inaktivasyona dirençli bir protozoondur. Enfeksiyon meydana getirmek için az sayıda ookist yeterlidir. Ookistin çapı küçük olduğu için por çapı büyük olan filtrelerden kolaylıkla geçebilmektedir ve çökme hızı da az olduğu için su birikintilerinde uzun süre yaşayabilmektedir[11]. *Cryptosporidium* spp. yılın yağışlı zamanlarında daha sık görülmektedir. Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nün İzmir ili için 2008-2017 yılları arasındaki yıllık yağış dağılım grafiği incelendiğinde en fazla yağışın 2009-2010 yıllarında olduğu göze çarpmaktadır[12]. 2011-2013 yılları arasındaki *Cryptosporidium* spp. oranındaki yüksekliğinin nedenlerinden bir tanesi önceki yıllardaki yağış yüksekliği ve yeraltı kaynak sularına karışan etkenler olabilir.

İzmir kenti su gereksinimi temelde kuzeydeki yer altı ve güneydeki yüzeysel su kaynaklarından karşılanmaktadır. İzmir ili sınırları içinde su gereksinimi karşılamak üzere kullanılan yeraltı suyu kaynakları Sarıkız, Göksu, Menemen, Çavuşköy, Halkapınar, Çamdibi ve Pınarbaşı kuyularıdır. Kuzey su kaynaklarından alınan sular iletim sistemi ile Halkapınar Deposuna gelmekte ve klor ile dezenfeksiyon işleminden sonra şehir şebekesine verilmektedir. Kentin güney kesiminin su gereksinimini karşılayan yüzeysel su kaynakları Tahtalı Barajı ve Balçova Barajı'ndan alınarak içme suyu standartlarına uygun hâle getirilmek amacıyla arıtma tesislerinde işlem görmektedir[13]. İzmir Su ve Kanalizasyon İdaresi sayfası incelendiğinde İzmir şebeke suyunun dokuz ayrı noktadan klorinatör cihazları ile klorlandığı görülmüştür[14]. İçme ve kullanma suyunda dezenfeksiyonu sağlamak için klor dozajı miktarı uç noktada en fazla 0.5 ppm olacak şekilde ayarlanmaktadır. Bu dezenfeksiyon şekli 2005 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik"e uygun olarak yapılmaktadır. Son zamanlarda *Giardia intestinalis* ve *Cryptosporidium* spp. su ile geçen önemli patojenler konumuna gelmiştir. Her iki parazit de klorlanmaya karşı dirençli olduğu için ilave olarak kimyasal koagülasyon/flokülasyon/çökeltim, filtrasyon veya ozonlama işlemlerine tabi tutulmaktadır[12]. Özellikle risk yüzeysel su kaynaklarında olduğu için bu kaynaklar bir ön işlemi takiben arındırma işleminden geçirilmektedir. Bütün bu işlemler sonucunda *G. intestinalis* ve *Cryptosporidium* spp. ookistlerinde dört logaritmalık bir inaktivasyon sağlanabileceği, ancak yine de yeterli gelmeyebileceği belirtilmiştir[15].

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İzmir ve civarındaki illerden başvuru alan bir hastanedir ve dolayısıyla sonuçlar İzmir ve çevresindeki geniş bir popülasyonun intestinal paraziter enfeksiyonları hakkında fikir vermekte ve diğer çalışmalarla karşılaştırılabilir bir epidemiyolojik veri sağlayarak bağırsak parazitleri tanısında ve korunma önlemleri konusunda tıp literatürüne katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Türkiye'de intestinal parazitlerle ilgili epidemiyolojik veriler daha çok bölgesel çalışmalardan kaynaklanmaktadır. Bu konuda net verilere ulaşabilmek için ulusal düzeyde yapılacak sürveyans çalışmalarına gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Mezeid N, Shaldoum F, Al-Hindi AI, Mohamed FS, Darwish ZE. Prevalence of intestinal parasites among the population of the Gaza Strip, Palestine. Ann Parasitol. 2014;60(4):281-9.

2. Leung PO, Chen KH, Chen KL, Tsai YT, Liu SY, Chen KT. Epidemiological features of intestinal infection with Entamoeba histolytica in Taiwan, 2002-2010. Travel Med Infect Dis. 2014;12(6):673-9. https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2014.04.010
3. de Silva NR, Brooker S, Hotez PZ, Montresor A, Engles D, Savioli L. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. Trends Parasitol. 2003;19(12):547-51. https://doi.org/10.1016/j.pt.2003.10.002
4. Herwaldt BL. *Cyclospora cayetanensis*: review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. Clin Infect Dis. 2000;31(4):1040-57. https://doi.org/10.1086/314051
5. Altıntaş K. Tıbbi Parazitoloji. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002.
6. Yazar S, Yaman O, Gözkenç N, Şahin İ. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Turkiye Parazitol Derg. 2005;29(4):261-3.
7. Turgay N, Ünver-Yolasığmaz A, Oyur T, Bardak-Özcem S, Töz S. İzmir ve çevresinde bir yılda (Mayıs 2009-Nisan 2010) saptanan bağırsak parazitlerinin aylara göre dağılımı-Asit fast ve modifiye trichrome boyama sonuçları. Turkiye Parazitol Derg. 2012;36(2):71-4. https://doi.org/10.5152/tpd.2012.18
8. Uyar Y, Yürük M, Erdoğan E, Kuk S, Şahin İ, Yazar S. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2011-2013 yılları arasında başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Turk Hij Den Biyol Derg. 2014;71(3):125-30. https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2014.46354
9. Baştemir S, Öncel K, Yereli K, Kilimcioğlu AA, Balcıoğlu C, Girginkardeşler N. Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarında 2011-2015 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2016;46(2):76-81. https://doi.org/10.5222/TMCD.2016.0.76
10. Doyle PW, Helgason MM, Mathias RG, Proctor EM. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol. 1990;28(1):116-121.
11. Usluca S, Aksoy Ü. Su kaynaklı bir parazit: *Cryptosporidium*. DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 2006;20(1):65-74.
12. T.C. Tarım Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü. 2000-2018 Yılları Arasında Ege Bölgesi Yıllık Toplam Yağış Verileri. 2018 [https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/yillik-toplam-yagis-verileri.aspx]. (Erişim tarihi: 05.02.2019).
13. Dölgen D, Sarptaş H, Alpaslan N. Merkezi içme ve kullanma suyu arıtma sistemlerinde uygulanan yöntemlerin değerlendirilmesi: İzmir örneği. TMMOB 1. İzmir Kent Sempozyumu Bildirileri; 2009: 391-402.
14. İzmir Su ve Kanalizasyon İdaresi (İZSU). Hizmetlerimiz-Laboratuvar Hizmetleri. [http://www.izsu.gov.tr]. (Erişim tarihi:05.02.2019).
15. Nieminski EC. Removal of *Cryptosporidium* and *Giardia* through conventional water treatment and direct filtration. Environmental Protection Agency. 1997; EPA/600/SR-97/025.

Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(2):92-97
doi:10.5222/TMCD.2019.092

Araştırma / *Research Article*

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Laboratuvarı'nda Anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgG Avidite Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

Retrospective Evaluation of Anti-Toxoplasma gondii IgG, IgM and IgG Avidity Results in the Laboratory of Akdeniz University Hospital

Hatice Yazısız*, Gözde Öngüt*, Feryal Öztürk Eryiğit, Betil Özhak*, Dilara Öğünç*, İmran Sağlık***, Dilek Çolak***

*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye
**Sağlık Bakanlığı, Isparta Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Isparta, Türkiye
***Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Toksoplazmoz, protozoon bir parazit olan Toxoplasma gondii'nin neden olduğu ve tüm dünyada dağılım gösteren bir enfeksiyondur. T. gondii ender olarak belirlenebildiği için Toxoplasma'ya özgü antikorların araştırıldığı serolojik testler tanıda kullanılmaktadır. Çalışmada, laboratuvara bir yıllık sürede gönderilen hasta örneklerinden elde edilen anti-T. gondii IgG, anti-T. gondii IgM ve T. gondii IgG avidite testi sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Toplam 4089 serum örneğinde Anti-T. gondii IgG, 3138 serum örneğinde Anti-T. gondii IgM antikorları ve 90 hastaya ait T. gondii IgG avidite sonuçları değerlendirilmiştir.*
Bulgular: *Anti-T. gondii IgG araştırılan 4089 serum örneğinden 1.216'sı (%29.7) pozitif ve 39'u (%1.0) ara değer olarak saptanmıştır. Üç bin yüz otuz sekiz serum örneğinde anti-T. gondii IgM araştırılmış olup, 80'i (%2.5) pozitif, 11'i (%0.4) ara değer bulunmuştur. Anti-T. gondii IgG pozitif ve Anti-T. gondii IgM pozitif/ara değer olan hasta örneklerinin %57.1'inde yüksek avidite, %14.3'ünde ara değer, %28.6'sında düşük avidite saptanmıştır.*
Tartışma: *Çalışmada, kadınlarda seropozifliğin düşük (%29) olduğu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, özellikle doğurganlık yaş grubunda olan kadınların toksoplazmoz serolojisi açısından taranmasının önemli olduğu düşünülmüştür.*

Anahtar kelimeler: *Toxoplasma gondii, anti-Toxoplasma gondii IgG avidite, toksoplazmoz*

ABSTRACT

Objective: *Toxoplasmosis is one of the most common parasitic zoonoses worldwide caused by the protozoan parasite Toxoplasma gondii. Because T. gondii organisms are rarely detected in humans, serologic tests are used to indicate the presence of the infection by searching for Toxoplasma-specific antibodies. The aim of this study was to evalute the results of anti-T. gondii IgG, anti-T. gondii IgM and T. gondii IgG avidity tests which were performed on serum samples obtained from patients in the laboratory during a one-year period.*
Method: *We evaluated a total of 4089 serum sample results as for the presence of anti-T. gondii IgG, 3138 for anti-T. gondii IgM and 90 for T. gondii IgG avidity.*
Results: *Of the 4089 serum samples in which presence of anti-T. gondii IgG antibodies was investigated, 1216 (29.7%) samples yielded positive results and 39 (1.0%) of them demonstrated intermediate anti-T. gondii IgG antibody-positivities. Out of the 3138 serum samples, 80 (2.5%) samples were anti-T. gondii IgM positive and while 11 (0.4%) samples demonstrated intermediate anti-T. gondii IgM posiitvities. Among the samples tested positive for T. gondii IgG and positive/intermediate for IgM, 57.1% had high avidity, 14.3% of them borderline and 28.6% low -avidity antibodies.*
Conclusion: *In this study, it was found that seropositivity was low (29%) in women. Therefore, it has been considered that screening of women especially in the fertility age group for toxoplasmosis serology is important.*

Keywords: *Toxoplasma gondii, anti-Toxoplasma gondii IgG avidity, toxoplasmosis*

Alındığı tarih:
07.02.2019
Kabul tarihi:
05.03.2019
Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCİD Kayıtları

H. Yazısız 0000-0002-7285-4764
G. Öngüt 0000-0003-2808-1829
F. Öztürk Eryiğit 0000-0003-3566-5697
B. Özhak 0000-0001-5224-1824
D. Öğünç 0000-0001-6669-6811
İ. Sağlık 0000-0003-0864-4989
D. Çolak 0000-0002-8739-0130

drhyazisiz@yahoo.com.tr

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

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

GİRİŞ

Toksoplazmoz, protozoon bir parazit olan *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu ve tüm dünyada dağılım gösteren bir enfeksiyondur. Bütün sıcakkanlı vertebralıları enfekte edebilen parazit insan ve hayvan sağlığı açısından büyük bir sorundur[1]. Dünya popülasyonunun 1/3'inin *T. gondii* ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir[2]. İnsanlarda *T. gondii*'ye bağlı enfeksiyonların başta az pişmiş veya çiğ olarak tüketilen kist içeren etler olmak üzere ookistler ile kontamine su ve gıdaların alınması ya da hamileliği sırasında akut enfeksiyon geçiren anneden fetusa transplasental yolla parazitin geçmesiyle oluştuğu gösterilmiştir[3]. Yetişkinlerde primer enfeksiyon sıklıkla asemptomatiktir, fakat bazı hastalarda lenfadenopati ya da oküler toksoplazmosis gelişebilir. İmmünsuprese hastalarda kronik enfeksiyon reaktivasyonu ya da primer enfeksiyonda şiddetli hastalık gelişme riski vardır[4]. Gebelikte geçirilen akut enfeksiyon ile konjenital toksoplazmoz oluşmakta ve erken gebelikte özellikle hamileliğin ilk üç ayında oluşan enfeksiyon neticesi ağır fetal enfeksiyon gelişmektedir[3,5]. İlk trimestirde enfeksiyonu alıp tedavi olmamış kadınlarda bunun sonucunda spontan abortus, ölü doğum veya gebelik sonlandırılabilmektedir. Toksoplazmozlu fetüs veya bebeklerde ise mikrosefali, hidrosefali, kafa içi kalsifikasyonlar, hepatomegali gibi ciddi belirtiler görülebilmektedir[3,6].

Toksoplazmoz tanısı, parazitin kendisinin, DNA parçalarının ya da parazitin yüzey antijenlerine karşı oluşmuş antikorların belirlenmesi ile koyulabilmektedir. Sabin-Feldman boya testi (Dye test) referans testtir ancak canlı *Toxoplasma* paraziti ve deneyim gerektirmesi nedeniyle rutin laboratuvarlarda yaygın kullanılamamaktadır[3,5,6]. Toksoplazmoz tanısında yaygın olarak kullanılan serolojik testlerden IgM, IgG ve IgA antikorlarının ELISA yöntemiyle araştırılması hastalığın erken veya geç dönemde olduğunu belirlemede yetersiz kalması nedeniyle IgG avidite testi ile beraber kullanılabilmektedir[3].

Bu çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na bir yıllık sürede toksoplazmoz açısından değerlendirilmek üzere gönderilen hasta örneklerinde elde edilen anti-*T. gondii* IgG, anti-*T. gondii* IgM ve *T. gondii* IgG avidite testi sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na Temmuz 2014-Temmuz 2015 tarihleri arasında anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM ve *T. gondii* IgG avidite istemi ile gelen örnekler dâhil edilmiştir. Toplam 4.089 serum örneğinde anti-*T. gondii* IgG, 3.138 serum örneğinde anti-*T. gondii* IgM antikorları ve 90 hastaya ait *T. gondii* IgG avidite sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Hastalardan alınan ve laboratuvar kabulu yapılan kan örnekleri preanalitik sisteme yerleştirilmiştir. Preanalitik sistemde 4000 devirde altı dakika santrifüj edilen örneklerden istenen test sayısına göre alikotlama ve barkotlama yapılarak cihaz tarafından ayrılmış, serum örnekleri ilgili teknisyen tarafından toplanıp, çalışılana kadar -20°C saklanmıştır. Olguların serumlarında antikorlar Immulite® 2000 XPi™ Immunoassay System (Siemens, Almanya) ticari kiti kullanılarak çalışılmıştır. İndeks değerleri anti-*T. gondii* IgM için indeks <0.9 olan olgular negatif, indeks değeri 0.9-1.1 arasında olanlar ara değer, indeks ≥1.1 olanlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Anti-*T. gondii* IgG için sonuç <6.5 IU/ ml olanlar negatif, 6.5-8 IU/ ml arasında olanlar ara değer, ≥8 IU/ ml olan örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Spesifik IgG avidite testi *T. gondii* IgG avidite kiti (Euroimmun, Almanya) kullanılarak ELISA yöntemiyle araştırılmış, avidite indeksi değeri üretici firmanın önerileri doğrultusunda; <%40 düşük, %40-%60 arası ara değer, >%60 yüksek avidite olarak değerlendirilmiştir.

Hastaların klinik bilgileri hastane kayıt sistemi MİA-MED sisteminden taranarak retrospektif olarak bulunmuştur. Tüm data Microsoft® Office Excel 2007'e kayıt edilip tanımlayıcı istatistikler yapılarak analiz edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 4.089 serum örneğinde anti-*T. gondii* IgG antikorları araştırılmış, örneklerin 1.216 (%29.7)'sında pozitif; 39 (%1.0)'unda ara değer ola-

Tablo 1. Anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM sonuçlarının cinsiyete göre dağılımı.

	Anti-*T. gondii* IgG				Anti-*T. gondii* IgM			
	Pozitif	**Ara değer**	**Negatif**	**Toplam**	**Pozitif**	**Ara değer**	**Negatif**	**Toplam**
Erkek	415	10	905	1328	15	3	719	737
Kadın	801	29	1.926	2761	65	8	2328	2401
Toplam n (%)	1.216 (29.7)	39 (1)	2.834 (69.3)	4.089 (100)	80 (2.5)	11 (0.35)	3.047 (97.1)	3.138 (100)

Tablo 2. *T. gondii* IgG avidite testi sonuçları ile anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM sonuçlarının karşılaştırılması.

Anti-*T. gondii* antikor	**Düşük avidite <%40**	**Ara değer %40-%60**	**Yüksek avidite >%60**	**Toplam**
Anti-*T. gondii* IgG (+) / Anti-*T. gondii* IgM (+)	10	5	23	38
Anti-*T. gondii* IgG (+) / Anti-*T. gondii* IgM (-)	4	12	21	37
Anti-*T. gondii* IgG (+) / Anti-*T. gondii* IgM (A)	2	1	1	4
Anti-*T. gondii* IgG (A) / Anti-*T. gondii* IgM (-)	1	1	1	3
Anti-*T. gondii* IgG (+) / Anti-*T. gondii* IgM (B)	1	1	6	8
Toplam n (%)	18 (20)	20 (22.2)	52 (57.8)	90

(+): Pozitif, (-): Negatif, A: Ara değer, B: Bilinmiyor

rak saptanmıştır. Anti-*T. gondii* IgM, çalışılan 3.138 serum örneğinden 80 (%2.5)'inde pozitif, 11 (%0.35)'inde ara değer olarak bulunmuştur. Anti-*T. gondii* IgG istemi yapılan serum örneklerinin 2761 (%67.5)'i kadın, 1.328 (%32.5)'i erkek ve ortanca yaş 32 (0-92 yaş) olan hastalara aittir. Anti-*T. gondii* IgM istemi yapılan örneklerin 2.401 (%76.5)'i kadın, 737 (%23.5)'si erkek ve ortanca yaş 29 (0-92 yaş) olan hastalardan gelmiştir. *T. gondii* seropozitifliği erkeklerde %31.3, kadınlarda %29 olarak saptanmıştır. Anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM sonuçlarının cinsiyete göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmada aynı zaman diliminde *T. gondii* IgG avidite istemi ile gelen 90 hastaya ait sonuçlar değerlendirilmiştir. On sekizi erkek (%20), 72'si kadın (%80) olan hastaların yaş ortalaması 30.9±15.0 olarak bulunmuştur. Hastalardan 12'si Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, 23'ü Kadın Hastalıkları ve Doğum, 29'u Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, 26'sı diğer servis ve polikliniklerden gelmiştir. *T. gondii* IgG avidite testi çalışılan hasta örneklerinin 18'inde (%20) düşük avidite, 20'sinde (%22.2) ara değer, 52'sinde (%57.8) yüksek avidite indeksi bulunmuştur. Anti-*T. gondii* IgG pozitif ve anti-*T. gondii* IgM pozitif/ara değer olan hasta örneklerinin %57.1'inde yüksek avidite, %14.3'ünde ara değer, %28.6'sında düşük avidite saptanmıştır. *T. gondii* IgG avidite testi sonuçları ile anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 2'de gösterilmiştir.

Düşük aviditeli antikor saptanan 18 hastanın retrospektif olarak ulaşılabilen demografik ve klinik özellikleri değerlendirilmiştir. Bunların 14'ü kadın, 4'ü erkek hastalardan oluşmuş olup, on dört kadın hastanın 9'u gebelik sürecinde olan kişilerden oluşmaktaydı. Biri ikiz olmak üzere üç bebek ise bu düşük aviditeli antikor saptanan ve toksoplazmoz için tedavi başlanan annelerden doğmuşlardı. Hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Toxoplasma gondii seroprevalansı çeşitli faktörlere bağlı olarak, ülkeler arasında ya da aynı ülke içinde bile bölgeler arasında farklılık gösterebilmektedir[3]. Türkiye'de yapılan çalışmalarda, Manisa ilinde anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM pozitifliği sıra-

Tablo 3. Düşük aviditeli antikor saptanan hastaların demografik ve klinik özellikleri.

Hasta no	Anti-*T. gondii* IgG	Anti-*T. gondii* IgM	Yaş	Cinsiyet	Klinik
1	(+)	(-)	0	K	Konjenital toksoplazmoz -Gebelikte toksoplazmoz düşünülen ve Prim+ Sulfa kullanan anne bebeği -Sabin-Feldman boya testi pozitif -Prim+ Sulfa tedavisi almış, takiplerinde sekel saptanmamış.
2	(+)	(-)	0	E	Konjenital toksoplazmoz -Gebelikte toksoplazmoz düşünülen ve Prim+ Sulfa kullanan anne bebeği -Sabin-Feldman boya testi pozitif -Prim+ Sulfa tedavisi almasına rağmen 2 yaşında görme sekeli saptanmış.
3	(+)	(-)	0	E	Konjenital toksoplazmoz -Gebelikte toksoplazmoz düşünülen ve Prim+ Sulfa kullanan anne bebeği -Sabin-Feldman boya testi pozitif -Prim+ Sulfa tedavisi almasına rağmen 2 yaşında görme sekeli saptanmış.
4	(+)	(+)	8	E	Akut toksoplazmoz -Servikal lenfadenopati -ALT, AST yüksekliği
5	(+)	(+)	12	E	Akut toksoplazmoz -Submandibular lenfadenopati
6	(A)	(-)	15	K	-ALL hastası -Klinik bilgi bulunamadı.
7	(+)	(+)	22	K	Gebelik toksoplazmozu -Sipiramisin başlanmış
8	(+)	(+)	23	K	Gebelik toksoplazmozu -Sipiramisin başlanmış
9	(+)	(-)	25	K	Gebe -Klinik bilgi bulunamadı.
10	(+)	(+)	25	K	Gebelik toksoplazmozu -Sipiramisin başlanmış
11	(+)	(+)	25	K	Gebelik toksoplazmozu -Sipiramisin başlanmış
12	(+)	(A)	25	K	Gebelik toksoplazmozu -Sipiramisin başlanmış
13	(+)	(+)	26	K	Gebe -Klinik bilgi bulunamadı.
14	(+)	(+)	27	K	Gebelik toksoplazmozu -Prim+ Sulfa başlanmış
15	(+)	(+)	31	K	-1 yıl önce toksoplazmoz nedeniyle gebelik sonlandırılmış, takip ediliyor.
16	(+)	(A)	33	K	Gebe -Klinik bilgi bulunamadı.
17	(+)	(B)	33	K	-Klinik bilgi bulunamadı.
18	(+)	(+)	44	K	-Myeloid lösemi -Klinik bilgi bulunamadı.

(+): Pozitif; (-): Negatif; A: Ara değer; B: Bilinmiyor; Prim+Sulfa: Primetamin+Sulfadiazin; ALT: Alaninaminotransferaz; AST: Aspartataminotransferaz

sıyla %23.3 ve %0.1; Bursa'da anti-*T. gondii* IgG ve IgM pozitifliği kadınlarda ve erkeklerde sırasıyla %29.2 ve %2.02; %21.2 ve %1.7; Aydın'da anti-*T. gondii* IgG pozitifliği %30, anti-*T. gondii* IgM pozitifliği %2.6 olarak bulunmuştur[7-9]. İstanbul'da yapılan bir çalışmada, yalnız anti-*T. gondii* IgG pozitifliği %37, anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM birlikte pozitifliği %1.9 olarak bulunmuştur[10]. Sunulan çalışmada, anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM pozitifliği sırasıyla %29.7 ve %2.5 bulunmuş olup, diğer çalışmalarla benzerdir.

Toksoplazmoz seroprevalansı Fransa'da yapılan bir çalışmada, %55.4 olarak bulunmuştur. Fransa'da seroprevalans yüksekliğinin nedeni olarak az pişmiş et yeme alışkanlığı gösterilmektedir[11]. Türkiye'de, Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada, seropozitif saptanan olguların başvuru sırasında belirttikleri özellikler incelendiğinde, en sık çiğ et tüketimi (%21.2) ile ilişkili olduğu bulunmuştur[8]. Türkiye'de en yüksek seropozitiflik oranları Güneydoğu Anadolu bölgesinden bildirilmektedir. Tekay ve ark.'nın[12], Şanlıurfa'da çiğ köfte yeme alışkanlığı olan bölgede yaptıkları bir çalışmada, kadınlarda seropozitiflik oranı %69.6 olarak saptanmıştır. Antalya'da 2008-2010 yılları arasında doğurganlık yaş grubundaki kadınlarda yapılan bir çalışmada, anti-*T. gondii* IgG %32.4, anti-*T. gondii* IgM %1.8 oranında pozitif bulunmuş, gebe kadınlarda yapılan diğer bir çalışmada, %33.4 seropozitifliğe rastlanmıştır[5,13]. Sunulan çalışmada da kadınlarda seropozitiflik oranı %29 olarak bulunmuştur. Bu oran araştırma bölgesinde yapılan bu iki çalışma[5,13] ile uyumlu, ancak Tekay ve ark.'nın[12] yaptığı çalışmaya göre daha düşüktür. Bu farklılık araştırma bölgesindeki insanların yiyecek ve hijyenik alışkanlıklarından kaynaklanmış olabilir.

Toxoplasma gondii enfeksiyonlarının çoğunun kişide klinik semptom olmadan ya da nonspesifik klinik semptomlarla seyretmesi nedeniyle, tanıda özgül antikor veya antijen saptanması esasına dayanan çeşitli serolojik testler kullanılmaktadır. *T. gondii*'ye özgü antikorlardan IgM'in aylar, yıllar, IgG'nin bir ömür boyu yüksek titrede pozitif kalabilmesi, yöntemlerin yalancı pozitif veya negatif sonuç verme olasılıkları nedeniyle, tanıda birden fazla yöntemin birlikte kullanılması gerekmektedir[4,14]. IgM, IgG, IgA ELISA testleri hastalığın erken veya geç dönemde olduğunu belirlemede yetersiz kalmakta ve primer enfeksiyon zamanının belirlenmesinde ek olarak IgG avidite testi de kullanılabilmektedir. IgG avidite testi, özgün IgG'nin multivalan *Toxoplasma* antijenine bağlanma gücüne dayanmaktadır. Yüksek avidite, enfeksiyonun en az dört ay önce geçirildiğini göstermektedir. Düşük aviditeli antikorların tespit edilmesi ise akut enfeksiyon olabileceğini göstermekte ancak bazı kişilerde aylarca düşük IgG avidite sürdüğü için kesin kanıt olarak gösterilememektedir[3,4,15]. Çalışmada anti-*T. gondii* IgG pozitif ve anti-*T. gondii* IgM pozitif/ara değer olan hasta örneklerinin %57.1'inde yüksek avidite, %14.3'ünde ara değer, %28.6'sında düşük avidite saptanmıştır. Bu örneklerin yaklaşık yarısında (%57.1), yüksek aviditeli antikorların saptanması ile 3-5 ay öncesine kadar olan Toxoplasma enfeksiyonu dışlanmıştır.

Toksoplazmoz gebelikte ciddi sorunlara neden olabilen bir parazittir, bu nedenle kadınlarda gebelik sırasında oluşabilecek akut enfeksiyonun değerlendirilmesi önemlidir. Doğurganlık çağındaki seronegatif kadınlar primer enfeksiyon gelişimi için risk altındadır ve gebeler belirli aralıklarla serokonversiyon açısından izlenmelidir[16]. Seronegatif kadınların gebe kalmaları hâlinde enfeksiyondan korunma ve olası risk faktörleri konusunda eğitilmeleri gerekmektedir[5,17]. Çalışmada, kadınlarda seropozifliğin düşük (%29) olduğu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle çalışma bölgesinde, özellikle doğurganlık yaş grubunda olan kadınların toksoplazmoz serolojisi açısından taranmasının önemli olduğu düşünülmüştür.

Toksoplazmoz tanısı gebelerin yanı sıra konjenital enfekte olan fetus ve yeni doğan hasta guplarında da önem taşımaktadır[14]. Ekşi ve ark.[18] Gaziantep ilinde yaptıkları çalışmada, anti-*T. gondii* IgG avidite testi çalışılan 130 gebenin %35.4'ünde düşük avidite saptamışlar ve gebelerde akut enfeksiyon ile önceden geçirilmiş enfeksiyonun ayrımında IgG avidite testinin, IgG ve IgM antikorlarına yönelik testler ile birlikte yapılmasının yararlı olacağını belirtmişlerdir. Çalışma grubunda toplam 18 düşük aviditeli antikor saptanan hastanın 14'ünün kadın ve bunların da dokuzunun gebelik sürecinde olan kadınlardan oluştuğu saptanmıştır. Bunların büyük çoğunluğuna da

gebelikte primer enfeksiyon olduğu düşünülerek tedavi başlanmıştır. Düşük aviditeli antikorlar saptanan üç yenidoğan bebeğin de bu kadınların bebekleri olduğu gözlenmiştir. Sunulan çalışmada da, anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM ile IgG avidite testleri kullanılarak hastaların tanı ve tedavisinde yol alındığı gözlenmiştir.

Çalışma retrospektif bir çalışma olduğu için, düşük aviditeli antikor saptanan hastaların klinik özelliklerinin, hastane bilgi işletim sistemine kaydedilen dosya bilgileri ve laboratuvar sonuçları ile sınırlı olması kısıtlılığını oluşturmaktadır.

Çalışmada, *T. gondii* seropozitifliği %29.7 olarak saptanmış olup, bölgede yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Düşük aviditeli antikor saptanan hastaların çoğunluğunun doğurganlık yaş grubunda veya gebe olan kadınlardan oluştuğu saptanmıştır. Bu doğrultuda bölgede öncelikle seronegatif olan kadınların enfeksiyondan korunma ve risk faktörleri açısından bilgilendirilerek gebelik süresince takip edilmesinin önemli olduğu ve gebelikte primer enfeksiyon ve konjenital toksoplazmozun erken tanı ve tedavisi açısından yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Ahmadpour E, Daryani A, Sharif M, et al. Toxoplasmosis in immunocompromised patients in Iran: a systematic review and meta-analysis. J Infect Dev Ctries. 2014; 8(12):1503-10. https://doi.org/10.3855/jidc.4796
2. Wei HX, Wei SS, Lindsay DS, Peng HJ. A systematic review and meta-analysis of the efficacy of anti-*Toxoplasma gondii* medicines in humans. PLoS One. 2015;10(9):e0138204. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138204
3. Gürüz AY, Özcel MA. Toxoplasmosis. In: Özcel MA (Eds.) "Tıbbi Parazit Hastalıkları" kitabında. İzmir: Meta Basım, 2007:141-89.
4. Liu Q, Wang ZD, Huang SY, Zhu XQ. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. Parasit Vectors. 2015;8:292. https://doi.org/10.1186/s13071-015-0902-6
5. Pekintürk N, Çekin Y, Gür N. Antalya ilinde bir mikrobiyoloji laboratuvarına *Toxoplasma gondii* antikorları araştırılması amacıyla başvuran doğurganlık yaş grubu kadın olgulara ait sonuçların retrospektif olarak değerlendirilmesi. Turkiye Parazitol Derg. 2012;36(2):96-9. https://doi.org/10.5152/tpd.2012.23
6. Alkan MZ, Tamer GS. *Toxoplasma gondii.* Topcu AW Söyletir G, Doğanay M (Eds). "Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi" kitabında: İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2008:2534.
7. Yaman A, Ertabaklar H, Kapdağlı A, Ertuğ S. 2002 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına toxoplasmosis araştırılması amacıyla başvuran olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. Turkiye Parazitol Derg. 2004;28(1):1-4.
8. Bölük S, Özyurt BC, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu AA. Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarına 2006-2010 yıllarında toxoplasmosis şüphesi ile başvuran hastaların serolojik sonuçlarının değerlendirilmesi. Turkiye Parazitol Derg. 2012;36(3):137-41. https://doi.org/10.5152/tpd.2012.33
9. Alver O, Göral G, İlker Ercan İ. Uludağ Üniversitesi Hastanesi ELISA laboratuvarına 2002-2008 yılları arasında toxoplasmosis şüphesi ile başvuran hastaların serolojik sonuçlarının değerlendirilmesi. Turkiye Parazitol Derg. 2014;38(3):141-6. https://doi.org/10.5152/tpd.2014.3350
10. Selek MB, Bektöre B, Baylan O, Özyurt M. Üçüncü basamak bir eğitim hastanesinde 2012-2014 yılları arasında bebelerde ve toksoplazmosis şüpheli hastalarda *Toxoplasma gondii*'nin serolojik olarak araştırılması. Turkiye Parazitol Derg. 2015;39(3):200-4. https://doi.org/10.5152/tpd.2015.3961
11. Bellali H, Pelloux H, Villena I, Fricker-Hidalgo H, Le Strat Y, Goulet V. Prevalence of toxoplasmosis in France in 1998: is there a difference between men and women? At what age do children become infected? Rev Epidemiol Sante Publique. 2013;61(4):311-7. https://doi.org/10.1016/j.respe.2012.11.005
12. Tekay F, Ozbek E. Çiğ köftenin yaygın tüketildiği Şanlıurfa ilinde kadınlarda *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. Turkiye Parazitol Derg. 2007;31(3):176-9.
13. Çekin Y, Kızılateş F, Gür N, Şenol Y. Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesine son dört yılda başvuran gebe kadınların *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin araştırılması Turkiye Parazitol Derg. 2011;35(4):181-4. https://doi.org/10.5152/tpd.2011.47
14. Caner A, Gürüz AY. Toxoplasmosis. In: Korkmaz M, Ok ÜZ (Eds.) "Parazitolojide laboratuvar" kitabında. İzmir: Meta Basım, 2011:261-92.
15. Mumcuoğlu İ, Toyran A, Çetin F, et al. Gebelerde toksoplazmoz seroprevalansının değerlendirilmesi ve bir tanı algoritmasının oluşturulması. Mikrobiyol Bul. 2014;48(2):283-91. https://doi.org/10.5578/mb.7000
16. Sensini A. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. Clin Microbiol Infect. 2006 Jun;12(6):504-12. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01444.x
17. Pala M, Karaman Ü, Atambay M, Daldal N. Hiç gebe olmayan kadınlarda (18-25 Yaş Grubu) tokzoplazmoz seroprevalansı. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2008;15(4):257-60.
18. Ekşi F, Karslıgil T, Bayram A, Zer Y, Katrancı B, Balcı İ. Anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testi çalışılan gebelerin serolojik profillerinin irdelenmesi. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2010;40(1):16-21.

Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(2):98-103
doi:10.5222/TMCD.2019.098

Araştırma / *Research Article*

Denizli'de Sığır ve Besicilerden İzole Edilen Enterokok Türlerinin Antibiyotik Direnç Paternleri

Antibiotic Resistance Patterns of Enterococcus species Isolated from Cattle and Cattle Farmers in Denizli, Turkey

Ergun Mete, İlknur Kaleli

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Enterokokların intrinsik antibiyotik direnci olması ve ek antibiyotik direncini hızla kazanabilme kapasiteleri, enfeksiyonları tedavi etmeyi zorlaştırır. Hayvanlarda enterokok enfeksiyonları ender olarak antimikrobiyal ajanlar ile tedavi edilir. Bununla birlikte, diğer enfeksiyonların tedavisi süresince, büyüme promotörleri veya profilaktik olarak antibiyotik kullanıldığında enterokoklar, gastrointestinal sistemdeki varlıklarından dolayı, antimikrobiyallere maruz kalırlar. Bu çalışmada, besicilerden ve sığırlardan izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik dirençlerinin bölgesel dağılım farklarının incelenmesi amaçlanmıştır.*

Yöntem: *Çalışmaya alınan örnekler Denizli ve çevresinde, 4 farklı bölgeden (21 farklı yerleşim yeri) toplanmıştır. Yetmiş iki sığır ve 111 besiciden alınan rektal süründü ve dışkı örnekleri izolasyon için Enterococcosel Agar (ECA) ve Enterococcosel Broth (Becton Dickinson, Heidelberg, Germany) besiyerlerine ekildi. Enterokokların tanımlanmasında koloni morfolojisi, koyun kanlı agardaki hemoliz karakterleri, Gram boyama, katalaz testi, %40 safralı eskülin hidrolizi, 10°C ve 45°C'de üreme özellikleri, %6.5 NaCl besiyerinde üreme yeteneği ve pyrrolidonyl-beta-naphthylamide testleri yapıldı. İzole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller Hinton agar besiyeri kullanılarak araştırıldı. Betalaktam antibiyotikler [(penisilin (10 IU), ampisilin (10 µg), sefaklor (30 µg), sefalotin (30 µg)] aminoglikozidler [(yüksek düzey gentamisin (120 µg), yüksek düzey streptomisin (300 µg)], kinolon [siprofloksasin (5 µg)] ve tetrasiklin (30 µg) duyarlılıkları incelenmiştir.*

Bulgular: *Bu çalışmada toplam 161 (96 besici, 65 sığır) enterokok suşu izole edilmiştir. Besicilerden elde edilen izolatlarda II., III. ve IV. bölgede siprofloksasin direnci; I. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur. Sığırlardan elde edilen izolatlarda ise I. ve II. bölgede betalaktam ve siprofloksasin direnci; III. ve IV. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur. Sığır izolatlarının hiçbirinde tetrasiklin direnci saptanmamıştır.*

Sonuç: *Sunulan araştırmada elde edilen verilere göre bölgesel veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımının çok farklı olabileceği, kullanılan antibiyotik yapısına göre besici ve sığır izolatlarında farklı direnç görülebileceği öngörülmüştür.*

Anahtar kelimeler: *Enterokok, besici ve sığır, antimikrobiyal direnç*

ABSTRACT

Objective: *The intrinsic antibiotic resistance of enterococci and their ability to rapidly gain additional antibiotic resistance make it difficult to treat infections. In animals, enterococcal infections are rarely treated with antimicrobial agents. However, during the treatment of other infections, when growth promoters or prophylactic antibiotics are used, enterococci in the gastrointestinal tract are exposed to the antimicrobials. The aim of this study was to investigate the differences in regional distribution of antibiotic-resistant Enterococci strains isolated from cattle and cattle farmers in Denizli, Turkey.*

Method: *Samples collected from four regions (21 settlements) in and around Denizli. Rectal swabs and stool specimens from 72 cattle and 111 cattle farmers were sown on Enterococcosel Agar (ECA) and Enterococcosel Broth medium (Becton Dickinson, Heidelberg, Germany) for isolation of bacteria. Colony morphology, haemolysis characteristics in sheep blood agar, Gram staining, catalase test, 40% biliary hydrolysis, 10°C and 45°C reproduction characteristics, 6.5% NaCl growth ability and pyrrolidonyl-beta-naphthylamide tests were performed to identify enterococci. The antibiotic susceptibility of the isolated enterococci was investigated using the Kirby-Bauer disk diffusion method and Mueller-Hinton agar medium. Sensitivities to beta-lactam antibiotics (penicillin, 10 IU; ampicillin, 10 µg; cefaclor, 30 µg; and cephalothin, 30 µg), aminoglycosides (high concentrations of gentamicin, [120 µg]; and streptomycin, [300 µg]), quinolone (ciprofloxacin, 5 µg) and tetracycline (30 µg) were examined.*

Results: *A total of 161 Enterococcus strains were isolated in this study, 96 from cattle farmers and 65 from cattle. Ciprofloxacin resistance in isolates from cattle farmers was found to be higher in Regions II, III, and IV than in Region I. Beta-lactam and ciprofloxacin resistance in isolates from cattle was found to be higher in Regions I and II than in Regions III and IV. Tetracycline resistance was not found in any of the bovine isolates.*

Conclusion: *According to the data obtained in the study, it was predicted that the use of antibiotics in veterinary medicine varies widely by region, and that different antibiotic resistances may be seen in isolates from cattle farmers and cattle according to the antibiotics used in each region.*

Keywords: *Enterococci, cattle farmer and cattle, antimicrobial resistance*

Alındığı tarih:
22.03.2019
Kabul tarihi:
08.05.2019
Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCİD Kayıtları

E. Mete 0000-0002-0854-2440
İ. Kaleli 0000-0001-9689-8297

ergunmete@pau.edu.tr

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

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

GİRİŞ

Enterokoklar, insan gastrointestinal kanalından kaynaklanan ve belirli koşullar altında insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilen yaygın kommensal bakterilerdir[1]. Fırsatçı patojen olarak endokardit, septisemi, gibi ciddi enfeksiyonlara neden olurlar[2]. Son zamanlarda en sık izole edilen nozokomiyal patojenler arasındadır[3]. Enterokokların intrinsik antibiyotik direnci ve ek antibiyotik direncini hızla kazanabilme kapasiteleri, enfeksiyonları tedavi etmeyi zorlaştırır ve bu nedenle önemli bir enfeksiyon kontrol yükü oluşturur[4]. Antibiyotik direnci, dünya genelindeki insan sağlığına yönelik önde gelen bir tehdittir ve bu da sağlık bakım maliyetini büyük ölçüde artırır. Enterokoklar, 1970'lerde ve 1980'lerde kan dolaşımı, idrar yolları ve cerrahi yaralarda antibiyotik dirençli enfeksiyon nedenlerinden biri olarak önem kazanmıştır[5].

Enterokok enfeksiyonlarının tedavisi zordur. Monoterapi, genellikle β-laktamlar gibi bakterisidal olan ajanlarda bile bakteriostatik aktivite sağlar. Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kılavuzlar enterokok endokarditi için ilk seçenek olarak kombinasyon tedavisini önermektedir. Duyarlı kökenlere karşı, bakterisidal aktivite elde etmek için sıklıkla ampisilin ve bir aminoglikozit kombinasyonu kullanılır. Bununla birlikte, aminoglikozidlere yüksek düzey direnç birçok ülkede yaygındır. Eğer bunlara direnç var ise glikopeptid antibiyotiğin seçilmesi gereklidir. Ancak suşların çoğu kez çoklu antibiyotik direncine sahip olması ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin (YDAD) varlığına ilaveten, giderek artan oranda bildirilen vankomisin direnci tedavide önemli sorun olarak karşımıza çıkmaktadır[6].

Hayvanlarda enterokok enfeksiyonları ender olarak antimikrobiyal ajanlar ile tedavi edilir. Bununla birlikte, diğer enfeksiyonların tedavisi süresince, büyüme promotörleri veya profilaktik olarak antibiyotik kullanıldığında enterokoklar gastrointestinal yolağının üyeleri olarak antimikrobiyallere maruz kalırlar[7]. Bu çalışmada besicilerden ve sığırlardan izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik dirençlerinin bölgesel dağılım farkları incelenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda, 111 besici (sığır yetiştiricisi) ve 72 sığırdan alınan rektal sürüntü ve dışkı örneklerinden izole edilen enterokok suşları incelenmiştir. Örnekler Denizli ve çevresinde, 4 farklı bölgeden (21 farklı yerleşim yerinden) toplanmıştır. Bölgeler coğrafik yapı, sağlık ve veteriner hizmetlerindeki farklılıklara göre gruplandırılmıştır. Bölgeler ana özelliklerine göre gruplandırıldığında her bölge için ayrı trafik ana karayolunun bulunduğu (I. bölge; Denizli İzmir karayolu çevresi ve Menderes vadisi; II. bölge; Denizli-Uşak karayolu ve Çal, Çivril, Baklan ovası; III. bölge; Denizli-Ankara karayolu, Çardak-Acıgöl ovası; IV. Bölge; Denizli-Muğla-Antalya karayolları ve Acıpayam, Tavas ovaları) yerler göz önüne alınarak ayrılmıştır. Bu nedenle bölgeler arası veterinerlik tedavi hizmetlerinin geçişi bulunmadığı düşünülmüştür.

Dışkı örnekleri kuru ve temiz dışkı toplama kaplarına alındı. Steril pamuklu eküvyonlarla alınan rektal sürüntü örnekleri 3 ml fosfat tamponlu su (PBS) içine konuldu. Alınan tüm örnekler iki saat içinde laboratuvara getirildi ve ekimleri yapıldı[8]. Tüm örnekler Enterococcosel agar (ECA) ve Enterococcosel sıvı (ECB) (BD, Maryland, ABD) besiyerlerine ekildi. Ekimler 37°C'de ECA için 24 saat, ECB için 48 saat inkübe edildi. ECB inkübasyonu sonunda eskülini hidrolize ederek koyu kahverengi-siyah renk değişimi olan ve olmayan kültürlerden 0.1 ml alınarak ECA besiyerine pasajlanarak 24 saat inkübasyona bırakıldı. Enterokokların tanımlanmasında koloni morfolojisi, koyun kanlı agardaki hemoliz karakterleri, Gram boyama, katalaz testi, %40 safralı eskülin hidrolizi, 10°C ve 45°C'de üreme özellikleri, %6.5 NaCl besiyerinde üreme yeteneği ve Pyrrolidonyl-beta-Naphthylamide (PYR) testleri yapıldı[9].

Enterokok olarak saptanan suşlar için; arginin dihidrolaz aktivitesi, mannitol, sorboz, sükroz, rafinoz, laktoz, arabinoz ve sorbitolden asit oluşturmaları,

piruvat kullanımı, hareket ve pigment oluşum özelliklerine göre tür ayrımları yapıldı[9].

İzole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıkları "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller Hinton agar besiyeri kullanılarak araştırıldı[10]. Vankomisin (30 µg), teikoplanin (30 µg), Betalaktam antibiyotikler [(penisilin (10 IU), ampisilin (10 µg), sefaklor (30 µg), sefalotin (30 µg)] aminoglikozidler [(yüksek düzey gentamisin (120 µg), yüksek düzey streptomisin (300 µg)], siprofloksasin (5 µg) ve tetrasiklin (30 µg) duyarlılıkları incelenmiştir. Beta-laktamaz aktiviteleri ise nitrosefin diski ile saptandı. İstatistiksel analiz, SPSS (Windows Ver 21.0, SPSS Inc., ABD) kullanılarak yapıldı. Direnç oranları χ^2 kare ve Fisher kesin χ^2 testi ile karşılaştırıldı ve $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, toplam 161 (96 besici, 65 sığır) enterokok suşu izole edilmiştir. Çalışmaya alınan örneklerin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Besicilerden izole edilen kökenlerin hepsinde betalaktam, aminoglikozid ve siprofloksasin direnci sığırlardan izole edilen kökenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Sığırlarda tetrasiklin direnci saptanmamıştır (Tablo 2).

Besicilerden elde edilen izolatlarda siprofloksasin direnci II., III ve IV. bölgede I. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo 3).

Tablo 2. Besici ve sığırlardan izole edilen enterokokların antibiyotiklere direnç durumları (N=toplam köken sayısı, n=Dirençli köken sayısı).

	Besici (N=96) n (%)	Sığır (N=65) n (%)	Toplam (N=161) n (%)	p
Betalaktamlar*	51 (53)	21 (32.3)	72 (44.7)	<0.01
Aminoglikozid[YD]	1 (1)	6 (9.2)	7 (4.3)	<0.05
Siprofloksasin	75 (78)	10 (15.4)	85 (52.6)	<0.01
Tetrasiklin	33 (34)	0	33 (20.5)	-

**Betalaktam: Ampisilin, Sefaklor, Sefalotin; YD: Gentamisin ve Streptomisin Yüksek Düzey*

Tablo 3. Besicilerden elde edilen izolatların bölgelere göre direnç (n) durumları.

	I. bölge (n=21)	II. bölge (n=24)	III. bölge (n=25)	IV. bölge (n=26)	Toplam	p
Betalaktamlar*	11 (52.4)	14 (58.3)	14 (56)	12 (53.8)	51	0.83
Aminoglikozid[YD]	0	1 (4.2)	0	0	1	-
Siprofloksasin	10 (47.6)	19 (79.2)	22 (88)	24 (92.3)	75	<0.01
Tetrasiklin	5 (23.8)	7 (29.2)	13 (52)	8 (30.8)	33	0.17

**Betalaktam: Ampisilin, Sefaklor, Sefalotin; YD: Gentamisin ve Streptomisin Yüksek Düzey*

Sığırlardan elde edilen izolatlarda ise I. ve II. bölgede betalaktam direnci; III. ve IV. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur. Sığır izolatlarında siprofloksasin direnci I. ve II. bölgede III. ve IV. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur. Sığır izolatlarının hiçbirinde tetrasiklin direnci saptanmamıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Sığırlardan elde edilen izolatların bölgelere göre direnç (n) durumları.

	I. bölge (n=16)	II. bölge (n=18)	III. bölge (n=17)	IV. bölge (n=14)	p**
Betalaktamlar*	7 (43.7)	11 (61.1)	1 (5.9)	2 (14.3)	<0.01
Aminoglikozid[YD]	2 (12.5)	2 (11.1)	0	2 (14.3)	-
Siprofloksasin	5 (31.3)	4 (22.2)	0	1 (7.1)	<0.05*
Tetrasiklin	0	0	0	0	-

**Betalaktam: Ampisilin, Sefaklor, Sefalotin; YD: Gentamisin ve Streptomisin Yüksek Düzey; **Fisher Exact test*

Tablo 1. İzole edilen enterokok suşlarının bölgelere göre dağılımı.

	Besici		Sığır		Toplam	
Bölge	Örnek	İzolasyon	Örnek	İzolasyon	Örnek	İzolasyon
I	28	21	18	16	46	37
II	28	24	18	18	46	42
III	27	25	18	17	45	42
IV	28	26	18	14	46	40
Toplam	111	96	72	65	183	161

TARTIŞMA

Enterokoklar toprakta, suda, gıdalarda, hayvanlarda, kuşlarda ve böceklerde doğal olarak bulunurlar. İnsanlarda özellikle gastrointestinal sistem ve genito-üriner sistemde yerleşirler. İnsan dışkısından elde edilen enterokok türleri coğrafya ve beslenmeye bağlı değişiklikler gösterirler[8].

Hayvan türlerinde kullanılan antibiyotik miktarının yaygınlığına göre bakteri direnci değişmektedir. Tavuk ve domuzlarda antibiyotik kullanımı daha yaygın olduğu için izole edilen bakterilerde direnç düzeyi sığırlardan izole edilenlere göre daha yüksek bulunmuştur[11-14].

Thal ve ark.[15] çeşitli hayvanlardan izole ettikleri enterokokların özellikle de *Enterococcus faecium* suşlarının ampisilin, streptomisin ve gentamisine tek veya çoklu şekilde dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Avrupa'da çok merkezli bir çalışmada, domuzlarda ve tavuklarda sığırlara göre *E. faecium* ve *Enterococcus faecalis* için çok yüksek oranlarda tetrasiklin direncine (%67.4-78.3) rastlanmıştır[16]. Daniel ve ark.[17] Malezya'da yaptıkları çalışmada, çiftlik hayvanlarında tetrasiklin direncini %62 ve penisilin direncini %40, siproflaksasin direncini %30, gentamisin direncini %30 olarak bulmuşlardır. Malezya'nın 2 farklı bölgesini antibiyotik direnci açısından karşılaştırdıklarında ise, penisilin (%46 ve %25) ve siprofloksasin direncinde (%45 ve %23) bölgesel farklılık saptamışlardır. Ülkeler ve bölgeler arasında antibiyotik seçiminden kaynaklanan antibiyotik direnç farklılıkları vardır. Örneğin, Japonya'da domuzlardan izole edilen bakterilerdeki yüksek tetrasiklin direncinin nedeni tedavide sıklıkla tetrasiklin kullanılmasıdır[18].

Antimikrobiyallere direnç, dirençli bakterilerin iletilmesi veya mobil DNA elementlerinin yatay gen transferi ile hayvanlardan insanlara aktarılabilir. Direnç genleri genellikle bulaşıcı plazmitler, transpozonlar, gen kasetleri veya diğer mobil genetik elementlerde bulunur. Suşlar, türler ve hatta cinsler arasında dirençli genlerin yatay transferi nedeniyle, hayvanların kommensal mikroflorası, direnç genlerinin rezervuarı olarak işlev görebilir[19]. Dirençli bakteriler, hayvan rezervuarlarından insanlara, yiyecek, su ve çevrenin dışkı yoluyla kirletilmesi yoluyla veya hayvanlarla doğrudan temas yoluyla bulaşabilir[20].

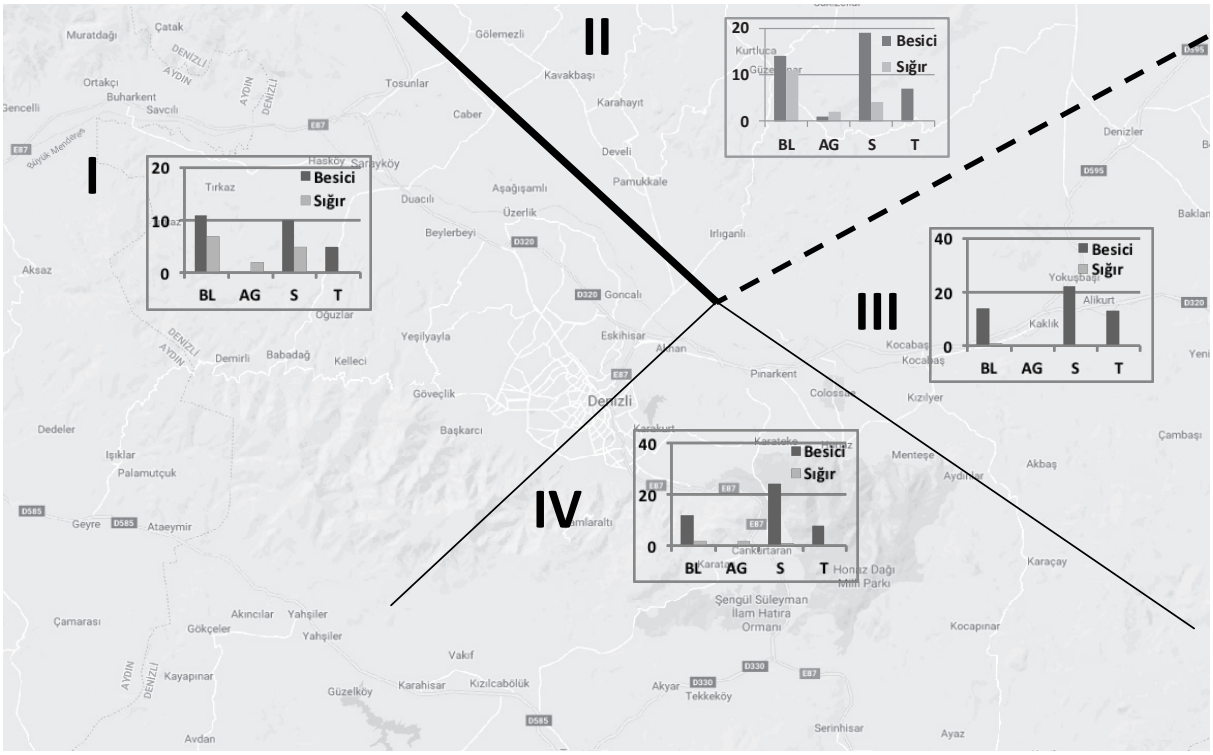
Besi hayvanlarında dirençli bakterilerin ortaya çıkması, gıda zinciri yoluyla hayvanlardan insanlara geçme olasılığı nedeniyle halk sağlığı endişesi yaratmıştır[21,22]. Antibiyotikler hem insan hem veterinerlikte bakteriyel hastalığa karşı birincil savunmadır. Direnç gen dağılımını yavaşlatmak ve yeni direnç genlerinin ortaya çıkmasını önlemek için hem insan hem veterinerlikte antibiyotiklerin daha ölçülü kullanılması gerekir. Hayvanlarda antibiyotik direnç genlerinin keşfedilmesi, bağırsak mikrobiyomlarının bilinen ve yeni antibiyotik direnç genlerinin bir deposu olduğunu ve dirençli bakterilerin ve direnç genlerinin insan ve hayvan mikrobiyomları arasında paylaşıldığını ortaya koymuştur[23].

Çalışmamızda, hayvan izolatlarında betalaktam antibiyotiklere direnç %32.3, aminoglikozidlere direnç %9.2, siprofloksasine direnç %15.4 olarak bulunurken, tetrasikline dirençli suş bulunamamıştır.

İnsan izolatlarında ise betalaktam antibiyotiklere direnç %53, aminoglikozidlere direnç %1, siprofloksasine direnç %78 ve tetrasiklin direnci %34 olarak bulunmuştur.

Besicilerden elde edilen izolatlarda siprofloksasin direnci I. bölgede diğer bölgelere göre daha düşük bulunmuştur. Sığırlardan elde edilen izolatlarda ise III. ve IV. bölgede betalaktam direnci; I. ve II. bölgeye göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca sığır izolatlarında siprofloksasin direnci I. ve II. bölgede daha yüksek bulunmuştur. Besiciler ile sığırlar arasında antibiyotik dirençlerinin farklı olması hayvanlarda antibiyotik kullanımının insanlara göre daha az olmasına ve kullanılan antibiyotik miktarına bağlı olabilir.

Sunulan araştırmada elde edilen verilere göre, bölgesel veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımının çok



Şekil 1. Besici ve sığırlardan elde edilen enterekok izolatlarının bölgelere göre dağılımı.

(BL:β-Laktam, AG: yüksek düzey gentamisin, S: yüksek düzey streptomisin, T: tetrasiklin).

farklı olabileceği, kullanılan antibiyotik yapısına göre besici ve sığır izolatlarında farklı direnç görülebileceği öngörülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Prematunge C, MacDougall C, Johnstone J, et al. VRE and VSE bacteremia outcomes in the era of effective VRE therapy: a systematic review and meta-analysis. Infect Control Hosp Epidemiol. 2016;37(1):26-35. https://doi.org/10.1017/ice.2015.228
2. Sava IG, Heikens E, Huebner J. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. Clin Microbiol Infect. 2010;16(6):533-40. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03213.x
3. Guzman Prieto AM, van Schaik W, Rogers MR, et al. Global emergence and dissemination of enterococci as nosocomial pathogens: attack of the clones? Front Microbiol. 2016;7:788. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00788
4. Gao W, Howden BP, Stinear TP. Evolution of virulence in *Enterococcus faecium*, a hospital-adapted opportunistic pathogen. Curr Opin Microbiol. 2017;41:76-82. https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.11.030
5. Gilmore MS, Lebreton F, van Schaik W. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. Curr Opin Microbiol. 2013;16(1):10-6. https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.01.006
6. Lebreton F, Willems RJL, Gilmore MS. *Enterococcus* diversity, origins in nature, and gut colonization. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N (Eds). Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection. Boston/ABD: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014:5-64. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427/ (Erişim tarihi:01/02/2019)
7. Yim J, Smith JR, Rybak MJ. Role of combination antimicrobial therapy for vancomycin resistant *Enterococcus faecium* Infections: Review of the current evidence. Pharmacotherapy. 2017;37(5):579-92. https://doi.org/10.1002/phar.1922
8. Mete E. Besicilerde vankomisine dirençli enterokok araştırılması [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2003.

9. Mete E, Kaleli İ. Besici ve sığırlardan izole edilen enterokok türlerinin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul. 2006;40(1-2):75-80.
10. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18th Informational Supplement, Document M100-S19. CLSI, Wayne, ABD; 2009.
11. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schrechenberger PC, Winn WC Jr. The Gram-positive cocci. Part II: Streptococci, Enterococci and streptococcus-like bacteria. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, Philadelphia; JB Lippincott, 1997:577-677.
12. Facklam RR, Sahm DF, Teixeira LM. Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken YH (Eds). Manual of Clinical Microbiology. Washington: ASM, 1999:297-305.
13. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall G. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev. 2000;13(4):686-707. https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.686
14. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci. Am J Med. 1997;102(3):284-93. https://doi.org/10.1016/S0002-9343(99)80270-8
15. Thal LA, Chow JW, Mahayni R, et al. Characterization of antimicrobial resistance in enterococci of animal origin. Antimicrob Agent Chemother. 1995;39(9):2112-5. https://doi.org/10.1128/AAC.39.9.2112
16. de Jong A, Simjee S, Garch FE, et al. Antimicrobial susceptibility of enterococci recovered from healthy cattle, pigs and chickens in nine EU countries (EASSA Study) to critically important antibiotics. Vet Microbiol. 2018;216:168-75. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.02.010
17. Daniel DS, Lee SM, Gan HM, Dykes GA, Rahman S. Genetic diversity of *Enterococcus faecalis* isolated from environmental, animal and clinical sources in Malaysia. J Infect Public Health. 2017;10(5):617-23. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.02.006
18. Harada K, Asai T. Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors on antimicrobial resistance prevalence in *Escherichia coli* from food producing animals in Japan. J Biomed Biotechnol. 2010;2010:180682. https://doi.org/10.1155/2010/180682
19. Yates CM, Pearce MC, Woolhouse MEJ, Amyes SGB. High frequency transfer and horizontal spread of apramycin resistance in calf faecal *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother. 2004;54(2):534-7. https://doi.org/10.1093/jac/dkh353
20. Wasteson Y, Johannessen GS, Bruheim T, Urdahl AM, O'Sullivan K, Rorvik LM. Fluctuations in the occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 on a Norwegian farm. Lett Appl Microbiol. 2005;40(5):373-7. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01673.x
21. van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Antibiotic usage in animals: Impact on bacterial resistance and public health. Drugs. 1999;58(4):589-607. https://doi.org/10.2165/00003495-199958040-00002
22. Wegener HC. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. Curr Opin Microbiol. 2003;6(5):439-45. https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.09.009
23. Allen HK. Antibiotic resistance gene discovery in food-producing animals. Curr Opin Microbiol. 2014;19: 25-9. https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.06.001

Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(2):104-112
doi:10.5222/TMCD.2019.104

Araştırma / *Research Article*

Kızılay'ın İlk Hastaneleri (1877-1878): Yatan Hastalarda Görülen Enfeksiyonlar ve Mortalite Oranları

The First Hospitals of the Red Crescent (1877-1878): Infections and Mortality Rates in Hospitalized Patients

Eray Serdar Yurdakul

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı Başkanlığı, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: *On dokuzuncu yüzyılda tıbbi bilgi, kesin olarak bilimsel metotlar üzerine inşa edilmeye başlamış ve deneysel tıp uygulamalarının hız kazanması laboratuvar tıbbının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu yüzyılın ikinci yarısı mikroorganizmaların hastalıklarla olan ilişkilerin henüz tanımlandığı bir dönemdir. Bu kavram salgın hastalıklarla mücadelede bilimsel yöntemlerinin geliştirilmesine öncülük ettiği gibi, tıbbi ve cerrahi uygulamalarda asepsi-antisepsiye kesin olarak uyulmasını bir zorunluluk haline getirmiştir. Önceki yüzyıllardan farklı olarak bu dönemde "hastane tıbbı" kavramı ortaya çıkmıştır. Kızılay'ın "Hilal-i Ahmer Cemiyeti" adı altında ilk kuruluşu ve ilk sağlık teşekküllerini oluşturması da yine bu dönemde gerçekleşmiştir.*
Yöntem: *Bu çalışmada, 1877-1878 Osmanlı Rus Savaşı sırasında Kızılay tarafından kurulan 27 ayrı sağlık biriminin verileri incelenmiş ve enfeksiyon hastalıkları ile ilgili ulaşılabilir verilerin bir özeti sunulmuştur.*
Bulgular: *Tüm ölüm olgularının yaklaşık olarak %61.74'ünün enfeksiyonlarla ilişkili olduğu ve yatan hastalarda en sık ölüme neden olan enfeksiyonların sırasıyla dizanteri (94; %18.4), tifüs (88; %17.2), pnömoni (62; %12.1), enteritler (59; %11.5), tifoid ateş (50; %9.8), bronşit (42; %8.2) ve akciğer tüberkülozu (39; %7.6) olduğu belirlenmiştir.*
Sonuç: *Ateşli silahların ilk kez bu kadar yoğun olarak kullanıldığı, mülteci hareketleri, kıtlık ve yetersiz beslenme gibi savaşın getirdiği birçok olumsuz koşul altında Kızılay'ın sunduğu sağlık hizmetlerine ait bu verilerin yatarak tedavi gören hastalara ait enfeksiyonlar ve mortalite oranları ile ilgili ülkemizdeki ilk veriler olması dolayısıyla özel bir önem taşıdığını düşünmekteyiz.*

Anahtar kelimeler: *Ondokuzuncu yüzyıl, Kızılay, yatan hastalar, mortalite*

ABSTRACT

Objective: *Medical knowledge has begun to be built precisely on scientific methods in the nineteenth century and the gaining momentum of experimental medicine practices has led to the emergence of laboratory medicine. The second half of this century iwas a period in which the relationship between microorganisms and diseases was yet to be defined. This concept led to the development of scientific methods in the fight against epidemic diseases, and strict obeiance to asepsis-antiseptic procedures in medical and surgical applications became a necessity. Unlike the previous centuries, in this period, the concept of "hospital medicine" emerged. The first establishment of the Red Crescent and first health organizations under the name of Red Crescent Society (Hilal-i Ahmer Cemiyeti) was also realized in this period.*
Method: *The data of 27 different health units established by the Red Crescent during the 1877-1878 Ottoman Russian War were analyzed and a summary of available data on infectious diseases is presented in this study.*
Results: *Approximately 61.74% of all death cases were associated with infections and the most common causes of death in patients were dysentery (n:94; 18.4%), typhus (n:88; 17.2%), pneumonia (n:62; 12.1%), enteritis (n:59; 11.5%), typhoid fever (n:50; 9.8%), bronchitis (n:42; 8.2%) and pulmonary tuberculosis (n:39; 7.6%).*
Conclusion: *We think that these data have special importance because they are the first data about the infections and mortality rates of inpatients in the health services provided by the Red Crescent under many adverse conditions brought by war where firearms were used intensively , such as refugee movements, famine and malnutrition.*

Keywords: *Nineteenth century, Red Crescent, inpatients, mortality*

Alındığı tarih:
17.05.2019
Kabul tarihi:
29.05.2019
Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCİD Kayıtları

E. S. Yurdakul 0000-0003-0556-393X

esyurdakul@yahoo.com.tr

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

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

GİRİŞ

On dokuzuncu yüzyıl bilimin ve tekniğin endüstrileşmeye başladığı bir dönemdir. Teknik alandaki gelişmeler askerlik ve tıp gibi alanlara da yansımıştır. Ateşli silahların ve diğer savaş endüstrisinin gelişmesi sonucunda silahların tahrip gücü artmış, savaşlarda yaralanma ve ölümler önceki yüzyıllarda görülmeyen boyutlara ulaşmıştır. Bu gelişmelerin yanında, askeri şartların meydana getirdiği yetersiz beslenme ve bakım ve ayrıca kötü hijyen nedeniyle salgın hastalıklardan ölümler de arttırmıştır. Bu durum sağlık konusunda yeni arayışlar ve uygulamaları zorunlu kılmıştır[1-4].

19. yüzyıl tıbbın teori ve sistemlerinin klinik gözlemle birleşmeye başladığı dönemdir. Hipokrat döneminden beri tıpta uygulanan klasik gözleme dayalı tanı ve tedavi, bu yüzyılda farklılaşmaya başlamış ve hasta muayenesinde yeni fiziksel tanı ve tedavi metotları kullanılmıştır. Önceki yüzyıllardan farklı olarak evindeki hastayı tek bir doktorun gördüğü tıbbi uygulama, birçok doktorun beraberce birçok hastayı bir arada gördüğü hastane ortamlarına dönüşmüştür. Hastane tıbbı uygulaması mevcut bilgi birikiminin paylaşılarak gelişmesini sağlamış ve böylece tıp bilimini dönüştürecek yeni bir süreci başlatmıştır. Bulaşıcı hastalıkların yaygınlaşması ve kalabalık şehir ortamları nedeniyle hastaların tecritleri ve sağlık hizmeti ihtiyacı, hastanelerin çoğalmasına ve gözlemlenen klinik vaka sayılarının artmasına neden olmuştur. Bu anlamda 19. yüzyıl tıbbına "hastane tıbbı" denilmiştir[5].

Yine bu yüzyılda tıbbi bilgi, kesin olarak bilimsel metotlar üzerine inşa edilmeye başlamış ve diğer temel bilim alanlarında elde edilen bilgiler tıpta da kullanılmaya başlanmıştır. Deneysel tıp uygulamalarının hız kazanması laboratuvar tıbbının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Özellikle Claude Bernard'ın (1813-1878) çalışmaları bu konuda öncülük yapmıştır. Claude Bernard'ın geliştirdiği yaklaşım laboratuvar tıbbının uygulanmasını daha güvenli hâle getirmiş ve tıbbi araştırmalar mikroskobik düzeyde yapılmaya başlanmıştır. Diğer bilim alanlarındaki gelişme ve uzmanlaşma tıbba da yansımış, hastalık tanı yöntemleri zenginleşmiş, böylece birçok yeni hastalık tanımlanmış ve modern tedavi metotları geliştirilmiştir[6,7].

Tıp biliminde bu köklü değişimler olurken 19. yüzyılın son çeyreğinde tıbbı dönüştüren en önemli adımlardan biri de "germ teorisinin" ortaya atılması olmuştur. Hastalıkların küçük canlılarla yayılabildiği fikri çok eski zamanlardan beri çeşitli şekillerde düşünülmüş olsa da, bu düşüncenin bilimsel olarak ispatlanması Louis Pasteur (1822-1895) tarafından gerçekleştirilmiştir. Pasteur bakteriyoloji bilimiyle ilgili temel bilgileri ortaya koyarken, Robert Koch (1843-1910) enfeksiyon hastalıkları biliminin gelişmesine öncülük edecek temelleri atmıştır[8,9].

Mikroorganizmaların hastalıklarla olan ilişkilerin tanımlanması, tıbbi ve cerrahi uygulamalarda asepsi-antisepsiye kesin olarak uyulmasını sağlamıştır. 19. yüzyılın ikinci yarısında İngiliz cerrah Joseph Lister (1827-1912) cerrahi operasyonlarda başarıyı önemli ölçüde düşüren enfeksiyonları önlemek için antisepsi yönteminin işe yaradığını fark etmiş, bu uygulamalarını Pasteur ile mektuplaşarak bilimsel bir metotla ortaya koymuş ve asepsi yönteminin temellerini atmıştır. Mikrobiyolojideki bu gelişmeler enfeksiyonları kontrol altına alabilmenin ve gerek tıbbi gerekse cerrahi uygulamalarda başarılı sonuçlara ulaşmanın yollarını açmıştır[10]. Tarih boyunca bulaşıcı hastalıkların toplumların siyasal ve sosyal yapılarını değiştirecek kadar ileri düzeyde etkileri olmuştur. Bu yüzyılda yapılan savaşlarda çok sağlıklı istatistikler olmamakla beraber, bir kişinin ateşli silah yarasına bağlı ölümüne karşı, ondan fazla kişinin yara enfeksiyonu ve bakımsızlıktan öldüğü göz önüne alınırsa mikropları tanımanın ve hastalıkların mikroplar vasıtasıyla yayıldığını anlamanın insanlık tarihinde ne kadar önemli bir yer tuttuğu anlaşılır[11]. Anestezinin tıbba girmesiyle, yapılan bütün cerrahi müdahalelerin korkulu rüyası olan acı ve ağrı kontrol altına alınmıştır. Bu gelişmelerin sonucunda savaşlarda sıklıkla meydana gelen ateşli silah yaralanmalarında cerrahinin başarı-

sını etkileyen ağrının ve yara enfeksiyonlarının insanlığa verdiği zararların azaltılması olanağı da doğmuştur.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın verileri 1877-1878 Osmanlı-Rus Savaşı'nda (93 Harbi) Türk ordularında askeri sağlık hizmetlerini tarihi, siyasal, lojistik yönleri yanında savaş döneminde verilen sağlık hizmetlerinin detaylı olarak ele alındığı bir doktora tezi çalışmasından elde edilmiştir[1]. Bu savaşta sağlık hizmetleri üç ana sağlık teşkilatı aracılığıyla yürütülmüştür. Bunlardan birincisi savaş döneminde henüz kurulmuş olan Kızılay (o dönemdeki adıyla Hilal-i Ahmer Cemiyeti)[12], ikincisi İngiltere hükûmetinin desteğiyle faaliyet gösteren Stafford House Komitesi ve üçüncüsü de Osmanlı hükûmetinin kurmuş olduğu sağlık teşekkülleridir. Dönemin arşiv belgelerinde Osmanlı hükûmetine bağlı seyyar hastaneler ve cephede sağlık hizmetlerinin yürütülmesi ile ilgili yazışmalar bulunsa da[13-15], bu savaşta sağlık hizmetleri başlıca iki kurumun faaliyetlerini içermektedir.

1. Kızılay savaş süresince 8'i muhacirler için olmak üzere, 12'si İstanbul'da, 9'u seyyar olmak üzere 15'i taşrada cephe ve cephe gerisinde toplam 27 hastane kurmuştur[16].

2. Stafford House Komitesi savaş süresince Ağustos 1877 ile Eylül 1878 tarihleri arasında 10 sabit hastane, 6 seyyar hastane, 3 dispanser ve sahra mutfağı, 2 tren yolu sıhhi tahliye hattı ve bu teşekküllere lojistik destek sağlamak üzere 2 destek birimi oluşturmuştur[17].

Arşiv Taramaları: Bu araştırmada, arşiv belgeleri, dönemde yayımlanmış kitaplar, raporlar ve süreli yayınlar gibi dönemin birincil kayıtlarına ulaşılmış ve bunların incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın ilk aşamasında savaşlarla ilgili arşivlerinin tasnif edildiği Genelkurmay Askerî Tarih ve Stratejik Etüt Daire Başkanlığı (ATASE) Arşivi'nde 1877-1878 Osmanlı Rus Savaşı'yla ilgili çok sayıda belgenin olduğu belirlendi. ATASE Arşivi'nde yapılan Osmanlı-Rus Harbi (ORH) katalog taramalarında araştırmanın konusu olan sağlık hizmetleriyle ilgili araştırmaya katkısı olacak 300 belgeye ulaşıldı ve bunlar detaylı olarak incelendi. Arşiv araştırması kapsamında ayrıca, Başbakanlık Devlet Arşivleri Genel Müdürlüğü Osmanlı Arşivi (BOA) kataloglarında bulunan 12 belge incelendi. Kızılay Arşivi'nde yapılan araştırmada mevcut arşivin araştırma ile ilgili tarihî dönemi kapsamadığı tespit edildi.

Kızılay ve Stafford House Komitesi Raporları: Araştırmanın sonraki aşamasında ise 1877-1878 Osmanlı Rus Savaşı'nda sağlık hizmetlerine doğrudan ya da dolaylı bir katkı sağlayan hekimlerin hazırlamış oldukları raporlar incelendi. Bu kapsamda ulaşılabilen en önemli iki kaynaktan biri dönemin Kızılay'ı olan Mecruhin ve Mardayı Askeriyeye İmdat ve Muavenet Cemiyeti'nin 1878 yılında hemen savaş sonrasında "Kızılay Mecruhin ve Mardayı Askeriyeye İmdat ve Muavenet Cemiyeti Sabit ve Seyyar Hastaneleri 1877-1878" adıyla Fransızca yayımladığı rapor[16], diğeri de İngiliz Hükûmeti'nin teşvikiyle kurulan "Stafford House Komitesi Hasta ve Yaralı Türk Askerlerine Yardım Cemiyeti" tarafından "Stafford House Komitesi Hasta ve Yaralı Türk Askerlerine Yardım Cemiyeti Operasyon Rapor ve Kayıtları-1788-1878 Rus-Türk Savaşı" adıyla 1879 yılında İngilizce yayımlanan rapordur[17]. Biri Fransızca diğeri İngilizce olarak kaleme alınan her iki kitap da savaştan hemen sonra kaleme alınması ve savaşta sağlık hizmetlerini yöneten ve yürüten, dönemin tanıklarının kaleminden çıkmış raporları içermesi açısından değerli olup, önemli veriler sunmuştur. Bu kaynaklar savaş sürecinde yürütülen askeri sağlık hizmetlerinin yönetim, teşkilat, personel ve sağlık malzeme durumu, hasta ve yaralı tahliyesi, mortalite ve morbidite oranları, bulaşıcı hastalıklar, yaşanan sorunlar ve bu sorunlarla ilgili alınan önlemleri içeren çok önemli bilgiler ve istatistikleri içermekteydi. Aslında bir açıdan zamana tanıklık etmeleri nedeniyle resmi kayıt olarak kabul edilebilecek her iki kaynak da Türkçeye çevirerek, elde edilen veriler bu çalışmada sunulmuştur.

Osmanlı hükûmetine bağlı seyyar hastaneler ve cephede sağlık hizmetleri ile ilgili arşiv bilgileri ve Stafford House Komitesi Raporu'nda yer alan bazı detaylara bu makalenin çeşitli bölümlerinde değinilmiştir. Bununla beraber, hastalık tipleri, yaralanma bölgeleri ve mortalite oranlarına ait detaylı verilerin yalnızca Kızılay raporlarında yer alması nedeniyle bu makalede başlıca Kızılay hastanelerine ait veriler incelenmiş ve sunulmuştur. Kızılay hastanelerinde askerler ve ordu çalışanları yanında, kadınlar, çocuklar ve yaşlılardan oluşan mülteciler ve yerel halk da tedavi edilmiştir.

Hastalık tanımları ve grupları: Kızılay hastanelerinde görev yapan farklı hekimler tarafından hazırlanan raporlarda hastalık tabloları için genel olarak ortak bir terminoloji kullanılmakla beraber, bazı hastalıklar için kullanılan tanımlar, bazı raporlarda daha detaylı iken, diğerlerinde genel tanımlamalar yapılmıştır. Bu nedenle tüm hastalık tanımları incelenerek bazı hastalıklar aşağıdaki şekilde gruplandırılmış ve bulgular bölümündeki istatistikler bu gruplandırma temel alınarak hazırlanmıştır;

Akciğer (AC) tüberkülozu: Akciğer tüberkülozu (ince hastalık, ftizi), tüberküloz.
Bronşit: Bronşit, akut bronşit, kronik bronşit, kapiller bronşit, kataral bronşit.
Pnömoni: Pnömoni, pnömoniler, bronkopnömoni
Tifüs: Tifüs, döküntülü tifüs
İntermittent ateş: İntermittent ateş, aralıklı ateşler, intermittent ateş salgını (İntermittent ateş olarak tanımlanan klinik durumun başlıca nedeni sıtma enfeksiyonu idi.)
Tehlikeli intermittent ateş: Tehlikeli intermittent ateş, tehlikeli ateş
Diğer ateşli hastalıklar: Ateş, döküntülü ateş, bir günlük ateş, puerperal ateş, çeşitli ateşler
Sıtma kaşeksisi: Sıtma kaşeksisi, sıtmalı kaşeksi
CYBH: Cinsel yolla bulaşan hastalıklar-rahatsızlıklar, sifilis, sekonder sifiliz, tersiyer sfiliz, sifilitik şankr
Enterit: Akut ve kronik enterit, diyare, intestinal sürgün, kronik intestinal diyareler, gastroenteritler
Dizanteri: Akut ve kronik dizanteri
Deri, yumuşak doku ve yara enfeksiyonları: Pürülan enfeksiyon (pyemi), apse, panaris

BULGULAR

Asıl görevi yaralı ve hasta askerlere yardım olan Hilâl-ı Ahmer Cemiyeti, savaş sırasında ve sonrasında başlayan muhacir hareketleri sırasında, İstanbul'da kurduğu hastanelerde mültecilere de hizmet vermiş, hatta bu amaçla müstakil bir kadın mülteci hastanesi de kurmuştur[18]. Osmanlı Hilâl-i Ahmer Cemiyeti tarafından tesis edilen sabit ve seyyar hastanelerde 1 Ağustos 1877 tarihinden 30 Haziran 1878 tarihine kadar, 25.115 yaralı ve 13.896 hasta olmak üzere toplam 39.011 kişi hizmet almıştır. Hastanelerde tedavi gören yaralı ve hasta sayıları Tablo 1'de verilmiştir.

Stafford House Komitesi tarafından 3 Ağustos'da açılan Varna Hastanesi, başlangıçta Kızılay ile ortak olarak bölge merkez hastanesi olarak görev yapmıştır[17,19]. Varna Hastanesi açılışından 3 Ekim tarihine kadar ortak bir hastane olarak kullanıldıktan sonra görevli cerrahların da Kızılay'a geçirilmesini takiben hastane tamamen Kızılay'a devredilmiştir[17]. Bu nedenle bu hastanenin faaliyetleri Kızılay'ın hastane hizmetleri içerisinde ele alınmıştır.

Seyyar hastaneler ve bazı sabit hastanelerin faaliyet raporlarında ölüm nedenleri ve ilişkili hastalıklarla ilgili detaylı verilerin yer almadığı görülmüştür. Bu hastanelerden Sirkeci İskelesi Kadın Mülteci Hastanesi için Kızılay Raporu'nda[16] şu bilgiler yer almaktadır:

Tıbbi hizmetin emanet edildiği Kızılay'dan Dr. Lagoudaki'nin raporuna göre, bu hastane çalıştığı dönem boyunca, yani 18 Şubat'tan 20 Mayıs 1878'e dek, 585 kadın ve çocuk hasta kabul etmiştir. Bu sayıdan 20 ila 30 donma olguyu, 20 çeşitli yaralanmalar, 10 kadar tetanoz, 7 doğum ve 40 anemi vakası çıkarılırsa tifoid ateş, döküntülü tifüs ve son olarak da bütün tedavilere dirençli ve inatçı bir hastalık olan miyazmatik ishal olarak raporda yer almaktadır. Bu bilgilere göre bu hastanede tedavi gören hastalardan yaklaşık 483'ünün (%82.56) enfeksiyon ilişkili klinik tablolar olduğu anlaşılsa da, hastalık tiplerine göre ayrı ayrı veriler ve mortalite oranları sunulmadığından bu veri istatistiki verilere dâhil edilememiştir. Bu

hastanede çok büyük bir salgın görülmüş ve bu nedenle mortalite oranı %19'lara kadar çıkmıştır. Raporda ayrıca bu hastanede çalışan 19 personelden 15'inin tifüs ya da tifoid ateşe yakalandığı belirtilmiştir. Üç hemşire ile iki personelin de kendilerini insanlığa adamanın kurbanı olarak öldükleri belirtilmiştir.

TARTIŞMA

Hilâl-ı Ahmer tarafından yürütülen faaliyetler gerek Türk Tarihi'ndeki en önemli ve kapsamlı sivil toplum örgütü faaliyeti olması, gerekse yapılan hizmetlerin detaylı istatistikî kayıtlarının yapılması yönüyle büyük önem taşımaktadır. Hilâl-i Ahmer Cemiyeti'nin 1877-1878 raporu[16] incelendiğinde; Türk tarihinde gerek askeri, gerekse sivil sağlık hizmetleri ile ilgili bilimsel metotlarla takip edilen ve kayda geçirilen kapsamlı morbidite ve mortalite bilgileri ile kurumsal sağlık hizmetleri bilgilerini içerdiği görülmektedir. Bu bilgiler aynı zamanda, 1870'li yıllara ait askeri sağlık hizmetleri ve hastane hizmetlerine ait ayrıntılı detaylar da içermektedir[1,16]. Hastanelerin genel istatistikleri incelendiğinde yatarak tedavi gören hastalarda mortalite oranlarının %3.63-25.47 aralığında olduğu ve mortalite oranlarının en yüksek olduğu hastanelerin mülteci hastaneleri olduğu dikkati çekmektedir (Tablo 1). Mülteci hastanelerinde enfeksiyon hastalıklarına bağlı ölümlerin de yüksek oranlarda (%75-92.93) olması büyük ölçüde olumsuz beslenme ve yetersiz hijyen koşullarının neden olduğu salgın hastalıklarla ilişkilidir. Örneğin, istisnai konumu, mükemmel organizasyonu ve alınan hijyenik önlemlere rağmen, Sirkeci İskelesi Kadın Mülteci Hastanesi'nde çok büyük bir salgın görülmüş ve bu nedenle hastanede mortalite oranı %19'lara kadar çıkmıştır[16]. Kızılay raporunda bu hastane için, her gün çevredeki camilere (özellikle de Ayasofya'ya) son nefesini vermek üzere gelen agoni hâlindeki hastalar göz önüne alınacak olursa, bu sayının doyurucu bir sonuç olarak görülebileceği belirtilmektedir. Bu hastanenin personelinin son derece tecrübeli olduğu ve büyük övgülere layık bir hizmet yürüttükleri de raporda belirtilmiştir. Ayrıca bu hastanede çalışan 19 personelden 15'inin tifüs ya da tifoid ateşe yakalandığı, üç hemşire ile iki personelin de kendilerini insanlığa adamanın kurbanı olarak öldükleri açıklanmıştır[16].

Bu çalışmada ulaşılabildiğimiz veriler, hastanelerde gerçekleşen ölümlerin büyük oranının enfeksiyon hastalıkları ve ilişkili tablolara bağlı olduğunu göstermektedir. Kayıtların detaylı olarak tutulduğu hastanelerdeki ölüm nedenleri arasında bu oran %61.74 (510/826) olarak bulunmuştur. Ölüm nedenleri belirtilmediği için Sirkeci İskelesi Kadın Mülteci Hastanesi'ndeki 110 ölüm olgusu bu oran hesaplanırken hariç tutulmuştur. Bununla beraber, bu hastanede tedavi edilen hasta sayısının yaklaşık 483'ünün (%82.56) enfeksiyonlar nedeniyle tedavi altında olduğu ve burada büyük bir salgın görüldüğü raporda belirtilmektedir. Bu hastanedeki 110 ölüm olgusunun da büyük oranda enfeksiyonlarla ilişkili olacağı dikkate alındığında enfeksiyon hastalıkları ve ilişkili tablolara bağlı ölüm oranının %65-70'lere ulaşacağı tahmin edilebilir.

Kızılay hastanelerinde yatan hastalarda en sık görülen enfeksiyon hastalıkları ve ilişkili tablolar; intermittent ateş, bronşit, enterit, dizanteri, tifüs ve tifoid ateş iken (Şekil 1), ölüme neden olan enfeksiyonlar arasında dizanteri, tifüs, pnömoni, gastroenterit, tifoid ateş, bronşit ve akciğer tüberkülozu dikkati çekmektedir. Daha az sıklıkta görülen bazı hastalıklar göz ardı edildiğinde sık görülen bu hastalıklar arasında en yüksek mortalite akciğer tüberkülozu (%49.37), tifüs (%42.31) ve dizanteri (%36.72) olgularında gözlemlenmiştir (Tablo 2).

Stafford House Komitesi doktorlarından Dr. A.S.Eccles "hastalar arasından splenomegalisi olmayan veya sıtmanın herhangi bir formuna yakalanmamış hasta bulmanın çok zor olduğuna inandığını" belirtilmiştir ki bu makalede sunulan Kızılay Hastanelerine ait veriler de en sık karşılaşılan enfeksiyon tablosunun sıtma ilişkili intermittent ateş (526/3134; %16.78) olduğunu göstermektedir. Kızılay Raporu'nda zaman zaman çok yoğun ya da hafif seyirli salgınlar olduğu, özellikle tarih 1877 sonbaharında yoğun bir intermittent

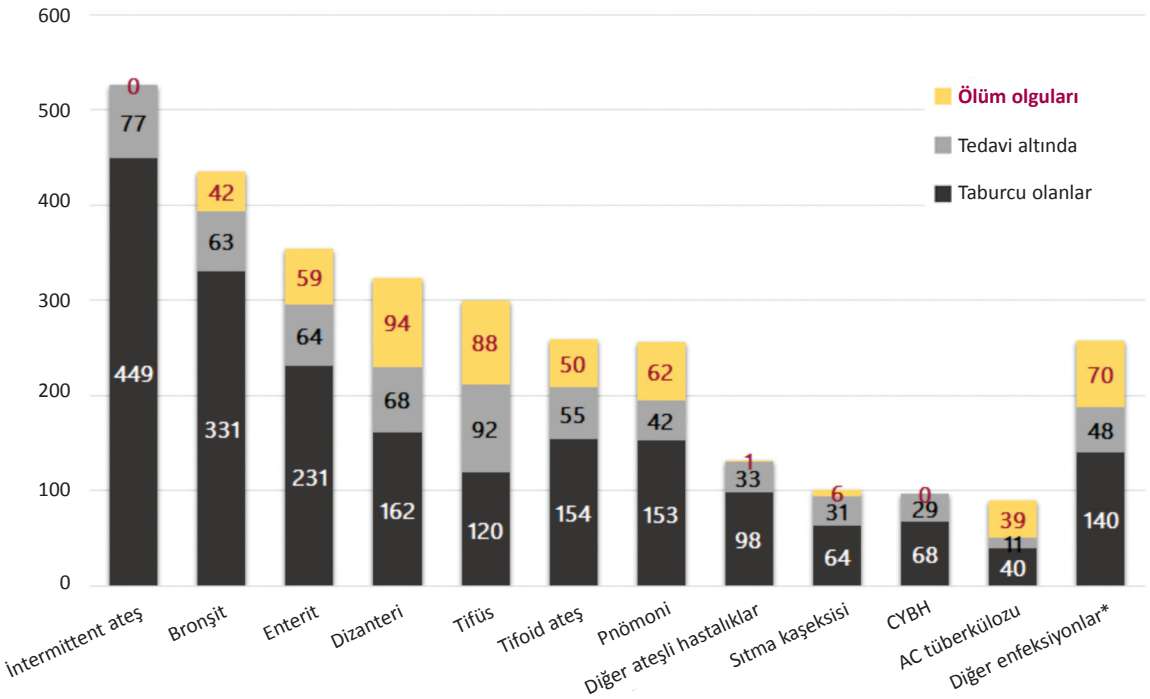
Tablo 1. Hilâl-ı Ahmer Cemiyeti tarafından tesis edilen sağlık teşekkülleri ve tedavi gören yaralı ve hasta dökümü[16].

Hastane	Hasta	Yaralı	Toplam	Tüm ölüm olguları (%)	Enfeksiyon ilişkili ölümler (%*)
Başkentteki Sabit Hastaneler	60	430	490	18 (3.67)**	
1. Kavak Hastanesi					
2. Beylerbeyi Hastanesi	1486	1120	2606	285 (10.94)	145 (50.88)
• Paşa ve Musiki Dairesi	556	275	831	56 (6.74)	31 (55.36)
• Ağalar Dairesi					
3. Mülteci Hastaneleri					
• Gülhane Hastanesi	283	43	326	12 (3.68)	11 (91.67)
• Çinili Köşk 1 Numaralı Baraka Hastanesi	292	-	292	74 (25.34)	62 (83.78)
• Paşabahçe Hastanesi	212	-	212	54 (25.47)	42 (77.7)
• Şemsi Paşa Hastanesi (Üsküdar)	166		166	32 (19.28)	24 (75.00)
• Nakilbend ve Tunuslu Hastanesi (Üsküdar)	750		750	184 (24.53)	171 (92.93)
• Kumbarhane Hastanesi	40		40		
• Sirkeci İskelesi Kadın Mülteci Hastanesi	585		585	110 (19.0**)	
• Takiyeddin Paşa Hastanesi	80		80		
Taşradaki Sabit-Geçici Hastaneler					
1. Varna Hastaneleri					
• Varna Geçici Hastanesi	297	-	297	49 (16.50)	0 (0.00)
• Varna Türk-Mısır Geçici Hastanesi	395	753	1148	43 (3.75)	22 (51.16)
2. Edirne Hastanesi					
• Askeri İdadiye Geçici Hastanesi	42	481	523	19 (3.63)	0 (0.00)
• Askeri Belediye Geçici Hastanesi	103	177	280	11 (3.93)	1 (9.09)
3. Selanik Hastanesi					
• Selanik Hastanesi (Islahane-Dr. Lebovicz)	9	131	140	7 (5.00)	1 (14.29)
• Selanik Hastanesi (Islahane-Dr. Weber)	4	55	59		
Seyyar Hastaneler					
1. Stoker Hastanesi (Tahliye servisi)	-	2167	2167		
2. Sivastopol ve Dallas Hastanesi (Şıpka)	60	2208	2268		
3. Goldstein Hastanesi (Orhaniye - Kazanlık)	350	3658	4008		
4. Heinrich Hastanesi (Razgırat)	-	465	465		
5. Sarell Hastanesi (Orhaniye, Kemerli, Taşkesen, Sofya)	1125	5389	6514		
6. Roy Hastanesi (Erzurum)	1703	548	2251		
7. Cuma Dr. Antoniades Hastanesi	256	31	287		
• Cuma Hastanesi (Yaralı Tahliye Servisi)	-	1650	1650		
8. Dr. Colonna Ceccaldi Sağlık Treni	120	1307	1427		
9. Sirkeci Dr. Mundy ve Dr. Mautner Hastanesi	4861	4288	9149		
Toplam	13896	25115	39011	826	510 (61.74)

**Bu % değeri, enfeksiyon ilişkili ölüm olgularının tüm ölüm olguları içerisindeki oranını göstermektedir.*
***Enfeksiyon ilişkili ölümlere dair net bir veri olmadığı için bu sayılar alttaki toplama eklenmemiştir.*

ateş salgını görüldüğü bilgisi yer almaktadır[16]. Bu raporun Beylerbeyi Hastanesi bölümündeki şu söylemde de sıtmanın hastane ortamında tedavi gören diğer hastalara ve sağlık çalışanlarına bulaşarak yayıldığını ve sağlık hizmeti sunumunu güçleştirdiğini göstermektedir. "*Bazı hastalar hastaneye sıtma mikrobuyla birlikte gelse de hatırı sayılır miktarda hastaya da hastanede yatarken mikrop bulaşıyordu. Hastane yönetimi ve klinik personelinin de hastalığın çeşitli şekillerinden muzdarip olduğu anlar olmuştu.*"[16].

Tifüs salgınları ve dizanteri enfeksiyonlarının bir diğer önemi de salgına müdahale eden sağlık çalışanlarına da bulaşarak yüksek mortalite ile seyretmesiydi[16,17,20]. Yukarıda Kızılay hastanelerinden Sirkeci İskelesi Kadın Mülteci Hastanesi'ndeki sağlık çalışanları ile ilgili verilere ek olarak, Beylerbeyi Hastanesi'nde görevli altı hekimden ikisinin görevleri sırasında tifüs ve dizanteriden vefat ettiği de Kızılay raporunda yer almaktadır[16]. Kızılay raporunda ayrıca, Dr. Panayotti Santorinéos, Dr. Wietoriez Jeno Karoly ve Dr. A. Price



Şekil 1. Yatan hastalarda sık görülen enfeksiyon hastalıkları ve enfeksiyon-ilişkili klinik tablolar (Toplam 3.134 olgu): İntermittent ateş (526; %16.78), bronşit (436; %13.91), enterit (354; %11.3), dizanteri (324; %10.34), tifüs (300; %9.57), tifoid ateş (259; %8.26), pnömoni (257; %8.20), diğer ateşli hastalıklar (132; %4.21), sıtma kaşeksisi (101; 3.22%), CYBH (97; %3.10), akciğer tüberkülozu (90; %2.87).

[*Diğer enfeksiyonlar (258; %8.23): Cilt ve paraziter rahatsızlıklar, uyuz, plörezi, göz iltihapları, kataral konjuktivit, gastrit, menenjit, plörodini, Bright hastalığı (kronik nefrit), larenjit, çiçek, erizipel, kızamık, tonsillit, soğuk algınlığı, glossit, kataral farenjit, cüzzam, scrofula, boğmaca, orşit, bağırsak tüberkülozu, safravi ateş, parotidit, anjin, salgından dolayı agoni, tetanoz].

ve başka sağlık çalışanlarının tifüsten öldüğü, Dr. Spridion Pignatoros'un ise dizanteriden öldüğü bilgisi bulunmaktadır[16]. Stafford House Komitesi raporunda ise Erzurum İngiliz Hastanesi'nde görevli Dr. Guppy, Dr. Pinkertonun tifüs nedeniyle öldüğü bildirilmekte ve çok sayıda kişinin enfeksiyondan etkilendiği anlaşılmaktadır[17]. Aynı raporda, Dr. A.S.Eccles selanik Hastanesi'ndeki durumu, *"Savaş süresince şimdiye kadar gördüğümüz perişanlık on katına çıktı. uğraşmak zorunda olduğumuz tifüs, dizanteri, kangren, erizipel sel gibi kabarıyordu."* cümlesiyle ifade etmiştir[17].

Daha sonraki yıllarda devam eden savaş koşullarında tifüs sağlık çalışanları arasında yüksek mortaliteli bir enfeksiyon olarak karşımıza çıkmaya devam etmiştir. Örneğin, Birinci Dünya Savaşı yıllarında Erzurum ve çevresinde şiddetli tifüs salgınları görülmüş ve bölgedeki salgınla mücadele eden 125'i hekim 164 sağlık subayı tifüse yakalanarak ölmüştür[20]. Birinci Dünya Savaşı yıllarındaki kayıtlarda 3. Ordu bünyesindeki hastalarda tifüs mortalite oranı bizim verilerimize benzer şekilde %46 (4.377/9.489) olarak kayıt altına alınmıştır[2]. Birinci Dünya Savaşı yıllarında salgınları önlemek için tifüse karşı aşı uygulamalarına da başvurulmuştur. Bazı kaynaklarda tifüs aşısı uygulamalarının ilk olarak Osmanlı ordusunda yapıldığı bilgisi yer almaktadır[2,20]. İlk aşı 28 Mart 1915'te Binbaşı Tevfik Salim Bey (Sağlam) tarafından hazırlanmış ve 5'i doktor 9 subay üzerinde uygulanmıştır[20]. Aşı uygulamasının yaygınlaşması ve diğer koruyucu önlemler ile 3. Ordu'da tifüsten hastalanma ve ölüm sayıları sonraki yıllarda 1916, 1917 ve 1918'de sırasıyla %31, %27 ve %14'e düşmüştür[2].

Tarih boyunca savaşlar sırasında hastalıklardan ve enfeksiyonlardan ölenlerin sayısı silahla yaralanarak ölenlerden çok daha fazla olmuştur. Bu konuda farklı kaynaklarda farklı istatistikler olmakla beraber, 19. yüzyılın sonlarında Harbiye Mektebi Baştabipliği

Tablo 2. Hilâl-ı Ahmer Cemiyeti sağlık teşekküllerinde tedavi gören hastalarda görülen enfeksiyon hastalıkları ve mortalite oranları[16].

Hastane	Taburcu olanlar	Tedavi altında	Toplam	Mortalite oranı %*
Dizanteri	162	68	324	36.72
Tifüs	120	92	300	42.31
Pnömoni	153	42	257	28.84
Gastroenterit	231	64	354	20.34
Tifoid ateş	154	55	259	24.51
Bronşit	331	63	436	11.26
Akciğer tüberkülozu	40	11	90	49.37
Deri, yumuşak doku ve yara enfeksiyonları	2	0	22	90.91
Tehlikeli intermittent ateş	4	0	13	69.23
Menenjit	2	2	11	77.78
Sıtma	64	31	101	8.57
Plörezi	14	10	30	30.00
Çiçek	12	12	28	25.00
Diğer ateşli hastalıklar	98	33	132	1.01
Bright hastalığı (Kronik nefrit)	0	0	3	100.00
Erizipel	1	1	3	50.00
Cüzzam - Scrofula	2	2	5	33.33
Boğmaca	1	0	2	50.00
Bağırsak tüberkülozu	0	0	1	100.00
Salgından dolayı agoni**	0	1	18	100.00
Toplam	1391	487	2389	26.87

**Mortalite oranları hastanede tedavisi devam eden hastalar hariç tutularak hesaplanmıştır.*
***Salgın hastalığın nedeni ile ilgili bir açıklama bulunmamaktadır.*
Not: CYBH ve intermittent ateş ile ilişkili ölüm olgusu olmadığı için bu hastalıklar tabloya eklenmemiştir.

yapmış olan Tabip Miralay Ahmed Münir'in hicri 1340 yılında telif ettiği Yeni Askeri Hıfzıssıhha kitabında bazı orijinal bilgiler yer almaktadır: *"Ruslara karşı yapılan Kırım Seferinde Fransızların 309.268 mevcutlu ordularında 10.240 muharebede maktul 75.000 hastalıktan vefat olmuştur. 1870 Fransız-Alman Muharebesinde 45.000 düşman silahından vefiyata mukabil 105.000 hastalıktan ölüm olmuş, bunun da 2.000 adedi çiçektendir. 93 Rus-Türk Muharebesi'nde Rus Tuna ordusunda 5096 yaradan 45.828 hastalıktan, Kafkas ordusundan 1.869 yaradan 35.311 hastalıktan vefiyat vardır. İspanya-Amerika Muharebesi'nde bir maktule mukabil 14 hastalıktan ölüm olmuştur. 93 Rus seferinde bir maktule mukabil 17 hastalıktan 1.313 Yunan seferinde ise bir maktule mukabil 12 kişi hastalıktan öldüğü tahmin edilmektedir"*[11].

Bu çalışmada sunduğumuz veriler yalnızca hastanelerde tedavi gören hastaları içermektedir. Her ne kadar raporun hazırlandığı dönemde (1877-1878) enfeksiyon hastalıklarından ölümler, diğer dâhili hastalıklar (skorbüt gibi) ve cerrahi hastalıklar (ateşli silah yaralanmaları, ampütasyonlar gibi) ile kıyaslandığında belirgin olarak yüksek oranlarda ise de hastane tıbbı, asepsi-antisepsi uygulamaları ve salgın hastalıklarla mücadelenin daha bilinçli bir şekilde uygulanması ile düşüş göstermiştir. Şöyle ki, savaş yaralanmaları ve cerrahi uygulamaların başarısını artıran en önemli etkenlerden biri asepsi ve antisepsinin gelişimi olmuştur. Bu konuda ilk kez Joseph Lister 1866 yılında pansuman malzemesini karbolik asit (fenol) ile yıkayarak yaraya uygulamıştır. 1869 yılında kendi cerrahi kliniğinde uyguladığı metoduyla cerrahi sonrası mortalite %45'ten %1.5'lara kadar düşmüş ve bu pansuman metodu savaşlarda da kullanılmaya başlamıştır[21]. Bu yaklaşım Kızılay hastanelerinde de yaygın olarak kullanılmış ve yaralıların pansumanları düzenli olarak yapılmıştır. Örneğin, Beylerbeyi Hastanesi'nde sabah ve öğleden sonra iki defa yapılırken, üçüncü bir pansuman yapmak gerekirse ki son derece nadirdir, gece devamlı binada kalan yardımcı cerrahlar tarafından uygulanırdı[16]. Bu dönemde, askeri sağlık sistemi organizasyonlarında köklü dönüşümler oldu. Örneğin, ordular sahada askerler arasında gelişen bir salgının ciddi sonuçlarından edindikleri deneyimlerle, salgın oluşmadan önce hastalı-

ğın önlenmesine büyük önem vermeye başlamıştır. Bu yaklaşım, askerin sağlığını ve hayat kalitesini artırma yönünde askeri hijyen alanında yeni yaklaşımları ve büyük gelişmeleri ortaya çıkarmıştır. Askeri hijyen kapsamında barınma, beslenme, giyim ve çevre şartlarının düzenlenmesi yönünde ileri adımlar atılmış, tıp bilimindeki yeni gelişmeler askerin sağlığının korunması istikametinde kullanılmaya başlanmış ve mikrobiyolojideki gelişmelere paralel bir şekilde aşı ile önlenebilen hastalıkların sayısı gün geçtikçe artmıştır. Tüm bu uygulamalar sonucunda daha önce daha savaşa girmeden yaşamları bulaşıcı hastalıklarla sona eren on binlerce askerin yaşamlarını korumak mümkün olmuştur[21].

KAYNAKLAR

1. Yurdakul ES. 1877-1878 Osmanlı Rus savaşında Türk ordularında askeri sağlık hizmetleri. Doktora Tezi, Ankara, 2015.
2. Başustaoğlu AC. Bit mücadelesi ve tifüs aşısı uygulaması. Osmanlı'dan Cumhuriyet'e Mikrobiyoloji Tarihimize Bakış 1850-1923. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği Yayınları No: 1, Ankara, 2011:136-55.
3. Noyan A. Son Harplerde Salgın Hastalıklarla Savaşlarım. Ankara Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, 1956.
4. Askeri hastanelerde salgın hastalıklardan ölümlerin zuhur ettiği ve tedbir alınması. BOA, Fon Kodu: Y.PRK. MYD., Dosya No:1, Gömlek No:2, Tarih:29/Z/1293 (Hicrî).
5. Demirhan Erdemir A. Tıbbi Deontoloji ve Genel Tıp Tarihi. Bursa, Nobel Tıp Kitabevi, 1996.
6. Aydın E. Dünya ve Türk Tıp Tarihi. Güneş Kitapevi, Ankara, 2006.
7. Unat EK. Dünya'da ve Türkiye'de 1850 Yılından Sonra Tıp Dallarındaki İlerlemelerin Tarihi. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Vakfı Yayınları, İstanbul, 1988.
8. Bayat AH. Tıp Tarihi. Merkezefendi Geleneksel Tıp Derneği Yayınları, İstanbul, 2010.
9. Başustaoğlu AC. Dünyada Mikrobiyoloji Alanındaki Gelişmeler. Osmanlı'dan Cumhuriyet'e Mikrobiyoloji Tarihimize Bakış 1850-1923. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği Yayınları No: 1, Ankara, 2011:31-3.
10. Salman FT. İnfeksiyon ve cerrahlar. ANKEM Derg. 2010;24(Ek-2):1-11.
11. Ahmet Münir. Yeni Askeri Hıfzıssıhha. İstanbul Mekteb-i Harbiye Matbaası, 1340 (Rumi).
12. Cenevre Mukavelesi gereğince Hilal-ı Ahmer'e de Salib-i Ahmer'e tanınan statünün tanınması. BOA, Fon Kodu:Y.PRK.ASK., Dosya No:1, Gömlek No:33, Tarih: 23/R/1294 (Hicrî).
13. Edirne, Niş, Vidin fırkalarında seyyar hastane açılması ve bu hastanelere memur ile malzeme temin edilmesi. ATASE Arşivi, ORH Kataloğu, Kutu:112, Gömlek:11, Tarih:29.05.1292.
14. Kadıköy Fırkası'nda bulunan seyyar hastanenin lağv edilip edilmediğinin bildirilmesi. ATASE Arşivi, ORH Kataloğu, Kutu:112, Gömlek:91, Tarih:13.10.1293.
15. Çatalca'da ikamet edecek fırka için teşkil edilecek seyyar hastaneye personel gönderilmesi isteği. ATASE Arşivi, ORH Kataloğu, Kutu:84, Gömlek:26, Tarih:07.11.1293.
16. Hilal-i Ahmer Raporu. Aux Blessés et Malades Militaires-Ambulances Fixes et Mobiles du Croissant Rouge 1877-1878 (Mecruhin ve Mardayı Askeriyeye İmdat ve Muavenet Cemiyeti Sabit ve Seyyar Hastaneleri: 1877-1878), Cilt: 3, İstanbul, 1878.
17. SHK Raporu, 1879. Stafford House Committee For The Relief Of Sick And Wounded Soldiers (Author): Report And Record Of The Operations Of The Stafford House Committee For The Relief Of Sick And Wounded Turkish Soldiers - Russo-Turkish War, 1877-1878, Spottiswoode & Co., New-Street Square, Londra, 1879:1-180.
18. Şimşir BN. Rumeli'den Türk Göçleri, C.I. Ankara, 1989.
19. Varna Umum Hastanesi'nin 2500 yatağa çıkarılarak merkez kabul edilmesi sebebiyle lüzumlu olan eşyalardan toplanabilen kısmının bir an evvel hastaneye ulaştırılması hususunun ilgililere bildirilmesi. ATASE Arşivi, ORH Kataloğu, Kutu:66, Gömlek:26, Tarih:02.11.1293.
20. Karatepe M. I. Dünya Savaşı yıllarında tifüs aşısının uygulanmasında Türk hekimlerinin rolü. Mikrobiyol Bul. 2008;42(2):301-13.
21. Gabriel RA, Metz KS. A History of Military Medicine, Volume 2. Westport, CT: Greenwood Press, 1992.

YAZARLARA BİLGİ

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

Başvuru

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

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

Metin Çeşitleri

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

Metin yazımı esnasında uyulacak kurallar

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

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

Örnekler

A. Makaleler

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

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

B. Kitaplar

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

C. Sanal Ortam

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

Şekil, Tablo, Fotoğraf, Resim, Grafik

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

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