

Cilt / Volume 50
Sayı / Number 2
Haziran / June 2020

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516



Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✓ Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Öğrencilerinde *Demodex* spp. Prevalansı ve Risk Faktörleri
- ✓ *Candida parapsilosis* İzolatlarının Soğuk Saklama Koşullarına Dayanıklılığı: On Yıllık Stoklama Sonrası Canlandırma
- ✓ Anti-HCV Pozitifliği Saptanan Örneklerin HCV-RNA Sonuçları Klinisyenler Tarafından Yeterince Değerlendiriliyor mu? On Yıllık Veri Analizi
- ✓ Leishmaniasisde Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu için *Sitokrom B* Gen Bölgesinden Tür Ayırımı Yapabilen Primer ve Probların Tasarlanması: Pilot Çalışma

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY



Cilt / Volume 50

Sayı / Number 2

Haziran / June 2020



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 50 Sayı / Number 2 Haziran / June 2020

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

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

Bedia Dinç; Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

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

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

Özgür Kurt; Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Gürhan Çiftçioğlu; İstanbul Kültür Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Danışmanlar Kurulu / Advisory Board

İmre Altuğlu, İzmir

Ayşe Erbay, Yozgat

Semra Ayşe Güreşer, Çorum

Özlem Miman, İzmir

Sibel Aydoğan, Ankara

Sevgi Ergin, İstanbul

Ayşe Kalkancı, Ankara

Meral Dilara Ögünç, Antalya

Adalet Aypak, Ankara

İşıl Fidan, İstanbul

Engin Kaplan, Zonguldak

Mehmet Özdemir, Konya

Asuman Birinci, Samsun

Dolunay Gülmez, Ankara

Ülkü Karaman, Ordu

Betül Özhak, Antalya

Gülendam Bozdayı, Ankara

Şaban Gürcan, Edirne

Bekir Sami Kocazeybek, İstanbul

Fatih Şahiner, Ankara

Gülfem Ece, İzmir

Fadile Yıldız Zeyrek, Şanlıurfa

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

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / CLINICAL INVESTIGATIONS

- **Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Öğrencilerinde *Demodex* spp. Prevalansı ve Risk Faktörleri**
Prevalence and Risk Factors for Demodex spp. in Students of Vocational School of Healthcare Services
Ülfet ÇETİNKAYA, Müge OĞUZKAYA ARTAN, Zeynep BAYKAN **63-69**
- ***Candida parapsilosis* İzolatlarının Soğuk Saklama Koşullarına Dayanıklılığı: 10 Yıllık Stoklama Sonrası Canlandırma**
Survival of Candida parapsilosis Isolates in Cold Storage Conditions: Culture Recovery in Cultures After 10-Years of Storage
Tuğrul HOŞBUL, Ramazan GÜMRAL, Bayhan BEKTÖRE, Kemal TEKİN, Fatih ŞAHİNER **70-77**
- **Anti-HCV Pozitifliği Saptanan Örneklerin HCV-RNA Sonuçları Klinisyenler Tarafından Yeterince Değerlendiriliyor mu? On Yıllık Veri Analizi**
Do Clinicians Adequately Interpret HCV-RNA Results in Anti-HCV-Positive Samples? An Analysis of 10-Year Data
Reyhan YİŞ, Selma TOSUN, Hilal KÜPELİ, Fulya DEMİRCAN **78-85**
- **Leishmaniasisde Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu için *Sitokrom B* Gen Bölgesinden Tür Ayrımı Yapabilen Primer ve Probların Tasarlanması: Pilot Çalışma**
Designing of the Primers and Probes for Real Time Polymerase Chain Reaction of Cytochrome B Gene Region in Leishmaniasis: A Pilot Study
Ahmet ÖZBİLGİN, Bakiye GÖKER BAĞCA, Mehmet HARMAN, İbrahim ÇAVUŞ, Tuğba KAYA
Ahmet YILDIRIM, Cumhur GÜNDÜZ **86-94**
- ***Candida albicans*'ın Eşey Tipi Gen Bölgesinin Belirlenmesi**
Investigation of the Mating-Type Gene Locus of Candida albicans
Müge ARIBAL ÇELİK, Aylın DÖĞEN, Deniz AKTAŞ, Süleyha HİLMİOĞLU POLAT,
Macit İLKİT **95-99**
- **Elazığ İli Dokuz Yıllık HIV/AIDS Sonuçlarının Analizi**
Analysis of the Nine Year HIV/AIDS Results in Elazığ Province
Pınar ÖNER, Özlem AYTAÇ, Ferda Feray ŞENOL, Zülal AŞÇI TORAMAN, Müge ÖZGÜLER **100-107**

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- **Erişkinde Kızamık Olgusu: Antikor Yanıtı Her Zaman Beklenmeli mi?**
A Case of Adult Measles: Should Antibody Response Always be Expected?
Hüsnü PULLUKÇU, Dilşah BAŞKOL, Hüseyin Aytaç ERDEM, Ayşin ZEYTİNOĞLU
Meltem TAŞBAKAN **108-111**

- ***Rothia mucilaginosa* Pnömonisi: Olgu sunumu**
Rothia mucilaginosa Pneumonia: Case report
Begüm NALÇA ERDİN, Nihal KARABİBER, Hüseyin KADI **112-116**

- YAZARLARA BİLGİ **V-VI**

Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Öğrencilerinde *Demodex spp.* Prevalansı ve Risk Faktörleri

Prevalence and Risk Factors for Demodex spp. in Students of Vocational School of Healthcare Services

Ülfet Çetinkaya*[©], Müge Oğuzkaya Artan*[©], Zeynep Baykan**[©]

*Erciyes Üniversitesi, Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Kayseri, Türkiye

**Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Öz

Amaç: Demodicosis, *Demodex* akarlarının neden olduğu dünyanın her yerinde görülebilen bir hastalıktır. Bu çalışmada, sağlıklı bireylerde *Demodex* cinsi parazitlerin prevalansının ve risk faktörlerinin araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmaya, Erciyes Üniversitesi Halil Bayraktar Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı'nda eğitim gören 92 öğrenci katıldı. Çalışmaya katılan öğrencilere 22 sorudan oluşan bir anket uygulandı. Sonrasında öğrencilerin yüzünden dört farklı bölgeden (sağ ve sol yanak, alın ve çene), iki farklı yöntemle sefyon bant yöntemi ve standart yüzeysel deri biyopsisi ile örnek alındı ve alınan örnekler ışık mikroskopunda 10'luk ve 40'luk objektifte incelendi.

Bulgular: Doksan iki öğrencinin 33'ünde (%35.9) *Demodex folliculorum* belirlenirken, *Demodex brevis*'e rastlanılmadı. Standart yüzeysel deri biyopsisinde *D. folliculorum* pozitif bulunan öğrencilerin yalnızca %30.3'ünde sefyon bant yöntemi ile de pozitiflik belirlendi. Pozitif öğrencilerin %48.5'inde tek bölgede, %42.4'ünde iki farklı bölgede, %6.1'inde üç farklı bölgede ve %3'ünde dört farklı bölgede parazit belirlendi. Yüz temizleme ürünlerini kullananlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde pozitiflik oranının düşük olduğu belirlendi ($p<0.05$).

Sonuç: Çalışmaya dâhil edilen tıbbi laboratuvar teknikleri programı öğrencilerinde *D. folliculorum* yaygınlığı %35.9 olarak belirlendi. Bu çalışmada *Demodex spp.* tanısında sefyon bant yönteminin duyarlılığının düşük olduğu, ayrıca yüz temizleme ürünlerinin kullanımı ile parazit sıklığının azaldığı gösterildi.

Anahtar kelimeler: *Demodex*, sefyon bant yöntemi, standart yüzeysel deri biyopsisi

ABSTRACT

Objective: Demodicosis is a worldwide disease that is caused by *Demodex* mites. In this study, it was aimed to investigate the prevalence of *Demodex* species in healthy individuals and the factors that may affect it.

Method: Ninety-two students of the Medical Laboratory Techniques Program in Erciyes University Halil Bayraktar Vocational School participated in the study. A questionnaire consisting of 22 questions was applied to the students. Then, samples were collected by two different methods (cellophane tape method and standard superficial skin biopsy) from four different areas (right and left cheek, forehead and chin) on the face. Samples were then examined under a light microscope at x100 and x400 magnifications.

Results: *Demodex folliculorum* was identified in 33 of 92 (35.9%) students by standard superficial skin biopsy, while *Demodex brevis* was not encountered. In 10 (30.3%) students positivity was determined by cellophane band method. Parasites were detected in one (48.5%), two (42.4%), three (6.1%) and four (3%) different facial areas. A statistically significant decrease in parasite positivity rates was detected in users of facial cleansing products ($p<0.05$).

Conclusion: The prevalence of *D. folliculorum* was found 35.9% among students who participated in medical laboratory techniques program. This study showed that the cellophane tape method has lower sensitivity than standard superficial skin biopsy method in the diagnosis of *Demodex*, and the use of facial cleansing products reduced the frequency of the parasites.

Keywords: *Demodex*, cellophane tape method, standard superficial skin biopsy

Alındığı tarih / Received:
04.11.2019 / 04.November.2019

Kabul tarihi / Accepted:
06.12.2019 / 06.December.2019

Yayın tarihi / Publication date:
31.06.2020 / 31.June.2020

ORCID Kayıtları

Ü. Çetinkaya 0000-0001-5527-3741
M. Oğuzkaya Artan 0000-0001-5382-0174
Z. Baykan 0000-0001-9450-985X

✉ ucetinkaya@erciyes.edu.tr

Atf: Çetinkaya Ü, Oğuzkaya Artan M, Baykan Z. Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu öğrencilerinde *Demodex spp.* prevalansı ve risk faktörleri. Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Derg. 2020;50(2):63-9.

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atf-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

Demodex cinsi parazitler, akar gurubunda bulunan sürekli ektoparazitlerdir. *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* olmak üzere insanda enfestasyona neden olan iki türü bulunmaktadır. *D. folliculorum* kıl foliküllerinin infundibulum bölümünde gruplar hâlinde yaşamakta olup, *D. brevis*'e kıyasla daha uzundur. *D. brevis* ise sebace ve meibomian bezlerinden beslenerek yaşamını sürdürmektedir⁽¹⁻³⁾.

Demodex folliculorum ve *D. brevis*'in tek konağı insandır. Dişi parazit, folikül açıklığında döllenikten sonra yumurtasını kıl folikülüne bırakır. Yaklaşık iki-üç gün sonra yumurtadan çıkan larvalar üç-dört gün sonra protonimf, sonra da deutonimflere dönüşür. Folikül açıklığına ilerleyen parazit, iki-üç gün içerisinde erişkin şekle dönüşür. Parazitin yaşam süresi yaklaşık 15 gündür. Akarlar foliküldeki epitel hücrelerinin içeriği ve sebum ile beslenir. *Demodex* dağılımı vücutta dengeli olmayıp, en çok sebace bezlerin çok sayıda olduğu ve sebum üretiminin arttığı yerler olan nazal deri folikülleri, burun, yanaklar, alın ve perioral bölgelerde bulunmakta, folikül sayısının az, sebum üretiminin düşük miktarda olduğu vücut kısımlarında ise görülmemektedir^(3,4).

Tanıda punch biyopsisi, deri kazıntısı, selofan bant ve standart yüzeysel deri biyopsisi (SYDB) gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Parazitin patojenitesinin saptanabilmesi için cm²'deki akar yoğunluğu önem taşımaktadır. Tanı yöntemlerinden SYDB tekniğinde derinin kornum tabakasının yüzeysel kısmı ile birlikte folikül içeriği tamamen toplanmaktadır. Bu işlemin tanıyı ve cm²'deki akar sayısının saptanmasını kolaylaştırdığı bildirilmektedir^(5,6).

Ortak eşya kullanımı, yakın temas ve hijyen şartlarına dikkat edilmemesi sonucunda bulaşan bu akar, birçok araştırmacıya göre etkenlerin buldukları yerde sayılarının artmasıyla patojen hâle geçip çeşitli semptomlara yol açmaktadır⁽⁷⁾. Bu çalışmada, sağlıklı yükseköğretim öğrencilerinde *Demodex* cinsi parazitlerin yaygınlığının ve etki edebilecek faktörlerin farklı yön-

temler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklem grubu: Bu çalışma Erciyes Üniversitesi, Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'nda, Nisan 2019-Mayıs 2019 tarihleri arasında yürütüldü. Çalışmaya, Tıbbi Laboratuvar Programı'nda eğitim gören toplam 92 kişi katılmıştır. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan çalışmaya ilgili onay (Tarih: 06.03.2019; Karar No: 2019/152) alındıktan sonra çalışmaya katılmayı kabul eden öğrencilere bilgilendirilmiş olur formu okunarak imzalatıldı.

Örnek materyallerinin alınması: Çalışmaya katılmayı kabul eden öğrencilere öncelikle bu parazitlerin sıklığını etkileyebilecek parametreler ile ilgili soruları ve bazı kişisel bilgileri içeren toplam 22 sorudan oluşan bir anket uygulandı (Tablo 1). Daha sonra yüz bölgesinde dört farklı bölgeden (sağ ve sol yanak, alın ve çene) iki farklı yöntemle örnek alındı. Gönüllülerden ilk olarak telefon-bant yöntemi ile örnek alındı. Bu yöntem için yaklaşık 5 cm büyüklüğünde telefon bant kesildi ve örnek alınan bölgeye yapıştırıldı. Daha sonra yavaşça kaldırılan bant lam üzerine yapıştırıldı ve sonrasında ise SYDB yöntemi ile aynı bölgelerden örnek alındı. Bu yöntem için ilk olarak lam üzerine 1 cm'lik bir daire çizildi. Lamın diğer tarafına ise 1 damla siyanoakrilat damlatıldı ve deri bölgesine yapıştırıldı. Yaklaşık bir dakika sonra lam yavaşça kaldırılarak materyal alınan bölgeye iki-üç damla immersiyon yağı damlatıp lamel ile kapatıldı. Her iki yöntemle hazırlanan preparatlar aynı gün içerisinde ışık mikroskopunda 10'luk ve 40'luk objektifte incelendi. SYDB ile hazırlanan örneklerde cm'deki parazit yoğunluğu belirlendi, telefon bant yöntemi ile elde edilen preparatlar ise yalnızca pozitif veya negatif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel analiz: Analizler için SPSS 22.0 (Chicago, Illinois, ABD) istatistik paket programı kullanılmıştır. Veriler sayı ve yüzdelerle ifade edildi. İstatistiksel analizlerde χ^2 testi ve Fisher'in kesin χ^2 testi kullanıldı. Tüm değerlendirmelerde p<0.05 istatistiksel ola-

rak anlamlı kabul edildi. Yüz bölgelerine göre akar yoğunluğu arasında fark olup olmadığını değerlendirmek için Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı.

BULGULAR

Araştırmaya katılan 92 öğrencinin 33'ünde (%35.9) *D. folliculorum* belirlendi (Şekil 1 A,B). Çalışmada, *D. brevis*'e rastlanılmadı. Öğrencilerde parazit varlığının çeşitli sosyodemografik özelliklere göre dağılımı Tablo 1'de gösterildi.

SYDB ile 33 öğrencide parazit belirlenirken, bu öğrencilerin yalnızca onunda (%30.3) selefyon bant yöntemi

ile de pozitiflik bulundu. Selefyon bant yönteminin duyarlılığı SYDB yöntemi referans yöntem olarak kabul edildiğinde, %30.3 [selefyon yönteminin saptadığı hasta sayısı / SYDB ile pozitif saptanan toplam hasta sayısıx100 (10/33x100)], özgüllüğü ise %100 [selefyon yönteminin negatif saptadığı kişi sayısı / toplam SYDB ile negatif saptanan kişi sayısıx100 (59/59x100)] olarak hesaplandı.

Bakılan değişkenler arasında yalnızca yüz temizleme ürünleri kullanımı ile parazit pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ($p<0.05$). Yüz temizleme ürünleri kullananların %25'inde, kullanmayanların %56.2'sinde parazit pozitifliği saptandı.

Tablo 1. Öğrencilerde parazit varlığının çeşitli sosyodemografik özelliklere göre dağılımı.

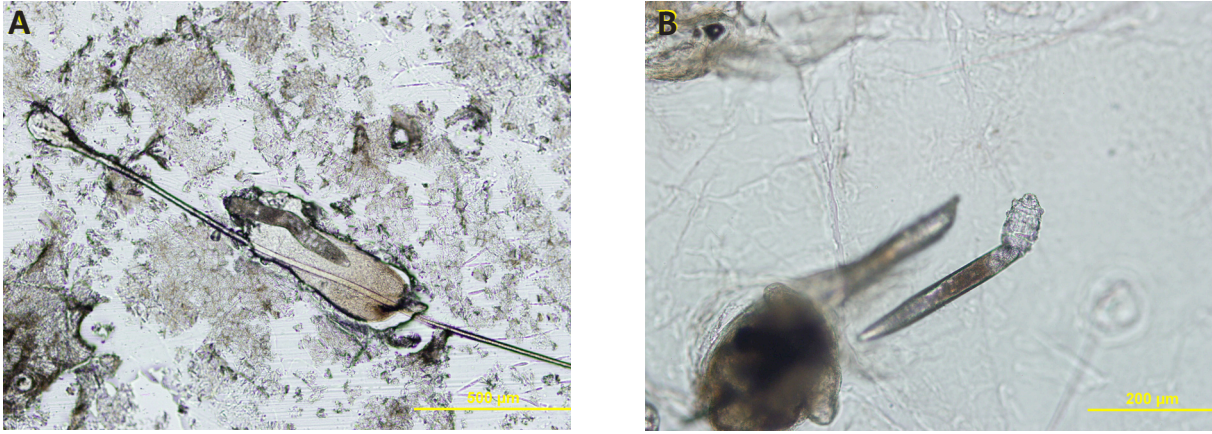
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Toplam n (%)	p
Yaş grupları				
18-25	30 (34.1)	58 (65.9)	88 (95.6)	0.130
>25	3 (75.0)	1 (25.0)	4 (4.4)	
Cinsiyet				
Erkek	5 (31.3)	11 (68.7)	16 (17.4)	0.779
Kadın	28 (36.8)	48 (63.2)	75 (82.6)	
Medeni durum				
Bekâr	32 (36.0)	57 (64.0)	89 (96.7)	1.000
Evli	1 (33.3)	2 (66.7)	3 (3.3)	
Kaldığı yer				
Tek yaşıyor	-	-	-	0.438
Devlet yurdu	6 (35.3)	11 (64.7)	17 (18.5)	
Özel yurt	2 (33.3)	4 (66.7)	6 (6.5)	
Ailesi ile	25 (39.7)	38 (60.3)	63 (68.5)	
Arkadaşları ile	-	5 (100.0)	5 (5.4)	
Diğer	-	1 (100.0)	1 (1.1)	
Cilt hastalığı				
Var	-	4 (100.0)	4 (4.3)	0.293
Yok	33(37.5)	55 (62.5)	88 (95.7)	
Kronik hastalığı				
Var	2 (22.2)	7 (77.8)	9 (9.8)	0.481
Yok	31 (37.3)	52 (62.7)	83 (90.2)	
Sürekli ilaç kullanımı				
Var	4 (33.3)	8 (66.7)	12 (13.0)	1.000
Yok	29 (36.3)	51 (63.8)	80 (87.0)	
Sivilce				
Var	21(36.2)	37 (63.8)	58 (63.0)	1.000
Yok	12 (35.3)	22 (64.7)	34 (37.0)	
Günlük yüz yıkama sıklığı				
1 kez	1 (20.0)	4 (80.0)	5 (5.4)	0.080
2 kez	22 (46.8)	25 (53.2)	47 (51.1)	
≥3 kez	10 (25.0)	30 (75.0)	40 (43.5)	

Tablo 1 (devam).

	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Toplam n (%)	p
Yüz yıkama durumu				
Bol sabunlu su ile	6 (33.3)	12 (66.7)	18	0.502
Sabunlu su ile	11 (30.6)	25 (69.4)	36	
Sadece su ile	15 (45.5)	18 (54.5)	33	
Diğer	1 (20.0)	4 (80.0)	5	
Cilt tipi*				
Yağlı	12 (42.9)	16 (57.1)	28 (30.4)	0.683
Kuru	8 (44.4)	10 (55.6)	18 (19.6)	
Karma	13 (34.2)	25 (65.8)	38 (41.3)	
Güneş kremi kullanımı				
Var	12 (35.3)	22 (64.7)	34 (37.0)	1.000
Yok	21 (36.2)	37 (63.8)	58 (63.0)	
Nemlendirici krem kullanımı				
Var	22 (35.5)	40 (64.5)	62 (67.4)	1.000
Yok	11 (36.7)	19 (63.3)	30 (32.6)	
Yüz temizleme ürünleri kullanımı				
Var	15 (25.0)	45 (75.0)	60 (65.2)	0.006
Yok	18 (56.2)	14 (43.8)	32 (34.8)	
Makyaj yapma				
Var	21 (36.2)	37 (63.8)	58 (63.0)	1.000
Yok	12 (35.3)	22 (64.7)	34 (37.0)	
Cilt bakımı				
Düzenli olarak yaptırım.	1 (16.7)	5 (83.3)	6 (6.5)	0.504
Düzenli olmasa da yaptırım.	8 (33.3)	16 (66.7)	24 (26.1)	
Hiç yaptırmadım.	24 (38.7)	38 (61.3)	62 (67.4)	
Yüzde kaşıntı				
Var	10 (41.7)	14 (58.3)	24 (26.1)	0.621
Yok	23 (33.8)	45 (66.2)	68 (73.9)	
Yüzde kızarıklık				
Var	15 (34.9)	28 (65.1)	43 (46.7)	1.000
Yok	18 (36.7)	31 (3.3)	49 (53.3)	
Evcil hayvan besleme				
Var	4 (57.1)	3 (42.9)	7 (7.6)	0.245
Yok	29 (34.1)	56 (65.9)	85 (92.4)	
Kullanılan havlu türü				
Var	5 (35.7)	9 (64.3)	14 (15.2)	1.000
Yok	28 (35.9)	50 (64.1)	78 (84.8)	
Ortak el-yüz havlusu kullanımı				
Var	20 (46.5)	23 (53.5)	43 (46.7)	0.053
Yok	13 (26.5)	36 (73.5)	49 (53.3)	
Ortak banyo havlusu kullanımı				
Var	4 (57.1)	3 (42.9)	7 (7.6)	0.245
Yok	29 (34.1)	56 (65.9)	85 (92.4)	

Akarların yüz bölgesindeki dağılımları Tablo 2'de gösterildi. Otuz üç öğrenciden 16'sında (%48.5) tek bölgede, 14'ünde (42.4) iki farklı bölgede, ikisinde (%6.1) üç farklı bölgede ve birinde (%3.0) dört farklı

bölgede parazit belirlendi. Öğrencilerin yüz bölgelerine göre akar yoğunlukları arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p>0.05$).



Şekil 1. *Demodex folliculorum*. A. Selefon bant yöntemi ile alınan örnek, B. Standart yüzeyel deri biyopsisi ile alınan örnek.

TARTIŞMA

Demodicosis, *Demodex* akarlarının neden olduğu ırk ve cinsiyet farkı gözetmeden dünyanın her yerinde görülebilen bir hastalıktır. İnsanda neden oldukları klinik bulgular hakkında farklı düşünceler mevcuttur. *Demodex* cinsi parazitlerin sistemik ve dermatolojik rahatsızlıkla ilişkisinin araştırıldığı birçok çalışma vardır⁽⁸⁻¹⁰⁾. Aynı zamanda bu çalışmada olduğu gibi birçok çalışmada, farklı amaçlarla sağlıklı bireylerde prevalans araştırması yapılmıştır. Yazar ve ark.⁽¹¹⁾ selofan-bant yöntemiyle 171 üniversite öğrencisinin %2.9'unda, Kaya ve ark.⁽¹²⁾ yine selofan-bant yöntemiyle 347 erkek öğrencinin %2.7'sinde, Karaman ve ark.⁽¹³⁾ 300 üniversite öğrencisinde SYDB yöntemiyle %37'sinde, Kaplan ve ark.⁽¹⁴⁾ SYDB yöntemi ile 258 üniversite öğrencisinin %10.07'sinde, Zeytun ve ark.⁽¹⁵⁾ SYDB yöntemi ile üniversite öğrencilerin %50.1'inde, Özdemir ve ark.⁽¹⁶⁾ SYDB yöntemi ile 270 üniversite öğrencisinin %47.4'ünde parazit belirlediklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, üniversite öğrencilerinde SYDB ile %35.9 oranında pozitiflik belirlenmiş ve bu sonuç SYDB ile yapılan ülkemiz

çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur. Selefon bant yöntemi ile yapılan incelemelerde ise, öğrencilerin yalnızca %10.8'inde pozitiflik belirlenmiştir. *Demodex* cinsi parazitlerin tanısında kullanılan en yaygın yöntem SYDB olup, bu yöntemle aynı zamanda cm²'deki parazit yoğunluğu da belirlenebilmektedir. Selefon bant yöntemi ise basit ve altyapısı tam olmayan laboratuvarlarda kolayca uygulanabileceği düşünülen bir yöntemdir⁽¹⁷⁾. Çalışmamızda, selofan bant yönteminin duyarlılığı %30.3 olarak hesaplanmış olup, paraziti belirlenmede yetersiz kaldığı açıkça gösterilmiştir. Ayrıca selofan bant yönteminde incelenmesi gereken daha geniş alan bulunması, inceleme için daha uzun sürenin gerekmesi ve bant yapışkanlarından dolayı sahanın çok karışık görünmesi bu yöntemin dezavantajlarıdır (Şekil 1A,B).

Çalışmamızda selofan bant yöntemi ile benzer gruplarda yapılan diğer çalışmalara oranla daha yüksek pozitiflik belirlenmiştir. Çalışmalar arasındaki bu farkın öğrencilerden alınan örneklerin bölgesine ve sayısına bağlı olarak farklılık gösterdiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda, çoğunlukla iki farklı bölge

Tablo 2. Akarların yüz bölgesindeki dağılımı ve yoğunluğu.

Yüz Bölgesi	İnsidans*	Toplam Yoğunluk	Ortalama Yoğunluk	Ortanca Yoğunluk
Sağ yanak	18/33 (%54.5)	50	2.78	2.00
Sol yanak	22/33 (%66.7)	60	2.73	1.00
Alın	9/33 (%27.2)	21	2.33	1.00
Çene	5/33 (%15.2)	8	1.60	1.00

*Yüzdeler 33 öğrenci üzerinden alınmıştır.

den örnek alınmıştır⁽¹¹⁻¹⁴⁾. Tablo 2’de görüldüğü gibi parazitin yüz bölgesindeki dağılımı ve yoğunluğu farklılık göstermektedir. Örnek sayısının ve örnek alınan bölgenin çeşitliliğinin artması parazit belirleme olasılığını da arttırmaktadır.

Cinsiyetle parazit görülme arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı ve parazitin yaş ilerledikçe daha sık görüleceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir⁽¹³⁻²⁰⁾. Çalışmamızda, diğer çalışmalara benzer şekilde cinsiyet ile parazit görülmesi arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Çalışmamıza katılan gönüllüler çoğunlukla 18-25 yaş arasındaydı. Bu nedenle yaş ile prevalans arasındaki ilişki açısından yeterli veri sağlanmamıştır.

Demodex cinsi parazitlerin insandan insana yakın temas ile bulaşabileceği, yurt, kreş gibi kalabalık yaşam alanlarında ve temizlik gereçlerinin ortak kullanıldığı yerlerde parazitin daha kolay bulaşabileceği düşünülmektedir^(4,17,18). Okyay ve ark.⁽²¹⁾ kalabalık gruplarda yaşam koşullarının, günlük yüz yıkama sıklığının ve losyon kullanımı gibi hijyenik ve kozmetik uygulamaların *Demodex* spp. prevalansına etki etmediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Kaplan ve ark.⁽¹⁶⁾ da günlük el yüz yıkama sıklığı, havlu kullanımı, evcil hayvan bulundurma ve birlikte yaşanan insan sayısı gibi kişisel hijyen alışkanlıklarının ve yaşam ortamının *Demodex* spp. sıklığı ile herhangi bir ilişki göstermediğini bildirmişlerdir. Durmaz ve ark.⁽²⁰⁾ yüz yıkama sıklığının arttıkça *Demodex* spp. enfestasyonunun arttığını fakat bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmadığını Zeytun ve ark.⁽¹⁵⁾ günlük yüz yıkama sıklığının ve ortak havlu kullanımının *Demodex* spp. sıklığını etkilediğini benzer şekilde Forton ve ark.⁽²²⁾ sabun ile yüzünü yıkayanlarda *Demodex* akarlarının daha az görüldüğünü bildirmişlerdir. Çalışmamızda ortak el-yüz havlusu veya banyo havlusu kullananlar da, yalnızca su ile yüzünü yıkayanlar da, evcil hayvan besleyenlerde, yüz bölgesinde kaşıntı yakınması olanlarda yüksek oranda parazit belirlenmiştir. Günlük yüz yıkama sıklığı üç ve üzerinde olanlar ile düzenli olarak cilt bakımı yaptıranlarda ise parazit sıklığında düşüş olduğu görülmüştür. Fakat bu farklar

istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yalnızca yüz temizleme ürünleri kullanımı ile parazit pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum cilt bakımının ve hijyenin parazit sıklığını azalttığını gösterebilir, fakat bu durum konu ile ilgili daha fazla çalışmayla desteklenmelidir.

Sonuç olarak, tıbbi laboratuvar teknikleri programı öğrencilerinde parazit yaygınlığı %35.9 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada, selef bant yönteminin *Demodex* spp. tanısı için uygun olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda, yüz temizleme ürünleri kullanan bireylerde parazit sıklığının belirgin oranda azaldığı belirlenmiş olup, düzenli yapılan cilt bakımı ile demodex cinsi parazitlerle ilişkili çeşitli dermatolojik hastalıklarında önüne geçilebileceği düşüncesine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Baima B, Sticterling M. Demodicosis revisited. Acta Derm Venerol. 2002;82(1):3-6. <https://doi.org/10.1080/000155502753600795>
2. Özçelik S. Allerjik ve dermatit nedeni olabilen akarlar. In: Özcel MA, Daldal N (Eds) "Parazitolojide Artropod Hastalıkları ve Vektörler" kitabında. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, 1997:349-53.
3. Markell EK, Voge M, John DT. Medical Parasitology. Philadelphia:WB Saunders Company;1992.
4. Yolasığmaz A, Budak S. Demodicosis. In: Özcel MA (Ed) "Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları". İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 2007:891-4.
5. Akilov OE, Butov YS, Mumcuoglu KY. A clinico-pathological approach to the classification of human demodicosis. J Dtsch Dermatol Ges. 2005;3(8):607-14. <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2005.05725.x>
6. Aşkin U, Seçkin D. Comparison of the two techniques for measurement of the density of *Demodex folliculorum*: standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination. Br J Dermatol. 2010;162(5): 1124-6. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.09645.x>
7. Orak F, Yıldırım D, Set A, Hasbek M. Yüzeysel cilt biyopsisi yapılan hastalarda *Demodex* spp. sıklığının araştırılması. ANKEM Derg. 2015;29(3):90-4. <https://doi.org/10.5222/ankem.2015.090>
8. Yula E, Kaya ÖA, Atambay M, Doğanay S, Daldal N, Tuzcu Ayhan E. Blefarit etiolojisinde *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis*'in önemi nedir? Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2013;33(2):420-4.

- <https://doi.org/10.5336/medsci.2012-29698>
9. Erbağcı Z, Özgöztaş O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. *Int J Dermatol*. 1998;37(6):421-5.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-4362.1998.00218.x>
 10. Turan N, Kapıcıoğlu Y, Saraç G. Akne vulgaris ve rozase hastalarında deri sebum, pH venem değerlerinin *Demodex* enfestasyonuna etkisi. *Türkiye Parazitol Derg*. 2017;41(3):143-7.
<https://doi.org/10.5152/tpd.2017.5068>
 11. Yazar S, Ozcan H, Cetinkaya U. Üniversite öğrencilerinde selofan-bant yöntemi ile *Demodex* sp. araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*. 2008;32(3):238-40.
 12. Kaya M, Hamamcı B, Çetinkaya Ü, Yaman O, Yazar S. Bir lisede öğrenim gören yabancı uyruklu erkek öğrencilerde selofan-bant yöntemi ile *Demodex* sp. araştırılması. *Türk Hij Den Biyol Derg*. 2010;67(2):73-7.
 13. Karaman U, Koloren Z, Enginyurt O, Ozer A. Ordu ilinde yurtlarda kalan üniversite öğrencilerinde *Demodex* türlerinin epidemiyolojisi. *Türkiye Parazitol Derg*. 2014;38:166-71.
<https://doi.org/10.5152/tpd.2014.3517>
 14. Kaplan M, Keleştemur N, Başpınar S. *Demodex* spp. prevalence among university students. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2012;18(Suppl-A):A43-6.
 15. Zeytun E, Tilki E, Doğan S, Mumcuoğlu KY. The effect of skin moisture, pH, and temperature on the density of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in students and staff of the Erzincan University, Turkey. *Int J Dermatol*. 2017;56(7):762-6.
<https://doi.org/10.1111/ijd.13600>
 16. Özdemir H, Özer E, Özdemir S, Alkanat M. Sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerinde demodeks türlerinin görülme sıklığı. *Turkderm*. 2015;49(2):139-41.
<https://doi.org/10.4274/turkderm.72558>
 17. Miman Ö, Saygı G. *Temel Tıbbi Parazitoloji*. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri; 2018.
 18. Aycan OM, Otlu GH, Karaman U, Daldal N, Atambay M. Çeşitli hasta ve yaş gruplarında *Demodex* sp. görülme sıklığı. *Türkiye Parazitol Derg*. 2007;31(2):115-8.
 19. Yazısız H, Çekin Y, Koçlar FG. Yüzünde dermatolojik semptomları olan hastalarda *Demodex* akarlarının varlığı. *Türkiye Parazitol Derg*. 2019;43(3):143-8.
<https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2019.6062>
 20. Durmaz S, Yula E, Aycan Kaya O, et al. Sociodemographic characteristics of patients with *Demodex brevis* and *Demodex folliculorum* infestation and its association with rosacea and Behçet's disease. *Biomed Res*. 2015;26(3):549-55.
 21. Okyay P, Ertabaklar H, Savk E, Ertug S. Prevalence of *Demodex folliculorum* in young adults: Relation with sociodemographic/hygienic factors and acne vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006;20(4):474-6.
<https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2006.01470.x>
 22. Forton F, Germaux MA, Basseur T, et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatologic practice. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(1):74-87.
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.05.034>

Candida parapsilosis İzolatlarının Soğuk Saklama Koşullarına Dayanıklılığı: On Yıllık Stoklama Sonrası Canlandırma

Survival of Candida parapsilosis Isolates in Cold Storage Conditions: Recovery in Cultures After 10-Years of Storage

Tuğrul Hoşbul*[©], Ramazan Gümrall*[©], Bayhan Bektöre**[©], Kemal Tekin***[©], Fatih Şahiner*[©]

*Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

**Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Alanya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Alanya, Antalya, Türkiye

***Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

Öz

Amaç: Mikrobiyoloji laboratuvarlarında yürütülen araştırmalara farklı özelliklere sahip çok sayıda türün ve izolatın dâhil edilmesi çalışma verilerini değerli kılan önemli göstergelerden biridir. Bu amaçla her laboratuvar özgün bir suş koleksiyonu oluşturur. Bunun sürdürülebilirliği için tercih edilen saklama yöntemi izolatların uzun süreli saklanması ve hücrelerin canlı ve stabil kalmasına uygun olmalıdır. Bu çalışmada, *Candida* türlerinin soğukta saklama koşullarına olan dayanıklılıklarının tür düzeyinde incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya 10 yıldan daha uzun bir süredir laboratuvarımızda saklanan (-20°C'de boncuklu saklama tüpleri içerisinde) ve bu süre zarfında üzerlerinde herhangi bir canlandırma işlemi veya farklı bir çalışma yapılmayan, klinik örneklerden elde edilmiş 94 stok *Candida* izolatı dâhil edilmiştir. Çalışma örneklerinden sıvı ve katı besiyerlerine pasajlar alınarak canlanan suşların güncel rutin tanı yöntemleriyle doğrulaması yapılmıştır.

Bulgular: Çalışma izolatlarında canlanma oranı *Candida parapsilosis* için %59.1 (13/22), *Candida glabrata* için %41.7 (5/12), *Candida tropicalis* için %25 (4/16) ve *Candida albicans* için %9.52 (4/42) olarak bulundu. *C. parapsilosis* izolatlarının canlı kalma oranı, *C. albicans* ve *C. tropicalis* izolatları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p<0.0001$ ve $p=0.037$).

Sonuç: Bu çalışmada sunulan veriler yüksek sıcaklıklarda canlılığını sürdürebilen, soğuk koşullara adapte olan ve hastane ortamlarında uzun süre canlılığını sürdürebilen bir tür olan *C. parapsilosis* izolatlarının soğuk saklama koşullarına *C. albicans* başta olmak üzere *C. tropicalis* ve *C. glabrata* türlerinden daha dayanıklı olduğunu desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: *Candida*, maya, boncuklu saklama tüpü

ABSTRACT

Objective: Studies conducted in microbiology laboratories with the inclusion of huge amount and variety of species and isolates are important indicators that render them valuable. For this purpose, each laboratory creates its own unique strain collection. For the sustainability of this procedure, the preferred storage method should be suitable for long-term storage of the isolates that keep the cells alive and stable. In this study, it was aimed to investigate the viability of *Candida* species in cold storage conditions at species level.

Method: The study included 94 stocks of *Candida* isolates obtained from clinical samples that had been stored in our laboratory for more than 10 years (in Cryobank vials with beads at -20°C) and had not undergone any recultivation or other recovery procedures during this period. Samples were passaged into liquid and solid media and recovered strains were confirmed with current routine diagnostic methods.

Results: The recovery rate of the study isolates was found 59.1% (13/22) for *Candida parapsilosis*, 41.7% (5/12) for *Candida glabrata*, 25% (4/16) for *Candida tropicalis*, and 9.52% (4/42) for *Candida albicans*. The recovery rate of *C. parapsilosis* isolates was found to be significantly higher compared to *C. albicans* and *C. tropicalis* isolates ($p<0.0001$ and $p=0.037$, respectively).

Conclusion: The data presented in this study support that *C. parapsilosis* isolates, which can survive at high temperatures, adapt to cold conditions and survive in hospital environments. They are also more stable under cold storage conditions than *C. tropicalis*, *C. glabrata*, and especially *C. albicans* species.

Keywords: *Candida*, yeast, cryobank vials with beads

Alındığı tarih / Received:

24.09.2019 / 24.September.2019

Kabul tarihi / Accepted:

11.12.2019 / 11.December.2019

Yayın tarihi / Publication date:

31.06.2020 / 31.June.2020

ORCID Kayıtları

T. Hoşbul 0000-0002-0150-4417

R. Gümrall 0000-0002-2303-8234

B. Bektöre 0000-0002-1225-7693

K. Tekin 0000-0002-6610-6540

F. Şahiner 0000-0002-3488-0339

✉ tugrulhosbul@gmail.com

Atf: Hoşbul T, Gümrall R, Bektöre B, Tekin K, Şahiner F. *Candida parapsilosis* izolatlarının soğuk saklama koşullarına dayanıklılığı: 10 yıllık stoklama sonrası canlandırma. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(2):70-7.

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atf-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

İmmün yetmezlikli hastaların sayısındaki artış ile beraber sistemik fungal enfeksiyonların insidansı da artış eğilimindedir. *Candida* türleri günümüzde hastane enfeksiyonu etkenleri arasındaki sık karşılaşılan etkenler arasında yer almaktadır^(1,2). Mukozal yüzeylerden çok ciltte bulunabilen ekzojen bir patojen olan *Candida parapsilosis*, kateterlerde ve diğer implante cihazlarda (örneğin total parenteral nutrisyon setleri) biyofilm oluşturma yeteneği, el ile taşınarak nozokomiyal yayılma ve çevresel koşullara dayanıklılığı ile hastane ortamlarında persistans göstermesi ile öne çıkar⁽³⁾. Bu özellikleri ile kan dolaşımı ve mukozal enfeksiyonlarda sık karşılaşılan bir fırsatçı patojen olan *C. parapsilosis* özellikle yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde ortaya çıkan hastane enfeksiyonları ile ilişkilidir⁽⁴⁻⁶⁾.

Candida parapsilosis kompleksi, fizyolojik ve morfolojik olarak ayırt edilemeyen ancak genetik yönden farklılık gösteren üç ayrı türden oluşur; *C. parapsilosis sensu stricto* (en sık saptanan tür), *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis*^(7,8). *C. parapsilosis* insanlar ve memelilerde mukoza, deri ve tırnaklardan izole edilebilmektedir ve evcil hayvanlar, böcekler, toprak ve deniz ekosistemi de dâhil olmak üzere doğada, bulaşık makineleri ve su dağıtım sistemleri gibi konutlardaki insan yapımı ortamlarda yaygın olarak bulunan bir türdür⁽⁹⁻¹¹⁾. *C. parapsilosis*'in termofilik ve halofilik özelliklere sahip olduğu ve zorlu koşullara tolerans gösterebildiği gösterilmiştir. Bir çalışmada, *C. parapsilosis* izolatlarının, 10°C ila 37°C arasında değişen sıcaklıklarda ve 4 ila 10 arasında değişen pH değerlerinde çoğalabildiği ve %5-10 NaCl'yi tolere ettiği bildirilmiştir⁽¹¹⁾. Başka bir çalışmada, *C. parapsilosis* izolatlarının 40°C'yi tolere edebildikleri ve bazı izolatların 45°C inkübasyon koşullarında canlı kalabildikleri gösterilmiştir⁽⁹⁾. Soğuk koşullarda aktif kalabilen *Candida* türleri bu özellikleri ile çeşitli tıbbi ve ekonomik sonuçlara neden olmaktadır. Transplante edilecek dokuların soğuk saklama koşullarında kontaminasyona yol açabilen *Candida* türlerinin kornea nakillerinde postkeratoplasti enfeksiyonlarından izole

edilen en yaygın mantar türleri olduğu bildirilmiştir^(12,13). Bu sorunu aşabilmek için yürütülen çalışmalarda, özellikle amfoterisin B ve ayrıca vorikonazolün transplante edilecek dokuların *Candida* türleri ile kontaminasyonuna karşı soğuk saklama koşullarında (+4 ve +8°C'lerde 24-72 saat) koruyucu etkinlik gösterdiği bildirilmiştir^(14,15). *C. parapsilosis*'in de dâhil olduğu bazı *Candida* türleri ve bir grup maya türü soğuğa adapte olmuş mayalar ("cold-adapted yeast") olarak tanımlanmakta ve soğuk saklama koşullarında süt ve süt ürünlerinde bozulmalara neden oldukları bildirilmektedir⁽¹⁶⁾. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarları açısından bakıldığında *Candida* türlerinin soğuk koşullarda canlılıklarını devam ettirebilme özellikleri seçilen izolatların hangi koşullarda ne kadar süre ile saklanabileceğini bilmemiz açısından önemlidir.

Mikoloji laboratuvarlarında çeşitli mantarlar kökenleri sistematik araştırmalar ve eğitim amacıyla steril distile suda, toprak veya kumda, madeni yağla kaplanmış yatık agar besiyerlerinde, -20°C ve -70°C derin dondurucularda, silika jelde, sıvı nitrojende veya liyofilize edilerek saklanabilmekte veya kısa süreli saklama durumlarında canlılığı devam ettirebilmek için ardışık pasajlar tercih edilebilmektedir⁽¹⁷⁻²⁰⁾. Geçmişte yapılan çeşitli çalışmalarda saklanan izolatların dayanıklılıklarının ve canlı kalma sürelerinin tercih edilen saklama yöntemine, saklama süresi ve koşullarına, mantarların cins ve türlerine göre belirgin derecede değiştiği gösterilmiştir⁽²¹⁻²⁴⁾. Bu çalışmada, 10 yıldan daha uzun bir süredir boncuklu saklama tüpü içerisinde -20°C'de dondurularak sakladığımız ve bu süre zarfında herhangi bir çalışma veya araştırma için kullanılmamış olan *Candida* izolatlarımızın canlı kalma oranları araştırılmış ve bu izolatların dayanıklılığını belirlemede etkili olabilecek faktörler tartışılmıştır.

GEREK ve YÖNTEM

Bu çalışmaya, 01.05.2007 tarihinden 31.12.2007 tarihine kadar geçen 8 aylık süre içerisinde GATA Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde çeşitli kliniklerde yatarak tedavi gören hastalardan izole edilen hastane enfeksiyonu etkeni 94 stok *Candida*

izolatı dahil edilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen suşlar daha önceki bir çalışma sırasında hem geleneksel [germ tüp testi, klamidospor oluşturma, API ID 32C (BioMérieux, Fransa), CHROMagar *Candida* (BBL, Fransa) gibi], hem de moleküler yöntemlerle (PCR-RFLP) tiplendirilmiştir⁽¹⁾. Bu izolatlar üzerinde 10 yılı aşkın bir süre zarfında herhangi canlandırma veya farklı bir çalışma yapılmamıştır. Diğer yöntemlerle tam olarak tanımlanamayan *Candida haemulonii* izolatının tanımlanması MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) yöntemi ile canlandırma sonrası yapılmıştır.

Besiyerleri: Sabouraud Dekstroz Agar (SDA, %4 glukozlu, Merck); Besiyeri içeriği; D(+)-glukoz 40 g/L (g/litre), pepton 10 g/L, agar-agar 15 g/L. Toz hâlindeki besiyeri karışımının 65 g'ı 1.000 ml distile su içerisinde eritildi ve otoklavda 121°C 15 dakika sterilize edilip, steril cam petri plaklarına 4-6 mm (milimetre) kalınlığında döküldü.

Sabouraud Dekstroz Broth (SDB, Merck); Besiyeri içeriği; D(+)-glukoz 20 gr/L, pepton (meat) 5 g/L, pepton (kazein) 5 g/L. Toz halindeki besiyeri karışımının 30 g'ı 1.000 mL distile su içerisinde eritildi ve cam tüplere beşer mL dağıtıldı. Cam tüpler içindeki besiyerleri otoklavda 121°C'de 15 dakika tutularak sterilize edildi.

Boncuklu Saklama Tüpü: Ticari olarak kullandığımız sistem (Mast Cryobank, İngiltere), 25 adet gözenekli renkli boncuk ve bir kriyo-prezervatif sıvı içeren steril tüplerden oluşmaktadır. Boncuklu saklama tüpleri kullanım öncesi oda ısısında saklanmaktadır. Boncukların gözenekli yapıları hücrelerin boncuk yüzeyine yapışmasını sağlar ve boncuklar depolanan hücreler için taşıyıcı görevi görürler. Bir izolat bu şekilde saklandığında 25 veya daha fazla pasaj yapma olanağı sağlanmış olur.

Suşların Stoklanması: Uygun koşullarda alınıp mikrobiyoloji laboratuvarına transportu sağlanan klinik örneklerde üreyen ve yukarıda belirtilen yöntemlerle

tanımlanan izolatların SDA ve "CHROMagar *Candida*" (CAC) besiyerlerine tek koloni pasajları yapılarak izolatların tümü saflaştırıldı ve boncuklu saklama tüplerinde -20°C'de laboratuvar tipi derin dondurucuda saklandı. Her bir izolat için, saklama tüplerinin kriyojenik sıvısı yaklaşık olarak 3 veya 4 McFarland standardına eşdeğer bir yoğunluğa sahip olacak şekilde inoküle edildi. İnokülasyon sıvısı, süspansiyonu emülsiyon hâline getirmek ve hücrelerin boncuklara tutunmasını sağlamak için dört veya beş kez çalkalandı ve karıştırıldı. Daha sonra kriyojenik sıvının fazla olan kısmı uzaklaştırıldı ve boncukların donma sırasında birbirine yapışmasını engellemek ve süspansiyon tabakasının şişenin dibinde kalmasına izin vermek için az bir miktar sıvı bırakıldı. Şişeler daha sonra -20°C'de tutuldu. İlk stoklama sonrası canlılık kontrolü için stoklama işleminden 1-2 hafta sonra her bir kültürden birer boncuk alınarak canlılık ve morfolojik özellikleri kontrol edildi ve tüm stok kültürlerinin uzun süreli saklanmaya uygun olduğu gözlemlendi. İzolatların bulunduğu boncuklu saklama tüpleri 2008 yılında İstanbul'dan Ankara'ya soğuk transport şartlarına uyulmaksızın taşındı. Daha sonraki süreçte Ankara'da laboratuvar koşullarında -20°C'de korundu. Laboratuvarımızda derin dondurucunun çalışması kalite kontrol uygulamaları kapsamında düzenli olarak takip edilmektedir. Laboratuvarımız hastane güç kaynağına bağlı olduğundan, sonraki saklama sürecinde kültürlerin canlılığını önemli ölçüde azaltan yineleyen donma ve çözülme olayı (uzun süreli elektrik kesintileri gibi) meydana gelmemiştir.

Stok Suşların Canlandırılması: Çalışmaya dâhil edilen 94 izolatın stoklandığı boncuklu saklama tüplerinden ilk olarak, cam tüpler içerisinde hazırlanan steril SDB besiyerlerine ekimler yapıldı. İzolatların ani ısı değişimlerinden etkilenmemesi için boncuklar oda sıcaklığında bekletilen sıvı besiyerlerine inoküle edildi ve bu besiyerleri birkaç saat içerisinde etüve alındı. En az iki günlük inkübasyonu (37°C'lik etüvde; 48-72 saat) takiben üreme gözlenen kültür tüplerinden katı besiyerlerinde pasajları yapıldı. Üreme olmayan boncuklu saklama tüplerinden ikinci pasaj-

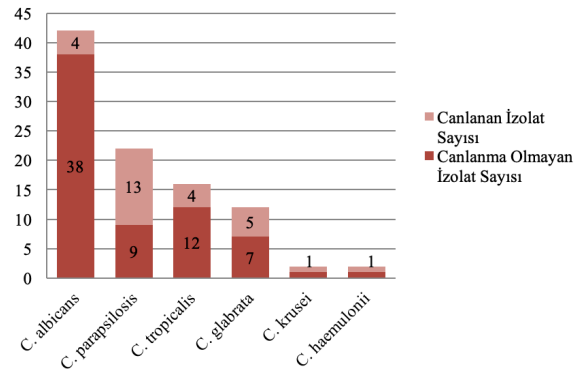
lar alındı ve aynı işlemler tekrarlandı. Son olarak ikinci pasajlarında da üreme olmayan saklama tüpleri içerisine sıvı besiyeri eklenip 37°C'lik etüvde 48-72 saat inkübe edildi ve katı besiyerlerine pasajları alındı. Canlandırılan izolatların tanımlamaları laboratuvarımızda kullanılan rutin tanı yöntemleri ile doğrulandı.

Veri Analizi ve Karşılaştırmalar: Aynı ortamda ve eşit koşullarda saklanan izolatların canlı kalma oranları için tür ve izole edildikleri klinik örnekler için karşılaştırmalar ve temel istatistiksel hesaplamalar yapıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık ise $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen izolatlardan [*Candida albicans* 42 izolat, *C. parapsilosis* 22 izolat, *Candida tropicalis* 16 izolat, *Candida glabrata* 12 izolat, *Candida krusei* bir izolat ve *C. haemulonii* bir izolat] %29.8'i (28/94) stoklandıkları dönemden on yıldan daha uzun bir süre sonra pasajlandıkları kültürlerde üredi. Her bir türün canlanma oranları Şekil 1'de gösterilmektedir.

İzolatların canlanma oranlarının ayrıntılı karşılaştırılması Tablo 1'de yer almaktadır. Canlanma oranı *C. parapsilosis* suşlarında %59.1 (13/22) iken, *C. albicans* suşlarında %9.52 (4/42) olarak bulundu (χ^2 testi, $p < 0.0001$). *C. glabrata* ve *C. tropicalis* suşla-



Şekil 1. *Candida* türlerinin canlanma oranları.

rında canlanma oranları sırasıyla %41.7 (5/12) ve %25 (4/16) olarak bulundu. Canlanma oranı ikinci en yüksek tür olan *C. glabrata* suşları diğer türler ile karşılaştırıldığında yalnızca *C. albicans* ile canlanma oranları arasında anlamlı bir fark bulundu. *C. krusei* ve *C. haemulonii* için tek izolat olmaları nedeniyle istatistiksel karşılaştırmalar yapılmadı. *C. parapsilosis* ile diğer türlerin canlanma oranlarının karşılaştırmaları Tablo 1'dedir.

Saklanan izolatlar için saklama süresi, saklama ortamı (boncuklu saklama tüpleri), saklama sıcaklığı (-20°C), saklamada kullanılan elektrikli cihaz gibi karşılaştırmalı sonuçları doğrudan etkileyebilecek parametreler tüm izolatlar için aynı şekildeydi.

İzolasyon bölgelerine göre karşılaştırmalar yapıldığında "kan, kateter ve yara" izolatlarında canlanma oranı %42 (21/50) iken, "idrar ve genital bölge"

Tablo 1. *Candida* türlerinde canlanma oranları ve oranların türler arasında karşılaştırılması.

Tür adı	İzolat sayısı	Canlanan izolat		Canlanma oranlarının karşılaştırılması	
		n	%	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>
<i>C. albicans</i>	42	4	9.52	$p < 0.0001^*$	$p = 0.0188^{**}$
<i>C. parapsilosis</i>	22	13	59.1	-	$p = 0.329^*$
<i>C. tropicalis</i>	16	4	25	$p = 0.037^*$	$p = 0.431^{**}$
<i>C. glabrata</i>	12	5	41.7	$p = 0.329^*$	-
<i>C. krusei</i>	1	1	100	-	-
<i>C. haemulonii</i>	1	1	100	-	-
Toplam	94	28	29.8	-	-
Non-parapsilosis	72	15	20.8	$p = 0.000595^*$	-
Non-glabrata	82	23	28	-	$p = 0.499^{**}$

* χ^2 , **Fisher'in kesin χ^2 testi.

Tablo 2. *Candida* türlerinin izole edilme bölgelerine göre canlanan izolat sayıları.

Tür adı	Kan, kateter, yara		Ağız, solunum yolu		İdrar, genital örnekler	
	Canlanan	Kayıp	Canlanan	Kayıp	Canlanan	Kayıp
<i>C. albicans</i>	3	13	0	8	1	17
<i>C. parapsilosis</i>	13	8	0	0	0	1
<i>C. tropicalis</i>	3	7	0	1	1	4
<i>C. glabrata</i>	1	1	0	1	4	5
<i>C. krusei</i>	0	0	1	0	0	0
<i>C. haemulonii</i>	1	0	0	0	0	0
Toplam (%)	21 (42)	29 (58)	1 (9.1)	10 (90.9)	6 (81.8)	27 (18.2)

örneklerinden izole edilen suşlarda canlanma oranı %18.2 (6/33) idi ve iki oran arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 2, $p=0.023381$).

TARTIŞMA

Mantarlar farklı özelliklere sahip çok sayıda türden oluşan bir grup olduğundan, zaman içinde kültürlerin canlılığını ve morfolojik, fizyolojik ve genetik bütünlüğünü devam ettirebilmek için çeşitli kültürasyon ve saklama yöntemleri geliştirilmiştir⁽¹⁷⁾. Bununla birlikte, yöntem seçiminde her bir yöntemin maliyeti ve emek-zaman gereksinimi de dikkate alınır. Mantarlar kolay ve ekonomik bir prosedür ile steril distile su içerisinde oda sıcaklığında saklanabilmekte, ne var ki bu yaklaşım fungal hücrelerin canlılığını ve stabilitesini uzun süre sürdürebilmesi için yetersiz kalmaktadır⁽²⁰⁾. Mantarların 10 yıl gibi uzun süreli saklanması gereken durumlarda kurutma (drying) veya dondurma (freezing) yöntemleri tercih edilir. Kurutma yöntemleri teknik olarak basittir ve ayrıca pahalı ekipman gerektirmez⁽¹⁷⁾. Silika jel, cam boncuklar ve toprak, kurutmada yaygın olarak kullanılan substratlardır. Mantar sporlarının silis jeli üzerinde 11 yıla kadar başarıyla saklandığı bildirilmiştir⁽¹⁹⁾. Bununla beraber, distile su içinde saklama ve silika jel yöntemleri gibi bazı düşük maliyetli koruma yöntemleri kullanışlı yöntemler olmalarına rağmen, maksimum saklama süreleri, her bir yönteme ve türlerin korunmasına göre değişmekle beraber, genel olarak 10 yıl veya daha azdır⁽¹⁷⁾. Olabiliyorsa, mantar suşlarının daha uzun süre koruma sağlayan yöntemlerden (liyofilizasyon, kriyoprezervasyon) biriyle saklanması önerilir. Kriyoprezervasyon dâhil olmak üzere don-

durma yöntemleri çok yönlüdür ve yaygın olarak uygulanan etkinliği bilinen yöntemlerdir. Çoğu mantar, kriyoprotektanlarla veya onlar olmaksızın, sıvı azotta veya standart laboratuvar dondurucularında saklanabilir. Dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yönteminde mantar kültürleri dondurulur ve daha sonra vakum altında kurutulur, bazı mantar türleri için 30 yıla kadar koruma sağlayabilir. Yöntem mitospor üreten kültürlerde oldukça başarılıdır. Liyofilizasyon ve -135°C 'nin altındaki dondurucular kalıcı koruma için kusursuz yöntemlerdir ve uygun saklama koşulları için özellikle önerilmektedirler, bununla birlikte her iki yöntem de özel ve pahalı ekipmanlar gerektirir ve birçok mantar türü liyofilizasyon için uygun değildir^(17,18). Türkiye'de yapılan bir çalışmada, stok mantar kültürlerinin -20°C 'de dondurulmuş olarak saklanması, kökenlerin fenotip ve eşey özelliklerini kaybetmeden uzun süreli olarak (3 yıla kadar) canlılıklarını sürdürmelerini sağladığı gösterilmiştir⁽¹⁸⁾. Günümüzde bakterilerin ve maya mantarlarının, özellikle *Candida* izolatlarının standart elektrikli soğutucularda -20°C 'de dondurularak saklanması için tasarlanmış boncuklu saklama tüpleri ticari olarak bulunmakta ve ekonomik olması, kullanım kolaylığı ve uzun süreli saklama için uygun özellikleri sağlamaları nedeni ile çoğu laboratuvarında tercih edilmektedir⁽²⁰⁾. İzolatların canlandırılması gereken durumlarda boncuklu saklama tüplerinden hızlı bir biçimde bir-birkaç boncuk alınıp besiyerlerine pasaj yapılabilmekte ve böylece kültürlerin canlılığını önemli ölçüde azaltan tekrarlayan donma ve çözülme olaylarının önüne geçilmektedir. Bu çalışmada yaygın bir şekilde kullanılan bu yaklaşımın *Candida* türlerinin saklanmasıdaki etkinliği ele alınmıştır.

Laboratuvar tipi derin dondurucularda -20° ila -80°C'de dondurulan mantar kültürlerinin çoğu uzun süre canlılığını ve stabilitesini koruyabilmektedir⁽¹⁷⁾. Bir çalışmada, mitosporik ascomycetes, zygomycetes ve mayalar için -20°C'de 5 yıl saklandıktan sonra genel başarısızlık oranı %5.1 olarak bulunmuştur⁽²⁵⁾. Çalışmamızda, -20°C'de 5 yıl saklanan *Candida* izolatlarında genel başarısızlık oranı %70.2 (66/94) oranında bulunurken, türlere göre baktığımızda başarısızlık oranı *C. albicans* için %90.5 (38/42) ve *C. parapsilosis* için %40.9 (9/22) olarak bulundu. *C. parapsilosis* türlerinin canlı kalma oranı, *C. albicans* ve *C. tropicalis* izolatları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p < 0.0001$ ve $p = 0.037$). Tüm izolatlar *C. parapsilosis* ve *parapsilosis*-dışı türler olarak ikiye ayrıldığında *C. parapsilosis* izolatlarının canlı kalma oranı yine anlamlı derecede yüksek bulundu ($p = 0.000595$). "Kan, kateter ve yara" izolatlarındaki canlanma oranı (%42; 21/50), "idrar ve genital bölge" izolatları (%18.2; 6/33) ile kıyaslandığında iki oran arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.023381$), bununla beraber, bu farklılık örneklerdeki tür dağılımı ile ilişkili olabilir. Şöyle ki, canlanma oranı en yüksek olan tür olan *C. parapsilosis* izolatlarının tamamına yakını "kan, kateter ve yara" izolatları iken, *C. albicans* izolatları "idrar ve genital bölge" örneklerinde canlanma oranının düşük olmasında başlıca nedeni olarak gözükmektedir (Tablo 2).

Boncuklu saklama tüplerinin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, 6.198 maya (25 ayrı tür) ve 391 küf izolatı (37 ayrı tür) -70°C dondurucuda ve ayrıca sıvı nitrojende (-130°C) sekiz yıl gibi uzun bir süre saklanmış ve bu süre sonunda izolatlar yeniden canlandırılmıştır⁽²⁰⁾. Saklama süresi çalışmamıza yakın, ancak soğuk saklama koşulları bizim çalışmamıza kıyasla daha düşük sıcaklık derecelerinde (-20°C'ye karşın -70°C ve -130°C) olan bu çalışma verilerine göre suş kayıp oranı *C. albicans* için %0.11 (5/4453), *C. parapsilosis* için %0.85 (3/352), *C. glabrata* için %0 (0/359), *C. tropicalis* için %0.5 (2/401), *C. krusei* için %1.79 (5/279) ve *C. lusitanae* için %0 (0/43) olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, *Candida* türleri

arasında en yüksek suş kayıp oranı %66.7 (28/42) ile *C. dubliniensis* için bulunurken, kayıp oranı %24.6 (15/61) olan dermatofitler dışındaki küf türlerinin (moniliyasöz ve dematiyosiyöz küfler ve dimorfik mantarlar) boncuklu saklama tüpleri ile çok iyi korunduğu (330 izolat için kayıp oranı %0) bildirilmiştir⁽²⁰⁾. Eski bir çalışmada, tür isimleri belirtilmeksizin mayalar ve maya benzeri fungal izolatlar için -20°C saklama koşullarında canlılık kaybı oranları 2 yıllık stok izolatlarda %2.14 (3/140) ve 5 yıllık izolatlarda %5.19 (4/77) olarak bildirilmiştir⁽²⁵⁾. Çalışmamızda, tüm izolatlar için canlılık oranının düşük olmasının önemli bir nedeni şehirler arası nakil sırasında boncuklu saklama tüplerinin çözülmeye maruz kalması olabilir.

Literatür taramalarında çalışmamız ile benzer koşulları taşıyan ve doğrudan karşılaştırma yapabileceğimiz araştırma sayısı sınırlı olsa da, *C. parapsilosis*'in saklama koşullarına ve çevresel şartlara karşı dayanıklılığını gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır^(9,11,16). Bazı maya türlerinin distile suda uzun dönem saklandığı bir çalışmada *C. parapsilosis* türlerinin tamamının (%100;51/51) bir yıldan 10 yıla kadarki dönemde canlılığını koruduğu, aynı dönemlerde *C. albicans* için bu oranın %99-94.5 aralığında olduğu bildirilmiştir⁽²⁴⁾.

Sonuç olarak, çalışmamızda sunulan veriler, 45°C gibi yüksek sıcaklıklarda canlılığını sürdürebilen, soğuk koşullara adapte *Candida* türleri arasında yer alan (*C. albicans* bu grupta yer almamaktadır) ve hastane ortamlarında uzun süre canlılığını sürdürebilen bir tür olan *C. parapsilosis* izolatlarının soğuk saklama koşullarına *C. albicans* başta olmak üzere *C. tropicalis* ve *C. glabrata* türlerinden daha dayanıklı olduğunu desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Şahiner F, Ergünay K, Özyurt M, Ardic N, Hoşbul T, Haznedaroğlu T. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Candida* suşlarının genotipik ve fenotipik olarak tanımlanması. Mikrobiyol Bul. 2011;45(3):478-88.

2. Turner SA, Butler G. The *Candida* pathogenic species complex. Cold Spring Harb Perspect Med. 2014;4(9):a019778.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019778>
3. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. 2007;20(1):133-63.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00029-06>
4. Neji S, Hadrich I, Trabelsi H, et al. Virulence factors, antifungal susceptibility and molecular mechanisms of azole resistance among *Candida parapsilosis* complex isolates recovered from clinical specimens. J Biomed Sci. 2017;24(1):67.
<https://doi.org/10.1186/s12929-017-0376-2>
5. Qi L, Fan W, Xia X, et al. Nosocomial outbreak of *Candida parapsilosis* sensu stricto fungaemia in a neonatal intensive care unit in China. J Hosp Infect. 2018;100(4):e246-52.
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2018.06.009>
6. Ting JY, Roberts A, Synnes A, et al. Invasive fungal infections in neonates in Canada: Epidemiology and outcomes. Pediatr Infect Dis J. 2018;37(11):1154-9.
<https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001968>
7. Tavanti A, Davidson AD, Gow NA, Maiden MC, Odds FC. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. J Clin Microbiol. 43(1):284-92.
<https://doi.org/10.1128/JCM.43.1.284-292.2005>
8. Borghi E, Sciota R, Iatta R, Biassoni C, Montagna MT, Morace G. Characterization of *Candida parapsilosis* complex strains isolated from invasive fungal infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011;30(11):1437-41.
<https://doi.org/10.1007/s10096-011-1242-x>
9. Kaplan E, İlkit M, de Hoog GS. *Candida parapsilosis*'in ekstrem koşullara toleransında tuz ve sıcaklık stres direncinin etkisi. Turk Mikrobiyoloji Cemiy Derg 2019;49(1):24-9.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2019.024>
10. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: Biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. FEMS Microbiol Rev. 2012;36(2):288-305.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x>
11. Dögen A, Sav H, Gonca S, et al. *Candida parapsilosis* in domestic laundry machines. Med Mycol. 2017; 55(8):813-9.
<https://doi.org/10.1093/mmy/myx008>
12. Aldave AJ, DeMatteo J, Glasser DB, et al. Report of the Eye Bank Association of America Medical Advisory Board Subcommittee on fungal infection after corneal transplantation. Cornea. 2013;32(2):149-54.
<https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e31825e83bf>
13. Edelstein SL, DeMatteo J, Stoeger CG, et al. Report of the Eye Bank Association of America Medical Review Subcommittee on adverse reactions reported from 2007 to 2014. Cornea. 2016;35:917-26.
<https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000869>
14. Tran KD, Aldrich BT, D'Amato Tóthová J, et al. Efficacy and safety of various amphotericin B concentrations on *Candida albicans* in cold storage conditions. Cornea. 2020;39(1):110-7.
<https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000002019>
15. Ritterband DC, Shah MK, Meskin SW, et al. Efficacy and safety of voriconazole as an additive in Optisol GS: a preservation medium for corneal donor tissue. Cornea. 2007;26(3):343-7.
<https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e31802d82e8>
16. Maráz A, Kovács M. Food spoilage by cold-adapted yeast. In: Cold-adapted Yeasts. Biodiversity, Adaptation Strategies and Biotechnological Significance. Buzzini, Pietro, Margesin, Rosa (Eds.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2014:497-532.
https://doi.org/10.1007/978-3-662-45759-7_23
17. Nakasone KK, Peterson SW, Jong SC. Preservation and distribution of fungal cultures. In: Mueller G, Foster M, Bills G (eds). Biodiversity of fungi. 1st Ed. Inventory and monitoring methods. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2004:37-47.
<https://doi.org/10.1016/B978-012509551-8/50006-4>
18. Yücel A, Kantarcıoğlu AS. Mantar stok kültürlerinin üç farklı yöntemle karşılaştırılması. Cerrahpaşa J Med. 2000;31(1):7-15.
19. Agnes DS, Onions HS. A comparison of some preservation techniques for fungi. Trans Brit Mycol Soc. 1983;81(3):535-40.
[https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(83\)80122-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(83)80122-3)
20. Espinel-Ingroff A, Montero D, Martin-Mazuélos E. Long-term preservation of fungal isolates in commercially prepared cryogenic microbank vials. J Clin Microbiol. 2004;42(3):1257-9.
<https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1257-1259.200>
21. McGinnis MR, Padhye AA, Ajello L. Storage of stock cultures of filamentous fungi, yeasts and some aerobic *Actinomyces* in sterile distilled water. Appl Microbiol. 1974;28(2):218-22.
<https://doi.org/10.1128/AEM.28.2.218-222.1974>
22. Pasarell L, McGinnis MR. Viability of fungal cultures

- maintained at -70 degrees C. J Clin Microbiol. 1992;30(4):1000-4.
<https://doi.org/10.1128/JCM.30.4.1000-1004.1992>
23. Kramer CL, Mix AJ. Deep freeze storage of fungus cultures. Trans Kans Acad Sci. 1957;60:54-64.
<https://doi.org/10.2307/3627003>
24. Odds FC. Long-term preservation of pathogenic yeasts in water. J Med Vet Mycol. 1991;29(6):413-5.
<https://doi.org/10.1080/02681219180000651>
25. Carmichael JW. Viability of mold cultures stored at -20°C. Mycologia. 1962;54(4):432-6.
<https://doi.org/10.1080/00275514.1962.12025019>

Anti-HCV Pozitifliği Saptanan Örneklerin HCV-RNA Sonuçları Klinisyenler Tarafından Yeterince Değerlendiriliyor mu? On Yıllık Veri Analizi[§]

Do Clinicians Adequately Interpret HCV-RNA Results in Anti-HCV-Positive Samples? An Analysis of 10-Year Data

Reyhanyiş*[Ⓜ], Selma Tosun**[Ⓜ], Hilal Küpeli**[Ⓜ], Fulya Demircan**[Ⓜ]

*Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, İzmir, Türkiye

**Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir, Türkiye

Öz

Amaç: Hepatit C virüsü (HCV), karaciğer ile ilişkili morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden olan, küresel boyutlarda halk sağlığı sorunu oluşturan bir virüstür. Akut veya kronik HCV enfeksiyonundan kuşulanlığında, ulusal ve uluslararası kılavuzlar ilk basamak test olarak anti-HCV tarama testini önermektedir. HCV-RNA testi ise, viral RNA'yı doğrudan saptayarak, aktif ve eski HCV enfeksiyonunu birbirinden ayırma ve anti-HCV pozitifliğini doğrulama avantajına sahiptir. Çalışmamızın amacı, Anti-HCV pozitifliği saptanan serum örneklerinde, HCV-RNA pozitiflik oranlarının belirlenmesi, HCV-RNA test istem oranlarının, test istemi yapan ve yapmayan birimlerin değerlendirilmesidir.

Yöntem: 01.01.2008 ve 01.01.2018 tarihleri arasında Anti-HCV test istemi ile Mikrobiyoloji Laboratuvarına serumu gönderilen hastaların test sonuçları geriye dönük olarak incelenmiştir. Çalışmaya belirtilen tarihlerde çeşitli birimlerden laboratuvarımıza Anti-HCV test istemi ile gönderilen 46.964 hastanın test sonuçları dâhil edilmiştir. Anti-HCV testi sonuçları Sample/Cut-off (S/Co) indeksi değeri üzerinden değerlendirilmiştir. Hastaların HCV-RNA test istem durumu ve Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği'ne başvurma durumu değerlendirilmiştir.

Bulgular: 01.01.2008 ve 01.01.2018 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen 46.964 hastanın test sonuçlarına göre 618 (%1.24) hastada Anti-HCV pozitifliği saptanmıştır. HCV-RNA test istemi bu hastaların yalnızca 308 (%49.84)'inde yapılmış, 310 (%50.16) hastadan ise test istemi yapılmamıştır. HCV-RNA test istemi yapılan hastaların 218'inde (%70.78) negatiflik saptanmış, 90 (%29.22) hastada viral yük pozitif olarak bulunmuştur. HCV-RNA istemi yapılmamış olan hastaların anti-HCV istemlerinin yapıldığı birimler değerlendirildiğinde, 219'unun (%70.6) cerrahi birimler, 81'inin (%26.1) dahili birimler ve 10'unun (%3.3) Enfeksiyon Hastalıkları birimi tarafından istendiği saptanmıştır. HCV-RNA pozitifliği saptanan hastaların 72'si (%80), HCV-RNA negatif hastaların 170'i (%78) ve HCV-RNA istemi olmayan hastaların 31'i (%10) Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği'ne başvurmuştur.

Sonuç: Sonuç olarak; hastaların yaklaşık olarak yarısı için HCV tanısını doğrulama işlemini şansa bırakmayacak uygulamalara gereksinim vardır. Bu amaçla Mikrobiyoloji Laboratuvarı hastane dinamiklerini de göz önünde bulundurularak tanısız algoritmalar oluşturmalıdır. Bunun yanında "Akıllı Laboratuvar Kullanımı Projesi"nde refleks test uygulamasına göre, anti-HCV pozitifliği saptanan hastalarda refleks test tanımlamasıyla HCV-RNA isteminin yapılması sağlanabilir. Anti-HCV pozitifliği saptanan hastalar, algoritma veya refleks test istemi kapsamında sonuçlara eklenecek yönlendirici notlar ile Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği'ne yönlendirilmelidir.

Anahtar kelimeler: anti-HCV, HCV-RNA, tanısız algoritma, Akıllı Laboratuvar Kullanımı Projesi, refleks testi

ABSTRACT

Objective: Hepatitis C virus (HCV) is among the leading causes of liver-related morbidity and mortality and poses a global public health problem. When acute or chronic HCV infection is suspected, national and international guidelines recommend anti-HCV screening test as the first-line test. The HCV RNA test directly detects viral RNA and thus has the advantages of distinguishing between current and past HCV infection, and confirming anti-HCV positivity. The aim of our study was to determine the frequency of HCV RNA positivity in anti-HCV-positive serum samples and to evaluate the rate at which HCV RNA testing was ordered and also departments that did and did not request this test.

Method: We retrospectively analyzed the test results of patients whose serum samples were sent to microbiology laboratory between January 1, 2008 and January 1, 2018 for anti-HCV testing. The test results of 46,964 patients whose samples were sent from various departments to our laboratory for anti-HCV screening during the study period were included in the study. The results of the anti-HCV test were evaluated based on Sample/Cut-off (S/CO ratio) (index value). HCV RNA test request status and admission to the department of infectious disease were evaluated.

Results: According to the test results of 46,964 patients, anti-HCV positivity was detected in 618 (1.24%) patients. HCV RNA test was ordered for 308 (49.84%) of these patients, while HCV RNA testing was not requested from 310 patients. Anti HCV RNA negativity was detected in 218 (70.78%) patients, while 90 (29.22 %) patients tested positive for viral load. Of the for whom was not ordered, anti-HCV screening was requested from surgical departments for (n=219, 70.6%), inpatient departments (n=81, 26.1%), and the infectious diseases department for 10 patients (3.3%). Seventy-two (80%) of HCV-RNA positive patients, 170 (78%) of HCV-RNA negative patients and 31 (10%) of patients not ordered HCV-RNA were admitted to the Infectious Diseases department.

Conclusion: In summary, we need practices that will not leave the process of confirming HCV diagnosis to chance for over half of the patients. The microbiology laboratory should establish diagnostic algorithms for HCV infection. In addition, the implementation of reflex testing as part of the Rational Laboratory Use Project by the Turkish Ministry of Health enables HCV RNA testing requested automatically for patients with positive anti-HCV test. Anti-HCV-positive patients should be referred to infectious diseases outpatient clinic with guidance notes added to their results from the diagnostic algorithm or reflex testing.

Keywords: anti-HCV, HCV-RNA, diagnostic algorithm, Rational Laboratory Use Project, reflex testing

Alındığı tarih / Received:
05.11.2019 / 05.November.2019

Kabul tarihi / Accepted:
12.12.2019 / 12.November.2019

Yayın tarihi / Publication date:
31.06.2020 / 31.June.2020

ORCID Kayıtları

R. Yiş 0000-0001-5774-0315
S. Tosun 0000-0001-9844-9399
H. Küpeli 0000-0002-3225-8474
F. Demircan 0000-0002-1899-9014

✉ reyhanyis@yahoo.com

[§] Bu araştırma, 7.Türkiye EKMUD Bilimsel Platformu'nda (Susesi Kongre Merkezi Belek Antalya; 3- 7 Nisan 2019) sözel bildiri olarak sunulmuştur.

Atf: Yiş R, Tosun S, Küpeli H, Demircan F. Anti-HCV pozitifliği saptanan örneklerin HCV-RNA sonuçları klinisyenler tarafından yeterince değerlendiriliyor mu? 10 yıllık veri analizi. Türk Mikrobiyol Cemiyet Derg. 2020;50(2):78-85.

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atf-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

Hepatit C virüsü (HCV), Flaviviridae ailesi içinde yer alan, 40-50 nm çapında, zarflı tek iplikli bir RNA virüsüdür. Virüs, hem akut, hem de kronik hepatite sebep olabilmektedir⁽¹⁾. HCV karaciğer ile ilişkili morbidite ve mortalitenin önde gelen nedeni olup küresel bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre yılda yaklaşık 350 bin kişinin HCV enfeksiyonu nedeniyle yaşamını kaybettiği ve yaklaşık olarak 200 milyondan fazla (dünya nüfusunun yaklaşık %3'ü) insanın HCV ile enfekte olduğu sanılmaktadır⁽²⁾. DSÖ tarafından 2013 yılında yayınlanmış olan verilere göre, 1999-2005 yılları arasında ülkemizin içinde bulunduğu Ortadoğu/Kuzey Afrika ülkeleri grubunda prevalans %3.6 olarak bildirilmiştir⁽³⁾. Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda ise, HCV seroprevalansı ortalama %1 (%0.4-1.5) olarak rapor edilmiştir⁽⁴⁻⁶⁾.

Virüs vücuda genellikle kan ve kan ürünleri, kontamine tıbbi ve cerrahi aletler ile parenteral yoldan girmektedir. Ancak cinsel temas, damar içi ilaç kullanımı, organ transplantasyonu, nozokomiyal ve aile içi yakın ilişki yoluyla bulaş da bildirilmiştir. Alınan virüs, kan yolu ile karaciğere ulaşarak çoğalmakta ve spesifik belirtileri ortaya çıkarmaktadır^(7,8). Ender olarak akut hepatik yetmezliğe neden olabilese de akut hepatit genelde kendini sınırlamaktadır. Özellikle akut enfeksiyonu semptomatik olarak geçiren kişilerde daha güçlü bir immün yanıt gelişimi ortaya çıktığı için HCV'nin temizlenmesi daha yüksek olasıdır^(9,10). HCV'nin yapısal proteinlerine ve yapısal olmayan proteinlerine karşı antikolar enfeksiyondan aylar sonra bile kanda saptanmaya devam etmekte olsa da bu durum viral iyileşme ile korele değildir. Akut enfeksiyon sonrası hastaların yaklaşık %80'inde enfeksiyon kronikleşmektedir. Kronik enfeksiyon ise yıllar içinde siroz, hepatosellüler karsinom gibi bir süreci başlatarak süreç karaciğer transplantasyonu veya bazen ölüm ile sonuçlanabilmektedir^(9,10). Bu sürecin kırılabilmesi adına günümüzde tüm kronik HCV hastaları potansiyel tedavi adayı olarak kabul edilmektedirler.

Ulusal ve uluslararası kılavuzlar akut veya kronik HCV enfeksiyonuna sahip olduğundan kuşku edilen hastaların ilk önce yaygın olarak kullanılan tarama testleri ile (anti-HCV) test edilmesini önermektedirler⁽⁹⁾. Anti-HCV pozitif olan, immün sistemi baskılanmış veya akut HCV enfeksiyonu geçirdiğinden kuşku edilen hastalarda, HCV enfeksiyonunu doğrulamak için HCV-RNA testi yapılmalıdır⁽⁹⁾. HCV-RNA testi, viral RNA'yı doğrudan saptayarak, aktif HCV enfeksiyonu ile eski enfeksiyonu birbirinden ayırma ve anti-HCV pozitifliğini doğrulama avantajına sahiptir.

Günümüzde artan hasta popülasyonuna yanıt vermeye çalışan laboratuvarlarda maliyet etkinlik oldukça önem kazanmıştır. Sağlık harcamalarının azaltılması adına refleks test uygulamaları son yıllarda daha çok gündeme gelmeye başlamıştır⁽¹¹⁾. Laboratuvara gönderilen hasta örneğindeki ilk sonuçlara göre belli algoritmalar kapsamında yeni testin otomatik olarak eklenmesi işlemi refleks test uygulamasıdır. HCV enfeksiyonunun tanı algoritması, serum veya plazmada ilk basamak test olan anti-HCV'nin taranması ve HCV-RNA ile doğrulamanın yapılması olup, refleks test uygulaması bu algoritma içinde anti-HCV testi pozitif hastalarda kullanılacak bir uygulamadır⁽⁹⁾. HCV enfeksiyonunun tanısının doğrulanması, başarılı tedavinin ilk basamağını oluşturduğu için büyük önem taşımaktadır⁽¹²⁾.

Çalışmamızın amacı, Sağlık Bakanlığı Üniversitesi, İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen serum örneklerinde Anti-HCV pozitifliği saptanan örneklerin HCV RNA düzeylerinin, istem oranlarının ve istem yapan ve yapmayan kliniklerin değerlendirilerek konuya yönelik çözüm önerilerinin oluşturulmasıdır.

GEREK ve YÖNTEM

Sağlık Bakanlığı Üniversitesi, İzmir Bozyaka EAH Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 01.01.2008 ve 01.01.2018 tarihleri arasında gönderilen serum örnekleri geriye dönük olarak incelenmiştir. Çalışmaya, belirtilen tarihlerde çeşitli birimlerden labora-

tuvarımıza anti-HCV çalışılmak üzere gönderilen 46.964 hastanın test sonuçları dâhil edilmiştir. Anti-HCV testi kemilüminesan enzim immunoassay tekniği (Architect i2000, Abbott, ABD) (ADVIA Centaur Immunoassay Systems, IMMULITE 2000 Immunoassay Systems, Siemens, ABD) ile çalışılmış ve test sonuçları Sample/Cut-off (S/Co) indeks değeri üzerinden değerlendirilmiş, S/Co değeri ≥ 1 ise reaktif olarak kabul edilmiştir. Kan örneklerinden viral nükleik asit izolasyonu Qiasymphony RGQ (QIAGEN, Almanya) cihazında üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. HCV RNA kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile, (Artus HCV QS-RGQ Kit, Qiagen, Almanya) gerçek zamanlı PCR cihazında (Rotor Gene Q, Corbett Research Pty Ltd., Avusturya) üretici firma önerilerine uygun olarak çalışılmıştır. Hastaların çoklu istemleri değerlendirilerek her hastanın tek sonucu çalışmaya dâhil edilmiştir.

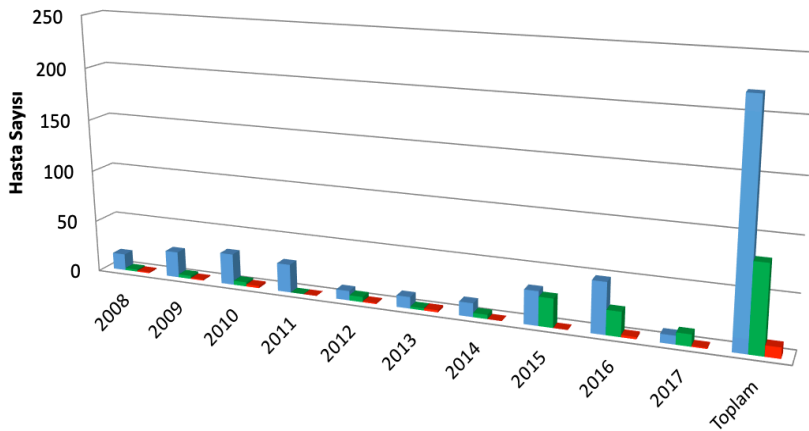
Veriler analiz edilirken anti-HCV testi pozitif olarak saptanmış hastalar, HCV-RNA istemi olan ve olmayanlar şeklinde ayrılarak, bu verilerde HCV-RNA istemi olmayanların antikor testinin hangi birimler tarafından istendiği değerlendirilmiştir. Ayrıca HCV-RNA istemi olan hastaların HCV-RNA pozitiflik oranları da belirlenmiştir.

Çalışma, İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

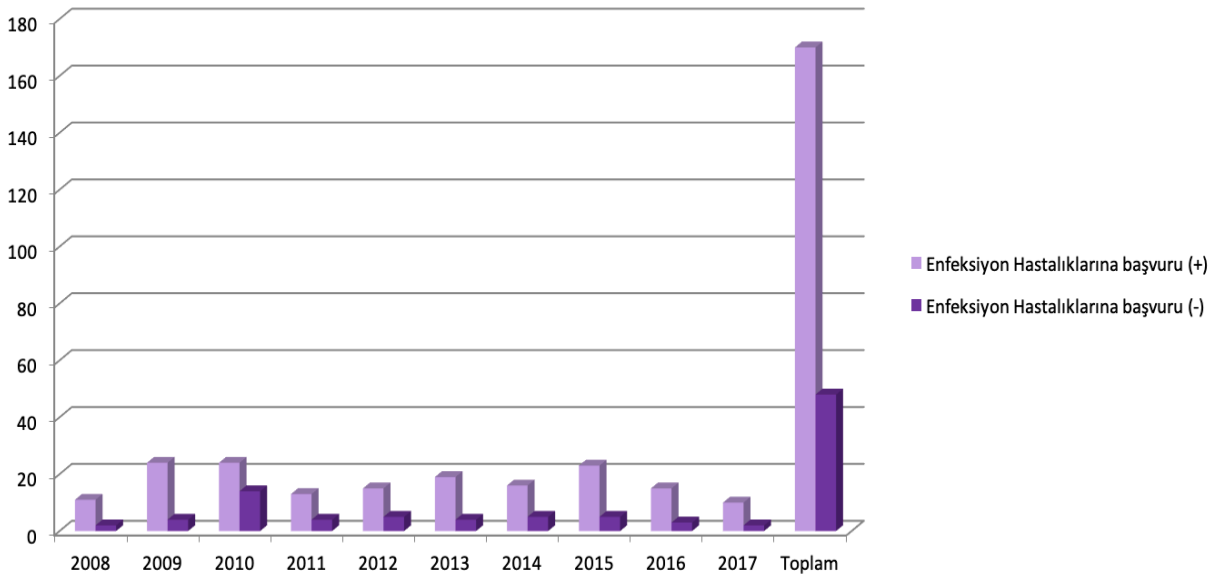
01.01.2008 ve 01.01.2018 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen 46.964 hastanın test sonuçlarına göre 618 (%1.24) hastada Anti-HCV pozitifliği saptanmıştır.

Çalışmada yer alan anti-HCV pozitif 618 hastanın 329 (%53.24)'u erkek, 289 (%46.76)'su kadın hasta olup, yaş ortalaması 57.9 ± 18.15 olarak saptanmıştır. HCV-RNA pozitif saptanmış hastaların %50'sinin erkek, %50'sinin kadın olduğu gözlenmiştir. HCV-RNA pozitif hastaların yaş ortalaması 60.5 ± 15.42 , HCV-RNA negatif hastaların yaş ortalaması 52.9 ± 17.58 ve HCV-RNA bakılmamış hastaların yaş ortalaması 60.6 ± 18.64 olarak hesaplanmıştır. Anti-HCV pozitifliği saptanmış olan hastalardan yalnızca 308 (%49.84) hastanın serumunda HCV-RNA düzeyleri incelenmesi amacıyla istem yapılmış, 310 (%50.16) hastadan istem yapılmamıştır.



	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	Toplam
■ Cerrahi birim	16	25	30	27	9	11	13	32	48	8	219
■ Dahili birim	2	3	4	0	5	2	4	27	23	11	81
■ Enfeksiyon Hastalıkları	1	1	2	0	1	2	0	0	2	1	10

Şekil 1. HCV-RNA istemi olmayan anti-HCV pozitif hastaların antikor test istemini yapan birimler.



Şekil 2. HCV RNA pozitif hastaların Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği'ne başvuru durumları.

HCV-RNA istemi olmayan hastaların anti-HCV istemlerinin yapıldığı birimler değerlendirildiğinde 219'unun (%70.6) cerrahi birimler, 81'inin (%26.1) dâhili birimler ve 10'unun (%3.3) Enfeksiyon Hastalıkları birimleri tarafından istendiği görülmüştür (Şekil 1).

HCV-RNA istemi yapılan 308 hastanın 218 (%70.78)'inde negatiflik saptanmış, 90 (%29.22) hastada viral yük pozitif olarak bulunmuştur.

HCV-RNA pozitifliği saptanan hastaların 72'si (%80), HCV-RNA negatif hastaların 170'i (%78) ve HCV-RNA istemi olmayan hastaların 31'inin (%10) Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'ne başvurmuş olduğu gözlenmiştir (Şekil 2). Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvurmamış olanlarda HCV-RNA Polikliniği'ne 18'inde (%20), HCV-RNA negatifliği 48'inde (%22) ve HCV-RNA istemi olmama durumu 279'unda (%90) görülmüştür.

TARTIŞMA

HCV enfeksiyonu, dünyadaki kronik karaciğer hastalığının ana nedenlerinden biridir⁽¹³⁾. HCV enfeksiyonunun doğal seyri değişken olup, karaciğer hasarı ve minimal histolojik bulgulardan, geniş fibroz ve hepatoselüler karsinom (HCC) veya siroza kadar değişken olabilir. Coğrafi bölgelere göre önemli farklılıklar gös-

teren, çoğu enfeksiyonundan haberdar olmayan, dünya çapında yaklaşık 71 milyon kronik enfekte birey bulunmaktadır^(13,14). Hastalığın patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması, tanı, tedavi ve korunma yöntemlerindeki gelişmeler nedeniyle, HCV ile ilişkili karaciğer hastalığı olan hastalar için klinik bakım son yirmi yılda önemli ölçüde gelişmiştir. Doğrudan etkili antivirallerin (DEA) kullanıma girmesi, tedavi edilen bireylerin %90'ından fazlasında kalıcı virolojik yanıt (KVY) yolaçmıştır^(15,16). DEA'lar günümüzde DSÖ ve diğer birçok HCV tedavi rehberi tarafından önerilmektedir⁽¹⁷⁾. DEA'ların yalnızca KVY oranlarını iyileştirmekle kalmayacağı, aynı zamanda HCV yönetimi algoritmalarını basitleştirebileceği ve daha küçük sağlık tesislerinde HCV tanı ve tedavi yönetiminin yapılabilmesine olanak sağlayacağı öngörülmektedir⁽¹⁸⁾. Günümüzde etkin tedavi stratejileri varlığına rağmen, HCV ile enfekte olmuş bireylerin çoğu tanı ve tedavi almamış olarak yaşamaya devam etmektedir⁽¹⁹⁾. Tedavi edilmeden bırakıldığında, kronik HCV enfeksiyonu olan bireylerin yaklaşık %15-30'u siroza ilerlemekte, bu da son dönem karaciğer hastalığına ve HCC'ye yol açmaktadır^(17,20).

Kronik HCV enfeksiyonunun tanısı genellikle reaktif bir HCV antikor testi ve HCV-RNA'nın varlığını belirleyen pozitif bir moleküler test sonucu ile konur⁽¹⁴⁾.

Kronik HCV için başlangıç tanısız değerlendirme tipik olarak bir antikor testiyle başlar. Reaktif antikor testi HCV-RNA testi ile takip edilmelidir. Anti-HCV antikorları, HCV enfeksiyonu olan hastaların çoğunda, enzim immunoassay (EIA) ile serum veya plazmada saptanabilir, ancak EIA sonuçları erken akut hepatit C, hemodiyaliz hastaları ve ciddi şekilde immün sistemi baskılanmış hastalarda yanlış negatif olabilir. Bu hasta gruplarında anti-HCV antikor testi ile birlikte HCV-RNA isteminin yapılması gerekmektedir. Bunun yanında, spontan veya tedaviye bağlı viral klirensi takiben, anti-HCV antikor pozitifliği, HCV-RNA'nın yokluğunda devam eder, ancak bazı bireylerde azalarak sonunda kaybolabilir. Yani HCV enfeksiyonu tanısı HCV-RNA pozitifliği ile doğrulanır. Ancak, reaktif bir antikor pozitifliğine rağmen, HCV-RNA negatif olarak saptanmış ise, bu durum olası eski bir HCV enfeksiyonunu veya yanlış pozitif bir antikor testini göstermektedir⁽¹⁴⁾.

Çalışmamızda, 10 yıllık süre içerisinde anti-HCV istemi ile laboratuvarımıza gönderilen 46.964 hastanın test sonuçlarına göre 618 (%1.24) hastada antikor pozitifliği saptanmıştır. İstem sayılarının oldukça yüksek olmasının yanında pozitiflik oranlarının çok düşük olması rutin istem sisteminin kullanıldığını, olasılıkla operasyon öncesi rutin test istemlerinin varlığını, yani anti-HCV testinin genellikle HCV enfeksiyonu şüpheli kişilerden istenmediğini göstermektedir. Bunun yanında, yalnızca 308 (%50) hastanın serumunda HCV-RNA düzeyleri incelenmesi amacıyla istem yapılmış, 310 (%50) hastadan istem yapılmıştır. Anti-HCV pozitif saptanmış hastaların yarısında HCV-RNA isteminin yapılmamış olması klinisyenlerin, test istemlerini yaptıktan sonra test sonuçlarını takip etmediğinin göstergesi olarak kabul edilebilir. Özellikle cerrahi operasyon planlanan tüm hastalarda, olası bulaşların önlenmesi amacıyla HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV 1/2 taramasının yapılması, bu konuda evrensel olarak kabul görmüş kurallar bulunmasa da, ülkemizde hala sıklıkla uygulanmaktadır. Her hastanın potansiyel olarak enfektif kabul edilmesi gerektiği ve tüm hastalara karşı aynı koruyucu önlemlerin alınması gerektiği vurgulanmakta, ancak operasyon

öncesi tarama testlerinin yapılmasını savunan çalışmalar da bulunmaktadır⁽²¹⁻²³⁾. Bazı çalışmalar ise tarama yapmaya gerek olmadığını, genel enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasının yeterli olacağını savunmaktadır⁽²⁴⁾. Çalışmamız verilerine göre, cerrahi birimlerde, anti-HCV pozitifliği saptanmış olmasına rağmen, %70.6 oranında HCV-RNA istemi yapılmamıştır. Bu veri bize, cerrahi birimlerin rutin bir alışkanlık ile operasyon öncesinde tetkikleri istediğini, operasyon sonrasında da sonuçları kontrol etmediğini düşündürmektedir. Antikor pozitifliğine rağmen, HCV-RNA isteminin yapılmama oranı dahili birimlerde %26.1 olarak saptanmıştır. On hastada (%3.3) ise anti-HCV istemi enfeksiyon hastalıkları tarafından yapılan istem ile pozitif saptanmış ancak bu hastalardan HCV-RNA istemi yapılmamıştır. Bu olguların durumu ve HCV-RNA tetkiki istenmeme nedenleri araştırıldığında, bu kişilerin heyet raporu, işe giriş tetkiki vb. gibi nedenlerle başvurmuş ve bu nedenle de daha sonra kontrole gelmemiş olabilecekleri düşünülmüştür.

Çalışmamızda, anti-HCV istemi ile laboratuvarımıza gönderilen ve antikor pozitifliği saptanarak HCV-RNA istemi yapılan 308 hastanın 218 (%70.8)'inde negatif sonuç alınmış, 90 (%29.2) hastada viral yük pozitif olarak bulunmuştur. Güneydoğu Anadolu bölgesinde Yalçın ve ark.⁽²⁵⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, anti-HCV pozitif hastaların %56'sında HCV-RNA testi pozitif olarak bulunmuştur. Çelik ve ark.⁽²⁶⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, anti-HCV pozitif saptanan 347 hastanın %79'unda HCV-RNA pozitif, %21'inde HCV-RNA negatif olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, HCV ön tanılı hastalarda çalışıldığı için HCV-RNA pozitiflik oranı oldukça yüksektir. Kayman ve ark.⁽²⁷⁾ tarafından Kayseri'de yapılan bir diğer çalışmada, antikor pozitifliği saptanan hastaların %52.7'sinde HCV-RNA pozitifliği saptanmış, ancak çalışmaya HCV tanılı ve ön tanılı hastalar dâhil edilmiş olduğu için oranın yanlış olarak yüksek saptanmış olabileceği belirtilmiştir. Çalışmamızda tüm anti-HCV pozitif hastalardan HCV-RNA istemi yapılmamış olduğu için sıklığın karşılaştırılması olası olmamıştır.

Lee ve ark.⁽²⁸⁾ tarafından 2013 yılında Kore’de yapılan bir çalışmada, altı yıllık bir sürede 1.143 hastada anti-HCV pozitifliği saptanmış, ancak 653 hasta HCV-RNA istemi olmadığı için bu hastalar “HCV enfeksiyonu doğrulanması yapılmamış” olarak kabul edilerek çalışma dışı bırakılmıştır. HCV-RNA istemi yapılmış olan ve çalışmaya dâhil edilen 490 hastanın %46.5’inde HCV-RNA pozitif, %53.5’inde HCV-RNA negatif olarak bulunmuştur. Çalışmamızda da benzer mantıkla değerlendirme yaptığımızda, anti-HCV pozitifliği saptanmış 618 hastanın HCV-RNA istemi olmayan 310’u “HCV tanı algoritmasını tamamlamamış hastalar” olarak kabul edilerek değerlendirme dışı bırakıldığında, değerlendirmeye alınan 308 hastada HCV-RNA pozitiflik oranı %29.22, negatiflik oranı %70.78 olarak belirlenmiştir.

Çalışmada yer alan anti-HCV pozitif 618 hastanın 329 (%53.24)’u erkek, 289 (%46.76)’u kadın olarak saptanmıştır. Antikor pozitifliği erkek cinsiyette daha yüksek gibi görünse de tüm hastalardan HCV-RNA istemi yapılmamış olduğu için HCV enfeksiyonu olan hastalarda cinsiyet dağılımı değerlendirilememiştir.

Çalışmamız verilerine göre, anti-HCV pozitifliği saptanmış hastaların Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği’ne başvurup başvurmadıkları değerlendirildiğinde, HCV-RNA pozitif olarak saptanan hastaların 72’sinin (%80) poliklinik takibinin olduğu, 18’inin (%20) poliklinik başvurusunun olmadığı gözlenmiştir. Aynı oranlar HCV-RNA negatif hastalar için sırasıyla 170 (%78) ve 48 (%22) olarak saptanmıştır. HCV-RNA istemi olmayan hastalar değerlendirildiğinde 31 hastanın (%10) Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği’ne başvurduğu, 279 hastanın (%90) Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği başvurusunun olmadığı görülmüştür. Anti-HCV pozitifliği saptanan hastaların kesinlikle Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği’ne yönlendirilmesi, HCV-RNA istemlerinin yapılmasını sağlayarak hastaların tanı ve tedavi şansını arttıracak en önemli etken gibi görünmektedir.

Sağlık Bakanlığı, Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Tetkik ve Teşhis Hizmetleri Daire Başkanlığı tarafın-

dan Aralık 2016’da yürütülmeye başlanan “Akılcı Laboratuvar Kullanımı Projesi” kapsamında “hekim tarafından istemi yapılan ilk test sonucu elde edildikten sonra, son tanıya yardımcı olabilecek ilave testlerin yapılmasının sağlanması ya da ilk test sonucu negatif olduğu durumda, gereksiz ek test yapılmasının önlenmesi” şeklinde test istem yaklaşımları yer almaktadır⁽¹¹⁾. Bu çerçevede, hastadan invaziv veya invaziv olmayan yöntemler ile yeniden örnek alınmadan yapılacak ek test istemi, refleks test uygulamaları şeklinde tanımlanmıştır. Hastanın ilk test sonuçlarına göre belli algoritmalar kapsamında yeni testlerin isteminin otomatik olarak eklenmesi işlemi refleks test uygulamasının temelini oluşturmaktadır. Refleks test uygulaması ile, ilk anda istemi yapılmayan ve algoritmalara göre gereksinim durumunda istemi yapılan testler yoluyla gereksiz test istemlerinin önüne geçilebilecektir. Bunun yanında, hastadan yeni bir örnek alınmasına gereksinim duyulmayacağı için hastanın daha erken tanı almasına yardımcı olabilecek bir araçtır⁽²⁹⁾. Çalışmamızda yer alan hasta popülasyonu düşünüldüğünde anti-HCV pozitifliği saptanan hastalarda refleks test tanımlamasıyla HCV-RNA isteminin otomatik olarak yapılması, çeşitli nedenlerle istem havuzundan kaçmış olan hastaların tanı almasını sağlayarak tedavi olasılıklarının gözden geçirilmesini sağlayabilir.

McGibbon ve ark.⁽³⁰⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, HIV pozitifliği saptanan hastalarda, refleks test olarak doğrulama testlerinin yapılmasına benzerlik gösterecek şekilde HCV antikor pozitifliği saptanmış tüm hastalarda refleks test olarak HCV-RNA isteminin yapılmasının erken tanı ve tedavi avantajı sağlayacağı vurgulanmıştır. Benzer şekilde 2014 yılında yapılmış bir başka çalışmada da, pozitif bir HCV antikor testini takiben refleks test olarak HCV-RNA çalışmasının pek çok hasta için potansiyel olarak mevcut olan küratif farmakoterapi şansının kullanılabilmesi adına, HCV enfeksiyonunun en kısa sürede belirlenmesi için kritik öneme sahip olduğu belirtilmiştir. Ancak, araştırmacılar refleks test kullanımına yönelik analizlerin klinik olarak doğrulanması yoluyla, gelecekteki HCV-RNA test istem eğilimlerinin

yeniden değerlendirilmesini ve refleks testin hangi hastalarda ne dereceye kadar uygulanacağına belirlenmesini önermişlerdir⁽³¹⁾. HCV tanısı için kullanılan geleneksel iki aşamalı algoritmaya göre ilk aşamada serumda HCV antikorunun saptanmasını takiben ikinci aşamada yeni bir serum örneğinde HCV-RNA çalışmakta iken, CDC tarafından 2013 yılında yayınlanan raporda ABD’nde bu iki aşamalı algoritmanın ulusal bir değerlendirmesi yapılmış ve yeni HCV antikor pozitifliği saptanan hastaların %50’sinde HCV-RNA test isteminin yapılmamış olduğu saptanmıştır⁽³²⁾. Bu nedenle, HCV antikor pozitif olarak saptanmış serumda refleks test olarak HCV-RNA’nın çalışılması önerilmektedir⁽³³⁻³⁵⁾. Ancak ülkemiz şartlarına göre düşünüldüğünde tek basamaklı algoritmanın uygulamasında bazı olası olumsuzluklar göze çarpmaktadır. HCV antikor pozitifliklerinin bir kısmının yalancı pozitiflikler olması ve HCV-RNA testinin yüksek maliyetli bir test olması, algoritmaya mutlaka Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği’nde takip seçeneğinin eklenmesini zorunlu kılmaktadır. Çalışmamıza göre, HCV-RNA pozitifliği saptanan hastaların 72’si (%80), HCV-RNA negatif hastaların 170’i (%78) ve HCV-RNA istemi olmayan hastaların 31’inin (%10) Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği’ne başvurmuş olduğu gözlenmiştir.

Anti-HCV testi sonucu pozitif olduğu hâlde, HCV-RNA istemi bulunmayan hastaların HCV-RNA sonuçlarının dış merkezlerde bakılmış olması veya başka bir sağlık kuruluşunda takip edilmiş olma olasılığının çalışmamızda değerlendirilememiş olması, çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olup, daha geniş bir çalışma ile bu hastalara ulaşılarak durumlarının belirlenmesi sağlanabilir.

Çalışma geriye dönük verilerle elde edilmiş bir çalışma olduğu için HCV-RNA sonuçlarına göre hangi birimden HCV-RNA istemlerinin yapıldığına ve enfeksiyon hastalıkları dışındaki birimlerden HCV-RNA istemi yapılmış olması durumunda, hastanın Enfeksiyon Hastalıkları Hepatit Polikliniği’ne yönlendirildiğine dair elde bir veri bulunmamaktadır. Bu verilerin elde edilememesi çalışmanın diğer kısıtlılıklarıdır. Sonuç olarak, hastaların yaklaşık olarak yarısı

için HCV tanısını doğrulama işlemini şansa bırakmayacak uygulamalara ihtiyaç vardır. Bu amaçla, mikrobiyoloji laboratuvarı hastane dinamiklerini de göz önünde bulundurarak tanısal algoritmalar oluşturmalı ve anti-HCV pozitifliği saptanan hastalar, algoritma dâhilinde Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği’ne yönlendirilmelidir. Bunun yanında, “Akılcı Laboratuvar Kullanımı Projesi”nde refleks test uygulamasına göre, anti-HCV pozitifliği saptanan hastalarda refleks test tanımlamasıyla HCV-RNA isteminin yapılması sağlanabilir. Anti-HCV pozitifliği saptanan hastalar, algoritma veya refleks test istemi kapsamında sonuçlara eklenecek yönlendirici notlar ile enfeksiyon hastalıkları polikliniğine yönlendirilmelidir. Bu tür bir algoritmanın veya refleks test istem sisteminin işler hâle getirilebilmesi için mikrobiyoloji, enfeksiyon hastalıkları, diğer klinikler ve bilgi işlem biriminin işbirliğine ve birlikte çalışmasına gereksinim bulunmaktadır. Bu sayede anti-HCV pozitif olduğu halde eksik istem nedeniyle tanı alamamış hastaların tanı ve tedavisi sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Post J, Rtanarajah S, Lloyd AR. Immunological determinants of the out comes from primary hepatitis C infection. *Cell Mol Life Sci.* 2009;66(5):733-56. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8270-4>
2. Papatheodoridis G, Hatzakis A. Public health issues of hepatitis C virus infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2012;26(4):371-80. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2012.09.012>
3. MohdHanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology.* 2013;57(4):1333-42. <https://doi.org/10.1002/hep.26141>
4. Tozun N, Ozdogan O, Cakaloglu Y, et al. Seroprevalence of hepatitis B and C virus infections and risk factors in Turkey: a fieldwork TURHEP study. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(11):1020-6. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.06.028>
5. Tosun S. Dünyada ve Türkiye’de viral hepatit B Epidemiyolojisi. Rahmet Güner, Tabak F (Editörler) *Viral Hepatit 2018. Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını. İstanbul: İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık; 2018:13-48.*
6. Aygen B, Demirturk N, Turker N, ve ark. Kronik hepatit C virusu infeksiyonunun yönetimi: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği Viral Hepatit Çalışma Grubu Uzlaş Raporu-2017

- güncellemesi. *Klinik Derg.* 2017;30(Suppl.1):S2-S36.
7. Naggie S. Management of hepatitis C virus infection: the basics. *Top Antivir Med* 2012;20(5):154-61.
 8. Sirmatel F. Viral hepatitler ve korunma. *Clinical Medicine.* 2007;3:5-9.
 9. Pfaller MA. Molecular Biology. In: Isenberg HD (Editor) Washington. *Essential Procedures for Clinical Microbiology.* Washington, DC: ASM Press; 1998:579-668.
 10. Akhan S. Virus Enfeksiyonları. Hepatit C virusu. Topcu AW, Soyletir G, Doğanay M (Editörler) "Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi" kitabında, 3. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008:1911-27.
 11. <https://tetkikteshis.saglik.gov.tr/TR,32919/akilci-laboratuvar-kullanimi-projesi.html> (Erişim Tarihi: Eylül.2019)
 12. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on treatment of hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.026>
 13. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 2009;49(4):1335-74. <https://doi.org/10.1002/hep.22759>
 14. European Union HCV Collaborators. Hepatitis C virus prevalence and level of intervention required to achieve the WHO targets for elimination in the European Union by 2030: a modeling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017;2(5):325-36. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30045-6](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30045-6)
 15. Feeney ER, Chung RT. Antiviral treatment of hepatitis C. *BMJ.* 2014;348:g3308. <https://doi.org/10.1136/bmj.g3308>
 16. Pawlotsky JM. New hepatitis C therapies: the toolbox, strategies, and challenges. *Gastroenterology.* 2014;146(5):1176-92. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.03.003>
 17. World Health Organization. New recommendations in the updated WHO guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. Geneva: WHO; 2016. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/> (Erişim tarihi: Eylül.2019)
 18. Soriano V, Labarga P, Fernández-Montero JV, et al. The changing face of hepatitis C in the new era of direct-acting antivirals. *Antivir Res.* 2013;97(1):36-40. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.10.011>
 19. Papatheodoridis G, Tsochatzis E, Hardke S, Wedemeyer H. Barriers to care and treatment for patients with chronic viral hepatitis in Europe: a systematic review. *Liver Int.* 2014;34(10):1452-63. <https://doi.org/10.1111/liv.12565>
 20. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.* 2009;29(S1):S74-S81. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2008.01934.x>
 21. Masood Z, Jawaid M, Khan RA, Rehman S. Screening for Hepatitis B and C: A routine preoperative investigation? *Pak J Med Sci.* 2005;21(4):455-9.
 22. Ahmad I, Khan SB, Rehman H, et al. Frequency of hepatitis B and Hepatitis C among cataract patients. *Gomal J Med Science.* 2006;4(2):61-4.
 23. Ganiczak M, Szych Z. Rationale for the implementation of preoperative testing for HCV in the light of HCV and HBsAg tests results in surgical patients from a teaching hospital. *Przeegl Epidemiol.* 2009;63(3):387-92.
 24. Montecalvo MA, Lee MS, De Palma H, et al. Seroprevalence of human immunodeficiency virus-1, hepatitis B virus, and hepatitis C virus in patients having major surgery. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1995;16(11):627-32. <https://doi.org/10.2307/30141113>
 25. Yalçın K, Değertekin H, Akkız H. HCV genotypes in HCV related chronic hepatitis in Southeast Anatolia. *Turk J Gastroenterol.* 1999;10(3):249-52.
 26. Çelik C, Gözel MG, Dayı F, Kaygusuz R, Bakıcı MZ. Anti HCV seropozitif kişilerde moleküler HCV RNA test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Turk Aile Hek Derg.* 2013;17(2):56-59. <https://doi.org/10.2399/tahd.13.66376>
 27. Kayman T, Karakükçü Ç, Gödekmerdan A. Anti-HCV pozitif hastaların HCV RNA, serum transaminaz ve AST/ALT oranlarının değerlendirilmesi. *Viral Hepatit Derg.* 2013;19(3):99-102. <https://doi.org/10.4274/Vhd.69885>
 28. LeeCH, ShinHP, LeeJI, et al. Predicting factors of present hepatitis C virus infection among patients positive for the hepatitis C virus antibody. *Clin Mol Hepatol.* 2013;19(4):376-81. <https://doi.org/10.3350/cmh.2013.19.4.376>
 29. Janssens PMW, Wasser G. Managing laboratory test ordering through test frequency filtering. *Clin Chem Lab Med.* 2013;51(6):1207-15. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0841>
 30. McGibbon E, Bornschlegel K, Balter S. Half a diagnosis: gap in confirming infection among hepatitis C antibody-positive patients. *Am J Med.* 2013;126(8):718-22. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2013.01.031>
 31. Spradling PR, Tong X, Rupp LB, et al. Trends in HCV RNA testing among HCV antibody-positive persons in care, 2003-2010. *Clin Infect Dis.* 2014;59(7):976-81. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu509>
 32. Centers for Disease Control and Prevention. Vital signs: evaluation of hepatitis C virus infection testing and reporting -eight U.S. Sites, 2005-2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013;62(18):357-61.
 33. Centers for Disease Control and Prevention. Testing for HCV infection: an update of guidance for clinicians and laboratorians. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013;62(18):362-5.
 34. National Institute for Health and Clinical Excellence. Hepatitis B and C testing: people at risk of infection. NICE guideline (PH43). London, 2012.
 35. Public Health England. Investigation of hepatitis C infection by antibody testing or combined antigen/antibody assay. UK Standards for Microbiology Investigations (SMI). 2014; 5(7).

Leishmaniasisde Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu için Sitokrom B Gen Bölgesinden Tür Ayırımı Yapabilen Primer ve Probların Tasarlanması: Pilot Çalışma

Designing of the Primers and Probes for Real Time Polymerase Chain Reaction of Cytochrome B Gene Region in Leishmaniasis: A Pilot Study

Ahmet Özbilgin*[ⓧ], Bakiye Göker Bağca**[ⓧ], Mehmet Harman***[ⓧ], İbrahim Çavuş*[ⓧ], Tuğba Kaya****[ⓧ]
Ahmet Yıldırım*[ⓧ], Cumhuriyet Gündüz**[ⓧ]

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

**Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

***Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

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

Öz

Amaç: Bu çalışmada, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile parazitin sitokrom b gen bölgesi kullanılarak leishmaniasis etkeninin (*Leishmania donovani*, *Leishmania major*, *Leishmania tropica* ve *Leishmania infantum*) tür tayininin belirlenmesi için primer ve problemlerin tasarlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'nda kriyoprezervasyonu yapılarak sıvı azot tankında saklanmış olan *Leishmania* suşları uygun koşullarda canlandırılarak besiyerlerine aktarılmış ve ticari kit ile DNA izolasyonları yapılmıştır. Elde edilen DNA'lara *Leishmania*'nın yeni tasarladığımız sitokrom b gen bölgesi primer ve prob adayları ve kontrol için daha önce kullandığımız internal transcribed spacer-1 gen bölgesine özgü tasarlanan primer ve problemler kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu erime analizleri uygulanmıştır.

Bulgular: Yeni tasarlanan sitokrom b gen bölgesi primer ve problemler ile *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania infantum*, *Leishmania donovani*, *Leishmania aethiopia* ve *Leishmania infantum/donovani* hibrit türlerinin genotiplendiği saptanmıştır.

Sonuç: Yeni Dünya leishmaniasis etkenleri olan *Leishmania braziliensis* ve *Leishmania amazonensis* dışında, Eski Dünya leishmaniasis etkeni olan *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania infantum*, *Leishmania donovani*, *Leishmania aethiopia* ve *Leishmania infantum/donovani* hibritinin yeni tasarlanan sitokrom b gen bölgesi primer ve problemler kullanılarak başarılı bir şekilde genotiplendirildiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Sitokrom B, GZ-PZR, *Leishmania*

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to design primers and probes to identify *Leishmania* species (*Leishmania donovani*, *Leishmania major*, *Leishmania tropica* and *Leishmania infantum*) through Real Time Polymerase Chain Reaction using the cytochrome b gene region.

Method: The *Leishmania* strains, which have been cryopreserved and stored in liquid nitrogen in the Parasite Bank of Manisa Celal Bayar University, were transferred to culture media after being revived under the appropriate conditions and their DNA isolations were conducted using a commercial kit. Real Time Polymerase Chain Reaction melting analyses were conducted for the extracted DNA by utilizing both the candidate primers and probes of cytochrome b gene region, newly designed for *Leishmania*, and the primers and probes, designed for internal transcribed spacer-1 gene region we had previously used for control.

Results: *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania infantum*, *Leishmania donovani*, *Leishmania aethiopia* and *Leishmania infantum/donovani* hybrid species were managed to be genotyped successfully using the primers and probes of the newly designed cytochrome b gene region.

Conclusion: It has been observed that Old World *Leishmania* species (*Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania infantum*, *Leishmania donovani*, *Leishmania aethiopia* and *Leishmania infantum/donovani* hybrid), rather than New World *Leishmania* species (*Leishmania braziliensis* and *Leishmania amazonensis*), were successfully genotyped by the primers and probes of the newly designed cytochrome b gene region.

Keywords: Cytochrome B, RT-PCR, *Leishmania*

Alındığı tarih / Received:
11.11.2019 / 11.November.2019

Kabul tarihi / Accepted:
16.12.2019 / 16.December.2019

Yayın tarihi / Publication date:
31.06.2020 / 31.June.2020

ORCID Kayıtları

A. Özbilgin 0000-0003-3613-8741
B. Göker Bağca 0000-0002-5714-7455
M. Harman 0000-0002-8845-1433
İ. Çavuş 0000-0002-3860-0146
T. Kaya 0000-0001-7612-5414
A. Yıldırım 0000-0003-4411-8185
C. Gündüz 0000-0002-6593-3237

✉ ahmetyildirim.par@yahoo.com

Atf: Özbilgin A, Göker Bağca B, Harman M, Çavuş İ, Kaya T, Yıldırım A, Gündüz C. *Leishmaniasis*'de gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu için sitokrom B gen bölgesinden tür ayırımı yapabilen primer ve problemlerin tasarlanması: Pilot çalışma, Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(2):86-94.

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atf-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

Leishmaniasis, dünya genelinde yayılım gösteren ve kum sineği vektörü ile omurgalı konağa bulaştırılan zoonotik/antroponotik özellik gösteren protozoon parazitler olan *Leishmania* türlerinin neden olduğu enfeksiyon hastalığıdır. *Leishmania* türleri aralarında morfolojik açıdan fark olmamasına karşın, tedaviye gerek duyulmaksızın iyileşebilen ve ölümcül olmayan deri enfeksiyonundan, iç organlara yerleşen ve çok sayıda insanın ölümü ile sonuçlanan epidemilere yol açabilen sistemik enfeksiyona kadar oldukça farklı hastalık tablolarına neden olmaktadır⁽¹⁾.

Dünya Sağlık Örgütü'nün en önemli 6 tropikal hastalıktan biri olarak kabul ettiği *Leishmaniasis*e bağlı olarak, dünya genelinde 20 milyon insanın hastalığa yakalanmış olduğu, her yıl 400 bin yeni olgunun ortaya çıktığı ve yaklaşık olarak 350 milyon insanın ise risk altında olduğu bildirilmektedir. Memelilerin zorunlu hücre içi paraziti olan *Leishmania* türleri, enfekte kum sineği türlerinin (*Phlebotomus* veya *Lutzomyia* cinsi tatarcıklar/yakarcalar) kan emmesi esnasında omurgalı konağa bulaştırılmaktadırlar. Morfolojik açıdan aralarında fark olmayan *Leishmania* türleri klinik açıdan değerlendirildiğinde kutanöz leishmaniasis (KL), visseral leishmaniasis (VL) ve mukokutanöz leishmaniasis (MKL) olarak üçe ayrılmaktadır. Son yıllarda dördüncü klinik form olarak değerlendirilen post kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL) ise *L. donovani*'nin etkeni olduğu VL'de sağaltım sürecinin sonunda deride gözlenen klinik tablo olarak kabul edilmektedir⁽²⁾.

Visseral leishmaniasis ve KL yeni ve eski dünyada ayrı *Leishmania* türleri tarafından oluşturulmaktadır. Eski Dünya *Leishmaniasis*'i daha çok endemik özellik göstermekle birlikte, Hindistan ve Afrika ülkelerinde zaman zaman epidemilere de neden olabilmektedir. Ülkemizde, Ege ve Akdeniz bölgelerinde daha yoğun olarak görülen VL'in etkeni *L. infantum*; Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz bölgelerinde daha yoğun olarak görülen KL'in etkeni ise *L. tropica* olarak karşımıza çıkmaktadır. Endemik bölgelerde yaşamını sür-

düren ya da endemik bölge seyahat öyküsü bulunan ve hastalığa özgü klinik belirtilerle başvuran, özellikle de küçük yaş grubundaki çocuk olgular kesinlikle VL açısından değerlendirilmelidir. Kendiliğinden tedavi gerektirmeksizin iyileşmesi genel olarak bir yıl sürmesinden dolayı ülkemizde "Yıl Çıbanı" olarak halk arasında adlandırılan KL ise sıklıkla, uzun sürede geçmeyen, çoğunlukla ellerde ve yüzde gözlenen ülser ile karşımıza çıkmaktadır⁽³⁾.

Epidemiyolojik durumun oldukça çeşitli olmasından dolayı hâlihazırda tüm leishmaniasis olgularında kullanıma uygun tek bir tanı, tek bir tedavi ve kontrol yöntemi mevcut değildir. Özgüllük ve duyarlılığı yüksek olan, invaziv olmayan ve uygulaması basit testlerin bulunmaması, sahada tanıyı güçleştirmektedir. Hâlihazırda kullanılan kemik iliği veya dalak örneği ile çalışılan parazitolojik testler, invaziv yöntemler olarak değerlendirildiğinden dolayı her hasta için uygun görülmemektedir. Çapraz reaksiyon görülmesinden dolayı, serolojik testlerin özgüllük ve duyarlılığı düşüktür. Son zamanlarda geliştirilen nükleik asit tabanlı yöntemler ise oldukça avantajlı olmasına karşın gerek duyulan ekipmanlar karmaşık ve fazla olarak görülmektedir. *Leishmania* türlerinin moleküler tanısı için birçok çalışma yapılmaktadır. Tür tanımı analizlerinde *Leishmania* genomuna ait, ribozomal DNA⁽⁴⁾, kinetoplast DNA'sı⁽⁵⁾, *katepsin L-benzersiz* *proteaz B* gen bölgesi⁽⁶⁾ ve sitokrom b (*cyt b*) gen bölgesi⁽⁷⁾ kullanılan bölgelerinden bazılarıdır.

Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (GZ-PZR) yöntemi ile parazitin *cyt b* gen bölgesi kullanılarak tasarlanan primer ve probaların Eski Dünya *Leishmaniasis* etkeni olan *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum*, *L. donovani*, *L. aethiopica* ve *L. infantum/donovani* türlerinin başarılı bir şekilde genotipleştirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Parazit Bankası'nda kademeli dondurma yöntemi ile kriyoprezervasyonu yapılarak sıvı azot tankında saklanmış olan *L. tropica*

(MHOM/AZ/1974/SAF-K27), *L. major* (MHOM/SU/1973/5ASKH), *L. infantum* (MHOM/TN/1980/IPT1), *L. donovani* (MHOM/IN/1980/DD8), *L. aethiopica* (MHOM/ET/1972/L100), *L. braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903), *L. amazonensis* (MHOM/BR/73/M2269) ve *L. infantum/donovani* hibrit suşu (MHOM/TR/2014/CBU25) referans grubu izolatları olarak kullanılmıştır. Bunların yanı sıra Türkiye’de kutanöz ve visseral Leishmaniasisli hastalardan elde edilmiş ve dondurularak sıvı nitrojenle saklanmış 22 adet hasta izolatu çalışma grubu izolatları olarak kullanılmıştır.

Sıvı azottan çıkarılan tüm izolatlar 37°C’lik su banyosunda kısa süre içerisinde çözündürülmüş ve NNN besiyerine ve RPMI 1640+%15 FCS içeren sıvı besiyerine ekimleri yapılmıştır. Üreyenler RPMI 1640+%15 FCS içeren besiyerine ekilerek üreme yoğunlukları 10⁷ promastigot/ml’ye ulaştığında Roche High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche®) kullanılarak kitin içerisinde belirtilen yönergeler doğrultusunda DNA izolasyonları yapılmıştır. Detaylı çalışma bilgisi aşağıda verilmiştir.

NNN besiyeri: Katı faz: Bir balon içerisine eklenen NaCl (1 g), agar (5 g), pepton (2 g) ve distile su (200 mL), 20 dakika süreyle 121°C sıcaklıkta otoklavlanmıştır. Aseptik ortam şartlarında, steril balon içerisine 30 mL tavşan kanı konulmuştur. Ardından, gentamisin solüsyonundan 2.3 mL (%1) eklenmiştir ve homojen olarak karışması sağlanmıştır. Agar içeren süspansiyon yaklaşık 50°C sıcaklığa kadar soğutulmuştur, üzerine steril tavşan kanı eklenerek homojenize edilmiştir ve zaman kaybetmeden steril tüpler içerisine 3-4 mL olarak dağıtılmıştır. Besiyerinin katılaşması için eğimli bir zemine konulan tüpler, oda sıcaklığında bekletilmiştir ve sonrasında kullanılmaya dek +4°C’de korunmuştur.

Sıvı faz: Kullanılacağı zaman buzdolabından çıkarılan besiyerinin dip kısmında az bir miktarda kondansasyon sıvısı adı verilen bir sıvı toplanır. Bu sıvı üzerine, RPMI-1640 besiyerinden (%15 FCS) 1 mL eklenmiştir ve besiyeri ekim için hazırlanmıştır.

DNA izolasyonu: Besiyerinde üreme yoğunlukları 10⁷ promastigot/mL olduğunda promastigotlar üç kez PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra, filtrelili pipet uçları kullanılarak ependorf tüp içerisine promastigot süspansiyonundan 200 µL eklenmiştir. Üzerine 40 µL proteinase K ve 200 µL “Binding Buffer” solüsyonlarından eklenmiştir ve homojen olarak karışması sağlanmıştır. 70°C sıcaklıktaki ısıtıcı blok içerisinde 10 dakika süreyle bekletilmesi sonrasında, ependorf tüp ısıtıcı bloktan çıkarılmıştır, içerisine isopropanol alkol solüsyonundan 100 µL eklenmiştir ve karışması sağlanmıştır. Ependorf içerisindeki süspansiyon, “Collection” tüp içine konulan filtrelili tüp içerisine eklenmiştir ve 8000 g devirde 1 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında, “Collection” tüp atılmıştır ve yenisiyle değiştirilmiştir. “Removal Buffer” solüsyonundan filtrelili tüp içerisine 500 µL eklenmiştir ve 8.000 g devirde 1 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında, “Collection” tüp atılmıştır ve yenisiyle değiştirilmiştir. “Wash Buffer” solüsyonundan filtrelili tüp içerisine 500 µL eklenmiştir ve 8.000 g devirde 1 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında, “Collection” tüp atılmıştır ve yenisiyle değiştirilmiştir. Bu işlem bir kez daha yinelenmiştir. Tekrar yıkama yaptıktan sonra filtrelili tüp boş olarak 15 saniye kullanılan santrifüjün en üst sınırında santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra filtrelili tüp boş bir ependorf tüpü içerisine yerleştirilmiştir. Filtrelili tüp içerisine 70°C sıcaklıktaki “Elution Buffer” solüsyonundan 100 µL eklenmiştir. Ardından, 8.000 g devirde 1 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında filtrelili tüp atılmıştır ve DNA örneği ependorf tüp içinde izole edilmiştir. PZR çalışılana dek, uygulanan bu protokol sonucunda elde edilen DNA örnekleri -20°C’de korunmuştur.

Genotiplendirme: Elde edilen DNA’lar kontrol amacı ile daha önce kullandığımız Leishmania’nın ITS-1 bölgesine özgü primer ve problemleri kullanılarak GZ-PZR çalışılmıştır⁽⁸⁾. Daha sonra aynı DNA örnekleri yeni tasarladığımız *cyt b* gen bölgesi primer ve problemleri kullanılarak GZ-PZR çalışılmıştır.

Yeni tasarlanan *Leishmania*'nın *cyt b* gen bölgesine özgü primer ve problemler;

Forward: GCAACYGTCCCAGTTATWGG
 Revers: AAKGTATCAACTATWACTCAWGAYTCTTCAT
 Probe 1: free-TTCGGATGGGTTTTGTGATAGAT-Fluo
 Probe 2: LC640-TGCATTTTATTGYGARGCTTTATG

Yeni tasarlanan *Leishmania*'nın *cyt b* gen bölgesine özgü primer ve problemler ile GZ-PZR analizi için hazırlanan toplam 10 µL'lik reaksiyon karışımına (Tablo 1) GZ-PZR protokolü (Tablo 2) uygulanarak erime eğrileri analizi her bir örnek için elde edilmiştir. Örneklerin erime eğrileri ile referans suşların erime eğrilerine göre incelenen suşların genotiplendirilmesi gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma, T.C. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Yerel Etik Kurulu'nun 03/08/2016 tarih ve 20.478.486-292 sayılı kararı ile alınan Etik Kurul onayı ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Yeni tasarlanan *Leishmania*'nın *cyt b* bölgesine özgü primer ve problemler ile hazırlanan PZR mix.

İçerik	Molar	Hacim
Forward Primer	5 µM	1 µL
Reverse Primer	5 µM	1 µL
Probe 1	2 µM	1 µL
Probe 2	2 µM	1 µL
Enzim (Fast Start)	-	1 µL
Mg ²⁺	-	0.8 µL
H ₂ O	-	2.2 µL
DNA	-	2 µL
Toplam		10 µL

Tablo 2. Yeni tasarlanan *Leishmania*'nın *cyt b* bölgesine özgü primer ve problemler ile hazırlanan PZR protokolü.

Program	Döngü sayısı	Analiz Modu	Hedef sıcaklık (°C)	Süre	Okuma modu	Sıcaklık artış hızı (°C/sn)	Okuma (°C başına)
Denatürasyon	1	-	95°C	10 dk	-	4.4	-
			95°C	10 sn	-	4.4	-
Döngü	45	Kantifikasyon	60°C	10 sn	-	2.2	-
			72°C	15 sn	Tek	4.4	-
Erime	1	Erime eğrisi	95°C	2 dk	-	4.4	-
			45°C	2 dk	-	2.2	-
Soğutma	1	-	65°C	0 sn	Sürekli	0.11	5
			40°C	10 sn	-	2.2	-

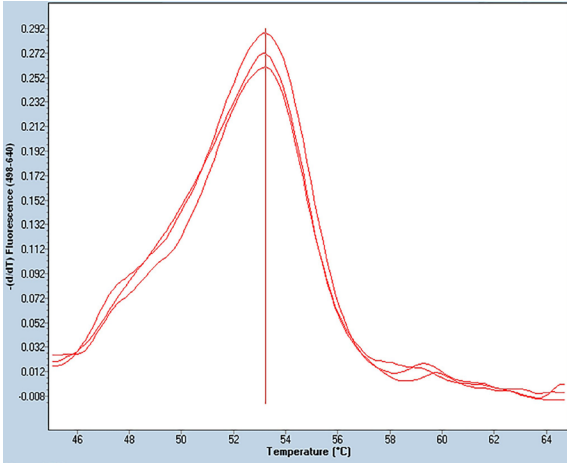
BULGULAR

Elde edilen DNA'ların kontrol amacı ile daha önce kullandığımız *Leishmania*'nın ITS1 bölgesine özgü primer ve problemler kullanılarak yapılan GZ-PZR analizi sonucunda elde edilen erime eğrileri değerlendirilmiştir. Bu ön çalışmada, *Leishmania braziliensis* ve *Leishmania amazonensis* referans suşu anlamlı bir sonuç vermemiştir. Diğer türlerde ve hasta suşları ile yapılan çalışma sonucunda elde edilen erime eğrileri değerlendirildiğinde genotiplemenin başarı bir şekilde yapıldığı görülmüştür.

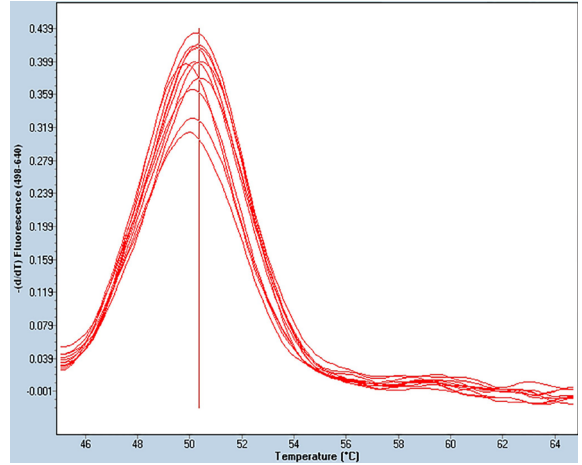
Yeni tasarlanan *Leishmania*'nın *cyt b* gen bölgesine özgü primer ve problemler kullanılarak yapılan GZ-PZR analizi sonucunda elde edilen eğriler değerlendirildiğinde *L. tropica* referans suşu ile 2 hasta izolatu (Şekil 1), *L. major* referans suşu ile 10 hasta izolatu (Şekil 2), *L. infantum* referans suşu ile 3 hasta izolatu (Şekil 3), *L. donovani* referans suşu ile 5 hasta izolatu (Şekil 4), *L. aethiopica* referans suşu ile 1 hasta izolatu (Şekil 5), ve *L. infantum/donovani* hibrit referans suşu ve 1 hasta izolatu (Şekil 6) erime eğrileri değerlendirildiğinde yeni tasarlanan *Leishmania*'nın *cyt b* gen bölgesine özgü primer ve problemlerin eski dünya *Leishmania* türlerini genotiplelediği görülmüştür.

TARTIŞMA

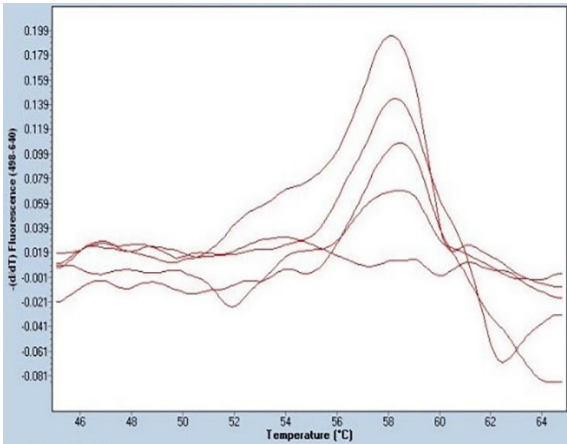
Epidemiyolojik durumun oldukça çeşitli olmasından dolayı halihazırda tüm leishmaniasis olgularında kullanıma uygun tek bir tanı, tek bir tedavi ve kontrol yöntemi mevcut değildir. Özgüllük ve duyarlılığı yük-



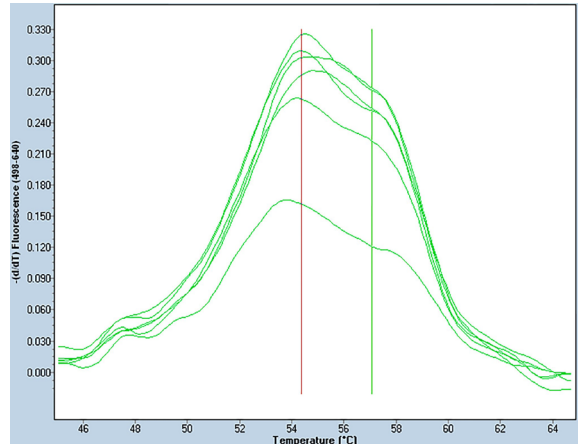
Şekil 1. *Leishmania tropica* referans suşu ile hasta izolatlarının erime eğrileri.



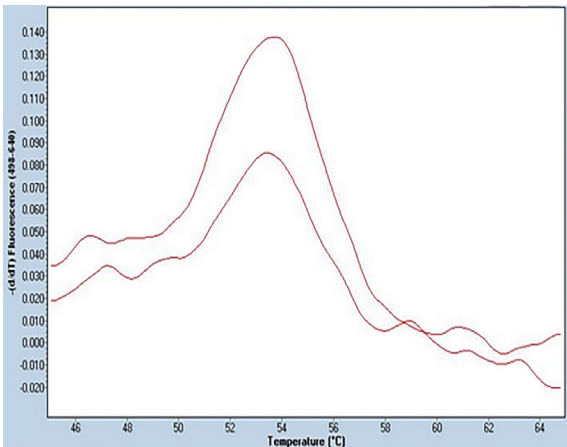
Şekil 2. *Leishmania major* referans suşu ile hasta izolatlarının erime eğrileri.



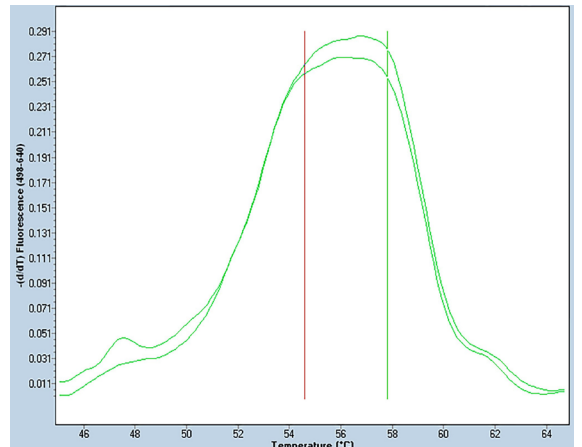
Şekil 3. *Leishmania infantum* referans suşu ile hasta izolatlarının erime eğrileri.



Şekil 4. *Leishmania donovani* referans suşu ile hasta izolatlarının erime eğrileri.



Şekil 5. *Leishmania aethiopsica* suşu ve hasta izolatının erime eğrisi.



Şekil 6. *Leishmania infantum/donovani* hibrit suşu ve hasta izolatının erime eğrisi.

sek olan, invaziv olmayan ve uygulaması basit testlerin bulunmaması, sahada tanıyı güçleştirmektedir. Hâlihazırda kullanılan kemik iliği veya dalak örneği ile çalışılan parazitolojik testler, invaziv yöntemler olarak değerlendirildiğinden dolayı her hasta için uygun görülmemektedir. Çapraz reaksiyon görülmesinden dolayı, serolojik testlerin özgüllük ve duyarlılığı düşüktür. Son zamanlarda geliştirilen nükleik asit tabanlı yöntemler ise oldukça avantajlı olmasına karşın gerek duyulan ekipmanlar karmaşık ve fazla olarak görülmektedir^(9,10).

Leishmaniasis tanı protokolünde, bilinen moleküler metodlar da uygulanmaktadır. Tüm genom analizi 2005 yılında tamamlanmış olan *L. major* Friedlin suşunun analiz sonuçları araştırmacıların kullanımına sunulmuştur. PZR yöntemi, az miktarda klinik materyal ile çalışmaya olanak tanınması, etkenin hızlıca belirlenebilmesi ve uygulanan tedavi protokolünün başarısının takip edilebilmesi gibi avantajlara sahiptir. PZR'nun kullanıma girmesi ile birlikte, moleküler testlerin VL ve KL enfeksiyonları için tanı ve araştırmalardaki yeri ve önemi artmıştır. *Leishmaniasis* tanısı için farklı klinik mateyallerden yapılan total DNA izolasyonu ile PZR yöntemi uygulanmaktadır. Kan örnekleri kullanıldığında; santrifüj işlemi sonrasında dipteki pelletten tampon solüsyonu içerisinde süspansiyon hazırlanmaktadır. Lenf bezi aspiratları ve deri örneği kullanıldığında da tampon solüsyon içerisinde homojenize edilmektedir. Her bir örnek için kit kullanılarak DNA izolasyonu yapılmaktadır. Daha önce üretilen belirli sayıdaki parazitlerden DNA izole edilmesi ve GZ-PZR ile standart eğriler oluşturulmasından dolayı, örneklerdeki parazit miktarı ile ilgili oranlamada bulunulabilmektedir^(10,11).

Mikroskopik inceleme ile karşılaştırıldığında KL'de, PZR ile oldukça hassas sonuçlar elde edilmektedir. VL'de ise mikroskopik inceleme sonucu negatif olduğunda dâhi serolojik testler bağımsızlığı sağlam bireylerde %100'e yakın duyarlılığa sahip olmakla birlikte, doğrulayıcı test olarak PZR oldukça önemlidir. Spesifik antikor yanıtının az olmasından dolayı bağımsızlığı basılanmış bireylerde (AIDS/HIV+, transplant hastası

vb.) PZR, mikroskopi sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde tanıda önem kazanmaktadır^(10,12,13).

Farklı gen bölgeleriyle PZR ve PZR-RFLP yöntemleriyle aynı zamanda tür tanımlanması da yapılabilmekte ve bir bölgede hastaların hangi *Leishmania* türü ile enfekte olduklarına rutin olarak yanıt verme olanağı sağlanmaktadır. *Kinetoplastidae* ailesinde bulunan, visseral ve kutanöz leishmaniasise neden olan *Leishmania* parazitlerinin nükleer DNA'ları yanısıra kinetoplastik DNA'ları (kDNA) da bulunmaktadır. Parazitin kDNA'sında büyük daire (maxicircle) ve küçük daire (minicircle) bölgeleri bulunmaktadır. "Minicircle" bölümünün 10.000 kopyadan oluşması tanıdaki hassasiyeti artırmaktadır. "Minicircle" sabit bölgesi tanıda çok hassas olmasına karşın türler arası ve tür içi genotipik farklılıkları gösterememektedir. Değişken bölgesi ise "RNA editing" bölgesi olup, in vitro besiyerlerinde sürdürülen suşlarda zaman içinde değişiklik gösterebilmektedir, hastadan alınan klinik örneklerde ise tür içi genotipik farklılıkların gösterilmesinde kullanılabilir. Nükleer DNA'da 27. kromozomda bulunan small subunit ve large subunit ribosomal RNA (*ssu* ve *lsu* rRNA) genleri arasında kalan 0.9-1.2 kb kodlamayan bölgenin (internal transcribed spacer, ITS) *Leishmania* türleri ayırabilecek düzeyde değişken olduğu bildirilmiştir^(10,14-16).

Kliniğe başvuran hastalarda ve saha çalışmalarındaki örneklerin toplanması, laboratuvara taşınması ve DNA izolasyonundaki yeni tekniklerin sağladığı önemli avantajlar sonucunda PZR ile tanı altın standart olarak kabul edilebilir konuma gelmiştir. PZR ile yapılan çeşitli çalışmalarda, %100 özgüllük ve %92-98 aralığında değişen duyarlılığa ulaşılabilmektedir. Ayrıca PZR ile *Leishmania* parazitlerine tür ve alt tür seviyesinde tanı konulabilmektedir. Türe dayalı tanı konması tedavinin yönlendirilmesi ve prognozun belirlenmesinde önem taşımaktadır. Bu durum PZR analizinin dünyada yalnızca gelişmiş merkezlerde değil leishmaniasisin endemik olduğu ülkelerde saha koşullarında da yapılabilmesi ile bu konuda daha da gelişmeler sağlanacağı vurgulanmaktadır^(10,17).

Her bir amaca yönelik olarak uygulanan yöntemler, yöntemlerin kombinasyonları ve genomdaki hedefler değişebilmektedir. Belirtilen bütün bu konularda çalışmalar devam etmektedir. Tanı, kantitasyon ve canlılık çalışmaları için hassasiyetin en yüksek seviyede olması gerekli olduğu için kopya sayısı yüksek olan hedeflerle çalışılmaktadır (rRNA genleri, kinetoplast DNA'nın küçük daire bölümü, mini-exon genleri ve genomik tekrar bölgeleri gibi). Tür ayırımında hedef bölgenin hassasiyeti sağlaması kadar taksonomik düzeyde değişken olması gerekliliği de önem taşımaktadır. Bu nedenle kopya sayısı çok ve polimorfik bölgeler [*gp63*, rRNA geninin "internal transcribed" bölgeleri, *ısı şok proteini 70 (hsp70)*, *sistein proteinaz* genleri gibi] hedeflenmektedir. Parazit düzeyinde ayırım içinse çözünürlük düzeyi yüksek olması gerektiğinden kinetoplast DNA küçük dairesinin değişken bölümü, mikrosatellitler veya bazı antijen kodlayan genler kullanılmaktadır^(10,17-20).

Leishmaniasis tanısı için dokudan izole edilen DNA örneklerinin kullanıldığı birçok PZR yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemler vektör ve rezervuarların epidemiyolojik araştırmalarında da başarıyla kullanılmaktadır. PZR hedefi olarak çok kopyalı dizilerin seçilmesiyle en yüksek duyarlılığa ulaşılmaktadır. PZR'nun özgünlüğü *Leishmania*'nın genomundaki korunan ya da değişken bölgelerin seçilmesiyle özel gereksinimlere göre adapte edilerek parazit cins kompleksi, tür ya da bireysel izolat seviyesinde tanımlanabilir. Ayrıca görünürde başarılı bir tedaviden sonraki kontrolde PZR uygulanarak relapslar, PKDL ve MKL gelişecek hastalıkların saptanması gibi hastalığın prognozu belirlenebilmektedir⁽¹⁰⁾.

Yapılan bir çalışmada, çeşitli kan ile beslenen vektörlerin kuş ve memeli konaklarını tanımlamak için kullanılan mitokondriyal *cyt b* geninin çoklu dizilimlerine göre tasarlanmış primerlere dayanan DNA sekansı yapılarak GZ-PZR protokolü uygulanmıştır. *Cyt b* geninin 359 bp'lik sekansını kodlayan bir fragmentin amplifikasyonu yapılarak analiz edilen toplam 362 dışıdan 192 dışı kum sineğinde (%53) tanımlanmış amplifikasyon ürünlerini verdiğini bulunmuştur⁽²¹⁾.

Genetik seçimin neden olduğu genetik farklılık, kum sineklerinin ve diğer artropodların insektisid hassasiyetini ve vektörel kapasitesini etkilemektedir. *Lutzomyia* spp'deki mitokondriyal *cyt b* geninin genetik çeşitliliği üzerine yapılan bir çalışmada, Peru'da dolaşan 13 türdeki *cyt b* gen dizileri belirlenmiş ve Peruvian Andes'deki *Leishmania* (*Viannia*) *peruviana*'nın ana vektörü olan *Lutzomyia peruensis*'deki tür içi genetik farklılık değerlendirilmiştir. Otuz altı *Lutzomyia peruensis*'in *cyt b* gen sekanslarındaki tür içi genetik farklılık analizlerinde genin orta bölgesinde yüksek derecede polimorfik olan 3 bölge tanımlanmıştır. Ülkedeki 3 bölgenin 9 alanındaki 130 *Lutzomyia peruensis*'in *cyt b* gen sekansları üzerine haplotip ve gen ağı analizleri yapılmıştır. Yapılan bu çalışma ile kum sineği popülasyonunun genetik yapısının analizi için *cyt b* geninin orta bölgesinin yararlı olduğu bildirilmiştir⁽²²⁾.

Çeşitli türlerde ve çalışmalarda, gerek genotiplemede gerekse popülasyonların genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde *cyt b* gen bölgesi kullanılmaktadır. *Leishmania*'larda ise *Leishmania* genomuna ait, ribozomal DNA, kinetoplast DNA'sı, *katepsin L-benzeri sistein proteaz B* gen bölgesi ve *cyt b* gen bölgesi kullanılan bölgelerinden bazılarıdır. *cyt b* gen bölgesi türlere özgü spesifik değişikliklere sahip olmakla birlikte, A (Adenin) ve T (Timin)'den oldukça zengin ve homopolimeri bulunan bölgedir ve primer probe tasarımını gerçekleştirmek oldukça zor olmasına rağmen türe, özgü genetik materyalleri de taşımaktadır. Bizim çalışmamızda 22 leishmaniasis hastasından elde edilen hasta izolatu parazitinin *cyt b* gen bölgesine ait yeni tasarlandığımız primer ve FRET problemlerinin GZ-PZR yöntemi ile genotiplendirildiğinde *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum*, *L. donovani*, *L. aethiopica* ve *L. infantum/donovani* hibrit türlerinde başarılı sonuçlar alınmıştır. Ancak tasarlanan primer ve FRET problemlerinin Yeni Dünya leishmaniasis etkenleri olan *L. braziliensis* ve *L. amazonensis* referans suşlarında çalışmamıştır.

Sonuç olarak, yeni tasarlanan *Leishmania*'nın *cyt b* gen bölgesine özgü primer ve problemler kullanılarak yapılan GZ-PZR analizi sonucunda elde edilen eğriler

değerlendirildiğinde bölgemizdeki *Leishmania* türlerini başarılı bir şekilde ayırdığı görülmüştür.

Özellikle ülkemizde Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgesinde, dünyada ise Akdeniz havzası başta olmak üzere birçok ülkede tasarladığımız primer ve probler kullanılarak leishmaniasis etkeninin kısa sürede doğru bir şekilde tanınması ve tür ayrımını yapabiliyor olması hastalığın tedavi sürecini ve yaşam kalitesini olumlu etkileyecektir. Bu bir pilot çalışma olup, fazla sayıda hasta izolatu ve klinik materyal ile geniş kapsamlı çalışmaların yapılması ileride planlanacaktır. Daha sonra bu çalışmadan elde edilecek sonuçlar kit hâline dönüştürülerek ileride patent alınması düşünülmektedir.

Teşekkür: Bu çalışmayı BAP 2016-149 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. Marquardt WC, Demaree RS, Grieve RB. *Leishmania* and the Leishmanioses. In: Parasitology and Vector Biology. Academic Press, San Diego, CA. 2000:57-71.
2. Osman OF. The PCR and direct agglutination test for diagnosis and management. Universiteit van Amsterdam [Doktora tezi], 1998.
3. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. Unat'ın Tıp Parazitolojisi. 4. baskı. İstanbul: İstanbul: İÜ Cerr Tıp Fak Yayınları; 1991.
4. Cupolillo E, Grimaldi Júnior G, Momen H, Beverley SM. Intergenic region typing (IRT): A rapid molecular approach to the characterization and evolution of *Leishmania*. Mol Biochem Parasitol. 1995;73(1-2):145-55. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(95\)00108-D](https://doi.org/10.1016/0166-6851(95)00108-D)
5. de Paiva-Cavalcanti M, de Moraes RCS, Pessoa-e-Silva R, et al. Leishmaniasis diagnosis: An update on the use of immunological and molecular tools. Cell Biosci. 2015;5:31. <https://doi.org/10.1186/s13578-015-0021-2>
6. Nath-Chowdhury M, Sangaralingam M, Bastien P, et al. Real-time PCR using FRET technology for Old World cutaneous leishmaniasis species differentiation. Parasit Vectors. 2016;9:255. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1531-4>
7. Gebhardt M, Ertas B, Falk TM, Blödorn-Schlicht N, Metze D, Böer-Auer A. Fast, sensitive and specific diagnosis of infections with *Leishmania* spp. in formalin-fixed, paraffin-embedded skin biopsies by cytochrome b polymerase chain reaction. Br J Dermatol. 2015;173(5):1239-49. <https://doi.org/10.1111/bjd.14088>
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. Jhingaran A, Chatterjee M, Madhubala R. Leishmaniasis: Epidemiological trends and diagnosis. In: Myler PJ, Fasel N (Eds.) *Leishmania: After the genome*. Caister Academic Press, Norfolk, UK. 2008:1-14.
10. Gouzelou E, Haralambous C, Antoniou M, et al. Genetic diversity and structure in *Leishmania infantum* populations from southeastern Europe revealed by microsatellite analysis. Parasit Vectors 2013;6:342. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-342>
11. Vitale F, Reale S, Vitale M, Petrotta E, Torina A, Caracappa S. TaqMan-based detection of *Leishmania infantum* DNA using canine samples. Ann N Y Acad Sci. 2004;1026:139-43. <https://doi.org/10.1196/annals.1307.018>
12. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2004;27(5):305-18. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004>
13. Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. Clin Diagn Lab Immunol. 2002;9(5):951-8. <https://doi.org/10.1128/CDLI.9.5.951-958.2002>
14. El Tai NO, El Fari M, Mauricio I, et al. *Leishmania donovani*: Intraspecific polymorphisms of Sudanese isolates revealed by PCR-based analyses and DNA sequencing. Exp Parasitol. 2001;97(1):35-44. <https://doi.org/10.1006/expr.2001.4592>
15. El Tai NO, Osman OF, El Fari M, 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)
16. Kuhls K, Mauricio IL, Pratlong F, Presber W, Schönian G. Analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences of the *Leishmania donovani* complex. Microbes Infect. 2005;7(11-12):1224-34.

- <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.04.009>
17. Vega-López F. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis.* 2003;16(2):97-101.
<https://doi.org/10.1097/01.aco.0000065077.06965.4d>
18. Le Fichoux Y, Quaranta JF, Aufeuvre JP, et al. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *J Clin Microbiol.* 1999;37(6):1953-7.
19. Reithinger R, Dujardin JC. Molecular diagnosis of leishmaniasis: current status and future applications. *J Clin Microbiol.* 2007;45(1):21-5.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02029-06>
20. Schallig HDFH, Oskam L. Molecular biological applications in the diagnosis and control of leishmaniasis and parasite identification. *Trop Med Int Heal.* 2002;7(8):641-51.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2002.00911.x>
21. Carvalho GML, Rêgo FD, Tanure A, vd. Bloodmeal identification in field-collected sand flies from Casa Branca, Brazil, using the cytochrome b PCR method. *J Med Entomol.* 2017;54(4):1049-54.
<https://doi.org/10.1093/jme/tjx051>
22. Yamamoto K, Cáceres AG, Gomez EA, et al. Genetic diversity of the mitochondrial *cytochrome b* gene in *Lutzomyia* spp., with special reference to *Lutzomyia peruensis*, a main vector of *Leishmania* (Viannia) *peruviana* in the Peruvian Andes. *Acta Trop.* 2013;126(2):156-63.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.02.007>

Candida albicans'ın Eşey Tipi Gen Bölgesinin Belirlenmesi

Investigation of the Mating-Type Gene Locus of Candida albicans

Müge Arıbal Çelik*[©], Aylin Döğen*[©], Deniz Aktaş*[©], Süleyha Hilmioglu Polat**[©], Macit İlkit***[©]

*Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

**Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

***Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

ÖZ

Amaç: Askomiset mantarlarda çiftleşme, MAT lokus adı verilen bir eşey tipi gen bölgesi ile yönetilir. MAT lokus, zıt iki eşey tipinde birbirine benzemeyen hatta tamamen farklı idiomorf dizilimler içerir. Pezizomycotina alt şubesine dâhil olan mantarlarda her bir MAT idiomorfu, bir alfa domain, bir de HMG (High Mobility Group) domain transkripsiyon faktörünü kodlar. Alfa domain ve HMG domain transkripsiyon faktör genleri MAT lokusunun olmazsa olmaz parçaları olsa da her bir mantarın MAT lokus yapısı, yani uzunluğu, gen içeriği ve genlerin transkripsiyon yönleri kendilerine özgüdür. Bu çalışmada, laboratuvarlarımızın kültür koleksiyonunda bulunan ve kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans*'ın eşey tipi gen bölgesinin karakterizasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: *Candida albicans* genomunda yer alan MTL α (Mating Type Locus) ve MTL α primerlerinin 485 bp ve 515 bp'lik DNA bölgesi multiplex PCR tekniği ile belirlendi.

Bulgular: Toplam, 156 *C. albicans* kökeninin 155 (%99.4)'i MTL α / α , 1 (%0.6) köken ise MTL α / α olarak bulundu.

Sonuç: MTL karakterizasyonunun belirlenmesi çalışmaları hem moleküler genetik çalışmalarının daha kolay ve çabuk yapılabilmesi hem de bu patojen mantarın doğasının anlaşılması yönünden önemlidir.

Anahtar kelimeler: *Candida albicans*, eşeyli üreme, MTL lokus, virulans

Alındığı tarih / Received:

08.10.2019 / 08.October.2019

Kabul tarihi / Accepted:

21.12.2019 / 21.December.2019

Yayın tarihi / Publication date:

31.06.2020 / 31.June.2020

ORCID Kayıtları

M. Arıbal Çiçek 0000-0002-2255-1183
A. Döğen 0000-0002-0388-306X
D. Aktaş 0000-0001-8580-4152
S. H. Polat 0000-0001-8850-2715
M. İlkit 0000-0002-1174-4182

✉ aylinats@mersin.edu.tr

Atıf: Arıbal Çelik M. Döğen A, Aktaş D, Hilmioglu Polat S, İlkit M. *Candida albicans*'ın eşey tipi gen bölgesinin belirlenmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(2):95-9.

ABSTRACT

Objective: Mating in Ascomycete fungi is governed by mating type gene region called the MAT locus. The MAT locus contains idiomorphic sequences that are dissimilar in two opposite mating types. In fungi belonging to the Pezizomycotina subphylum, each MAT idiomorph encodes an alpha domain and an HMG (High Mobility Group) domain transcription factor. Although the alpha domain and the HMG domain transcription factor genes are indispensable components, the structure of the MAT locus (length), the gene content, and the transcriptional directions of the genes differ among fungi. This study aimed to evaluate the characterization of mating type of *Candida albicans* isolated from blood samples in our laboratory culture collection.

Method: Using the multiplex PCR technique, 486 bp and 515 bp of the DNA region of MTL α and MTL α primers in the *C. albicans* genome were determined, respectively.

Results: 156 *C. albicans* isolates showed 155 MTL α / α (99.4%) and 1 MTL α / α (0.6%).

Conclusion: Determination of MTL is essential both for making molecular genetic studies more efficient and for understanding the nature of this pathogenic fungus.

Keywords: *Candida albicans*, sexual reproduction, MAT locus, virulence

GİRİŞ

Candida albicans, eşeyli çoğalan, diploid bir maya mantarı olup, insanlarda ağız ve vagina enfeksiyonlarının etkenidir. Askomiset mantarlarda eşleşme, MAT lokus adı verilen bir eşey tipi gen bölgesi tarafından yönetilir. MAT lokus, idiomorf dizilimleri içerir ve her bir MAT idiomorfu alfa domain ve HMG domain transkripsiyon faktörünü kodlar. Her mantarın MAT lokus yapısı yani uzunluğu, gen içeriği ve genlerin transkripsiyon yönleri kendilerine özgüdür. Ayrıca, MAT lokus gen bölgesi, hücre tipi kimlik oluşturan, eşeyli üremeye yardımcı olan ve bazı durumlarda virulans ile bağlantılı transkripsiyon faktörlerini (homeodomain, HMG ve a-domain) veya feromon reseptörlerini kodlar⁽¹⁾.

Candida albicans'ın mating type benzeri (*MTL*) lokusu *Saccharomyces cerevisiae*'nin **a1**, $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ 'ye ek olarak **a2** regülatörleri ile hücre kimliğinin transkripsiyon regülatörleri arasında benzerlik gösterir. *Candida albicans*'ın *MTL* lokusu, fosfatidilinositolkinazları (PIK), oksistein bağlayıcı proteinleri (OBP) ve poliA polimerazları (PAP) kodlayan genleri ihtiva etmesi nedeniyle *Saccharomyces cerevisiae*'den daha büyük olduğu belirtilir⁽²⁾.

Bu çalışmada, *Candida albicans*'ın eşey tipinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonlarında bulunan ve kan kültürlerinden elde edilen toplam 156 *C. albicans* kökeni çalışmaya alındı. *C. albicans* tanısı konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle doğrulandı. Kontrol kökeni olarak *C. albicans* ATCC 10231, ATCC 24433 ve ATCC 90028 kullanıldı.

Konvansiyonel yöntemler: Stok kültür koleksiyonla-

rında *C. albicans* kayıtlı suşlar Sabouraud glukoz agar'a (SGA; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ve BBL CHROMagar Candida (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) besiyerine aynı anda pasajlandı ve 37°C'de 72 saat inkübe edildi. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda BBL CHROMagar *Candida* besiyerinde yeşil renk koloni oluşturan kökenler germ tüp testi ile doğrulandı. Ayrıca, kökenler Mısırunu-Tween 80 agarda (HiMedia, Mumbai, Hindistan) yalancı hif, gerçek hif, blastospor ve klamidospore varlığı veya yokluğu yönünden incelendi⁽³⁾.

Moleküler yöntemler: Konvansiyonel yöntemlerle doğrulanan kökenlerin moleküler testlerle de doğrulanması için kökenler yine SDA besiyerine pasajlandı ve taze kültür kolonilerinden DNA ekstraksiyonu Turin ve ark.'nın⁽⁴⁾ önerdiği yöntemle yapıldı. ITS 1-4 primerleri kullanılarak PCR amplifikasyonu, toplam hacim 25 µL olacak şekilde [12.5 µL 2x karışım (AmpliQonTaq DNA Polymerase Master Mix, Odense, Danimarka); 0.5 µL her bir primerden (100 pmol/µL), 10.5 µL distile su ve 1 µL kalıp DNA] gerçekleştirildi (Tablo 1). Isı döngü cihazı (Techne Prime, Staffordshire, İngiltere)'nde, PCR amplifikasyonu 95°C'de 5 dakika ilk denatürasyonu takiben, 35 döngü 95°C'de 45 sn denatürasyon, 57°C'de 60 sn primer birleşmesi, 72°C'de 60 sn çoğaltma ve 72°C'de 5 dakika son uzama olarak optimize edildi. PCR amplifikasyonu sonrasında elektroforez ile %1.2'lik agaroz jelde 120 voltta 30 dk yürütülen örnekler jel görüntüleme cihazında incelendi. Hedeflenen 535 bp bölgede bant gözlenen PCR örnekleri saflaştırıldıktan sonra, primer çiftinin ileri primerleri kullanılarak RefGen Biyoteknoloji ve Araştırma Merkezi (ODTÜ, Ankara)'nde sekans reaksiyonları yapıldı.

Eşey gen bölgesinin araştırılması: Eşey tipinin saptanması amacıyla *C. albicans* genomunda yer alan *MTLa* ve *MTLα* primerleri (Tablo 1) ile yapılan amplifikasyonda, 94°C'de 3 dakika ilk denatürasyon sonrası, 35 döngü 94°C'de 1 dakika denatürasyon, 55°C'de 1 dakika primer birleşmesi, 72°C'de 1 dakika çoğaltma ve takiben 72°C'de 7 dakika son uzama

gerçekleştirildi. PCR ürünleri elektroforez ile %3 agarozjelde 100 voltta 120 dakika yürütüldü. Jel translüminatörde ultraviyole ışık altında incelendi. Çalışmada, *MTLa* için 485 bp ve *MTLα* için ise 515 bp uzunluğundaki bölgede bant gösteren örnekler değerlendirildi.

Tablo 1. Amplifikasyonda kullanılan primerler⁽¹⁷⁾.

Primer Adı	Primer	Nükleotid dizileri (5'-3')
ITS1	Forward primer	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
ITS4	Reverse primer	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
<i>MTLa</i>	Forward primer	5'-TTC GAG TAC ATT CTG GTC GCG-3'
<i>MTLa</i>	Reverse primer	5'-ATC AAT TCC CTT TCT CTT CGA TTA GG-3'
<i>MTLα</i>	Forward primer	5'-TTG AAG CGT GAG AGG CTA GGA-3'
<i>MTLα</i>	Reverse primer	5'-TGT AAA CAT CCT CAA TTG TAC CCG A-3'

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2017-2-TP2-2585 nolu proje olarak desteklenmiştir.

BULGULAR

Mersin Üniversitesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonunda bulunan 156 *C. albicans* izolatu çalışmaya alındı. Stok kültüründen Sabouraud dekstroz agar ve BBL CHROMagar *Candida*'ya canlandırma yapıldı. Canlandırma sonrası üreyen her bir yeşil renkli kökeni, çimlenme borusu oluşturma ve mısır unu-tween 80 agardaki mikromorfolojik özelliklerine göre değerlendirildi.

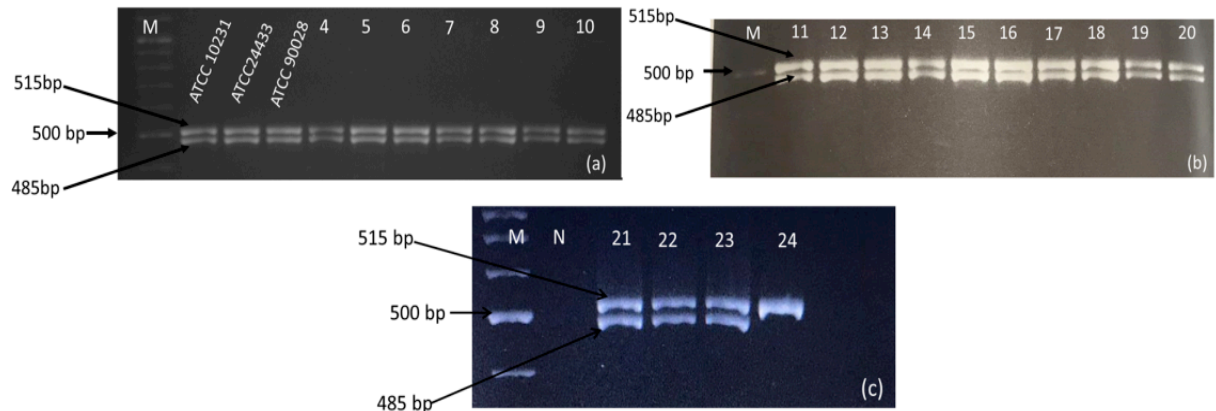
Tür tanımı yapılması için yeterli olan özellikler katedilip moleküler yöntemlerle *C. albicans* olduğu doğrulandı.

Candida albicans genomunda yer alan *MTLa* ve *MTLα* primerlerinin kullanılarak belirlendiği eşey tip gen bölgesin 485 bp ve 515 bp'lik DNA bölgesi multiplex PCR tekniği ile kullanılarak belirlendi.

Çalışmada, tür tanısı doğrulanan 156 *C. albicans* kökeninin 1'i *MTLa* (% 0.6) ve 155'inin ise (% 99.4) *MTLa/MTLα* olduğu belirlendi. Sonuçlara ait PCR jel görüntüsü Şekil 1'de görülmektedir.

TARTIŞMA

İnsanlarda hastalık etkeni mantarlar arasında en sık belirlenen türlerden birisi de *C. albicans*'dır. *C. albicans*'ın 1999'a dek aseksüel olduğu düşünülmekte idi⁽²⁾. Bu düşünce, *MTL* lokusun olmayışı veya eşey tipi füzyonun gözlenmeyişi gibi eksik bilgilerden kaynaklanıyordu. *MTL* identifikasyonunu gösteren tüm genom projelerinde *C. albicans*'ın *MTL* lokusu gösterilmiştir. Son zamanlarda virulans ile ilişkili faktörleri kodlayan *MAT* lokus gen bölgesi özellikle dikkat çekmektedir⁽⁵⁻⁹⁾. Askomiset mantarlarda eşleşme yüksek derecede farklılaşmış sekanslara sahip iki idiomorflu tek bir eşleşme tipi (*mating tip-MAT*) lokusu tarafından yönetilmektedir. *C. albicans* diploid bir



Şekil 1. Eşey gen bölgesine ait PCR jel görüntüsü; (a) M: Marker, *Candida albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 24433 ve *C. albicans* ATCC 90028, 4-10, (b) M: Marker, 11-20, (c): M: Marker, N: Negatif kontrol, 21-23 *MTLa/MTLα* eşey gen bölgesine sahip *C. albicans* kökenleri, 24: *MTLa* eşey gen bölgesine sahip *C. albicans* kökeni.

mikroorganizmadır. *MTL* gen bölgesi çoğunlukla heterozigot olup, *a/a* allelleri taşımaktadır. Ancak, klinik izolatların %57'sinde *a/a* veya *a/a* homo-zigotluğu mevcuttur ve potansiyel çaprazlaşma yeteneğine sahiptir⁽²⁾. Ayrıca, *MTL* lokusunu taşıyan kromozom üzerinde azol etkinliğini belirleyen *ERG11* ve *TAC1* genleri bulunduğu için azollere karşı dirençli olan *C. albicans* suşlarında *MTL* bölgesinde homozigotluk oranı fazladır^(10,11).

MTL sisteminin keşfinden sonra, beyazdan opaklığa geçişin eşleşme sürecinde önemli bir adım olduğu ortaya konulmuştur. Anaerob kültür, yüksek CO₂ düzeyleri, N-asetil glikozamin (aynı zamanda saprofit bakterilerin bir ürünü), oksidatif stres ve hücrenin yavaş büyümesi opaklığa geçişte rol oynayan önemli etkenler arasında yer alır^(12,13).

İbrahim ve ark.⁽¹⁴⁾ *C. albicans*'ın beyaz-opak fenotipik dönüşümü gösteren suşlarında, opak hücrelerde eşleşmenin daha fazla olduğu, "opak" hücreler tarafından üretilen α feromonun "beyaz" hücrelerde biyofilm üretimini artırdığını bildirmişlerdir.

Candida albicans hücrelerinin en çok deride (31-32°C) eşleşme yaptığı belirtilmiştir⁽¹⁵⁾. Çin'de yapılan çalışmada, çeşitli kliniklerden izole edilen 93 *C. albicans* kökeninin 86 (%92.5) *MTLa/a* eşey tipi olduğunu, yalnızca yedi kökenin ise (%6.5) *MTLa/a* veya *a/a* eşey tipi olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, 27 kökenin beyaz koloni, 66 kökenin opak koloni oluşturduğu ve eşey tipinin ise heterozigot olduğu bildirilmiştir⁽¹⁶⁾.

Lockhart ve ark.⁽¹⁷⁾ *MTLa/a*, *MTLa/a*, *MTLa/a* eşey tipine ait *C. albicans* kökenlerini farelere enjekte etmişler ve *MTLa/a* suşunun, *MTLa/a* veya *MTLa/a* kökenlerine göre fareyi çok daha hızlı öldürdüğünü, bu nedenle *MTLa/a* eşey tipine sahip kökenlerin daha virülant olduğunu, yine Lockhart ve ark.⁽¹⁸⁾ 220 *C. albicans* klinik kökeninin %96.8'sinin *MTLa/a* ve %3.2'sinin homozigot olduğunu (*MTLa/a* veya *MTLa/a*) bildirmişlerdir.

Park ve ark.⁽¹⁹⁾ insanlardan izole edilen *C. albicans* suşlarının %95'inden fazlası *MTLa/a* olduğunu ve bunların yaklaşık 1/3'ünün beyaz formdan opak forma dönüşebileceğini, iki transkripsiyon faktörünün (TFs), *Sfl2* ve *Efg1*'in *a/a* suşlarında fenotipik değişimin baskılandığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise, *C. albicans*'ın orofaringeal kandidoz izolatlarına ilişkin opak hücrelerin oral mukoza epitel hücrelerini daha az invaze ettiği ve *Candida*'nın eşleşmesinin ender olduğunu gösterilmiştir⁽²⁰⁾.

Sunulan çalışmada ise kan kültürlerinden elde edilen 156 *C. albicans* suşunda 155 (%99.4)'i *MTLa/a* ve 1 (%0.6)'i *MTLa/a* olarak literatürlerle uyumlu bulundu.

Sonuç olarak, mantarlarda bir eşeyli çoğalmada rol oynayan genlerin virülans ve patogenezdaki rolleri anlaşıldıkça, mikozların tanısında ve farklı hedeflere yönelik yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi ve/veya mevcut tedavi yöntemlerinin yönlendirilmesine yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Heitman J. Evolution of eukaryotic microbial pathogens via covert sexual reproduction. *Cell Host Microbe*. 2010;8(1):86-99. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2010.06.011>
2. Hull CM, Johnson AD. Identification of a mating type-like locus in asexual pathogenic yeast *Candida albicans*. *Science*. 1999;285(5431):1271-5. <https://doi.org/10.1126/science.285.5431.1271>
3. Deorukhkar SC, Roushani S. Identification of *Candida* species: conventional methods in the era of molecular diagnosis. *Ann Microbiol Immunol*. 2018;1(1):1002.
4. Turin L, Riva F, Galbiati G, Cainelli T. Fast, simple and highly sensitive double-rounded polymerase chain reaction assay to detect medically relevant fungi in dermatological specimens. *Eur J Clin Invest*. 2000;30(6): 511-8. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2000.00659.x>
5. Çerikçioğlu N. Mantarlarda çaprazlaşma tipleri, eşeyli çoğalma ve plooidinin virülans üzerine etkileri. *Mikrobiyol Bul*. 2009;43(3):507-13.
6. Coppin E, Debuchy R, Arnaise S, Picard M. Mating types and sexual development in filamentous ascomycetes. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1997;61(4):411-28.

7. Guobo G, Tao L, Yue H, et al. Environment-induced same-sex mating in the yeast *Candida albicans* through the Hsf1-Hsp90 pathway. *PLoS Biol.* 2019;17(3): e2006966.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006966>
8. Boral H, Metin B, Döğen A, Seyedmousavi S, Ilkit M. Overview of selected virulence attributes in *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, and *Exophiala dermatitidis*. *Fungal Genet Biol.* 2018;111:92-107.
<https://doi.org/10.1016/j.fgb.2017.10.008>
9. Lee SC, Ni M, Li W, Shertz C, Heitman J. The evolution of sex: a perspective from the fungal kingdom. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2010;74(2):298-340.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.00005-10>
10. Heitman J. Sexual reproduction and the evolution of microbial pathogens. *Curr Biol.* 2006;16(17):R711-25.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.07.064>
11. Ou TY, Chang FM, Cheng WN, et al. Fluconazole induces rapid high-frequency *MTL* homozygosity with microbiological polymorphism in *Candida albicans*. *J Microbiol Immunol Infect.* 2017;50(6):899-904.
<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2015.12.009>
12. Ramírez-Zavala B, Reuss O, Park YN, Ohlsen K, Morschhäuser J. Environmental induction of white-opaque switching in *Candida albicans*. *PLoS Pathog.* 2008;4(6):e1000089.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000089>
13. Daniels KJ, Srikantha T, Lockhart SR, Pujol C, Soll DR. Opaque cells signal white cells to form biofilms in *Candida albicans*. *EMBO J.* 2006;25(10):2240-52.
<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601099>
14. Ibrahim AS, Magee BB, Sheppard DC, et al. Effects of ploidy and mating type on virulence of *Candida albicans*. *Infect Immun.* 2005;73(11):7366-74.
<https://doi.org/10.1128/IAI.73.11.7366-7374.2005>
15. Nielsen K, Heitman J. Sex and virulence of human pathogenic fungi. *Adv Genet.* 2007;57:143-73.
[https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(06\)57004-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(06)57004-X)
16. Li HM, Shimizu-Imanishi Y, Tanaka R, Li RY, Yaguchi T. White-opaque switching in different *Mating Type-like Locus* gene types of clinical *Candida albicans* isolates. *Chin Med J (Engl).* 2016;129(22):2725-32.
<https://doi.org/10.4103/0366-6999.193442>
17. Lockhart SR, Wu W, Radke JB, Zhao R, Soll DR. Increased virulence and competitive advantage of a/alpha over a/a or alpha/alpha off spring conserves the mating system of *Candida albicans*. *Genetics.* 2005;169(4): 1883-90.
<https://doi.org/10.1534/genetics.104.038737>
18. Lockhart SR, Pujol C, Daniels KJ, et al. In *Candida albicans*, white-opaque switchers are homozygous forming type. *Genetics.* 2002;162(2):737-45.
19. Park YN, Conway K, Conway TP, Daniels KJ, Soll DR. Roles of the transcription factors Sfl2 and Efg1 in white-opaque switching in a/alpha strains of *Candida albicans*. *mSphere* 2019;4(2): e00703-18.
<https://doi.org/10.1128/mSphere.00703-18>
20. Solis NV, Park YN, Swidergall M, Daniels KJ, Filler SG, Soll DR. *Candida albicans* white-opaque switching influences virulence but not mating during oropharyngeal candidiasis. *Infect Immun.* 2018;86(6):e00774-17.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00774-17>

Elazığ İli Dokuz Yıllık HIV/AIDS Sonuçlarının Analizi

Analysis of the Nine Year HIV/AIDS Results in Elazig Province

Pınar Öner*[©], Özlem Aytaç*[©], Feray Ferda Şenol*[©], Zülal Aşçı Toraman**[©], Müge Özgüler***[©]

*Elazığ Fethi Sekin Şehir Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Elazığ, Türkiye

**Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

***Elazığ Fethi Sekin Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Elazığ, Türkiye

ÖZ

Amaç: AIDS günümüzde tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz içinde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışma, 2010-2018 yılları arasında Elazığ ilindeki HIV/AIDS için uygulanan laboratuvar test sonuçlarını değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Elazığ ilindeki tüm hastanelerin verilerine göre HIV/AIDS kuşkuğu bulunan 495 hasta retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Dört yüz doksan beş hastanın 168'i (%33.9) kadın, 327'si (% 66.1) erkek idi. Sonuçlar yıllar açısından incelendiğinde, her yıl tetkik edilen hasta sayısında artış saptandı. HIV virüsünün pozitif çıkma oranı, erkek hastalarda (%88.5) kadın hastalara (%11.5) kıyasla daha yüksek bulundu. HIV pozitif 208 hastanın %38.5'i 21-30 yaş, %26.9'u 31-40 yaş, %17.8'i 41-50 yaş, %3.8'i <20 yaş ve %13'ü >51 yaş idi. Çalışmaya dâhil ettiğimiz hastalardan altısı, HIV pozitif olarak doğrulandığı yıl içerisinde öldü.

Sonuç: İlimizdeki HIV prevalansı yıldan yıla artış eğilimi göstermektedir. Verilerimiz ülke genelindeki HIV verileri ile uyumlu çıkmıştır. Bu salgını engellemek için halkın cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar konusunda eğitimler verilerek daha fazla bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: HIV/AIDS, prevalans, Elazığ

ABSTRACT

Objective: Today AIDS is an important public health problem in our country, as it is all over the world today. This study was conducted to evaluate the outcomes of laboratory testing of HIV in Elazig province between 2010 and 2018.

Method: According to the data of all hospitals in Elazig province, 495 patients with suspected HIV were evaluated retrospectively.

Results: Of the 495 patients, 168 (33.9%) were female and 327 (66.1%) were male. Annual analyses showed an increase in the number of patients tested every coming year. HIV positivity rate was found to be higher in male patients (88.5%) compared to females (11.5%). A total of 208 HIV-positive patients were 21-30 (38.5%) 31-40 (26.9%), 41-50 (17.8%), <20 (3.8%) and >51 (13%) years of age. Six patients confirmed as HIV positive cases died within a year.

Conclusion: HIV prevalence in our city tends to increase year by year. Our data are consistent with HIV data across the country. In order to prevent this epidemic, the public needs to be educated about sexually transmitted infections so as to further raise their awareness.

Keywords: HIV/AIDS, prevalence, Elazig

Alındığı tarih / Received:

28.09.2019 / 28.September.2019

Kabul tarihi / Accepted:

08.01.2020 / 08.January.2020

Yayın tarihi / Publication date:

31.06.2020 / 31.June.2020

ORCID Kayıtları

P. Öner 0000-0001-9592-5986

Ö. Aytaç 0000-0002-3305-6284

F. F. Şenol 0000-0003-4705-5757

Z. A. Toraman 0000-0001-5202-8564

M. Özgüler 0000-0002-2689-7931

✉ drpinaroner@hotmail.com

Atf: Öner P, Aytaç Ö, Ferda Şenol F, Aşçı Toraman Z, Özgüler M. Elazığ ili dokuz yıllık HIV/AIDS sonuçlarının analizi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(2):100-7.

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atf-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

“Acquired Immunodeficiency Syndrome” (AIDS), HIV virüsünün neden olduğu, perinatal, parenteral, enfekte kişilerle yakın temas ve cinsel ilişki yoluyla bulaşan, insan immün sistem hastalığıdır. HIV virüsü, enfeksiyonları önleme görevi olan immün sistemin CD4 pozitif T lenfositlerini yok ederek immün sistem hücrelerinin işlevlerini bozar ve asemptomatik taşıyıcılık durumundan ölümcül hastalıklara kadar değişen geniş bir klinik tablo ile seyredilebilen bir enfeksiyona neden olur^(1,2). Bu enfeksiyona bağlı olarak meydana gelen AIDS ise başta pulmoner tüberküloz olmak üzere viral, bakteriyel, parazitik fırsatçı enfeksiyonlar, Kaposi sarkomu veya non-Hodgkin lenfoma gibi kanserlerle seyredilebilir^(3,4). İlk kez 1981 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde tanımlanmış olan HIV/AIDS, başlangıçta Kuzey Amerika ve Avrupa gibi gelişmiş ülkelerdeki homoseksüel erkeklerin hastalığı olarak düşünülmüştü. Ancak, HIV/AIDS günümüz her yaş insanının ve çağdaş tıbbın en önemli güncel ve küresel sorunlarından birisidir ve ülkeler için sosyal, kültürel, biyolojik, politik ve finansal açıdan sıkıntılar yaratmaktadır⁽⁵⁾. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’ nün 2017 verilerine göre, yaklaşık 36.9 milyon kişi HIV ile enfekte ve bu kişilerin 25.7 milyonu Sahraaltı Afrika’da, 3.4 milyonu ABD’de, 2.3 milyonu Avrupa’da, 3.5 milyonu ise Güney-Doğu Asya’da yaşamaktadır. Ayrıca HIV ile enfekte 36.9 milyon kişinin 1.8 milyonu 15 yaş altı çocuklardan oluşmaktadır⁽⁶⁾. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu’nun 2018 yılı aralık ayı verilerine göre, Türkiye’de 1985 yılından günümüze kadar, doğrulama testi pozitif tespit edilerek bildirim yapılan 19748 HIV pozitif hasta ve 1772 AIDS olgusu bildirilmiştir⁽⁷⁾. Transseksüeller, damar içi uyuşturucu kullananlar, seks işçileri ve mahkûmlar genel popülasyona göre HIV bulaşı için 10-50 kat daha fazla risk altındadırlar. Tüm dünyada her yıl 2 milyondan fazla yeni HIV enfeksiyonu olgusu belirlenmekte ve bu olguların tahminen %40’ını bu gruplar oluşturmaktadır⁽⁸⁾. HIV epidemisinin kontrol altına alınabilmesi için bu gibi kilit topluluklara yönelik daha büyük çaba gösterilmesi ve yeni stratejiler

geliştirilmesi gerekmektedir⁽⁹⁾. 2030 yılına kadar gerçekleştirilmesi amaçlanan Birleşmiş Milletler HIV/AIDS Ortak Programı (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS-UNAIDS) global HIV epidemisini kontrol altına almak için 90-90-90 hedefleri olarak bilinen bir takım hedefler belirlemiştir. 2020 yılına kadar ulaşılması amaçlanan ilk hedefler; HIV ile enfekte tüm hastaların %90’ının tanısının konularak kendi durumları ile ilgili yeterli bilgi sahibi olmaları, annelerin hayatta ve sağlıklı olmaları ve çocuklardaki yeni HIV enfeksiyonunun sifıra indirilmesi, gençlerin %90’ının kendilerini HIV enfeksiyonundan korumak için yeterli bilgi ve beceri yeteneği kazanması, tanı alan tüm hastaların %90’ının tedavi altına alınması ve tedavi alan tüm hastaların %90’ında viral yükün baskılanmasıdır^(10,11). Bu çalışmanın amacı, ilimizde toplum sağlığını önemli ölçüde etkileyen, yıllar içerisinde katlanarak artan HIV gerçeğini ortaya koymak ve bu bilgiler ışığında ülkemiz verilerine katkıda bulunmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Elazığ ilindeki çeşitli hastanelerin polikliniklerine 1 Ocak 2010- 31 Aralık 2018 tarihleri arasında farklı yakınmalarla başvuran ve Anti HIV1/2 ELISA testi sonuçları iki kez reaktif bulunan 495 hasta dâhil edildi. Anti HIV1/2 ELISA testi reaktif saptanan ve Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı’nın Western Blot sonuçlarına göre doğruluğu onaylanan hastalar HIV pozitif olarak kabul edildi. Hastaların laboratuvar sonuçları ve demografik özellikleri retrospektif olarak tarandı. İstatistiksel değerlendirme için “Statistical Package for Social Science for Windows” (SPSS) 24.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı ölçütler olarak ortalama, standart sapma ve yüzde dağılımları kullanıldı. Hastaların demografik özellikleri için frekans (dağılım) analizi uygulandı. İncelenen hastaların yaş, cinsiyet, istek yapılan kurum ve başvuru yılları ile virüs pozitifliği arasında çapraz dağılım tabloları oluşturuldu. İstatistiksel analizlerde, sayısal verilerin karşılaştırılmasında ki-kare (chi

square) testi kullanıldı. Sonuçlar %95 ve %99 güven düzeyinde değerlendirilip, $p<0.01$ ve $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çalışmamız için Fırat Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay (Karar No: 07(02) Tarih: 25.04.2019) alındı.

BULGULAR

İncelenen 495 hastanın %33.9 (168)'u kadın, %66.1 (327)'i erkekti. Yaş aralıklarına göre dağılım incelendiğinde, hastaların %31.7 oranıyla en fazla 21-30 yaş aralığında olduğu saptandı. Her yıl tetkik edilen hasta sayısında artış gözlemlendi. 2010 yılında Anti HIV1/2 ELISA testi ile virüs pozitifliği belirlenen toplam hasta sayısı 16 iken, 2011, 2012, 2013 yıllarında (sırasıyla 32, 34, 31) 2010 yılının yaklaşık iki katına, 2015, 2016, 2017, 2018 yıllarının sonunda (sırasıyla 81, 83, 82, 93) ise 2010 yılının yaklaşık beş katı seviyesine yükseldiği görüldü. HIV kuşkusu ile doğrulamaya en çok örnek gönderen kurum %49.7 (n=246) oranıyla Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi idi. Fırat Üniversitesi Tıp Merkezi ise, %25.3 (n=125) ile ikinci sırada idi. Cinsiyet, yaş, başvuru yılı, istek yapılan kurum ve test sonuçlarına göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmektedir.

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı'nda, Western Blot yöntemi ile HIV pozitif olduğu doğrulanan 208 hasta incelendiğinde, %88.5 (n=184)'inin erkek, %11.5 (n=24)'inin kadın hastalardan oluştuğu görüldü. Araştırmamızda HIV pozitif hastalarla cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu ($p<0.05$). Cinsiyetlere göre virüs pozitifliği dağılımı Tablo 2'de özetlendi.

Laboratuvar bulguları ve klinik verilere dayanarak AIDS olduğu kanıtlanan dört hasta, toplam hasta (N=495) sayısının %0.8'ini oluşturmaktaydı ve tüm AIDS hastaları erkek idi.

İncelenen 495 hastanın yaş ortalamaları yıllara göre değerlendirildiğinde 2010 yılından 2015 yılına kadar ortalama yaş değerlerinde artış izlenirken, 2015

Tablo 1. Cinsiyet, yaş, başvuru yılı, istek yapılan kurum ve test sonuçlarına göre dağılım.

Özellikler	N (495)	%
Cinsiyet		
Kadın	168	33.9
Erkek	327	66.1
Yaş		
<20	43	8.7
21-30	157	31.7
31-40	118	23.8
41-50	76	15.4
51-60	50	10.1
>61	51	10.3
Başvuru Yılları		
2010	16	3.2
2011	32	6.5
2012	34	6.9
2013	31	6.3
2014	43	8.7
2015	81	16.4
2016	83	16.7
2017	82	16.5
2018	93	18.8
İstek Yapılan Kurum		
Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi	246	49.7
Harpur Devlet Hastanesi	12	2.4
Fırat Tıp Merkezi	125	25.3
Özel Hastaneler (Medical Park, Anadolu, Damla, Hayat, İn vitro Lab.)	68	13.8
Fethi Sekin Şehir Hastanesi	19	3.8
İlçe Devlet Hastaneleri	2	0.4
Halk Sağlığı Lab./Kızılay Kan Merkezi	17	3.4
Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi	6	1.2
Test Sonuçları (Western Blot)		
Pozitif	208	42.0
Negatif	283	57.2
AIDS	4	0.8

yılından sonra ise azalma gözlemlendi. Hastaların yaş ortalamalarının 2010 yılında 35.2 ± 13.6 , 2015 yılında 41.2 ± 18.8 , 2018 yılında ise 33.5 ± 12.1 olduğu belirlendi. Hastaların yıllara göre ortalama yaş değerleri Tablo 3'te gösterilmektedir.

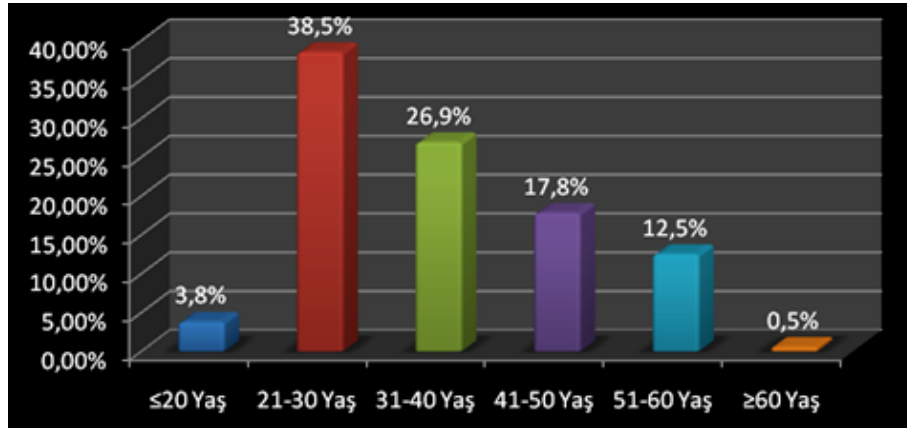
HIV pozitif 208 hasta büyük oranda genç yaş grubundan oluşmaktaydı. Yıllara göre hastaların HIV pozitiflik oranı artarken ortalama yaş değerlerinde düşüş gözlemlendi. İncelenen hastalardaki HIV pozitiflik oranı ile yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p<0.01$). AIDS tanısı alan dört hastanın üçü 31-40 yaş aralığında olup, biri ise 21-30 yaş aralığında bulunmaktaydı. Yaşlara göre virüs pozitifliği dağılımı Şekil 1'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Cinsiyetlere göre virüs pozitifliği dağılımı.

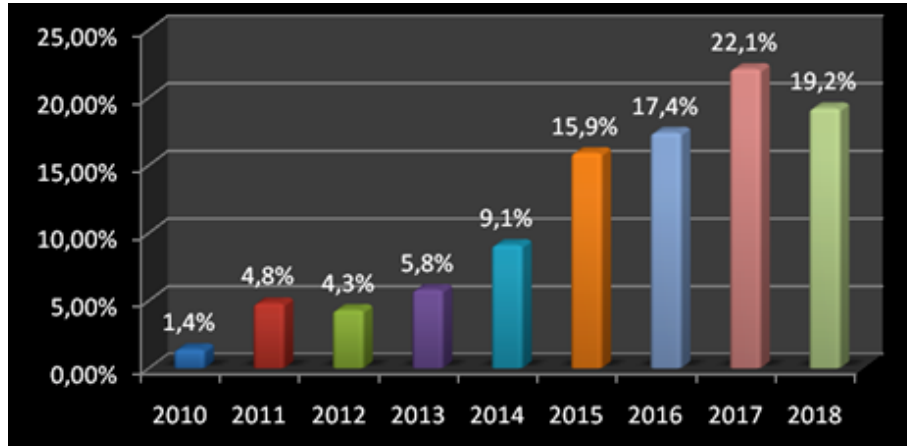
		HIV			Toplam
		Pozitif	Negatif	AIDS	
Kadın	N	24	144	0	168
	%	%11.5	%50.9	%0	%33.9
Erkek	N	184	139	4	327
	%	%88.5	%49.1	%100	%66.1
Toplam	N	208	283	4	495
	%	%100	%100	%100	%100

Tablo 3. Hastaların yıllara göre ortalama yaş değerleri.

Yıl	N	Ort±SD
2010	16	35.2±13.6
2011	32	36.5±15.3
2012	34	36.0±14.0
2013	31	36.8±17.0
2014	43	39.4±17.4
2015	81	41.2±18.8
2016	83	39.5±18.2
2017	82	37.2±17.6
2018	93	33.5±12.1



Şekil 1. Yaşlara göre virüs pozitifliği dağılımı.



Şekil 2. Yıllara göre virüs pozitifliği dağılımı.

HIV pozitifliği doğrulanan 208 hasta yıllara göre değerlendirildiğinde, her yıl virüs pozitiflik oranında artış gözlemlendi. 2010 yılında virüs pozitifliği doğrulanan üç (%1.4) hasta bulunurken, 2017 yılında 46 (%22.1), 2018 yılında 40 (%19.2) düzeylerine ulaştığı görüldü. İncelenen hastalarda ortaya çıkan virüs pozitifliği oranında, pozitifliğin belirlendiği yıllar açısından

anlamlı bir fark mevcuttu ($p < 0.05$). Yıllara göre virüs pozitifliği dağılımı Şekil 2'de gösterilmektedir.

Çalışmamızda incelenen 495 hastanın altısı HIV pozitif olarak doğrulandığı yıl içerisinde öldü. Ayrıca hastaların yaşadıkları yerler değerlendirmeye alındığında ulaşılabildiğimiz verilere göre dağılım, Elazığ

Merkez %63.8, çevre iller (Muş, Tunceli, Bingöl) ve ilçeler (Palu, Kovancılar, Maden vb.) %27.6, uzak iller (İstanbul, İzmir) %6.7 ve yurt dışı %1.9 oranında idi.

TARTIŞMA

Günümüzün en büyük pandemilerinden olan AIDS, dünya genelinde benzeri görülmemiş boyutlara ulaşabilen en önemli halk sağlığı sorunlarından biridir^(3,12). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control ECDC)'in 2011 verilerine göre, Türkiye'nin de içinde bulunduğu European Region of the WHO (WHO EURO) bölgesinde 53.974 yeni HIV olgusu belirlenmiştir. 2011 yılı 2002 yılıyla karşılaştırıldığında on yıllık süreçte bildirilen HIV vakalarının sayısı %89.4 oranında artmıştır ve bu durum bölge genelinde HIV salgınının ne kadar ürkütücü bir boyuta ulaştığını göstermektedir⁽¹³⁾. Ülkemizde yeni olgu sayıları 2012 yılına dek yavaş bir hızla artış göstermiş olup, bu yıldan sonra artış hızlanmaya başlamıştır⁽¹⁴⁾. 2012 ile 2016 yılları arasındaki beş yıl içinde olgu sayısının 2.5 kat artmış olduğu belirlenmiştir⁽⁷⁾. Çalışmamızın sonuçlarına göre, 2010-2018 yıllarını kapsayan 9 yıllık süreçteki hasta verileri incelendiğinde hasta sayısının katlanarak arttığı görülmüştür. İncelenen hastalarda belirlenen HIV virüsü pozitifliği oranında, araştırmanın yapıldığı yıllar açısından istatistiki olarak anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ($p<0.05$). Bu artışın nedeni, ülke nüfusumuzun büyük çoğunluğunu gençlerin oluşturması, Suriye'den ve diğer ülkelerden gelen göçmenlerin sayısının hızla artması, cinsel yolla bulaşan hastalıklar konusunda insanların bilgilendirilme olanaklarının kısıtlı olması ve toplumun geleneksel yapısı, turizm sektörünün ülkemizde giderek gelişmesi, yurt dışına gezi ve çalışma amaçlı giriş çıkış yapan Türk vatandaşlarının sayısının giderek artması ve damar içi madde kullanımının giderek artması olabilir.

Ülkemizde 1985 yılından 31 Aralık 2018 tarihine kadar doğrulama testi pozitif belirlenerek bildirim yapılan 19.748 HIV pozitif kişi ve 1772 AIDS olgusu mevcuttur. Vakaların %79.9'u erkek, %20.1'i kadın

olup, %15.4'ü yabancı uyruklu kişilerden oluşmaktadır. Vakaların en fazla görüldüğü yaş grubu 30-34 ve 25-29 yaş grubudur⁽⁷⁾. Demirpençe ve ark.'nın⁽³⁾ yapmış olduğu bir çalışmada, incelenen hastalarda HIV pozitifliği %0.015 oranında bulunmuş ve bu hastaların %57.4'ü erkek, %42.6'sı kadın olarak bildirilmiştir. Önerci ve ark.'nın⁽¹⁵⁾ septoplasti öncesi araştırmaya aldığı hastalarda HIV pozitiflik oranı %0.3 olup, bu hastaların tümü erkek olarak belirlenmiştir. Ertunç ve ark.'nın⁽¹⁶⁾ yaptıkları bir çalışmada, HIV pozitif hastaların %76.5'i erkek, %23.5'i kadın olarak bildirilmiştir. Çalışmamızın verilerine göre, Elazığ ilinde 2010-2018 yılları arasında doğrulama testi (Western Blot) pozitif belirlenerek bildirim yapılan 208 hasta bulunmaktadır. Bu hastaların %88.5 ($n=184$)'i erkek ve %11.5 ($n=24$)'i kadındır. Verilerimiz ülkemizin diğer illerinin verileri ile örtüşmekte olup, incelenen hastalardaki HIV pozitiflik oranı, hastaların cinsiyetleri açısından anlamlı farklılık göstermektedir. Ortaya çıkan bu farklılık erkek hastalar yönünde anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Ülkemiz verilerinin aksine Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada, HIV pozitiflik oranı kadınlarda erkeklerden üç kat daha fazla belirlenmiştir⁽¹⁷⁾. Buna neden olarak da özellikle kentsel alanlarda çalışan ancak kırsal alanlarda aileleri ve evleri olan erkekler gösterilmiştir. Güney Afrika'da yapılan başka bir çalışmaya göre de özellikle bu bölgelerdeki yoksulluk oranının yüksek düzeyde olması, korunmasız cinsel ilişki, cinsel yolla bulaşan hastalıkların yüksek prevalansı gibi nedenlerle HIV pozitif kadın popülasyonunun erkeklerden daha yüksek düzeyde çıktığı belirtilmiştir⁽¹⁸⁾.

Yapılan bazı çalışmalar, sosyoekonomik durum ile HIV prevalansı arasında ters bir ilişki bildirirken⁽¹⁹⁾, bazı çalışmalar da ise bunlar arasında güçlü bir pozitif ilişki bildirilmiştir^(20,21). Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde sosyoekonomik düzey düşük olduğu ancak HIV prevalansının giderek arttığı göz önüne alınırsa aradaki ilişkinin ters olma olasılığının daha yüksek olduğunu düşünmekteyiz. Bazı çalışmalarda, eğitim düzeyi düşük bireylerin HIV ile enfekte olma ihtimalinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir^(22,23).

Eğitim düzeyi düşük olan insanların bulaşıcı hastalıklardan korunma yöntemleri konusunda bilgi düzeylerinin düşük olması buna etken olabilir. Çalışmamızda incelenen hastaların %27.6'sı Elazığ'ın ilçe ve çevre illerinden gelmiştir. Bu bölgelerde yaşayan halkın sosyoekonomik ve eğitim düzeyinin düşük olduğu bilinmektedir. Bu da, HIV'li hasta sayısındaki artışın nedenlerinden birisi olabilir. Ülkemiz ve ilimiz için bu konuda daha ileri çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde heteroseksüel, transseksüel ilişkiler HIV bulaşı için önemli bir risk faktörüdür⁽²⁴⁾. Orta Avrupa'da 2005 ile 2014 yılları arasında yapılan bir araştırmada, homoseksüel erkekler arasında yeni HIV enfeksiyonu tanılarının sayısının en fazla arttığı ülke 10 kat artışla Türkiye olduğu bildirilmiştir⁽¹⁴⁾. Aksi olarak, Sargin ve ark.'nın⁽²⁵⁾ 2000-2014 yılları arasında yapmış olduğu araştırmaya göre, İstanbul'da bildirilen homoseksüel olguların sayısında önemli bir artış saptanmamıştır. Ancak, ülkemizde son yıllarda HIV tanısı alan erkek olguların sayısının hızla artmış olması ve Sağlık Bakanlığı'nın verilerinin gerçek yaşam verileri ile uyumsuz olması Avrupa'daki çalışmanın doğruluğunu desteklemektedir⁽¹⁴⁾. Çalışmamızın verilerine göre, incelenen hastalarda genç erkek sayısı kadınlarla kıyaslandığında daha yüksek oranda görülmüştür ($p<0.05$). Bu da transseksüel veya heteroseksüel ilişkilerin ilimizde de yaygınlaştığı anlamı taşıyabilmektedir. Türkiye'de 2007 yılında yüksek riskli beş şehrimizde, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar ve HIV ile ilgili devlet tarafından yapılan bir araştırmada, kayıtlara geçmemiş olan seks işçileri, homoseksüel erkekler ve damar içi madde kullananlarda HIV prevalansı sırasıyla %0.8, %3.5 ve %1.2 olarak bildirilmiştir⁽²⁶⁾. İlimizde damar içi madde kullanımı giderek artmaktadır. Elazığ Ruh Sağlığı Hastanesi AMATEM'de yatan hastaların %10'u damar içi madde kullanımı nedeniyle tedavi almaktadır.

1980'lerin ortasından itibaren yapılan bazı çalışmalarda, düşük HIV prevalansı erkek sünneti ve müslümanlık ile ilişkili bulunmuştur^(27,28). Çoğunluğu

Müslüman olan toplumumuzun geleneksel yaşam tarzı HIV prevalansının diğer ülkelere göre daha düşük düzeylerde bulunmasına neden olabilir⁽²⁹⁾. Ancak, özellikle son yıllarda aldığımız yoğun göçler nedeniyle toplum yapımız gündengüne değişmektedir. Bunun sonucu olarak, gerek HIV gerekse diğer bulaşıcı hastalıkların prevalansında önemli düzeylerde artışlar görülmektedir.

WHO'nün verilerine göre tüm dünyada 2017 yılında 940 bin hasta HIV/AIDS nedeniyle ölmüştür⁽³⁰⁾. Ülkemizde 2014-2018 yılları arasında toplam 12.992 hastanın 109'u HIV nedeniyle ölmüştür⁽⁷⁾. Verilerimize göre incelediğimiz 2010-2018 yılları arasındaki HIV pozitif 208 hastanın altısı ölmüştür. En önemlisi, ölen hastalardan birisi beş yaşında erkek çocuktur. Sağlık Bakanlığı'nın resmi verilerine göre ülkemizde yeni tanı almış HIV hastalarının yaşlarının giderek düştüğü dikkati çekmektedir. Verilere göre en yüksek oranda 25-34 yaş grubu görülmekte ve 35-44 yaş grubunda giderek azalmakta, ancak 20-24 yaş grubunun oranı giderek artmaktadır⁽³¹⁾. Ayrıca, 2011 yılından sonra, 15-19 yaş grubunda da az bir oranda artış bildirilmiştir. Ancak son yıllarda bu yaş grubu ile ilgili önemli bir artış saptanmamıştır. Bu nedenle, genç olgu sayısındaki artışı erken cinsel bulaşa bağlamak zordur ve bu konu ile ilgili daha fazla araştırma yapmak gerekmektedir^(31,32). Verilerimize göre, HIV pozitif olan toplam 208 hastanın %26.9 (56)'u 31-40 yaş arasında, %38.5 (n=80)'i 21-30 yaş, %3.8 (n=8)'i 20 yaş altı gençlerden oluşmaktadır. İncelenen hastalardaki HIV pozitiflik oranında, hastaların yaşları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur. Bu farklılık 21-30 yaş arasında olan hastalar ile diğer yaş grubundaki hastalar arasında anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). HIV ile enfekte kadın ve çocuk sayısı tüm dünyada azımsanmayacak ölçütlere ulaşmıştır. WHO'nun 2008 yılı verilerine göre tüm dünyada anneden bebeğe bulaş nedeniyle yeni enfekte olmuş 430 bin çocuk bulunmaktadır. HIV'li anneden çocuğa bulaşın önlenmesi için kısa süreli zidovudin ve tek doz nevirapin ile bulaşma oranının azaltılmasında başarı sağlanmıştır⁽³³⁾. İlimizde de 2018 yılı içerisinde HIV ile enfekte bir

annenine bebeğine profilaktik zidovudin tedavisi uygulanarak bulaş önlenmiştir.

Ülkemizde p24 antijeni ve HIV antikorlarını birlikte belirleyen dördüncü kuşak ELISA yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak, bu cihazlarda yanlış pozitif sonuçlar çıkabilmektedir. Bunun nedeni serum (hemolizli veya lipemik olması, saklama koşulları) ile ilgili olabilmekle beraber, kimyasal yapısı farklı ancak şekil olarak benzer hasta serumunda var olan polireaktif antikorlar, heterofil antikorlar, romatoid faktör ile çapraz reaksiyon gelişmesi olabilir. Ayrıca otoimmün hastalıklar, böbrek yetmezliği, kan transfüzyonu, çoğul gebelikler, viral hastalıklar, kistik fibroz, kuduz veya grip aşılı yalancı HIV pozitifliği nedenleri arasında sayılmaktadır⁽³⁴⁾. Kan donörlerinde yapılan bir çalışmada, ELISA sonuçlarına göre HIV pozitif olarak düşünülen toplam 123 hastanın 117'sinde (%95) doğrulama sonucu negatif olarak belirlenmiştir⁽³⁵⁾. Çalışmamızın verilerine göre, toplam 495 hastanın %57.2'sinin doğrulama sonucu negatif, %42'si pozitif olarak gelmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında, ELISA testinde yanlış pozitiflik oranının oldukça yüksek (%57.2) olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, ilimizdeki HIV prevalansı yıldan yıla artış eğilimi göstermektedir. Verilerimiz ülke genelindeki HIV verileri ile uyumlu çıkmıştır. Son yıllarda HIV enfeksiyonunun önlenmesi konusunda geliştirilen erken tanı, temas öncesi profilaksi, gelişmiş tedavi seçenekleri gibi yenilikçi yaklaşımların AIDS'in kontrol altına alınması için etkili oldukları gösterilmiştir⁽¹⁴⁾. Ancak sinsi yayılan bu salgını engellemek için halkın risk taşıyan partnerlerle korunmasız cinsel temastan kaçınılması ve cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar konusunda eğitimler verilerek daha fazla bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Zhang Y, Yang H, Yu J, Wei H. Rapid and sensitive detection of HIV-1 p24 antigen by immunomagnetic separation coupled with catalytic fluorescent immunoassay. *Anal Bioanal Chem.* 2016;408(22):6115-21. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9722-6>
- Haleyur Giri Setty MK, Hewlett IK. Point of care technologies for HIV. *AIDS Res Treat.* 2014;2014:497046. <https://doi.org/10.1155/2014/497046>
- Demirpençe Ö, Tezcan SI, Değirmen E, Mert D, Gümüş A, Celen MK. Batman Devlet Hastanesine başvuran kişilerde hepatit ve HIV serolojisinin sonuçları. *Viral Hepatit Dergisi* 2012;18(1):6-10. <https://doi.org/10.4274/Vhd.18.02>
- Girard MP, Osmanov S, Assossou OM, Kieny MP. Human immunodeficiency virus (HIV) immunopathogenesis and vaccine development: A review. *Vaccine.* 2011; 29(37): 6191-218. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.085>
- Kirton CA. HIV: the changing epidemic. *Nursing.* 2011;41(1):36-43. <https://doi.org/10.1097/01.NURSE.0000391398.13322.18>
- World Health Organization. Summary of the global HIV epidemic (2017). [https://www.who.int/hiv/data/2017_summary-global-hiv-epidemic.png] (Erişim tarihi: 20.06.2019).
- Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı İstatistiksel Verileri: HIV/AIDS [<https://hsgm.saglik.gov.tr/bulasici-hastaliklar/hiv-aids/hiv-aids-liste/h%C4%B1v-aids-istatistik.html>] (Erişim tarihi: 12.06.2019)
- Figueroa C, Johnson C, Verster A, Baggaley R. Attitudes and acceptability on HIV self-testing among key populations: A literature review. *AIDS Behav.* 2015;19(11):1949-65. <https://doi.org/10.1007/s10461-015-1097-8>
- Şahin AR, Şahin AM, Gündüz A, Aktetur A, Kes-Uzun N. Türkiye'de bir ceza infaz kurumunda HIV seropozitifliği: Kesitsel bir araştırma. *Klinik Derg.* 2018;31(2):132-4. <https://doi.org/10.5152/kd.2018.31>
- Toptan H, Aslan FG, Karakeçe E, ve ark. Anti-HIV ½ reaktif saptanan hastaların doğrulama test sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi. *J Biotechnol & Strategic Health Res.* 2019;3(1):27-32. <https://doi.org/10.34084/bshr.551035>
- UNAIDS. 90-90-90. An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. [https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/90-90-90_en_0.pdf] (Erişim tarihi: 30.05.2019).
- UNAIDS. Global Report. UNAIDS report on the global AIDS epidemic. [https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_with_annexes_en_1.pdf] (Erişim tarihi: 30.05.2019).
- Bozicevic I, Handanagic S, Lepej SZ, Begovac J. The emerging and re-emerging human immunodeficiency

- virus epidemics in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19(10):917-29.
<https://doi.org/10.1111/1469-0691.12313>
14. Gökengin D. Türkiye’de HIV enfeksiyonu: Hedefe ne kadar yakınız? *Klimik Derg.* 2018;31(1):4-10.
<https://doi.org/10.5152/kd.2018.04>
 15. Onerci CO, Araz SE, Hamit B, Yiğit Ö. The seroprevalence of hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency virus in patients undergoing septoplasty. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2018;84(1):34-39.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203272>
 16. Ertunc B, Kaya S, Koksall I. Clinico-epidemiological analysis of HIV/AIDS patients. *Eurasian J Med.* 2016;48(3):157-61.
<https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2016.15203>
 17. Abdool Karim Q, Abdool Karim SS, Singh B, Short R, Ngxongo S. Seroprevalence of HIV infection in rural South Africa. *AIDS.* 1992;6(12):1535-9.
<https://doi.org/10.1097/00002030-199212000-00018>
 18. Muula AS. HIV infection and AIDS among young women in South Africa. *Croat Med J.* 2008;49(3):423-435.
<https://doi.org/10.3325/cmj.2008.3.423>
 19. Ibrahim F, Anderson J, Bukutu C, Elford J. Social and economic hardship among people living with HIV in London. *HIV Med.* 2008;9(8):616-24.
<https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2008.00605.x>
 20. Mishra V, Assche SB, Greener R, et al. HIV infection does not disproportionately affect the poorer in sub-Saharan Africa. *AIDS.* 2007;21(Suppl 7):S17-28.
<https://doi.org/10.1097/01.aids.0000300532.51860.2a>
 21. Shelton JD, Cassell MM, Adetunji J. Is poverty or wealth at the root of HIV? *Lancet.* 2005;366(9491):1057-8.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67401-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67401-6)
 22. Radhakrishna M, Reddy MK, Krishna DR. HIV seroprevalance in general population of Warangal, A.P., South India. *J Environ Biol.* 2007;28(4):865-7.
 23. Perkins JM, Khan KT, Subramanian SV. Patterns and distribution of HIV among adult men and women in India. *PLoS One.* 2009;4(5):5648.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005648>
 24. Chatterji M, Murray N, London D, Anglewicz P. The factors influencing transactional sex among young men and women in 12 sub-Saharan African countries. *Soc Biol.* 2005;52:56-72.
<https://doi.org/10.1080/19485565.2002.9989099>
 25. Sargın F, Yıldız D, Aydın OA, et al. Changes in HIV demographic patterns in a low prevalence population: no evidence of a shift towards men who have sex with men. *Int J Infect Dis.* 2016;48:52-56.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.05.006>
 26. KLİMİK Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği. Türkiye’de Cinsel Yolla Bulaşan Önemli Enfeksiyonlar ve HIV ile İlgili Hizmet Araştırması. DELTUR/2006/116-986. Nisan 2007. Nihai Rapor [<https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2015/12/T%C3%BCrkiye-de-CYBE-%C3%B6nemli-enfeksiyonlar-ve-H%C4%B0V-ile-ilgili-hizmet-ara%C5%9Ft%C4%B1rmas%C4%B1.pdf>] (Erişim Tarihi: 09.05.2019).
 27. Baeten JM, Richardson BA, Lavreys L, et al. Female-to-male infectivity of HIV-1 among circumcised and uncircumcised Kenyan men. *J Infect Dis.* 2005;191(4):546-53.
<https://doi.org/10.1086/427656>
 28. Drain PK, Smith JS, Hughes JP, Halperin DT, Holmes KK. Correlates of national HIV sero-prevalence: An ecologic analysis of 122 developing countries. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004;35:407-20.
<https://doi.org/10.1097/00126334-200404010-00011>
 29. UNAIDS. UNGASS Indicators Country Report. Turkey Ministry of Health: Reporting Period January 2006-December 2007. Geneva: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. [http://data.unaids.org/pub/report/2008/turkey_2008_country_progress_report_en.pdf] (Erişim tarihi: 12.09.2019).
 30. World Health Organization. Global Health Observatory (GHO) data [https://www.who.int/gho/hiv/epidemic_status/deaths/en/] (Erişim tarihi: 12.09.2019).
 31. Gökengin D, Oprea C, Uysal S, Begovac J. The growing HIV epidemic in Central Europe: a neglected issue? *J Virus Erad.* 2016;2(3):156-61.
 32. Erdinç FŞ, Dokuzoğuz B, Unal S, et al. Changing trends in the epidemiology of Turkey. In: 30th IUSTI Europe Conference (15-17 Eylül 2016, Budapeşte, Macaristan) Abstract Book. UK: International Union Against Sexually Transmitted Infections. 2016:115-116.
 33. World Health Organization. Maternal, newborn, child and adolescent health. [https://www.who.int/maternal_child_adolescent/newborns/care_of_hiv_exposed/en/] (Erişim Tarihi: 12.09.2019).
 34. Orak F, Ceylan H, Şimşek K, Aral M. Yalancı HIV pozitifliği nedenleri. 17th International Eastern Mediterranean Family Medicine Congress, 10-13 Mayıs 2018, Adana Sheraton Grand Hotel, Sözel-682, 2018.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.33441.45921>
 35. Acar A, Kemahli S, Altunay H, et al. HBV, HCV and HIV seroprevalence among blood donors in Istanbul, Turkey: how effective are the changes in the national blood transfusion policies? *Braz J Infect Dis.* 2010;14(1):41-6.
<https://doi.org/10.1590/s1413-86702010000100009>

Erişkinde Kızamık Olgusu: Antikor Yanıtı Her Zaman Beklenmeli mi?[§]

A Case of Adult Measles: Should Antibody Response Always be Expected?

Hüsnü Pullukçu*[©], Dilşah Başkol*[©], Hüseyin Aytaç Erdem*[©], Aysin Zeytinoğlu**[©], Meltem Taşbakan*[©]

*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

**Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ÖZ

Kızamık, aşıyla önlenilebilen daha çok çocukluk döneminde görülen bulaşıcı bir hastalıktır. Bu enfeksiyonda hücresel yanıt ve antikor yanıtı önemlidir. Hücresel immün yetmezlik durumunda hastalık ciddi seyredebilmektedir. Anti-kızamık IgM genellikle döküntü ortaya çıktıktan üç gün sonra belirlenebilir. Bu makalede immün sistemi sağlam bir bireyde yeterli antikor yanıtının enfeksiyonun başlamasından haftalar sonra olduğu bir kızamık olgusu sunulmuştur. Dört gün önce başlayan ateş yüksekliği, burun akıntısı, döküntü ve baş ağrısı nedeniyle başvuran 21 yaşında erkek, asker hasta kızamık ön tanısı ile yatırıldı. Serolojik tetkiklerinde anti-kızamık IgG pozitif, anti-kızamık IgM sınır değere yakın negatif olarak saptandı. Bir hafta arayla bakılan IgG indeks değerlerinde de ani bir yükseklik gözlemlendi. İki hafta sonra kızamık IgM değeri pozitifleşen olgunun IgG değerindeki yükseklik yol gösterici oldu. IgM yanıtının pozitifleşmediği olgularda, IgG indeks değerlerindeki belirgin artış ve özellikle üst solunum yolu örnekleri ve idrar-da kızamık RNA gibi doğrudan tanı testlerinin yapılması yararlı olacaktır.

Anahtar kelimeler: Kızamık, antikor yanıtı, immünglobulin M

ABSTRACT

Measles is a contagious disease that can be prevented by vaccination. In this infection, cellular response and antibody response are important. In case of cellular immunodeficiency the disease can lead a severe course. In this paper, we presented a case of measles in which an adequate antibody response occurred weeks after the onset of infection in an individual with a healthy immune system. A 21-year-old male soldier who was admitted to hospital with high fever, coryza, rash and headache that started four days ago was hospitalized with an initial diagnosis of measles, and serological tests for measles were IgG positive and IgM negative (just below the borderline value). A sudden elevation was observed in IgG index values after one-week later. Measles IgM became positive after two weeks and the elevation in IgG values were helpful with the diagnosis. In cases where IgM response is not positive in expected period, marked elevation in IgG index values and direct diagnostic tests such as measles RNA in the upper respiratory tract samples and urine will be useful.

Keywords: Measles, antibody response, immunoglobulin M

Alındığı tarih / Received:
13.11.2019 / 13.November.2019
Kabul tarihi / Accepted:
19.12.2019 / 19.December.2019
Yayın tarihi / Publication date:
31.06.2020 / 31.June.2020

ORCID Kayıtları

H. Pullukçu 0000-0001-6363-2708
D. Başkol 0000-0001-5910-5227
H. A. Erdem 0000-0001-7375-977X
A. Zeytinoğlu 0000-0003-4174-9539
M. Taşbakan 0000-0002-4689-720X

✉ dilsahbaskol@gmail.com

Atf: Pullukçu H, Başkol D, Erdem HA, Zeytinoğlu A, Taşbakan M. Erişkinde kızamık olgusu: Antikor yanıtı her zaman beklenmeli mi? Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(2):108-11.

[§] Bu araştırma, 16-20 Ekim 2019 tarihinde gerçekleşen BUHASDER Kongresi'8. Tepecik Enfeksiyon Günleri'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Kızamık (rubeola), aşıyla önlenebilen daha çok çocukluk döneminde görülen bulaşıcı bir hastalıktır. Ancak aşı reddi, aşıya ulaşamama ve aşının uygun koşullarda saklanmaması nedeniyle dönem dönem erişkinler arasında da küçük endemik ataklar görülmektedir. Kızamıkvirüsü, Paramyxoviridae ailesinin Morbillivirus cinsi içinde yer alan zarflı ve tek sarmallı bir RNA virüsüdür⁽¹⁾. Kızamığın klinik belirtileri arasında yüksek ateş, makülopapüler döküntü, konjonktivit, öksürük ve burun akıntısı yer almaktadır. Komplikasyonları genelde solunum sistemi ve merkezi sinir sistemi (pnömoni, körlük, beyin hasarı gibi) ile ilişkili görülmektedir⁽²⁾. Bu enfeksiyonda hem hücresel yanıt hem de antikor yanıtı önemlidir⁽³⁾. Kızamık virüsünün birden çok reseptörü bulunmaktadır. Ana reseptörü sinyal lenfosit aktivasyon molekülüdür (SLAM). Ayrıca kızamık virüsü hemaglutinin aracılığıyla makrofajlarda bulunan CD46 reseptörlerine bağlanarak da hücre içine girebilir⁽¹⁾. Reseptörüne bağlandığında hücresel bağışıklık için gerekli olan IL-12 üretimini baskılaması ile anerjiye neden olabilir ve bu haftalarca sürebilir. Hücresel immun yetmezlik durumunda hastalık ciddi seyredebilmektedir⁽⁴⁻⁶⁾. Bu makalede immün sistemi sağlam bir bireyde yeterli antikor yanıtının enfeksiyonun başlamasından haftalar sonra oluştuğu bir kızamık olgusu sunulmuştur.

OLGU

Yirmi bir yaşında erkek, asker hasta, dört gün önce başlayan ateş yüksekliği, burun akıntısı, döküntü ve baş ağrısı nedeniyle başvurdu. Muayenesinde gövdede makülopapüler basmakla solan döküntü (Resim 1), konjonktivalarda hiperemi, oral bakısında enanemi (Resim 2) görüldü. Ateşi 38.1°C ölçüldü. Tetkiklerinde lenfopeni ve trombositopeni mevcuttu. Çocukluk çağındaki aşılama net olarak bilinmiyordu. Ön planda kızamık düşünülen olgudan serolojik tetkikleri istendiğinde anti-kızamık IgG pozitif (439.8 IU/L), anti-kızamık IgM negatif (indeks değer 0.7: sınır değere yakın negatiflik - sınır değer: 0.8-1.1) saptandı. Bu sırada olgu ile aynı koşutta olan askerler

de sağlık müdürlüğü tarafından taramaya ve profilaksi programına alındı. Olgunun tarafımıza başvurusundan 1-2 gün sonra benzer yakınmaları olan dört asker daha olduğu bildirildi ve bu askerlerde anti-kızamık IgM pozitif saptandı. Servisimizde takip edilen olguya ise vitamin A, anti-inflamatuvar ve hidrasyon tedavileri uygulandı. İlk serolojik tetkikinden bir hafta sonra tekrar kızamık serolojisine bakıldı ve yine kızamık IgM zayıf pozitif ve IgG pozitif (4720.80 IU/L) saptandı. İzlemede kan tetkiklerindeki lökopeni ve trombositopenisi düzeldi. Döküntüleri gerileyen oral alımı normale dönen hastanın yatışından iki hafta sonra kızamık IgM değeri pozitifleşti. Kliniği düzelen hasta evine taburcu edildi. Olgunun tıbbi bilgileri ve fotoğraflarının kullanımı için yazılı onamı alınmıştır.



Resim 1. Başvuru anında gözlenen makülopapüler döküntü.



Resim 2. Oral enanem-Koplik lekesi görünümü.

TARTIŞMA

Seroloji (anti-kızamık IgM), kızamık virüsü enfeksiyonunun teşhisinde kullanılan en yaygın laboratuvar yöntemidir. Kızamık virüsüne özgü IgM'nin serum veya oral sıvıdaki belirlenmesi akut enfeksiyonun tanısı koydurur⁽¹⁾. Ayrıca iki hafta ara ile alınan serum örneklerinde özgül IgG titresinde dört kat artışın saptanmasıyla da tanı konulabilir. Anti-kızamık IgM genellikle döküntü ortaya çıktıktan üç gün sonra belirlenebilir; bu durumda 3-5 gün sonra yine serum örneği alınarak doğrulama yapılması gerektiği belirtilmektedir⁽⁷⁾. Karakeçili ve ark.'nın⁽⁸⁾ yaptığı çalışmada ilk alınan serum örneklerinin %32'sinde (9/28) kızamık IgM negatif bulunmuş, ancak sonraki yinelemelerde pozitif sonuç alınmıştır. Kızamık tanısı alan 19 yetişkin hastanın retrospektif olarak incelendiği başka bir çalışmada ise hastaların tümünde IgM pozitifliği saptanmış, IgG pozitifliği ise iki hastada görülmüştür⁽⁹⁾. Sporadik olguların irdelendiği bir başka çalışmada ise, 14

olgunun tümünde IgM pozitifliği elde edilmiştir⁽¹⁰⁾. IgM genellikle döküntüden yaklaşık 30 gün sonra belirlenemez duruma gelir. Anti-kızamık IgG ise döküntü ortaya çıktıktan yaklaşık 14 gün sonra doruk seviyesine ulaşır ve ömür boyu bağışıklık sağlar⁽¹¹⁾. Bu olguda da kızamık IgG hep pozitif saptanmıştır ve bir hafta arayla bakılan IgG değerlerinde de ani bir yükselik gözlenmiştir. Bu durum, IgM serolojisi açısından atipik olguda yol gösterici olmuştur. Kızamık virüsü T-lenfositleri baskılayarak anerjik reaksiyonlara neden olabilirken, bu olguda da olduğu gibi kendine karşı oluşacak olan antikor yanıtını (IgM yanıtı) da baskılayabilir⁽¹²⁾. IgM yanıtının pozitifleşmediği olgularda doğrudan tanı testleri özellikle üst solunum yolu örnekleri ve idrarda kızamık RNA bakılması yararlı olacaktır⁽¹⁾. Tipik kızamık kliniği ile tarafımıza başvuran olgudan birkaç gün sonra temaslarında ortaya çıkan enfeksiyon kliniği ve onlardan alınan serum örneklerinde kızamık IgM antikorlarının pozitifliği bizim olgumuzun tanısının kesinleşmesinde yararlı olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2018'de Türkiye'de 716 kızamık olgusu olduğu görülmektedir⁽¹³⁾. Yetişkin hastalarda kızamık enfeksiyonlarının en olası nedeni toplumda devam eden düşük seviye kızamık enfeksiyonu olsa da bu olgularda kızamık için diğer olası kaynakları da göz önünde bulundurmak gerekmektedir. Olgumuzun olası ya da tanımlı bir kızamık hastası ile temas öyküsü bilgisine, ayrıntılı anamnez alınmasına rağmen ulaşılamadı. İndeks olgunun belirlenmediği salgınlarda olgularda seyahat öyküsüne sık rastlanmaktadır⁽¹⁴⁾. Olgumuz yaklaşık altı aydır aynı birimde askerlik yapıyordu ve seyahat öyküsü yoktu. Bu süreçte askeriye dışından birisiyle de görüşmediğini belirtmekteydi. Ancak askeriye içindeki tüm bireyler bu yönden ayrıntılı sorgulanmadığı için mevcut toplulukta yurt içi ya da dışı temaslı bir birey olma ihtimali yüksek olasılıklıydı.

Olgumuzun geçmişte kızamık aşısı olup olmadığı bilinmemekteydi. Zhang ve ark.'nın⁽¹⁵⁾ yaptığı bir çalışmada, kızamık ile enfekte olmuş kişilerin %73.3'ünün daha önce kızamığa karşı aşılanmış olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak, seroloji (anti-kızamık IgM) kızamık virüsü enfeksiyonunun teşhisinde kullanılan en yaygın laboratuvar yöntemidir. Ancak IgM serolojisi açısından atipik olgular olabileceği unutulmamalıdır. Kızamık IgM yanıtının pozitifleşmediği olgularda doğrudan tanı testleri özellikle üst solunum yolu örnekleri ve idrarda kızamık RNA bakılması ve IgG antikor düzeyinde artış takibi yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Gershon AA. Measles virus (Rubeola). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2015:1967-73.
2. Perry RT, Halsey NA. The clinical significance of measles: a review. *J Infect Dis*. 2004;189(Suppl 1):S4-16. <https://doi.org/10.1086/377712>
3. Moss WJ. Measles. *Lancet*. 2017;390(10111):2490-502. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31463-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31463-0)
4. Good RA, Zak SJ. Disturbances in gamma globulin synthesis as experiments of nature. *Pediatrics*. 1956;18(1):109-49.
5. Nanche D. Human immunology of measles virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009; 330:151-71. https://doi.org/10.1007/978-3-540-70617-5_8
6. Avota E, Gassert E, Schneider-Schaulies S. Measles virus-induced immunosuppression: from effectors to mechanisms. *Med Microbiol Immunol*. 2010;199(3): 227-37. <https://doi.org/10.1007/s00430-010-0152-3>
7. Metin O, Tanır G, Öz FN, ve ark. 2012-2013 kızamık salgını sürecinde Ankara'da saptanan 44 çocuk olgunun değerlendirilmesi ve iki olgudan elde edilen virusların moleküler analizi. *Mikrobiyol Bul*. 2014;48(2):259-70. <https://doi.org/10.5578/mb.7024>
8. Karakeçili F, Akın H, Çıkman A, Özçiçek F, Kalkan A. Erişkin yaş grubunda kızamık salgını: 28 olgunun değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2016;50(1):112-21. <https://doi.org/10.5578/mb.10692>
9. Sağmank Tartar A, Özer Balın Ş, Kırık Y, Akbulut A, Demirdaş K. Erişkin yaş grubunda kızamık olgularının irdelenmesi. *ANKEM Derg* 2016;30(3):91-6. <https://doi.org/10.5222/ankem.2016.091>
10. Premaratna R, Luke N, Perera H, Gunathilake M, Amarasena P, Chandrasena TG. Sporadic cases of adult measles: a research article. *BMC Res Notes*. 2017;10(1):38. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2374-6>
11. CDC. Measles. Centers for Disease Control and Prevention. [http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/survmanual/chpt07-measles.pdf]. (Erişim Tarihi: 31.10.2019).
12. Zeytinoğlu A. Kızamık enfeksiyonu ve SSPE tablosunda patogenezi. Ed: Badur S, Abacıoğlu A, Öngen B. *Enfeksiyon Patogenezi ve Bağışıklık'da*. Akademi Yayınevi, İstanbul, 2015:1203-12.
13. WHO. Vaccine-preventable diseases: monitoring system. 2019 Global Summary. Incidence time series for Turkey (TUR). World Health Organization. [https://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/countries?countrycriteria%5Bcountry%5D%5B%5D=TUR&commit=OK] (Erişim Tarihi: 31.10.2019)
14. Chen M, Zhang Y, Huang F, et al. Endemic and imported measles virus-associated outbreaks among adults, Beijing, China, 2013. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(3): 477-9. <https://doi.org/10.3201/eid2103.140646>
15. Zhang Z, Zhao Y, Yang L, et al. Measles outbreak among previously immunized adult healthcare workers, China, 2015. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2016;2016: 1742530. <https://doi.org/10.1155/2016/1742530>

***Rothia mucilaginosa* Pnömonisi: Olgu sunumu[§]**

***Rothia mucilaginosa* Pneumonia: Case report**

Begüm Nalça Erdin*[ⓧ], Nihal Karabiber*[ⓧ], Hüseyin Kadı[ⓧ]**

*Tuzla Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

**Tuzla Devlet Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Rothia mucilaginosa gram-pozitif, katalaz değişken, koagülaz ve oksidaz negatif; kanlı besiyerinde hemolizsiz, gri-beyaz koloniler oluşturan fakültatif anaerob bir bakteridir. Tüm bu özellikleri ile koagülaz-negatif stafilokokolonilerine benzemekte ve gözden kaçabilmektedir. Orofarenks ve üst solunum yollarının mikrobiyotasında yer almakla birlikte, son yıllarda özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyon etkeni olarak bildirilmektedir. *Rothia mucilaginosa* için antimikrobiyal duyarlılık testleri henüz standardize edilmemiş ve optimal antimikrobiyal tedavi belirlenememiş olmakla birlikte, sıklıkla aminoglikozidlere, kotrimaksozole ve kinolonlara dirençli olduğu bildirilmiştir.

Bu makalede de kolon kanseri nedeniyle kemoterapi alan ve kronik obstruktif akciğer hastalığı olan bir hastada *Rothia mucilaginosa*'nın neden olduğu bir pnömoni olgusu sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: akciğer, pnömoni, *Rothia*

ABSTRACT

Rothia mucilaginosa is a gram-positive, catalase variable, coagulase and oxidase negative, facultative anaerobic bacterium that forms gray-white colonies without hemolysis in blood agar media. With all these features, it resembles coagulase-negative staphylococcus colonies and can easily be overlooked. Although it is considered as a part of the microbiota of the oropharynx and upper airways, it has been reported as an infectious agent in recent years, especially in immunocompromised patients. Although antimicrobial susceptibility tests for *Rothia mucilaginosa* have not yet been standardized and optimal antimicrobial therapy has not been established, it has often been reported to be resistant to aminoglycosides, cotrimoxazole and quinolones.

In this article, we present a case of pneumonia caused by *Rothia mucilaginosa* in a patient who received chemotherapy for colon cancer and also has chronic obstructive pulmonary disease.

Keywords: lung, pneumonia, *Rothia*

Alındığı tarih / Received:
21.11.2019 / 21.November.2019

Kabul tarihi / Accepted:
22.01.2020 / 22.January.2020

Yayın tarihi / Publication date:
31.06.2020 / 31.June.2020

ORCID Kayıtları

B. Nalça Erdin 0000-0001-9782-5671
N. Karabiber 0000-0001-6930-2945
H. Kadı 0000-0001-9227-0195

✉ begumnalca@gmail.com

Atf: Nalça Erdin B, Karabiber N, Kadı Hüseyin.
Rothia mucilaginosa pnömonisi: Olgu sunumu.
Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(2):112-6.

[§]Bu araştırma, XXXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (04-08 Kasım, 2018) sözel bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Rothia mucilaginosa ilk defa 1900 yılında Migula ve ark.⁽¹⁾ tarafından tanımlanmış ve *Micrococcus mucilaginosa* olarak adlandırılmıştır. Daha sonraları *Staphylococcus salivarius*, *Micrococcus mucilaginosa*, *Stomatococcus mucilaginosa* isimleri ile adlandırılan bakteri, 2000 yılında 16S rRNA sekans analizine göre *Micrococcaceae* ailesine ait yeni bir cins olan *Rothia* cinsi içinde sınıflandırılmış ve *Rothia mucilaginosa* olarak adlandırılmıştır⁽²⁾.

Rothia mucilaginosa gram pozitif, hareketsiz, katalaz değişken, koagulaz, oksidaz, üreaz ve indol negatif; kanlı besiyerinde hemolizsiz, gri-beyaz koloniler oluşturan fakültatif anaerob bir bakteridir. Orofarenks ve üst solunum yollarının mikrobiyotasında yer almaktadır. Tüm bu özellikleri ile koagulaz-negatif stafilokok kolonilerine benzemekte ve gözden kaçabilmektedir. *R. mucilaginosa* benzer mikroorganizmalardan % 5'lik NaCl'de üreyememesi, jelatin ve eskülini hidrolize edebilmesi ile ayrılır.

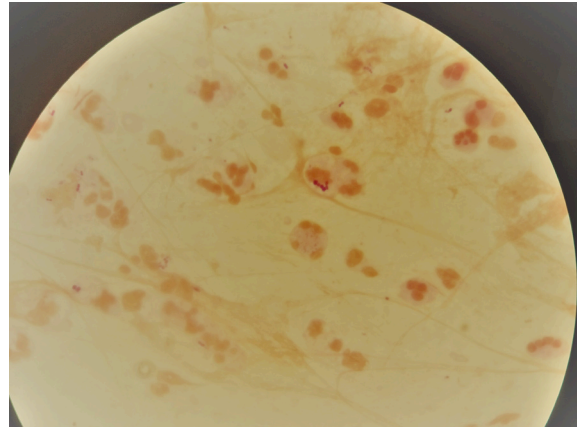
İlk defa 1978 yılında, kardiyak kateterizasyonu takiben gelişen endokardit vakasında insan patojeni olarak tanımlanmıştır⁽³⁾. *R. mucilaginosa* son yıllarda özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda artan oranlarda enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmakta ve *R. mucilaginosa*'nın bu hastalarda endokardit, artrit, osteomyelit, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, bakteriyeminin yanı sıra nadiren alt solunum yolu enfeksiyonuna da neden olduğu bildirilmektedir^(1,4-7).

Bu bildiriye kolon kanseri nedeniyle kemoterapi alan ve kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOA) olan bir hastada *R. mucilaginosa*'nın neden olduğu bir pnömoni olgusu sunulmuştur.

OLGU

Kolon kanseri nedeniyle kemoterapi alan ve KOA tanısı olan 63 yaşında erkek hasta artan nefes darlığı şikayeti ile hastanemiz göğüs hastalıkları polikliniğine

başvurmuştur. Hastanın muayene bulgularında bilateral ronküs ve rallere rastlanmış, toplum kaynaklı pnömoni ön tanısı ile yatışı yapılan hastadan hemogram, C-reaktif protein (CRP), posteroanterior akciğer grafisi, balgam kültürü ve Gram boyama istenmiştir. Beyaz küresi 8400/ μ l, nötrofil oranı %74.1 ve CRP 161 mg/L olarak bulunmuş; akciğer grafisinde interstisyel gölgelerde artışı (Resim 1) pnömoni ön tanısı ile uyumlu olan hastaya 400 mg/gün mok-sifloksasin ile antimikrobiyal tedaviye başlanmıştır.



Resim 1. Balgam örneğinden yapılan gram boyalı yaymada polimorfonükleer lökositler ile hücre içi ve dışı gram pozitif koklar.

Hastanın laboratuvarımıza gönderilen balgam kültürü örneğinden yapılan gram boyalı preparatta (Resim 2), her alanda 25'ten fazla polimorfonükleer lökosit ve 10'dan az yassı epitel hücresi, hücre içi ve dışı yerleşim gösteren gram pozitif koklar görülmüştür.



Resim 2. Pnömoni ön tanısı ile uyumlu olarak akciğer grafisinde interstisyel gölgelerde artış.

37°C'de yapılan bir gecelik inkübasyon sonrasında, kanlı ve çikolata agarda saf ve yoğun olarak, beyaz-gri hemoliz yapmayan, yapışkan özellikte koloniler üremiştir. Gram pozitif kok morfolojisinde, katalaz pozitif, oksidaz negatif bakteriler VİTEK 2 ile *Rothia mucilaginosa* olarak tanımlanmıştır. Laboratuvara gönderilen balgam örneğinden yapılan gram boyalı preparatta her alanda 25'ten fazla polimorfonükleer lökosit ve 10'dan az yassı epitel hücresi ile birlikte hücre içi ve dışı yerleşim gösteren gram pozitif kokların görülmesi, saf ve yoğun üremenin olması yanı sıra hastanın klinik bulgularının pnömoni ile uyumlu olması, özgeçmişinde de KOAH ve kolon kanseri olması nedeniyle, göğüs hastalıkları uzmanı ile de konsülte edilerek *R. mucilaginosa* etken olarak değerlendirilmiştir. *R. mucilaginosa* için antimikrobiyal duyarlılık testleri henüz standardize edilmemiş olduğu için çalışılmamıştır.

Hastanın yatışından 4 gün sonra yapılan tetkiklerde beyaz küresi 6900/µL ve CRP 18 mg/L olarak saptanmış, klinik ve muayene bulguları da düzelen hasta taburcu edilmiştir.

TARTIŞMA

Rothia mucilaginosa'nın özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, nadiren de bağışıklık sistemi normal kişilerde endokardit, artrit, osteomyelit, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, bakteriyemi gibi birçok klinik tablo da etken olarak bildirilmesine rağmen alt solunum yolu enfeksiyonlarına ait bildirimler daha seyrekdir^(1,8,9). Maraki ve ark.⁽¹⁾ 2015 yılında yayınladıkları derlemede, Ocak 1970-Ağustos 2014 yılları arasında kendi sundukları vaka ile birlikte literatürde toplam 20 tane *R. mucilaginosa*'nın neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonu vakası olduğunu belirtmişlerdir. Literatürden bulabildiğimiz kadarıyla, bu derlemeden sonra Ubeda ve ark.⁽⁸⁾ ve Escalante ve ark.⁽⁹⁾ 2017 yılında *R. mucilaginosa*'nın neden olduğu iki pnömoni vakası bildirmişlerdir. Ülkemizden de 2014 yılında Sadıç ve ark.⁽⁵⁾ ve 2016 yılında Turhanoğlu ve ark.⁽⁴⁾ iki pnömoni vakası bildirmişlerdir.

Tanımlanan vakaların büyük çoğunluğunda hematolojik maligniteler, solid tümörler, diabetes mellitus, HIV enfeksiyonu gibi immun sistemi baskılayan altta yatan bir hastalık bulunmaktadır⁽¹⁰⁾. İmmun sistemi normal bireylerde ise KOAH, astım gibi akciğer hastalıkları ve sigara kullanımı alt solunum yolu enfeksiyonları için zemin oluşturmaktadır^(6,11,12). Bizim hastamızda da KOAH ve kolon kanseri nedeniyle kemoterapi öyküsü bulunmaktadır.

Rothia mucilaginosa orofarenks ve üst solunum yollarının mikrobiyotasında yer almaktadır. Bu nedenle solunum yolu örneklerinde meydana gelen üremeler dikkatlice değerlendirilmelidir. Örnekten yapılan gram boyalı preparatta bol miktarda polimorfonükleer lökosit ve 10'dan az yassı epitel hücresi görülmesi, hücre içi ve dışı yerleşim gösteren gram pozitif kokların görülmesi, meydana gelen üremenin saf ve yoğun olması ve doğru tanımlama tanıyı kesinleştirmek için gereklidir⁽¹⁾. Bizim olgumuzda da yapılan mikrobiyolojik incelemeler bu kriterlerin hepsini sağlamaktadır.

Rothia mucilaginosa için antimikrobiyal duyarlılık testleri henüz standardize edilmemiş ve tür için klinik sınır değerler belirlenememiştir. Bizim olgumuzda da bu nedenle antimikrobiyal duyarlılık testleri çalışılmamıştır. Yapılan çalışmalara bakıldığında da antimikrobiyal duyarlılık için kullanılan besiyeri, yöntemler ve yorumlama kriterleri farklılık göstermektedir⁽¹⁾. Çalışmalarda genellikle *R. mucilaginosa* Mueller Hinton besiyerinde zayıf ürediği için %5 koyun kanı eklenmiş Mueller Hinton kullanılarak, standart agar dilüsyon veya gradiyent test yöntemi ile test edilen antibiyotiklere ilişkin minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) belirlenmeye çalışılmıştır. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) türe özgü klinik sınır değerler bulunmuyorsa MIK sonuçlarının yorumlanmasında, araştırılan ajanının Farmakokinetik-Farmakodinamik (PK-PD) sınır değerlerinden faydalanılabileceğini belirtmiştir⁽¹³⁾.

Yapılan çalışmalarda *R. mucilaginosa*'nın sıklıkla

aminoglikozidlere, kotrimaksozole ve kinolonlara dirençli olduğu bildirilmiştir^(1,14-17). Kinolonlara sıklıkla bildirilen dirence rağmen, bizim hastamızda moksifloksasin ile klinik, radyolojik ve laboratuvar olarak düzelmeye sağlanması nedeniyle antimikrobiyal ajanda değişiklik yapılmadan tedaviye devam edilmiş ve hasta taburcu edilmiştir. Literatürde *R. mucilaginosa* için sıklıkla bildirilen in vitro kinolon direncine rağmen, bizim olgumuzda da olduğu gibi kinolon tedavisi ile düzelen hastalar bulunmaktadır^(11,16).

Dünyadan ve ülkemizden bildirilen, *R. mucilaginosa*'nın neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonu vakası sayısının az olması; bakterinin orofarenks ve üst solunum yollarının mikrobiyotasında yer alması ve özelliklerinin koagülaz-negatif stafilokok kolonilerine benzemesi nedeniyle gözden kaçabileceği düşünüldüğünde, etkenin erken tanı ve tedavisi için farkındalık yaratmak adına bizim vakamız oldukça önemlidir. Bunun yanı sıra literatürde sıklıkla bildirilen in vitro dirence rağmen kinolon ile tedavi edilen bizim vakamız ve başka hastaların bulunması, *R. mucilaginosa* için antimikrobiyal duyarlılık testi verilerinin daha kapsamlı çalışmalar ile desteklenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Maraki S, Papadakis IS. *Rothia mucilaginosa* pneumonia: a literature review. Infect Dis (Lond). 2015;47(3):125-9. <https://doi.org/10.3109/00365548.2014.980843>
2. Collins MD, Hutson RA, Båverud V, Falsen E. Characterization of a *Rothia*-like organism from a mouse: *Rothia nasimurium* sp. nov. and reclassification of *Stomatococcus mucilaginosus* as *Rothia mucilaginosa* comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2000;50 Pt 3:1247-51. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-3-1247>
3. Rubin SJ, Lyons RW, Murcia AJ. Endocarditis associated with cardiac catheterization due to a gram-positive coccus designated *Micrococcus mucilaginosus* incertae sedis. J Clin Microbiol. 1978;7(6):546-9.
4. Turhanoğlu NM, Koyuncu E, Tekay F, Yıldırım F. *Rothia mucilaginosa* pnömonisi. Flora. 2016;21(4):186-90. <https://doi.org/10.5578/flora.25245>
5. Sadiç B, Başaran S, Kuşkuç M, ve ark. Bir akciğer kanseri hastasında *Rothia mucilaginosa*'nın neden olduğu nozokomiyal pnömoni. Klimik Derg. 2014;27(3):121-3. <https://doi.org/10.512/kd.2014.34>
6. Baeza Martínez C, Zamora Molina L, García Sevilla R, Gil Carbonell J, Ramos Rincon JM, Martín Serrano C. *Rothia mucilaginosa* pneumonia in an immunocompetent patient. Arch Bronconeumol. 2014;50(11):493-5. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2013.12.010>
7. Kayman T, Akalin T, Ugur H, Bozdoğan B, Duyan S. Two bacteremia cases associated with *Rothia mucilaginosa*. Clin Lab. 2013;59(9-10):1167-70. <https://doi.org/10.7754/clin.lab.2013.130142>
8. Úbeda-Iglesias A, Sánchez-Porto A, Alonso-Romero L, Casas-Ciria J, Eiros JM. Severe community-acquired pneumonia caused by *Rothia mucilaginosa* in an immunocompetent patient. Rev Esp Quimioter. 2017;30(2):136-7.
9. De Escalante Yangüela B, Gracia Gutiérrez, Gracia Tello B, Alastrué del Castaño V, Bueno Juana E, Algárate Cajo S. Bilateral bronchopneumonia due to *Rothia mucilaginosa*. An Sist Sanit Navar. 2017;40(3):479-83. <https://doi.org/10.23938/ASSN.0090>
10. Chavan RS, Pannaraj PS, Luna R, et al. Significant morbidity and mortality attributable to *Rothia mucilaginosa* infections in children with hematological malignancies or following hematopoietic stem cell transplantation. Pediatr Hematol Oncol. 2013;30(5):445-54. <https://doi.org/10.3109/08880018.2013.783893>
11. Ramos JM, Mateo I, Vidal I, Rosillo EM, Merino E, Portilla J. Infection due to *Rothia mucilaginosa*. A respiratory pathogen?. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2014;32(5):306-9. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.12.009>
12. Reynolds HY, Elias JA. Pulmonary defense mechanisms against infections. In: Fishman AP, editor. Fishman 's Pulmonary Diseases and Disorders. 3rd Ed. McGraw-Hill ; 1998:265-74.
13. EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/ [Erişim tarihi: 03.01.2019]
14. Sánchez-Carrillo C, Cercenado E, Cibrian F, Bouza E. *Stomatococcus mucilaginosus* pneumonia in a liver-transplant patient. Clin Microbiol Newslett. 1995;17(7):54-5. [https://doi.org/10.1016/0196-4399\(95\)80009-3](https://doi.org/10.1016/0196-4399(95)80009-3)
15. Korsholm TL, Haahr V, Prag J. Eight cases of lower respiratory tract infection caused by *Stomatococcus mucilaginosus*. Scand J Infect Dis. 2007;39(10):913-7.

- <https://doi.org/10.1080/00365540701387064>
16. Cho EJ, Sung H, Park SJ, Kim MN, Lee SO. *Rothia mucilaginosa* diagnosed by quantitative cultures and intracellular organisms of bronchoalveolar lavage in a lymphoma patient. *Ann Lab Med.* 2013;33(2):145-9.
<https://doi.org/10.3343/alm.2013.33.2.145>
17. Von Eiff C, Herrmann M, Peters G. Antimicrobial susceptibilities of *Stomatococcus mucilaginosus* and of *Micrococcus* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39(1):268-70.
<https://doi.org/10.1128/aac.39.1.268>

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 görülmezsizin 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 sisteme yüklenmesi 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 sisteme yüklenmesi 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: tmcdditor@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 kapsamalıdır.
- 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. Stafilokok, streptokok gibi sadece cins adı geçen cümlelerde dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir.
- Yanında birim gösterilmeyen ondan küçük sayılar yazı ile yazılmalı, rakam ile yazılan sayılara takılar kesme işareti ile eklenmelidir. Üç hasta suşların 28'i gibi. Mümkün olduğunca cümlelere sayılarla başlanmamalıdır.
- Boyama yöntemi olan Gram büyük harfle yazılmalıdır. Bakteri tanımlamasında ise küçük harf kullanılmalıdır. Örneğin gram negatif kok yazılmalıdır. Negatif / pozitif kelimeleri açık olarak yazılmalı; (-) veya (+) kısaltmaları kullanılmamalıdır.

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

Örnekler

A. Makaleler

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

- **Standart Dergi Makalesi:** Standart Dergi Makalesi: Courvalin P, Davies J. Mechanisms of resistance to aminoglycosides. Am J Med. 1977;62(6):868-72. <https://doi.org/.....>
- **Dergi Ekinde (Supplement) yer alan makale:** Snyderman DR. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial *Candida* infections. Chest. 2003;123(Suppl 5):S500-3. <https://doi.org/.....>
- **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.. <https://doi.org/.....>

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 sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 30.05.2007(26537).
- **Sürelî resmi yayın (internet):** TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 2007(26537). İnternet adresi: <http://.....> Erişim tarihi: .././20..
- **Kongre Bildiri Özeti:** Başustaoglu AC, Süzük S, Mumcuoğlu 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. *Escherichia coli* izolatlarının MİK dağılımları, gibi.
- Tablolarda kullanılan kısaltmalar alt kısımda mutlaka açıklanmalıdır.
- Tablolarda metnin tekrarı olmamalıdır
- Şekil, fotoğraf, resim ve grafiklere ait açıklamalar ana metinle beraber en sona eklenerek yollanmalıdır.
- Şekillerde ölçü önemli ise üzerine cm veya mm'yi gösteren bir ölçek çizgisi konmalıdır.
- Fotoğraflar tanınmayı engelleyecek şekilde olmalı ve hastalardan yazılı onam alınmalıdır.
- İsim, baş harfler, hastane kayıt numarası gibi kimlik bilgileri yazılmamalıdır.

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

