

Cilt / Volume 49

Sayı / Number 4

Aralık / December 2019

ISSN 0258-2171

e-ISSN 2458-7516



# Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

*Journal of Turkish Society of Microbiology*

- ✓ *Clostridioides (Clostridium) difficile* ve Gıdalardaki Varlığı
- ✓ Hetero Halkalı Bileşiklerin Antibakteriyel Aktivitelerinin Değerlendirilmesi
- ✓ Menenjit Tanısı Almış Hastalarda, Bakteriyel Menenjit Etkenlerinin Kültür ve PZR ile Belirlenmesi
- ✓ Akciğer ve Akciğer Dışı Tüberkülozda Xpert MTB/RIF Testinin Tanısal Performansının Değerlendirilmesi
- ✓ Bruselloz Şüpheli Olgularda Brusella Seropozitifliğinin Araştırılması: Dört Yıllık Retrospektif Bir Değerlendirme

ISSN 0258-2171  
e-ISSN 2458-7516

---

# TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

*JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY*

---



**Cilt / Volume 49**

**Sayı / Number 4**

**Aralık / December 2019**



# TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

## JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 49 Sayı / Number 4 Aralık / December 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-AI;** Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışmanlar Kurulu / Advisory Board

Rıza Adaleti, İstanbul

Sinem Akçalı, Manisa

Elif Aktaş, İstanbul

İmre Altuğlu, İzmir

Şöhret Aydemir, İzmir

Asuman Birinci, Samsun

Gülendam Bozdayı, Ankara

Nural Cevahir, Ankara

Gülnoz Çulha, Hatay

Bora Doğan, Antalya

Gülfem Ece, İzmir

Mete Eyigör, Antalya

Dolunay Gülmez, İstanbul

Serdar Güngör, Uşak

Ufuk Hasdemir, İstanbul

Cüneyt Orhan Kara, Denizli

Didem Kart, Ankara

Esra Koçoğlu, İstanbul

Ahmet Koluman, Denizli

Gülay Korukluoğlu, Ankara

İpek Mumcuoğlu, Ankara

Tuncer Özekinci, İstanbul

Betül Özhaç, Antalya

Dilara Ögünç, Antalya

Melda Özdamar, Kocaeli

Arzu Sayiner, İzmir

Şeref Tağı, Ankara

Mustafa Turan, İzmir

Serap Süzük Yıldız, Ankara

Fadile Yıldız Zeyrek, Urfa

Yayımlanan sayıya ait değerlendirme sürecini kapsamaktadır.

“TÜBİTAK ULAKBİM Tıp Veri Tabanı” ve “Türkiye Atf 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: tmcdditor@gmail.com

www.tmc-online.org

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

©Her hakkı saklıdır. Bu dergide yer alan yazı, makale, 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. 63/64

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



## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

### DERLEME / REVIEW

- ***Clostridioides (Clostridium) difficile* ve Gıdalardaki Varlığı**  
*Clostridioides (Clostridium) difficile and its Presence in Food*  
Esra AKKAYA, Hamparsun HAMPİKYAN ..... **175-185**

### ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / CLINICAL INVESTIGATIONS

- **Hetero Halkalı Bileşiklerin Antibakteriyel Aktivitelerinin Değerlendirilmesi**  
*Evaluation of Antibacterial Activities of Heterocyclic Compounds*  
Meryem PİR, Fatma BUDAK ..... **186-190**
- **Menenjit Tanısı Almış Hastalarda, Bakteriyel Menenjit Etkenlerinin Kültür ve PZR ile Belirlenmesi**  
*Determination of Bacterial Meningitis Agents by Culture and PCR in Patients Diagnosed as Meningitis*  
Sezer TOPRAK, Kübra CAN, Reyhan ÇALIŞKAN, Gönül ŞENGÖZ, Zafer HABİP, Edip TOKUÇ, Mehmet DEMİRCİ, Zeynep TANER, Müzeyyen MAMAL TORUN, Bekir Sami KOCAZEYBEK, Hrisi Bahar TOKMAN ..... **191-196**
- **Akciğer ve Akciğer Dışı Tüberkülozda Xpert MTB/RIF Testinin Tanısal Performansının Değerlendirilmesi**  
*Evaluation of Diagnostic Performance of Xpert MTB/RIF Test for Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis*  
Aynur GÜLCAN, Ümray TORU ERBAY, Özlem GENÇ ..... **197-205**
- **Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde Rotavirüs ve Adenovirüs Sıklığı: Ocak 2013-Aralık 2018 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Verileri**  
*The Prevalence of Rotavirus and Adenovirus Childhood Gastroenteritis: Data of the University Hospital of Cerrahpaşa Medical Faculty Between January 2013 and December 2018*  
Harika Öykü DİNÇ, Zeynep TANER, Doğukan ÖZBEY, Nesrin GAREAYAGHI, Serhat SİREKBASAN, Bekir Sami KOCAZEYBEK ..... **206-211**

- **Bruselloz Şüpheli Olgularda Brusella Seropozitifliğinin Araştırılması: Dört Yıllık Retrospektif Bir Değerlendirme**  
*Investigation of Brucella Seropositivity in Patients with Suspected Brucellosis: A 4-Year Retrospective Evaluation*  
Zeynep TANER, Harika Öykü DİNÇ, Mehmet DEMİRCİ, Nesrin GAREAYAGHİ, Aykut KURT, Doğukan ÖZBEY, Hrisi Bahar TOKMAN, Bekir Sami KOCAZEYBEK ..... **212-218**
  
- **Türkiye’den Elde Edilen *Leishmania* İzolatlarının Kanlı ve Çikolata Agardaki Üremelerinin Değerlendirilmesi**  
*Evaluation of the Reproduction on Blood and Chocolate Agars of Leishmania Isolates Obtained from Turkey*  
İbrahim ÇAVUŞ, Tuğba KAYA, Alp ASLAN, Yener ÖZEL, Mine ÇETİN, Ahmet YILDIRIM, Ahmet ÖZBİLGİN ..... **219-225**
  
- **Adana’da Bir Üniversite Hastanesinde İzole Edilen Solunum Yolu Patojenleri ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi**  
*Evaluation of Respiratory Pathogens Isolated in a University Hospital in Adana and Their Antibiotic Resistance Profiles*  
Aylin Altay KOÇAK, Buket YAYLA, Aylin ÜSKÜDAR GÜÇLÜ, Hasan Cenk MİRZA, Elvan HORTAÇ İŞTAR, Hikmet Eda ALIŞKAN, Ahmet BAŞUSTAOĞLU ..... **226-232**
  
- DİZİN ..... **V-VI**
  
- YAZARLARA BİLGİ ..... **VII-VIII**

## *Clostridioides (Clostridium) difficile* ve Gıdalardaki Varlığı

### *Clostridioides (Clostridium) difficile* and its Presence in Food

Esra Akkaya\*<sup>©</sup>, Hamparsun Hampikyan\*\*<sup>©</sup>

\*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, İstanbul

\*\*Beykent Üniversitesi, Güzel Sanatlar Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul

#### Öz

*Clostridioides (Clostridium) difficile*, gram (+), anaerob, sporlu, çomak şeklinde ve özellikle hastane kaynaklı bir bakteri olup, uzun süreli antibiyotik kullanımı sonucunda psödomembranöz kolit, toksik megakolon, intestinal perforasyon ve diareye neden olmaktadır. Bakterinin virülansı sahip olduğu toksinlerden (enterotoksin ve sitotoksin) kaynaklanmaktadır. Etken hastanelerden başka toprakta, suda, su ürünlerinde, kasaplık hayvanlarda ve kanatlılarda tespit edilmiştir. Bu gıdalar, *C. difficile* için potansiyel yeni rezervuarlar olarak tanımlanmakta ve bu gıdaların tüketimi sonucu insanlarda söz edilen hastalık tablolarının şekillenmesine sebebiyet vermektedir. *C. difficile*'nin neden olduğu herhangi bir gıda kaynaklı hastalık olgusu bildirilmemiş olmasına rağmen, özellikle son yıllarda insanlardan izole edilen *C. difficile* suşlarının besi hayvanlarında da saptanması bu etkenin halk sağlığı yönünden ciddi bir risk oluşturabileceği kaygısını doğurmuştur.

**Anahtar kelimeler:** *Clostridium difficile*, CDE, PCR-Ribotip, antibiyotik duyarlılık, halk sağlığı

#### ABSTRACT

*Clostridioides (Clostridium) difficile* is a gram (+), anaerobic, spore-forming, rod-shaped nosocomial bacterium, which causes pseudomembranous colitis, toxic megacolon, intestinal perforation and diarrhea due to long-term usage of antibiotics. The main virulence of the bacteria takes its source from toxins (enterotoxin and cytotoxin). It can be detected in the soil, water, water products and food animals other than hospitals. These foods identified as a new potential reservoirs for *C. difficile* and the consumption of these foods in humans causes *C. difficile* related enteric diseases. Although there have been no confirmed cases of any foodborne disease caused by *C. difficile*; especially in recent years, *C. difficile* strains isolated both from humans and food animals could pose a serious risk for public health.

**Keywords:** *Clostridium difficile*, CDI, PCR-Ribotype, antibiotic susceptibility, public health

#### Alındığı tarih:

07.03.2019

#### Kabul tarihi:

05.09.2019

#### Yayın tarihi:

31.12.2019

#### ORCID Kayıtları

E. Akkaya 0000-0002-2665-4788

H. Hampikyan 0000-0002-9032-7861

✉ esra.akkaya@istanbul.edu.tr

## GİRİŞ

Tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olan antibiyotik ile ilişkili ishal olgularının %15-30'undan sorumlu tutulan *Clostridioides (Clostridium difficile)*, ilk kez 1893 yılında insanlarda uygulanan postmortem bir olgu incelemesinde midede saptanan difterik psödomembranlar ile tanımlanmış, ancak nedeninin *Staphylococcus aureus* olduğu düşünülen etken, 1935 yılında sağlıklı bebeklerin dışkı florasyndan gram (+) anaerobik basillerin zor izole edilmesinden dolayı *Bacillus difficilis* olarak isimlendirilmiştir<sup>(1)</sup>. Bu bakteri, 1978 yılında ilk defa "Psödomembranöz

kolit" ve "antibiyotik ilişkili ishal" olgularında tanımlanmış ve özellikle klindamisin ve linkomisin kullanımı ile semptomların daha erken görüldüğü bildirilmiştir. *C. difficile* 1980'den sonra, ABD'de en önemli hastane kaynaklı (nosokomial) ishal etkeni olarak açıklanmış, 2000'lerden sonra ise tedaviye dirençli ve tekrarlama oranı yüksek *C. difficile* enfeksiyonları saptanmıştır<sup>(2)</sup>.

Günümüzde, etkenin neden olduğu enfeksiyonlar, Avrupa ve Amerika'da birçok ülkede önemli bir sağlık sorunu hâline gelmiş, bu sorun hastalığın yalnızca insidansının artmış olmasından değil, şiddetindeki artıştan da kaynaklanmıştır. Kanada'da ve ABD'de

artan bir *C. difficile* enfeksiyonu (CDE) insidansı ve şiddeti bildirilmiş, Kanada'da 1991-2003 yılları arasında hastanelerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda CDE insidansı her 100.000 kişide 356 olgudan 1.563 olguya çıktığı ve yine 2004 - 2005 yılları arasında Kanada'da yapılan başka bir çalışmada, insidansın her 1.000 hastada 4.6 olgu olduğu kaydedilmiştir. Aynı şekilde, Avrupa'da da 2005 yılında 14 ülke ve 38 hastanenin ishal olgularının incelendiği benzer bir çalışmada, 10.000 hastada CDE 0.13 ile 7.1 olgu arasında değiştiği ve ortalama insidansın her 10.000 hastada 2.45 olgu olduğu belirtilmiştir<sup>(3,4)</sup>. Ülkemizde de bu bakteriyle ilgili son yıllarda hastanelerde çeşitli çalışmalar yapılmış, özellikle ishal olgularının bazılarında *C. difficile* izole edilmiştir<sup>(5-7)</sup>.

## GENEL ÖZELLİKLERİ

*Clostridioides difficile*, gram (+), zorunlu anaerob ve sporlu bir bakteri olup, halk sağlığı açısından en önemli özelliği, çevresel faktörlere karşı yüksek dayanıklılık gösteren spor formlarının bulunması, uygun şartlar (yaşlılık, hastanede uzun süre antibiyotik kullanımı, mide asitliğini düşüren ilaçlar, kemoterapik ajanlar, sigara kullanımı) altında hastalık tablosu şekillendiren ve etkenin temel virülans faktörü olan toksin üretimidir<sup>(8)</sup>.

Bakterinin vegetatif formu için optimum üreme sıcaklığı 37°C, optimum pH değerleri ise 6.5-7.5 arasındadır. Bunların dışında, etken sporlanarak varlığını uzun bir süre sürdürebilmektedir. Bakterinin virülansı sahip olduğu toksinlerden (enterotoksin ve sitotoksin) kaynaklanmaktadır<sup>(2,9)</sup>. Fekal-oral yolla bulaşan etkenin vegetatif formları mide asidi ile tahrip olurken, sporları bağırsaklara ulaşır, burada kolonize olmak suretiyle, toksin salgılamakta ve böylece *C. difficile*'ye bağlı ishaller oluşabilmektedir<sup>(10,11)</sup>.

*Clostridioides difficile*'nin en önemli özelliklerinden biri ısı, kuruluk ve alkol bazlı antiseptiklere karşı dirençli spor oluşturması ve çeşitli çevresel koşullarda uzun süre canlı kalabilmesidir. Spor formları, kolonizasyon gelişmiş hastalardan ve bu hastaların yakın-

larından temas sonucu, ayrıca hastanede görevli personelin elleri ve kontamine ekipman (rektal termometre vb.) aracılığıyla taşınarak kolaylıkla yayılabilmekte ve özellikle uzun dönem bakım ünitelerinde salgınlara neden olabilmektedir<sup>(12-15)</sup>.

İnsanlar bu bakteriyi veya sporlarını diğer asemptomatik kişilerden veya çevreden alarak enfeksiyona yakalanmaktadır<sup>(4,16)</sup>. Bununla birlikte, kontamine gıdaların tüketilmesi ile etkenin spor formlarının alınması önemli bir diğer bulaşma yoludur. Gıdalarda donma-çözünme safhalarının sporların inaktivasyonu üzerinde fazla etkili olmadığı, ancak ısı işlem uygulamalarının spor üzerine olumsuz etki yaptığı belirtilmektedir. *C. difficile* sporlarının etin pişirilmesi için önerilen iç sıcaklık değeri olan 71°C'ye de dayanabildiği belirlenmiş ve 95°C'de 10-15 dakika ısı işlem uygulanması önerilmiştir. Buna karşın, bazı *C. difficile* türlerine ait sporların düşük sıcaklık değerlerinde (-20°C) bile canlılıklarını korudukları bildirilmiştir<sup>(2,17)</sup>.

Özellikle hastane kaynaklı olan etken, uzun süreli antibiyotik kullanımı sonucunda psödomembranöz kolit, fulminant kolit, toksik megakolon, intestinal perforasyon rekkurent CDE formları ve diyare başta olmak üzere diğer sistemleri de etkileyerek bakteriyemi-sepsis sendromu, karaciğer, dalak ve pankreas apseleri, peritonit ve kemik-eklem enfeksiyonları gibi hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır<sup>(2,18)</sup>.

## *Clostridioides difficile*'nin Patogenezi

*Clostridioides difficile* enfeksiyonlarının patogenezinde temel virülans faktörleri bakterinin sahip olduğu iki önemli toksin olan toksin A (enterotoksin) ve toksin B (sitotoksin)'dir<sup>(19)</sup>. Toksin üretimi, bakteri gelişimi evrelerinden biri olan logaritmik fazın son safhası ile durgunluk fazının başlangıç safhasında gözlemlenirken, etkenin spor oluşturması aşamasında herhangi bir toksin üretimi söz konusu olmamaktadır. Ayrıca çeşitli araştırmacılar tarafından ısı, glukoz, aminoasit konsantrasyonu ve biyotin varlığı gibi etkenlerin de toksin oluşumu üzerine etkili olduğu bildirilmiştir<sup>(10,20)</sup>. Toksin A ve toksin B'nin molekül

ağırlıkları sırasıyla 308 kDa (2710 amino asit) ve 270 kDa (2366 amino asit) olup, her iki toksin yapısal olarak temelde birbirine çok yakın olmakla birlikte, farklı etkiler göstermektedirler<sup>(21,22)</sup>. Patolojik etkisi bakımından toksin B etkin bir enzimatik aktiviteye sahip olması nedeniyle, toksin A'ya göre daha etkilidir. Toksin A ise bağırsak sekresyonunu arttırabilme özelliğine sahiptir. Söz konusu etki, toksinin hücre membranında bulunan ilgili reseptörlere bağlanması sonucu oluşur ve bu reseptörler toksin A için karbonhidrat reseptörleri iken, toksin B'nin bağlandığı reseptörler henüz açıklığa kavuşturulamamıştır<sup>(10,20,23)</sup>. Bu farklılıkların yanı sıra toksin A ve B potansiyel sitotoksik aktivite göstererek, hücre yapısında yer alan önemli proteinleri (Ras ve Rho) glikozilasyon sonucu inaktif hâle getirmek suretiyle hücre yapısının bozulmasına, permeabilitenin artmasına ve böylece ishale neden olur. Toksin A, bağırsakta sıvı salınımını arttırmanın yanı sıra mukus permeabilitesinde artışa ve mukozal enflamasyona neden olurken, aynı zamanda epitel hücrelerinin yapısını bozarak toksin B'nin hücrelere girmesine yardımcı olur. Toksin B, makrofaj kökenli TNF- $\alpha$  ve lipoksijenaz aracılığı ile nötrofillerin yoğun şekilde toplanmasını stimüle eder ve böylece hemoraji-nekroz enflamasyon ile bağırsak lümenine sıvı ve protein sızmasına neden olan sitotoksik etkisini gösterir<sup>(19,24)</sup>.

Toksin A ve B patojenik lokusun (PaLoc) genom bölgesindeki genler tarafından kodlanmaktadır. Bu bölgede, toksinler *tcdA*, *tcdB*, *tcdC*, *tcdR* ve *tcdE* olarak adlandırılan beş farklı gen tarafından düzenlenerek, sentezlenmektedir. Patojenik olmayan *C. difficile* izolatları ise patojenik lokus gen bölgesini içermemektedir. Virülans özelliği yüksek bazı *C. difficile* suşları, toksin A (*tcdA*) ve B (*tcdB*) haricinde *cdtA* (enzimatik komponent) ve *cdtB* (binding komponent) kompleksinden oluşan "*Clostridium difficile* binary toksini" (CDT) de içermektedir. *C. difficile*'nin PaLoc dışındaki CDT lokus bölgesinde mevcut *cdtA* ve *cdtB* genleri tarafından kodlanarak üretilen binary toksin, etkenin kolon yüzeyine tutunmasını kolaylaştırmak amacıyla kolon hücrelerinin dış çeperlerinde sitotoksik etki gösterir<sup>(25-27)</sup>.

### ***Clostridium difficile*'nin Ribotiplendirilmesi**

Son yıllarda farklı toksijenik *C. difficile* izolatları tanımlanmış ve bu izolatların 150 farklı ribotiplere sahip olduğu bildirilmiştir. Ancak en çok rastlananın ribotip O27'nin olduğu belirtilmiştir. "NAP1/BI/O27 hipervirulent suşu" olarak adlandırılan bu *C. difficile* suşu, yüksek oranda toksin salgıladığı vurgulanmıştır. Bu suşun Toksin A ve B'yi 16-23 kat daha fazla salgıladığı ve ayrıca CDT'de salgıladığı saptanmıştır. Bununla birlikte, NAP1/BI/O27 hipervirulent suşu fluorokinonlara dirençli ve sporlanma kapasitesinin diğer suşlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir<sup>(21,27)</sup>. 2008 yılında 16 Avrupa ülkesinde *C. difficile* PCR Ribotip O27 kaynaklı olgular ortaya çıktığı kaydedilmiştir. Bunların içinde 9 ülkede (İngiltere, Hollanda, Belçika, Fransa, İrlanda, Lüksemburg, İsviçre, Almanya ve Finlandiya) enfeksiyon salgınlar şeklinde seyrederken, 7 ülkede ise (Avustralya, Norveç, Danimarka, İsveç, Hindistan, Polonya ve İspanya) sporadik şekilde seyrettiği saptanmıştır<sup>(10,28)</sup>.

### ***Clostridium difficile*'nin Antibiyotik Duyarlılığı**

*Clostridium difficile*'nin bağırsakta çoğalması ve toksin salgılayabilmesi normal bağırsak florasındaki denge bozulmasına bağlıdır. Bu nedenle enfeksiyon antibiyotik kullanımı ile doğrudan ilişkilidir<sup>(29,30)</sup>. Tedavi amacı ile kullanılan antibiyotikler yalnızca patojen bakterileri değil, normal flora bakterilerini olumsuz yönde etkileyerek, süperenfeksiyonlara da neden olabilirler. Antibiyotik kullanımına bağlı olarak oluşan bu etki, ilaç kullanımı sonlandırıldıktan sonraki 6. haftaya kadar sürebilmekte ve *C. difficile*'ye bağlı ishal ortaya çıkabilmektedir<sup>(31)</sup>. *C. difficile*'ye bağlı enfeksiyonların oluşumu sıklıkla ampisilin, amoksisilin, sefalosporinler, klindamisin ve linkomisin gibi antibiyotiklerin kullanımı sonucunda oluşabilmektedir. Bunların yanı sıra kloramfenikol, eritromisin, imipenem ve penisilinlerin (aminopenisilinler hariç) de uzun süre ile kullanılması sonucu kolonun normal bakteriyel florasının bozulmasına bağlı olarak nadiren enfeksiyon gelişmesi de söz konusu olabilmektedir<sup>(10,32)</sup>.

Günümüzde metronidazol veya vankomisin *C. difficile*



enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan standart antibiyotikler olmuştur. Fakat yapılan farklı çalışmalarda, vankomisine ve metronidazole dirençli *C. difficile* suşları da tanımlanmıştır<sup>(33,34)</sup>. Günümüze azalmış duyarlılığa sahip izolat sayısında yükselen bir artış olduğu belirtilmiş, Mutlu ve ark.<sup>(35)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, vankomisin için MIC değeri 4 mg/L olan suşların 1999-2000 yıllarında %2.7 iken, 2005 yılında %21.6'ya yükseldiğini belirlenmiştir.

Diğer antibiyotiklere olan direnç düzeyleri farklılık göstermekle birlikte, en yüksek direnç klindamisin-eritromisin grubunda saptanmıştır. Klindamisine direnç, Çin'de 2007 yılında %71.4 oranında saptanmışken, Almanya'da 2003 yılında %36 iken, 2007 yılında %65, İsveç'te 2006 yılında %43.7 iken 2009 yılında %65, Kanada'da 2006 yılında %14.7 iken 2008 yılında %90.9 olarak bulunduğu bildirilmiştir<sup>(32,36)</sup>.

*Clostridioides difficile* enfeksiyonunun gelişmesinde önemli rol oynayan etkenlerin başında, uzun süre uygulanan antibiyotik tedavileri, ileri yaş, uzun süreli hastane yatışları gelmektedir. Özellikle klindamisin, sefalosporin, florokinolon grubu antibiyotiklerin kullanılması sonucu kolon florası bozulmakta ve baskın hâle geçen *C. difficile* sporları vejetatif hâle geçerek toksin üretmektedir<sup>(27,37)</sup>. İleri yaşın ( $\geq 65$ ), CDE için risk oluşturmasının nedeni, yaşlılıkla birlikte toksinlere karşı oluşan bağışıklık sisteminin zayıflamasına bağlı olarak geliştiği öngörülmektedir. Hastanede uzun süreli tedaviye alınan hastalarda da CDE riski, hastanede kısa süreli tedavi uygulanan hastalardan daha yüksek olduğu bildirilmektedir<sup>(38)</sup>.

## GIDALARDAKİ VARLIĞI

Günümüzde toplumsal kökenli *C. difficile* enfeksiyonları giderek artan bir risk olarak ortaya çıkmıştır. Bu olguların çoğunda hastaların antibiyotik kullanımı veya yakın tarihli bir hastane geçmişi gibi hastalık riski oluşturabilecek bir faktör yoktur ve diğer formun aksine genellikle yalnızca hafif bir ishal ile kendini göstermektedir. Toplumsal kökenli *C. difficile* enfeksiyonunun düşük riskli gruplarda ortaya çıkışı

akıllara *C. difficile*'nin gıda kaynaklı olarak yayılmış olabileceği düşüncesini getirmektedir. Doğada mevcut olan bir bakterinin hayvanlar aracılığıyla insanlara geçişi olabileceğinden sığır, koyun, keçi, domuz, tavuk eti gibi perakende et ve et ürünlerinden insanlara enfeksiyon geçişine yol açan suşların bulunabileceği bildirilmiştir. *C. difficile* sporlarının olumsuz çevre koşullarına karşı gösterdikleri yüksek dayanıklılık çevrede yaygın olarak bulunmalarına ve enfeksiyon için sürekli rezerv oluşturmalarına yol açmaktadır<sup>(39-41)</sup>.

## *Clostridioides difficile*'nin Kırmızı Et ve Et Ürünlerindeki Varlığı

Bu konu ile ilgili olarak, Rodriguez-Palacios ve ark.<sup>(42)</sup> Kanada'da perakende olarak yerel marketlerde satışı sunulan et ürünlerinde *C. difficile* varlığını araştırmışlar; bu amaç doğrultusunda taradıkları 60 adet et örneğinin 12'sinde (%20) *C. difficile* saptamışlar ve bu etkene ait 11 toksijenik izolat belirlemişlerdir. Araştırmacılar etkenin gıdaya geçişinin etlerin depolanması ve ambalajlanması sırasında meydana gelebileceğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacıların 2009 yılında yine Kanada'da yaptıkları benzer bir başka araştırmada, 149 adet dana parça etinde ve 65 adet pirzola örneğinde sırasıyla %6.7 (10/149) ve %4.6 (3/65) oranında *C. difficile* varlığını belirlemişler ve bu izolatlardan 10 adedinin toksijenik yapıya sahip olduklarını vurgulamışlardır<sup>(43)</sup>.

Benzer bir başka çalışmada, Weese ve ark.<sup>(44)</sup> tarafından Kanada'da perakende olarak satılan parçalanmış domuz ve sığır etlerinde *C. difficile* kontaminasyonunu belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada, toplam 230 örnekten 28'inde *C. difficile* izole edilmiştir. Bu izolatların 14'ü parça sığır eti, diğer 14'ü ise parça domuz etinde saptanmıştır.

Avustralya'da yapılan bir başka çalışmada ise, yerel marketlerden alınmış 100 adet parça et örneğinde *C. difficile* varlığı aranmış, incelenen 3 parça et örneğinde *C. difficile* varlığı saptanmıştır<sup>(45)</sup>.

Rodriguez ve ark.<sup>(46)</sup> tarafından Belçika'da dana ve

domuz etleri üzerine yapılan bir çalışmada, 133 adet dana etinden 3 adedinin (%2.3) ve 107 adet domuz etinin 5 adedinin (%4.7) söz konusu etkenle kontamine olduğu belirtilmiştir.

Carlos ve ark.<sup>(47)</sup> tarafından Kosta Rika'da yapılan bir çalışmada, perakende olarak satışa sunulan farklı hayvan türlerine ait etlerden *C. difficile* 67 adet sığır etinden birinde, 66 adet domuz etinden 2'sinde saptanabilmiştir. Bu bulgulara benzerlik gösteren bir başka çalışmada, Mooyottu ve ark.<sup>(48)</sup> 100'er adet kıyma, domuz ve tavuk eti olmak üzere toplam 300 adet örneği analiz etmişler ve yalnızca 2 adet domuz eti örneğinin *C. difficile* varlığı yönünden pozitif bulunduğunu ve bu izolatların nontoksijenik olduğunu belirtmişlerdir.

Esfandiari ve ark.<sup>(49)</sup> tarafından İran'da bir hamburgerciye yapılan bir çalışmada, üretim öncesinde hamburger üretiminde kullanılan 54 adet ete ait örneğin üçü (%5.6) *C. difficile* pozitif bulunurken, üretim sonrasında bu oranın %7.1'e ulaştığı rapor edilmiştir.

Yine İran'da yapılan bir başka çalışmada, et ve et ürünlerinden farklı olarak Rahimi ve ark.<sup>(50)</sup> değişik bölgelerden topladıkları 135 adet süt örneğinde etkeni %1.43 düzeyinde belirtmişlerdir.

Ülkemizde de Hampikyan ve ark.<sup>(51)</sup>, Marmara Bölgesindeki mezbahalardan topladıkları 247 büyükbaş ve 308 küçükbaş hayvan karkaslarında *C. difficile*'yi araştırmışlar ve 83 (%33.6) adet büyükbaş ile 78 (%25.3) adet küçükbaş karkas örneklerinden etkeni izole etmişlerdir. Sığır karkaslarından elde edilen izolatlardan 15'i (%18.1) ve koyun karkaslarından elde edilen izolatlardan 6'sı (%7.7) ribotip 027 suşu olarak identifiye edilmiştir.

Yetersiz altyapı ve kötü hijyen koşullarına sahip mezbahalarda yapılan kesimler ve iç organların çıkarılması esnasında yapılan hatalar sonucunda hayvanların bağırsaklarında bulunan etkenin karkasa bulaşması, hayvan atıklarının güvenli bir şekilde uzaklaştırılama-

ması, uygun olmayan depolama koşulları bu etkenin gıdalarda bulunmasının temel nedenleri arasında yer alır. Bunlara ek olarak, çevrede uzun süre canlılığını koruyabilen sporlar etkenin yanlış uygulamalar sonucunda personel, ekipman ve yüzeylerden gıdaya geçişine de neden olmaktadır. Bu olumsuzluklara kaynak oluşturan canlı hayvanlar ve onlara ait dışkıları üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda giderek artan bir ivme kazanmıştır<sup>(51,52)</sup>.

#### ***Clostridioides difficile*'nin kanatlı etlerindeki varlığı**

Kanatlı etleri ve ürünlerinde, *C. difficile* varlığı ile ilgili çeşitli ülkelerde yapılmış birçok araştırma dikkat çekmektedir. de Boer ve ark.<sup>(40)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, tavuk karkasına ait 257 örneğin 7'sinde *C. difficile* belirlenmiştir. Kanada'da Weese ve ark.<sup>(39)</sup> tarafından yapılan bir diğer çalışmada, 203 tavuk örneğinin 26'sında (%12.8) bakteri izole edilmiştir. Benzer şekilde, Güran ve İlhak<sup>(53)</sup> marketlerden toplanan 310 tavuk örneğinin 25'inin (%8.1) bu bakteri ile kontamine olduğunu belirtmişlerdir. Avusturya'da Indra ve ark.<sup>(54)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, 59 broyler tavuk örneğinin 3'ünde *C. difficile* varlığı belirlenmiştir. Bunların aksine, Mooyottu ve ark.<sup>(48)</sup> 100 adet tavuk kanadı örneğinin hiçbirinde *C. difficile* suşunu saptamadıklarını rapor etmişlerdir. Aynı şekilde Limbago ve ark.<sup>(55)</sup> da, marketlerden toplanan 614 adet hindi ve 259 adet tavukgöğsü örneğinde bakteriyi saptamamışlardır.

Son yıllarda, kanatlı hayvan karkaslarından izole edilen *C. difficile* suşları, insanlarda CDE salgını ile ilgili R027 ve R078 gibi bazı suşlarla benzerlikler göstermektedir. Bu konu ile ilgili olarak, Varshney ve ark.<sup>(56)</sup> inceledikleri 76 adet hindi eti örneğinden 11'inde (%14.5) *C. difficile* belirlemişler ve pozitif örneklerden 1 adedini R027 ve 2 adedini R078 olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada, Weese ve ark.<sup>(39)</sup>, 203 tavuk örneğinin 26'sında *C. difficile* varlığını belirlemişler ve bütün izolatların R078 olduğunu belirtmişlerdir. Öte yandan, farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda da kanatlı eti örneklerinde R027 ve R078'in izole edilemediği de rapor edilmiştir<sup>(40,56,57)</sup>. Benzer şekilde ülkemizde de Ersöz ve Coşansu<sup>(58)</sup>

tarafından yürütülen bir çalışmada, araştırmacılar 27 adet tavuk numunesi incelemişler ve hiçbirinde etkeni belirleyememişlerdir.

#### ***Clostridioides difficile*'nin su ürünlerindeki varlığı**

Kasaplık hayvanların yanı sıra yapılan çalışmalar etkenin çeşitli deniz ürünlerinde de bulunabileceğini göstermektedir. Pasquale ve ark.<sup>(59)</sup>, 2010-2011 yılları arasında Napoli-İtalya'da çift kabuklu yumuşakçalarda yaptıkları araştırmaları sonucunda, 53 örneğin %49'unda etkeni izole ettiklerini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacıların yaptıkları bir başka çalışmada ise, 6 istiridye örneğinin 4 adedinde etkeni izole ettiklerini bildirmişlerdir<sup>(60)</sup>. Yine İtalya'da Troiano ve ark.<sup>(61)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, incelenen 925 çift kabuklu yumuşakça örneğinin %3.9'unda *C. difficile* belirlenmiştir. Örneklerden elde edilen 18 izolatta hem toksin A hem de toksin B geni saptanırken, yalnızca 1 izolatta toksin B geni bulunmuştur.

Benzer şekilde deniz ürünleri üzerine Kanada'da yapılan bir başka çalışmada, yerel marketlerden alınan toplam 119 deniz ürününden (karides, midye, yengeç, somon levrek, kedi balığı, somon, istiridye, ahtapot, alabalık) beşinde *C. difficile* varlığını belirlediklerini vurgulamışlardır<sup>(41)</sup>.

Norman ve ark.<sup>(62)</sup> Teksas-ABD'de yaptıkları araştırmalarında, 67 adet deniz ürününün (midye, somon, karides) üçünde (%4.5) *C. difficile* varlığını saptamışlardır.

#### ***Clostridioides difficile*'nin salata ve sebzelere varlığı**

Etkenin hayvansal gıdalar haricinde bulunabildiği bir başka gıda grubu da sebzelerdir. Çeşitli çalışmalar ile *C. difficile*'in hayvansal kaynaklı (et, süt, deniz ürünleri ve balıklar) gıdalara ek olarak salata ve sebzelerde de yüksek oranda bulunabileceği belirtilmiştir<sup>(63)</sup>. Ancak günümüzde bu konuyla ilgili sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır.

Bu doğrultuda, Glaskow-İskoçya'da Bakri ve ark.<sup>(64)</sup> tarafından yapılan ve yerel marketlerde satılan hazır

salata ürünlerinden alınan 40 örneğin üçünde (%7.5) *C. difficile*'yi belirlemişlerdir.

Metcalf ve ark.<sup>(63)</sup> tarafından Kanada'da yapılan bir çalışmada, 111 adet sebze örneğinin beşinde (%4.5) etkeni izole etmişlerdir.

Al Saif ve Brazier<sup>(65)</sup> Galler'de yaptıkları araştırmalarında, satışa sunulan 300 çiğ sebze örneğinin yedisinde (%2.3) *C. difficile*'yi izole etmişler ve bu örneklerden beşinin toksin A ürettiğini vurgulamışlardır.

#### ***Clostridium difficile*'nin Süt ve Süt Ürünlerindeki Varlığı**

Yapılan araştırmalarda, ruminantlarda *C. difficile* varlığının belirlenmesi bu bakterinin süt ve ürünlerinde bulunma riskini gözler önüne sermektedir. Ancak, bugüne kadar yapılan sınırlı çalışmalarda, sütlerde bu bakterinin varlığına dair bir sonuç bildirilmemiştir. Jöbstl ve ark.<sup>(45)</sup> tarafından 50 adet çiğ süt örneği *C. difficile* varlığı yönünden incelenmiş olup, incelenen örneklerin hiç birinde etken izole edilememiştir. Bu kapsamda, çiğ sütün kesin enfeksiyon kaynağı olarak gösterilmesi olası olmamakla birlikte, süt hayvanlarında etkenin bulunabilmesi sütlerin ve sütlerden üretilen farklı süt ürünlerinin *C. difficile* ile kontamine olma riskini olası kılmaktadır<sup>(66)</sup>.

#### **KORUNMA**

*Clostridioides difficile* sporları toprak, su gibi çevresel ortamlarda ayrıca, hastane, ekipman ve yüzeylerinde canlılıklarını koruyabilmektedirler ve hastalığın bulaşmasında önemli rol üstlenmektedir. Özellikle etkenin sporları nemli/kuru sıcak hava uygulamalarına, UV ışınlamaya, kurutmaya, mekanik parçalama işlemine, etanol, asit, alkali ve aldehit gibi kimyasallara karşı oldukça dirençlidir<sup>(67,68)</sup>. Buna karşın sodyum hipoklorid, klor dioksit ve klor ürünleri yüzey ve çevresel elemanların dezenfeksiyonu için uygun kimyasallar olarak karşımıza çıkarken, alkol, klorheksidin, heksaklorofen pek çok dezenfektan ajanları etkisiz kalmaktadır. Özellikle çevre dezenfeksiyonunda fosfat ile tamponlanmış hipoklorit (1600ppm serbest klor, pH

7.6) çözeltilerin kullanılması ile başarılı (%98 oranında redüksiyon) sonuçlar elde edilmiştir. Klor oranının 500 ppm seviyelerine düşürülmesi etken sayısının azaltılmasında yetersiz olmuştur (%21 oranında bir azalma). Bu kapsamda çevre dezenfeksiyonu için kullanılacak aktif klor miktarının oranı dezenfeksiyon işleminin başarılı olması bakımından önem göstermektedir<sup>(69)</sup>. Ancak uzun süre kullanımlarında klorun korozif etkisi göz ardı edilmemesi gereken olumsuz bir özellik olarak karşımıza çıkmaktadır. Hidrojen peroksit buharı uygulamaları yine çevresel dezenfeksiyonlarda kullanılan başarılı bir yöntem olmakla birlikte, pahalı oluşu ve uygulama zorlukları (hasta odalarının boşaltılarak, bir müddet kullanılamaması vb.) bu yöntemin dezavantajları olarak karşımıza çıkmaktadır<sup>(70)</sup>. Yapılan çalışmalarda, el dezenfektanlarının etkeni yok etmede yetersiz kaldığı, el yolu ile gerçekleşecek olan bulaşmaların etkin ve doğru zamanlarda yapılacak olan eldiven değişimleriyle engellenebileceği sonucuna ulaşılmıştır<sup>(71)</sup>.

Çeşitli araştırmaların sonuçlarına göre, *C. difficile*'nin et, kanatlı hayvan, su ve ürünleri gibi farklı gıda gruplarında da bulunduğu bildirilmiştir. Et işleme tekniklerinde kullanılan sıcaklık değerlerinde etkenin canlılığını koruduğu belirtilmektedir. Rodriguez-Palacios ve ark.<sup>(17)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, etkene ait spor sayılarında 71°C'de 2 saat süresince uygulanan ısı işlem sonucunda ancak 2 log<sub>10</sub> düzeyinde bir düşüş olduğu ve geri kalan sporların canlılıklarını korudukları saptanmıştır. Rodriguez-Palacios ve LeJeune<sup>(72)</sup> tarafından yapılan benzer bir çalışmada ise, 85°C'de 15 dakika süre ile uygulanan ısı işleminin etken sporları üzerinde 5-6 log<sub>10</sub> düzeyinde, 96°C'de 1-2 dakika süre ile uygulanan işlemin ise 6 log<sub>10</sub> düzeyinde bir redüksiyon sağladığı rapor edilmiştir. Bu bağlamda, gıdaların kaynama derecelerindeki sıcaklık değerlerinde ısı işleme tabi tutulması etkenin yok edilmesi için önemli bir konu olmakla birlikte, bu sıcaklık derecelerinde yaşanacak olası besin değerlerindeki kayıplar, gıdaların yapısal değişimleri, araştırılması gereken konular arasında yer almaktadır.

## SONUÇ

Besi hayvanlarında koruyucu, tedavi edici ve verim arttırıcı olarak bilinçsiz antibiyotik kullanımı dünyada önemli bir sağlık sorunu olan antibiyotik ile ilişkili ishal olgularının %15-30'undan sorumlu tutulan *Clostridioides (Clostridium) difficile*'nin önemini ortaya çıkarmıştır. Etkenin en önemli özelliği, çevresel faktörlere karşı yüksek dayanıklılık gösteren spor formlarının bulunması, uygun şartlar altında hastalık tablosu şekillendiren ve etkenin temel virülans faktörü olan toksin üretimidir.

Özellikle son yıllarda insanlardan izole edilen *C. difficile* suşlarının ekonomik değeri olan besi hayvanlarının dışkı ve karkaslarından izole edilmesi, bunlardan elde edilen hayvansal kökenli gıdaların *C. difficile* için potansiyel yeni bir rezervuar olabileceği düşüncesini akla getirmiştir. Özellikle olumsuz hijyenik koşullar altında işlenen hayvansal ürünler ve hatalı personel uygulamaları sonucu etkenin gıdaya bulaşması kolaylaşmaktadır. Bakterinin az sayıda bulunduğu durumlarda bile, spor oluşturma özelliği ve sıcaklığa karşı gösterdiği direnç ile gıda kaynaklı bulaşmalara olanak sağlanmaktadır. Bu düşünce doğrultusunda Avrupa ve Amerika'da birçok ülkede bu etkenin gıdada bulunabilme olasılığı üzerine çeşitli araştırmalar yapılmış ve *C. difficile*'nin kasaplık hayvan ve bunlardan elde edilen çeşitli gıdalarda varlığı belirlenmiş olmasına rağmen, *C. difficile*'nin neden olduğu herhangi bir gıda kaynaklı hastalık olgusunun bildirilmediği ifade edilmiştir<sup>(73)</sup>.

Bu durumun önüne geçilebilmesi için, gerek insanların tedavilerinde gerekse, hayvanlarda farklı amaçlarla uygulanan antibiyotiklerin bilinçsizce kullanımları engellenmelidir. *C. difficile*'nin insanlarda hastalık oluşturan suşlarının ekonomik değeri olan hayvanlardan da izole edilmesi nedeniyle, etkenin bir gıda kaynaklı patojen olma olasılığı kuvvetlenmiş olup, bu hayvanların kesim aşamalarından, bunlardan elde edilen ürünlerin üretim aşamalarına kadar olan tüm evrelerde, işletme ve ekipman hijyeni sağlanarak hijyen koşullarının yükseltilmesi, yapılacak olan "İyi

Hijyen Uygulamaları'nın periyodik ve etkin bir şekilde yapılması, özellikle mezbaha, kesimhane ve üretim-hanelerde görev alan tüm personele konu ile ilgili eğitimlerin verilerek hijyen bilinçlerinin artırılması, özellikle hayvansal ürünlerde uygulanacak olan ısı işlemlerin gereken sıcaklık derecesi ve sürelerde uygulanarak olası *C. difficile* vejetatif ve spor formları yok edilmeye çalışılmalıdır. Bu sayede *C. difficile*'nin antibiyotiklere karşı direnç gelişimi önlenerek hastalığın tedavi edilebilme şansı yükseltilebilecek ve böylece hem halk sağlığı korunmuş olacak hem de etkenin toksijenik özelliğine bağlı olarak, kontamine gıdaların tüketimi sonucu ortaya çıkan gastrointestinal hastalıklar ve süperenfeksiyonlar sonucunda oluşacak hastalık tablolarında olası tedavi giderleri ve iş gücü eksikliği nedeniyle oluşacak ekonomik kayıpların önüne geçilebilecektir.

#### KAYNAKLAR

- Allen SD, Emery CL, Lyster DM. *Clostridium*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (Eds). Manual of Clinical Microbiology. 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington DC., ABD, 2003:835-56.
- Rodriguez-Palacios A, Borgmann S, Kline TR, LeJeune TJ. *Clostridium difficile* in foods and animals: history and measures to reduce exposure. Anim Health Res Rev. 2013;14(1):11-29. <https://doi.org/10.1017/S1466252312000229>
- Freeman J, Bauer MP, Baines SD, et al. The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. Clin Microbiol Rev. 2010;23(3):529-49. <https://doi.org/10.1128/CMR.00082-09>
- Ananthakrishnan AN. *Clostridium difficile* infection: epidemiology, risk factors and management. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2011;8(1):17-26. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.190>
- Ergen EK, Akalın H, Yılmaz E, et al. Nosocomial diarrhea and *Clostridium difficile* associated diarrhea in a Turkish University Hospital. Med Mal Infect. 2009;39(6):382-7. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2009.02.001>
- Kostul H, Delialioğlu N, Şahin-Horasan E, Emekdaş G, Öztürk C, Kuyucu N. Hastanede yatan ishaller hastaların dışkı örneklerinde *Clostridium difficile* toksin araştırılması ve risk faktörlerinin incelenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg. 2015;72(3):183-90. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2015.36024>
- Ayarcı AO, Özakin C, Oral B, ve ark. İshallerde *Clostridium difficile* toksin pozitifliğinin retrospektif analizi. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2012;42(1):10-5. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2012.010>
- Stanley JD, Bartlett JG, Dart BW 4th, Ashcraft JH. *Clostridium difficile* infection. Curr Probl Surg. 2013;50(7): 302-37. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2013.02.004>
- Legoh GN, Sosrosumahardjo R. Laboratorium diagnosis of *Clostridium difficile* infection. J Gastroenterol Hepatol Dig Endosc. 2006;7(2):46-50. <https://doi.org/10.24871/72200646-50>
- Yıldız F, Gücükoğlu A. *Clostridium difficile* ve gıda güvenliği açısından önemi. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR. 2012;10(1):22-9.
- Pelaez T, Alcalá L, Blanco JL, et al. Characterization of swine isolates of *Clostridium difficile* in Spain: A potential source of epidemic multidrug resistant strains? Anaerobe. 2013;22:45-9. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.05.009>
- O'Connor JR, Johnson S, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection caused by the epidemic BI/NAP1/027 strain. Gastroenterology. 2009;136:1913-24. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.02.073>
- Karadağ FY, Günel Ö, Barut HŞ. Güncel bilgiler ışığında *Clostridium difficile* enfeksiyonu. Gaziosmanpaşa Üniv Tıp Fak Derg. 2013;5(2):68-73.
- Curry S. *Clostridium difficile*. Clin Lab Med. 2010;30(1):329-42. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.04.001>
- Di Persio JR, Varga FS, Conwell DL, Kraft JA, Kozak KJ, Willis DH. Development of a rapid enzyme immunoassay for *Clostridium difficile* Toxin A and its use in the diagnosis of *C. difficile*-associated disease. J Clin Microbiol. 1991;29(12):2724-30.
- McCullum DL, Rodriguez JM. Detection, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infection. Clin Gastroenterol Hepatol. 2012;10(6):581-92. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.03.008>
- Rodriguez-Palacios A, Reid-Smith RJ, Staempfli HR, Weese JS. *Clostridium difficile* survives minimal temperature recommended for cooking ground meats. Anaerobe. 2010;16(5):540-2. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.05.004>
- Ardıç N. *Clostridium difficile* enfeksiyonunun laboratuvar tanısında sorunlar. Klimik Derg. 2004;17(3):142-5.
- Johnson S. Recurrent *Clostridium difficile* infection: a review of risk factors, treatments, and outcomes. J Infection. 2009;58(6):403-10. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2009.03.010>
- Poxton IR, McCoubrey J, Blair G. The pathogenicity of *Clostridium difficile*. Clin Microbiol Infect. 2001;7(8):421-7.

- <https://doi.org/10.1046/j.1198-743x.2001.00287.x>
21. Salnikova MS, Joshi SB, Rytting JH, Warny M, Middaugh CR. Physical characterization of *Clostridium difficile* toxins and toxoids: Effect of the formaldehyde crosslinking on thermal stability. *J Pharm Sci.* 2008;97(9):3735-52.  
<https://doi.org/10.1002/jps.21261>.
  22. Zeisera JJ, Klodmann J, Braunb HP, Gerharda R, Justa I, Picha A. Effects of *Clostridium difficile* Toxin A on the proteome of colonocytes studied by differential 2D electrophoresis. *J Proteomics.* 2011;75(82):469-79.  
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.08.012>
  23. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology.* 5th Ed., Philadelphia: Elsevier, 2005.
  24. Farrell RJ, LaMont JT. Pathogenesis and clinical manifestations of *Clostridium difficile* diarrhea and colitis. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2000;250:109-25.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-662-06272-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-662-06272-2_6)
  25. Carroll KC, Bartlett JG. *Biology of Clostridium difficile: implications for epidemiology and diagnosis.* *Annu Rev Microbiol.* 2011;65:501-21.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102824>
  26. Burnham CA, Carroll KC. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(3):604-30.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.00016-13>
  27. Kılıç A. *Clostridium difficile* enfeksiyonu: Epidemiyoloji, risk faktörleri, patogenezi, klinik özellikler, tanı ve tedavi. *Mikrobiyol Bul.* 2013;47(3):556-66.  
<https://doi.org/10.5578/mb.5208>
  28. Kuijper EJ, van Dissel JT, Wilcox MH. *Clostridium difficile*: changing epidemiology and new treatment options. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20(4):376-83.  
<https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e32818be71d>
  29. Yılmaz GR, Çevik MA, Ünal S. *Saccharomyces boulardii.* *Flora.* 2000;5(Ek 2):E3-28.
  30. Yassin SF, Young-Fadok TM, Zein NN, Pardi DS. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. *Mayo Clin Proc.* 2001;76(7):725-30.  
<https://doi.org/10.4065/76.7.725>
  31. Akan E. *Clostridium difficile.* *Tıbbi Mikrobiyoloji (2. Baskı), İzmir: Saray Medikal Yayıncılık, 1993.*
  32. Huang H, Wu S, Wang M, et al. *Clostridium difficile* infections in a Shanghai hospital: antimicrobial resistance, toxin profiles and ribotypes. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;33(4):339-42.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.09.022>
  33. Pelaez T, Alcalá L, Alonso R, Rodríguez-Creixems M, García-Lechuz JM, Bouza E. Reassessment of *Clostridium difficile* susceptibility to metronidazole and vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(6):1647-50.  
<https://doi.org/10.1128/aac.46.6.1647-1650.2002>
  34. Bisharaa J, Bloch Y, Garty M, Behor J, Samra Z. Antimicrobial resistance of *Clostridium difficile* isolates in a tertiary medical center, Israel. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006;54(2):141-4.  
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.09.008>
  35. Mutlu E, Wroe AJ, Sanchez-Hurtado K, Brazier JS, Poxton IR. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility patterns of *Clostridium difficile* strains isolated from hospitals in south-east Scotland. *J Med Microbiol.* 2007;56(Pt 7):921-9.  
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.47176-0>
  36. Bourgault AM, Lamothe F, Loo VG, et al. In vitro susceptibility of *Clostridium difficile* clinical isolates from a multi institutional outbreak in Southern Québec, Canada. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(10):3473-5.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.00479-06>
  37. Simor AE. Diagnosis, management, and prevention of *Clostridium difficile* infection in long-term care facilities: a review. *J Am Geriatr Soc.* 2010;58(8):1556-64.
  38. Leclair MA, Allard C, Lesur O, Pépin J. *Clostridium difficile* infection in the intensive care unit. *Intens Care Med.* 2010;25(1):23-30.  
<https://doi.org/10.1177/0885066609350871>
  39. Weese JS, Reid-Smith RJ, Avery BP, Rousseau J. Detection and characterization of *Clostridium difficile* in retail chicken. *Lett Appl Microbiol.* 2010;50(4):362-5.  
<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02802.x>
  40. de Boer E, Zwartkruis-Nahuis A, Heuvelink AE, Hurmanus C, Kuijper EJ. Prevalence of *Clostridium difficile* in retail meat in the Netherlands. *Int J Food Microbiol.* 2011;144:561-4.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.007>
  41. Metcalf D, Avery BP, Janecko N, Matic N, Reid-Smith R, Weese JS. *Clostridium difficile* in seafood and fish. *Anaerobe.* 2011;17(2):85-6.  
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.02.008>
  42. Rodríguez-Palacios A, Staempfli HR, Duffield T, Weese JS. *Clostridium difficile* in retail ground meat Canada. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(3):485-7.  
<https://doi.org/10.3201/eid1303.060988>
  43. Rodríguez-Palacios A, Reid-Smith RJ, Staempfli HR, et al. Possible seasonality of *Clostridium difficile* in retail meat Canada. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(5):802-5.  
<https://doi.org/10.3201/eid1505.081084>
  44. Weese JS, Avery BP, Rousseau J, Reid-Smith RJ. Detection and enumeration of *Clostridium difficile* spores in retail beef and pork. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(15):5009-11.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.00480-09>
  45. Jöbstl M, Heuberger S, Indra A, Nepf R, Köfer J, Wagner

- M. *Clostridium difficile* in raw products of animal origin. Int J Food Microbiol. 2010;138(1-2):172-5. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.022>
46. Rodriguez C, Taminiau B, Avesani V, Van Broeck J, Delmée M, Daube G. Multilocus sequence typing analysis and antibiotic resistance of *Clostridium difficile* strains isolated from retail meat and humans in Belgium. Food Microbiol. 2014;42:166-71. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.03.021>
  47. Carlos QG, Michael RM, Pablo V, Maria del Mar GC, Cesar R, Evelyn RC. Isolation of a toxigenic and clinical genotype of *Clostridium difficile* in retail meats in Costa Rica. J Food Prot. 2013;76(2):348-51. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-169>
  48. Mooyottu S, Flock G, Kollanoor-Johny A, Upadhyaya I, Jayarao B, Venkitanayaranan K. Characterization of a multidrug resistant *C. difficile* meat isolate. Int J Food Microbiol. 2015;192:111-6. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.002>
  49. Esfandiari Z, Weese JS, Ezzatpanah H, Jalali M, Chamani M. Occurrence of *Clostridium difficile* in seasoned hamburgers and seven processing plants in Iran. BMC Microbiol. 2014;14:283. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0283-6>
  50. Rahimi E, Jalali M, Weese JS. Prevalence of *Clostridium difficile* in raw beef, cow, sheep, goat, camel and buffalo meat in Iran. BMC Public Health. 2014;14:119. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-119>
  51. Hampikyan H, Bingöl EB, Muratoğlu K, Akkaya E, Çetin Ö, Çolak H. The prevalence of *Clostridium difficile* in cattle and sheep carcasses and the antibiotic susceptibility of isolates. Meat Sci. 2018;139:120-4. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.01.020>
  52. Keessen EC, van den Berkt AJ, Haasjes NH, Hermanus C, Kuijper EJ, Lipman LJA. The relation between farm specific factors and prevalence of *Clostridium difficile* in slaughter pigs. Vet Microbiol. 2011;154(1-2):130-4. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.06.032>
  53. Guran HS, İlhak OI. *Clostridium difficile* in retail chicken meat parts and liver in the Eastern Region of Turkey. J Verbr Lebensm. 2015;10(4):359-64. <https://doi.org/10.1007/s00003-015-0950-z>
  54. Indra A, Lassnig H, Baliko N, et al. *C. difficile*: a new zoonotic agent? Wien Klin Wochenschr. 2009;121(3-4):91-5. <https://doi.org/10.1007/s00508-008-1127-x>
  55. Limbago B, Thompson AD, Greene SA, et al. Development of a consensus method for culture of *Clostridium difficile* from meat and its use in a survey of U.S. retail meats. Food Microbiol. 2012;32(2):448-51. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.08.005>
  56. Varshney JB, Very KJ, Williams JL, et al. Characterization of *Clostridium difficile* isolates from human fecal samples and retail meat from Pennsylvania. Foodborne Pathog Dis. 2014;11(10):822-9. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1790>
  57. Abdel-Glil MY, Thomas P, Schmoock G, et al. Presence of *Clostridium difficile* in poultry and poultry meat in Egypt. Anaerobe. 2018;51:21-5. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.03.009>
  58. Ersöz ŞŞ, Coşansu S. Prevalence of *Clostridium difficile* isolated from beef and chicken meat products in Turkey. Korean J Food Sci Anim Resour. 2018;38(4):759-67. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e14>
  59. Pasquale V, Romano V, Rupnik M, et al. Occurrence of toxigenic *Clostridium difficile* in edible bivalve molluscs. Food Microbiol. 2012;31(2):309-12. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.03.001>
  60. Pasquale V, Romano VJ, Rupnik M, et al. Isolation and characterization of *Clostridium difficile* from shellfish and marine environments. Folia Microbiol (Praha). 2011;56(5):431-7. <https://doi.org/10.1007/s12223-011-0068-3>
  61. Troiano T, Harmanus C, Sanders IMJG, et al. Toxigenic *Clostridium difficile* PCR ribotypes in edible marine bivalve molluscs in Italy. Int J Food Microbiol. 2015;208:30-4. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.002>
  62. Norman KN, Harvey RB, Andrews K, et al. Survey of *Clostridium difficile* in retail seafood in College Station, Texas. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2014;31(6):1127-9. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.888785>
  63. Metcalf DS, Costa MC, Dew WMV, Weese JS. *Clostridium difficile* in vegetables, Canada. Lett Appl Microbiol. 2010;51:600-2. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2010.02933.x>
  64. Bakri MM, Brown DJ, Butcher JP, Sutherland AD. *Clostridium difficile* in ready-to eat salads Scotland. Emerg Infect Dis. 2009;15(5):817-8. <https://doi.org/10.3201/eid1505.081186>
  65. al Saif N, Brazier JS. The distribution of *Clostridium difficile* in the environment of South Wales. J Med Microbiol. 1996;45(2):133-7. <https://doi.org/10.1099/00222615-45-2-133>
  66. Öner Ç, Özdemir H. *Clostridium difficile*'nin gıdalarda bulunuşu ve halk sağlığı açısından önemi. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR. 2016; 14(1):36-49.
  67. Vonberg RP, Kuijper EJ, Wilcox MH, et al. Infection control measures to limit the spread of *Clostridium difficile*. Clin Microbiol Infect. 2008;14(Suppl5):S2-20. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.01992.x>
  68. Søres LM. *Clostridium difficile* infection in Denmark: Epidemiology, risk factors and clinical presentation.

- PhD Thesis. Dept. of Microbiological Diagnostics Statens Serum Institut Copenhagen Denmark: 2012.
69. Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P, et al. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*;12(Suppl 6): S2-18.
70. Boyce JM. New approaches to decontamination of few approaches to decontamination of rooms after patients are discharged. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30(6):515-7. <https://doi.org/10.1086/598999>
71. Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Goudarzi H, Aghdam EM, Nazeri S. *Clostridium difficile* infection: Epidemiology, pathogenesis, risk factors, and therapeutic options. *Scientifica (Cairo)*. 2014;2104:916826. <https://doi.org/10.1155/2014/916826>
72. Rodriguez-Palacios A, LeJeune JT. Moist-heat resistance, spore aging, and superdormancy in *Clostridium difficile*. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(9):3085-91. <https://doi.org/10.1128/AEM.01589-10>
73. Candel-Pérez C, Ros-Berrueto G, Martínez-Graciá C. A review of *Clostridioides [Clostridium] difficile* occurrence through the food chain. *Food Microbiol*. 2019;77:118-29. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.08.012>



# Hetero Halkalı Bileşiklerin Antibakteriyel Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

## Evaluation of Antibacterial Activities of Heterocyclic Compounds

Meryem Pir\*<sup>©</sup>, Fatma Budak\*\*<sup>©</sup>

\*Kocaeli Üniversitesi, Köseköy Meslek Yüksekokulu, Kimya Teknolojisi Programı, Kocaeli

\*\*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

### Öz

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, bazı oksadiazol hetero halkalı bileşiklerin (1a-g) çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite sonuçlarının değerlendirilmesidir. Elde edilen MİK değerleri ve hesaplanan çeşitli parametreler kullanılarak yapı aktivite ilişkileri değerlendirilip biyolojik aktiviteye sübstitüentin etkisi belirlenmiştir.

**Yöntem:** Sıvı mikrodilüsyon duyarlılık testi için steril, disposabl U tabanlı 96 kuyucuklu plaklar kullanılmıştır. Minimal İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) testi için *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) standart suşları kullanılmıştır. Tüm bileşikler için teorik hesaplamalar (RHF-PM3) metodu ile yapılmıştır.

**Bulgular:** Oksadiazol bileşikleri özellikle hastane enfeksiyonuna neden olabilen *P. aeruginosa*'ya karşı iyi sonuçlar vermiştir. Test edilen bileşikler arasında 1c, 1d ve 1f en iyi sonuç gösteren bileşiklerdir.

**Sonuç:** Günümüzde, yeni bileşiklerin sentezi ve aktivite testleri önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmadaki sonuçlara göre, bu tür oksadiazol bileşikleri geliştirilebilir ve gelecekte daha etkili ve yeni antimikrobiyal madde dizaynında kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** Antibakteriyel aktivite, oksadiazol bileşikleri, MİK

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study is to evaluate the antimicrobial activity results of some heterocyclic oxadiazole compounds (1a-g) against several bacteria. Using the MIC values obtained and various calculated parameters, the relationship between the structures and the activity were evaluated and the effect of the substituent on the biological activity was determined.

**Methods:** Multiwell microdilution plates (sterile, disposable 96 U-shaped wells) were used for microbroth dilution procedure. *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) and *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) were used for the minimal inhibitory concentration (MIC) tests. Theoretical calculations for all compounds were made by (RHF-PM3) method.

**Results:** Oxadiazole compounds have good results against particularly *P. aeruginosa* which causes nosocomial infections. Among the tested compounds; 1c, 1d and 1f have the best results.

**Conclusion:** Nowadays, synthesis of new compounds and their activity tests have great importance. According to the results of this study, such oxadiazole compounds can be improved and used for the design of more potent and new classes of antimicrobial agents in the future.

**Keywords:** Antibacterial activity, oxadiazole compounds, MIC

### Alındığı tarih:

19.03.2019

### Kabul tarihi:

16.07.2019

### Yayın tarihi:

31.12.2019

### ORCID Kayıtları

M. Pir 0000-0003-4305-8838

F. Budak 0000-0001-8439-3881

✉ pirmeryem@gmail.com

## GİRİŞ

Antibiyotikler 20. yüzyılın başlarında keşfedildiklerinden bu yana bakteriyel enfeksiyonlara karşı birincil silah olarak kullanılmıştır. Profilaktik etkileri nedeniyle genellikle kanser veya ameliyat sırasında veya

kompleks hastalıkları tedavi etmek için verilen ilaç kokteyllerinin bir parçası olarak değerlendirilmişlerdir. Son yüzyılda bu durum, enfeksiyon hastalıklarından ölümleri azaltmış ve yaşam süresini uzatmış<sup>(1)</sup> olsa da, antibiyotiklerin uygulanma sıklığı kadar bazen yanlış kullanımları da antibiyotik dirençli bak-

terileri ortaya çıkarmıştır. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* gibi yüksek dirençli yoğun bakım ünitelerindeki bakteriler tıbbi maliyeti artırıp hasta yaşamını risk altına alarak çeşitli komplikasyonlara yol açmıştır<sup>(2,3)</sup>. Hem bireyleri hem de toplumu tehdit eden çeşitli enfeksiyonlara karşı gelişen riskler, antibiyotiklere karşı direncin daha da artması ile yükselmektedir. Bu dirençli suşların ortaya çıkışı ile birlikte dirençli bakteriler için yeni antimikrobiallerin keşfindeki zorluklar bilim dünyasını harekete geçirmiştir. Enfeksiyonların ortadan kaldırılmasını sağlayacak antibiyotiklerin yanı sıra dirençli patojenlere karşı da yeni antibiyotiklere gereksinim duyulmaktadır. Antibakteriyellerin geliştirilmesinde son yıllarda başarılı çalışmaların sayısının artmakta olduğu ve bu çalışmaların genellikle bilinen antibakteriyel grupları kapsadığı dikkat çekmektedir<sup>(4)</sup>. Stratejilerin çoğu, ön ilaç veya yeni moleküllerin rasyonel düzenlenmesi temelinde ilaç geliştirmek için planlanmaktadır. Bu nedenle kimya ile yapılan multidisipliner çalışmalarla dirençlerin üstesinden gelinmesine çalışılmaktadır. Bizim de bu çalışmamızda, patojen mikroorganizmalara karşı savaşan yeni alternatif kimyasalların duyarlılıkları incelenmiştir. Bu nedenle yeni bileşiklerin keşfi için önemli olacağını düşündüğümüz 1, 2, 4-oksadiazol bileşikleri<sup>(5)</sup> (1a-g) biyolojik aktiviteye sahip önemli bileşiklerdir ve bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerine molekülde bağlı olan farklı sübstitüentlerin etkilerinin de (sübstitüent etki) olabileceği düşünülmüştür. Buradan yola çıkılarak da daha etkili hedef moleküllerinin tasarımı gerçekleştirilebilecektir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

**Oksadiazol Hetero Halkalı Bileşikler:** 3-Sübstitüefenil-4-(*m*-tolil)-1, 2, 4-oksadiazol-5(4*H*)-on türevi bileşiklerin (1a-g) sentezi ve spektral analiz sonuçları literatürde<sup>(5)</sup> yer almaktadır. Aktivite çalışmasında kullanılan bu bileşik türevlerinin isimleri ve kodları Tablo 1’de, (1c) molekülünün şekli Şekil 1’de verilmektedir.

**Mikroorganizmalar ve Besiyeri:** Çalışmada kullanılan

mikroorganizmalar Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’ndan sağlanmıştır. Araştırmada *in vitro* antibakteriyel aktivite testleri için *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) standart suşları kullanılmıştır. Ampisilin (Fako, İstanbul, Türkiye) ve siprofloksasin (Fako, İstanbul, Türkiye) referans madde olarak kullanılmıştır. Hemolizli at kanlı Mueller-Hinton Broth (MHB) için at kanı Kocaeli Üniversitesi Kartepe Atçılık Meslek Yüksekokulu’ndan sağlanmıştır.

**Bileşiklerin Mikrobiyolojik Etki Tayini Yöntemi:** Yedi (1a-g) maddenin antibakteriyel aktivitesi CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon duyarlılık test yöntemi ile yapılmıştır<sup>(6,7)</sup>. Sıvı mikrodilüsyon testi için steril, disposable U tabanlı 96 kuyucuklu plak kullanılmıştır. Maddelerin stok solüsyonu steril etanol ile yapılmıştır. Yapılan dilüsyonlarda kullanılan etanolün mikroorganizmalara karşı zararlı bir etkisi yoktur. Bileşik dilüsyonları Mueller Hinton Broth ile U tabanlı plaka kuyucuklarında maddelerin konsantrasyonu 1600, 800, 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.09 ve 0.04 µg/ml aralığında olacak şekilde hazırlanmıştır. Ampisilin (Fako, İstanbul, Türkiye) ve siprofloksasin (Fako, İstanbul, Türkiye) antibakteriyel maddeleri referans madde olarak kullanılmıştır ve konsantrasyonları literatürde<sup>(6,7)</sup> belirtilmektedir.

Antibakteriyel aktivite için *S. mutans* standart suşu koyun kanlı agar ekilerek 35°C 36-48 saat mikroaerofil ortamda inkübe edilmiştir. Antibakteriyel aktivite için kullanılacak standart suşların inokulumu 0.5 Mc Farland 1x10<sup>8</sup> CFU/ml (koloni oluşturan ünite) olarak hazırlanmıştır. Daha sonra bu konsantrasyonlar *S. mutans* için %2-5 liyofilize at kanlı Mueller Hinton Broth besiyeri kullanılarak, diğer bakteriler için ise Mueller Hinton Broth ile 1/10 oranında sulandırılarak son derişim 10<sup>7</sup> CFU/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonları (1a-g)

maddelerinin plaktaki 100 µl'lik konsantrasyonlarına 5x10<sup>5</sup> CFU/ml oranında pipetlenmiştir. Daha sonra bu plaklar *S. mutans* için 35°C 36-48 saat mikroaerofil ortamda, diğer bakterileri içeren plaklar ise 35°C 16-24 saat aerobik olarak inkübe edilmiştir. Bakteri üremesinde gözle görülür bulanıklığın olmadığı en son kuyucuktaki madde konsantrasyonu MİK olarak kabul edilmiştir. Testler iki kez yinelenmiştir.

**Teorik Hesaplanan Moleküler Parametreler:** Bileşikler (1a-g) için çeşitli moleküler parametreler (diskriptörler) Hyperchem (Hypercube Inc., Ver 7.2 for Windows, 2002, ABD) programı kullanılarak sınırlandırılmış Hartree-Fock (RHF)-PM3 (Parametrizasyon modeli, sürüm 3) yöntemi ile hesaplanmıştır. Bu parametreler; oktanol-su dağılım katsayısının logaritması (clogP), Van der Waals yüzey alanı-approx (SAA), Van der Waals moleküler hacim (MV), molar refraktivite (MR), polarite (polar), total dipol moment (µ), hidrasyon enerjisi (HE) ve oluşum entalpisi (heat of formation) (ΔHf) değerleridir (Tablo 2). Bileşik (1c)'nin (RHF-PM3) metodu ile hesaplanan minimum enerjili konformasyonu Şekil 1'de verilmiştir.

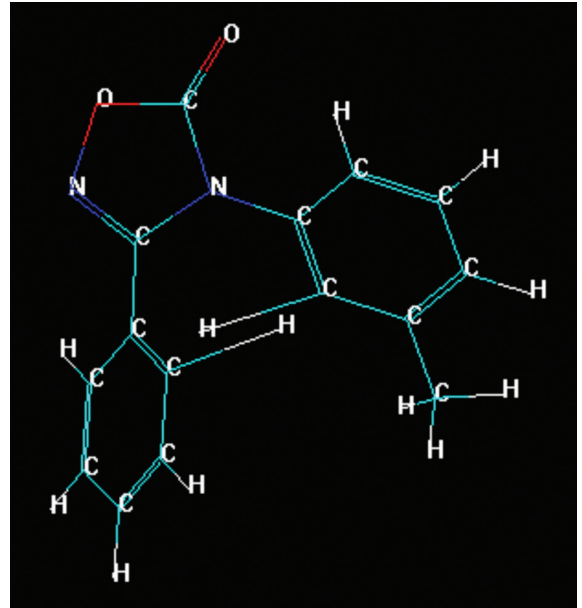
## BULGULAR

Bileşiklerin (1a-g) *in vitro* antimikrobiyal aktivite bulguları Tablo 3'te verilmiştir. *S. mutans* bileşiklere karşı dirençli (MİK= >1600 µg/ml), diğer bakteriler ise bileşiklere karşı duyarlı (MİK=50-200 µg/ml) bulunmuştur. Bileşiklere ve referans maddelere ait aktivite sonuçlarının grafiksel gösterimi Şekil 2'de verilmiştir.

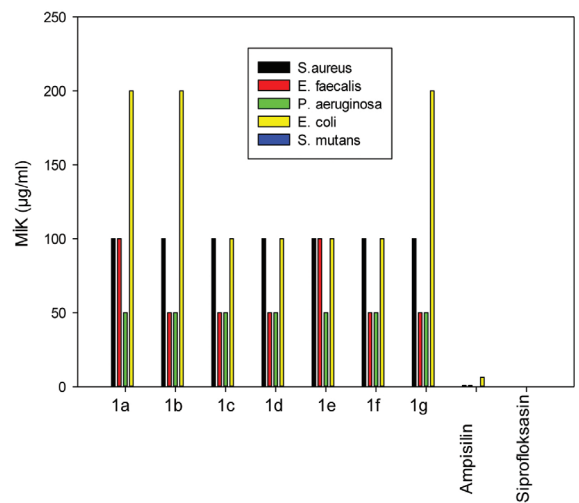
Bileşiklerin tümü ampisilin ile karşılaştırıldığında Gram negatif bakteri olarak hastane enfeksiyonlarına yol açan *P. aeruginosa*'ya karşı (MİK=50 µg/ml) oldukça etkilidir. Birbirleriyle ve standart suş ile karşılaştırıldığında Gram negatif *E. coli* bakterisi maddenin c, d, e ve f türevlerine karşı duyarlı (MİK=100 µg/ml) ancak a, b ve g türevlerine karşı daha dirençli (MİK=200 µg/ml) bulunmuştur. Oldukça dirençli enfeksiyonlara yol açabilen *S. aureus* bakterisi maddenin tüm türevlerine karşı duyarlıdır (MİK=100 µg/ml).

**Tablo 1. 3-Süstitüfenil-4-(*m*-tolil)-1, 2, 4-oksadiazol-5(4*H*)-on türevleri ve kodları (1a-g).**

Türevler	Kod
3-( <i>p</i> -metoksifenil)-4-( <i>m</i> -tolil)-1,2,4-oksadiazol-5(4 <i>H</i> )-on	1a
3-( <i>p</i> -tolil)-4-( <i>m</i> -tolil)-1,2,4-oksadiazol-5(4 <i>H</i> )-on	1b
3-(fenil)-4-( <i>m</i> -tolil)-1,2,4-oksadiazol-5(4 <i>H</i> )-on	1c
3-( <i>p</i> -florofenil)-4-( <i>m</i> -tolil)-1,2,4-oksadiazol-5(4 <i>H</i> )-on	1d
3-( <i>m</i> -klorofenil)-4-( <i>m</i> -tolil)-1,2,4-oksadiazol-5(4 <i>H</i> )-on	1e
3-( <i>m</i> -bromofenil)-4-( <i>m</i> -tolil)-1,2,4-oksadiazol-5(4 <i>H</i> )-on	1f
3-( <i>p</i> -triflorometilfenil)-4-( <i>m</i> -tolil)-1,2,4-oksadiazol-5(4 <i>H</i> )-on	1g



**Şekil 1. Bileşik (1c)'nin (RHF-PM3) metodu ile hesaplanan minimum enerjili konformasyonu.**



**Şekil 2. Bileşiklere (1a-g) ve standartlara ait MİK değerlerinin grafiksel gösterimi.**

Tablo 2. (1a-g) bileşiklerine ait (RHF-PM3) metodu ile hesaplanan teorik parametreler.

Bileşik	clogP	SAA (Å <sup>2</sup> )	MV (Å <sup>3</sup> )	MR (Å <sup>3</sup> )	Polar (Å <sup>3</sup> )	μ (D)	HE (kcal/mol)	ΔHf (kcal/mol)
1a	1.22	296.56	253.61	85.67	30.30	6.830	-8.74	-11.65
1b	2.36	284.18	245.83	83.57	29.67	6.395	-5.94	17.14
1c	2.21	261.41	229.36	79.29	27.83	6.246	-7.11	27.12
1d	1.61	266.46	231.73	79.42	27.74	4.781	-6.80	-16.35
1e	1.99	277.20	243.23	84.01	29.76	5.890	-6.73	20.75
1f	2.26	282.12	250.73	86.83	30.46	5.819	-6.72	35.08
1g	2.78	298.10	253.62	84.51	29.39	3.773	-6.53	-130.22

Tablo 3. (1a-g) nolu bileşiklerin in vitro antibakteriyel aktivite sonuçları [MİK µg/ml (µmol/ml)].

Bileşikler (1a-g) ve Standartlar	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25983)	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)
1a	100 (0.354)	100 (0.354)	50 (0.177)	200 (0.708)	>1600
1b	100 (0.376)	50 (0.188)	50 (0.188)	200 (0.751)	>1600
1c	100 (0.396)	50 (0.198)	50 (0.198)	100 (0.396)	>1600
1d	100 (0.370)	50 (0.185)	50 (0.185)	100 (0.370)	>1600
1e	100 (0.349)	100 (0.349)	50 (0.174)	100 (0.349)	>1600
1f	100 (0.302)	50 (0.151)	50 (0.151)	100 (0.302)	>1600
1g	100 (0.312)	50 (0.156)	50 (0.156)	200 (0.624)	>1600
Ampisilin	0,78	0,78	-	6,25	≤0,25
Siprofloksasin	0,25	0,25	0,25	0,04	-

*E. faecalis* bakterisi birbirleriyle ve standart suş ile karşılaştırıldığında ise maddenin b, c, d, f ve g türevlerine duyarlıdır (MİK=50 µg/ml). Diğer yapıların MİK değeri ise 100 µg/ml olarak ve daha az etkili bulunmuştur.

Diş çürüklerine, periodontit enfeksiyonlarına ve tedavi edilmezse pulpit ve periapikal doku enfeksiyonlarına yol açan *S. mutans*'ın ise maddenin tüm yapılarına karşı dirençli olduğu (MİK= >1600 µg/ml) bulunmuştur. Maddelerin (1a-g) 1600-0.04 µg/ml konsantrasyon aralığında *S. mutans*'ın üremesini durduracak bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Ayrıca oksadiazol (1a-g) bileşikleri için antimikrobiyal aktivite tayinine ek olarak çeşitli fizikokimyasal ve teorik parametreler hesaplanmıştır. Yapı-etki ilişkilerinin çözümlenmesine yardımcı tekniklerden biri olan QSAR analizinde de kullanılabilecek bu teorik parametreler ilaç etken maddesi bileşiklerin araştırılması ve geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Yeni ilaçların ortaya çıkması için öncelikle yapısı belirlenmiş bir bileşiğe çeşitli kimyasal modifikasyonlar uygulanarak kimyasal yapısı çeşitlendirilir. Daha sonra kimyasal

bileşiklere ait moleküler yapı ile gösterdikleri biyolojik etkinlik arasındaki ilişkinin varlığı fizikokimyasal parametreler hesaplanarak matematiksel yöntemlerle nicel olarak çözümlenir. Bu hesaplamalar daha sonra regresyon analizinde kullanılabileceği gibi çeşitli elektron çekici ve elektron salıcı süstitüentlerin *m*- ve *p*- konumundaki varlığında heterosiklik oksadiazol bileşiklerinin sahip olduğu tanımlayıcılar hakkında bilgi vermektedir. Tablo 2'de süstitüent etkinin fizikokimyasal parametreler üzerindeki etkisi görülmektedir.

## TARTIŞMA

Günümüzde, bakterilerin bilinen molekül gruplarına karşı direnç kazanıyor olması halk sağlığı açısından büyük sorunlar oluşturmakta ve bu durumun kuşku verici seviyede olabileceği düşünülmektedir. Antibiyotiklere direnç kazanmış mikrobiyal patojenleri kontrol altına almak için farmakolojik olarak aktif yeni bileşiklerin bulunması gerekmektedir. Özellikle 1988'lerden bu yana vankomisin dirençli *E. faecalis* (VRE)'in ortaya çıkışı, metisilin ve vankomisin dirençli *S. aureus* (MRSA/VRSA) suşları, dirençli bakterilerin

neden olduğu sepsis, ishal ve yoğun bakım ünitelerinde sık rastlanan MRSA ve VRE hastane enfeksiyonları gibi yeni klinik tabloların ortaya çıkması doğal antimikrobiyal ürünlerin önemini tüm dünyada artırmaktadır<sup>(8,9)</sup>.

Günümüzde, yoğun bakımda uzun süre yatan hastalardan üretilen çok ilaca dirençli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına bağlı tedavide zorluk yaşanmaktadır. Güncel kullanılan antibakteriyel ilaçların dirençli oluşu veya tedavi sırasında direnç gelişmesi en çok zorlandığımız durumdur. *P. aeruginosa* bakterisi incelenen bileşiklerin (1a-g) tümüne duyarlı bulunmuştur (MİK=50 µg/ml). Bu durum gelecekte tedavi seçenekleri için bize ümit vermektedir.

Tüm bileşiklerin 50-200 µg/ml arasında değişen MİK değerlerinde antibakteriyel etkiye sahip oldukları bulunmuştur.

Biyolojik aktivite-yapı ilişkisi veya kantitatif yapı-aktivite ilişkileri (QSAR) olarak tanımlanan işlemlerle, kimyasal bileşiklerin moleküler nitelikleri (yapısal/fizikokimyasal özellikleri) ile biyolojik aktiviteleri arasındaki ilişkileri matematiksel yöntemlerle belirlenmektedir<sup>(10)</sup>. QSAR yöntemi kullanılarak ileride oluşturulabilecek yeni çalışmalarla, bu tür oksadiazol bileşiklerinin biyolojik aktivite sonuçları daha iyi değerlendirilecek ve en başarılı ilaç aktif maddelerinin sentez yolu açılacaktır. Diş çürüklerine, periodontit enfeksiyonlarına ve tedavi edilmezse pulpit ve periapikal doku enfeksiyonlarına yol açan *S. mutans*'a karşı etkili olabilecek yeni molekül araştırmalarına ağırlık verilip ayrıca maddelerin antifungal aktiviteleri de incelenebilecektir.

Literatürde bu tür 1, 2, 4-oksadiazol hetero halkalı bileşiklerinin antibakteriyel aktivite sonuçları bulunmamaktadır. Yeni bir antibakteriyel sınıf olma potansiyeline sahip olan bu bileşiklere ait gerçekleştirdiği-

miz antimikrobiyal aktivite çalışması büyük bir önem taşımaktadır. Daha kompleks oksadiazol bileşiklerinin farklı sübstitüentler kullanılarak sentezi gerçekleştirilebilir ve bu bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri belirlenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Fernebro J. Fighting bacterial infections-future treatment options. Drug Resist Updat. 2011;14(2):125-39. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2011.02.001>
2. Waness A. Revisiting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. J Glob Infect Dis. 2010;2:49-56. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.59251>
3. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(11):7687-92. <https://doi.org/10.1073/pnas.122108599>
4. Akbal AU, Çoban AY, Durupınar B. Yeni antibakteriyeller. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2018;48(2):87-99. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2018.087>
5. Kara YS. Nitril oksit ve amidoksim kullanılarak yeni hetero halkalı bileşiklerin sentezi [Doktora Tezi]. Kocaeli: Kocaeli Üniversitesi, 2009.
6. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M07-A7, Wayne, ABD; 2006.
7. CLSI. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth Informational Supplement, LSI-M110-S15, Wayne, ABD, 2005.
8. Karaaslan E. Çevreden izole edilen suşların antimikrobiyal direnç durumlarının araştırılması ve klinik suşlarla karşılaştırılması [Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2013.
9. Martinez A, Kolvek SJ, Yip CLT, et al. Genetically modified bacterial strains and novel bacterial artificial chromosome shuttle vectors for constructing environmental libraries and detecting heterologous natural products in multiple bacterial hosts. Appl Environ Microbiol. 2004;70:2452-63. <https://doi.org/10.1128/aem.70.4.2452-2463.2004>
10. Özden S, Ertan R, Akı-Şener E ve ark. Farmasötik Kimya Pratikleri 1-2. Ankara Üniversitesi. Ankara, 2004.

# Menenjit Tanısı Almış Hastalarda, Bakteriyel Menenjit Etkenlerinin Kültür ve PZR ile Belirlenmesi<sup>§</sup>

## Determination of Bacterial Meningitis Agents by Culture and PCR in Patients Diagnosed with Meningitis

Sezer Toprak\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Kübra Can\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Reyhan Çalışkan\*\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Gönül Şengöz\*\*\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Zafer Habip\*\*\*\*\*<sup>Ⓜ</sup>  
Edip Tokuç\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Mehmet Demirci\*\*\*\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Zeynep Taner\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Müzeyyen Mamal Torun\*\*\*\*\*<sup>Ⓜ</sup>,  
Bekir Sami Kocazeybek\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Hrisi Bahar Tokman\*\*<sup>Ⓜ</sup>

\*Yedikule Göğüs Hastalıkları Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul

\*\*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

\*\*\*İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*\*\*Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

\*\*\*\*\*İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*\*\*\*Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*\*\*\*Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

### Öz

**Amaç:** Çalışmamızda, fakültemizde, menenjit tanısı almış erişkin hastalar arasında hastane kökenli ve toplum kökenli bakteriyel menenjit olgularının belirlenmesi ve bu olgularda *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, Grup B *Streptokok* ve *Listeria monocytogenes*'in saptanmasında multiplex PZR'nin kültüre göre avantajlı olup olmadığının gösterilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamız, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'ne Şubat 2012-Haziran 2013 tarihleri arasında başvuran ve menenjit ön tanısı alan 100 erişkin hastanın beyin omurilik sıvısı (BOS) örneği ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler 2 tüpe alınmıştır. Birinci tüpteki BOS örneğinin önce makroskopik incelemesi yapılmış, daha sonra, hücre sayımı, Gram boyama, direkt antijen tayini ve besiyerlerine ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. İkinci tüpteki örnek ise, kan kültürü şişesine (BD Bactec FX) ekilerek 37°C'de inkübe edilmiştir. Üreyen bakteriler, standart klinik mikrobiyoloji yöntemleri kullanılarak tanımlanmış ve gereği halinde API (BioMérieux, Fransa) kiti ile ileri tanımlamaya gidilmiştir. Moleküler testlerle bakteri izolasyonu için Seeplex Meningitidis-B Ace Detection kiti (Seegene Inc., Kore) kullanılmıştır. BOS örneklerinde mL'de 200'den fazla lökosit görülmesi ve PNL hakimiyeti menenjit tanısını desteklemiştir.

**Bulgular:** BOS örneklerinden berrak olan 66 örneğin 8'inde (%12.1), ksantokromik olan 12 örneğin 4'ünde (%30) ve bulanık olan 22 örneğin 9'unda (%40.9) bakteri saptanmıştır. Çalışma grubumuzdaki hastane kaynaklı erişkin menenjitli hastaların BOS örneklerinde Gram pozitif bakterilerden en sık metisilin dirençli koagülaz negatif stafilokokların (n=6, %30), Gram negatif bakterilerden ise *Klebsiella spp.* nin (n=4, %20) ürettiği belirlenmiştir. Toplum kaynaklı menenjit tanısı alan 1 olguda ise multiplex PZR ile *S. pneumoniae* saptanmıştır.

**Sonuç:** Giderek azalan toplum kökenli menenjitlerde etken mikroorganizmanın tespiti için yapılan çalışmaların bugün artık yalnızca kültür yöntemine dayandırılmaması gerektiği, PZR yönteminin bu alanda sağladığı avantajlardan yararlanması gerektiği düşüncesindeyiz.

**Anahtar kelimeler:** Bakteriyel menenjit, toplum ve hastane kaynaklı, erişkin hasta

### Alındığı tarih:

17.04.2019

### Kabul tarihi:

16.07.2019

### Yayın tarihi:

31.12.2019

### ORCID Kayıtları

S. Toprak 0000-0002-0675-3930

K. Can 0000-0001-6862-7908

R. Çalışkan 0000-0002-2764-1823

G. Şengöz 0000-0002-1950-7288

Z. Habip 0000-0002-9624-7790

E. Tokuç 0000-0002-2440-3125

M. Demirci 0000-0001-9670-2426

Z. Taner 0000-0003-0336-1832

M. Mamal Torun 0000-0002-8510-3206

B. S. Kocazeybek 0000-0003-1072-3846

H. Bahar Tokman 0000-0002-2205-5120

✉ hrisibahar@gmail.com

### ABSTRACT

**Objective:** We aimed to determine the community-acquired bacterial meningitis and nosocomial bacterial meningitis cases in patients diagnosed with meningitis in our hospital. At the same time we aimed to determine in these cases whether multiplex PCR was advantageous in the detection of *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, Group B *Streptococcus* and *Listeria monocytogenes* compared to culture.

**Methods:** Our study was performed with cerebrospinal fluid (CSF) samples of 100 adult patients admitted to Cerrahpaşa Medical Faculty between February 2012 and June 2013 and were diagnosed as meningitis. Samples were taken in two tubes. From the first tube, macroscopic examination of the CSF sample was performed, followed by inoculation, cell counting, Gram staining and direct antigen determination. The sample in the 2<sup>nd</sup> tube was inoculated in a blood culture flask (BD Bactec FX) and was incubated at 37°C. Bacteria were identified using standard clinical microbiology methods and further identification was made with API (BioMérieux, France) kits. Additionally, Seeplex Meningitidis-B Ace Detection kit (Seegene Inc., Korea) was used for molecular detection. The presence of more than 200 leukocytes in the CSF samples and the predominance of PNL supported the diagnosis of meningitis.

**Results:** Bacteria were detected in eight of 66 clear CSF samples (12.1%), in four of 12 xanthochromic CSF samples (30%) and in nine of 22 blurred CSF samples (40.9%). In CSF samples of cases with nosocomial meningitis, the most common bacteria were methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (n=6, 30%), and *Klebsiella spp.* (n=4, 20%). In one patient with community-acquired meningitis *S. pneumoniae* was isolated by multiplex PCR.

**Conclusion:** Determination of bacteria causing community-acquired meningitis should not be based solely on the culture method, the advantages of PCR method should be utilized.

**Keywords:** Bacterial meningitis, community and hospital, adult patient

<sup>§</sup> Bu çalışma XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (12-16 Kasım 2014, Belek, Antalya) bildiri olarak sunulmuştur.

© 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. Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

## GİRİŞ

Bakteriyel menenjit, yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan, çeşitli mikroorganizmaların neden olduğu akut veya kronik seyirli ciddi bir enfeksiyondur. Baş ağrısı, konvülzyon, nörolojik bulgular ve BOS'da biyokimyasal ve hücrel değişikliklerin hızlı bir şekilde ortaya çıktığı bu enfeksiyonlar, tedaviye yanıt veren hastalarda genelde beyinde hasar, işitme kaybı, öğrenme güçlüğü gibi kalıcı sekellerle sonuçlanmaktadır<sup>(1-3)</sup>.

Yaş, coğrafik faktörler, aşılama durumuna bağlı olarak değişim göstermekle beraber, çocuklarda akut bakteriyel menenjit (ABM)' in en sık görülen etkenleri hâlen *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Haemophilus influenzae*'dir<sup>(4-6)</sup>. Erişkinde görülen akut bakteriyel menenjitler çoğunlukla hastane kökenli *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* spp, *Acinetobacter baumannii* ve enterokokların neden olduğu erişkin menenjitleridir. *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* tip b ve *Listeria monocytogenes*'in etken olduğu toplum kökenli akut bakteriyel menenjitler ise daha enderdir<sup>(7)</sup>. Ülkemizde 50 yaş üzeri toplum kaynaklı ABM hastalarında yapılan bir çalışmada, *S. pneumoniae*'nin birinci sırada, *L. monocytogenes*'in ise ikinci sırada etken olarak saptandığı belirtilmiştir<sup>(8)</sup>.

Menenjitin erken tanısında klinik bulgularla birlikte laboratuvar desteği zorunludur. Gram boyamanın hâlen bakteriyel menenjitlerin laboratuvar tanısında önemli bir tanı yöntemi olmasına karşın, konvansiyonel tanı yöntemlerine göre hızlı sonuç alınması, tüm konvansiyonel testlerin negatif olduğu durumlarda etkenin belirlenmesine olanak sağlaması bakımından moleküler tanı yöntemlerinin kullanımı da giderek yaygınlaşmaktadır<sup>(8)</sup>.

*Haemophilus influenzae* konjugat aşısı tip B aşısıyla dünya çapında yapılan rutin aşılanmanın ardından, *H. influenzae*'nin neden olduğu menenjit Batı dünyasından neredeyse yok edilmiştir. *S. pneumoniae*'ye karşı konjuge aşıların uygulanması ise çocuk menen-

jitlerini azaltmış ve yetişkinlerde de bir miktar bağımsızlık oluşturabilmiştir<sup>(9-11)</sup>. Bununla birlikte, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, ABM'ye bağlı mortalite oranlarının, %16-32 arasında yüksek değerlerde seyretmesi ve *S. pneumoniae*'nin günümüzde hem yetişkinlerde hem de çocuklarda ABM'nin temel etiyolojik ajanı olmaya devam etmesi bu ülkelerde epidemiyolojik çalışmaların daha sık yapılmasını gerektirmektedir.

Bir yıllık bir zaman dilimini kapsayan bu çalışmamızda, fakültemizde menenjit tanısı almış erişkin hastalar arasında hastane kökenli ve toplum kökenli bakteriyel menenjit olgularının belirlenmesi ve bu olgularda *N.meningitidis*, *S.pneumoniae*, *H.influenzae*, Grup B Streptokok ve *Listeria monocytogenes*'in saptanmasında multipleks polimerize zincir reaksiyonu (PZR)'nun kültüre göre avantajlı olup olmadığı amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'ne (CTFH) Şubat 2012-Haziran 2013 tarihleri arasında başvuran ve menenjit ön tanısı alan 100 hastanın BOS örneği ile gerçekleştirilmiştir. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nca 4641 No.lu, 10 Şubat 2012 tarihli yazı ile onaylanan bu çalışmaya dâhil edilen BOS örnekleri; ateş, baş ağrısı, bilinç değişikliği, bulantı-kusma yakınması ile hastaneye başvuran, akut bakteriyel menenjit ön tanısı alan ve tüberküloz menenjiti olmayan hastalardan alınmıştır. BOS örneğinin çalışmaya dâhil edilmesi için örneğin alındığı saatten 48 saat öncesine kadar hastanın antibiyotik kullanmamış olması, mL'de bulunan lökosit sayısının 100'den fazla olması ve polimorf nüveli lökosit (PNL) hâkimiyetli görülmesi, aranan kriterler arasında yer almıştır.

Alınan BOS örneklerinin hasta bilgileri değerlendirildiğinde, menenjit bulguları ile hastaneye başvuran ve son bir ay içerisinde operasyon ya da kafa travma öyküsü olmayan hastalar, toplum kökenli menenjit

olguları olarak, son bir ay içerisinde kafa travması, kraniyal cerrahi operasyonu geçirmiş, intrakraniyal yabancı cisim olan, BOS kaçağı belirlenen ve ateş, baş ağrısı, ense sertliği, bilinç değişikliği, bulantı-kusma yakınması olan hastalar nozokomiyal menenjit olguları olarak değerlendirilmiştir.

BOS örnekleri klinisyen tarafından lomber ponksiyon ile iki steril tüpe alındıktan sonra hastaya ait bilgiler not edilmiş ve örnekler, CTFH Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarına götürülmüştür. Birinci tüpteki örneğin önce makroskopik incelemesi yapılmış, daha sonra hücre sayısı, Gram boyama, direkt antijen tayini, %5 koyun kanlı agar, çikolataimsi agar, Mac Conkey agar ve sıvı tiyoglikolatlı besiyerlerine ekim işlemi gerçekleştirilmiştir.

Thoma lamı kullanılarak gerçekleştirilen hücre sayımında, BOS örneklerinde mL'de 200'den fazla lökosit görülmesi ve PNL hâkimiyetinin saptanması menenjit tanısını desteklemiştir<sup>(11)</sup>. Gram boyamanın incelenmesi ile Gram pozitif ve/veya Gram negatif bakterilerin varlığı not edilmiştir. Direkt antijen tayini için Directigen Meningitis Combo Test (BD, ABD) kiti kullanılarak BOS örneklerinden *H. influenzae* tip b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* grupları A, B, C, Y veya W135 ve *Escherichia coli* K1'ye karşı antijen varlığı araştırılmıştır. Örneğin bu bakterilerden birini içermesi durumunda, ilgili antikorla kaplı lateks yüzey ile aglütinasyon varlığı pozitif olarak değerlendirilmiştir. İkinci tüpteki örnek ise, kan kültürü şişesine (BD Bactec FX) ekilerek 37°C'de inkübe edilmiştir. Kalan örnek moleküler testler için -20°C'de saklanmıştır.

Koyun kanı içeren besiyerleri 37°C'de en az 24 saat CO<sub>2</sub>'li ortamda tutulmuştur. Kültürlerde üreyen bakteriler, standart klinik mikrobiyoloji yöntemleri kullanılarak tanımlanmış ve gereği hâlinde API (BioMerieux) kitleri ile ileri tanımlamaya gidilmiştir.

BOS örneğinden moleküler testlerle bakteri izolasyonu için Seeplex Meningitidis-B Ace Detection kiti (Seegene Inc., Kore) kullanılmıştır. DNA izolasyonu için amplifikasyon protokolü kit talimatına göre uygu-

lanmış ve amplifikasyon sonrası PZR ürünleri yatay agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir.

## BULGULAR

Menenjit ön tanısı almış kabul kriterlerimize uygun erişkin hastalara ait 100 BOS örneğinin 56'sı (%56) kadın, 44'ü (%44) erkek hastalara aitti. Hastaların yaş aralığının 20-80 arasında olduğu, yaş ortalamasının ise 45±2 olduğu belirlenmiştir. BOS örneklerinin makroskopik incelemesinde %66'sı berrak, %22'si bulanık, %12'si ksantokromik olarak belirlenmiştir (Tablo 1). Berrak olan 66 örneğin 8'inde (%12.1), ksantokromik olan 12 örneğin 4'ünde (%30) ve bulanık olan 22 örneğin 9'unda (%40.9) bakteri saptanmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1. Değişik makroskopik görünlere göre bakteri saptanan BOS örneklerinin dağılımı (sayı, %).**

BOS örneklerinin makroskopik görünümü (N)	Bakteri saptanan BOS n (%)	Bakteri saptanmayan BOS n (%)
Berrak (66)	8 (12.2)	58 (87.8)
Ksantokromik (12)	4 (30)	8 (70)
Bulanık (22)	9 (40.9)	13 (59.1)
TOPLAM	21	79

BOS örneklerinden yapılan hücre sayımlarında, mm<sup>3</sup>'te 100-200 PNL bulunan 79 BOS örneğinin 5'inde (%6.3), mm<sup>3</sup>'te 200-1000 PNL içeren 16 BOS örneğinin 11'inde (%68.7) ve mm<sup>3</sup>'te >1000 PNL içeren 5 BOS örneğinin 5'inde (%100) bakteri saptanmıştır (Tablo 2).

**Tablo 2. mm<sup>3</sup>'te PNL sayısına göre bakteri saptanan BOS örneklerinin dağılımı (n, %).**

BOS'ta PNL/mm <sup>3</sup> sayısı (N)	Bakteri saptanan BOS n (%)	Bakteri saptanmayan BOS n (%)
100-200 (79)	5 (6.3)	74 (93.6)
200-1000 (16)	11 (68.7)	5 (31.2)
>1000 (5)	5 (100.0)	0 (0.0)
TOPLAM	21*	79

\*Yirmi örnekte bakteri üretilmiş 1 örnekte ise PZR ile saptanmıştır.

BOS örneklerinin Gram boyama ile incelenmesinde beşinde (%5) lökositlerle birlikte bakteri görülmüş ve



bu örneklerin dördünde (%80) kültürde üreme görülürken, birinde (%20) kültürde üreme olmamıştır. Ancak, bu örnekte Gram boyamadaki görünümle uyumlu olarak multipleks PZR ile yapılan çalışmada bakteri saptanmıştır.

Gram boyama yöntemi ile BOS numunelerinin 95 (%95)'inde lökosit görüldüğü halde bakteri görülmemiş, ancak bu numunelerin 16 (%16)'sında kültürde bakteri ürediği belirlenmiştir. Bu örneklerde lökosit görünümü ile kültürde üreme arasında bir uyum olmadığı belirlenmiştir. Gram boyamada bakteri görülmesi ile kültür pozitifliğinin %80 oranında uyum gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen hastalara ait BOS numunelerinden 71'inin hastanede yatmakta olan, 11'inin kısa süre önce hastanede yatış öyküsü olan hastalara ait olduğu, 18'inin ise daha önce herhangi bir yatış öyküsü olmayan hastalara ait olduğu belirlenmiştir. Kültürde üreme saptadığımız 20 BOS numunesinin hastanede yatmakta olan hastalara ait olduğu belirlenmiş ve bu hastaların sekizine ventriküloperitoneal şant takıldığı, yedisinin kranial cerrahi operasyon geçirdiği ve beşine kranial drenaj uygulandığı belirlenmiştir.

BOS örneklerinde, Gram pozitif bakterilerden en sık

**Tablo 3. Kültürde üreme saptanan yirmi BOS örneğinde üreyen bakterilerin dağılımı.**

Bakteriler	n	%
<b>Gram pozitif bakteriler</b>		
MR <i>Staphylococcus aureus</i>	1	5
MS <i>Staphylococcus aureus</i>	1	5
MR Plazma koagülaz negatif stafilocoklar	6	30
MS Plazma koagülaz negatif stafilocoklar	1	5
<i>Enterococcus</i> spp.	1	5
Viridans grubu streptokoklar	1	5
Toplam (Gram pozitif)	11	55
<b>Gram negatif bakteriler</b>		
<i>Enterobacter</i> spp.	1	5
<i>Klebsiella</i> spp.	4	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	10
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	10
Toplam (Gram negatif)	9	45
<b>Toplam bakteri</b>	<b>20</b>	<b>100</b>

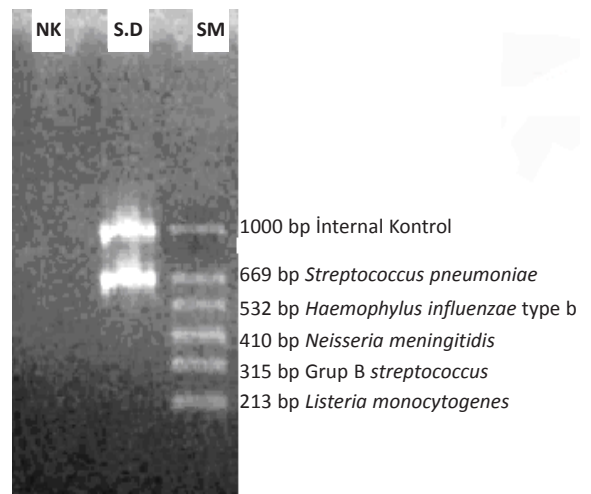
\*MR: Metisilin dirençli, MS: Metisilin duyarlı

metisilin dirençli koagülaz negatif stafilocokların (MRSA) (30, %6), Gram negatif bakterilerden ise *Klebsiella* spp.'nin (20, %4) ürediği belirlenmiştir (Tablo 3). *H. influenzae* tip b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *E. coli* K1 ve grup B *Streptococcus* bakteri antijenlerini araştırmak için uyguladığımız lateks aglütinasyon yöntemi ile bu bakterilerden herhangi biri belirlenmemiştir.

BOS kültürlerinde üreme saptanmayan ve aynı zamanda hastanede yatış öyküsü bulunmayan hastalara ait 18 BOS örneği ve hastanede yatan ya da yatış öyküsü olan ancak yine BOS kültürlerinde üreme saptanmayan 62 BOS örneği multipleks PZR ile *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, Grup B Streptokok ve *L. monocytogenes* bakterileri yönünden araştırılmıştır. Hastanede yatış öyküsü olmayan hastalara ait 18 örneğin yalnızca birinde (%5.55) *S. pneumoniae* DNA'sı saptanmış, aynı hastanın Gram ile boyanan preparatında da Gram pozitif diplokoklar görülmüş ancak bakteri üretilmemiştir.

## TARTIŞMA

Akut bakteriyel menenjitler hâlen morbiditesi ve mortalitesi yüksek olan enfeksiyon hastalıklarından biridir ve dünyada enfeksiyon hastalıklarına bağlı ölüm nedenleri sıralamasında ilk sıralarda yer almaktadır<sup>(4)</sup>.



**Şekil 1. Streptococcus pneumoniae saptanan BOS örneğimizin agaroz jel elektroforez görüntüsü.**

SM: Size Marker, NK: Negatif Kontrol, SD: Hasta

Ülkemizde toplum kaynaklı menenjitlerin etiolojisine dayanan araştırmalar çoğunlukla çocuk hasta grubunu kapsamaktadır ve bu konuda erişkinlerle ilgili verileri kapsayan araştırma oldukça sınırlıdır. Erişkin hastalarda bakteriyel menenjit etkenlerinin saptanmasına yönelik çalışmalara ait sonuçlar incelendiğinde, toplum kaynaklı menenjite neden olan etkenlerin, hastane kaynaklı menenjite neden olan etkenlere göre oldukça sınırlı olduğu görülmektedir<sup>(10)</sup>. Kore'den Kim ve ark.<sup>(11)</sup> hastane kaynaklı menenjit tanısı alan 91 hastanın BOS örneklerinde %2 MSSA, %9 MRSA, %6 *Enterococcus* spp. ve %40.9 oranında koagülaz negatif stafilokok (KNS) saptamışlardır. Bu bulgular çalışmada saptadığımız %5 MSSA, %5 MRSA, %5 *Enterococcus* spp. ve % 35 KNS oranlarına oldukça yakındır.

Coğrafik olarak yakın komşumuz olan Romanya'da Logigan ve ark.<sup>(12)</sup> yaptıkları çalışmada, 57 hastane kaynaklı menenjit tanısı alan hastanın %56.6'sında *Staphylococcus aureus*, %43'ünde KNS, %8.7'sinde *Enterococcus* spp., %7'sinde *Pseudomonas* spp. ve %32'sinde *E.coli* ile *K. pneumoniae* izole ettiklerini belirtmişlerdir. Sonuçlarımız bu bulgularla kıyaslandığında *S. aureus*'a bağlı hastane kaynaklı menenjitlerin çalışmamızda %10'u geçmediği saptanmış ve araştırmacıların saptadığı % 56.6'lık orana nazaran düşük olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde araştırmacıların saptadığı %43'lük KNS oranına göre bizim %30 olarak saptadığımız oran da daha düşüktür. Enterokok oranımız ise (%5) biraz daha düşük olmakla beraber, kısmen yakın bir oran olarak kabul edilebilir. Gram negatif bakterilerden saptadığımız *P. aeruginosa* oranı (%10) araştırmacıların saptadığı oranın biraz üzerinde kalırken, *Klebsiella* spp. oranımız (%20) daha düşüktür. Bunun dışında *E.coli*'yi bizim hiç saptamamış olmamız diğer önemli bir farklılık olarak karşımıza çıkmıştır. Lu CH ve ark.<sup>(13)</sup> yaptıkları çalışmada, hastane kaynaklı menenjite neden olan etkenler arasında viridans grubu streptokokları %8.3 oranında bulmuşlardır. Bu oran bizim belirlediğimiz %5 oranına yakın ancak biraz yüksektir.

Ülkemizde Sümer ve ark.<sup>(14)</sup>, Sarguna ve ark.<sup>(15)</sup>, Güçlü

ve ark.<sup>(16)</sup> yaptıkları çalışmalarda, menenjitli hastaların BOS örneklerinde %30-64 arası değişen oranlarda Metisilin Dirençli Koagülaz Negatif Stafilokok (MRKNS) varlığı belirlemişlerdir. Oranlardaki bu farklılıklar ortam şartlarına göre dönemsel olarak hastane kökenli menenjitlerde MRKNS oranının değişebileceğine işaret etmektedir<sup>(14-16)</sup>. Bulut ve ark.<sup>(17)</sup>, Palabıyıkıoğlu ve ark.<sup>(18)</sup>, Saba ve ark.<sup>(19)</sup> hastane kaynaklı menenjit etkenlerini kapsayan araştırmalarında, Gram negatif çomakların oranını %17-68.4 arasında belirtmişler ve en sık rastlanan etkenlerin *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp. ve *P. aeruginosa* olduğunu gözlemlemişlerdir<sup>(17-19)</sup>. En sık rastlanan Gram negatif çomaklar bizim sonuçlarımız ile uyumluluk göstermektedir.

Buzgan ve ark.<sup>(20)</sup> yaptıkları 13 yıllık değerlendirmeyi kapsayan çalışmalarında, 204 bakteriyel menenjit tanısı alan hastanın 68'inin (%33) toplum kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda toplum kaynaklı menenjit oranı 100 hastanın birinde (%1) görülmüştür. Bu sonucu erişkinlerde toplum kaynaklı bakteriyel menenjitlerin giderek azaldığını göstermektedir. Buzgan ve ark.<sup>(20)</sup> 13 yıllık bir sürede *S. pneumoniae*'yi toplum kaynaklı menenjitli hastalarda %13.4 oranında kültürde izole etmişler, *N. meningitidis*'i ise %7.5 oranında saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise bir yıllık araştırmamız boyunca bir olguda *S. pneumoniae* belirlenmiş ve yalnızca PZR yöntemi ile saptanmıştır. Sonucumuz (%1), Buzgan ve ark.<sup>(20)</sup> çalışma sonucu ile uyumlu bulunmuştur.

Toplum ve hastane kaynaklı bakteriyel menenjitlerle ilgili epidemiyolojik veriler başta halk sağlığı olmak üzere nozokomiyal enfeksiyonların sörveyansı bakımından da büyük önem taşımaktadır. Hastanemizde bu verileri kapsayan bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır. Bakteriyel menenjit etkenlerinin saptanmasında başta kültür yeğlense de, hastaların genelde antibiyotik tedavisi altında olması etkenin üretilemesine neden olmakta ve hızlı tanı yöntemlerine olan gereksinimi öne çıkarmaktadır. Menenjite neden olan bakterilerin PZR ile hızlı tanısında, bakterilerin 16S ribozomal RNA'sı kullanılmakta ve örneğin laboratuvara ulaşmasından itibaren 30 saat içinde test

sonuçlanmaktadır. Kültürde ise, hem en az 48 saatlik bir üreme süresini beklemek gerekmekte hem de bu süre sonunda bakterinin üreyeceği garanti edilememektedir. Çalışmamızda, bir yıl içinde bakteriyel menenjit tanısı alan olguların %71'inin hastane kaynaklı olduğu ve bunların %28'inde etkenin üretilebildiği, toplum kaynaklı menenjit tanısı alan olguların ise %1 olduğu belirlenmiştir. Toplum kaynaklı menenjit olgusunda (%1) etkenin kültürde üretilmeyip PZR ile saptanması ve bunun Gram boyama sonucunu da desteklemesi ile PZR'nin kültürden daha fazla avantaj sağladığı belirlenmiştir. Giderek azalan toplum kökenli menenjitlerde etken mikroorganizmanın tespiti için yapılan çalışmaların bugün artık yalnızca kültür yöntemine dayandırılmaması gerektiği, PZR yönteminin bu alanda sağladığı avantajlardan yararlanılması gerektiği düşüncesindeyiz.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından id/kod:6024/21121 No. ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Parlak M. Toplumda Edinilmiş Enfeksiyonlara Pratik Yaklaşımlar. İU Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Sempozyum Dizisi. 2008(61):151-64.
2. Tunkel AR, Scheld WM. Acute meningitis. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (Eds.) Mandell, Douglas and Bennetts Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Elsevier, 2005:1083-126.
3. Karakartal G, Altay G, Arısoy ES, Doğanay M. Menenjitler In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002:985-1018.
4. Tülek N, Tanyel E. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonlarına Genel Bakış. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M (Eds.) Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri; 2008:1375-90.
5. Tunkel AR. Approach to the patients with central nervous system infection. In: Mandel LG, Bennett JE, Dolin R (Eds.) Principles and Practices of Infectious Diseases. Philadelphia: Elsevier, 2005:1079-83.
6. Özdal GZ. 2000-2005 Yılları arasında kliniğimize başvuran meningokoksik hastalıklı olguların değerlendirilmesi [Tıpta uzmanlık tezi]. Diyarbakır: Dicle Üniversitesi, 2006.
7. History of meningococcal meningitis. [https://www.news-medical.net/health/History-of-Meningitis.aspx]. (Erişim tarihi: Ağustos 15, 2018).
8. Laval CA, Pimenta FC, de Andrade JG, Andrade SS, de Andrade AL. Progress towards meningitis prevention in the conjugate vaccines era. Braz J Infect Dis. 2003;7(5):315-24.
9. Seth R, Murthy PS, Sistla S, Subramanian M, Tamilarasu K. Rapid and accurate diagnosis of acute pyogenic meningitis due to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* Type b and *Neisseria meningitidis* using a multiplex PCR assay. J Clin Diagn Res. 2017;11(9):FC01-4. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/28114.10532>
10. Lai WA, Chen SF, Tsai NW, et al. Clinical characteristics and prognosis of acute bacterial meningitis in elderly patients over 65: a hospital-based study. BMC Geriatr. 2011;11(1):91. <https://doi.org/10.1186/1471-2318-11-91>
11. Kim HI, Kim SW, Park GY, et al. The causes and treatment outcomes of 91 patients with adult nosocomial meningitis. Korean J Intern Med. 2012;27(2):171. <https://doi.org/10.3904/kjim.2012.27.2.171>
12. Logigan C, Mihalache D, Turcu T. Clinical study of 57 cases of nosocomial meningitis. J Prevent Med. 2008;16(1-2):59-68.
13. Lu CH, Chang WN, Chang HW. Adults with meningitis caused by viridans streptococci. Infection. 2001;29(6):305-9. <https://doi.org/10.1007/s15010-001-1005-1>
14. Sümer Z, Bakıcı Z, Özüm Ü. Menenjit ön tanılı hastaların BOS örneklerinin bir yıllık bakteriyolojik inceleme sonuçlarının değerlendirilmesi. CÜ Tıp Fak Derg. 2000;22(3):127-30.
15. Sarguna P, Lakshmi V. Ventriculoperitoneal shunt infections. Indian J Med Microbiol. 2006;24(1):52. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.19896>
16. Üsküdar Güçlü A, Kılıç A, Küçükkaraaslan A, Baysallar M, Doğanç L. Beyin omurilik sıvılarından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. Gülhane Tıp Derg. 2005;47(2):204-8.
17. Bulut C, Tekiner A, Yetkin MA, Hatipoğlu CA, Bayar MA, Tulek N. Beyin cerrahi girişimleri sonrası gelişen hastane kökenli menenjitlerin değerlendirilmesi. Hastane İnfeksiyon Derg. 2005;9(4):218-4.
18. Palabiyikoglu I, Tekeli E, Cokca F, et al. Nosocomial meningitis in a university hospital between 1993 and 2002. J Hosp Infect. 2006;62(1):94-7. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2005.06.010>
19. Saba R, İnan D, Günseren F, Özçelik FT, Mamıkoğlu L. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde nozokomiyal menenjitler. Hastane İnfeksiyon Derg. 2000;4:47-50.
20. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Binici I, Karsen H, Akdeniz H. İki yüz dört bakteriyel menenjit olgusunun retrospektif incelenmesi. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2010;30(5):1675-82. <https://doi.org/10.5336/medsci.2008-10238>

# Akciğer ve Akciğer Dışı Tüberkülozda Xpert MTB/RIF Testinin Tanısal Performansının Değerlendirilmesi

## Evaluation of Diagnostic Performance of Xpert MTB/RIF Test for Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis

Aynur Gülcan<sup>®</sup>, Ümran Toru Erbay<sup>®</sup>, Özlem Genç<sup>®</sup>

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kütahya

### Öz

**Amaç:** Tüm dünyada mortal enfeksiyon etkenleri arasında ilk on mikroorganizmadan birisi olan *Mycobacterium tuberculosis*'in hızlı ve doğru tanısı tedaviye kısa sürede başlanması ve yeni enfeksiyonların gelişmesinin önlenmesi için oldukça önemlidir. Çalışmanın amacı, tüberküloz insidansı ülkemiz ortalamasının altında kalan Kütahya'da Xpert MTB/RIF yönteminin çeşitli klinik örneklerdeki tanı performansını değerlendirmektir.

**Yöntem:** Bu amaçla akciğer ve akciğer dışı tüberküloz ön tanımlı hastalardan alınan işlenmemiş klinik örneklerin Xpert MTB/RIF testi, örnek türüne göre değişmek üzere NALC-NAOH homojenizasyon- dekontaminasyon işlemi sonrası Erlich Ziehl Nelsen boyaması ve Löwenstein-Jensen besiyerine ekimi yapıldı. Kültür ve Xpert MTB/RIF testinin solunum/solunum dışı ve yayma negatif/pozitif örneklerdeki performansı; yayma mikroskopisi ve Xpert MTB/RIF derecelendirimi karşılaştırıldı, yöntemler arası uyum hesaplandı.

**Bulgular:** Klinik, radyolojik ve mikrobiyolojik değerlendirme sonrası 209 hastanın 26 (%12.4)'sü tüberküloz (%76.9'u erkek, %50'si <45 yaş) kabul edildi. Solunum ve solunum dışı örneklerin kültür ve/veya moleküler yöntem ile pozitiflik yüzdeleri sırasıyla %13.2 ve %12.5 idi. Yayma negatif solunum örneklerinde Xpert MTB/RIF için duyarlılık %84.6, özgüllük %100 iken, solunum dışı örneklerde duyarlılık %60, özgüllük %100, yayma pozitif tüm örneklerde duyarlılık ve özgüllük %100 olarak saptandı. Yayma mikroskopisinin solunum dışı örnekler için en düşük, bronş lavajı için en yüksek duyarlılığa; Xpert MTB/RIF'in solunum örneklerinde kültür ile aynı, solunum dışı örneklerde nispeten daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu; ARB ve Xpert MTB/RIF derecelendirimindeki uyumun solunum örneklerinde daha yüksek olduğu saptandı.

**Sonuç:** Sonuç olarak, Xpert MTB/RIF sisteminin düşük örnek hacmi olan laboratuvarlarda, ekonomik ve fiziki koşul yetersizliğinde konvansiyonel tanı yöntemleri ile birlikte kurulununun oldukça hızlı ve güvenilir sonuç elde etmeye katkısı olacağı düşünüldü.

**Anahtar kelimeler:** Xpert MTB/RIF, *Mycobacterium tuberculosis*, tanı, performans testleri

### ABSTRACT

**Objective:** Rapid and accurate diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* which is one of the first ten mortal microorganisms all over the world is very important to start treatment rapidly and to prevent new infections. Our aim is to evaluate the diagnostic performance of Xpert MTB/RIF assay for clinical samples in Kütahya where TB incidence remains under mean values for Turkey.

**Methods:** Clinical samples taken from patients suspected of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis were tested with Xpert MTB/RIF assay without any prior processing; and the same samples after NALC-NaOH homogenisation, decontamination or without; depending on the sample type were tested with EZN staining, inoculation on LJ medium. Performances of culture and Xpert MTB/RIF test were determined in respiratory/nonrespiratory and smear negative/positive samples; categories of AFB and Xpert MTB/RIF were compared and agreement between diagnostic methods was calculated.

**Results:** Out of 209 patients 26 (12.4%) were accepted as tuberculosis (76.9%, male; 50%, <45 years) after clinical, radiological and microbiological evaluation. Positivity of respiratory and nonrespiratory samples with culture and/or molecular method were 13.2% and 12.5%, respectively. In smear negative respiratory samples, sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF were 84.6% and 100%, in nonrespiratory samples 60% and 100%; in all smear positive samples, sensitivity and specificity were 100%. Smear microscopy had lowest sensitivity for nonrespiratory samples and highest sensitivity for bronchial lavage; sensitivity of Xpert MTB/RIF was similar to culture for respiratory samples and was more sensitive for nonrespiratory samples; agreement in categories of AFB/Xpert MTB/RIF was highest in respiratory samples.

**Conclusion:** In conclusion establishment of Xpert MTB/RIF system together with conventional diagnostic methods will contribute to rapid and reliable results for laboratories with low sample burden in failures of economic and physical conditions.

**Keywords:** Xpert MTB/RIF, *Mycobacterium tuberculosis*, diagnosis, performance tests

### Alındığı tarih:

26.04.2019

### Kabul tarihi:

06.08.2019

### Yayın tarihi:

31.12.2019

### ORCID Kayıtları

A. Gülcan 0000-0003-3134-233X

Ü. T. Erbay 0000-0001-9988-8983

Ö. Genç 0000-0003-3521-5274

✉ draynurgulcan@gmail.com

## GİRİŞ

Tüberküloz, kişiden kişiye hava yolu ile bulaşan, maruz kalan kişinin immün duyarlılığı, enfekte kişinin

bulaştırıcılık derecesi, bakteri konsantrasyonunu etkileyen ortam koşulları, maruziyet -yakınlık, sıklık ve süre olarak- durumlarına göre değişen oranlarda bulaş riski bulunan ve klinik şüpheli olgularda hızlı

tanı konulması ve ardından uygun tedavinin hızla başlanması gereken bir hastalıktır<sup>(1)</sup>. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2018 Küresel Tüberküloz Raporu'na göre dünya çapında 10 milyon yeni tüberküloz (TB) olgusu vardır ve bunların %58'i erkek, %32'si kadın ve %10'u çocuk, %9'u insan immün yetmezlik virüsü saptanan hastalardır<sup>(2)</sup>.

Türkiye'deki TB insidansı 2005 yılından bu yana giderek azalmıştır. 2005 yılında 100.000'de 29.4 olan insidans hızı 2014 yılında 100.000'de 16.9, 2016 yılında 100.000'de 15.3 olarak belirlenmiştir<sup>(3)</sup>. Türkiye TB açısından DSÖ Avrupa bölgesinde yer almakta olup, 2016 yılı Avrupa bölgesi tahmini insidansı 100.000'de 32 iken, Türkiye'de bu oran 100.000'de 18 olarak bildirilmiştir. Ek olarak Avrupa bölgesinde TB nedeniyle ölüm oranı aynı yıl için 100.000'de 3.4 iken, ülkemizde 100.000'de 0.62 olarak bildirilmiştir<sup>(3,4)</sup>.

Toplumda tüberkülozdan korunmada aşının dışında diğer önemli bir yol, enfekte kişilerin zamanında, uygun şekilde tedavi edilmesidir. Bunun için ise hastalığın tanısının olabildiğince kısa süre içerisinde konulması gerekmektedir. Tanıda hızlı yöntemlerden en kolay, hızlı, ucuz ve bulaştırıcılık varlığını öngörmede yararlı yöntem, balgam yaymasının mikroskopik incelenmesidir. Bununla beraber, duyarlılık ve özgüllüğü örneğin türü, örnekteki basil konsantrasyonu, boyama tekniği, mikroskopistin tecrübesi gibi faktörlerden etkilenerek ortalama %22-80 arasında değişmektedir<sup>(5)</sup>. Ekspektore balgam örneklerinde pozitif prediktif değeri >%90 olarak bildirilse de<sup>(6)</sup>, yalancı negatiflik durumunda enfekte kişinin bulaştırıcılığı devam edeceğinden performansı daha yüksek, hızlı tanı yöntemlerine gereksinim vardır. Bu kapsamda, hızlı tanımlama ve antibiyotik duyarlılık sonuçları elde etmek üzere farklı ticari sistemler geliştirilmekte ve bunlar ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmaktadır<sup>(7)</sup>. İmmün süpresyona yol açan durum veya hastalıkların günümüzde giderek artması nedeniyle, her koşulda çalışmaya uygun hızlı tanı ve antibiyotik duyarlılık yöntemlerine ulaşılabilirlik önemini arttıran bir konu hâline gelmiştir.

Ülkemizde TB laboratuvarları -DSÖ'nün yayımladığı standartlara<sup>(8)</sup> uygun şekilde- TB şüpheli materyaller ile yapılacak işlemler ve ilişkili risklere göre, düşük riskli laboratuvar biyogüvenlik düzeyi-1 (BGD-1), orta riskli laboratuvar (BGD-2) ve yüksek riskli laboratuvar (BGD-3) olarak sınıflandırılmış ve TB laboratuvarlarının çalışma usul ve esasları ile bu üç düzey için de gerekli laboratuvar teknik alan özellikleri ve ekipmanlar bir mevzuat ve rehber ile belirlenmiştir<sup>(9,10)</sup>. İlgili mevzuat ve standart gereği mikobakteri tanımlama ve antibiyogram çalışmaları ancak BGD-3 laboratuvarında çalışılabilmektedir. Bilindiği gibi böyle bir laboratuvarın en önemli gereksinimi "negatif basınçlı oda" olup, kurulumu özel koşullar ve yüksek maliyet gerektirmektedir.

Çalışmamızda, bu maliyet ve özel koşulları sağlayamayacak, tüberküloz tanısını ancak biyogüvenlik düzey II laboratuvarında, mikroskopi ve katı faz kültür ile koyabilecek olan hastanelerde, Dünya Sağlık Örgütü'nün solunum örnekleri için hızlı moleküler test olarak onayladığı XpertMTB/RIF sistem (Cepheid, Sunnyvale, Kaliforniya, ABD) ile tanı ve rifampisin direnci varlığının araştırılması ve özellikle yayma negatif örneklerde bu testin değerini göstermeyi hedefledik.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Nisan 2014-Nisan 2016 tarihleri arasında farklı polikliniklere başvuran ve hastanemiz çeşitli birimleri yataklı servislerinde yatmakta olan tüberküloz ön tanılı hastalar dâhil edildi. Akciğer veya akciğer dışı tüberküloz şüpheli hastalara ait fiziksel muayene, radyolojik ve mikrobiyolojik veriler ilgili uzmanlar tarafından değerlendirildi. Çalışmada değerlendirilen solunum örnekleri, balgam, bronş lavajı ve trakeal aspirat örneklerinden, solunum dışı örnekler ise steril vücut sıvıları (plevra ve perikard sıvısı, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve eklem sıvısı), idrar, lenf nodu aspirat örneği, abse örneklerinden oluşmaktaydı.

Mikobakteri laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden önce direkt preparat hazırlandı, daha sonra

steril vücut sıvısı örnekleri haricindeki örneklerden NALC-NaOH homojenizasyon-dekontaminasyon-konsantrasyon (HDC) işlemi sonrası elde edilen teksif materyalinden lam üzerine yayılarak tüm yaymalar Erlich Ziehl Nelsen (EZN) ile boyandı. Bu arada Xpert MTB/RIF sisteminde çalışmak üzere HDC ile işlemlenmiş örnekler "sample reagent" ile 1:2 oranında karıştırıldı ve vortekslenildi. On dk oda ısısında bekletildikten sonra yine vortekslenerek 5 dk. bekletildi ve karışımından 2 ml kartuş içerisine aktarılıp cihazın uygun modülüne yerleştirildi. Steril vücut sıvısı örnekleri ve homojenizasyon-dekontaminasyon işlemi yapılmış diğer tüm örnekler Löwenstein Jensen (LJ) besiyerine ekildi. Örneklerin işlenmesi, direkt ve teksif yaymalarının hazırlanması, EZN boyama, LJ besiyerine ekim, değerlendirme ve raporlandırma sürecinde Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi esas alındı<sup>(10)</sup>. Pozitif yayma ve kültürlerin değerlendirilmesi CDC ve UMS'nin önerdiği aynı skala<sup>(10,11)</sup> baz alınarak laboratuvar uzmanları tarafından, Xpert MTB/RIF sistemine yüklenen örneklerin değerlendirilmesi ise 110 dk sonunda floresan sinyallerin sistem tarafından okunması ile otomatik olarak yapıldı.

EZN boyama, moleküler yöntem ve kültür ile test edilen hasta örneklerinde *M. tuberculosis* complex saptandığında ilgili klinisyenler ile görüşülerek klinik tablo, görüntüleme yöntemleri vb. değerlendirilerek hastaların TB tanısı kesinleştirildi.

Hastalardan örnek gönderimi sırasında tüm klinisyenler tarafından hastaya ait demografik bilgiler, klinik bulgular, daha önceki tüberküloz geçirme, tedavi durumu, TB hastası ile temas öyküsü gibi verilerin işlendiği form doldurularak laboratuvara ulaştırılması sağlandı. Son bir ay içerisinde anti-tüberküloz tedavi aldığı belirlenen hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Bu çalışmada, kısıtlılığımız tüberküloz kültürü için katı besiyerinin yanında bir sıvı kültür sistemi, Xpert MTB/RIF yanında farklı bir moleküler tanı yöntemi kullanamamış olmamızdır.

Çalışmada elde edilen tüm veriler SPSS (Ver 18.0, ABD) istatistik programına işlendi. Her hastanın aynı örnek türünden yalnızca biri (gönderilen ilk örnek) kayıt altına alındı. Veriler arasındaki istatistiksel ilişkinin saptanmasında Pearson korelasyon analizi, gerektiğinde Fisher Exact testi ve ki-kare testleri kullanıldı. Performans testi analizleri örnek bazında -klinik uyum gözetilerek- yapıldı.

Bu çalışma 2014/230 No.lu Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ardından yürütmeye başlanmıştır. Ayrıca 15.04.2014 tarih ve 50784200-604.08-43 sayılı karar ile Dumlupınar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kurulu'nca onaylanmış ve desteklenmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 209 tüberküloz ön tanılı hastanın 55 (%26.3)'i kadın (ortalama yaş: 54.39±20), 154 (%73.7)'ü erkek (ortalama yaş: 56.74±17.4) idi. Yirmi altı (%12.4) hasta klinik bulgu, görüntüleme yöntemleri ve mikrobiyolojik analiz sonuçları ile birlikte değerlendirilerek kesin TB kabul edildi. Tüberküloz tanısı konulan hastaların 20 (%76.9)'si erkek, 6 (%23.1)'si kadındı. Tüberküloz olan ve olmayan hastaların yaş ortalamaları sırasıyla 48.65±21.54 ve 57.18±17.36 idi (p=0.024). Kadın ve erkek hastalarda TB yüzdeleri arasında anlamlı bir fark saptanmazken, 45 yaşın altındaki hastalarda diğer yaş gruplarına göre TB pozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti (p=0.021). Hastalara ait demografik veriler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Tüberküloz olgularının yaşa ve cinsiyete göre dağılımı.

	TB (-) n (%)	TB (+) n (%)	p değeri
<b>Cinsiyet</b>			
Kadın (N: 55)	49 (89.1)	6 (10.9)	0.689
Erkek (N: 154)	134 (87.0)	20 (13)	
<b>Yaş</b>			
≤44 (N: 57)	44 (77.2)	13 (22.8)	0.021
45-64 (N: 71)	65 (91.5)	6 (8.5)	
>65 (N: 81)	74 (91.4)	7 (8.6)	

Klinik ve radyolojik olarak TB şüphesi yüksek olan 209 hastadan toplam 229 örnek laboratuvara gönderildi. Yirmi hastanın iki farklı örneğinde yayma, kültür ve Xpert MTB/RIF testleri çalışıldı.

Balgam örneklerinin %15.1'inde, bronş lavajı örneklerinin %11.5'inde, steril vücut sıvısı örneklerinin %3.4'ünde *M. tuberculosis* saptandı. Ayrıca altı lenf nodu aspiratından üçünde ve iki abse örneğinden birinde –ki örnek psoas absesi idi- *M. tuberculosis* saptandı. Laboratuvara gönderilen örneklerin 215 (%93,9)'i yayma negatif olup, bunların dokuzu (%4.2) kültür ve Xpert MTB/RIF pozitif, üçü (%1.4) kültür pozitif-Xpert MTB/RIF negatif, dördü (%1.8) kültür negatif- Xpert MTB/RIF pozitif. Yayma pozitif tüm

örnekler kültür ve Xpert MTB/RIF pozitif idi (Tablo 2). Yayma negatif solunum örneklerinde Xpert MTB/RIF için duyarlılık %84.6, özgüllük %100 iken, solunum dışı örneklerde duyarlılık %60, özgüllük %100 olarak saptandı. Yayma pozitif solunum ve solunum dışı örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük %100 olarak saptandı.

Yayma, kültür ve Xpert MTB/RIF'dan oluşan üç laboratuvar metodunun performansı, klinik, radyolojik ve laboratuvar kanıtlar göz önüne alınarak kesinleşen TB sonuçlarına göre hesaplandı. Örnek türüne göre testlerin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktivite (PPD) ve negatif prediktivite değerleri (NPD) Tablo 3'te gösterilmiştir. Buna göre yayma mikroskopisinin solu-

**Tablo 2. Klinik örnekler göre yayma, kültür ve Xpert MTB/RIF pozitiflik oranlarının dağılımı.**

	Yayma negatif (n:215)				Yayma pozitif (n:14)			
	KnXn	KnXp	KpXn	KpXp	KnXn	KnXp	KpXn	KpXp
<b>Solunum örnekleri (N: 189)</b>								
Balgam (N: 126)	107	2	2	7	0	0	0	8
Bronş lavajı (N: 61)	54	0	0	2	0	0	0	5
Derin trakeal aspirat (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
<b>Solunum dışı örnekler (N: 40)</b>								
Steril vücut sıvısı (N: 29)								
Plevra (N: 23)	22	0	1	0	0	0	0	0
Perikard (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
BOS (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
Eklem (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
İdrar (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
Lenfadenopati (N: 6)	3	2	0	0	0	0	0	1
Abse (N: 2)	1	0	0	1	0	0	0	0
Diğer (N: 1)	1	0	0	0	0	0	0	0

(Kn: Kültür negatif, Xn: Xpert negatif, Kp: Kültür pozitif, Xp: Xpert pozitif)

**Tablo 3. Örnek türlerine göre yayma, kültür ve Xpert MTB/RIF'in performans yüzdeleri.**

	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)
<b>Balgam</b>				
Yayma	42.1	100	100	90.6
Kültür	89.4	100	100	98.1
Xpert MTB/RIF	89.4	100	100	98.1
<b>Bronş lavajı</b>				
Yayma	71.4	100	100	94.7
Kültür	100	100	100	100
Xpert MTB/RIF	100	100	100	100
<b>Solunum dışı örnekler</b>				
Yayma	20	100	100	89.7
Kültür	60	100	100	94.6
Xpert MTB/RIF	80	100	100	97.2

**Tablo 4. Kesin TB'lu hastalarda ARB ve Xpert MTB/RIF kategorilerinin karşılaştırımı.**

Xpert MTB/RIF	ARB					Total
	Negatif	1 (+)	2 (++)	3 (+++)	4 (++++)	
Negatif	1	0	0	0	0	1
Çok düşük	2	2	0	0	0	4
Düşük	5	1	0	0	0	6
Orta	6	0	4	0	0	10
Yüksek	1	0	0	2	2	5
Total	15	3	4	2	2	26

**Tablo 5. Yayma negatif örneğe göre Xpert MTB/RIF kategorileri.**

Xpert MTB/RIF	Yayma negatif örnekler				TOPLAM
	Balgam	Bronş lavajı	Lenf nodu aspiratı	Apse	
Çok düşük	1	1	0	0	2
Düşük	3	0	1	1	5
Orta	4	1	1	0	6
Yüksek	1	0	0	0	1
TOPLAM	9	2	2	1	14

num dışı örnekler için en düşük, bronş lavajı için en yüksek duyarlılığa sahip olduğu, Xpert MTB/RIF'in solunum örneklerinde kültür ile aynı, solunum dışı örneklerde nispeten daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu, tüm testlerin solunum ve solunum dışı örneklerde özgüllük ve PPD değerlerinin %100 olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, bronş lavajı örneklerinin balgama göre her üç test için daha yüksek duyarlılık/özgüllük gösterdiği saptanmıştır (Tablo 3).

XpertMTB/RIF sisteminde *M. tuberculosis* complex için pozitif sonuçlar Cycle threshold (Ct) aralıkları (yüksek, <16; orta, 16-22; düşük, 22-28; çok düşük, >28) ile tanımlanan bakteri konsantrasyonunun semikantitatif tahmini şeklinde, Rifampin direnç durumu ise, duyarlı-dirençli olarak rapor edilmektedir. Bu derecelendirme, ARB'nin derecelendirimi ile karşılaştırılmıştır. Kesin TB tanısı alan 26 hastadan 15 (%57.7)'i ARB negatif idi. Biri aynı zamanda XpertMTB/RIF negatif fakat kültür pozitif idi. Kalan 14 ARB negatif hastanın Xpert MTB/RIFpozitiflik derecelendirimi, "çok düşük"ten "yükseğe" kadar değişmekteydi. Çalışmamızda, ARB ile Xpert MTB/RIF uyumu ARB

**Tablo 6. Yöntemler arası uyum [Kappa coefficient test ( $\kappa$ )].**

Tanı metodu	$\kappa$
Yayma-Kültür	0.655
Yayma-Xpert MTB/RIF	0.637
Kültür-Xpert MTB/RIF	0.855
ARB derecelendirme-Xpert derecelendirme	0.421

pozitif örneklerde daha iyiydi (Tablo 4). ARB 1(+) örnekler Xpert MTB/RIF'in "düşük" veya "çok düşük" kategorisinde; ARB 2(+) örnekler "orta" kategorisinde; ARB 3(+) ve 4(+) örnekler "yüksek" kategorisinde yer almaktaydı.

Yayma negatif Xpert MTB/RIF pozitif (YNXP) örneklerin dağılımı Tablo 5'te gösterilmiştir. YNXP örneklerin çoğunluğu (%64) balgam örnekleriydi. ARB'nin yalancı negatifliği balgam örneklerinde %52.9 bronş lavajı örneklerinde %28 idi ( $p<0.001$ ).

Çalışmamızda, *M. tuberculosis* saptanan örneklerin hiç birinde rifampisin direncine rastlanmadı.

Tanıda kullanılan yöntemlerin ikili olarak yapılan uyum analizinde kültür ve XpertMTB/RIF arasında "çok iyi" düzeyde uyum, yayma-kültür ve yayma-XpertMTB/RIF arasında "iyi" düzeyde uyum saptanmış, ARB derecelendirme ile XpertMTB/RIF derecelendirme arasında orta düzeyde uyum saptanmıştır (Tablo 6).



## TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü 2010 yılında Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, Kaliforniya, ABD) sistemini çok ilaca dirençli (ÇİD)-TB veya HIV ilişkili TB riski olan hastalarda başlangıç tanı metodu ve ÇİD -TB veya HIV için düşük prevalansa sahip bölgelerde balgam mikroskopisini takiben kullanılabilir hızlı, otomatize nükleik asit amplifikasyon testi (NAAT) olarak önermiş ve onaylamıştır<sup>(12)</sup>. 2013 yılında ise FDA (US Food Drug Administration) tarafından sistemin hasta başı test cihazı olarak balgam örneklerinde valide olduğu bildirilmiş, sistemin piyasaya sunulması için ruhsat verilmiştir<sup>(13,14)</sup>. Bu sistem *M. tuberculosis* complex DNA ve rifampisin direnci ile ilişkili rpo-B gen mutasyonunu belirleyen yarı kantitatif, real-time polimeraz zincir reaksiyonudur.

Sistemin mikobakteri kültürü ile karşılaştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Çalışmaların bir kısmı yalnızca FDA'nın onay verdiği solunum örneklerinde yapılmıştır. Steingart ve ark.<sup>(15)</sup> tarafından 2010-2013 yılları arasında, akciğer tüberkülozu tanılı hastalarda Xpert MTB/RIF ile yapılmış 22 çalışmanın metaanalizi sonucu, bu sistemin, yayma mikroskopisi sonuçları göz önüne alınmaksızın yapılan duyarlılık tahminlerinin %58-100; özgüllük tahminlerinin %86-100 arasında değiştiği, fakat kümelenmenin duyarlılık için %89 ve özgüllük için %99 civarında olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, sistemin onay aldığı tarihten bu yana yöntem performanslarının karşılaştırıldığı çalışmalarda, kesin TB tanısı ya yalnızca kültür sonuçları baz alınarak<sup>(16-18)</sup> ya da klinik/radyolojik ve laboratuvar sonuçları birlikte değerlendirilerek<sup>(19,20)</sup> konulduğundan, birbirinden çok farklı sonuçlar elde edilebilmiştir. Örneklerin solunum ya da solunum dışı olması ve yayma pozitif veya negatif olması da performans yüzdelere etkilemiştir.

Geleta DA ve ark.<sup>(16)</sup> MGIT ve/veya LJ besiyeri ile *M. tuberculosis* complex (MTBC)'i balgam örneklerinin %25.5'inde saptamış, pozitif örneklerin yayma ve Xpert MTB/RIF ile saptanma oranlarını sırasıyla %36.2 ve %65.5 olarak bildirmiştir. Xpert MTB/RIF'in duyar-

lılık oranlarını yayma-pozitif kültür-pozitif olgularda %95.2, yayma-negatif kültür-pozitif olgularda %48.6 olarak belirlemiştir. Theron G ve ark.<sup>(17)</sup> balgam örneklerinde %29 TB pozitiflik saptamış ve bunları kesin TB vakası olarak tanımlamışlardır. Olguların %67'si yayma ve kültür-pozitif, %33'ü yayma-negatif, kültür-pozitif olarak saptanmıştır. Yayma ve kültür-pozitif olguların %95'inde Xpert MTB/RIF ile de pozitiflik saptanmış, duyarlılık %95 (%95 CI=88-98), özgüllük %94 (%95 CI=91-96); yayma-negatif kültür-pozitif olgularda ise duyarlılık %46.8 (%95 CI=33.3-60.8), özgüllük %94.4 (%95 CI=91.4-96.4) olarak saptanmıştır. Rrezarta Bajrami ve ark.<sup>(18)</sup> çoğunluğu solunum örnekleri olmak üzere solunum dışı örneklerle de çalıştıkları araştırmalarında kültür ve Xpert MTB/RIF ile TB pozitiflik oranını %24.1 ve %29.3 olarak saptamış, Xpert MTB/RIF'in duyarlılık ve özgüllük oranlarını %93.3 ve %93.0 olarak bildirmiş, yayma ARB'ye göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek duyarlılığa sahip olduğunu saptamışlardır ( $p<0.001$ ). Kawkitinarong K ve ark.<sup>(19)</sup> çalışmasında yayma pozitif ve negatif, kültür-pozitif balgam örnekleri için Xpert MTB/RIF'in duyarlılık değerlerini sırasıyla %100 ve %81 olarak saptanmıştır. Ayrıca kültür negatif fakat klinik olarak TB olduğu kabul edilen hastalarda Xpert MTB/RIF'in duyarlılık ve pozitif prediktif değerleri %37.8 ve %83.8 olarak belirlenmiştir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Zeka AN ve ark.<sup>(20)</sup> klinik ve mikrobiyolojik olarak kesin TB olarak kabul edilen hastalarda Xpert MTB/RIF'in solunum örnekleri için duyarlılık ve özgüllük oranını %82.3 ve %100 olarak, negatif ve pozitif prediktif değeri ise %94.6 ve %100 olarak saptamıştır. Solunum dışı örnekler için duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %52.1 ve %100 olarak, NPD ve PPD %83.3 ve %100 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada, yayma pozitif solunum ve solunum dışı örneklerde duyarlılık ve özgüllük %100; yayma negatif solunum örneklerinde duyarlılık %68.6, özgüllük %100, solunum dışı örneklerde duyarlılık %47.7, özgüllük %100 olarak saptanmıştır. Çavuşoğlu ve ark.<sup>(21)</sup> kültüre kıyasla sistemin performansını değerlendirdikleri

çalışmada, solunum örnekleri için duyarlılık ve özgüllüğü %93.8 ve %98.8, NPD ve PPD'i %99.5 ve %86.5 olarak; solunum dışı örnekler için ise duyarlılık ve özgüllüğü %71.9 ve %99.3, NPD ve PPD'i %98.5 ve %85.2 olarak bulmuştur. Duyarlılık yayma pozitif solunum örneklerinde %100, yayma negatif örneklerde %83.3 olarak saptanmıştır. Özkütük ve ark.<sup>(22)</sup> da kültür sonuçları ile karşılaştırarak solunum yolu örnekleri için bu değerleri sırasıyla %80.8, %98.8, %84.9, %98.4, solunum dışı örnekler için ise %58.2, %98.4, %66.7, %97.7 olarak belirlemişlerdir. Tüm yayma negatif örneklerdeki Xpert MTB/RIF duyarlılığını %39.7, özgüllüğünü %99.1, yayma pozitif örneklerde ise duyarlılığı %100, özgüllüğü, %58 olarak belirlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda, çoğunluğu (%82.5) solunum örnekleri olmak üzere solunum ve/veya solunum dışı örnekleri test edilen hastaların %12.4'ü klinik, radyolojik ve laboratuvar olarak kesin TB tanısı almış olup, yayma negatif solunum örneklerinde Xpert MTB/RIF için duyarlılık %91.6, özgüllük %99.3 iken, solunum dışı örneklerde duyarlılık %75, özgüllük %97.2, yayma pozitif solunum ve solunum dışı örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük %100 olarak saptandı. Çalışmamızda, yayma negatif solunum örneklerindeki yüksek duyarlılık, klinisyenle iletişim sonrası balgam örneğinde negatiflik saptanan hastalardan bronş lavajı alınarak burada Xpert MTB/RIF ile pozitif sonuç elde edilmesi nedeniyle olabilir. NPD ve PPD oranları ise solunum örnekleri için %100 ve %82, solunum dışı örnekler için %97.2 ve %100 idi. Dolayısıyla Xpert MTB/RIF ile solunum örneklerinde saptanan negatiflik gerçek negatifliği, solunum dışı örneklerde saptanan pozitiflik de gerçek pozitifliği mükemmel derecede tahmin ettirmiştir.

Çalışmamızda, Xpert MTB/RIF'in solunum örnekleri için duyarlılık değerleri balgam ve bronş lavajı örneklerinde sırasıyla %94.4 ve %100 olarak belirlenmiştir. Bu sonuç balgam örneklerinin bronş sıvısından daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu saptanan Özkütük ve ark.<sup>(22)</sup> ve Lee ve ark.'nın<sup>(23)</sup> sonuçlarından farklı, Sharma ve ark.'nın<sup>(24)</sup> sonuçlarına (balgamda %96.9

bronş sıvısında %100) benzer bulunmuştur. Bronş lavajı örnekleri çalışmamızda balgam ile yalancı negatiflik saptanan klinik tüberküloz hastaları için Xpert MTB/RIF pozitifliğinin saptanması ile kesin tanı konulmasında yardımcı/destekleyici bir örnek olarak değerlendirilmiştir. Daha fazla olgu için bu karşılaştırmanın yapılması anlamlı veriler sağlayacaktır. Çalışmamızda solunum dışı örnekler için duyarlılık %80, özgüllük %100 olarak saptanmıştır. Bu sonuç, literatürdeki birçok çalışmaya göre yüksek kalırken, Çavuşoğlu ve ark.'nın<sup>(22)</sup> sonuçlarına benzerdir. Çalışmamızda steril vücut sıvı örneklerinin çoğunluğunu (%79) oluşturan plevra sıvısı örneklerinin birinde (1/23) kültür pozitif, Xpert MTB/RIF negatif olarak saptanmıştır. Zeka AN ve ark.<sup>(20)</sup> da sekiz plevra sıvısının dördünü kültür pozitif, Xpert MTB/RIF negatif olarak saptamıştır. Özkütük ve ark.<sup>(22)</sup> da plevra örneklerinde Xpert'in duyarlılığını düşük (%40) bulmuştur. Bu sonuç, FDA'nın raporunda<sup>(13)</sup> belirtildiği gibi steril vücut sıvısı örneklerinin içerdiği bakteri miktarının çok düşük olması ve dolayısıyla sistemin en düşük bakteri saptama düzeyinin altında (<131 cfu/ml) kalmasından ve sıvı içerisinde bakteri genomunun çoğaltılmasını inhibe eden maddelerin bulunmasından dolayı olabilir ve literatüre uyumludur.

Klinik olarak TB düşünülen hastalar için hızlı tanı olanağı sağlayan yayma mikroskopisi sonuçları Xpert MTB/RIF sonuçları ile kategorik olarak karşılaştırılmış, bununla ilgili olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Theron G ve ark.<sup>(17)</sup> cihazın Ct değerinin yayma pozitif örneklerde negatif olanlara kıyasla anlamlı oranda daha düşük olduğunu (sırasıyla;  $22 \pm 0.5$  ve  $32 \pm 0.9$ ), ARB derecesi arttıkça Ct değerinin düştüğünü saptamışlardır. Marlowe ve ark.<sup>(25)</sup> yayma negatif örneklerin %34.4'ünü, 1+ ve 2+ olan örneklerin %71.4'ünü, ARB 3+ olan örneklerin %85.7'sini, ARB 4+ olan örneklerin %62.8'ini Xpert MTB/RIF ile pozitif olarak saptamışlardır. Çalışmamızda, yayma negatif örneklerin %6.2'si, yayma pozitif örneklerin tamamı bu sistem ile pozitif olarak saptandı; ARB 1+ ve 2+ örnekler Xpert MTB/RIF ile "orta" kategorisine kadar, 3+ ve 4+ örnekler ise "yüksek" kategorisinde PCR pozitif olarak saptandı. Çalışmamızda ayrıca yayma

negatif –Xpert MTB/RIF pozitif örneklerin çoğunluğunun (%64.2) balgam örneği olduğu, baskın çoğunluğunun (%96.4) çok düşük– orta kategorileri arasında yer aldığı saptanmıştır.

Çalışmamızda, örnek türlerine göre metodların ayrı ayrı performansı incelendiğinde, yayma mikroskopisinin tüm örnek türleri için duyarlılığı en düşük yöntem olduğu, kültür ve Xpert MTB/RIF'in özellikle solunum örneklerinde kusursuz performansa sahip olduğu, steril vücut sıvılarında ise kültürün Xpert MTB/RIF'e göre daha yüksek performansa sahip olduğu saptandı. Örnek sayısı az olmakla birlikte, lenf nodu aspirasyon materyali için Xpert MTB/RIF en iyi tanı koydurucu metod idi. Lightelm ve ark.<sup>(26)</sup> servikal lenfadenitte ince iğne aspirasyon materyallerinde Xpert MTB/RIF duyarlılık ve özgüllüklerini %96.7 ve %88.9 olarak saptamışlardır, Ablando Terrazas Y ve ark.<sup>(27)</sup> da HIV enfekte bireylerde servikal lenfadenit tanısında lenf nodu biyopsi örneklerinde Xpert MTB/RIF'in %100 duyarlılık ve özgüllük oranı ile doğru ve hızlı tanı imkanı sağladığını bildirmişlerdir. Sonuçlarımız literatüre uyumlu bulunmakla birlikte, özellikle solunum dışı örnek sayısının az olması istatistiksel açıdan anlamlılık değerlendirmesi yapmak için yeterli değildir.

Buna ek olarak, tanıda kullanılan yöntemlerin ikili olarak yapılan uyum analizinde kültür ve XpertMTB/RIF arasında çok iyi düzeyde uyum, yayma- kültür ve yayma- XpertMTB/RIF arasında iyi, ARB derecelendirme ile Xpert MTB/RIF derecelendirme arasında orta düzeyde uyum saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada, Xpert MTB/RIF sisteminin ekonomik kısıtlılıklar ve uygun olmayan fiziki koşulları nedeniyle sıvı bazlı otomatize kültür ve anti-biyogram sistemlerinin kurulması olası olmayan düşük örnek kapasiteli mikobakteri laboratuvarları için, bu bakterinin oldukça kısa süre içerisinde ve yüksek duyarlılık oranlarıyla saptanmasını ve beraberce rifampisin direncini vererek antimikobakteriyel direncin tahmin edilmesini olası kılması nedeniyle, klinisyenler için özellikle akciğer tüberkülozu için

oldukça yardımcı ve güvenilir bir sistem olarak belirlenmiştir. Sistemin akciğer dışı tüberküloz olgularının ayırıcı tanısında kullanımının sağlanabilmesi için solunum dışı örneklerde de kullanımının valide edilmesi, bunun için gerekli altyapının tamamlanması üretici firma için öncelik olmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Center for Disease control and Prevention (CDC) . Core Curriculum on Tuberculosis. What the clinician should know. Chapter 2 Transmission and pathogenesis of tuberculosis. CDC, 2013. <https://www.cdc.gov/tb/education/corecurr/pdf/chapter2.pdf> (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
2. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018. WHO, 2018 [https://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/) (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
3. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Türkiye'de Verem Savaşı 2018 raporu. Sağlık Bakanlığı Yayın No:1109, Ankara. 2018. <https://www.toraks.org.tr/userfiles/file/Turkiyede-Verem-Savas-2018-Raporu.pdf> (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
4. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2017. WHO/HTM/TB, 2017.23 [https://www.who.int/tb/publications/global\\_report/gtbr2017\\_main\\_text.pdf](https://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2017_main_text.pdf) (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
5. Lipsky BA, Gates J, Tenover FC, Plorde JJ. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. *Rev Infect Dis.* 1984;6(2):214-22. <https://doi.org/10.1093/clinids/6.2.214>
6. Pfyffer GE. Mycobacterium: General characteristics, laboratory detection and staining procedures. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th Edition. Murray PR, et al. Washington, DC: ASM Press. 2007:543-72.
7. Pai M, Minion J, Sohn H, Zwerling A, Perkins MD. Novel and improved technologies for tuberculosis diagnosis: progress and challenges. *Clin Chest Med.* 2009;30(4):701-16. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2009.08.016>
8. World Health Organization. Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual. WHO, 2012. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77949/1/9789241504638eng.pdf> (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
9. T.C. Sağlık Bakanlığı Tüberküloz laboratuvarlarının çalışma usul ve esaslarına dair tebliğ. Resmi Gazete 25.10.2015 (No:29513)
10. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No:935, Ankara, 2014.
11. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Core

- Curriculum on Tuberculosis. What the clinician should know. Chapter 4. Diagnosis of tuberculosis disease. CDC, 2013. <https://www.cdc.gov/tb/education/corecurr/pdf/chapter4.pdf> (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
12. World Health Organization. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system. Policy statement. Geneva, Switzerland: WHO, 2011.
  13. US Food and Drug Administration. FDA permits marketing of first U.S. test labeled for simultaneous detection of tuberculosis bacteria and resistance to the antibiotic rifampin. Silver Spring, MD: FDA, 2013.
  14. US Food Drug Administration. Strategic priorities and effectiveness. 510 (k) Substantial equivalence determination decision summary. FDA, 2014. [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/reviews/K143302.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K143302.pdf) (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
  15. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;21(1):CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub3>
  16. Geleta DA, Megerssa YC, Gudeta AN, Akalu GT, Debele MT, Tulu KD. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis in sputum specimens in remote health care facility. *BMC Microbiol.* 2015;15:220. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0566-6>
  17. Theron G, Peter J, van Zyl-Smit R, et al. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184(1):132-40. <https://doi.org/10.1164/rccm.201101-0056OC>
  18. Bajrami R, Mulliqi G, Kurti A, Lila G, Raka L. Comparison of GeneXpert MTB/RIF and conventional methods for the diagnosis of tuberculosis in Kosovo. *J Infect Dev Ctries.* 2016;10(4):418-22. <https://doi.org/10.3855/jidc.7569>.
  19. Kawkitinarong K, Suwanpimolkul G, Kateruttanakul P, et al. Real-life clinical practice of using the Xpert MTB/RIF assay in Thailand. *Clin Infect Dis.* 2017;64(Suppl2):S171-8. <https://doi.org/10.1093/cid/cix151>
  20. Zeka AN, Tasbakan S, Cavusoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49(12):4138-41. <https://doi.org/10.1128/JCM.05434-11>
  21. Çavuşoğlu C, Soylu M. Klinik örneklerden tüberküloz tanısı ve hızlı rifampisin direnci saptanmasında GeneXpert MTB/RIF testinin performansının değerlendirilmesi. *Turk Mikrobiyol Cem Derg.* 2014;44(2):61-4. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2014.061>
  22. Özkütük N, Sürücüoğlu S. Orta prevalanslı bölgede akciğer ve akciğer dışı tüberküloz tanısında Xpert MTB/RIF testinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48(2):223-32. <https://doi.org/10.5578/mb.7456>
  23. Lee HY, Seong MW, Park SS, et al. Diagnostic accuracy of Xpert® MTB/RIF on bronchoscopy specimens in patients with suspected pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;17(7):917-21. <https://doi.org/10.5588/ijtld.12.0885>
  24. Sharma SK, Kohli M, Yadav RN, et al. Evaluating the diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF assay in pulmonary tuberculosis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0141011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141011>
  25. Marlowe EM, Novak-Weekley SM, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert MTB/RIF assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49(4):1621-3. <https://doi.org/10.1128/JCM.02214-10>
  26. Ligthelm LJ, Nicol MP, Hoek KG, et al. Xpert MTB/RIF for rapid diagnosis of tuberculous lymphadenitis from fine-needle aspiration biopsy specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49(11):3967-70. <https://doi.org/10.1128/JCM.01310-11>.
  27. Ablanedo-Terrazas Y, Alvarado-de la Barrera C, Hernández-Juan R, Ruiz-Cruz M, Reyes-Terán G. Xpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculous cervical lymphadenitis in HIV-infected patients. *Laryngoscope.* 2014;124(6):1382-5. <https://doi.org/10.1002/lary.24478>.

## Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde Rotavirüs ve Adenovirüs Sıklığı: Ocak 2013-Aralık 2018 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Verileri

### *The Prevalence of Rotavirus and Adenovirus Childhood Gastroenteritis: data of the University Hospital of Cerrahpaşa Medical Faculty Between January 2013 and December 2018*

Harika Öykü Dinç\*<sup>Ⓜ</sup>, Zeynep Taner\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Doğukan Özbey\*<sup>Ⓜ</sup>, Nesrin Gareayaghi\*\*\*<sup>Ⓜ</sup>, Serhat Sirekbasan\*\*\*\*<sup>Ⓜ</sup>  
Bekir Sami Kocazeybek\*<sup>Ⓜ</sup>

\*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*İstanbul Altınbaş Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*\*İstanbul Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kan Merkezi, İstanbul

\*\*\*\*Çankırı Karatekin Üniversitesi, Eldivan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Çankırı

#### ÖZ

**Amaç:** Gastroenterit kuşkusuna ile laboratuvarımıza Ocak 2013-Aralık 2018 yılları arasında rotavirüs ve adenovirüs antijen testi istenen hastalarda dışkı örneğinden antijen pozitifliğinin dağılımı ve demografik verilerle ilişkisinin retrospektif değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Rotavirüs ve adenovirüs antijen varlığı dışkı örneklerinden immüno-kromatografik yöntem testi (RIDA Quick Rotavirüs/Adenovirus Combi, T-Biopharm, Almanya) kullanılmış olup, ticari kitin önerileri doğrultusunda çalışıldı.

**Bulgular:** Çocuklarda 0-5 yaş arası 1.359 kişide rotavirüs, 1.270 kişide adenovirüs antijen taraması yapıldı. Test uygulanan tüm dışkı örneklerinin 194 (%14.3)'ünde rotavirüs antijeni, 39 (%3.1)'unda adenovirüs antijeni saptandı. Rotavirüs antijen pozitifliği en sık 0-1 yaş (n=141, %72.7) grubunda olup, mevsimsel olarak en sık kış aylarında saptandı. Adenovirüs antijen pozitifliği ise 0-24 ay yaş grubu (n=20, %51.3) arasında saptanmış olup, kış mevsimlerinde sık dağılım söz konusudur.

**Sonuç:** Çocuklarda gastroenterit etkeni olarak en sık görülen rotavirüs, merkezimizden önceki döneme ait yapılan çalışmaya göre daha düşük oranda saptanmıştır. Adenovirüs ise; Türkiye'nin diğer bölgeleriyle aynı orana sahiptir.

**Anahtar kelimeler:** Rotavirüs, adenovirüs, gastroenterit

#### ABSTRACT

**Objective:** Aims of this study at evaluating the seroprevalence of antigen positivity and retrospective correlation with demographic data in stool specimens which were sent to the laboratory for rotavirus antigen testing from patients with suspicion of gastroenteritis between January 2013 and December 2018.

**Method:** Rotavirus and adenovirus antigens were examined with the immunochromatographic test (RIDA Quick Rotavirus/Adenovirus Combi, R-Biopharm, Germany) in stool specimens according to the recommendations of the manufacturer.

**Results:** 1359 patients were screened for rotavirus and 1270 patients for adenovirus antigen and aged was between 0-5 years. Rotavirus antigen was detected in 194 (%14.3) and adenovirus antigen in 39 (3.1%) of the investigated all stool samples. Rotavirus antigen positivity was most frequently in the 0-1 age group (n=141, 72.7%) and was the most common season in winter. Adenovirus antigen positivity was found between 0-24 month age group (n=20, 51.3%) and the most frequency season was determined as winter.

**Conclusion:** The most common cause of gastroenteritis in children is rotavirus; found to be lower than the previous period. Adenovirus is similar to the data of the other regions of Turkey.

**Keywords:** Rotavirus, adenovirus, gastroenteritis

#### Alındığı tarih:

02.04.2019

#### Kabul tarihi:

07.08.2019

#### Yayın tarihi:

31.12.2019

#### ORCID Kayıtları

H. Ö. Dinç 0000-0003-3628-7392

Z. Taner 0000-0003-0336-1832

D. Özbey 0000-0002-0596-1551

N. Gayeayaghi 0000-0002-0812-1128

S. Sirekbasan 0000-0001-7967-3539

B. S.Kocazeybek 0000-0003-1072-3846

✉ oykudinc@gmail.com

## GİRİŞ

Gelişmekte olan ülkelerde özellikle çocuk yaş grubunda, akut gastroenterit morbidite ve mortalitesi oldukça yüksektir. Dünya genelinde, her yıl sayısı 3 ile 5 milyar arasında değişen 5 yaş altı çocuk akut gastroenterit olgusunun yaklaşık 2 milyonu yaşamını yitirmektedir<sup>(1)</sup>. Çocuk yaş grubunda akut gastroenterit etkeni virüs olmakla birlikte, en sık rotavirüs, insan kalısivirüsleri (norovirüs ve sapovirüsler), adenovirüs 40/41 ve astrovirüs ile karşılaşmaktadır.

Reoviridae ailesi içinde yer alan Rotavirüs; zarfsız (çıplak), ikozahedral simetrik ve çift zincire sahip olan RNA virüsü olmakla birlikte, 5 yaş altı çocuklarda (özellikle 6 ay ve 2 yaş arasında daha yaygın olmasıyla) viral gastroenterit etkeni olarak ilk sırada yer almaktadır. Yedi farklı grubu (A-G) bulunan rotavirüslerden, özellikle çocuklar olmak üzere insanlarda en yaygın hastalık yapan grup A rotavirüsleridir<sup>(2,3)</sup>.

Adenoviridae ailesi içinde yer alan adenovirüs ise; 70-90 nm çapında, lineer çift zincirli DNA içeren, zarfsız (çıplak), ikozahedral simetrik virüslerdir. Adenovirüs akut solunum yolu, göz ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına neden olmakla birlikte, tüm yıl boyunca endemik veya sporadik olarak görülebilir. Özellikle Adenovirüs serotip 40-41 bebeklerde ve çocuklarda rotavirüslerden sonra en sık görülen gastroenterit etkenidir<sup>(4,5)</sup>.

Bu çalışmada Ocak 2013-Aralık 2018 yılları arasında, gastroenterit bulgusuyla İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Seroloji/ELISA Laboratuvarı'na dışkı örneği gönderilen ve adenovirüs ile rotavirüs antijen testi istenen olgularda antijen pozitifliğinin dağılımı ve demografik verilerle ilişkisinin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda, Ocak 2013-Aralık 2018 arasındaki beş yıllık dönemde Anabilim Dalımız Seroloji/ELISA Laboratuvarı'na rotavirüs ve adenovirüs antijen test istemi yapılan 0-5 yaş arası çocukların sonuçları irdelenmiştir. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın çeşitli servislerinden gastroenterit yakınmasıyla gönderilen çocuklardan gelen taze dışkı örneklerinde grup A rotavirus antijeni ile adenovirüs tip 40-41'e özgü antijen varlığı immünokromatografik yöntem (RIDA Quick Rotavirüs/Adenovirus Combi, R-Biopharm, Almanya) kullanılarak, kitin çalışma önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Hastaların demografik verileri geriye dönük olarak İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'nin İSHOP Doktor ve Laboratuvar Bilgilendirme Sistemi'nden elde edilmiştir. Hastaların yaş, cinsiyet ve gastroenteritin görüldüğü mevsim bilgileri SPSS (Ver 21.0; ABD) programına kaydedildi. Rotavirüs ve adenovirüs sıklığının mevsimlere, hastaların yaşlarına ve cinsiyetlerine göre dağılımı ki-kare analizi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için p<0.05 değeri kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Ocak 2013-Aralık 2018 arasındaki dönemde laboratuvarımıza 1.839 rotavirüs antijen test istemi yapılmış olup, dışkı örneği gelmeyen ve 5 yaş üstü yaş hastalar dışlandığında 1.359 hastayı 0-5 yaş arası çocuklar oluşturmaktadır. Bin üç yüz elli dokuz hastanın 592 (%43.6)'si kız, 767 (%56.4)'si ise erkek olup, yaş ortalaması ise 1.36'dır. Yüz doksan dört (%14.3) hastada rotavirüs antijeni pozitif olarak bulunmuştur (Tablo 1). Rotavirüs antijen pozitifliği en sık 1 yaş grubu çocuklarda görülmüştür ancak yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Aynı döneme ait dışkıda adenovirüs antijen araştırmasına dönük test istemi ise 1.828 olup, benzer şekilde dışkı örneği gelmeyen ve 5 yaş üstü yaş hastalar dışlandığında 1.270'ini 0-5 yaş grubu hasta-

**Tablo 1. Rotavirüs antijeni oranlarının hastaların cinsiyet, yaş grupları ve mevsimlere göre dağılımı.**

	Pozitif		Negatif		
	n	(%)	n	(%)	
CİNSİYET					
Kadın	96	16.2	496	83.8	p>0.05
Erkek	98	12.8	669	87.2	
YAŞ GRUPLARI					
0	76	13.7	477	86.3	p>0.05
1	65	19.5	268	80.5	
2	26	15.7	139	84.3	
3	11	9.0	111	91.0	
4	9	8.7	95	91.3	
5	7	8.5	75	91.5	
MEVSİMLER					
Kış	80	21.2	297	78.8	p<0.05*
İlkbahar	61	18.2	275	81.8	
Yaz	30	8.7	315	91.3	
Sonbahar	23	7.6	278	92.4	
TOPLAM	194	14.3	1165	85.7	

lar oluşturmaktadır. Bin iki yüz yetmiş hastanın 697 (%54,9)'si kız, 573 (%45,1)'ü erkek olup, yaş ortalaması 1.35 bulunmuştur. Adenovirüs antijen pozitifliği 39 (%3.1) hastada saptanmış olup, pozitiflik en sık 0 yaş grubu çocuklarda bulunmuştur (Tablo 2). Yaş grupları açısından adenovirüs pozitifliği istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0.05). Rotavirüs ve adenovirüs pozitifliği mevsimlere göre değerlendirildiğinde ise, kış mevsimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05).

## TARTIŞMA

Akut gastroenterit; ani başlayan, bulantı-kusma, ishal ve karın ağrısı ile seyreden ince bağırsak enflamasyonuna neden olan klinik bir tablodur. Bulaş yolu fekal-oral yol olup, özellikle nüfusun kalabalık, beslenmenin yetersiz ve dengesiz, hijyenik koşulların bozuk olduğu ülkelerde epidemilere yol açmakta ve her yıl 10-15 milyon kişinin ölümüne neden olmaktadır<sup>(6)</sup>. Bizim de İstanbul merkezli bu retrospektif değerlendirmeyi yapmamızın nedeni, İstanbul ve çevre yerleşim bölgeleri farklı birçok nedenlerle göç almalarıyla birlikte çocukluk çağı enfeksiyona zemin hazırlayacak yetersiz altyapı ve plansız kentsel yaşam şekilleriyle,

**Tablo 2. Adenovirüs antijeni oranlarının hastaların cinsiyet, yaş grupları ve mevsimlere göre dağılımı.**

	Pozitif		Negatif		
	n	(%)	n	(%)	
CİNSİYET					
Kadın	19	3.3	554	96.7	p>0.05
Erkek	20	2.9	677	97.1	
YAŞ GRUPLARI					
0	20	3.7	514	96.3	p>0.05
1	7	2.3	294	97.7	
2	4	2.7	143	97.3	
3	2	1.8	110	98.2	
4	3	3.2	92	96.8	
5	3	3.7	78	96.3	
MEVSİMLER					
Kış	19	5.4	331	94.6	p<0.05*
İlkbahar	9	3.0	294	97.0	
Yaz	7	2.1	319	97.9	
Sonbahar	4	1.4	287	98.6	
TOPLAM	39	3.1	1231	96.9	

önemli bir nüfusa sahip yerleşim ve yaşam yerleridir. Bu yapının özellikle rotavirüs ve adenovirüs gibi çocukluk çağı enfeksiyon etkenlerinin etkilenebileceği göz önüne alınarak belirli periyotlarda ve bu yerleşim bölgelerinin enfeksiyon etkenlerinin sıklığının izlenmesi ve ortaya konulması halk sağlığı yönünden önemlidir.

Akut gastroenteritlerin etiyolojik ajanları bakteri, parazit ve ya virüs olabilmekle birlikte, en sık virüsler karşımıza çıkmaktadır. Özellikle ABD'de akut gastroenterit, aile içi hastalık nedeni olarak akut solunum yolu enfeksiyonlarından sonra ikinci sırada yer almakta ve halk sağlığı açısından önemli bir hastalık olarak görülmektedir<sup>(5)</sup>. Viral gastroenteritler gelişmemiş ve az gelişmiş ülkelerde özellikle 5 yaş altı çocuklarda her yıl epidemilere ve ölümlere yol açmaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise çocukluk çağıının en önemli viral hastalıkları olarak görülmektedir<sup>(4)</sup>. Gastroenteritlerin viral etkenleri arasında çocuklarda en sık sırasıyla; rotavirüs, adenovirüs 40/41, human-calicivirüsleri (norovirüs ve sapovirüsler) ve astrovirüs görülmektedir. Son yıllarda bocavirüs de yeni tanımlanan gastroenterit etkenleri arasında yer almaktadır<sup>(7)</sup>. Ilıman iklimte gelişmekte olan ülkelerde, en fazla kış aylarında ve 2 yaş altı çocuklar-

da görülen rotavirüs ishallerinin kliniği daha ağır seyretmekte olup, ölüm oranları da daha fazla görülmektedir<sup>(7,8)</sup>. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC)'nin 2017 verisine göre; 46 Avrupa ülkesindeki beş yaşın altındaki her 100.000 çocuktan 300-600'ü rotavirüs enfeksiyonu nedeniyle hastaneye kaldırılmaktadır<sup>(9)</sup>. Adenovirüslerden tip 40 ve 41 ise dünyanın her bölgesinde gastroenterit etkeni olarak izole edilebilmekte ve kreşlerde, yaz kampları gibi toplu yaşam alanları ve havuzlarda çocuklar arasında ciddi sporadik salgınlara neden olmaktadır<sup>(8,10)</sup>. Viral gastroenteritlerin tanısında anamnez ve klinik özellikler yol gösterse de, kesin tanı için laboratuvar çalışmalarına gereksinim duyulmaktadır<sup>(11)</sup>. Etken virüsün saptanmasında hücre kültürü, viral antijen aranması ve viral nükleik asitin gösterilmesi kesin tanı yöntemleridir<sup>(8)</sup>. Ancak immünokromatografik yöntem, elde edilen antijen sonuçlarının ELISA ile uyumluluk göstermesi, kısa sürede sonuç elde edilmesi, az miktardaki dışkı örneğiyle kolaylıkla çalışılabilmesi ve duyarlılığının yüksek (%93-100) olması gibi nedenlerle dolayı son yıllarda rutinde sıklıkla yeğlenmektedir<sup>(8,11,12)</sup>.

Marmara bölgesinden yapılan bir çalışmada, Haziran 2017-Mayıs 2018 tarihleri arasında tüm yaş gruplarında rotavirüs prevalansı %14.1, adenovirüs prevalansı ise %7.6 olarak bulunmuştur<sup>(13)</sup>. Ocak 2007-Nisan 2008 dönemine ait İstanbul merkezli bir çalışmada, rotavirüs %20.6, adenovirüs %3.4 oranında saptanmış olup, en sık ilkbahar ve kış aylarında pozitiflik belirlenmiştir<sup>(14)</sup>. Mayıs 2010-Nisan 2011 tarihleri arasında Mardin Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi'nde 0-5 yaş arası çocuklarda yapılan rotavirüs ve adenovirüs antijen tarama sonuçlarına göre, %19.9 rotavirüs, %1.16 adenovirüs antijen pozitifliği saptanmıştır. En sık 12-24 ay yaş grubu çocuklarda saptanmış olup, Ekim-Aralık döneminde viral gastroenterit sıklığı daha fazla bulunmuştur<sup>(15)</sup>. Sıfır-on sekiz çocuk yaş grubunda 2013-2015 yılları arasında yapılan bir çalışmada, akut gastroenterit ön tanısı ile 5.156 pediyatrik hasta incelenmiş olup, %14.8'inde rotavirüs ve %2.3 adenovirüs antijen pozitifliği saptanmış, 2-4 yaş grubun-

da pozitiflik daha sık görülmüştür. Özellikle rotavirüs enfeksiyonunun kış ve ilkbahar aylarında arttığı saptanırken, adenovirüs tüm yıl boyunca sporadik olarak saptandığı görülmüştür<sup>(16)</sup>. Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi'nde Ocak 2014-Haziran 2015 tarihleri arasında çeşitli poliklinik ve servislerden gönderilen 2.355 hastanın %11.7'sinde rotavirüs, %3.3'ünde ise adenovirüs saptanmıştır. Antijen pozitifliğinin yaş ve mevsimsel dağılımına bakıldığında, en sık 13-24 ay yaş grubunda ve ilkbahar ile kış aylarında olduğu görülmüştür<sup>(17)</sup>.

Merkezimizden Ocak 2006-Aralık 2009 dönemine ait olan çalışmada ise, 0-14 çocuk yaş grubunda yalnızca rotavirüs antijen pozitifliği değerlendirilmiş olup, döneme ait prevalans %25 olarak belirlenmiştir. En fazla antijen pozitifliği 0-2 yaş grubunda ve kış aylarında (özellikle Aralık) saptanmıştır<sup>(11)</sup>. Ülkemizde yapılan ve 0-5 yaş arasındaki olguların değerlendirildiği çalışmalarda da, ilk 2 yaş grubunun rotavirüs pozitifliği oranı daha fazladır<sup>(8,13-17)</sup>. Her ne kadar çalışmamızda rotavirüs antijen pozitifliği ile yaş grupları arasında anlamlı bir fark saptanamasa da, ilk iki yaş grubunda pozitiflik oranının yüksek olduğu görülmektedir. Küçük çocukların kalabalık gruplar hâlinde bakılan yuvalarda olmaları, ilk altı ay sonrasında başlayan emekleme dönemi ve takibinde yürümeye bağlı olarak çevreyle temasın artması, hijyen koşullarına dikkat etmemeleri gibi nedenlerden dolayı altı ay-iki yaş arasındaki çocuklarda prevalansın yüksek olmasının beklenen bir bulgu olduğunu düşünmekteyiz. TC Sağlık Bakanlığı'nın zorunlu aşı takviminde rotavirüs bulunmamasına karşın, aşılama talep doğrultusunda yapılmaktadır. Merkezimizden Ocak 2006-Aralık 2009 rotavirüs verileri ile karşılaştırıldığında, prevalansın düşük olmasının nedeni halkın aşı konusunda farkındalığının artmasına bağlı olabilir. Her ne kadar rotavirüs prevalansı bir önceki döneme göre daha düşük oranda saptansa da, ülkemizi komşu bölgelerinde son yıllarda yaşanan politik gelişmelere bağlı olarak sosyoekonomik ve sosyokültürel temelli artan göç hareketlerinin İstanbul gibi bir metropolü direkt olarak etkilemesiyle, özellikle altyapı eksikliği ve uygun olmayan toplu yaşam koşullarının yarattığı



yetersiz hijyenik olmayan koşullarda prevalansın daha yüksek olduğunu düşünmekteyiz. Bu düşük oranın İstanbul ve bu göç bazlı popülasyonun sağlık hizmetlerine henüz sağlık bürokrasisi yönünden ulaşamamanın sonucu olabileceğini, bu popülasyonun mevcut koşullarının düzeltilmemesi halinde bu oranın ileriki yıllarda yükseleceği dikkatlerden kaçmamalıdır.

Adenovirüs prevalansı ise, %3.1 saptanarak ülkemizde yapılan diğer çalışmaların verileri ile uyumlu bulunmuştur<sup>(14-17)</sup>. Avrupa, Asya, Kuzey ve Güney Amerika'da yapılan çalışmalarda ise, enterik adenovirüs enfeksiyonlarının çocukluk çağına görülme sıklığının %3.1-13.5 arasında olduğu bildirilmektedir<sup>(18-22)</sup>. Ülkemizde ve ılıman ülkelerde, adenovirüs antijen pozitifliği yıl boyunca sporadik olgular hâlinde ya da ilkbahar aylarında daha sık görülmektedir. Ancak, adenovirüs verilerimiz incelendiğinde kış mevsimi adenovirüs antijen pozitifliği bakımından anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Benzer şekilde Terzi HA ve ark.'nın<sup>(13)</sup> yapmış olduğu çalışmada, adenovirüs antijen pozitifliği kış mevsiminde yüksek bulunmuştur. Adenovirüs antijen pozitifliği yaş grupları açısından değerlendirildiğinde, yapılan çalışmalarda 0-2 yaş grubu arasında sık görüldüğü saptanmasına karşın, çalışmamızda yaş grubu açısından anlamlı bir fark saptanamamıştır ( $p > 0.05$ ).

Adenovirüs ve rotavirüsün neden olduğu akut gastroenterit sıklığı düşünüldüğünde hızlı şekilde tanı konulup tedavinin düzenlenmesinin oluşabilecek komplikasyonların önlenmesinde ve gereksiz antibiyotik kullanımının da önüne geçilebilmesi açısından önem taşımaktadır<sup>(8)</sup>. Her ne kadar akut gastroenterit etkeni olarak çocuk yaş grubunda sıklıkla rotavirüs ve adenovirüs tanı testleri yapılırsa da, yıllar içinde enfeksiyon etkenlerinin değişmesine bağlı olarak yeni salgın potansiyeli yüksek etkenler konusunda da dikkatli olunması gerekmektedir. Sonuç olarak, İstanbul gibi çok ciddi göç alan ve rotavirüs ve adenovirüs gibi çocukluk çağı gastrointestinal enfeksiyon hastalıklarında etkenin bulaşını önemli ölçüde etkileyebilecek bir altyapı ve gelişigüzel şehirleşme sorunlarını barın-

dıran bir popülasyon yönünden bölgemizdeki çocuklardan elde edilen oranlara dair önceki döneme göre düşük saptanmıştır. Adenovirüs ise diğer bölgelerle paralel bulunmuştur. Buna karşın, çocukluk çağı gastroenteritlerinde önemli rolü olan bu iki etkenin özellikle son yıllarda İstanbul ve çevre yerleşim bölgelerini direkt etkileyen sosyoekonomik ve sosyokültürel faktörlere bağlı görülme sıklıkları değişiklik gösterebileceği ve bu faktörlere bağlı ileriki yıllarda artışların görülebileceğinden bu tip etkenlerin belli dönemlerde prevalansının izlenmesi ve buna göre önlemlerin alınması düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. King CK, Glass R, Bresee JS, et al. Managing acute gastroenteritis among children: oral rehydration, maintenance, and nutritional therapy. *MMWR Recomm Rep.* 2003;52(RR-16):1-16.
2. Ustaçelebi Ş. Rotavirüsler. In: Ustaçelebi Ş. (Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Rotavirüsler.* Ankara: Güneş Kitabevi; 1999: 973-6.
3. Vu Nyugen T, Le Van P, Le Huy C, Nyugen Gia K, Weintraub A. Etiology and epidemiology of diarrhea in children in Hanoi, Vietnam. *Int J Infect Dis.* 2006;10(4): 298-308.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2005.05.009>
4. Langley JM. Adenovirüs. *Pediatr Rev.* 2005;26(7): 244-9.
5. Ruuskanen O, Meurman O, Akusjärvi G. Adenoviruses. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, (Eds). *Clinical Virology.* Washington: ASM Press; 2002.
6. WHO. World Health Organization: Diarrhoeal disease. [<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>]. (Erişim tarihi: 24 Mart 2019).
7. Kurugöl Z, Devrim İ. Gastrointestinal enfeksiyonlar. *J Pediatr Inf.* 2014;8(2):71-81.  
<https://doi.org/10.5152/ced.2013.1509>
8. Kızılırmak A, Çalışkan E, Temizkan CR. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve adenovirüs sıklığı. *Konuralp Tıp Dergisi.* 2017;9(2):35-9.  
<https://doi.org/10.18521/ktd.296653>
9. ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control: Expert opinion on rotavirus vaccination in infancy. [<https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/expert-opinion-rotavirus-vaccination-infancy>]. (Erişim tarihi: 12 Haziran 2019).
10. Regagnon C, Chambon M, Archimbaud C, et al. Rapid diagnosis of rotavirus infections: comparative

- prospective study of two techniques for antigen detection in stool. *Pathol Biol (Paris)*. 2006;54(6): 343-6.  
<https://doi.org/10.1016/j.patbio.2005.12.002>
11. Yüksel P, Çelik DG, Güngördü Z, ve ark. Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerinde rotavirüs antijen pozitifliğinin değerlendirilmesi. *Klimik Derg.* 2011;24(1):48-51.  
<https://doi.org/10.5152/kd.2011.10>
  12. Kırdar S. Viral diyare etkenleri ve tanıları. *Uluslararası Katılımlı Diyare Günleri. (Parazitoloji Çalışma Grubu), Kuşadası, Aydın; 2014:62-73.*
  13. Terzi HA, Aydemir Ö. Akut gastroenteritli hastalarda rotavirüs ve adenovirüs sıklığının araştırılması; *Sakarya. Sakarya Tıp Derg.* 2018;8(4):746-52.  
<https://doi.org/10.31832/smj.473812>
  14. Ercan Sarıçoban H, Özen AO, Bakar F, ve ark. Rotavirüs ve adenovirüs Gastroenteritinde prognostik belirteçler: Hangi testler yol gösterici? *Türkiye Klinikleri J Pediatr.* 2011;20(4):267-74.
  15. Borsa BA, Bahar Tokman H, Çağatay P. Mardin Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi'nde 0-5 yaş arası akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve adenovirüs sıklığının belirlenmesi. *Ankem Derg.* 2013;27(2):75-9.  
<https://doi.org/10.5222/ankem.2013.75>
  16. Tüzüner U, Saran Gülcen B, Özdemir M, Feyzioğlu B. Gastroenteritli çocukların dışkılarında adenovirüs ve rotavirüs sıklığı ve mevsimsel dağılımı. *Klimik Derg.* 2016;29(3):121-4.  
<https://doi.org/10.5152/kd.2016.29>
  17. Tanrıverdi Çaycı Y, Yılmaz G, Birinci A. Akut gastroenterit vakalarında rotavirüs ve adenovirüs sıklığının araştırılması. *Pam Tıp Derg.* 2017;10(1):61-5.  
<https://doi.org/10.5505/ptd.2017.79037>
  18. Brown M. Laboratory identification of adenoviruses associated with gastroenteritis in Canada from 1983 to 1986. *J Clin Microbiol.* 1990;28(7):1525-9.
  19. Grimwood K, Carzino R, Barnes GL, Bishop RF. Patients with enteric adenovirus gastroenteritis admitted to an Australian pediatric teaching hospital from 1981 to 1992. *J Clin Microbiol.* 1995;33(1):131-6.
  20. Hârsi CM, Rolim DP, Gomes SA, et al. Adenovirus genotypes isolated from children with gastroenteritis in São Paulo, Brazil. *J Med Virol.* 1995;45(2):127-34.  
<https://doi.org/10.1002/jmv.1890450203>
  21. Scott-Taylor TH, Hammond GW. Local succession of adenovirus strains in pediatric gastroenteritis. *J Med Virol.* 1995;45(3):331-8.  
<https://doi.org/10.1002/jmv.1890450317>
  22. Uhnöo I, Wadell G, Svensson L, Johansson ME. Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J Clin Microbiol.* 1984;20(3):365-72.

# Bruselloz Şüpheli Olgularda Brucella Seropozitifliğinin Araştırılması: Dört Yıllık Retrospektif Bir Değerlendirme

## Investigation of Brucella Seropositivity in Patients with Suspected Brucellosis: A 4-Year Retrospective Evaluation

Zeynep Taner\*<sup>1</sup>, Harika Öykü Dinç\*\*<sup>1</sup>, Mehmet Demirci\*\*\*<sup>1</sup>, Nesrin Gareayaghi\*\*\*\*<sup>1</sup>, Aykut Kurt\*\*\*\*\*<sup>1</sup>  
Doğukan Özbey\*\*\*\*\*<sup>1</sup>, Hrisi Bahar Tokman\*\*\*\*\*<sup>1</sup>, Bekir Sami Kocazeybek\*\*\*\*\*<sup>1</sup>

\*İstanbul Altınbaş Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*İstanbul Okan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*\*Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*\*\*Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kan Merkezi, İstanbul

\*\*\*\*\*İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

\*\*\*\*\*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

### Öz

**Amaç:** Brucella cinsi bakterilerle oluşan bruselloz, sistemik bir enfeksiyon hastalığı olup dünyanın birçok ülkesinde yaygın olarak saptanmakta ve ülkemizde de oldukça sık görülmektedir. Çalışmamızın amacı, İstanbul ve çevre illerdeki yerleşim bölgelerinden dört yıllık dönemde bruselloz kuşkusu ile merkezimize başvuran 6.045 olgudan alınan serum örneklerinde bruselloz serolojik göstergelerini retrospektif olarak değerlendirmek ve sonuçları yine merkezimizde 2005-2011 yılları arasında gerçekleştirilmiş çalışmanın verileriyle karşılaştırarak değişkenlikleri irdelemektir.

**Yöntem:** Çalışmamıza Mart 2013- Mart 2017 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Seroloji/ELISA birimine gönderilen bruselloz şüpheli olgulara ait serum örnekleri dahil edilmiştir. Örneklerden Brucella Serum Aglutinasyon (SAT), Coombs'lu Wright (CT) ve Rose-Bengal (RB) testleri yapılmıştır.

**Bulgular:** Dört yıllık değerlendirme sonucunda, bruselloz şüpheli 6045 olgunun 107 (%1.8)'si seropozitif, 5938 (%98.2)'i seronegatif bulunmuştur. Brucella seropozitif 107 olgunun 73 (%68.2)'ü RB ve SAT ile eş zamanlı pozitif bulunmuş, 34 (%31.7) olgu ise RB ve SAT test sonuçları arasında uyumsuzluk görülmesi nedeniyle, CT sonucuna göre brusella seropozitif olarak belirlenmiştir. Brucella seropozitiflik oranı kadınlarda (%58) erkeklere (%42) göre daha yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Olguların %28'inde aile içi aynı kaynaktan bulaş, %48'inde kırsal kesimde yaşama öyküsü saptanmıştır.

**Sonuç:** Verilerimizin retrospektif değerlendirmesi sonucunda, bu çalışmada İstanbul ve çevre illerinde saptadığımız bruselloz seropozitiflik oranı (%1.8), aynı merkezde bir önceki dönemde elde edilen orana göre (%3) düşük bulunmuştur. Bruselloz seropozitifliğinin oransal düşüklüğünde, son yıllarda görsel ve yazılı iletişim araçlarındaki artışla hayvansal kaynaklı beslenme konusunda daha bilinçli ve hijyen kurallarına uyan insan kitlelerindeki artışın rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Bruselloz, seroloji, seroepidemioloji

### ABSTRACT

**Objective:** Brucellosis is a systemic infectious disease that is commonly detected in many countries of the world and is very common in our country. The aim of this study was to evaluate the serological markers of brucellosis in 6045 patients from İstanbul and surrounding provinces, who were admitted to our center in a 4-year period and to compare the results with the study conducted between 2005-2011.

**Method:** Serum samples of suspected brucellosis patients who were admitted to İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty Hospital, Serology / ELISA unit, between March 2013-2017 were included in the study. Brucella Serum Agglutination, Coombs Wright and Rose-Bengal tests were performed.

**Results:** As a result of a 4 years evaluation, 107 (1.8%) of the 6045 suspected brucellosis cases were found seropositive and 5938 (98.2%) of them were seronegative. Of the seropositive 107 cases, 73 (68.2 %) were found to be concurrently positive with RB and SAT; 34 (31.7%) of the cases were seropositive according to CT. Although brucella seropositivity rate was higher in females (58%) than males (42%), no statistically significant difference was found. Of the cases 28% had transmission from the same source within the family and 48% had a history of living in rural areas.

**Conclusion:** Consequently, the seropositivity rate of brucellosis (1.8%) that we found was found to be lower than the rate obtained in the same center (3%) previously. We believe that, by the increase in visual and written communication tools people comply and are more conscious about the hygienic rules on consuming animal based nutrition.

**Keywords:** Brucellosis, serology, seroepidemiology

### Alındığı tarih:

18.03.2019

### Kabul tarihi:

21.08.2019

### Yayın tarihi:

31.12.2019

### ORCID Kayıtları

Z. Taner 0000-0003-0336-1832

H. Ö. Dinç 0000-0003-3628-7392

M. Demirci 0000-0001-9670-2426

N. Gayeyaghi 0000-0002-0812-1128

A. Kurt 0000-0002-1194-4184

D. Özbey 0000-0002-0596-1551

H. Bahar Tokman 0000-0002-2205-5120

B. S. Kocazeybek 0000-0003-1072-3846

✉ zynptaner@hotmail.com

## GİRİŞ

Bruselloz, *Brusella* cinsi bakterilerle enfekte hayvanların salgıları, vücut sıvıları veya gebelik materyalleri ile direkt temas, bakteri ile kontamine hayvansal ürünlerin tüketimi veya hava yolu ile etkenin inhalasyonu ya da etkenin deriye teması sonucu oluşan zoonotik bir hastalıktır<sup>(1)</sup>. Bruselloz, dünyanın hemen her bölgesinde sıklıkla görülmekle birlikte, gelişmiş ülkelerde, özellikle hayvan brusellozunun kontrol altına alınması ile nispeten azalmıştır. Ancak; Türkiye, Yunanistan, Portekiz, İspanya, Güney Fransa ve İtalya gibi Akdeniz havzası ile Arap Yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika bruselloz için halen endemik bölgelerdir<sup>(2)</sup>.

Hastalığın kesin tanısında altın standart, etkenin klinik örneklerden izolasyonudur. Etiyolojik tanı ve seroprevalans değerlendirmelerinde Serum Aglütinasyon testi (SAT) diğer bir deyişle Wright testi rutinde kullanılan en önemli testtir. Hastalığın endemik olduğu bölgelerde tarama testi olarak kullanılan Rose-Bengal (RB) lam aglütinasyon testi sonucunda yalancı pozitiflikler ya da yalancı negatifliklere rastlanabileceğinden RB ile SAT eş zamanlı olarak yapılmaktadır. Bunların dışında, laboratuvar tanısında Merkaptoetanol Testi (MLT), Dithiothreitol (DTT), EDTA, Brucellosis Card Test (BCT) gibi aglütinasyon testleri, Kompleman Fiksasyon Testi (CFT) ve Agar Gel Immunodifüzyon (AGID) teknikleri de kullanılmaktadır<sup>(3)</sup>. Kronik enfeksiyonlarda, reenfeksiyon/rekürrens durumlarında gözlenen blokan antikorlar Coombs'lu Wright testi (CT) veya Enzim Immunoassay ile belirlenmektedir<sup>(4)</sup>.

Bruselloz seroepidemiolojisinde coğrafik konum, kültürel geleneklerden doğan değişik beslenme alışkanlıkları gibi farklılıklar bölgesel olarak değişim gösteren seroprevalanslara neden olmaktadır. Bu nedenle toplum dinamiklerine dayalı farklılık gösteren enfeksiyon hastalıklarının seroprevalanslarının izlenmesi ve buna bağlı koruyucu toplum sağlığı hizmetlerinin uygulanması gerekmektedir<sup>(5,6)</sup>.

Bu çalışmanın amacı, dört yılı kapsayan bir süre içinde İstanbul ve çevre illerin yerleşim bölgelerinden hastanemize başvuran ve bruselloz kuşkusu nedeniyle laboratuvarımızdan istenen testleri (RB, SAT, gerektiğinde CT) çalışılan 6045 olgunun, bruselloz tanısına yönelik serolojik test sonuçlarını aynı merkezden 2005-2011 yılları arası elde edilen sonuçlarla karşılaştırarak, İstanbul ve çevre illerinde *Brusella* seropozitiflik oranının retrospektif değerlendirmesini yapmaktır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız, Mart 2013-Mart 2017 tarihleri arasındaki dört yıllık süre boyunca İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Seroloji/ELISA birimine çeşitli kliniklerden bruselloz kuşkusuyla gönderilen 6.045 olguya ait serum örneği ile gerçekleştirilmiştir. Bu örneklerden eşzamanlı çalışılan RB ve SAT ile 1.650 olguya (1.650/6.045) yapılan Coombs'lu Wright testi değerlendirmeye alınmıştır.

Tarama amaçlı kullanılan RB lam aglütinasyon testi ticari bir kit (Spinreact, İspanya) ile kit prospektüsüne uygun şekilde çalışılmıştır. Lam aglütinasyon prensibiyle çalışan, *Brucella abortus* S99 suşunun kullanıldığı bu kitle aglütinasyon sonucu dört dakika beklendikten sonra kalitatif olarak pozitif ya da negatif olarak değerlendirilmiştir. RB ile eşzamanlı olarak yapılan SAT (Seromed, Türkiye) *B. abortus* S99 antijeni kullanılarak kantitatif olarak yapılmıştır. Daha önce tedavi almamış olgularda, tek serum örneğinde SAT ile antikor titresinin  $\geq 1/160$  titre olması veya en az iki hafta ara ile alınan çift serum örneğinde *Brucella* SAT ile antikor titresinde  $\geq 4$  kat artış saptanması pozitif değer olarak kabul edilmiştir.

Coombs'lu Wright testi, eşzamanlı çalışılan RB ve SAT sonuçlarından birinin pozitif, diğerinin negatif çıkması şeklinde bir uyumsuzluk görülen olgular, ayrıca, eşzamanlı çalışılan RB ve SAT sonuçları negatif çıktığı halde kuvvetli klinik şüphe nedeniyle hastanın hekimi tarafından Coombs'lu Wright testinin kesinlikle

yapılması istenen olgular olmak üzere toplam 1650 olguya yapılmıştır. Coombs'lu Wright testinde  $\geq 1/160$  titrasyonda aglütinasyon saptanması pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda bruselloz seropozitifliği saptanan olgulara ait demografik ve seroepidemiolojik verilerin değerlendirilmesi için ilgili kliniklerden gönderilen hasta anamnezleri ve hasta anketleri incelenmiş, eksik bir veri belirlendiğinde hasta telefon numaralarına hastanemizin İSHOP Doktor ve Laboratuvar Bilgilendirme Sistemi'nden ulaşılmış ve eksikler tamamlanmıştır. Ayrıca çalışmamızda dört yılı kapsayan bir süre içinde aynı aileye üye kişilerin hastaneye, birbirine yakın tarihlerde (altı haftalık bir dönem içinde) başvurmaları sonucunda, bruselloz şüphesiyle istenen serolojik testlere ait sonuçlarını irdledik. Özellikle aile içi aynı kaynaktan bulaş [aynı ev içerisinde ortak bir kaynaktan ve aile içinde birden fazla bireyin aynı anda veya birbirini takip eden günlerde hastalığa yakalanmış olma durumu<sup>(6)</sup>] şüphesi gözlenmesi durumunda hasta aile bireyleriyle telefonda görüşme ve sorgulama yöntemi kullanılmış ve aile içi aynı kaynaktan bulaşın varlığı doğrulanmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde yüzdeler (%) yöntemi kullanılmıştır.

## BULGULAR

Dört yıllık değerlendirme sonucunda, bruselloz şüpheli 6.045 olgunun 107 (%1.8)'si seropozitif, 5.938 (%98.2)'i seronegatif bulunmuştur. Brusella seropozitif 107 olgunun 73 (%68.2)'ü RB ve SAT ile eş zamanlı pozitif bulunmuş, 34 (%31.7) olguda ise RB ve SAT sonuçları arasında testlerden birinin pozitif çıkarken diğerinin negatif çıkması şeklinde bir uyumsuzluk görülmüştür [(25'i RB (+), SAT(-), <1/160) ve 9'u RB (-), SAT(+),  $\geq 1/160$ ]]. Bu 34 olgu Coombs'lu Wright testine alınmış ve hepsinde sonuçların,  $\geq 1/160$  olarak pozitif bulunmasıyla bunların da brusella seropozitif olduğu anlaşılmıştır (Tablo 1).

Brusella seronegatif 5.938 (%98.2) olgunun 4.726 (4726/5938; %79.6)'sında hem RB hem de SAT negatif

**Tablo 1. Test kombinasyonlarına ait sonuçlara göre seropozitif olguların dağılımı.**

Seropozitif olgular (N=107)	Test sonuçları
73	RB (+) SAT $\geq 1/160$ (+) -
25	RB (+) SAT < 1/160 (-) CT $\geq 1/160$ (+)
9	RB (-) SAT $\geq 1/160$ (+) CT $\geq 1/160$ (+)

SAT: *Brucella Serum Aglütinasyon*, CT: *Coombs'lu Wright*, RB: *Rose-Bengal*

(<1/160) çıkmıştır. Bu olguların 404'üne klinik şüphe nedeniyle, klinisyen isteği doğrultusunda Coombs'lu Wright testi de yapılmış ve sonuçlar <1/160 negatif olarak bulunmuştur. Geri kalan 1.212 olguda (1.212/5.938; %20.4) RB(+), SAT<1/160 negatif çıkmıştır. Bu olgularda da Coombs'lu Wright sonuçları negatif (<1/160) bulunması neticesinde Brusella seronegatif oldukları anlaşılmıştır (Tablo 2).

**Tablo 2. Test kombinasyonlarına ait sonuçlara göre seronegatif olguların dağılımı.**

Seronegatif olgular (N=5938)	Test sonuçları
4726/4322	RB (-) SAT <1/160 (-) -
4726/404	RB (-) SAT <1/160 (-) CT <1/160 (-)
1212	RB (+) SAT <1/160 (-) CT <1/160 (-)

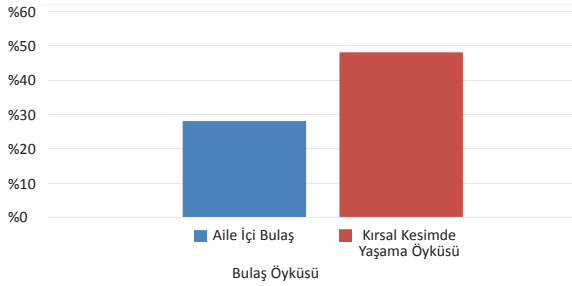
SAT: *Brucella Serum Aglütinasyon*, CT: *Coombs'lu Wright*, RB: *Rose-Bengal*

Çalışmamızda brusella seropozitifliği cinsiyet yönünden değerlendirildiğinde, kadınlarda seropozitiflik oranı (%58) erkeklere (%42) göre yüksek olsa da istatistik olarak aralarında seropozitiflik oranı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Genç ve orta yaş grubunda seropozitiflik oranının daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 3).

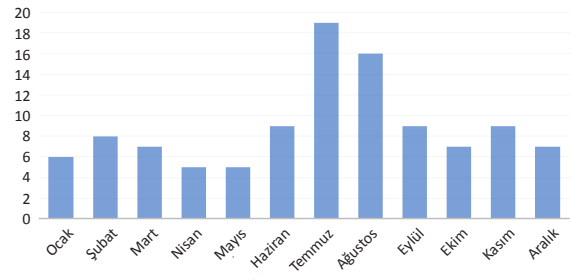
Olguların %28'inde aile içi aynı kaynaktan bulaş gözlenirken, %48'inde kırsal kesimde yaşama öyküsü (tarım ve hayvancılıkla uğraşan olgular) saptanmıştır (Şekil 1). Aileiçi aynı kaynaktan bulaş bilindiği üzere aynı evde aile içinde birden fazla bireyin aynı anda veya birbirini izleyen günlerde ortak bir kaynaktan (Örneğin, çiğ süttan yapılmış peynirden, sütün kendisinden) hastalığa yakalanmış olma durumunu belirtmektedir<sup>(6)</sup>. Bu bilgiler doğrultusunda biz de çalışmamızda dört yılı kapsayan bir süre içinde aynı aileye üye kişilerin hastaneye, birbirine yakın tarih-

**Tablo 3. Brusella seropozitif olguların yaş grupları ve cinsiyete göre dağılımı.**

Brusella seropozitif olgular	Cinsiyet n (%)		Yaş Grupları n (%)			
	Kadın	Erkek	0-25	26-46	47-67	68-78
N=107	62 (% 58)	45 (% 42)	31 (% 29)	30 (% 28)	31 (% 29)	15 (% 14)

**Şekil 1. Aile içi bulaş ve kırsal kesimde yaşama öyküsü (%).**

lerde (altı haftalık bir dönem içinde) başvurmaları sonucunda, bruselloz kuşkusuyla istenen serolojik testlere ait sonuçlarını irdeledik ve Mart 2013- Şubat 2014 sonu arasındaki bir yıllık dönemde dört ailede (1. ailede: 2 kişi, 2. ailede: 2 kişi, 3. ailede: 3 kişi ve 4. ailede: 2 kişi), Mart 2014-Şubat 2015 sonu arasındaki bir yıllık dönemde üç ailede (1. ailede: 2 kişi, 2. ailede: 2 kişi, 3. ailede: 3 kişi), Mart 2015-Şubat 2016 sonu arasındaki bir yıllık dönemde dört ailede (1. ailede: 3 kişi, 2. ailede: 3 kişi, 3. ailede: 2 kişi, 4. ailede: 2 kişi) ve son olarak da Mart 2016 - Mart 2017 sonu arasındaki 13 aylık dönemde iki ailede (1. ailede: 2 kişi, 2. ailede: 2 kişi) aynı aileye üye olan kişilerin birbirini izleyen altı haftalık bir dönemde hastaneye başvurmaları ve bruselloz kuşkusuyla istenen serolojik testlere ait sonuçların pozitif çıkması ile aile içi aynı kaynaktan bulaş saptadık. Otuz olguda (%28) saptadığımız aile içi aynı kaynaktan bulaş üzerine bu olgularla tekrar iletişime geçilmiş ve elde edilen bilgiler doğrultusunda bu bulaşa neden olan en sık nedenin, kişilerin tükettikleri süt ve peynirlerin kendi hayvanlarına ait pastörize edilmemiş sütte üretilmesi olduğu gözlenmiştir. Bir diğer sık karşılaştığımız neden ise ailede akraba ziyareti sırasında bir araya gelen aile üyelerinin aynı çiğ sütü tüketmiş olmalarıdır. Bunun dışında dört ailenin sütçülükle uğraştığı belirlenmiştir.

**Şekil 2. Brusella seropozitifliğinin aylara göre dağılımı.**

Brusella yakınması ile ilgili başvuru sıklıkla yaz mevsiminde Temmuz ayında en yoğun olarak gözlenmiştir (Şekil 2).

## TARTIŞMA

Ülkemizde bruselloz, bildiri mi zorunlu hastalıklar arasında bulunmaktadır, ancak bildirilen vaka sayısının beklenenin oldukça altında olduğu düşünülmektedir. TC Sağlık Bakanlığı 2016 yılı verilerine göre, bruselloz en sık %82.4 ile Kars daha sonra %76 ile Iğdır ve %62.4 ile Hakkâri illerimizde görülmektedir. TC Sağlık Bakanlığı Bruselloz İnsidans Haritası'na göre ise 2016 yılında İstanbul'da hastalığın görülme sıklığı %1.1'dir<sup>(7)</sup>. Buna benzer olarak 2013-2017 yılları arasındaki dört yıllık dönemde merkezimizden elde ettiğimiz test sonuçlarına göre bruselloz seropozitiflik oranı %1.8 olarak belirlenmiştir.

TC Sağlık Bakanlığı'nın daha eski yıllara ait brusella seroprevalans verileri incelendiğinde, 2004 yılında en yüksek seroprevalansın %41.1 olarak Güneydoğu Anadolu bölgesinde saptandığı, İstanbul'un bulunduğu Marmara bölgesinde ise brusella seroprevalansının %2.1 olduğu görülmüştür. 2005-2011 yılları arasındaki altı yıllık bir dönemde İstanbul ile çevre yerleşim bölgelerinden gelen 4.344 hastayı kapsayan bir

önceki araştırmamızda brusella seropozitiflik oranı %3 olarak saptanmıştır<sup>(8)</sup>. Bu oranın (%3), 2004 yılı Sağlık Bakanlığı verilerinde göre yüksek olmasına karşın, 2013-2017 yılları arasındaki dört yıllık dönemi kapsayan bu çalışmamızda %1.8 olarak saptadığımız seropozitiflik oranı Sağlık Bakanlığı 2016 yılı verileri ile uyumludur.

2013-2017 yıllarındaki brusella seropozitiflik oranının (%1.8), 2005-2011 yıllarında saptanan brusella seropozitiflik oranına (%3) göre düşük çıkması dikkat çekicidir. 2013-2017 yıllarındaki İstanbul ve çevre yerleşim bölgelerini direkt etkileyen sosyokültürel dinamiklerin etkisinde (büyük şehirlere göçlerle insan yoğunluğunun artması, gıda ve hayvancılıkta gelişmeler, bilinçli gıda tüketimi) bu bölgede yoğunlaşan insan hareketleriyle birlikte bruselloz seropozitifliğinin oransal olarak artış yönünde etkilenmesi beklenirken düşme göstermiştir. Bu sonucun bir yandan gıda ve hayvancılıkta artan gelişmelerin bir yandan da brusellozun en etkili bulaş yolu olarak bilinen çiğ süt ve süt ürünleri tüketiminde artan bilinçlenmenin rolü olduğunu düşünmekteyiz.

Bu iki dönemi diğer seroepidemiolojik dinamikler yönünden irdelersek, bruselloz şüphesi ile ilgili başvuru sıklığı hem 2005-2011 yıllarında hem de 2013-2017 yıllarını kapsayan bu çalışmamızda yaz mevsiminde yoğunluk göstermiştir. Her iki çalışmada da cinsiyetler arasında anlamlı bir seropozitiflik farkı belirlenmemiştir.

2005-2011 yılları arasında üniversitemizde yaptığımız bir önceki çalışmada<sup>(8)</sup>, olguların %33'ünde aile içi aynı kaynaktan bulaş gözlenirken, % 53'ünde kırsal kesimde yaşama öyküsü saptanmıştır, 2013-2017 yılları arasında yapmış olduğumuz bu çalışmamızda ise, olguların %28'inde aile içi aynı kaynaktan bulaş, %48'inde ise kırsal kesimde yaşama öyküsü saptanmıştır. Aile içi aynı kaynaktan bulaş oranındaki düşüş seropozitiflik oranındaki düşüşe paralel şekilde gözükmektedir. Ayrıca kırsal kesimde yaşama öyküsündeki düşüşün de bu çalışma sonucunda saptadığımız brusella seropozitiflik oranının bir önceki çalış-

mamıza göre daha düşük çıkmasında etkili olduğu düşüncesindeyiz.

Brusella seroprevalansının diğer bölgelere göre düşük kabul edildiği Marmara bölgesinden İstanbul'da Haşım ve Dalgıç<sup>(9)</sup> 2006-2011 yılları arasında bruselloz tanısı konan 32 hasta ile yaptıkları çalışmada, hastaların 28'inin İstanbul'da yaşadığını kalan dördünün ise kırsal kesimden geldiğini, İstanbul'da yaşayan 28 olgudan birçoğunun yaz tatilinde Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerine memleket ziyareti yaptığını bildirmişlerdir. Otuz iki olgunun %87.5'inde bruselloz için enfeksiyon kaynağı belirlendiğini, buna göre olguların %75'inde çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketim öyküsünün, %12.5'inde hem hayvan temas öyküsü hem de çiğ süt ve süt ürünü tüketim öyküsünün birlikte bulunduğunu belirtmişlerdir.

Yüce ve Alp-Çavuş<sup>(10)</sup> 2006 yılında yaptıkları çalışmada, Türkiye'de bruselloz olgularının bölgelere göre dağılımını incelemişler ve Marmara bölgesinin %2.1 ile Karadeniz bölgesinden sonra en düşük olgu oranına sahip bölge olduğunu bildirmişlerdir. En yüksek olgu oranına sahip bölgenin Güneydoğu Anadolu bölgesi olduğu belirtilmiştir.

Ana risk grubu olarak ele alınan kesim, brusellanın zoonotik bir bakteri olması nedeniyle, hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı kırsal kesimde yaşamını sürdüren popülasyondur. Ülkemizde Iğdır'da yapılan bir çalışmada, Bora ve ark.<sup>(11)</sup> hayvancılık ve çiftçilik yapan 358 kişilik bir hasta grubunun 24 ünde (%6.7) seropozitiflik bildirmişlerdir. Isparta'da yapılan bir başka çalışmada ise, Koşar ve ark.<sup>(12)</sup> 280 bruselloz olgusu ile yürütülen çalışmalarında %90 olgunun köy ve ilçelerde yaşadığını bildirmişlerdir.

Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, hastaların %48'inde kırsal kesimde yaşama öyküsü saptanmış olup, geçmiş yıllarda yaptığımız çalışmada %53 olgunun İstanbul ya da çevre illerinin kırsal kesiminden (köy ve ilçe) oldukları belirlenmiştir<sup>(8)</sup>.

2005-2011 yılları arasında gerçekleştirilen bir önceki çalışmamızın<sup>(8)</sup> sonuçlarına benzer olarak, bu çalışmamızda da sonuçlarımız brusellozun endemik olduğu bölgelerde yaş dağılımının değişken olabileceği görüşüne paralellik göstermiştir. Bununla birlikte, bu çalışmamızda, genç ve orta yaş grubunda daha yüksek seropozitiflik saptanmıştır. Ayrıca her iki çalışmamızda da brusella seropozitifliği cinsiyet yönünden değerlendirildiğinde, kadınlarda seropozitiflik oranı erkeklere göre yüksek olsa da istatistiki olarak aralarında seropozitiflik oranı bakımından anlamlı bir fark belirlenmemiştir.

Brusella bakterileri rezervuar olarak hayvanlarda yaşam boyunca kronik enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Bulaş yolu genellikle brusella ile enfekte olmuş hayvanların sekresyonlarının travmatik cilt ile teması, konjunktiva inokülasyonu, aerosollerin solunması, hijyenik koşullarda hazırlanmamış ev yapımı süt ürünlerinin tüketimi ve pastörize edilmemiş çiğ süt tüketimi olarak belirtilmiştir<sup>(11,14)</sup>. Ülkemiz gibi Brucella enfeksiyonunun endemik olduğu ülkelerde bulaş yolunun genellikle çiğ veya pastörizasyon işleminden geçirilmemiş süt ürünlerinin tüketimi olduğu, gelişmiş ülkelerde ise bulaşın yüksek oranda aerosollerin rol oynadığı solunum yoluyla olduğu bildirilmiştir<sup>(2,5,11,14)</sup>.

Brusellozun ülkemizdeki gibi endemik olduğu coğrafyalarda aile içi aynı kaynaktan bulaş görülebildiği, bu nedenle aile üyelerinin inceleme ve izleme altına alınması gerektiği belirtilmiştir<sup>(15)</sup>. Abuhandan ve ark.<sup>(16)</sup> Güneydoğu Anadolu bölgesinde 82 hasta çocuk ile yaptıkları çalışmada %76.8 gibi yüksek oranda çocuk hastanın aileleriyle kırsal kesimde yaşadığı ve çiftçilik ve hayvancılıkla ilgilendiği bildirmiştir. Yine İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Seroloji/ELISA biriminde 2005-2011 yılları arasında gerçekleştirilmiş çalışmanın<sup>(8)</sup> verileri incelendiğinde, aile içi aynı kaynaktan bulaş 43 (%33) olguda belirlenmiştir. Bu çalışmamızda ise, aile içi aynı kaynaktan bulaş hastaların %28'inde saptanmıştır. Her ne kadar aile içi

besin hijyeni koşullarının daha dikkatli uygulanmasına bağlı aile içi bruselloz seropozitifliği oranında düşüş gözlenmiş olsa da hâlen İstanbul gibi metropol özelliği olan yerleşim merkezinde aile içi bruselloz oranının %28'lerde seyretmesi halk sağlığı yönünden düşündürücüdür.

Ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz havzasında endemik olan bruselloz yılın tüm mevsim ve aylarında görüldüğü gibi en yüksek ilkbahar ve yaz aylarında gözükmektedir<sup>(17)</sup>. Bunun nedeni ise süt ürünlerinin yapımının ilkbahar ve yaz aylarında yoğun olmasıdır. 2005-2011 yılında gerçekleştirdiğimiz bir önceki çalışmamızda<sup>(8)</sup> da benzer şekilde seropozitif olguların merkezimize başvurusu yaz mevsiminde yoğunluk göstermiştir.

Sonuç olarak, 2013-2017 yılları arasında ülkemizin en büyük yerleşim merkezi olan İstanbul ve çevre illerden hastanemize başvuran 6045 hastada dört yıllık brusella seropozitiflik oranı %1.8 olarak belirlenmiştir. Son yıllarda sosyoekonomik ve sosyokültürel nedenlerle İstanbul gibi metropollere Ortadoğu'dan ve ülkemizin Doğu ve Güneydoğu bölgelerinden göç ve kitlesel insan hareketlerinin yoğun olmasına karşın, brusella seropozitiflik oranında düşüş görülmüştür. Bu durum, görsel ve yazılı iletişim araçlarındaki artışla ve hayvansal kaynaklı beslenme konusunda daha bilinçli ve hijyen kurallarına uyan insan kitlelerindeki artışla açıklanabilir. İstanbul ve çevre illerinde, brusella seropozitiflik oranındaki düşüşe rağmen, kırsal kesimden bu bölgeye artan göçler, beslenme alışkanlıklarını devam ettiren ailelerde aile içi aynı kaynaktan bulaş, mesleki bulaş, laboratuvar kaynaklı bulaş, kırsal bölgede yaşama, çiğ süt ve ürünlerinin tüketimi ve bu ürünlerin mevsimsel olarak seropozitifliğe etkisi gibi risk parametrelerine bağlı olarak, önemli bir halk sağlığı sorunu olan bruselloz, hâlen bu bölgede önemini korumaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Baysal B. Brucella. In: Ustaçelebi Ş. (Ed) Temel ve Klinik



- Mikrobiyoloji. 1. Baskı. Ankara: Öncü Basımevi, 1999; 571-77.
2. Young EJ. Brucellosis: current epidemiology, diagnosis and management. *Curr Clin Top Infec Dis.* 1995;15:115-28.
  3. Esendal ÖM, Yardımcı H, Keskin O, Altay G. Sığır, koyun ve keçi brucellosis'inin serolojik tanısında konvansiyonel testler ve Coombs testinin kullanılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2001;48:97-102.
  4. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits L. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2007;7(12):775-86. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70286-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70286-4)
  5. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(2):91-9. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70382-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70382-6)
  6. TC Sağlık Bakanlığı, Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Brusellozun Mikrobiyolojik Tanısı. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/bakteriyoloji/UMS-B-MT-19-Bruselloz.pdf> [Erişim tarihi: Ocak 2019]
  7. TC Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı 2016. <https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/13183,sy2016turkcepdf.pdf> [Erişim tarihi: Ocak 2019]
  8. Çelik DG, Sirekbasan S, Abdelkareem A ve ark. Bruselloz tanısında serum aglütinasyon (Wright) ve Rose - Bengal test sonuçları: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi seroloji laboratuvarından 6 yıllık retrospektif seroepidemiolojik değerlendirme. *Cerrahpaşa Tıp Derg.* 2018;42(1):80-5. <https://doi.org/10.26650/cjm.2018.42.1.2>
  9. Haşim Ö, Dalgıç N. Otuz iki bruselloz olgusunun klinik ve laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesi. *J Pediatr Inf.* 2013;7(2):61-7. <https://doi.org/10.5152/ced.2013.17>
  10. Yüce A, Alp-Çavuş S. Türkiye'de bruselloz: Genel bakış. *Klimik Derg.* 2006;19:87-97.
  11. Bora G, Akkoyunlu Y, Berköz M, et al. Investigation of Brucella seroprevalence in human and livestock in Iğdır, Turkey. *Eastern J Med.* 2016;21(3):107-12. <https://doi.org/10.5505/ejm.2016.02886>
  12. Koşar A, Aygündüz M, Yaylı G. İkiyüzseksen bruselloz olgusunda farklı iki tedavinin karşılaştırılması. *İnfeksi Derg.* 2001;15(4):433-7.
  13. Bayram Y, Özkaçmaz A, Parlak M, Başbuğan Y, Kılıç S, Güdücüoğlu H. Van ili ve çevresinde risk altındaki insan ve hayvan gruplarında tularemi seroprevalansı. *Mikrobiyol Bul.* 2015;49(4):532-41. <https://doi.org/10.5578/mb.9966>
  14. Altun SK, Yiğın A, Gürbilek SE, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for *Brucella* specific antibody and real-time PCR for detecting *Brucella* spp. in milk and cheese in Şanlıurfa, Turkey. *Pak Vet J.* 2017;37(1):39-42.
  15. Hatipoğlu ÇA, Kınıklı S, Tülek N, ve ark. Bir eğitim hastanesinin İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği'nde izlenen 202 bruselloz olgusunun epidemiyolojik verilerinin irdelenmesi. *Klimik Derg.* 2005;18(3):94-8.
  16. Abuhandan M, Güzel B, Çakmak A, Çiçek A. Çocuklarda bruselloz: 82 olgusunun retrospektif olarak değerlendirilmesi. *J Pediatr Inf.* 2012;6(3):74-9. <https://doi.org/10.5152/ced.2012.24>
  17. Bayoğlu DS, Çalhan D, Gürbüz T, Önal ZE, Akıcı N, Nuhoglu Ç. *Brucella* tanısıyla takip ve tedavi edilen çocukların incelenmesi. *Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 2014; 54(3):156.

# Türkiye'den Elde Edilen *Leishmania* İzolatlarının Kanlı ve Çikolata Agardaki Üremelerinin Değerlendirilmesi

## *Evaluation of the Reproduction on Blood and Chocolate Agars of Leishmania Isolates Obtained from Turkey*

İbrahim Çavuş\*<sup>1</sup>, Tuğba Kaya\*\*<sup>2</sup>, Alp Aslan\*<sup>3</sup>, Yener Özel\*\*\*<sup>4</sup>, Mine Çetin\*\*\*\*<sup>5</sup>  
Ahmet Yıldırım\*<sup>6</sup>, Ahmet Özbilgin\*<sup>6</sup>

\*Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa

\*\*Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay

\*\*\*Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir

\*\*\*\*Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa

### Öz

**Amaç:** Bu çalışma, Türkiye'den elde edilen *Leishmania* spp. izolatlarının kanlı agar ve çikolata agardaki koloni oluşumlarının izlenmesi ve farklılıklarının karşılaştırılması, tek bir hücreden oluşan koloni elde edilerek gerektiğinde genetik çalışmalarda kullanılması amacıyla planlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamızda kullanılan kanlı agar ve çikolata agarın gerekli ön hazırlık aşamaları yapıldıktan sonra steril petri kaplarına dökülmesi ile besiyerleri hazırlanmıştır. Kullanılan *Leishmania* spp. izolatları üniversitemiz bünyesinde bulunan Parazit Bankası'ndan sağlanmıştır. *Leishmania* spp izolatlarının, ITS1 ve hsp70 bölgesine özgü primer ve probalar kullanılarak genotiplendirilmesi yapılmıştır. Türle göre ayrılan izolatların NNN besiyerinde kültürü yapılmış ve üreyen promastigotlar RPMI 1640 sıvı besiyerlerine aktararak logaritmik faza girmeleri beklenmiştir. Logaritmik faza giren promastigotların çikolata agar ve kanlı agara ekimleri yapılmış ve 25°C'lik etüve kaldırılarak gün aşırı takip edilmiştir.

**Bulgular:** Etüvden çıkarılarak incelenen plaklarda inkübasyonun 7. gününde çikolata agarda herhangi bir koloni oluşumu gözlenmezken, kanlı agarda *Leishmania tropica*, *Leishmania infantum* ve *Leishmania donovani* de koloni büyüklüklerinin ortalama 0.9 mm olduğu, *Leishmania major*'de ise ortalama 0.8 mm olduğu saptanmıştır. Plaklara yapılan ekimin 28. gününde ise çikolata agarda *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum* ve *L. donovani*'deki ortalama koloni büyüklükleri sırasıyla 1.0 mm, 0.9 mm, 1.0 mm ve 0.8 mm olarak gözlemlenirken, kanlı agardaki koloni büyüklükleri sırasıyla 3.1 mm, 3.1 mm, 3.3 mm ve 3.0 mm olduğu belirlenmiştir.

**Sonuç:** Plaklara yapılan ekimlerin takibi sonucunda tüm suşların 7., 14., 21. ve 28. günlerdeki koloni oluşumlarının kanlı agarda daha hızlı olduğu saptanmıştır. Kanlı agarın *Leishmania* spp. ile ilgili yapılması planlanan genetik çalışmalar ve diğer çalışmalarda kullanılmasının uygun olabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** *Leishmania*, çikolata agar, kanlı agar

### ABSTRACT

**Objective:** This study was planned with the aim of comparing the reproduction differences of *Leishmania* isolates, obtained from Turkey, on chocolate and blood agars, colony growth views on agar plates and to attain colonies from single cell to utilize for genetic studies.

**Method:** After preparation of blood agar and chocolate agar used in our study, the media were prepared by pouring into sterile petri dishes. The *Leishmania* isolates, used, were obtained from the ParasiteBank, located within our university. Genotyping was done by using primers and probes specific to ITS1 and hsp70. The isolates, separated according to species, were cultured in NNN medium and promastigotes were transferred to RPMI-1640 and were expected to enter into logarithmic-phase. Promastigotes entering logarithmic-phase were inoculated on chocolate and blood agar. Plates were transferred to 25°C and were controlled every other day.

**Results:** No growth was observed on chocolate agar on 7th day of incubation on plates, while colony size of *Leishmania tropica*, *Leishmania infantum* and *Leishmania donovani* were found to have an average of 0.9 mm and mean colony size of *Leishmania major* was 0.8 mm on blood agar. On 28th day of cultivation, average colony size of *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum* and *L. donovani* on chocolate agar was observed as 1.0 mm, 0.9 mm, 1.0 mm and 0.8 mm, respectively, while colony size on blood agar was determined as 3.1 mm, 3.1 mm, 3.3 mm and 3.0 mm, respectively.

**Conclusion:** On 7,14,21,28th days, colony size of all the strains were found to be better and their growth were faster on blood agar. It has been concluded that blood agar may be suitable for reproduction of *Leishmania* for genetic and other studies planned.

**Keywords:** *Leishmania*, chocolate agar, blood agar

### Alındığı tarih:

16.05.2019

### Kabul tarihi:

27.08.2019

### Yayın tarihi:

31.12.2019

### ORCID Kayıtları

İ. Çavuş 0000-0002-3860-0146

T. Kaya 0000-0001-7612-5414

A. Aslan 0000-0002-5680-9103

Y. Özel 0000-0001-6618-8251

M. Çetin 0000-0002-5151-7662

A. Yıldırım 0000-0003-4411-8185

A. Özbilgin 0000-0003-3613-8741

✉ ahmetyildirim.par@yahoo.com

## GİRİŞ

*Phlebotominae* grubundaki enfekte dişi kum sinekleri (*Phlebotomus*, yakarca) aracılığıyla insanlara bulaşan leishmaniasis, tropikal ve subtropikal bölgelerde görülen zoonotik/antroponotik karakterli protozoon paraziter bir enfeksiyondur. *Leishmania* parazitlerini insanlara bulaştıran 90'dan fazla kum sineği türü (*Phlebotomus* spp.) bilinmektedir. Leishmaniasisin visseral leishmaniasis (VL), kutanöz leishmaniasis (KL), mukokutanöz leishmaniasis (MKL) ve post kala azar dermal leishmaniasis (PKDL) olmak üzere dört ana formu bilinmektedir<sup>(1,2)</sup>. İnsan dâhil olmak üzere yaklaşık 70 hayvan türünün, *Leishmania* parazitlerinin rezervuar konağı olduğu ve leishmaniasise neden olan 20'den fazla *Leishmania* türü bulunduğu bildirilmiştir<sup>(2)</sup>. Ülkemizde KL ve VL'ye neden olan etkenler başta *Leishmania tropica* olmak üzere *Leishmania infantum*, *Leishmania donovani* ve *Leishmania major* türleridir<sup>(1,3)</sup>.

*Leishmania* izolatları, genellikle düzenli pasaj gerektiren başta bifazik besiyeri olan NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) besiyeri ve RPMI-1640, M199 gibi sıvı besiyerlerinde in vitro olarak veya doğal rezervuarı olan Golden Hamster ve BALB/c cinsi beyaz farelerde in vivo olarak üretilmektedir. Kullanılan bu yöntemler genellikle yoğun iş gücü gerektirmekte, maliyeti yüksek olmakta ve zaman almaktadır. Sık pasaj yapılması kültürlerin bakteri veya mantarlarla kontamine olma riskini arttırmaktadır. Aynı zamanda biyolojik özelliklerinin değişmesine, virülanslarının azalmasına ve antijenik yapılarını kaybetmelerine neden olmaktadır<sup>(4)</sup>. Liyofilizasyon ya da kriyoprezervasyon yoluyla izolatların uzun süre korunması olasıdır. Ancak leishmaniasisin endemik olduğu gelişmekte olan ülkelerde, şartları uygun olan az sayıda merkez bulunmaktadır<sup>(5)</sup>.

Günümüzde *Leishmania* spp.'nin bifazik besiyerinde ve sıvı besiyerinde kültürü yapılabilir. Ancak agar içerisinde koloniler hâlinde *Leishmania* spp. promastigotlarının üretilmesi önemli avantajlar sağlamaktadır. Tek bir agar plağında çok sayıda koloni

üretilebilmesi, koloni boyutunun direkt olarak gözlem ile saptanabilmesi ve kolonilerin hızlı bir şekilde kontrolünün yapılabilmesi gibi yararlar sağlamaktadır<sup>(6)</sup>. Ayrıca bifazik besiyerinde ve sıvı besiyerinde üretilen *Leishmania* spp. parazitlerinin bu ortamlarda farklı türler ile bir arada olabileceği düşünüldüğünde, agar üzerinde tek koloni olarak saf türlerin elde edilmesi ileride yapılması planlanan çalışmaların daha sağlıklı sonuç vermesi açısından önemlidir.

Çalışmamızda, farklı *Leishmania* türlerine ait promastigotların kanlı ve çikolatalı agar üzerine ekimlerinin yapılmasıyla tek koloni olarak elde edilmesi, her iki agar üzerinde oluşturdukları koloni yapılarının ve aralarındaki farkların araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda, ülkemiz *Leishmania* referans izolatları içerisinde yer alan Manisa ilinden izole edilen *L. tropica* (MHOM/TR/2012/CBCL-LT), Manisa ilinden izole edilen *L. major* (MHOM/TR/2014/CBCL-LM), Osmaniye ilinden izole edilen *L. infantum* (MHOM/TR/2012/CBCL-LI) ve Diyarbakır ilinden izole edilen *L. donovani* (MHOM/TR/2014/CBCL-LD) türleri kullanılmıştır. Bu izolatlar Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'nda ITS1 ve hsp70 bölgesine özgü primer ve problemler ile genotiplendirildikten sonra kriyoprezervasyonu yapılan ve sıvı azotta saklanan izolatlardır<sup>(7-9)</sup>.

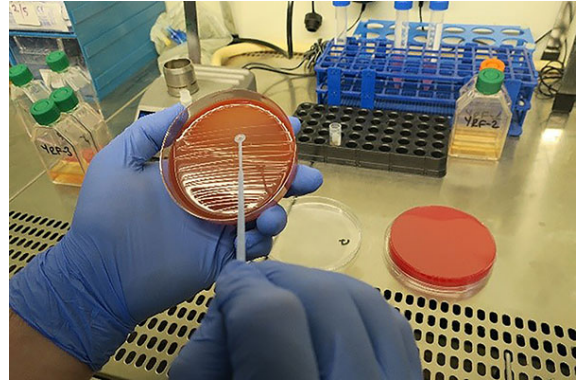
Çalışmamızda, kanlı agar ve çikolata agar plakları hazırlanmıştır. Kanlı agar hazırlamak için "meat extract" 1 g, pepton 1 g, sodyum klorit 0.5 g ve agar 1.5 g tartılmış ve 250 mL'lik balon içerisine aktarılmıştır. 100 mL distile su eklenerek hafifce ısıtılarak agarın erimesi sağlanmış ve içerik homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. Balon 121°C'de (15 psi basınç) otoklavlanarak sterilizasyon işlemi yapılmıştır. Balonun sıcaklığı 45-50°C'ye kadar soğutulmuş ve içerisine %10 oranında steril cam boncuk yardımıyla defibrine edilmiş tavşan kanı, %1 penisilin/streptomisin ve %1 gentamisin eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışım 15 cm çaplı steril petri kaplarına 10'ar ml dökülmüş ve

kullanılincaya kadar +4°C'de saklanmıştır. Kanlı agar ve çikolata agardan her suş için 1'er plak hazırlanmıştır. Çikolata agar da kanlı agar gibi hazırlanmıştır, ancak petrilere dökmeden önce balon 80°C'lik su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda besiyerinin rengi çikolata rengini almıştır. Aynı şekilde steril petri kaplarına dökülerek besiyeri hazırlanmıştır.

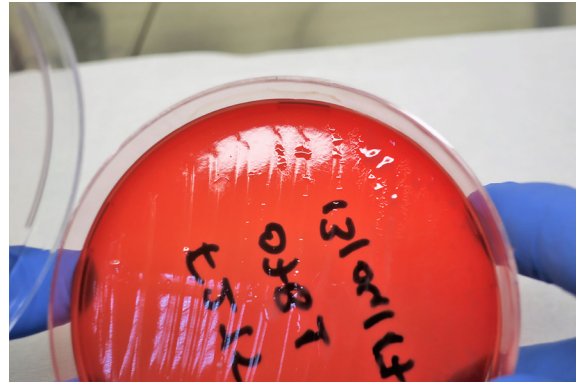
Uygun koşullarda sıvı azot tankından çıkarılan *Leishmania* spp. izolatlarının NNN besiyerine ve RPMI 1640 (%10 FCS) besiyerine ekimleri yapılmış ve 25°C'lik etüv içerisinde inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerleri gün aşırı kontrol edilerek promastigotların logaritmik faza girmesi beklenmiştir. Logaritmik faza giren promastigotların, 10 µl'lik yuvarlak uçlu plastik steril öze kullanılarak çizgi ekim yöntemi ile kanlı agar ve çikolata agara ekimleri yapılmıştır (Şekil 1). Ekim yapılan plakların kurummasını ve kontaminasyonu engellemek amacıyla etrafı parafilm ile kapatılmış ve 25°C'lik etüve inkübasyon için bırakılmıştır. Ekim yapılan plaklar gün aşırı kontrol edilerek koloni oluşumları gözlenmiştir.

## BULGULAR

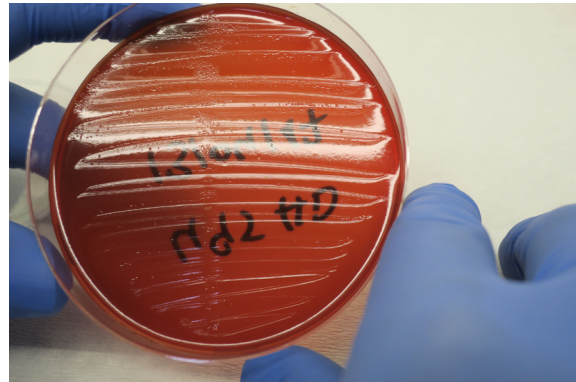
Kanlı ve çikolata agar plakta ekim yapılmış olan promastigotlar 25°C'lik etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince belirli aralıklarla etüvden çıkarılan plaklar promastigotların koloni oluşturması açısından takibi yapılarak değerlendirilmiştir (Şekil 2-5). İnkübasyonun 7. gününde çikolata agarda herhangi bir koloni oluşumu gözlenmezken, kanlı agarda *L. tropica*, *L. infantum* ve *L. donovani*'de koloni büyüklüklerinin ortalama 0.9 mm olduğu, *L. major*'de ise ortalama 0.8 mm olduğu bulunmuştur. İnkübasyonun 14. gününde çikolata agarda *L. tropica* ve *L. donovani*'nin bulunduğu plaklardaki ortalama koloni büyüklüklerinin 0.5 mm, *L. major*'ün ortalama 0.6 mm'ye, *L. infantum*'un ekim yapıldığı plakta ise ortalama koloni büyüklüğünün 0.7 mm olduğu gözlenmiştir. Kanlı agarda ise inkübasyonun 14. gününde koloni büyüklüğünün ortalama *L. tropica* ve *L. donovani*'de 1.9 mm'ye ulaşırken, *L. major*'de 1.8



Şekil 1. *Leishmania* promastigotlarının besiyerine ekimi

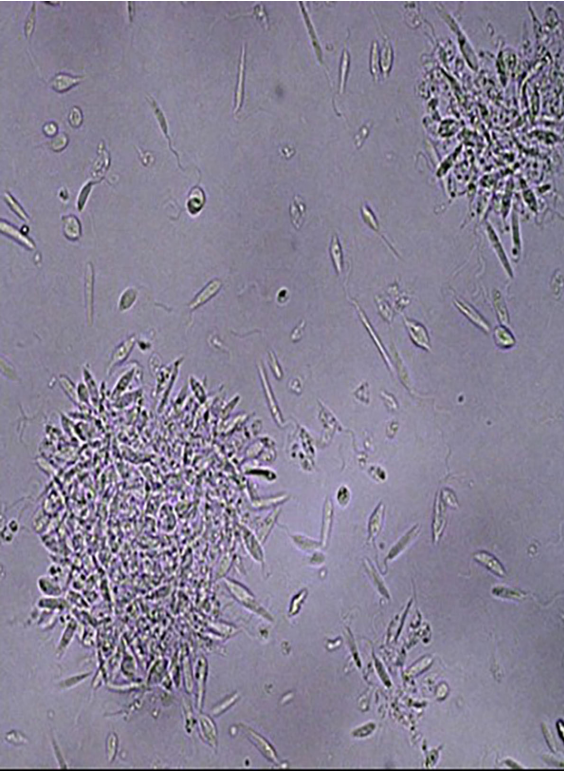


Şekil 2. Kanlı agardaki *Leishmania* kolonileri

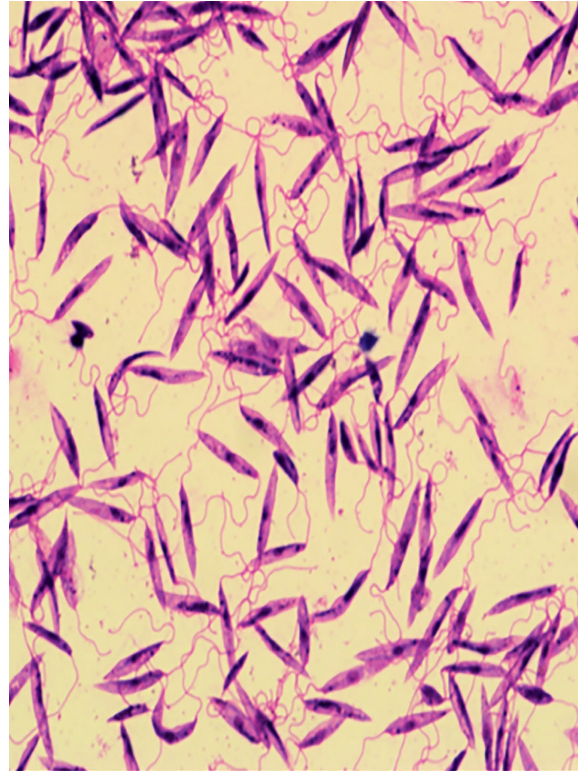


Şekil 3. Çikolata agardaki *Leishmania* kolonileri

mm, *L. infantum*'da ortalama koloni büyüklüğü 2.0 mm kadar ulaştığı belirlenmiştir. İnkübasyonun 21. gününde çikolata agardaki ortalama koloni büyüklüklerinin *L. tropica*, *L. major* ve *L. infantum*'da 0.8 mm olduğu gözlemlenirken, *L. donovani*'nin ekim yapıldığı plakta ise ortalama koloni büyüklüğünün 0.6 mm olduğu görülmüştür. Kanlı agarda ise ortalama koloni büyüklüklerinin *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum* ve



Şekil 4. Koloniden hazırlanan direkt preparatta *Leishmania* promastigotları



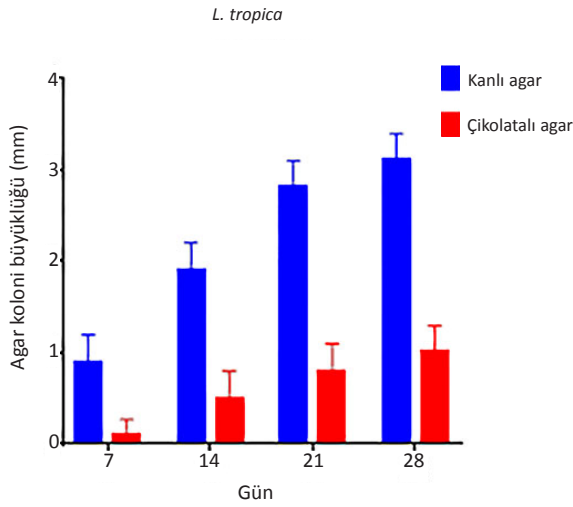
Şekil 5. Koloniden hazırlanan Giemsa boyalı preparatta *Leishmania* promastigotları

*L. donovani*'nin ekim yapıldığı plaklarda sırasıyla 2.8 mm, 2.7 mm, 2.9 mm ve 2.7 mm olarak saptanmıştır. Plaklara yapılan ekimin 28. gününde ise çikolata agarda *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum* ve *L. donovani*'deki ortalama koloni büyüklükleri 1.0 mm, 0.9 mm, 1.0 mm ve 0.8 mm olarak belirlenmişken; kanlı agardaki koloni büyüklükleri sırasıyla 3.1 mm, 3.1 mm, 3.3 mm ve 3.0 mm olarak belirlenmiştir (Şekil 6-9).

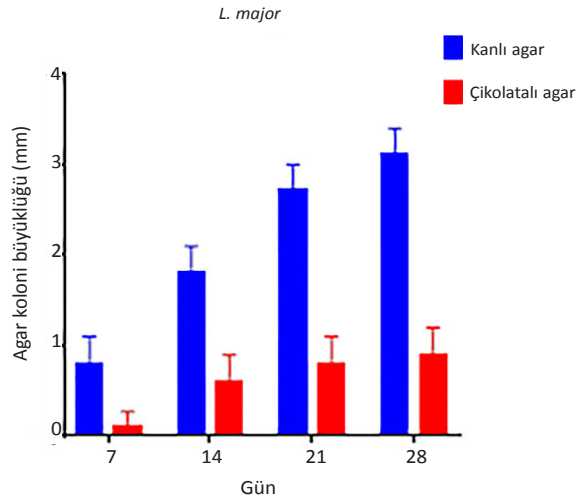
*Leishmania major*, *L. infantum* ve *L. donovani*'nin ekim yapıldığı kanlı agar ve çikolata agardaki üremeleri arasındaki farkın 7., 14., 21. ve 28. günlerde anlamlı ( $p < 0.05$ ) olduğu bulunmuş ve kanlı agarda daha iyi üreme olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, tüm suşların 7., 14., 21. ve 28. günlerde kanlı agardaki koloni oluşumunun çikolata agardan daha iyi olduğu istatistiksel olarak da saptanmıştır (Şekil 6-9).

## TARTIŞMA

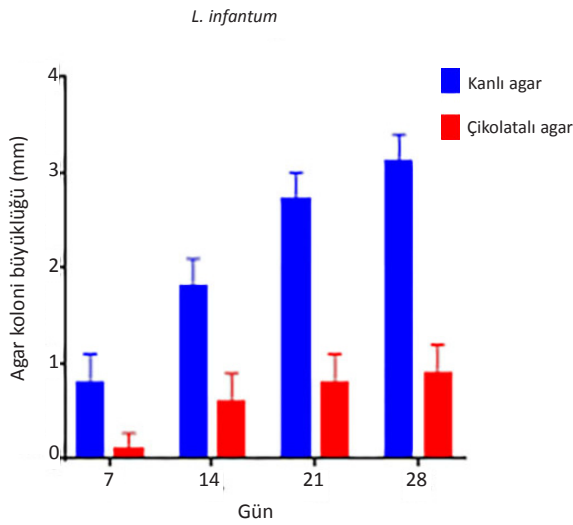
Antarktika dışında bütün kıtalarda yayılım gösteren leishmaniasis, vektör aracılığıyla bulaştırılan zoonotik/antroponotik karakterli bir protozoon paraziter enfeksiyon hastalığıdır. Morfolojik olarak farklı olmayan çeşitli *Leishmania* türleri, göreceli olarak daha az öneme sahip öldürücü olmayan ve kendiliğinden iyileşebilen deri enfeksiyonundan, iç organları tutan ve epidemilerle binlerce kişinin ölümüne neden olabilen sistemik enfeksiyona kadar farklı hastalıklara neden olmaktadır. Tanıda besiyerinde promastigotlar ilk olarak 1904 yılında Novy, MacNeal, Nicolle tarafından agar, pepton ve defibrine tavşan kanının kullanıldığı NNN besiyerinde gösterilmiştir<sup>(10)</sup>. 1944 yılında sitratlı insan plasmasının kullanıldığı Weinman besiyeri<sup>(11)</sup>, 1950 yılında difazik besiyeri olan Tobi besiyeri yayınlanmıştır<sup>(12)</sup>. Özellikle 1970'lerden bu yana sıvı besiyerlerinin kullanılmaya başlanmasıyla



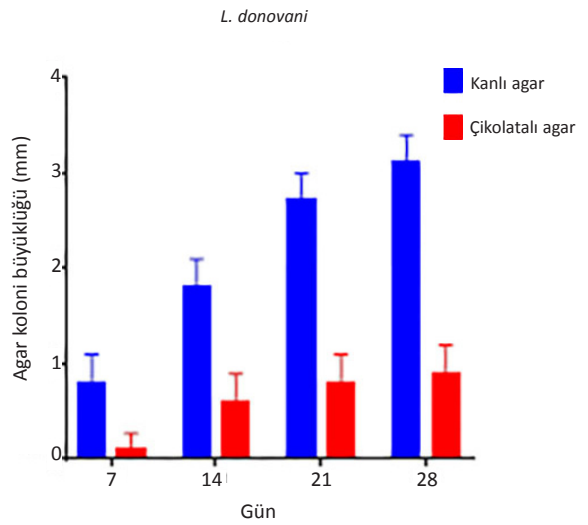
Şekil 6. *Leishmania tropica*'da gözlenen koloni büyüklükleri



Şekil 7. *Leishmania major*'da gözlenen koloni büyüklükleri



Şekil 8. *Leishmania infantum*'da gözlenen koloni büyüklükleri



Şekil 9. *Leishmania donovani*'de gözlenen koloni büyüklükleri

besiyerleri boyama yöntemleri ile birlikte altın standart olarak kabul edilmiştir. Her ne kadar birçok *Leishmania* türü sıvı besiyerinde kolayca üretilebilse de, promastigotların agar plak üzerinde koloniler hâlinde üretilmesi çok sayıda klon üretilebilmesi ve koloni çapı sayesinde kolayca nicelendirilebilmesi ile moleküler ve genotipleme çalışmalarında önemli avantajlar sağlamaktadır<sup>(6)</sup>.

Hindistan'da 2008 yılında yapılan bir çalışmada<sup>(6)</sup>, çikolata ve kanlı agarlara promastigot ekimi yapılmışlar ve yapılan ekim sonucunda 30 adet çikolata agar

plağının tamamında promastigot kolonilerinin inkübasyonun 3. gününde saptanabilir hale geldiği ve 6. gününde ise maksimum boyutlarına (yaklaşık 5 mm çapında) ulaştığı bildirilmiştir. Ancak, standart kanlı agar besiyerlerinde koloni oluşumlarının 4. güne (26 plakta) veya 5. güne (4 plakta) kadar görülmediği, 8. güne kadar ise kolonilerin maksimum boyutlarına (yaklaşık 5 mm çapında) ulaşmadığı belirtilmiştir<sup>(6)</sup>. Çalışmamızda ise, *L. donovani*'nin ekim yapıldığı plakta inkübasyonun 7. gününde çikolata agarda herhangi bir koloni oluşumu gözlenmezken, kanlı agarda koloni büyüklüklerinin ortalama 0.9 mm olduğu,

inkübasyonun 14. gününde çikolata agarda ortalama koloni büyüklüklerinin 0.5 mm olduğu, kanlı agarda ise ortalama koloni büyüklüğünün 1.9 mm'ye ulaştığı, inkübasyonun 21. gününde çikolata agardaki ortalama koloni büyüklüklerinin 0.6 mm olduğu, kanlı agarda ise ortalama koloni büyüklükleri 2.7 mm olarak saptandığı ve plaklara yapılan ekimin 28. gününde ise çikolata agarda ortalama koloni büyüklükleri 0.8 mm olarak belirlenirken; kanlı agardaki koloni büyüklükleri 3.0 mm olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, *L. tropica*, *L. major* ve *L. infantum* türlerinin ekim yapıldığı plaklarda ise inkübasyonun 7. gününde çikolata agarda herhangi bir koloni oluşumu gözlenmezken, kanlı agarda *L. tropica* ve *L. infantum*'da koloni büyüklüklerinin ortalama 0.9 mm olduğu, *L. major*'de ise ortalama 0.8 mm olduğu bulunmuştur. İnkübasyonun 14. gününde çikolata agarda *L. tropica*'nın bulunduğu plaktaki ortalama koloni büyüklüklerinin 0.5 mm, *L. major*'ün ortalama 0.6 mm'ye, *L. infantum*'un ekim yapıldığı plakta ise ortalama koloni büyüklüğünün 0.7 mm olduğu gözlenmiştir. Kanlı agarda ise inkübasyonun 14. gününde koloni büyüklüğünün ortalama *L. tropica*'da 1.9 mm'ye ulaşırken, *L. major*'de 1.8 mm, *L. infantum*'da ortalama koloni büyüklüğü 2.0 mm kadar ulaştığı belirlenmiştir. İnkübasyonun 21. gününde çikolata agardaki ortalama koloni büyüklüklerinin *L. tropica*, *L. major* ve *L. infantum*'da 0.8 mm olduğu görülmüştür. Kanlı agarda ise ortalama koloni büyüklüklerinin *L. tropica*, *L. major* ve *L. infantum*'un ekim yapıldığı plaklarda sırasıyla 2.8 mm, 2.7 mm ve 2.9 mm olarak saptanmıştır. Plaklara yapılan ekimin 28. gününde ise çikolata agarda *L. tropica*, *L. major* ve *L. infantum*'daki ortalama koloni büyüklükleri 1.0 mm, 0.9 mm ve 1.0 mm olarak belirlenirken; kanlı agardaki koloni büyüklükleri sırasıyla 3.1 mm, 3.1 mm ve 3.3 mm olarak saptanmıştır (Şekil 6-9).

Muniaraj ve ark.<sup>(5)</sup> tarafından *L. donovani* promastigotlarının kanlı agar plaklarında uzun süre korunmasıyla ilgili yapılan bir çalışmada ise, *L. donovani* izolatlarının pasaj ya da pahalı olanaklar gerektirmeden kanlı agarda 7 ay boyunca korunabileceğini belirtmiş-

lerdir. Ayrıca pasajların haftalık olarak NNN besiyerinde 24±1°C'de tutulan kültürler için, 7 aylık bir süre boyunca yaklaşık 30 alt kültür gerektiği, her bir alt kültürün bakteri veya mantar kontaminasyonu riskini arttırabileceği vurgulanmıştır. Bunlara bağlı olarak alt kültür sıklığının azalması, yalnızca iş yükünü hafifletmesi açısından değil aynı zamanda çalışanlara bulaş riskini de azaltabileceği ve sağlam bir ortamda promastigotların korunması sırasındaki taşıma sırasında sızıntı riskinin en aza indirgenmesinin de önemli avantajlarından biri olduğunu bildirmişlerdir<sup>(5,13)</sup>.

Çalışmamızda ise, 7. günde kanlı agar ile çikolata agar arasındaki koloni büyüklükleri arasındaki farklılıkta istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken ( $p>0.05$ ), 14. günde kanlı agar ve çikolata agar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu ( $p<0.05$ ) ve 21. ve 28. günde aynı şekilde anlamlı bir fark ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, 7., 14., 21. ve 28. günlerde kanlı agardaki koloni büyüklüklerinin çikolata agara göre daha iyi ve daha kısa sürede olduğu istatistiksel olarak da saptanmıştır. Kanlı agarın tek koloni ile yapılacak başta genotipleme olmak üzere mikst enfeksiyonların olduğu olgularda türlerin ayrı ayrı elde edilmesinde güvenle kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı BAP 2016-165 nolu projesi ile desteklemiş olan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'na sağladıkları katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Özbel Y, Töz SÖ. Leishmaniasis. In: Özcel MA, Özbel Y AM. (Eds) Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği; 2007:197-244.
2. *Leishmaniasis* <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> [Erişim tarihi: Şubat 2019]

3. Çavuş İ, Ocak F, Kaya T, Özbilgin A. Manisa ilimizde görülen leishmaniasis etkeni *Leishmania* türlerinin kriyoprezervasyonu. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi*. 2017; 41(3):152-5.  
<https://doi.org/10.5152/tpd.2017.5267>
4. Muniaraj M, Gupta AK, Narayan S, et al. Removal of bacterial and yeast contamination from *Leishmania* promastigote cultures, by agar plating. *Ann Trop Med Parasitol*. 2005;99(6):617-21.  
<https://doi.org/10.1179/136485905X51337>
5. Muniaraj M, Gupta AK, Narayan S, et al. Preservation of *Leishmania donovani* promastigotes in blood agar slants. *J Commun Dis*. 2005;37(3):191-5.
6. Muniaraj M, Das P. *Leishmania donovani* promastigotes on "chocolate" agar. *Ann Trop Med Parasitol*. 2008;102(5):451-3  
<https://doi.org/10.1179/136485908X300850>
7. Tai N El, Osman F, Fari M El, Presber W, Schönian G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000;94(5):575-9.  
[https://doi.org/10.1016/s0035-9203\(00\)90093-2](https://doi.org/10.1016/s0035-9203(00)90093-2)
8. Toz SO, Culha G, Zeyrek FY, et al. A real-time ITS1-PCR based method in the diagnosis and species identification of *Leishmania* parasite from human and dog clinical samples in Turkey. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(5):e2205.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002205>
9. Van der Auwera G, Bart A, Chicharro C, et al. Comparison of *Leishmania* typing results obtained from 16 European clinical laboratories in 2014. *Euro Surveill*. 2016;21(49):pii30418  
<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.49.30418>
10. Novy FG. MW. On the cultivation of *Trypanosoma brucei*. *J Infect Dis*. 1904;1(1):1-30.
11. Weinman D. Cultivation of *Trypanosoma gambiense* in vitro in cell-free medium. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1944;55:82-3.  
<https://doi.org/10.3181/00379727-55-14468P>
12. Tobie Ej, Von Brand T, Mehlman B. Cultural and physiological observations on *Trypanosoma rhodesiense* and *Trypanosoma gambiense*. *J Parasitol*. 1950;36(1):48-54.
13. Collins CH, Lyne PM, Grange JM. Collins and Lyne's Microbiological Methods (*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes, Flavobacterium, Chromobacterium* and *Acetobacter*). 1989. [http://mmstcchemistry.weebly.com/uploads/2/4/1/2/24121933/microbiological\\_methods.pdf](http://mmstcchemistry.weebly.com/uploads/2/4/1/2/24121933/microbiological_methods.pdf) [Erişim tarihi: Şubat 2019]



# Adana'da Bir Üniversite Hastanesinde İzole Edilen Solunum Yolu Patojenleri ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi<sup>§</sup>

## Evaluation of Respiratory Pathogens Isolated in a University Hospital in Adana and Their Antibiotic Resistance Profiles

Aylin Altay Koçak\*<sup>©</sup>, Buket Yayla\*\*<sup>©</sup>, Aylin Üsküdar Güçlü\*<sup>©</sup>, Hasan Cenk Mirza\*<sup>©</sup>, Elvan Hortaç İhtar\*<sup>©</sup>  
Hikmet Eda Alışkan\*\*<sup>©</sup>, Ahmet Başustaoğlu\*<sup>©</sup>

\*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

\*\*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana Dr. Turgut Noyan Uygulama ve Arştırma Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Adana

### öz

**Amaç:** Toplum kökenli ve nozokomiyal solunum yolu enfeksiyonları (SYE) ile ilişkili morbidite ve mortalite, klinisyenler için önemli ve artan bir sorun oluşturmaktadır. Bu retrospektif çalışmanın amacı, Başkent Üniversitesi Adana Hastanesi'ndeki SYE hastalarında etiyolojik ajanları belirlemek ve antimikrobiyal direnç profillerini değerlendirmektir.

**Yöntem:** Nisan 2016-Mayıs 2018 arasında balgam ve derin trakeal aspirat (DTA) kültürlerinden izole edilen bakteriyel etkenler çalışmaya dâhil edilmiştir. Bakterilerin tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve otomatize bir sistem kullanılmış ve izolatların antibiyotik duyarlılıkları CLSI 2016 standartlarına göre değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Toplamda 442 hastadan alınan 245 balgam ve 396 DTA kültüründen patojen kabul edilen 641 bakteri izole edilmiştir. En sık izole edilen etkenler *Acinetobacter baumannii* (%25), *Pseudomonas aeruginosa* (%12.6), *Klebsiella* spp. (%14.7), *Escherichia coli* (%10), *Haemophilus influenzae* (%6.9), *Staphylococcus aureus* (%5.5) ve *Streptococcus pneumoniae* (%5.1)'dir. Hastaların 116'sında (%26.2) birden fazla farklı etken üremiştir. Toplamda, *A. baumannii* izole edilen hastaların %80.6'sının, *P. aeruginosa*'nın %86.5 ve *Klebsiella pneumoniae*'nin %79.5'inin yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar olduğu görülmüştür.

**Sonuç:** Sonuç olarak, solunum yolu enfeksiyonu etkeni izolatların direnç oranlarındaki artış dikkat çekici bulunmuştur. En yaygın saptanan izolatlar olan *A. baumannii* ve *K. pneumoniae*'nin tüm antibiyotik gruplarına yüksek direnç oranları göstermesi endişe vericidir. Doğru antibiyotik kullanımı için belirli zaman aralıklarında SYE'li hastalardan izole edilen bu tür mikroorganizmaların dağılım ve direnç profillerini gösteren çalışmaların yapılması gereklidir. Sonuçların ampirik tedavi protokollerinin güncellenmesinde ve klinisyenlerin doğru antibiyotik kullanımı konusunda yönlendirilmesinde yararlı olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik direnci, bakteriyel solunum patojenleri, solunum yolu enfeksiyonları

### ABSTRACT

**Objective:** The morbidity and mortality associated with the community-acquired and nosocomial respiratory tract infections (RTIs) pose a significant and growing challenge to clinical practitioners. The aim of this retrospective study was to determine the etiologic agents in patients with RTIs in Başkent University Adana Hospital and to evaluate their antimicrobial resistances.

**Methods:** Sputum and trans tracheal aspirate (TTA) cultures from April 2016 to May 2018 were evaluated. Conventional methods and an automatized microbiological system were used for the identification and the antimicrobial susceptibility tests were performed according to the CLSI 2016 standards.

**Results:** A total of 641 bacterial pathogens were isolated from 245 sputum and 396 TTA cultures of 442 patients. Most prevalent isolates were, *Acinetobacter baumannii* (25%), *Pseudomonas aeruginosa* (12.6%), *Klebsiella* spp. (14.7%), *Escherichia coli* (10%), *Haemophilus influenzae* (6.9%), *Staphylococcus aureus* (5.5%) and *Streptococcus pneumoniae* (5.1%). More than one agent was isolated from 116 patients (26.2%). Overall 80.6% of *A. baumannii*, 86.5% of *P. aeruginosa* and 79.5% of *Klebsiella pneumoniae* isolates were recovered from the intensive care unit patients.

**Conclusion:** In conclusion, the increase in resistance rates of respiratory tract infection isolates was found to be remarkable. The high resistance rates to all antibiotic groups of the predominant isolates *A. baumannii* and *K. pneumoniae* are worrying. It is necessary to perform studies showing the distribution and resistance pattern of such microorganisms isolated from patient with RTIs at certain time intervals for correct antibiotic use. The results are thought to be useful for updating empirical treatment protocols and guiding clinicians on the correct use of antibiotics.

**Keywords:** Antibiotic resistance, bacterial respiratory pathogens, respiratory tract infections

### Alındığı tarih:

10.07.2019

### Kabul tarihi:

19.09.2019

### Yayın tarihi:

31.12.2019

### ORCID Kayıtları

A. Altay Koçak 0000-0002-0451-0142

B. Yayla 0000-0002-3556-5285

A. Üsküdar Güçlü 0000-0002-1872-028X

H. C. Mirza 0000-0002-8853-3893

E. Hortaç İhtar 0000-0002-4335-6897

H. E. Alışkan 0000-0001-9060-3195

A. Başustaoğlu 0000-0002-2571-0637

✉ aylnalty@hotmail.com

<sup>§</sup>Bu çalışma 3<sup>rd</sup> Eurasian Respiratory and Allergy Summit'te (6-9 Eylül 2018) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

© 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. Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

## GİRİŞ

Solunum yolu enfeksiyonları, antibiyotik kullanımının en yaygın nedeni olup, dünya genelinde morbidite ve mortalitenin başlıca nedenlerindedir. Bu hastalıklara neden olan etkenler toplum veya hastane kaynaklı olabilir. Toplum kaynaklı solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkili en yaygın bakteriyel etkenler *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve daha az sıklıkla *Streptococcus pyogenes*'tir<sup>(1,2)</sup>. Bunların yanında, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisine dirençli enterokok türleri ve çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* hem hastane hem de toplum kaynaklı enfeksiyonlar ile ilişkilidir<sup>(3)</sup>. Çoklu ilaç dirençli *A. baumannii*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri dünya genelinde, hastanelerde büyük bir endişe kaynağı hâline gelmiştir<sup>(4)</sup>.

Alt solunum yolu enfeksiyonları, özellikle de yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda en sık karşılaşılan hastane kökenli enfeksiyonlar arasında<sup>(5,6)</sup> olup, tedavide geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, bu tip enfeksiyonlara yol açan etkenlerde antibiyotik direncinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Çoklu antibiyotik direnci gösteren patojenler ile ilişkili nozokomiyal enfeksiyonlar, klinisyenlere hem hastaların tedavisinde hem de yayılmalarının engellenmesinde zorluk yaratmaktadır<sup>(5)</sup>. Antimikrobiyal ilaçlara artan direnç ve çoklu ilaç dirençli mikroorganizmaların yayılması invaziv enfeksiyonların tedavisini de zorlaştırmaktadır<sup>(7,8)</sup>.

Bu tür enfeksiyonlara neden olan yaygın patojenlerin ve mevcut antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç paternlerinin ortaya konulması, terapötik stratejilerin tanımlanması için önem taşımaktadır. Solunum yolu enfeksiyonlarından sorumlu bakteriyel patojenler ve antibiyotik dirençleri; ülkeye, ülkenin bölgelerine, hastaneye, kliniklere ve hatta klinik koşullarına göre değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle, etiyolojik

etkenlerin ayrıntılı analizinin ele alındığı yerel sürveys verilerine gereksinim vardır<sup>(7)</sup>. Bu retrospektif çalışmanın amacı, Başkent Üniversitesi Adana Hastanesi'nde yatan hastalardaki yaygın bakteriyel solunum yolu patojenlerini ve antimikrobiyal direnç profillerini tanımlamaktır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya Nisan 2016-Mayıs 2018 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Adana Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarına bakteriyolojik kültür için gönderilen solunum yolu örneklerinden izole edilen bakteriler dâhil edilmiştir. Solunum yolu enfeksiyonu olan, yatarak tedavi gören 442 erişkin hastadan alınan balgam veya derin trakeal aspirat (DTA) örneklerinin mikrobiyolojik analizleri yapılarak sonuçları değerlendirilmiştir. Uygun şekilde alınan balgam ve DTA örnekleri, konvansiyonel kültür yöntemlerine göre yapılmış ve kültür plakları 18-24 saat 35-37°C'de %5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda üremeler değerlendirilmiştir. Bakteriyel izolatların tanımlanması otomatize bir sistem olan Vitek 2 (bioMérieux, Fransa) kullanılarak üretici firma direktiflerine göre yapılmıştır.

### Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

İzolatların antimikrobiyal duyarlılık testleri standart Kirby-Bauer disk difüzyon testi kullanılarak yapılmıştır. İnhibisyon zon çapları ölçülmüş ve CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir (2016)<sup>(9)</sup>. *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* türleri için kolistin direnci E-test yöntemiyle (AB Biodisk, İsveç) çalışılmış ve  $\geq 4$  µg/ml MİK değeri dirençli,  $\leq 2$  µg/ml MİK değeri duyarlı olarak kabul edilmiştir. *Escherichia coli* ATCC 25922 kolistin duyarlılığı için kalite kontrol suşu olarak kullanılmıştır. Stafilokoklarda metisilin direnci 30 µg sefoksitin diski (Oxoid, İngiltere) kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. İnkübasyon sonunda inhibisyon zon çapı  $\leq 21$  mm olan izolatlar metisilin dirençli olarak değerlendirilmiştir. *S. aureus* ATCC 25923 sefoksitin duyarlılığı için kalite kontrol suşu olarak kullanılmıştır. *S. pneumoniae* izolatlarında oksasilin zon çapı  $\leq 19$  mm olan izolatların penisilin ve sefotaksime

duyarlılıkları E-test yöntemiyle (AB Biodisk, İsveç) çalışılmış ve MİK değerleri CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir<sup>(9)</sup>.

Elde edilen sonuçlar retrospektif olarak analiz edilmiş; etken olarak ilk izole edilen bakterilerin oranları ve bu bakterilere ait antimikrobiyal duyarlılık oranları değerlendirilmiştir. Aynı hastaların yineleyen izolatları çalışmaya dâhil edilmemiştir. Yoğun Bakım ünitelerinde (YBÜ) ve diğer yataklı servislerde yatan hastalardan en sık izole edilen etkenlerin dağılımları ve antibiyotiklere direnç oranları analiz edilmiş ve karşılaştırılmıştır.

### İstatistiksel Analiz

Yoğun bakım üniteleri ve diğer yataklı servislerde yatan hastalarda en sık izole edilen bakteriyel etkenlerin antibiyotiklere direnç oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı "IBM SPSS Statistics Version 20.0" programı kullanılarak Pearson ki-kare testi ile analiz edilmiştir.

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından (Proje no:KA18/257) onaylanmıştır.

### BULGULAR

Çeşitli kliniklerde yatan 442 hastanın (286 erkek, 156 kadın) 245 balgam (%38.2) ve 396 DTA (%61.8) kültüründen toplam 641 bakteriyel patojen izole edilmiştir. Hastaların tedavi gördükleri kliniklerin dağılımı; pediatri yoğun bakım ünitesi (YBÜ) (%8.1), yenidoğan YBÜ (%0.9), nöroloji YBÜ (%12.4), kardiyovasküler cerrahi YBÜ (%3.6), cerrahi ve reanimasyon YBÜ (%6.6), koroner YBÜ (%2.5) ve iç hastalıkları YBÜ (%31.4) ve diğer klinikler (%34.4) şeklindedir.

İzole edilen patojenlerin çoğu (%80.8) Gram negatif bakterilerdir (518/641), Gram pozitif bakterilerin oranı daha düşüktür (123/641). En sık *A. baumannii* (%25), *P. aeruginosa* (%12.6), *Klebsiella* spp. (%14.7), *E. coli* (%10), *H. influenzae* (%6.9), *S. aureus* (%5.5) ve *S. pneumoniae* (%5.1) izole edilmiştir. Saptanan bakterilerin %7'si ise, diğer Gram negatif non-fermenter bakterilerdir. Hastaların 116'sında (%26.2) birden fazla etken üremiştir. Çalışmamızda saptanan bakteriyel etkenlerin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *S. aureus* enfeksiyonu saptanan hastaların sırasıyla

Tablo 1. İzole edilen bakteriyel patojenlerin oranları ile balgam ve DTA kültürlerindeki dağılımları.

Yaygın İzolatlar	Balgam Kültürü		DTA Kültürü		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	45	28.1	115	71.9	160	25
<i>Klebsiella</i> spp.	23	24.5	71	75.5	94	14.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19	23.5	62	76.5	81	12.6
<i>Escherichia coli</i>	29	45.3	35	54.7	64	10
Diğer non-fermenter basiller	35	77.8	10	22.2	45	7
<i>Haemophilus influenzae</i>	38	86.4	6	13.6	44	6.9
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	17.1	29	82.9	35	5.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	21	63.6	12	36.4	33	5.1
<b>Ender İzolatlar</b>						
<i>Serratia marcescens</i>	3	17.6	14	82.4	17	2.7
<i>Proteus mirabilis</i>	3	25	9	75	12	1.9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	8	66.7	4	33.3	12	1.9
KNS	1	9.1	10	90.9	11	1.7
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	5	55.6	4	44.4	9	1.4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	22.2	7	77.8	9	1.4
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	50	3	50	6	0.9
<i>Citrobacter koseri</i>	2	66.7	1	33.3	3	0.5
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	3	100	3	0.5
<i>Morganella morganii</i>	1	50	1	50	2	0.3
<i>Providencia rettgeri</i>	1	100	0	0	1	0.2
Toplam	245	38.2	396	61.8	641	100

DTA: Derin trakeal aspirat, KNS: Koagülaz negatif stafilokoklar

Tablo 2. İzole edilen yaygın solunum yolu patojenlerinin antibiyotik direnç oranları.

% (n/N)	<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=160)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=81)	<i>Escherichia coli</i> (n=64)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=94)	Diğer Non-fermenter basiller (n=45)	<i>Staphylococcus aureus</i> (n=35)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (n=33)	<i>Haemophilus influenzae</i> (n=44)
AK	85.5	16.3	1.6	30.6	14.6	-	-	-
AMC	-	-	34.4	60.9	-	28.6	-	-
AM	-	-	86.9	-	-	-	-	25.0
SAM	62.9	-	40.3	65.9	-	28.6	-	-
CN	84.1	11.1	18.0	52.9	20.9	-	-	-
IPM	91.7	26.9	1.7	42.4	18.2	-	-	-
CT	2	-	-	11	-	-	-	-
LEV	90	24.7	57.4	51.8	22.2	22.9	0	-
MEM	92.3	26.3	1.6	42.4	11.6	-	-	-
NET	-	23.5	6.6	39.5	19.0	-	-	-
F	-	-	-	100	-	-	-	-
NOR	-	50.0	66.7	100	-	-	-	-
OFX	-	40.0	50.0	100	-	-	3.2	-
TPZ	92.3	25.6	14.8	55.8	11.9	-	-	-
CZ	-	-	58.1	77.9	-	-	-	-
FEP	82.2	25.3	48.4	73.3	25.0	-	-	-
FOX	-	-	13.1	48.8	-	28.6	-	-
CES	31	23.5	4.8	43.5	9.3	-	-	-
CTX	92.9	-	53.2	74.1	-	-	3.7	-
CAZ	91.7	19.2	52.5	74.1	9.5	-	-	-
CRO	-	-	53.2	74.1	-	-	-	13.6
CXM	-	-	53.2	76.5	-	-	-	31.8
CIP	90.5	25.0	57.4	51.2	22.2	22.9	-	-
SXT	-	-	38.7	65.1	-	-	40.6	54.5
E	-	-	-	-	-	20.0	48.5	-
LNZ	-	-	-	-	-	-	0	-
P	-	-	-	-	-	82.9	2.9	-
RA	-	-	-	-	-	-	3.4	-
CLR	-	-	-	-	-	20.0	-	18.2
CEC	-	-	-	-	-	-	-	40.9
AZM	-	-	-	-	-	20.0	-	-
DA	-	-	-	-	-	14.3	-	-
VA	-	-	-	-	-	-	0	-

AK: Amikasin, AMC: Amoksisilin/klavulanik asit, AM: Ampisilin, SAM: Ampisilin sulbaktam, CN: Gentamisin, IPM: İmipenem, CT: Kolistin, LEV: Levofloksasin, MEM: Meropenem, NET: Netilmisin, F: Nitrofurantoin, NOR: Norfloksasin, OFX: Ofloksasin, TPZ: Piperasilin/Tazobaktam, CZ: Sefazolin, FEP: Sefepim, FOX: Sefoksitin, CES: Sefoperazon/sulbaktam, CTX: Sefotaksim, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, CXM: Sefuroksim, CIP: Siprofloksasin, SXT: Sulfametoksazol/Trimetoprim, E: Eritromisin, LNZ: Linezolid, P: Penisilin, RA: Rifampin, CLR: Klaritromisin, CEC: Sefaklor, AZM: Azitromisin, DA: Klindamisin, VA: Vankomisin

%80.6, %86.5, %79.5, %55.9 ve %76.2'si YBÜ'lerinde yatan hastalardır. *H. influenzae* ve *S. pneumoniae* saptanan hastaların ise %63.9 ve %56.5'i diğer yataklı servislerde yatan hastalardır.

Çalışmamızda saptanan ve antibiyotiklere en dirençli izolatlar; *A. baumannii* (sefotaksim-%92.9, meropenem ve piperasilin/tazobaktam-%92.3), *Klebsiella* spp. (ampisilin-%94.1), *E. coli* (ampisilin-%86.9), *S. aureus* (penisilin-%82.9), *H. influenzae* (trimetoprim/sulfametoksazol-%54.5), *S. pneumoniae* (eritromisin-%48.5) ve *P. aeruginosa* (imipenem-%26.9)'dır (Tablo 2). *K. pneumoniae* izolatlarının kolistin direnci ise %11 olarak bulunmuştur. *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* izole edilen hastaların sırasıyla

%80.6, %86.5 ve %79.5'inin yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar olduğu görülmüştür. *A. baumannii* izolatlarının karbapenem, florokinolon, seftazidim ve piperasilin/tazobaktam direnç oranlarının %90'ın üzerinde olduğu ve direnç oranlarının YBÜ'lerinde, yataklı servislere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 3). *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatlarının YBÜ ve YS'lerdeki karbapenem, florokinolon, piperasilin/tazobaktam ve seftazidim direnç oranları Tablo 3'te verilmiştir.

*Staphylococcus aureus* izolatlarında metisilin direnci %28.6 olarak saptanmış ve metisiline dirençli olan bu izolatların vankomisin, teikoplanin ve SXT'e %100 duyarlı olduğu görülmüştür. *S. pneumoniae* izolatlarının

Tablo 3. En sık izole edilen bakterilerin yoğun bakım üniteleri (YBÜ) ve yataklı servislerdeki (YS) antibiyotik direnç oranları.

	Antibiyotik Direnç Oranları %					
	<i>Acinetobacter baumannii</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	YBÜ	YS	YBÜ	YS	YBÜ	YS
IPM	94.6 (123/130)	90 (27/30)	22.1 (17/77)	28.6 (4/14)	45.1 (32/71)	28.6 (4/14)
MEM	93.8 (122/130)	90 (27/30)	23.4 (18/77)	21.4 (3/14)	45.1 (32/71)	28.6 (4/14)
CIP	93.8 (122/130)	90 (27/30)	19.5 (15/77)	35.7 (5/14)	56.3 (40/71)	35.7 (5/14)
LEV	93.8 (122/130)	90 (27/30)	19.5 (15/77)	35.7 (5/14)	56.3 (40/71)	35.7 (5/14)
CAZ	93.8 (122/130)	90 (27/30)	16.9 (13/77)	14.3 (2/14)	76 (54/71)	71.4 (10/14)
TPZ	93.8 (122/130)	90 (27/30)	20.8 (16/77)	35.7 (5/14)	60.6 (43/71)	42.8 (6/14)

IPM: İmipenem, MEM: Meropenem, CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, CAZ: Seftazidim, TPZ: Piperasilin/Tazobaktam

penisilin duyarlılığı ise %97 oranında saptanmıştır. İki *S. pneumoniae* izolatu penisiline orta duyarlı (Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK): 0.25 ve 1.5 mg/L), biri dirençli (MİK: 3 mg/L) bulunurken, hepsi sefotaksime duyarlı (MİK: 0.064-1 mg/L) bulunmuştur. Eritromisin direnç oranı ise %48.5 (16/33) oranında bulunmuştur. Linezolid ise, tüm *S. pneumoniae* izolatları duyarlı olarak saptanmıştır.

## TARTIŞMA

Dünya genelinde, pnömoni gibi alt solunum yolu enfeksiyonları morbidite ve mortalitelerin en büyük nedenlerindedir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), pnömoninin enfeksiyon ile ilişkili ölümlerin önde gelen nedeni olduğunu bildirmektedir<sup>(10)</sup>. Hastanede yatan hastalar için fiziksel ve zihinsel sağlığı ciddi şekilde tehdit eden hastane kökenli enfeksiyonlar, küresel olarak hastanelerdeki en yaygın olumsuz durumlar olarak görülmektedir<sup>(11)</sup>. Türkiye’de ise, bakteriyel solunum yolu enfeksiyonuna neden olan patojen dağılımları ve antimikrobiyal duyarlılık oranları ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Bu nedenle yaygın patojenlerin ortaya konulması ve bu patojenlere ait antimikrobiyal direnç profillerinin belirlenmesi epidemiyolojik öneme sahiptir.

Solunum yolu enfeksiyonları, antibiyotiklerin kullanılmasındaki en yaygın nedendir; yaygın kullanım ve sıklıkla alt solunum yolu enfeksiyonları için antibiyotiklerin yanlış kullanımı, antibiyotik direncinin ortaya çıkmasındaki nedenlerdendir<sup>(12)</sup>. Solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan spesifik bakteriyel patojenler-

de antibiyotiklere direnç oranları endişe verici şekilde artmaya devam etmektedir. Solunum yolu enfeksiyonlarının en başta gelen etkenlerinden olan *S. pneumoniae* izolatlarında çoklu ilaca direnç, birçok ülkede endişe verici olarak %30-50 oranlarına ulaşmıştır<sup>(13)</sup>. Avrupa Antibiyotik Direnç Sürveyans Sistemi verileri, *S. pneumoniae* izolatlarının %22.2’sinin penisiline orta duyarlı, %10.9’unun penisiline dirençli ve %21.1’inin eritromisine dirençli olduğunu göstermektedir<sup>(14)</sup>. *S. pneumoniae* toplum kökenli alt solunum yolu enfeksiyonlarının başında gelen etkenlerden olup, günümüzde dirençli *S. pneumoniae* izolatlarının tedavisindeki sıkıntılar artan bir sorun hâline gelmiştir<sup>(15)</sup>. Ülkemizdeki 2016 yılı sürveyans verilerine göre de; *S. pneumoniae* izolatlarının %32.8’i penisiline orta duyarlı, %13.8’i penisiline dirençli, %41.3’ü ise eritromisine dirençlidir<sup>(16)</sup>. Çalışmamızdaki *S. pneumoniae* izolatlarının ise ülke ortalamasından düşük olarak %5.8’i orta duyarlı, % 2.9’u penisiline dirençli bulunurken, eritromisin direnci ülke ortalamasıyla uyumlu olarak %48.5 oranında saptanmıştır. *S. pneumoniae* izolatlarının eritromisin direnci Amerika’da %20-40 oranında bildirilmekte olup, yine çalışmamızla uyumlu olduğu, ancak, yine penisilin direncinin verilerimizden yüksek olduğu (%13.8) gözlenmiştir<sup>(15)</sup>.

EARSS-Net 2016 raporuna göre, invaziv *S. aureus* izolatlarında MRSA AB ortalaması %13.7 olarak hesaplanmıştır<sup>(17)</sup>. Ülkemizde UAMDS 2016 verilerine göre ise, invaziv *S. aureus* izolatlarında MRSA oranı %23.6 olarak saptanmıştır<sup>(18)</sup>. Bizim çalışmamızda da *S. aureus* izole edilen solunum yolu örneklerin-

deki MRSA oranı, benzer şekilde %28.6 olarak saptanmıştır.

Çoklu ilaca dirençli ve pan-resistan gram negatif bakterilerle ilgili endişeler *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp (genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz, karbapenemaz), *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*'ya odaklanmıştır. ABD'deki sağlık merkezlerini kapsayan bir araştırmaya göre; Gram negatif bakterilerin %78'i kolistin hariç tüm antibiyotiklere (*Acinetobacter* spp'nin %62'si, *Pseudomonas* spp'nin %59'u ve *Enterobacter* spp'nin %52'si) dirençlidir<sup>(18,19)</sup>. Fransa'da 2001-2011 yılları arasında bildirilen nozokomiyal *A. baumannii* enfeksiyonlarının en yaygın olarak %37'sinin solunum yolu enfeksiyonu olduğu görülmüştür<sup>(20)</sup>. EARSS-Net 2016 raporuna göre, AB ülkelerinde invaziv *Acinetobacter* spp izolatlarında çoklu ilaç direnç oranı %0-84 arasında değişmekte olup, AB ortalaması %31.7'dir. Avrupa Birliği'nde, 2016'da EARS-Net'e *P. aeruginosa* izolatlarının 1/3'ünün (%33.9) düzenli sürveyans altında olan antimikrobiyal grupların (piperasilin±tazobaktam, florokinolonlar, seftazidim, aminoglikozidler ve karbapenemler) en az birine karşı dirençli olduğu rapor edilmiştir<sup>(17)</sup>. Ülkemizdeki 2016 yılı sürveyans sonuçlarına göre, invaziv *Acinetobacter* spp izolatlarında çoklu ilaç direnci %83.5 olarak hesaplanmış ve kolistin direnci ise %6.7 olarak saptanmıştır. Çalışmamızdaki *A. baumannii* izolatlarında ise karbapenem direnci %90 civarında bulunurken, dünya genelinde sorun hâline gelmekte olan kolistin direncinin ülke ortalamasından daha düşük seyrettiği (%2) belirlenmiştir. Bilinmektedir ki uzun süre hastanede yatma ve önceki antibiyotik maruziyeti çoklu dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkmasındaki riski artırmaktadır. Alt solunum yolu enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan hastane kökenli enfeksiyonlar özellikle Yoğun Bakım Ünitesi hastalarında görülmektedir<sup>(4,5)</sup>. Bizim çalışmamızda da *A. baumannii* (%80.6), *P. aeruginosa* (%86.5) ve *K. pneumoniae* (%79.5) izole edilen hastaların büyük çoğunluğunun yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar olduğu görülmüştür. *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* izolatlarının yıllara göre antibiyotik direnç oranlarının benzer değerlerde olduğu görül-

müş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Yoğun Bakım üniteleri ve YS'lerdeki antibiyotik direnç oranları arasında ise farklılıklar görülmekle birlikte, yine istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Ülkemiz sürveyans verilerine göre de, invaziv *P. aeruginosa* izolatlarında; çoklu ilaç dirençli izolatların oranı %32.6 olup, bu izolatlardaki kolistin direnci %5.2'dir<sup>(16)</sup>. İnvaziv *K. pneumoniae* izolatlarında ise karbapenem grubu antibiyotik direnci %40 civarlarında bulunmuştur. Çoklu ilaç direnci ise %46.1 olarak saptanmıştır<sup>(16)</sup>. Bizim çalışmamızda da büyük çoğunluğu (%79.5) yoğun bakımda yatmakta olan hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnci %40 civarında saptanmıştır.

Solunum yolu enfeksiyonları, küresel olarak en büyük iki ölüm nedeni arasındadır. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar ise, YBÜ'lerindeki başlıca morbidite ve mortalite nedenleridir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması çok daha dirençli suşların gelişmesine neden olmaktadır. Direnç arttıkça, uygun ve etkili antibiyotik tedavisine başlarken gecikmeler olmakta ve sepsis sıklığı ve mortalite oranları da artmaktadır. Bu çalışma ile Adana'daki bakteriyel solunum yolu enfeksiyonu etkenleri ve direnç profilleri ortaya konmuş ve bölgesel verilere katkı sağlanmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Camara M, Dieng A, Diop A, et al. Antibiotic resistance of bacteria responsible of acute respiratory tract infections in children. *Microbiologia Medica*. 2017;32(1): 6489. <https://doi.org/10.4081/mm.2017.6489>
2. Karchmer AW. Increased antibiotic resistance in respiratory tract pathogens: PROTEKT US – An update. *Clin Infect Dis*. 2004;39(Suppl 1):S142-50. <https://doi.org/10.1086/421352>
3. Denys GA, Relich RF. Antibiotic resistance in nosocomial respiratory infections. *Clin Lab Med*. 2014;34(2):257-70. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2014.02.004>
4. Jeon J, Park J-H, Yong D. Efficacy of bacteriophage treatment against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in *Galleria mellonella* larvae and a mouse model of acute pneumonia. *BMC Microbiol*.

- 2019;19(1):70.  
<https://doi.org/10.1186/s12866-019-1443-5>
5. Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013;34(1):1-14.  
<https://doi.org/10.1086/668770>
  6. Claeys KC, Zasowski EJ, Trinh TD, Lagnf AM, Davis SL, Rybak MJ. Antimicrobial stewardship opportunities in critically ill patients with gram-negative lower respiratory tract infections: A multicenter cross-sectional analysis. *Infect Dis Ther.* 2018;7(1):135-46.  
<https://doi.org/10.1007/s40121-017-0179-5>
  7. Bhatta DR, Hamal D, Shrestha R, et al. Nasal and pharyngeal colonization by bacterial Pathogens: A comparative study between preclinical and clinical sciences medical students. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2018:7258672.  
<https://doi.org/10.1155/2018/7258672>
  8. Guitor AK, Wright GD. Antimicrobial resistance and respiratory infections. *Chest.* 2018;154(5):1202-12.  
<https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.06.019>
  9. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
  10. Center for Disease Control and Prevention. Pneumonia. <https://www.cdc.gov/pneumonia/index.html> [Erişim tarihi: 13.06.2019].
  11. Yan T, Li Y, Sun Y, et al. Hospital-acquired lower respiratory tract infections among high risk hospitalized patients in a tertiary care teaching hospital in China: An economic burden analysis. *J Infect Public Health.* 2018;11(4):507-13.  
<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.10.003>
  12. Dos Santos C, Capelo A, Cimbri M, Ferrara A. Antimicrobial resistance patterns in respiratory pathogens isolated in an Italian university hospital during a period of eight years: a statistical analysis. *Chemotherapy.* 2000;46(3):166-72.  
<https://doi.org/10.1159/000007273>
  13. Zumla A, Memish ZA, Maeurer M, et al. Emerging novel and antimicrobial-resistant respiratory tract infections: new drug development and therapeutic options. *Lancet Infect Dis.* 2014;14(11):1136-49.  
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70828-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70828-X)
  14. Flamm RK, Sader HS, Farrell DJ, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftaroline tested against drug-resistant subsets of *Streptococcus pneumoniae* from U.S. medical centers. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):2468-71.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.02557-13>
  15. Cherazard R, Epstein M, Doan TL, Salim T, Bharti S, Smith MA. Antimicrobial resistant *Streptococcus pneumoniae*: prevalence, mechanisms, and clinical implications. *Am J Ther.* 2017;24(3):e361-9.  
<https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000551>
  16. UAMDSS. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi, 2016 Yıllık Raporu, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Ankara. <http://uamdss.thsk.gov.tr> [Erişim Tarihi: Temmuz 2019]
  17. Antimicrobial resistance in Europe 2016. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2017.
  18. Drees M, Pineles L, Harris AD, Morgan DJ. Variation in definitions and isolation procedures for multidrug-resistant gram-negative bacteria: a survey of the Society for Healthcare Epidemiology of America research network. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014;35:362-6.  
<https://doi.org/10.1086/675600>
  19. WHO. World Health Organization. Antimicrobial resistance-global report and surveillance. [[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1)]. [Erişim tarihi: Mayıs 2014]
  20. Tanguy M, Kouatchet A, Tanguy B, Pichard É, Fanello S, Joly-Guillou ML. Management of an *Acinetobacter baumannii* outbreak in an intensive care unit. *Med Mal Infect.* 2017;47(6):409-14.  
<https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.06.003>

**A**

*Acinetobacter baumannii*, 67  
 Adenovirüs, 206  
 Akut bakteriyel menenjit, 11  
 Aminosterol, 55  
 Anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite, 92  
 Antibakteriyel aktivite, 186  
 Antibiyofilm aktivite, 169  
 Antibiyotik direnci, 226  
 Antibiyotik duyarlılık, 175  
 Antifungal duyarlılık, 61, 147  
 Antimikrobiyal direnç, 98  
 Antimikrobiyal duyarlılık, 17  
 Antimikrobiyal, 47  
 Antiviral direnç, 41

**B**

Bağırsak mikrobiyotası, 113  
 Bakteriyel menenjit, 191  
 Bakteriyel solunum patojenleri, 226  
 Bakteriyosin, 140  
 Besici ve sığır, 98  
 Beslenme, 113  
 Beyin omurilik sıvısı, 11  
 Boğaz kültürü, 30  
 Bruselloz, 212

**C**

*Candida parapsilosis* tür kompleksi, 61  
*Candida parapsilosis*, 24  
*Candida* türleri, 147  
 CDE, 175  
*Clostridium difficile*, 175  
 CMV, 154  
*Cryptosporidium* spp, 162

**Ç**

Çevre, 113  
 Çikolata agar, 219

**E**

Ensefalit, 11  
 Enterokok, 98  
 Erişkin hasta, 191  
 Ev içi habitat, 24

**F**

Floresan boyama, 118

**G**

GAS, 30  
 Gastroenterit, 206  
 Gebelik, 154  
 Genotipleme, 1  
*Geobacillus toebii*, 140

**H**

Halk sağlığı, 175  
 Hepatit B, 41  
 Herpes simpleks virüs, 11  
 Hızlı antijen testi, 30  
 Histopatoloji, 132

**İ**

İkili sürüntü çubuğu, 30

**K**

Kanlı agar, 219  
 Karbapenem dirençli  
*Klebsiella pneumoniae*, 17  
 Karvakrol, 67  
 Kızıl, 104  
 Klorojenik asit, 47  
 Kolistin, 17, 67  
 Konserve gıda, 140  
 Kültür, 132

**L**

*Lactobacillus* sp, 169  
*Leishmania*, 219

**M**

Metabolit, 169  
 Metod verifikasyon, 162  
 MİK, 186  
 Mikrobiyolojik kalite, 74  
 Mikroskopi, 118  
 Monopartikül, 47  
 Mortalite, 104  
 MRKNS, 35  
 MRSA, 35  
 Mutasyon, 41  
*Mycobacterium tuberculosis*, 197

**O**

Oksadiazol bileşikleri, 186  
 Ondokuzuncu yüzyıl, 104

Otizm spektrum bozukluğu, 113

**P**

Parazit, 86  
 PCR-RFLP, 61  
 PCR-Ribotip, 175  
 PCR, 125  
 Performans testleri, 197  
 Post-mortem mikrobiyoloji, 147  
 Prevalans, 86

**R**

Realtime PCR, 162  
 Rotavirüs, 206  
 Rubella, 154

**S**

Seftarolin, 35  
 Seroepidemiyoloji, 212  
 Seroloji, 212  
 Skualamin, 55  
 Solunum yolu enfeksiyonları, 125, 226

**T**

Tanı, 197  
 Tavuk döner, 74  
 Termofilik, 140  
 TLR, 1  
 Toksoplazmoz, 92  
 Tolerans, 24  
 Toplum ve hastane kaynaklı, 191  
*Toxoplasma gondii*, 92  
 Trikom, 86  
 Tüberküloz plörezi, 132  
 Tüberküloz, 1, 118, 132

**V**

Veteriner hekimlik, 55  
 Virüs, 125

**X**

Xpert MTB/RIF, 197

**Y**

Yatan hastalar, 104



## A

*Acinetobacter baumannii*, 67  
 Acute bacterial meningitis, 11  
 Adenovirus, 206  
 Adult patient, 191  
 Aminosterol, 55  
 Anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidity, 92  
 Antibacterial activity, 186  
 Antibiofilm activity, 169  
 Antibiotic resistance, 226  
 Antibiotic susceptibility, 175  
 Antifungal susceptibility, 61, 147  
 Antimicrobial resistance, 98  
 Antimicrobial susceptibility, 17  
 Antimicrobial, 47  
 Antiviral resistance, 41  
 Autism spectrum disorder, 113

## B

Bacterial meningitis, 191  
 Bacterial respiratory pathogens, 226  
 Bacteriocin, 140  
 Blood agar, 219  
 Brucellosis, 212

## C

*Candida parapsilosis* species complex, 61  
*Candida parapsilosis*, 24  
*Candida species*, 147  
 Canned food, 140  
 Carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*, 17  
 Carvacrol, 67  
 Cattle farmer and cattle, 98  
 CDI, 175  
 Ceftaroline, 35  
 Cerebrospinal fluid, 11  
 Chicken döner kebab, 74  
 Chlorogenic acid, 47  
 Chocolate agar, 219  
*Clostridium difficile*, 175  
 CMV, 154  
 Colistin, 17, 67  
 Community and hospital, 191  
*Cryptosporidium* spp, 162  
 Culture, 132

## D

Diagnosis, 197  
 Diet, 113  
 Domestic habitat, 24  
 Double swab, 30

## D

Encephalitis, 11  
 Enterococci, 98  
 Environment, 113

## F

Fluorescent dyes, 118

## G

GAS, 30  
 Gastroenteritis, 206  
 Genotyping, 1  
*Geobacillus toebii*, 140  
 Gut microbiota, 113

## H

Hepatitis B, 41  
 Herpes simplex virus, 11  
 Histopathology, 132

## I

Inpatients, 104

## L

*Lactobacillus* sp, 169  
 Leishmania, 219

## M

Metabolite, 169  
 Method verification, 162  
 MIC, 186  
 Microbiological quality, 74  
 Microscopy, 118  
 Mortality, 104  
 MRCoNS, 35  
 MRSA, 35  
 Mutation, 41  
*Mycobacterium tuberculosis*, 197

## N

Nanoparticle, 47  
 Nineteenth century, 104

## O

Oxadiazole compounds, 186

## P

Parasite, 86  
 PCR-RFLP, 61  
 PCR-Ribotype, 175  
 PCR, 125  
 Performance tests, 197  
 Post-mortem microbiology, 147  
 Pregnancy, 154  
 Prevalence, 86  
 Public health, 175

## R

Rapid antigen test, 30  
 Realtime PCR, 162  
 Red crescent, 104  
 Respiratory infection, 125  
 Respiratory tract infections, 226  
 Rotavirus, 206  
 Rubella, 154

## S

Seroepidemiology, 212  
 Serology, 212  
 Squalamine, 55

## T

Thermophilic, 140  
 Throat culture, 30  
 TLR, 1  
 Tolerance, 24  
*Toxoplasma gondii*, 92  
 Toxoplasmosis, 92  
 Trichrome, 86  
 Tuberculosis, 1, 118, 132  
 Tuberculous pleurisy, 132

## V

Veterinary medicine, 55  
 Virus, 125

## X

Xpert MTB/RIF, 197

# YAZAR DİZİNİ / AUTHORS INDEX

## Cilt/Volume 49, 2019

<b>A</b>	<b>Ç</b>	<b>G</b>	<b>Koyuncu Özyurt Ö, 67</b>
Acar C, 1	Çalışkan R, 197	Gareayaghi N, 206, 212	Kurnaz N, 132
Ağca H, 61, 125	Çavuş İ, 219	Genç Ö, 197	Kurt A, 212
Akalın H, 125	Çavuşoğlu C, 118	Gülcan A, 197	
Akkaya E, 175	Çelebi B, 162	Gülseren YD, 154	<b>M</b>
Aktaş E, 30	Çetin M, 219	Gürpınar SS, 169	Malkoçoğlu G, 30
Alan EM, 55	Çiçek B, 35	Gürsoy NC, 41	Mamal Torun M, 191
Alışkan HE, 226	Çolak D, 92		Mete E, 98
Ali R, 125		<b>H</b>	
Alkiş Ceylan A, 140	<b>D</b>	Habip Z, 191	<b>O</b>
Altay Koçak A, 226	Dalyan Cilo B, 61, 125	Hampikyan H, 175	Odabaş Köse E, 67
Arslan A, 118	Delialioğlu N, 132	Harputluoğlu M, 41	Or M.E, 55
Arslan MN, 147	Demirci M, 191	Hazırolan G, 17	Otlu B, 41
Aslan A, 219	Demirci M, 212	Hoog G.S, 24	
Aslan G, 132	Demirdöğen Çetin E,	Hortaç İstar E, 226	<b>Ö</b>
Aydemir Ö, 11	125		Öğüç D, 92
	Dinç HÖ, 206, 212	<b>İ</b>	Öngüt G, 92
<b>B</b>	Doenyas C, 113	İlkit M, 24	Özbey D, 206, 212
Başbülbül G, 140	Dokuzeylül B, 55		Özbilgin A, 219
Başustaoğlu A, 226		<b>K</b>	Özdemir M, 154
Bayındır Bilman F, 35	<b>E</b>	Kaleli, i 98	Özel Y, 219
Bayındır Y, 41	Eken Berberoğlu AE,	Kaplan E, 24	Özhak B, 92
Bayraktar B, 30	162	Karakeçe E, 11	Özkalemkaş F, 125
Budak F, 186	Elgörmüş N, 147	Kart D, 169	Özkul Koçak C, 17
Budana- Kılınc Y, 47	Emin Bulut M, 30	Kaya T, 219	Öztürk Eryiğit F, 92
	Ener B, 61, 125	Kazak E, 125	
<b>C</b>	Eryılmaz M, 169	Kılıç S, 162	<b>P</b>
Can Kübra 197	Esenkaya Taşbent F, 154	Kocazeybek BS, 191,	Pir M, 186
Cenk Mirza H, 226		206, 212	

**S**

Sağlık İ, 92

Sirekbasan S, 206

**Ş**

Şengöz G, 191

**T**

Taner Z, 191, 206, 212

Tekerekoğlu M.S, 41

Terzi HA, 11

Tezcan Ülger S, 132

Tokman HB, 191, 212

Toprak S, 191

Toru Erbay Ü, 197

Töz S, 86

Turgay N, 86

**U**

Ulusan Ö, 86

Usluca S, 162

**Ü**

Ülger M, 132

Ünal B, 30

Ünver A, 86

Ünver Alçay A, 74

Üsküdar Güçlü A, 226

**V**

Vaizoğlu RD, 1

**Y**

Yakupoğulları Y, 41

Yavuz Özer V, 30

Yayla B, 226

Yazısız H, 92

Yener Ö, 41

Yetişmiş K, 86

Yıldırım A, 219

Yurdakul E.S, 104

**A**

Ziyade N, 147

Zobozan O, 86

# 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 yapıldıkça 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 bildirimini 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 uyusmalıdır.
- 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 kapsmalıdır.
- Mikroorganizma adları ve MİK veya PFGE gibi kısaltmalar ilk kullandıklarında 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. Stafillokok, 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<sup>(1,5,6)</sup>.....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<sup>(4)</sup> 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:** Snyderman 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.
- **Sürelî resmi yayın:** TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyansı ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 30.05.2007(26537).
- **Sürelî resmi yayın (internet):** TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyansı ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 2007(26537). İnternet adresi: <http://.....> Erişim tarihi: .././20..
- **Kongre Bildiri Özeti:** Başustaoglu AC, Süzük S, Mumcuoglu İ, ve ark. Kan kültürü uygulamalarının değerlendirilmesi: EpiCenter verilerinin kullanımını. 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.international>]. (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 metninle 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.

