Cilt / *Volume* 50
Sayı / *Number* 3
Eylül / *September* 2020

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✔ Yeni ve Yeniden Önem Kazanan Virüsler
- ✔ Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* İzolatlarının 2015-2018 Yılları Arasındaki Antibiyotik Direnci
- ✔ *Olea europaea* Bitki Ekstrelerinin Türkiye'den Elde Edilmiş *Leishmania tropica* İzolatına Antileishmanial Etkisinin Araştırılması
- ✔ Kronik Süpüratif Otitis Medialı Hastalardan *Staphylococcus aureus* Suşlarının İzolasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması
- ✔ İtrakonazol ve Kryoterapi Kombinasyonu ile Tedavi Edilen Bir Kutanöz Leishmaniasis Olgusu

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 50

Sayı / *Number* 3

Eylül / *September* 2020

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 50 Sayı / *Number* 3 Eylül / *September* 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 Gümral; 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*

Rıza Adaleti, İstanbul
Gülay Aral Akarsu, Ankara
Ayşe Esin Aktaş, Ankara
Gülçin Bayramoğlu, Trabzon
Yeşim Beşli, İstanbul
Füsun Cömert, Zonguldak
Yeliz Çetinkol, Ordu
Gülnaz Çulha, Hatay
Hatice Türk Dağı, Konya
Dolunay Gülmez, Ankara
Deniz Gür, Ankara
Ufuk Hasdemir, İstanbul
Özgür Kurt, İstanbul
Dilek Yeşim Metin, İzmir
Hasan Cenk Mirza, Ankara
Meral Dilara Öğünç, Antalya
Betil Özhak, Antalya
Banu Sancak, Ankara
Ebru Us, Ankara
Fadile Yıldız Zeyrek, Şanlıurfa

Yayımlanan sayıya ait değerlendirme sürecini kapsamaktadır.

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

Sahibi / *Owner*

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

Prof. Dr. Barış Otlu

Yazışma Adresi / *Correspondence Adres*

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

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

©Her hakkı saklıdır. Bu dergide yer alan yazı, makale, fotoğraf ve illüstrasyonların elektronik ortamlarda dahil olmak üzere kullanma ve çoğaltılma hakları Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derneği'ne aittir. Yazılı ön izin olmaksızın materyallerin tamamının ya da bir bölümünün çoğaltılması yasaktır. Dergi Basım Meslek İlkeleri'ne uymaktadır.

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

Yayın Türü: Yerel Süreli

Basım Yeri / *Printed by*
LOGOS YAYINCILIK TİC. A.Ş.
Yıldız Posta Cad. Sinan Apt. No. 36 D. 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***

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 50 Sayı / *Number* 3 Eylül / *September* 2020

İÇİNDEKİLER / *CONTENTS*

DERLEME / *REVIEW*

- **Yeni ve Yeniden Önem Kazanan Virüsler**
  Emerging and Re-emerging Viruses
  Shakhnoza SARZHANOVA, Gülendam BOZDAYI **117-133**

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / *CLINICAL INVESTIGATIONS*

- **Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* İzolatlarının 2015-2018 Yılları Arasındaki Antibiyotik Direnci**
  Antimicrobial Resistance of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolates Between the Years of 2015-2018
  Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI, İlknur BIYIK, Canberk ÇINAR, Asuman BİRİNCİ **134-140**

- ***Olea europaea* Bitki Ekstrelerinin Türkiye'den Elde Edilmiş *Leishmania tropica* İzolatına Antileishmanial Etkisinin Araştırılması**
  The Investigation of Antileishmanial Activity of Olea europaea Plant Extracts Against Leishmania tropica Isolates from Turkey
  Ahmet ÖZBİLGİN, İbrahim ÇAVUŞ, Çağlar ÇELEBİ, Morteza HAGHİ, Cumhur GÜNDÜZ, Hüsniye KAYALAR **141-147**

- **Kronik Süpüratif Otitis Medialı Hastalardan *Staphylococcus aureus* Suşlarının İzolasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması**
  Isolation of Staphylococcus aureus Strains from Patients with Chronic Suppurative Otitis Media and Investigation of Antibiotic Susceptibility
  Şeyda Şilan OKALIN, Abdulbaki AKSAKAL **148-155**

- **Streptomisinin *Klebsiella aerogenes*'de Spontan Mutasyonların Hızı ve Moleküler Spektrumuna Etkisinin *İn Vitro* Değerlendirilmesi**
  In Vitro Evaluation of the Effect of Streptomycin on the Rate and Molecular Spectrum of Spontaneous Mutations in Klebsiella aerogenes
  Sibel KÜÇÜKYILDIRIM **156-163**

- **Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Kökenlerinde Yıllar İçerisinde Kolistin MİK Değerindeki Artışın *İn Vitro* Değerlendirilmesi**
  In Vitro Evaluation of the Increase in MIC Value of Colistin in the Carbapenem Resistant Klebsiella pneumoniae Strains Over the Years
  İsmail Selçuk AYGAR **164-171**

- **Üriner Sistem Enfeksiyonu Etkeni *Escherichia coli* İzolatlarının Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Oranlarının Değerlendirilmesi**
  Evaluation of Resistance Rates of Escherichia coli Isolates of Urinary Tract Infection to Various Antibiotics
  Fatma AVCIOĞLU, Mustafa BEHÇET **172-177**

OLGU SUNUMU / *CASE REPORT*

- **İtrakonazol ve Kryoterapi Kombinasyonu ile Tedavi Edilen Bir Kutanöz Leishmaniasis Olgusu**
  A Case of Cutaneous Leishmaniasis Treated with Combination of Itraconazole and Cryotherapy
  Yener ÖZEL, Sinan ÖZÇELİK, İbrahim ÇAVUŞ, Rana BAŞARA, Mehmet ÜNLÜ, Ahmet ÖZBİLGİN **178-182**

YAZARLARA BİLGİ ..... **V-VI**

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(3):117-33
doi:10.5222/TMCD.2020.117

Derleme / *Review*

Yeni ve Yeniden Önem Kazanan Virüsler

Emerging and Re-emerging Viruses

Shakhnoza Sarzhanova*,, Gülendam Bozdayı***

*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
**Hoca Ahmet Yesevi Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Türkistan

Alındığı tarih / Received:
31.01.2020 / 31.January.2020
Kabul tarihi / Accepted:
26.02.2020 / 24.February.2020
Yayın tarihi / Publication date:
30.09.2020 / 30.September.2020

ORCİD Kayıtları

Sh. Sarzhanova 0000-0003-1777-1701
G. Bozdayı 0000-0002-6036-6819

✉ shakhnoza.sarzhanova@gmail.com

Atıf: Sarzhanova Sh, Bozdayı G. Yeni ve yeniden önem kazanan virüsler. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):117-33.

ÖZ

Yeni ortaya çıkan ve yeniden önem kazanan bulaşıcı hastalıklar dünya genelinde artmaktadır. Son otuz yılda Ebola, Nipah, Hendra, Zika, şiddetli akut solunum yolu sendromu (SARS), Ortadoğu solunum sendromu (MERS) ve yeni (Novel) koronavirüsler (COVID-19) dâhil olmak üzere 30'dan fazla yeni insan patojeni keşfedilmiştir ve bunların %75'inin hayvanlardan kaynaklandığı bilinmektedir. Virüsler, insanlarda yaşamsal tehlike oluşturan, birçok hastalığa neden olan ve insan evrimi ile birlikte gelişen, etkili bulaşıcı ajanlardır. Yeni ortaya çıkan özellikle RNA virüsleri, yeni bir konakçıya ve değişen ortamlara diğer patojenlerden daha hızlı bir şekilde adapte olma potansiyeline sahiptir. Son yıllarda artış gösteren konak, çevre ve mikroorganizmalarla ilgili birçok faktör yeni ortaya çıkan ve yeniden önem kazanan enfeksiyon hastalıklarını gündeme getirmektedir.

Anahtar kelimeler: *Yeni virüsler, yeniden önem kazanan virüsler, salgın*

ABSTRACT

Emerging and re-emerging infectious diseases are increasing worldwide. Over the last thirty years, more than 30 new human pathogens have been discovered, including Ebola, Nipah, Hendra, Zika, Severe acute respiratory syndrome (SARS), Middle-East respiratory syndrome (MERS), Novel Coronavirus (COVID-19) and 75% of these are known to originate from animals. Viruses are potent infectious agents causing numerous life-threatening diseases in human beings and co-evolved with human evolution. Emerging viruses, especially the RNA viruses, have high potential to adapt rapidly to a new host and changing environments than other pathogens. Many factors related to host, enviroment and microorganisms that have been increasing in recent years bring new emerging and re-emerging infectious diseases to the agenda.

Keywords: *Emerging viruses, re-emerging viruses, outbreak*

GİRİŞ

Yeni ortaya çıkan bulaşıcı hastalıklar, yakın zamanda bir popülasyon içinde ilk kez tanımlanan veya insidansı, coğrafi aralığı hızla artmakta olan enfeksiyonlardır[1]. Yeni ortaya çıkmış enfeksiyonlar tüm insan patojenlerinin en az %15'ini oluşturmaktadır[2]. "Yeni ortaya çıkan" terimi ilk olarak 1981 yılında Richard Krause ve Josshua Lederberg tarafından verilmiştir[3,4]. Şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüsü (SARS-CoV), Ortadoğu solunum sendromu koronavirüsü (MERS-CoV), yeni (Novel) koronavirüs (COVID-19), Nipah ve Hendra gibi paramiksovirüsler yeni oratya çıkan virüslerdir. Yeniden önem kazanan hastalıklar, bir zamanlar küresel olarak veya belirli bir ülkede önemli sağlık sorunları olan ve daha sonra dramatik bir şekilde azalan, ancak yine nüfusun önemli bir kısmı için sağlık sorunları hâline gelen enfeksiyonlardır[5]. Örneğin, Dang, Chikungunya, Lassa ateşi, Sarı humma gibi virüsler son zamanlarda

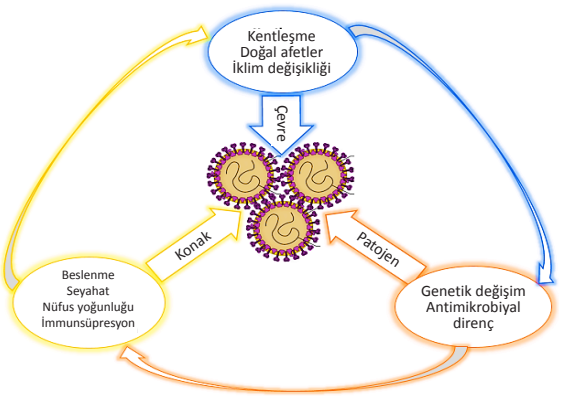
© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır.
Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.
© Copyright Turkish Society of Microbiology. This journal published by Logos Medical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

yeniden önem kazanan virüsler listesinde yer alırlar. Yeni ve yeniden önem kazanan virüsler Resim 1'de verilmiştir. Son otuz yılda 30'dan fazla yeni insan patojeni keşfedilmiştir ve bunların % 75'inin hayvanlardan kaynaklandığı bilinmektedir[6]. Yeni bir hastalığın ortaya çıkması için bulaşıcı ajanın savunmasız bir popülasyona sokulması ve ajanın insandan insana kolayca yayılabilme ve hastalığa neden olma yeteneğine sahip olması gerekir[2]. Yirmi birinci yüzyıl "virüs çağı" olmuştur[7]. Çünkü ortaya çıkan salgınların çoğu virüs kaynaklıdır. Virüsler, özellikle de RNA virüsleri, genomlarını çoğaltan RNA polimeraz enziminin yüksek hata oranlarından dolayı hızla değişen küresel ve yerel ortama adapte olma yeteneklerine sahiptir. Ayrıca bazı RNA virüsleri parçalı genom nedeniyle genetik reassortment ya da rekombinasyona yol açar ki, bu da yeni bir virüsün ortaya çıkması demektir ve insan sağlığı için çok ciddi bir tehdit oluşturulmasıdır[8]. Son zamanlarda görülen Batı Nil Virüsü (BNV) enfeksiyonu, Ebola hemorajik ateşi, SARS ve MERS, yüksek patojenite gösteren kuş gribi (H5N1) gibi hastalıklar dünya için korkulan ve ekonomik kayıplara neden olan salgınlara yol açmıştır. Ayrıca çok yakın günlerde ortaya çıkan COVID-19 şimdi gündemdedir ve dünya çapında yayılmaya devam etmektedir.

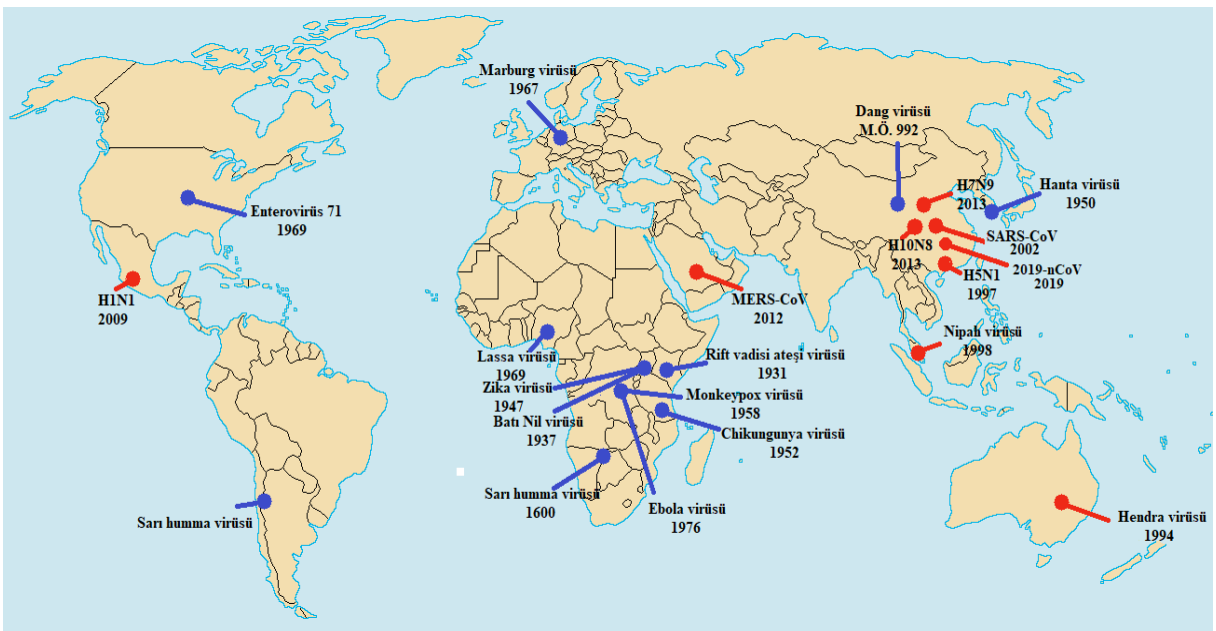
Bu derlemede, insanları enfekte eden ve ölümcül hastalıklara neden olabilecek yeni ortaya çıkan ve yeniden önem kazanan RNA virüslerine dikkat çekmek amaçlanmıştır. Konu başlıkları hemorajik ateş etkenleri, solunum yolu enfeksiyonları ve sivrisinek kaynaklı hastalıklar olarak sırayla değerlendirilmiştir.

Bulaşıcı hastalıkların ortaya çıkmasına ve yeniden önem kazanmasına katkıda bulunan faktörler

Yeni ve yeniden önem kazanan enfeksiyon hastalıklarının görülme sıklığını etkileyen faktörler küresel düzeyde üç ana değişiklik olarak özetlenebilir (Şekil 1);



Şekil 1. Yeni bulaşıcı hastalıkların ortaya çıkmasını etkileyen, konak, çevre ve patojenle ilgili faktörler.



Resim 1. Yeni ve yeniden önem kazanan virüslerin haritası. Virüslerin ilk tanımlanan ülke ve yılı verilmiştir. Yeni virüsler kırmızı renkle; yeniden önem kazanan virüsler mavi renkle işaretlenmiştir.

Tablo 1. Yeni ve yeniden önem kazanan virüsler.

Aile	Virüsler	Keşfedilen yıl	Zoonoz	Hastalık
Arenaviridae	Chapare virüsü	2004	-	Chapare kanamalı ateşi
	Guanarito virüsü	1989	Kemirgen	Venezuela kanamalı ateşi
	Junin virüsü	1958	Kemirgen	Arjantin kanamalı ateşi
	Lassa virüsü	1969	-	Lassa ateşi
	Lujo virüsü	2008	-	Lujo kanamalı ateşi
	Machupo virüsü	1963	Fare	Bolivya kanamalı ateşi
	Sabia virüsü	1993	Kemirgen	Brezilya kanamalı ateşi
Hantaviridae	Hanta virüs	1950	Kemirgen	Hantavirüs kardiyopulmoner sendromu
Nairoviridae	Kırım-Kongo kanamalı ateşi virüsü (KKKA)	1944	Kene	Kırım Kongo kanamalı ateşi
Phenuiviridae	Rift vadisi ateşi virüsü (RVFV)	1931	Sivrisinek	Rift vadisi humması
	Trombositopeni ile şiddetli ateş sendrom virüsü (SFTSV)	2009	Eklem bacaklı	Trombositopeni ile şiddetli ateş
Coronaviridae	SARS-CoV	2002	Yarasa	Şiddetli akut solunum sendromu
	MERS-CoV	2012	Yarasa, Deve	Ağır akut solunum sendromu
	Yeni koronavirüs (COVID-19)	2019	-	COVID-19
Filoviridae	Ebola virüsü	1976	Muhtemelen yarasalar	Ebola virüs hastalığı
	Marburg virüsü	1967		Marburg kanamalı ateşi
Flaviviridae	Zika virüsü	1947	Sivrisinek	Ateş, konjenital mikrosefali
	Dang virüsü	-	Sivrisinek	Dang ateşi
	Batı Nil Virüsü	1937	Sivrisinek	Batı Nil ateşi ve ensefalit
	Sarı humma virüsü	-	Sivrisinek	Sarı humma hastalığı
Rhabdoviridae	Avustralya yarasa lyssavirus (ABLV)	1996	Yarasa	Ölümcül ensefalitik hastalık
	Avrupa yarasa lyssavirus (EBLV)	2015	Yarasa	Ölümcül ensefalitik hastalık
	Irkut virüsü (IRKV)	2002	Yarasa	Ölümcül ensefalitik hastalık
Orthomyxoviridae	İnfluenza virüsü	-	Domuz, Kuş	Domuz gribi, Kuş gribi
Paramyxoviridae	Hendra virüsü	1994	Yarasa	Hendra hastalığı
	Nipah virüsü	1998	Yarasa	Nipah hastalığı
Retroviridae	HIV	1959	-	AIDS
Togaviridae	Chikungunya virüsü	1952	Sivrisinek	Chikungunya ateşi

1) insan/toplum/davranış değişikliği; 2) çevre/ekosistemdeki değişim; 3) mikroorganizmalardaki değişim[9].

Konak ile ilgili faktörler bulaşıcı hastalıkların ortaya çıkmasından ve yayılmasından sıklıkla sorumludur. Şu anda, küresel nüfusun 7.76 milyar olduğu tahmin ediliyor. Bu artış, özellikle Güney Asya, Sahra Altı Afrika ve Hindistan'da görülmektedir[10]. Nüfus artışı, gelişmekte olan bölgelerde yaygın bir sorundur ve yoksulluğu kolaylaştırmaktadır. Yüksek popülasyon ve yoğunluğu, bulaşıcı patojenlerin insandan insana temas yoluyla bulaşma riskini ve gelişmemiş alt yapılardan kaynaklanan düşük hijyenik durumu artırmaktadır[9].

Hava yolu ağlarının gelişmesi, dolayısıyla insanların geçmişten çok daha sık ve çok daha uzak mesafelere seyahat etmeleri, ortaya çıkan bulaşıcı hastalıkların hızla yayılması ve küresel salgınlara neden olmasını sağlar[11]. Örneğin, 2002 yılında Çin'de keşfedilen SARS-CoV'unun hava yolculuğu ile bir hafta içerisinde en az 17 ülkeye yayıldığı ortaya çıkmıştır. Diğer yeni bir koronavirüs Ortadoğu ülkelerinde görülen MERS-CoV'u 2012 yılında Ürdün'de belirlenmiştir ve kısa sürede enfekte kişilerin seyahatlerinin bir sonu-

cu olarak, Arap Yarımadası dışındaki ülkelere yayılmaya devam etmiştir[12]. Ortaya çıkan virüslerin yayılması dolaylı olarak iç savaşlar, mültecilerin artması, davranış değişiklikleri ve doğal afetler dâhil olmak üzere sosyoekonomik problemlerle de ilgilidir[9].

İklim değişikliği bulaşıcı yeni hastalıkların ortaya çıkmasında bir etken olarak giderek daha fazla önem kazanmaktadır[1]. Özellikle sıcaklık artışı sivrisineklerin ve yaydıkları hastalıkların (Sarı humma, Zika, Chikungunya ve Dang ateşi) daha önce bulunmadıkları yeni coğrafi bölgelere yayılmasını sağlar[13]. Araştırmacılar, 2050 yılına kadar yaklaşık yarım milyar, 2080'e kadar ise bir milyardan fazla kişinin sivrisinekler yoluyla bulaşan hastalıklara maruz kalabileceği uyarısında bulundu[14]. Yeni ve yeniden önem kazanan virüsler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Hastalıkların ortaya çıkmasında özellikle önemli olan diğer bir faktör, antimikrobiyal dirençtir. Bakteriler, virüsler ve diğer mikroorganizmalar zamanla değişebilir ve patojenlerin neden olduğu hastalıkları tedavi etmek için kullanılan ilaçlara direnç geliştirebilirler. Bu nedenle, geçmişte etkili olan ilaçlar artık hastalığın kontrolünde kullanışlı değildir[1,15].

Viral hemorajik ateş etkenleri

Ebola virüs

Ebola virüs hastalığı, insan ve insan dışı primatlarda ateşe yol açabilen, iç ve dış kanamalarla seyreden ve yaşamı tehdit eden bir viral enfeksiyondur[8,16]. Bu hastalık *Filoviridae* ailesi içindeki Ebolavirus cinsine ait bir virüs enfeksiyonu nedeniyle ortaya çıkar[17]. Ebola zarflı, tek sarmallı bir RNA virüsüdür. Ebola virüs cinsi içinde altı tür vardır: Zaire ebola virüs (EBOV), Sudan ebola virüs (SUDV), Tai Forest ebola virüs (TAFV), Bundibugyo ebola virüs (BDBV), Reston ebola virüs (RESTV) ve Bombali ebola virüs (BOMV). Bunlardan BDBV, EBOV ve SUDV Afrika'daki salgınlara neden olan türlerdir. Şimdiye kadar, Reston ve Bombali suşlarının insanlarda hastalığa neden olduğu bilinmemektedir[18]. Bombali virüsü Sierra Leone[19] ve Kenya'daki yarasalardan tespit edilmiştir[20].

Virüsün doğal rezervuarı Afrika'daki meyve yarasaları olduğu düşünülmektedir. Ebola virüsü bulaşıcıdır ve enfekte olmuş vahşi hayvanların veya insanların kanı, vücut sıvıları ve dokularının yanı sıra bu sıvılarla kontamine olmuş yatak ve giysiler gibi yüzeyler ve malzemelerle doğrudan temas yoluyla bulaşır[17,21]. Güvenli olmayan geleneksel defin uygulamaları da hastalık bulaşmasında çok önemli bir rol oynamaktadır[22]. Ebola virüsünün cinsel yolla da bulaştığına dair kanıtlar vardır[23,24]. Doğru enfeksiyon kontrol önlemlerini kullanmayan sağlık çalışanları da dâhil olmak üzere enfekte hastalara bakım sağlayan kişiler, enfeksiyon için en yüksek riski taşımaktadırlar[25,26]. Ebola virüs hastalığının 2 ila 21 gün arasında değişen bir kuluçka süresi vardır. Semptomların başlangıcı ani olabilir ve ateş, yorgunluk, kas ağrısı, baş ağrısı ve boğaz ağrısını içerebilir. Bunu kusma, şiddetli ishal, döküntü, böbrek ve karaciğer fonksiyon bozukluğu ve bazı durumlarda iç ve dış kanama takip eder[8,27].

Enfeksiyonun ilk günlerinde, belirtiler sıtma ve tifo gibi diğer hastalıklarda daha sık görüldüğü için EBOV hastalığının teşhisi zordur. EBOV kanda ancak semptomların başlamasından sonra saptanır[17]. EBOV enfeksiyonunun teşhisinde, anti-EBOV antikorlarını belirleyen serolojik testler, EBOV viral proteinlerini belirleyen antijen testleri ve viral RNA dizilerini belirleyen moleküler testler kullanılmaktadır[16]. EBOV hastalığı için tedavi seçenekleri sınırlıdır ve destekleyici tedaviye dayanır. Kanıtlanmış etkili ilaç tedavisi olmasa da, şu anda doğrulanmış Ebola hastaları için Regeneron® (REGN-EB3) ve mAb114 adı verilen antiviral ilaçlar kullanılmaktadır[17]. Amerika Birleşik Devletleri'nin Gıda ve İlaç Dairesi (FDA); 19 Aralık 2019 tarihinde, 18 yaşında ve daha büyük bireylerde Zaire ebola virüsünün neden olduğu hastalığın önlenmesi için ilk FDA onaylı aşı olan Ervebo®'nun onayını duyurmuştur. Ervebo®, tek dozluk bir enjeksiyon olarak uygulanır ve Zaire ebolavirüsünden bir protein içerecek şekilde genetik olarak tasarlanmış canlı, zayıflatılmış bir aşıdır. Diğer Ebolavirüs veya Marburgvirüs türlerine karşı koruma sağlamaz. Ervebo® tarafından sağlanan koruma süresi bilinmemektedir[28]. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tara-

fından şimdiye kadar yapılan en hızlı ön yeterlilik sürecinden geçen ve virüse karşı dünyanın ilk tanınan aşısı olan Ervebo®'nun, lisanslı olarak 2020 yılının ortalarında piyasada olması beklenmektedir[29].

Marburg virüs

Marburgvirüsler, ebolavirüslerle birlikte *Filoviridae* ailesine ait olup insanlarda ve insan olmayan primatlarda fulminan hemorajik ateşe neden olan bir RNA virüsüdür[18]. Marburg virüsü ilk kez 1967 yılında Almanya'nın Frankfurt ve Marburg şehirleri ile Belgrad'daki laboratuvar çalışanlarında eşzamanlı olarak meydana gelen salgın sırasında saptanmıştır. Hastaların çoğu Uganda'dan getirilen Afrika yeşil maymunlarıyla çalışan insanlar ve onların aile üyeleriydi. Toplam 31 kişi hastalanmış, 7 kişi yaşamını kaybetmiştir[30]. Marburg virüsünün ikinci salgını 1975'te Güney Afrika'da meydana gelmiş ve bu Afrika kıtasında ilk olmuştur[31]. Daha sonra Angola, Demokratik Kongo Cumhuriyeti, Kenya, Uganda ve Zimbabve'de aralıklı salgınlar görülmüştür. Kaydedilen en büyük ve en ölümcül marburg virüs salgını 2004-2005 yıllarında Angola'da meydana gelmiştir ve hastaların %90'ı (252 hasta/227 ölüm) yaşamını yitirmiştir[32]. Son salgın 2017 yılında Uganda'da ortaya çıkmıştır[33,34].

Virüsün rezervuarı *Rousettus aegytiacus* denilen Afrika meyve yarasalarıdır. Marburg virüsünün insanlara enfekte yarasaların bulunduğu mağaraları ziyaret sırasında yarasa çıktıları ile direkt temas veya hava yoluyla bulaştığı düşünülmektedir[18,31]. Örneğin, Ağustos 2008 ile Kasım 2009 arasında, Amerikalı ve Hollandalı turistler *R. aegyptiacus* yarasaları barındıran Uganda'daki Kraliçe Elizabeth Milli Parkı'nda Python Mağarası'nı ziyaret ettiklerinde enfekte olmuşlardır. Ayrıca, Afrika'da salgınların birçoğu, yarasaların barındığı maden ocaklarında çalışan işçilerin enfekte olması ile başlamıştır[18,35]. Bu şekilde ortaya çıkan insan olgusundan sonra, enfekte kişilerin vücut sıvılarıyla doğrudan temas yoluyla ve kontamine nesneler veya malzemelerle temasla kişiden kişiye bulaşabilir. Virüs kontamine yüzeylerde 4-5 gün canlı kalabilir[36]. Cinsel yolla bulaş olasıdır[37].

Marburg virüsü de aynı Ebola virüsünün oluşturduğu klinik tablolara neden olmaktadır. Olgu ölüm oranı %23 - %90 arasında değişmektedir[38]. Başlangıç belirtiler nonspesifik olduğundan sıtma, tifo ve diğer viral hemorajik ateşler gibi hastalıklardan ayırt etmek zordur. Kesin tanı laboratuvar testleri ile konulmaktadır[35]. Bu amaçla ELISA, PCR ve serum nötralizan testlerinden yararlanmaktadır. Hasta örnekleri aşırı biyolojik tehlike riski taşımaktadır. Bu nedenle etkinleştirilmemiş numuneler üzerindeki laboratuvar testleri maksimum biyogüvenlik koşulları altında çalışılmalıdır[38].

Kırım-Kongo kanamalı ateşi virüsü

Kırım-Kongo kanamalı ateşi (KKKA), esas olarak *Hyalomma* cinsi kenelerinin ısırmasıyla insanlara bulaşan viral hastalıktır. Genellikle hafif, spesifik olmayan ateşli bir hastalıktır ve olguların bir kısmında şiddetli hemorajik hastalığa ilerleyebilir. KKKA virüsü *Nairoviridae* ailesindeki Orthonairovirus cinsine ait, segmentli, tek iplikli, negatif polariteli bir RNA virüsüdür[39-41]. Olgu ölüm oranları, salgının bölgesine ve büyüklüğüne bağlı olarak %5-30 arasında değişmekte olup, olgu ölümleri genellikle bildirilen olguların sayısıyla ters orantılıdır. Türkiye ve Rusya gibi yıllık en yüksek insidansa sahip endemik bölgeler, diğer ülkelere göre çok daha düşük olgu ölüm oranları bildirmektedir[40]. Şu anda Afrika, Asya, Güney Doğu Avrupa ve Ortadoğu başta olmak üzere 50'dan fazla ülkede hastalık görülmektedir[41]. Türkiye'de ilk semptomatik olgu 2002 yılında Tokat ili Kelkit Vadisi'nden bildirilmiştir ve 2003 yılında tanısı konmuştur. O tarihten bugüne kadar 10 binden fazla olgu bildirilmiştir ve mortalite oranı %5 olarak gözlemlenmiştir[42,43]. Yapılan çalışmalar sonrasında Türkiye'de görülen KKKA olguları ve hastalığa bağlı ölümlerde düşüş görülmüştür. Hastalığa bağlı 2008 yılında 63, 2018 yılında 27, 2019 yılında ise 3 kişi hayatını kaybetmiştir[44]. Laboratuvar tanısı ilk günlerde PCR ile daha sonra serolojik testlerle yapılmaktadır[40]. Diğer hemorajik ateşlerde olduğu gibi destek tedavisi önemlidir. Günümüzde etkinliği tartışmalı olsa da, KKKA tedavisinde ribavirin kullanılmasının özellikle enfeksiyonun başladığı ilk günlerde çok önemli oldu-

ğu bildirilmektedir. Bu nedenle, hastalığın erken evresinde laboratuvar testleri ile enfekte olguların teşhisi hastalar için çok önemlidir. Ayrıca, hastalık hemorajik faza ilerlerse, kortikosteroidler gibi anti-enflamatuvar ilaçların hastanın yaşamda kalma olasılığını artıracağı görülmektedir[45].

Solunum yolu virüsleri

Yeni ortaya çıkan koronavirüsler

Koronavirüsler, pozitif polariteli tek iplikli, zarflı RNA virüsleridir. Yüzeylerindeki, Latince corona, yani taç benzeri çubuksu uzantılarından dolayı bu virüsler koronavirüsler olarak isimlendirilmiştir[46]. İnsanlarda başlıca solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan altı insan patojenik koronavirüsü (CoV) vardı[47]. Aralık 2019'un son haftasında, Çin'in Wuhan şehrinde Novel coronavirus (2019-nCoV) olarak adlandırılan, insanları enfekte eden koronavirüs ailesinin yedinci üyesi ortaya çıkmıştır[48]. Bunlardan dördü (229E, NL63, OC43 ve HKU1) dünya çapında yaygındır. Bu virüs tiplerinin yıllar boyunca insanlarda soğuk algınlığı gibi hafif-orta derecede üst solunum yolu hastalıklarına neden olduğu bilinmektedir[47]. İki yeni ortaya çıkan SARS ve MERS koronavirüsleri ölümcül ve insandan insana yayılabilme özelliği nedeniyle dünya için korkulan bir salgın etkeni olmuştur[49]. Şiddetli akut solunum sendromu (SARS), ilk kez Kasım 2002 yılında Çin'in Guangdong bölgesinde ortaya çıkmış ve yeni bir influenza salgını olarak değerlendirilmiştir. Enfekte olan ve daha sonra seyahat eden bireyler salgını Hong Kong'a, oradan da Vietnam, Kanada ve diğer bazı ülkelere yaymışlardır[12]. SARS'lı hastalardan alınan örneklerde koronavirüse karşı antikor varlığı gösterilmiş ve böylece Nisan 2003'te DSÖ, SARS etkeninin koronavirüs ailesinden daha önce insanda hastalık etkeni olarak saptanmamış bir virüs olduğunu resmen açıklamıştır[50]. Dünyada 2002-2003 yıllarındaki salgında toplam 8096 olgu, 774 bu hastalığa bağlı ölüm ve %9.6'lık bir olgu-ölüm oranı bildirilmiştir, 2004'ten bu yana, dünyanın herhangi bir yerinde bildirilen SARS olgusu olmamıştır[51].

On yıl sonra, Haziran 2012'de, Suudi Arabistan'da akut pnömoni ve böbrek yetmezliğinden ölen bir erkek hastanın balgamından yüksek derecede patojenik yeni bir koronavirüs izole edilmiştir. Analiz, hastalığın Ortadoğu Solunum Koronavirüsü (MERS-CoV) adlı yeni bir virüse bağlı olduğunu ortaya koymuştur[52]. Nozokomiyal enfeksiyonlar bildirilmiştir[53,54] ve uluslararası yolculuklar MERS-CoV'un Arap Yarımadası dışındaki ülkelere geçmesine neden olmuş ve böylece küresel bir sorun hâline gelmiştir. Mayıs 2015'te, Ortadoğu'dan dönen bir kişi nedeniyle Güney Kore'de bir MERS salgını ortaya çıkmıştır[55]. Asemptomatik hastalıktan, öksürük, nefes darlığı, ağır pnömoni, çoklu organ yetmezliği ve ölüme kadar ilerleyebilen çeşitli klinik tablolara neden olabilir. Her ne kadar hastalığın ilerlemesi SARS ve MERS için oldukça benzer olsa da, MERS'ın olgu ölüm oranı SARS'tan çok daha yüksektir[49]. MERS-CoV ile enfeksiyonlar 2012'den beri sürekli olarak saptanmaktadır. Kasım 2019'da, 854 ölüm (olgu-ölüm oranı: %34.4) dâhil olmak üzere toplam 2494 laboratuvarda onaylanmış MERS olgusu görülmüştür. Bu olguların çoğunluğu Suudi Arabistan'dan bildirilmiştir (2102 olgu, 780 ölüm, olgu-ölüm oranı %37.1)[56]. Hâlen, herhangi bir insan koronavirüsü için klinik tedavi veya önleme stratejisi mevcut değildir[57].

Yeni (Novel) koronavirüs (COVID-19)

Aralık 2019'da Çin'in Hubei Eyaleti'ne bağlı Wuhan şehrinde yeni bir tip viral pnömoni olgusu bildirilmiştir. İlk olgular, epidemiyolojik olarak Wuhan'daki deniz ürünleri ve bir canlı hayvan pazarı ile ilişkilidir[48]. Çin'deki ulusal yetkililer tarafından 3 Ocak 2020 itibarıyla, etiyolojisi bilinmeyen toplam 41 pnömoni hastası DSÖ'ye bildirilmiştir. İlk hastalardan alınan solunum yolu örneklerinin incelenmesiyle 7 Ocak 2020'de etken daha önce insanlarda belirlenememiş yeni bir koronavirüs (yarasa SARS koronavirüsüne %85 benzerlik gösteren) olarak tanımlanmıştır[48,58]. Daha sonra 12 Ocak 2020'de DSÖ tarafından "Novel Coronavirus (2019-nCoV)'' olarak adlandırılmıştır[59]. Bu tarihten sonra olgu sayılarında artış bildirilmektedir. Yeni adıyla COVID-19, 12 Şubat 2020 itibariyle dünya çapında 45.179 kişiye bulaşmış ve 1.116 (%2.4) kişinin yaşamını kaybetmesine neden olmuş-

tur. Çin dışında ilk importe olgu 13 Ocak 2020'de Tayland'dan bildirilen, 61 yaşındaki Çinli bir kadındır. Japonya Sağlık Bakanlığı tarafından 14 Ocak 2020'de, 30'lu yaşlarda bir erkek hasta doğurlanmış ikinci importe olgu olarak bildirilmiştir. Tayland ve Japonya'dan bildirilen iki importe olgunun Wuhan'a seyahat öyküsü bulunmaktadır. Ayrıca kıtalar arası importe olgu bildirimi de yapılmıştır[59]. Hastalık, Çin haricinde 28 ülkede daha görülmüştür[60]. Türkiye'de COVID-19 hastalığı henüz (7 Şubat 2020 itibariyle) saptanmamıştır ve tanı için gerekli moleküler testler ülkemizde mevcuttur[61].

Hastalığın başlangıcındaki ilk kaynak araştırılmaktadır. Bunula birlikte, Huanan Deniz Ürünleri Toptan Satış Pazarı'nda yasadışı olarak satılan vahşi hayvanlar düşünülmektedir. Diğer olgularda insandan insana ve sağlık merkezlerinde bulaş bildirilmiştir[62]. Virüs damlacık, yakın temas ve diğer yollarla bulaşır ve kuluçka dönemindeki hastalar (inkübasyon süresi 2-14 gün) virüsü potansiyel olarak diğer kişilere bulaştırabilirler. Mevcut gözlemlere göre, COVID-19 patogenezde SARS'tan daha zayıftır, ancak bulaştırıcılığı çok daha yüksektir[63]. Diğer solunum hastalıklarında olduğu gibi, COVID-19 enfeksiyonu burun akıntısı, boğaz ağrısı, öksürük ve ateş gibi hafif semptomlara neden olabilir. Bazı kişiler için daha şiddetli olabilir ve pnömoni, akut solunum sıkıntısı sendromu, sepsis, septik şok, böbrek yetmezliğine yol açabilir. Daha ender olarak, hastalık ölümcül olabilir. Yaşlı insanlar ve önceden mevcut tıbbi durumları (diyabet ve kalp hastalığı gibi) olan kişiler virüsle ciddi şekilde hastalanmaya karşı daha savunmasız görünmektedir[64,65]. Korunmada en etkili yöntem hasta kişilerle temas etmekten kaçınmaktır. Olabiliyorsa en az 1 metre uzakta bulunmalıdır. El temizliğine dikkat edilmelidir. Eller sık sık sabunla yıkanmalı veya alkol bazlı sıvılar ile temizlenmelidir. Öksürme veya hapşırma sırasında ağız ve burunun mendil ile veya bükülmüş dirsek içi ile kapatılması, mendilin atılarak ellerin yıkanması, kapalı ortamaların sık sık havalandırılması, çiğ veya az pişmiş hayvansal ürünlerin tüketilmemesi, olabiliyorsa tıbbi maske kullanılması önerilmektedir. Ayrıca sağlık çalışanlarının hastalarla veya enfekte örneklerle temas sırasında kişisel koruyucu ekipmanlar kullanılması ve hijyenik kuralları uygulaması nozokomiyal bulaşın önlenmesi için önemli ve gereklidir[61,64,66]. Şu an için virüse etkili bir ilaç veya aşı yoktur. Aşı çalışmaları ve bazı ilaçların virüs üzerindeki etkinliği araştırılmaktadır. Aşıların geliştirilmesi zaman alır. Ancak, hastanın genel durumuna göre gerekli destek tedavisi uygulanmaktadır[60].

İnfluenza virüsü

İnfluenza (grip) virüsü *Orthomyxoviridae* ailesine ait ve birçok türü enfekte eden zarflı, tek zincirli negatif polariteli RNA virüsleridir. Zarfın yüzeyinde hemaglütinin (H18 alttip) ve nöraminidaz (N11 alttip) aktivitesine sahip glikoprotein yapılar bulunur. Her iki glikoprotein de antijenik özelliktedir[67,68]. Dört tip influenza virüsü bulunmaktadır. Bunlar Alphainfluenzavirus (Tür: Influenza A virüsü), Betainfluenzavirus (Tür: Influenza B virüsü), Gammainfluenzavirus (Tür: İnfluenza C virüsü) ve Deltainfluenzavirus (Tür: İnfluenza D virüsü) influenza virüsleridir[68]. İnfluenza virüslerinin bazı önemli özellikleri Tablo 2'de verilmiştir. İnfluenza virüsleri insanlarda akut solunum yolu hastalığına neden olur. Özellikle sonbahar ve kış aylarında görülmektedir ve mevsimsel olarak seyreden influenza zaman zaman pek çok kişinin ölümüyle sonuçlanan salgınlara yol açmaktadır[67]. Dünyada her yıl mevsimsel influenzaya bağlı tahmini 291.000-646.000 ölüm vardır[69]. İnfluenza A virüsü en yüksek morbidite ve ölüm oranları ile önemli bir halk sağlığı sorunudur ve konak yelpazesi çok geniştir. İnsanların dışında, kuşları, domuzları, atları, balinaları, kedileri ve diğer hayvanları enfekte edebilir. Yaban kuşları bu virüslerin doğal konağıdır[70]. Günümüzde dünya çapında en çok dolaşan ve insanlarda en çok hastalık oluşturan influenza A (H1N1)'dir. Bu virüs bazen A(H1N1) pdm09 olarak belirtilebilmektedir. Pandemik influenza A (H1N1) virüsünde ilk insan enfeksiyonu Mart 2009'da öncelikle Meksika'da ve hemen ardından ABD'da rapor edilmiştir, daha sonra ise global olarak yayılmış ve pandemi yapmıştır[71]. Bu yeni virus insan, domuz, kuş influenza virüslerinin karışımı olarak ortaya çıkmıştır[72]. Dünya çapında Mart-Eylül 2009 döneminde DSÖ'ye 340.000 laboratuvar teyit olgula-

Tablo 2. İnfluenza virüslerinin özellikleri

Cins	Türler	Virüs keşif yılı	Segment sayısı	Konak	Mevcut antiviral tedavi	Aşı
Alfainfluenzavirus	İnfluenza A virüsü	1931	8	İnsan, kuş, domuz, balina, at vb.	Oseltamivir, Peramivir, Zanamivir, Baloxavir marboxil, *Amantadin, *Rimantadin	Var
Betainfluenzavirus	İnfluenza B virüsü	1940	8	İnsan	Oseltamivir, Zanamivir	Var
Gammainfluenzavirus	İnfluenza C virüsü	1947	7	İnsan ve domuz	Antiviral tedavi mevcut değil	Yok
Deltainfluenzavirus	İnfluenza D virüsü	2011	7	Sığır, domuz, koyun, **İnsan	Antiviral tedavi mevcut değil	Yok

** Dolaşımdaki influenza A (H3N2) ve influenza A (H1N1) pdm09 ("2009 H1N1") virüsleri arasında amantadin ve rimantadine karşı yüksek direnç (>% 99) olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, şu anda dolaşan influenza A virüslerinin antiviral tedavisi veya kemoprofilaksisi için amantadin ve rimantadin önerilmez(83). **İnsanlarda hastalığa neden olma olasılığı hakkında fazla bir bilgi yoktur.*

rı ve 4.100'den fazla ölüm bildirilmiştir. Pandemik H1N1'in fatalite hızı binde 3-5 arasında değişmektedir. Bu normal influenzadan daha düşük bir orandır. Ancak hastalığa maruz kalanlar arasında belli gruplarda ölüm oranı normal influenzaya göre daha yüksektir[70,71]. Türkiye'de ilk olgu 18 Mayıs 2009 tarihinde belirlenirken, ilk yerli olgu da 18 Haziran 2009 tarihinde bildirilmiştir. Pandemik influenza virüsüne bağlı 2009-2010 sezonunda Türkiye'de konfirme toplam 13.591 olgu ve 656 ölüm görülmüştür[73]. Günümüde influenza A (H1N1) toplumda dolaşmaya devam ediyor ve mevsimsel grip etkeni olarak değerlendirilmektedir[67].

İnfluenza A (H5N1) virüsü veya kuş gribi kuşlarda yüksek derecede bulaşıcı, ciddi solunum yolu hastalıklarına neden olur. Bu virüs çok ölümcüldür (olguların yaklaşık %60'ı), ancak insandan insana bulaş gösterilmemiştir. Hastalıklı kuşlarla doğrudan temas eden insanlarda oranla ender görülen enfeksiyon olgularıyla sınırlıdır[1]. İnfluenza A (H5N1) virüsüne bağlı ilk insan enfeksiyonunun ilk salgını Hong Kong'da 1997 yılında 18 kişinin enfekte olduğu ve 6 ölümcül sonuçlar yaşandığı[74], 2003 yılında Güneydoğu Asya bölgelerinde yeniden ortaya çıkmasının ardından 392 olgu ve 247 ölümle meydana geldiği bildirilmiştir[75]. Türkiye'de H5N1 kaynaklı ilk salgın Ekim 2005'de Balıkesir ili Manyas ilçesinde görülmüştür. İkinci salgın, Iğdır ilindeki Aralık ilçesinden, Kasım 2005'te bildirilmiştir ve köy tavukçuluğu yapılan 53 ile yayılmıştır. Hastalığın kontrolü amacıyla 2.5 milyon üzerindeki kanatlı hayvan itlaf edilmiştir. Bu salgında kanatlılar ile teması bulanan 12 kişide H5N1 virüsü belirlenmiş ve bunlardan çocuk olan 4 hasta ölmüştür[76].

Avian influenza A virüsünün oldukça patojenik yeni bir türü olan H7N9 ise ilk olarak Mart 2013'te Çin'de görülmüştür. Ancak, o zamandan beri hem insanlarda hem de kuşlarda enfeksiyonlar gözlenmiştir. Nisan 2013'ten 26 Aralık 2019'a kadar, DSÖ 1568 olgu ve 616 ölüm, genel olgu ölüm oranının ise yaklaşık %39 olduğunu doğurlamıştır[77].

Influenza B virüsleri alt tiplere sahip değildir. Ancak, B/Yamagata ve B/Victoria olarak isimlendirilen 2 ana grubu mevcuttur. Bu iki virüste mevsimsel grip virüsleri içerisinde yer almaktadır. İnfluenza C virüsünün insanlarda hafif solunum yolu hastalıklarına neden olduğu bilinmektedir[77,78].

Son zamanlarda influenza D virüsü olarak sınıflandırılan yeni bir influenza virüsü, domuz, sığır ve koyun gibi birçok hayvanda tanımlanmıştır. İnsanlarda hastalığa neden olma olasılığı hakkında fazla bir şey bilinmemektedir. İskoçya'da 3300 insan solunum numunesi üzerinde yapılan bir sürveyans çalışması, hiçbir örnekte influenza D virüsünün belirlenemediğini ortaya koymuştur[79]. Başka bir serolojik çalışmada, Florida'daki sığır işçileri ve sığırlara maruz kalmayan yetişkinler influenza D virüsü antikorları açısından taranmıştır. Sığırlarla mesleki maruziyeti olan

insanlarda influenza D virüsünün seropozitifliği çok yüksek (%97) ve sığırlara maruz kalmayan erişkinlerde %18 olduğunu bulmuşlardır[80]. Serolojik analiz influenza D virüsünün insanları etkilediğini öne sürse de, yine de çok sayıda insan örneğinde influenza D virüsü tespit etmeyen diğer çalışmaların sayesinde, daha net bir sonuca varmak için daha fazla epidemiyolojik çalışma yapılması gerekmektedir[68].

İnfluenza için kültür, serolojik testler, hızlı antijen testleri, RT-PCR, immunflorasan assay ve hızlı moleküler testler gibi birçok tanı testleri kullanılmaktadır[81]. Aşılama, influenza virüslerinin neden olduğu enfeksiyon ve ciddi sonuçları önlemenin en etkili yoludur. Özellikle ciddi grip komplikasyonları riski taşıyan insanlar için ve yüksek riskli bireylerle birlikte yaşayan, bakımını yapan kişiler için aşılama önemlidir. Eğer aşı içeriğindeki virüs ile dolaşan virüs maksimumda eşleşirse influenza aşılarının koruyuculuğu yüksek oluyor. İnfluenza virüslerinin sürekli değişim özelliğinden dolayı DSÖ, Global Influenza Sürveyans ve Yanıt Sisteminin (GISRS), ulusal influenza merkezleri ve tüm dünyadaki işbirliği merkezlerini içeren bir sistem insanlarda dolaşan influenza virüslerini sürekli izlemekte ve aşı içeriğini yılda iki kez güncellemektedir[82].

Sivrisinek kaynaklı hastalıklar

Zika virüsü

Zika virüsü (ZIKV), Flavivirus cinsinin *Flaviviridae* ailesine ait yeniden önem kazanmış bir RNA virüsüdür[8]. Dang, Sarı humma ve Batı Nil virüsleri ile benzer özelliklere sahiptir. İlk olarak 1947 yılında Dick ve ark.[84] Uganda'nın Zika ormanlarında yaşayan *Rhesus* maymunlarından izole etmişlerdir. ZIKV insanlarda ilk kez 1954 yılında Nijerya'da 10 yaşında bir kız çocuğunda saptanmıştır[85]. ZIKV enfeksiyonunun ilk önemli salgını 2007'de Mikronezya Yap Adası'nda gerçekleşmiştir[86]. Bundan sonraki dönemlerde, Güneydoğu Asya, Orta ve Güney Amerika, Fransız Polinezyası ve diğer Pasifik Adalarına yayılmıştır. Ayrıca, 2015 yılında, ZIKV Amerika'da ilk kez (Mart ayında Brezilya'da) ortaya çıkmıştır ve Avrupa kıtasındaki 20 ülkede importe olgular saptanmıştır[87]. Zika virüsünün ana bulaş yolu enfekte Aedes türü (*A. aegypti, A. albopictus*) sivrisineklerin insanları ısırmasıyla olur[84,88]. Bununla birlikte, insandan insana geçiş yolu hamile ananeden bebeğine vertikal yolla, enfekte kan veya cinsel yolla, organ transplantasyonu ve kemik iliği yoluyla bulaşabilmektedir[89,90]. ZIKV RNA ayrıca anne sütünde, amniyon sıvısı ve fetal dokularda tanımlanmıştır[91,92]. Bununla birlikte, bu yollardan yayılan ZIKV kanıtı şimdiye dek henüz rapor edilmemiştir[93].

ZIKV enfeksiyonunun %80'i asemptomatiktir ve inkübasyon süresi kesin olarak bilinmemektedir. Ancak genellikle olgular sivrisineklerin ısırmasından 3-13 gün sonra ortaya çıkmaktadır[94]. Semptomatik hastalarda ateş, baş ve kas ağrısı, döküntü, göz nezlesi şeklinde görülmektedir[95]. Klinik genellikle hafif geçer ve hastaneye yatış çoğunlukla gerektirmez[93]. Ancak, virüsün özellikle yeni doğan bebekler üzerinde etkili olması ciddi endişeler yaratmıştır. Hamile kadınlara bulaşması durumunda bebeklerin beyin gelişimini engelleyen ve kafalarının normalden küçük kalmasına yol açan (mikrosefali) Zika virüsü için, 1 Şubat 2016 tarihinde, DSÖ tarafından küresel acil durum ilan edilmesine neden olmuştur[92,95]. Ayrıca erişkinlerde görülen bir otoimmün hastalık olan Guilliain-Barre Sendromun da ZKV'den kaynaklı olduğu düşünülmektedir[96]. Amerika'da, artan doğumsal mikrosefali ve Guillain-Barré sendromu olgularının sayısı ZIKV enfeksiyonu ile ilişkilidir[8,90].

Hastalığın tanısı serum ve beyin omurilik sıvısında (BOS) virüse spesifik IgM ve IgG antikorlarını gösterilmesi; diğer flavivirüslar ile çapraz reaksiyon vermeleri ve heterolog antikor varlığı nedeniyle şüpheli durumlarda doğrulayıcı tanı için plak nötralizasyon testi (PRNT)[97], doku örneklerinde immünhistokimyasal yöntemlerle viral antijenlerin saptanması; serum, idrar, BOS, plasental ve fetal doku örneklerinde viral RNA'nın gösterilmesi ile konulmaktadır. Bunların dışında araştırma amacı ile virüsün hücre kültürlerinde üretilmesi ya da moleküler yöntemlerle genotipleme ve sekans analizi gibi ileri düzey analizleri de yapılmaktadır[98-100].

Türkiye'de yerli Zika virüs bulaşı bulunmamaktadır. Şu ana kadar yalnızca, endemik bölge ziyareti öyküsü bulunan 4 importe (yurtdışı kaynaklı) olgu saptanmıştır. Bu kişiler virüse ziyaret ettikleri ülkede (Küba) maruz kalmış ve döndükten sonra hastalık bulguları başlamıştır. Bununla beraber, Türkiye'den hastalığın endemik olduğu bölgeleri ziyaret edenler veya bu bölgelerden gelenler olduğundan, yeni importe ZKV olguları saptama olasılığı mevcuttur[98].

Dang virüs

Dang virüs (DENV) enfeksiyonu, bugün dünyadaki en önemli sivrisinek kaynaklı virüs hastalıklarından sorumludur. DENV *Flaviviridae* ailesi, Flavivirus cinsinde yer alan, 40-60 nm çapında, zarflı, tek zincirli bir RNA virüsüdür[101]. Diğer flavivirüsler gibi, viral RNA 3 yapısal (kapsid, membran, zarf) ve 7 yapısal olmayan (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B ve NS5) proteini kodlamaktadır. Diğer flavivirüslerin aksine, genetik olarak benzer, fakat antijenik olarak farklı DENV-1, DENV-2, DENV-3 ve DENV-4 olmak üzere dört serotipi vardır[102]. Enfeksiyondan iyileşme, o belirli serotipe karşı ömür boyu bağışıklık sağlar. Bununla birlikte, iyileşmeden sonra diğer serotiplere çapraz bağışıklık yalnızca kısmi ve geçicidir[101]. Dang ateşinin küresel insidansı son yıllarda çarpıcı bir şekilde artmaktadır. Bir modelleme araştırması, DENV'ünün yılda yaklaşık 390 milyon enfeksiyona neden olduğunu; bunlardan 96 milyonunda semptomatik enfeksiyon ortaya çıktığını ve her yıl, özellikle çocuklarda olmak üzere 25.000 ölüm meydana geldiğini göstermektedir[103]. Diğer bir çalışma dünyada 3.9 milyar insanın dang virüsleriyle enfeksiyon riski altında olduğunu tahmin etmektedir. Dang ateşi olduğuna dair kanıtlar 128 ülkede rastlanmaktadır[104]. Amerika, Güney-Doğu Asya ve Batı Pasifik bölgeleri en ciddi şekilde etkilenmektedir. Asya ise küresel hastalık yükünün % 70'ini temsil etmektedir[103].

Seroepidemiyolojik çalışmalar Türkiye'de DENV varlığını göstermektedir. Serter'in 1980 tarihli çalışmasında[105], DENV seroprevalansı (Ege bölgesi) %12.6 olarak bulunmuştur. Ergünay ve ark.[106] 2010 yılında, Orta ve Kuzey Anadolu Bölgesi'nden (Ankara, Konya, Eskişehir ve Zonguldak) 2.435 kan bağışçısında yaptıkları çalışmada; Ankara ve Konya illerinde sporadik olarak DENV ile karşılaşıldığını ve DENV-2'nin baskın serotip olduğunu işaret etmişlerdir. Ancak Türkiye'de Dang ateşi tanısı almış bir yerli olgu bildirimi henüz rastlanmamıştır.

Hastalığın bulaşması ve yayılmasında Aedes türü (*A. aegypti, A. albopictus*) sivrisinekler rol oynar[107]. Bununla birlikte, kan tranfüzyonu, enfekte kana maruz kalan sağlık çalışanları ve anneden bebeğe vertikal yolla bulaşmada bildirilmiştir[108,109]. Klinik asemptomatik enfeksiyondan kanamalı ateş ve/veya şok sendromu gibi klasik dang ateşine kadar değişebilir. Semptomlar enfektif sivrisinek ısırığından 4-6 gün sonra başlar[102]. Hastalık yüksek ateş (40°C'ye kadar), hâlsizlik, şiddetli baş ağrısı, retro-orbital ağrı, şiddetli eklem ve kas ağrısı, bulantı-kusma, döküntü ile karakterizedir. Birincil enfeksiyonun ardından, hasta, bu özel dang serotipinin neden olduğu hastalıklardan immünolojik olarak korunur. Sekonder enfeksiyon geliştiğinde primer enfeksiyona göre daha ağır klinik tablo gözlenmektedir[110]. Bununla birlikte, küçük bebeklerde primer enfeksiyon da ciddi hastalık sonuçlarıyla ilişkili olabilir[111].

Laboratuvar tanısı virolojik testler (virüs komponentlerinin doğrudan belirlenmesi) ve virüse cevaben üretilen insan kaynaklı bağışıklık bileşenlerini saptayan serolojik testlerle konulur. Her bir testin sensitivitesi hastalığın fazına göre değişmektedir. Hastalığın ilk haftasında toplanan hasta örnekleri hem serolojik hem de virolojik yöntemlerle (RT-PCR) test edilmelidir[110,112].

Dang ateşi için spesifik bir tedavi yoktur. Ağrıları ve ateş belirtilerini kontrol etmek için ateş düşürücüler ve ağrı kesiciler alınabilir[102]. Sanofi Pasteur tarafından geliştirilen ilk dang aşısı olan Dengvaxia® (CYD-TDV) Aralık 2015'te lisanslanmıştır ve şimdi 20 ülkede onaylanmıştır. Kasım 2017'de, aşılama sırasında serostatusu geriye dönük olarak belirlemek için ek bir analizin sonuçları açıklandı. Analiz, ilk aşılama

Tablo 3. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 18 Ekim 2019-6 Şubat 2020 döneminde bildirilen salgın olguları[59,121].

Etken	Yer	Tarih	Toplam olgu	Doğrulanmış olgu	Ölüm
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	6.02.2020	8	4	9
MERS-CoV	Birleşik Arap Emirlikleri	31.01.2020	2	2	0
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	30.01.2020	5	5	4
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	23.01.2020	23	10	2
2019-nCoV	Kore Cumhuriyeti	21.01.2020	1	1	0
2019-nCoV	Japonya (Çin'den)	17.01.2020	1	1	0
2019-nCoV	Japonya (Çin'den)	16.01.2020	1	1	0
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	16.01.2020	14	14	1
2019-nCoV	Tayland (Çin'den)	14.01.2020	1	1	0
2019-nCoV	Çin	12.01.2020	41	41	1
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	9.01.2020	12	12	3
MERS-CoV	Birleşik Arap Emirlikleri	8.01.2020	1	1	0
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	2.01.2020	29	29	15
MERS-CoV	Katar	26.12.2019	3	3	0
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	19.12.2019	11	11	7
MERS-CoV	Suudi Arabistan	18.12.2019	10		1
Dang humması	Afganistan	13.12.2019	40	14	1
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	12.12.2019	27	27	3
MERS-CoV	Suudi Arabistan	5.12.2019		15	6
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	5.12.2019	9	9	1
Dang humması	İspanya	29.11.2019	2	2	0
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	28.11.2019	6	6	2
Lassa ateşi	Hollanda/Sierra Leone	28.11.2019	2/2	2/2	1/2
Aşı türevi Polio Tip 2	Pakistan	28.11.2019	11	11	0
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	28.11.2019	6	6	2
Dang humması	Sudan	22.11.2019	99		0
Sarı humma	Venezuela	21.11.2019	1	1	0
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	21.11.2019	7	7	4
Dang humması	Pakistan	19.11.2019		47.120	75
Rift vadisi ateşi	Sudan Cumhuriyeti	14.11.2019	47		2
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	14.11.2019	22	21	11
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	7.11.2019	19	19	8
Zika virüsü hastalığı	Fransa	1.11.2019	3	3	0
MERS-CoV	Birleşik Arap Emirlikleri	31.10.2019	1	1	0
Ebola	Kongo Cumhuriyeti	24.10.2019	23	21	20
MERS-CoV	Suudi Arabistan	18.10.2019	4	4	1

sırasında seronegatif olduğu düşünülen deneme katılımcılarının alt grubunun aşılanmamış katılımcılara kıyasla daha şiddetli dang ve hastaneye yatış riski daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu nedenle aşının kullanımı (6 aylık aralıklarla 3 doz), daha önce en az 1 kanıtlanmış dang virüsü enfeksiyonu geçiren 9-45 yaş arasında değişen endemik bölgelerde yaşayan kişiler için hedeflenmiştir[102,107,113].

Batı Nil virüsü

İlk kez 1937 yılında Uganda'nın Nil bölgesinde tanımlanan Batı Nil Virüsü (BNV), yıllar içinde dünya geneline yayılmaya devam eden sivrisinek kaynaklı bir arbovirüs enfeksiyonudur[114]. Çoğunlukla *Culex* türü sivrisinekler ile bulaşmaktadır. Etken, başta atlarda olmak üzere insan ve birçok memeli hayvan ile kuşlarda enfeksiyona neden olmaktadır. Yabani kuşlar, virüsün çoğalmasını sağlamak ve barındırmak için en uygun konakçı olabilir. Ek ve ender bulaş yolları arasında enfekte olmuş donör kanı, organlar, anne sütü veya transplasental enfeksiyon bulunur. Hastalığın dünya genelinde hızlı bir coğrafik yayılım göstermesinde enfekte olmuş pek çok göçmen kuşlar rol oynamaktadır[115,116]. Başlangıçta Afrika'da görülen BNV, 1990 yıllarında Amerika, Asya ve Avrupa kıtalarında ortaya çıkmaya başlamıştır[116]. Kalaycıoğlu ve ark.'nın[117], 2010 ve 2011 yıllarında 47 BNV infeksiyonu tanısı koydukları olguyu bildirmesiyle, Türkiye'de ilk kez akut BNV infeksiyonları bir salgın şeklinde tanımlanmıştır. Amerika Birleşik Devletlerin'den 1999 yılı ile 2018 yılları arasında toplam 50.830 olgu, 24.657 nöroinvaziv hastalık ve 2.330 ölüm bildirilmiştir[118]. Avrupa'da 2019 yılı itibariyle, 463 insan enfeksiyonu, 50 ölüm görülmüştür. Toplam 10

BNV enfeksiyonu olgusu 2019 yılında Türkiye tarafından bildirilmiştir[119]. Batı Nil virüsü, *Flaviviridae* ailesi, Flavivirus cinsinde yer alan zarflı, pozitif polariteli, tek zincirli, ikozahedral simetrili, yaklaşık 50 nm çapında bir RNA virüsüdür. Özellikle insan, at gibi memeli konaklarda yüksek ateşle birlikte yaşamı tehdit edici nöroinvaziv hastalığa yol açmaktadır[116]. Kuluçka süresi genellikle 3-14 gündür. İnsanlarda %20-30 oranında ateşle seyreden hastalık tablosu görülürken olguların az bir kısmında da menenjit, ensefalit, depresyon, ataksi gibi nörolojik bulgu ve ölüme neden olmaktadır[114]. BNV laboratuvar tanısında genellikle IgM Capture ELISA, Plak Redüksiyon Nötralizasyon (PRNT), doku kültüründe izolasyon, Serum Nötralizasyon (SN), İmmuno-histokimyasal Test (IHCT) ve moleküler testler kullanılabilir. Hâlen BNV enfeksiyonun aşı veya antiviral tedavisi yoktur. Korunmada sivrisinek kontrol programları, kişisel korunma önlemleri ve donör tarama programları yer almaktadır[120].

KAYNAKLAR

1. Baylor College of Medicine. Emerging infectious diseases Houston, Texas: Baylor College of Medicine. 2019 [https://www.bcm.edu/departments/molecular-virology-and-microbiology/emerging-infections-and-biodefense/emerging-infectious-diseases]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
2. McArthur DB. Emerging infectious diseases. Nurs Clin North Am.2019;54(2):297-311. https://doi.org/10.1016/j.cnur.2019.02.006
3. Krause RM. The Restless Tide: The Persistent Challenge of the Microbial World. Michigan: National Foundation of Infectious Diseases;1981.
4. Lederberg J, Shope RE, Oaks SC, Jr. Emerging Infections: Microbial Threats to Health in the United States. Washington, DC: The National Academies Press;1992:312.
5. Sarma N. Emerging and re-emerging infectious diseases in South East Asia. Indian J Dermatol. 2017;62(5):451-5. https://doi.org/10.4103/ijd.IJD_389_17
6. WHO. Zoonotic disease: emerging public health threats in the Region: World Health Organization. 2019 [http://www.emro.who.int/fr/about-who/rc61/zoonotic-diseases.html]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
7. Grubaugh N, Ladner J, Lemey P, Pybus O, Rambaut A, Holmes E, et al. Tracking virus outbreaks in the twenty-first century. Nat Microbiol. 2019;4(1):10-9. https://doi.org/10.1038/s41564-018-0296-2
8. Jaijyan DK, Liu J, Hai R, et al. Emerging and reemerging human viral diseases. Ann Microbiol Res. 2018; 2(1):31-44. https://doi.org/10.36959/958/567
9. Kobayashi N. Impact of emerging, re-emerging and zoonotic viral infectious diseases, in a virologist's perspective. Open Virol J. 2018;12(Suppl 2):S131-3. https://doi.org/10.2174/1874357901812010131
10. Worldometers. Current world population 2019 [https://www.worldometers.info/world-population/]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
11. Pybus OG, Tatem AJ, Lemey P. Virus evolution and transmission in an ever more connected world. Proc R Soc B. 2015;282(1821):20142878. https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2878
12. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. Nat Rev Microbiol. 2016;14(8):523-34. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81
13. Polat Y, Yanıkoğlu A, Cetin H. İklim değişikliğinin sivrisinek kaynaklı hastalıklar üzerine etkisi. Anadolu University Journal Of Science And Technology –C Life Sciences And Biotechnology. 2017;6(2):14-22. https://doi.org/10.18036/aubtdc.296680
14. Ryan SJ, Carlson CJ, Mordecai EA, Johnson LR. Global expansion and redistribution of *Aedes*-borne virus transmission risk with climate change. PLoS Negl Trop Dis. 2019;13(3):e0007213. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007213
15. Brinkac L, Voorhies A, Gomez A, Nelson KE. The threat of antimicrobial resistance on the human microbiome. Microb Ecol. 2017;74(4):1001-8. https://doi.org/10.1007/s00248-017-0985-z
16. Nicastri E, Kobinger G, Vairo F, et al. Ebola virus disease: epidemiology, clinical features, management, and prevention. Infect Dis Clin North Am. 2019;33(4):953-76. https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.08.005
17. CDC. Ebola (Ebola virus disease): Centers for Disease Control and Prevention. 2019 [https://www.cdc.gov/vhf/ebola/diagnosis/index.html]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
18. Languon S, Quaye O. Filovirus disease outbreaks: A chronological overview. Virology (Auckl). 2019;10:117822X19849927. https://doi.org/10.1177/1178122X19849927
19. Goldstein T, Anthony SJ, Gbakima A, et al. The discovery of Bombali virus adds further support for

bats as hosts of ebolaviruses. Nat Microbiol. 2018;3(10):1084-9.
https://doi.org/10.1038/s41564-018-0315-3

20. Forbes KM, Webala PW, Jaaskelainen AJ, et al. Bombali Virus in *Mops condylurus* Bat, Kenya. Emerg Infect Dis. 2019;25(5):955-7.
https://doi.org/10.3201/eid2505.181666
21. Bausch DG, Towner JS, Dowell SF, et al. Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites. J Infect Dis. 2007;196(Suppl 2):S142-7.
https://doi.org/10.1086/520545
22. Tiffany A, Dalziel BD, Kagume Njenge H, et al. Estimating the number of secondary Ebola cases resulting from an unsafe burial and risk factors for transmission during the West Africa Ebola epidemic. PLoS Negl Trop Dis. 2017;11(6):e0005491
https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005491
23. Diallo B, Sissoko D, Loman NJ, et al. Resurgence of Ebola virus disease in Guinea linked to a survivor with virus persistence in seminal fluid for more than 500 days. Clin Infect Dis. 2016;63(10):1353-6.
https://doi.org/10.1093/cid/ciw601
24. Mate SE, Kugelman JR, Nyenswah TG, et al. Molecular evidence of sexual transmission of Ebola virus. N Engl J Med. 2015;373(25):2448-54.
https://doi.org/10.1056/NEJMoa1509773
25. Hasan S, Ahmad SA, Masood R, Saeed S. Ebola virus: A global public health menace: A narrative review. J Family Med Prim Care. 2019;8(7):2189-201.
https://doi.org/ 10.4103/jfmpc.jfmpc_297_19
26. Grinnell M, Dixon MG, Patton M, et al. Ebola virus disease in health care workers Guinea, 2014. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2015;64(38):1083-7.
https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6438a6
27. Chertow DS, Kleine C, Edwards JK, Scaini R, Giuliani R, Sprecher A. Ebola virus disease in West Africa--clinical manifestations and management. N Engl J Med. 2014;371(22):2054-7.
https://doi.org/10.1056/NEJMp1413084
28. Food and Drug Administration News Release. First FDA-approved vaccine for the prevention of Ebola virus disease, marking a critical milestone in public health preparedness and response. Food and Drug Administration. 2019 [https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/first-fda-approved-vaccine-prevention-ebola-virus-disease-marking-critical-milestone-public-health]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
29. WHO prequalifies Ebola vaccine, paving the way for its use in high-risk countries: World Health Organization; 2019 [https://www.who.int/news-room/detail/12-11-2019-who-prequalifies-ebola-vaccine-paving-the-way-for-its-use-in-high-risk-countries]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
30. World Health Organization & Candau, Marcolino Gomes. The work of WHO, 1967: annual report of the Director-General to the World Health Assembly and to the United Nations. WorldHealth Organization. 1968 [https://apps.who.int/iris/handle/10665/85804/]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
31. Gear JS, Cassel GA, Gear AJ, et al. Outbreake of Marburg virus disease in Johannesburg. Br Med J. 1975;4(5995):489-93.
https://doi.org/10.1136/bmj.4.5995.489
32. CDC. Outbreak of Marburg virus hemorrhagic fever-Angola, October 1, 2004-March 29, 2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2005;54(12):308-9.
33. Nyakarahuka L, Shoemaker TR, Balinandi S, et al. Marburg virus disease outbreak in Kween District Uganda, 2017: Epidemiological and laboratory findings. PLoS Negl Trop Dis. 2019;13(3):e0007257.
https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007257
34. WHO. Marburg virus disease – Uganda: World Health Organization. 2007 [https://www.who.int/csr/don/25-october-2017-marburg-uganda/en/]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
35. Miraglia CM. Marburgviruses: An Update. Laboratory Medicine. 2019;50(1):16-28.
https://doi.org/10.1093/labmed/lmy046
36. Belanov EF, Muntianov VP, Kriuk VD, et al. Survival of Marburg virus infectivity on contaminated surfaces and in aerosols. Vopr Virusol. 1996;41(1):32-4.
37. Schindell BG, Webb AL, Kindrachuk J. Persistence and sexual transmission of filoviruses. Viruses. 2018;10(12):683.
https://doi.org/10.3390/v10120683
38. WHO. Marburg hemorrhagic fever: Centers for Disease Control and Prevention. 2014 [https://www.cdc.gov/vhf/marburg/diagnosis/index.html]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
39. ICTV. Virus Taxonomy: 2018b Release EC 50, Washington, DC, July 2018 [https://talk.ictvonline.org/taxonomy/]. (Erişim tarihi: Şubat 2020)
40. Spengler JR, Bergeron É, Spiropoulou CF. Crimean-Congo hemorrhagic fever and expansion from endemic regions. Curr Opin Virol. 2019;34:70-8.
https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.12.002
41. Nasirian H. Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) seroprevalence: A systematic review and meta-analysis. Acta Trop. 2019;196:102-20.
https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.05.019
42. TC Sağlik Bakanlığı. Kirim Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA): TC Sağlık Bakanlığı. 2019 [https://cankirism.saglik.gov.tr/TR,133622/kirim-kongo-kanamali-atesi-kkka.html]. (Erişim tarihi: Ocak 2020)

43. Gözalan A, Akin L, Rolain J, ve ark. Tokat ili ve çevresinde saptanan olası bir salgının epidemiyolojik yönden değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2004;38(1-2):33-44.
44. TC Sağlik Bakanlığı. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi / Uyarı ve Önlemler: TC Sağlık Bakanlığı. 2019 [https://www.saglik.gov.tr/TR,55309/kirim-kongo-kanamali-atesi--uyari-ve-onlemler-09052019.html]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
45. Arab-Bafrani Z, Jabbari A, Mostakhdem Hashemi M, Arabzadeh AM, Gilanipour A, Mousavi E. Identification of the crucial parameters regarding the efficacy of ribavirin therapy in Crimean–Congo haemorrhagic fever (CCHF) patients: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother. 2019;74(12): 3432-9. https://doi.org/10.1093/jac/dkz328
46. Kanra G, Kara A. SARS: Şiddetli akut solunum yetmezliği sendromu. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2003;46:155-61.
47. Shi Z-L, Guo D, Rottier PJM. Coronavirus: epidemiology, genome replication and the interactions with their hosts. Virol Sin. 2016;31(1):1-2. https://doi.org/10.1007/s12250-016-3746-0
48. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel Coronavirus from patients with pneumonia in China. 2019. N Engl J Med. 2020;382(8):727-33. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017
49. Song Z, Xu Y, Bao L, et al. From SARS to MERS, Thrusting Coronaviruses into the spotlight. Viruses. 2019;11(1):59. https://doi.org/10.3390/v11010059
50. WHO. Update 31 - Coronavirus never before seen in humans is the cause of SARS: World Health Organization. 2003 [https://www.who.int/csr/sarsarchive/2003_04_16/en/]. (Erişim tarihi: Aralık2019)
51. WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. World Health Organization, 2004. [https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en//]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
52. Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. N Engl J Med. 2012;367(19):1814-20. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721
53. Assiri A, McGeer A, Perl TM, et al. Hospital outbreak of Middle East respiratory syndrome coronavirus. N Engl J Med. 2013;369(5):407-16. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1306742
54. Hunter JC, Nguyen D, Aden B, et al. Transmission of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus infections in healthcare settings, Abu Dhabi. Emerg Infect Dis. 2016;22(4):647-56. https://doi.org/10.3201/eid2204.151615
55. Korea Centers for Disease Control and Prevention. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus outbreak in the Republic of Korea, 2015. Osong Public Health Res Perspect. 2015;6(4):269-78. https://doi.org/10.1016/j.phrp.2015.08.006.
56. WHO. Middle East respiratory syndrome/MERS situation update, October 2019: World Health Organization. 2019 [http://www.emro.who.int/pandemic-epidemic-diseases/mers-cov/mers-situation-update-november-2019.html]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
57. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol. 2019;17(3):181-92. https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9
58. Del Rio C, Malani PN. 2019 Novel Coronavirus-Important information for clinicians. JAMA. 2020; (Baskıda) https://doi.org/10.1001/jama.2020.1490
59. WHO. Emergencies preparedness, response: World Health Organization. 2020 [https://www.who.int/csr/don/archive/year/2020/en/]. (Erişim tarihi: Şubat 2020)
60. ECDC. Novel coronavirus/Situation update-wordwide European Centre for Disease Prevention and Control 2020 [https://www.ecdc.europa.eu/en/geographical-distribution-2019-ncov-cases]. (Erişim tarihi: Şubat 2020)
61. TC Sağlik Bakanlığı. Yeni 2019-nCoV halka yönelik sıkça sorulan sorular: TC Sağlık Bakanlığı. 2020 [https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/bulasici-hastaliklar/2019-n-cov/liste/2019-ncov-sik-sorulan-sorular.html]. (Erişim tarihi: Şubat 2020)
62. Riou J, Althaus CL. Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020. Euro Surveill. 2020;25(4): 2000058. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.4.2000058.
63. Tian H. 2019-nCoV: new challenges from coronavirus. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. 2020;54(0):E001. https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2020.0001
64. WHO. Q&A on coronaviruses: World Health Organization. 2020 [https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses]. (Erişim tarihi: Şubat 2020)
65. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020;395(10223):497-506. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5
66. KLİMUD. Yeni koronavirüs ('Novel coronavirus' 2019-nCoV)-KLİMUD Klinik Viroloji Çalışma Grubu Bilgi Notu. 2020 [https://www.klimud.org/content/7788/

yeni-koronavirus-coronavirus-2019-ncov-salgini]. (Erişim tarihi: Şubat 2020)
67. CDC. Types of influenza viruses: Centers for Disease Control and Prevention. 2019 [https://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
68. Asha K, Kumar B. Emerging influenza D virus threat: What we know so far! J Clin Med. 2019;8(2):192. https://doi.org/10.3390/jcm8020192
69. Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, et al. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. Lancet. 2018; 391(10127):1285-300. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33293-2
70. Saxena SK, Haikerwal A, Kumar S, Bhatt ML. Introductory Chapter: Human influenza A virus infection-Global prevalence, prevention, therapeutics, and challenges. Influenza: Therapeutics and Challenges. 2018. https://doi.org/10.5772/intechopen.77350
71. CDC. The 2009 H1N1 Pandemic: summary highlights, April 2009-April 2010. Centers for Disease Control and Prevention. 2010 [https://www.cdc.gov/h1n1flu/cdcresponse.htm]. (Erişim tarihi: Ocak 2019)
72. Dawood FS, Jain S, Finelli L, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. N Engl J Med. 2009;360(25):2605-15. https://doi.org/10.1056/NEJMoa0903810
73. Pandemik İnfluenza Ulusal Hazırlık Planı. Ankara: TC Sağlık Bakanlığı/Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü; 2019.
74. Claas EC, de Jong JC, van Beek R, Rimmelzwaan GF, Osterhaus AD. Human influenza virus A/HongKong/156/97 (H5N1) infection. Vaccine. 1998;16(9-10):977-8. https://doi.org/10.1016/s0264-410x(98)00005-x
75. Peiris JSM, Yu WC, et al. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. Lancet. 2004;363(9409):617-9. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)15595-5
76. Hayvan Sağlığı Daire Başkanlığı. Türkiye'de Kuş Gribi. Hayvan Sağlığı Daire Başkanlığı. 2008 [http://www.kusgribi.gov.tr/TR/ Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6A A849816B2EF3F93D97214554F97]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
77. Public Health England. Risk assessment of avian influenza A(H7N9) – eighth update. Public Health England. 2020 [https://www.gov.uk/government/publications/avian-influenza-a-h7n9-public-health-england-risk-assessment/ risk-assessment-of-avian-influenza-ah7n9-sixth-update]. (Erişim tarihi: Ocak 2020)
78. Bailey ES, Choi JY, Fieldhouse JK, Borkenhagen LK, Zemke J, Zhang D, et al. The continual threat of influenza virus infections at the human-animal interface: What is new from a one health perspective? Evol Med Public Health. 2018;2018(1):192-8. https://doi.org/10.1093/emph/eoy013
79. Smith DB, Gaunt ER, Digard P, Templeton K, Simmonds P. Detection of influenza C virus but not influenza D virus in Scottish respiratory samples. J Clin Virol. 2016;74:50-3. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.11.036
80. White SK, Ma W, McDaniel CJ, Gray GC, Lednicky JA. Serologic evidence of exposure to influenza D virus among persons with occupational contact with cattle. J Clin Virol. 2016;81:31-3. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.05.017
81. Dolin R. Diagnosis of seasonal influenza in adults. Infectious Diseases ed: Wolters Kluwer; 2019. [https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-of-seasonal-influenza-in-adults]. (Erişim tarihi: Ocak 2020)
82. WHO. Immunization, Vaccines and Biologicals/ Influenza: World Health Organization. 2019 [https://www.who.int/immunization/diseases/influenza/en/]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
83. CDC. Influenza Antiviral Medications: Summary for Clinicians: Centers for Disease Control and Prevention. 2019 [https://www.cdc.gov/flu/professionals/antivirals/summary-clinicians.htm]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
84. Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1952;46(5):509-20. https://doi.org/10.1016/0035-9203(52)90042-4
85. MacNamara FN. Zika virus : A report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1954;48(2):139-45. https://doi.org/10.1016/0035-9203(54)90006-1
86. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. N Engl J Med. 2009;360(24):2536-43. https://doi.org/10.1056/NEJMoa0805715
87. Musso D, Gubler DJ. Zika virus. Clin Microbiol Rev. 2016;29(3):487-524. https://doi.org/10.1128/CMR.00072-15
88. Grard G, Caron M, Mombo IM, et al. Zika virus in Gabon (Central Africa)--2007: a new threat from Aedes albopictus? PLoS Negl Trop Dis. 2014;8(2):e2681-e. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002681
89. Freour T, Mirallie S, Hubert B, et al. Sexual transmission of Zika virus in an entirely asymptomatic

couple returning from a Zika epidemic area, France, April 2016. Euro Surveill. 2016;21(23):30254. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.23.30254
90. Song BH, Yun SI, Woolley M, Lee YM. Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation. J Neuroimmunol. 2017;308:50-64. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2017.03.001
91. Martines RB, Bhatnagar J, Keating MK, et al. Notes from the field: Evidence of Zika Virus infection in brain and placental tissues from two congenitally infected newborns and two fetal losses--Brazil, 2015. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2016;65(6):159-60. https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6506e1
92. Calvet G, Aguiar RS, Melo ASO, et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. Lancet Infect Dis. 2016;16(6):653-60. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00095-5
93. Hasan S, Saeed S, Panigrahi R, Choudhary P. Zika Virus: A global public health menace: A comprehensive update. J Int Soc Prev Community Dent. 2019;9(4):316-27. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_433_18
94. Slenczka W. Zika virus disease. Microbiol Spectr. 2016;4(3) https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EI10-0019-2016
95. Brasil P, Pereira JP Jr, Moreira ME, et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro. N Engl J Med. 2016;375(24):2321-34. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1602412
96. Çalman F, Öztürkcan SA, Karahan M. İnsanlarda zika virüsü enfeksiyonları ve korunma. İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2017(3):287-308.
97. Singh RK, Dhama K, Karthik K, et al. Advances in diagnosis, surveillance, and monitoring of Zika virus: An update. Front Microbiol. 2017;8:2677. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02677
98. Zİka Vİrüs Hastalığı Türkiye Rİsk Değerlendirmesi Raporu. Ankara: TC Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Sağlık Tehditleri Erken Uyarı ve Cevap Dairesi Başkanlığı. 2017.
99. Şahin O, Mihmanlı V. Zika virus. Microbiol Rev. 2016;29(3):487-524. https://doi.org/10.5222/otd.2016.029
100. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et al. Genetic and serologic roperties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. Emerg Infect Dis. 2008;14(8):1232-9. https://doi.org/10.3201/eid1408.080287
101. Uno N, Ross TM. Dengue virus and the host innate immune response. Emerg Microbes Infect. 2018;7(1):167. https://doi.org/10.1038/s41426-018-0168-0
102. WHO. Dengue and severe Dengue: World Health Organization. 2019 [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Dengue-and-severe-Dengue]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
103. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, et al. The global distribution and burden of Dengue. Nature. 2013;496(7446):504-7. https://doi.org/10.1038/nature12060
104. Brady OJ, Gething PW, Bhatt S, et al. Refining the global spatial limits of Dengue virus transmission by evidence-based consensus. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(8):e1760. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001760
105. Serter D. Present status of arbovirus sero-epidemiology in the Aegean region of Turkey. Zentralbl Bakteriol. 1980;9:155-61.
106. Ergunay K, Saygan MB, Aydogan S, ve ark. Orta/Kuzey Anadolu Bölgesi kan donörlerinde Dengue virusu ve Sarı Humma virusu seropozitifliğinin araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2010;44(3):415-24.
107. Ahmad Z, Poh CL. The conserved molecular determinants of virulence in Dengue virus. Int J Med Sci. 2019;16(3):355-65. https://doi.org/10.7150/ijms.29938
108. Chen LH, Wilson ME. Transmission of Dengue virus without a mosquito vector: nosocomial mucocutaneous transmission and other routes of transmission. Clin Infect Dis. 2004;39(6):e56-e60. https://doi.org/10.1086/423807
109. Basurko C, Matheus S, Hilderal H, et al. Estimating the risk of vertical transmission of Dengue: A prospective study. Am J Trop Med Hyg. 2018;98(6):1826-32. https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0794
110. Muller DA, Depelsenaire ACI, Young PR. Clinical and laboratory diagnosis of Dengue virus infection. J Infect Dis. 2017;215(suppl_2):S89-S95. https://doi.org/10.1093/infdis/jiw649
111. Simmons CP, Chau TNB, Thuy TT, et al. Maternal antibody and viral factors in the pathogenesis of Dengue virus in infants. J Infect Dis. 2007;196(3):416-24. https://doi.org/10.1086/519170
112. WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: World Health Organization; 2009.[https://apps.who.int/iris/handle/10665/44188]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)
113. Sridhar S, Luedtke A, Langevin E, et al. Effect of dengue serostatus on Dengue vaccine safety and efficacy. N Engl J Med. 2018;379(4):327-40. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1800820
114. WHO. West Nile virus: World Health Organization. 2017 [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus]. (Erişim tarihi: Kasım 2019)

115. Mamak N, Bilgili İ. Batı Nil virusu enfeksiyonu. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2019;1(2):31-8.
116. Clark MB, Schaefer TJ. West Nile Virus. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPerals Publishing, 2019.
117. Kalaycioglu H, Korukluoglu G, Ozkul A, et al. Emergence of West Nile virus infections in humans in Turkey, 2010 to 2011. Euro Surveill. 2012;17(21): 20182.
118. CDC. West Nile Virus; Final Cumulative Maps & Data for 1999–2018: Centers for Disease Control and Prevention. 2019 [https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/cumMapsData.html#one]. (Erişim tarihi: Kasım 2019)
119. CDC. Surveillance and disease data for West Nile fever/Weekly updates West Nile virus transmission season. Centers for Disease Control and Prevention. 2019 [https://www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc]. (Erişim tarihi: Kasım 2019)
120. CDC. West Nile Virus/Symptoms, Diagnosis, & Treatment Centers for Disease Control and Prevention. 2018 [https://www.cdc.gov/westnile/healthcareproviders/healthCareProviders-Diagnostic.html]. (Erişim tarihi: Kasım 2019)
121. WHO. Emergencies preparedness, response: World Health Organization. 2019 [https://www.who.int/csr/don/archive/year/2019/en/]. (Erişim tarihi: Aralık 2019)

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(3):134-40
doi:10.5222/TMCD.2020.134

Araştırma / *Research Article*

Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* İzolatlarının 2015-2018 Yılları Arasındaki Antibiyotik Direnci

Antimicrobial Resistance of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolates Between the Years of 2015-2018

Yeliz Tanrıverdi Çaycı, İlknur Bıyık, Canberk Çınar, Asuman Birinci

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun

ÖZ

Amaç: *Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen Enterobacteriaceae izolatları belirlenip, bu ajanlara karşı oldukça etkili olan karbapenemlere karşı oluşan 3 yıllık süre içindeki antibiyotik direnç değişimi bulmak amaçlanmıştır.*

Yöntem: *Laboratuvara 2015-2018 yılları arasında gönderilmiş olan klinik örneklerden izole edilmiş toplam 11.264 Enterobacteriaceae üyesi izole edilmiştir. Klinik örneklerin %5 koyun kanlı agar ve EMB agar besiyerlerine ekimi yapılmıştır. Bakteri türlerinin tanımlanmasında Vitek MS (BioMérieux, Fransa) ve bakterilerin antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde Vitek2 (BioMérieux, Fransa) Compact otomatize sistemleri kullanılmıştır.*

Bulgular: *Çalışmaya, 13 Haziran 2015 ve 13 Haziran 2018 yılları arasında gönderilmiş olan klinik örnekler retrospektif olarak değerlendirilerek elde ettiğimiz toplam 11.264 Enterobacteriaceae üyesinden 518 (%4.59)'inin karbapenem dirençli izolat olduğu belirlenmiş ve yıllara göre dağılımı belirlenmiştir. 2015'te direnç oranı %4.62, 2018'de ise bu oran %5.79'dur. İzolatların gönderildiği kliniklere ve örnek türlerine göre dağılımına bakıldığında, en yüksek sıklığın %71.62 ile Dâhiliye Servisinde ve %52.32 ile idrar örneklerinde olduğu belirlenmiştir.*

Sonuç: *Çalışmamızda, karbapenem direncinin en sık olarak Klebsiella türlerinde olduğu saptanmıştır. Karbapenem dirençli izolatlarda amikasin direncinin yüksek olduğu görülmüştür. Direnç durumunun hastanelerde aktif sürveyansla takip edilmesi uygun tedavi seçeneğinin belirlenmesi açısından önem göstermektedir.*

Anahtar kelimeler: *Enterobacteriaceae, karbapenem, direnç*

ABSTRACT

Objective: *The aim of this study was to determine the changes in carbapenem resistance of Enterobacteriaceae isolated from the samples sent to Ondokuz Mayıs University Hospital Medical Microbiology Laboratory in a 3-year period.*

Method: *A total of 11264 Enterobacteriaceae strains isolated from the clinical samples sent to the laboratory between 2015-2018 were assessed. Clinical specimens were grown on 5% sheep blood agar and EMB agar media. Vitek MS (BioMérieux, France) automated system was used for the identification of bacterial species and Vitek2 Compact (BioMérieux, France) automated system for the determination of antibiotic susceptibility of bacteria.*

Results: *Growth of different clinical specimens sent between 13 June 2015 and 13 June 2018 were evaluated retrospectively. Of the 11264 Enterobacteriaceae isolates, 518 (4.59%) were found to be carbapenem resistant. It was determined that the frequency of resistance was 4.62% in 2015 and 5.79% in 2018. When the distribution of the isolates according to the clinics and sample types was examined, the highest rate was identified in the internal medicine department with 71.62% and in urine samples with 52.32%.*

Conclusion: *In our study carbapenem resistance was mostly identified in Klebsiella species. Amikacin susceptibility was found to be higher in carbapenem- resistant isolates. It is important to monitor the resistance status with active surveillance in hospitals in order to determine the appropriate treatment option.*

Keywords: *Enterobacteriaceae, carbapenem, resistance*

Alındığı tarih / Received:
22.01.2019 / 22.January.2019

Kabul tarihi / Accepted:
24.08.2019 / 24.August.2019

Yayın tarihi / Publication date:
30.09.2020 / 30.September.2020

ORCİD Kayıtları

Y. T. Çaycı 0000-0002-9251-1953
İ. Bıyık 0000-0002-3247-883X
C. Çınar 0000-0002-8355-7749
A. Birinci 0000-0002-8653-4710

✉ yeliztanriverdi@gmail.com

Atıf: Tanrıverdi Çaycı Y, Bıyık İ. Çınar C. Birinci A. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının 2015-2018 yılları arasındaki antibiyotik direnci. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):134-40.

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

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

GİRİŞ

Gram-negatif bakterilerdeki antibiyotik direncinin zaman geçtikçe artış gösterdiği ve bu nedenle tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerinin birkaç grupla sınırlandırıldığı belirlenmiştir. Tedavi seçeneklerinin azalmasına yol açtığı için içsel direnç ve çoklu ilaç direnci *Enterobacteriaceae* nedenli enfeksiyonları önemli bir sorun hâline gelmiştir[1,2]. *Enterobacteriaceae*, insan ve hayvanların bağırsak florası ve klinik örneklerden patojen olarak sıkça izole edilen heterojen bir bakteri ailesidir[3]. *Enterobacteriaceae* üyeleri ve benzer bakteriler ile gelişen enfeksiyonların tedavisi, bakterinin antibiyotik duyarlılığına göre planlanmalıdır. Genel olarak çok sayıda antimikrobiyal ilaç (Örn. bazı penisilin ve sefalosporinler, aminoglikozidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, kinolonlar ve sülfanomidler) potansiyel olarak etkilidir. Özgül seçim, genellikle antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına bağlıdır[4].

Karbapenemler (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) genişlemiş spektrumlu betalaktamaz (GSBL) üreten mikroorganizmalar için oldukça etkili, sıklıkla başvurulan birinci seçenek antibiyotiklerdir. Ancak, yıllar içerisinde GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin neden olduğu enfeksiyonların artmasına paralel olarak karbapenemlerin sıklıkla kullanılması beraberinde karbapenem direnç oranlarında artışa neden olmuştur[5-7].

Karbapenem antibiyotikleri betalaktamlar içerisinde, bakterisidal, etkisi hızlı ortaya çıkan geniş antibakteriyel spektrumlarıyla aerop ve anaeroplar tarafından oluşturulan enfeksiyonlarda yaygın kullanılırlar. Bu grup, penisilin bağlayan proteinlere kuvvetli bağlandığı için yapısı ve boyutlarından dolayı porin kanallarından geçerek bakteri hücresine geçişleri çok iyidir[8,9]. Karbapenemaz pozitif bakterilerde, karbapenemler, penisilinler, sefalosporinlere direnç gelişmesi ile beraber, aminoglikozid ve kinolon direncini kodlayan genler de taşınabilmektedir[10].

Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direncine neden olan en önemli mekanizma karbapenemleri hidroliz eden bir karbapenemaz üretimidir. Ancak, son yıllarda karbapenemlerin tedavide dış membran proteinlerinde (OMP) meydana gelen nokta mutasyonlarının neden olduğu karbapenem direncinde de artma gösterilmektedir. Özellikle *E. coli*'de OmpF ve OmpC, *K. pneumoniae*'de OmpK35 ve OmpK36 porinlerinde meydana gelen mutasyonların karbapenem direncinde önemli olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, yapılan çalışmalarda GSBL veya AmpC beta laktamazların aşırı üretimine ilaveten OMP'lerde mutasyon meydana gelmesinin yüksek düzey karbapenem direncine yol açtığı gösterilmiştir[11-13].

Karbapenem direnci *Enterobacteriaceae* üyelerinde çoğunlukla karbapenamaz özelliği olan beta-laktamaz üretimiyle gelişmektedir. Karbapenemazlar, karbapenemlerin hidrolizine yol açar, bunun sonucunda karbapenem minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri yükselir. Karbapenem direncinde, diğer mekanizmalar sınırlı olup, bunlar dışa atım pompalarında aktivasyon, impermeabilite ve buna eşlik eden AmpC veya GSBL üretimidir[1].

Karbapenem direnci *Enterobacteriaceae* üyelerinde ender olmasına rağmen, son zamanlarda karbapeneme dirençli veya karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* ile gelişen enfeksiyonlar önem kazanmaya başlamıştır[14-16]. Çeşitli karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) türlerinin, epidemiyolojik özellikleri bölgeler arasında değişse de dünya üzerinde gittikçe artan bir dağılım göstermektedir. Karbapenemaz oluşturan bu bakterilere bağlı enfeksiyonların nasıl tedavi edilecekleri büyük ölçüde belirsiz olmakla birlikte, mortaliteleri yüksektir[17].

Çalışmamızda farklı klinik örneklerden izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarında karbapenem grubu antibiyotiklere karşı 3 yıllık süre içindeki direnç değişiminin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji

Laboratuvarı'na 2015-2018 arasında gönderilmiş olan klinik örneklerden izole edilmiş toplam 11.264 *Enterobacteriaceae* üyesi değerlendirilmiştir. Klinik örneklerin %5 koyun kanlı agar ve EMB agar besiyerlerine ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan örnekler, 37°C 24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilmiştir. Bakteri türlerinin tanımlanmasında Vitek MS (BioMérieux, Fransa) ve bakterilerin antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde Vitek2 Compakt (BioMérieux, Fransa) otomatize sistemleri kullanılmıştır. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesinde EUCAST kriterleri kullanılmıştır. Bu araştırma Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen toplam 11.264 *Enterobacteriaceae* üyesinden 518 (%4.59)'inin karbapenem dirençli olduğu belirlenmiş ve en sık görülen cinsin %71.43 ile *Klebsiella* spp.'olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

Elde ettiğimiz verilere göre karbapenem direncinin yıllara göre dağılımı Tablo 2'de sunulmuş olup, 2015'te direnç sıklığının %4.62 (n=107), 2018'de ise bu sıklığın %5.79 (n=92) olduğu belirmiştir. En çok izole edilen (Tablo 1) cins olan *Klebsiella* spp.'nin karbapenem direncinin yıllara göre dağılımında ise 2018 yılında, 2017 yılına göre %6.34'lük bir artış olduğu ve diğer yıllarda ise küçük oranlarda azalmanın meydana geldiği belirlenmiştir (Tablo 3).

İzolatların gönderildiği kliniklere göre dağılımına bakıldığında, %71.62 dâhili ve %14.48 cerrahi kliniklerinden gönderilmiş oldukları gözlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 1. Çalışmaya dâhil edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin dağılımı.

Bakteriler	n (%)
Klebsiella spp.	370 (71.43)
Enterobacter spp.	17 (3.28)
Proteus spp.	9 (1.74)
Escherichia coli	8 (1.54)
Serratia spp.	6 (1.16)
Diğer	108 (20.84)
Toplam	518 (4.59)

Tablo 4. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* üyelerinin kliniklere dağılımı.

Klinikler	n (%)
Dâhili Klinikler	371 (71.62)
Cerrahi Klinikler	75 (14.48)
Yoğun Bakım Klinikleri	38 (7.34)
Pediatri Klinikleri	34 (6.56)
Toplam	518 (4.59)

Tablo 2. *Enterobacteriaceae* (n=11264) üyelerinde karbapenem direncinin yıllara göre dağılımı.

Yıllık	İmipenem n (%)	Meropenem n (%)	Ertapenem n (%)	Toplam
2015	103 (4.44)	107 (4.62)	254 (10.97)	2315
2016	158 (4.30)	176 (4.79)	333 (9.08)	3667
2017	103 (2.78)	143 (3.87)	348 (9.41)	3695
2018	58 (3.65)	92 (5.79)	185 (11.65)	1587

Tablo 3. *Klebsiella* spp.'de (2865) karbapenem direncinin yıllara göre dağılımı.

Yıllık	İmipenem n (%)	Meropenem n (%)	Ertapenem n (%)	Toplam
2015	92 (14.28)	101 (15.68)	210 (32.60)	644
2016	102 (11.53)	135 (15.27)	222 (25.11)	884
2017	40 (4.31)	75 (8.08)	235 (25.32)	928
2018	25 (6.11)	59 (14.42)	125 (30.56)	409

Tablo 5. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* üyelerinin örnek türüne dağılımı.

Örnek türü	n (%)
İdrar	271 (52.32)
Kan	96 (18.53)
Solunum yolu	68 (13.13)
Yara kültürü	36 (6.95)
Steril vücut sıvısı	33 (6.37)
Abse	9 (1.74)
Sürüntü	4 (0.74)
BOS	1 (0.19)
Toplam	518 (4.59)

Bu izolatların örneklere göre dağılımına bakıldığında en sık %52.32 ile idrar ve %18.34 ile kan örneklerinden izole edildikleri belirlenmiştir (Tablo 5).

Çalışmadaki karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında en yüksek direnç oranları seftriakson ve piperasilin-tazobaktama (%99.72) karşı saptanmıştır. *Enterobacter* spp. izolatlarında ise seftriakson (%100) direnci en yüksek oranda saptanırken, *E. coli* izolatlarında en yüksek direnç oranı ise seftazidim, seftriakson ve piperasilin tazobaktama (%100) karşı saptanmıştır (Tablo 6). Serratia spp. ve *Enterobacter* spp. izolatları amoksisilin-klavulonik asite karşı doğal dirençlidirler[1].

TARTIŞMA

Gram-negatif bakterilerde çoklu antimikrobiyal ajanlara direnç, tedavide zorluklara yol açmaktadır. Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) kısa süre önce KDE acil antimikrobiyal direnç tehdidi olarak belirlemiştir[18]. Ayrıca bu antibiyotikler 2000 sonlarına kadar Gram-negatif bakterilerin tedavisinde direnç ve geniş spektrum avantajlarıyla kullanılmışlardır[19]. KDE yakın zamana kadar az görülürken son zamanlarda karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* ile gelişen enfeksiyonların önemi artmıştır[14,15,20]. Karbapenem direncini artıran çeşitli beta-laktamazlar ilk olarak karbapeneme dirençli *Serratia marcescens* ve *P.aeruginosa*'da tanımlanmış olup, sonra diğer Gram-negatif basillere yayılım göstermiştir[21]. Fakat 1996'dan beri, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa'dan yapılan bildirimlerden enterik Gram-negatif bakterilerde metallo-beta-laktamaz (MBL) ve *K. pneumoniae* karbapenemaz (KPC) aracılı karbapenem direncinin görüldüğü ve dünyada yayılmaya başladığını belirlemişlerdir[14]. Karbapenem direnci ülkemizdeki ilk kez 2001'de *K. pneumoniae* 11.978 kökeninin bildirilmesi ile ortaya çıkmış olup, takip eden çalışmalarda, MBL (VIM, IMP, NDM-1), KPC ve özellikle OXA karbapenemazları artmaya devam etmiştir[22,23]. Avrupa ülkelerinde ise karbapenemaz sorunu, MBL'ların varlığı ile başlamakla birlikte, ülkemizden köken alan OXA-48 karbapenemaz endemik hâle gelmiştir[24].

Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* suşları, mortalitesi yüksek, yoğun ve çeşitli kombine antibiyoterapiyle tedavi edilmeye çalışılan enfeksiyonlara neden olmaktadırlar[25,26]. Yapılan çalışmalar sonucunda, karbapenemaz üretimi enterik bakterilerden

Tablo 6. Farklı klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının antibiyotiklere direnç dağılımı.

Antibiyotikler	*Klebsiella* spp. (N=370) n (%)	*Enterobacter* spp. (N=17) n (%)	*Proteus* spp. (N=9) n (%)	*Escherichia coli* (N=8) n (%)	*Serratia* spp. (N=6) n (%)	Diğer (N=108) n (%)
Amikasin	104 (28.10)	10 (58.82)	3 (33.33)	2 (25)	1 (16.66)	13 (12.03)
Amoksisilin klavulanat	189 (51.08)	17 (100)	3 (33.33)	3 (37.5)	6 (83.33)	36 (33.33)
Seftazidim	364 (98.37)	15 (88.23)	9 (100)	8 (100)	5 (83.33)	108 (100)
Gentamisin	189 (51.08)	14 (82.35)	3 (33.33)	5 (62.5)	3 (50)	5 (4,62)
Piperasilin/Tazobaktam	369 (99.72)	7 (41.17)	7 (77.77)	8 (100)	6 (100)	98 (90.74)
Sefepim	299 (80.81)	11 (64.70)	7 (77.77)	6 (75)	4 (66.66)	27 (25)
Seftriakson	369 (99.72)	17 (100)	9 (100)	8 (100)	5 (83.33)	106 (98.14)

Diğer:Citrobacter spp., Hafnia alvei, Pantoea agglomerans, Pantoea dispersa, Pantoea spp., Providencia rettgeri, Providencia spp., Providencia stuartii, Raoultella ornitholytica, , Raoultella planticola, Raoultella terrigena, Salmonella enteritidis, Salmonella group, Salmonella paratyphi A, Salmonella spp., Shigella sonnei, Morganella spp.

en sık *K. pneumoniae* ve *E. coli*'de görüldüğü saptanmıştır[24]. Gupta ve ark.'nın[27], yaptıkları bir çalışmada, 2006-2007 yılları arasındaki karbapenem direnç oranının *K. pneumoniae* izolatlarında %10.6 ve *E. coli* izolatlarında ise %4.0 olduğunu ulusal sağlık güvenliği ağına (NHSN) rapor etmişlerdir. Wiener-Well ve ark.'nın[28] İsrail'deki bir hastanede yatan hastalarla yaptıkları bir çalışmada, %5.4'lük bir karbapenem dirençli *K. pneumoniae* taşıma oranını bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da, 11.264 *Enterobacteriaceae* izolatlarından en sık %71.43 (n=370) ile *Klebsiella* spp.'lerinin izole edildiği ve karbapenem dirençli *Klebsiella* spp.'lerinin direnç oranının ise %12.91 (n=370) olduğu belirlenmiştir.

Kaygusuz ve ark.'nın [29] (2001), yaptıkları bir çalışmada, amoksisilin/klavulanata direnç oranının *E. coli, Proteus* spp., *Enterobacter* spp.ve *Klebsiella* spp.'de %21.5, %18.8, %27.5 ve %17.1 olduğu çalışmamızda ise sırasıyla %50, %33.33, %52.94, %51.08 olduğu görülmüştür.

Kizirgil ve ark.'nın[30] 2005'de ve Yetkin ve ark.'nın[31] 2006'da, karbapenem olarak yalnızca meropenemi kullanarak yaptığı çalışmaların sonuçlarına göre, en etkili antibiyotiğin meropenem olduğu saptanmıştır. Kuzucu ve ark.'nın[20] 2011'de yaptıkları çalışmada, GSBL pozitif *E. coli* ve *Klebsiella* spp.'nin imipenem ve meropenem duyarlılığını %99.3, ertapenem duyarlılığını %98.6 olduğunu belirlemişlerdir. Castanheira ve ark.[32] *Enterobacteriaceae* ile yaptıkları çalışmada, KDE oranının %2.2 (n=97) olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızdaki karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* oranının ise %4.59 (n=518) olarak bulunmuştur.

Karakullukçu ve ark.'nın[33] 2018'de yaptıkları bir çalışmada, yatan hastalardan elde edilen 3.323 rektal sürüntü örneğinde izole edilen KDE'lere yönelik alternatif tedavi seçeneklerini (isepamisin, minosiklin ve kloramfenikol duyarlılıkları) değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada, toplam 84 KDE'nin 80 (%95.2)'i isepamisine, 77 (%91.6)'si kloramfenikole ve 14 (%16.6)'ü minosikline duyarlı olduğunu saptamıştır. KDE'lere bağlı enfeksiyonların tedavisinde isepamisin (duyarlılık oranı %95.2) ve kloramfenikol (duyarlılık oranı %91.6) gündeme gelebilecek antibiyotikler olabilmektedir[33]. Över ve ark.[34] dafarklı kliniklerden toplanan 696 Gram-negatif enterik bakteride, isepamisinin %70.3 duyarlılık oranıyla en etkili aminoglikozid olduğunu saptamışlardır. Ancak ülkemizde isepamisinin bulunmaması önemli kısıtlılıklardan biri olmaktadır[33].

Enterik bakterilerde artan karbapenem direnci, eski bir tedavi seçeneği olan polimiksinleri (kolistin ve polimiksin B) neredeyse tek seçenek hâline getirmiştir[35]. Ayrıca tedavide diğer bir seçenekte tigesiklindir. Fakat tigesiklinin bakteriyemiyle seyreden enfeksiyonların tedavisinde yeri bulunmamaktadır. Benzer şekilde, kolistinin önemli yan etkilerinin olması ve bakterilerde kolistin direncine neden olan *mcr-1* gen mutasyonunun bildirilmesi, kolistinin KDE enfeksiyonlarındaki kullanımını kısıtlamaktadır. Yine *Morganella* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp. ve *Serratia* türlerinin kolistine doğal dirençli olması da bu etkenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanımını kısıtlamaktadır[1,35-37]. Polimiksin B ise, geçmişte nefrotoksisite ve nörotoksisite nedeniyle kullanılmayan bu grup, artan karbapenem direnci nedeniyle yaygın kullanılmaya başlanmıştır. Fakat polimiksinlerin MİK değerlerinin yükselişi son yıllarda dikkat çekerek, KDE enfeksiyonlarının tedavisinde yeni antibiyotik rejimlerine gereksinim duyulmaktadır[35]. Son yapılan çalışmalardan biri olan Toptan ve Altındiş'in[38] çalışmasında, meropenem-vaborbaktam kombinasyonunun karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* üyelerine etkili, klinik olarak komplike idrar yolu enfeksiyonu/pyelonefrite karşı etkinliği kanıtlanmıştır. Ventilatör ilişkili pnömoni üzerine çalışmaları devam eden geniş spektrumlu bir antibiyotiktir ve özellikle karbapenemlere dirençli bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonlardaki başarısı, bu hasta grubunda kolistin gibi yan etkileri çok olan ve son çare olarak kullanılan antibiyotiklere tedavi alternatifi olması yönünden oldukça önemlidir[38]. Ayrıca karbapenem dirençli izolatlara etkili olduğu bildirilen seftazidim-avibaktam, yaşamı tehdit eden

KDE enfeksiyonlarının tedavisi için ufukta görünen çözümlerden birisi olabilir[39]. Direnç mekanizmalarının araştırılması, antibiyotik duyarlılık raporu için gerekli görülmese de halk sağlığı ve enfeksiyonların kontrolü açısından önem kazanmıştır[40].

Çalışmamızda, karbapenem dirençli suşların diğer antibiyotiklere direnç oranını incelediğimizde, kolistinin karbapenem dirençli suşlarda oldukça etkili olduğu; yine aminogliozidlerden özellikle amikasinin de daha etkili olduğu bulunmuştur. Karbapenem direncinin giderek yaygınlaşması nedeniyle aktif sürveyans ile karbapenem ve diğer antimikrobiyallere direnç oranının takip edilmesinin tedavi modalitelerinin belirlenmesi açısından yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. EUCAST uzman kuralları. [https://www.tmconline.org/userfiles/file/EUCAST_Uzman_Kurallari_Surum_3_1.pdf] (Erişim tarihi: 01 Nisan 2018)
2. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Emerg Infect Dis. 2011;17(10):1791-8. https://doi.org/10.3201/eid1710.110655
3. Kılıç Ü, Demiray T, Altındiş M. Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceace* İzolatlarının saptanmasında fenotipik ve genotipik metotlar. Ankem Derg. 2016;30(2):62-75. https://doi.org/10.5222/ankem.2016.062
4. Levinson W. Tıbbi mikrobiyoloji ve immünoloji. Şener B, Esen B. (Çev.Editörleri). Güneş Kitabevi; 2018.
5. Gür D, Hascelik G, Aydin N, et al. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. J Chemother. 2009;21(4):383-9. https://doi.org/10.1179/joc.2009.21.4.383
6. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. Int J Med Microbiol. 2010;300(6):371-9. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.04.005
7. Altınkanat Gelmez G, Söyletir G. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *Enterobacteriaceae*'larda mutant engelleme konsantrasyonunun saptanması. Experimed. 2018;8(1):1-6. https://doi.org/10.26650/experimed.2018.377256
8. Köseoğlu Eser Ö, Altun Uludağ H, Ergin A, Boral B, Şener B, Hasçelik G. İnvazif enfeksiyonlara neden olan GSBL pozitif *Enterobacteriaceae* izolatlarında karbapenem direnci. Mikrobiyol Bul. 2014;48(1):59-69. https://doi.org/10.5578/mb.7181
9. Paterson DL. Resistance in Gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. Am J Infect Control. 2006; 34(5Suppl1):S64-73. https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.238
10. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G, Athanassopoulou P, Michalopoulos A. Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria. BMC Infect Dis. 2005;5:24. https://doi.org/10.1186/1471-2334-5-24
11. Oteo J, Delgado-Iribarren A, Vega D, et al. Emergence of imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* during therapy. Int J Antimicrob Agents. 2008;32(6): 534-7. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.06.012
12. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm. Trends Mol Med. 2012;18(5):263-72. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.03.003
13. Song W, Suh B, Choi JY, et al. In vivo selection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* by OmpK36 loss during meropenem treatment. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009;65(4):447-9. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.08.010
14. Michalopoulos A, Virtzili S, Rafailidis P, Chalevelakis G, Damala M, Falagas ME. Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in critically ill patients: a prospective evaluation. Clin Microbiol Infect. 2010;16(2):184-6. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02921.x
15. Pillai DR, Melano R, Rawte P, et al. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, Canada. Emerg Infect Dis. 2009;15(5):827-9. https://doi.org/10.3201/eid1505.081536
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2013;62(9):165-70.
17. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment options for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. Open Forum Infect Dis. 2015;2:ofv050. https://doi.org/10.1093/ofid/ofv050
18. CDC. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Centers for Disease Control and Prevention. http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf [Erişim tarihi: 10 Nisan 2018]
19. Yamazhan T. Karbapenemazlar: Tedavi yaklaşımları. Ankem Derg. 2014;28(Ek 2):E77-80.
20. Kuzucu Ç, Yetkin F, Görgeç S, Ersoy Y. Genişlemiş

spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarının ertapenem ve diğer karbapenemlere karşı duyarlılıklarının araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2011;45(1):28-35.
21. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. N Engl J Med. 2005;352(4):380-91. https://doi.org/10.1056/NEJMra041359
22. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(1):15-22. https://doi.org/10.1128/aac.48.1.15-22.2004
23. Carrer A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(8): 2950-4. https://doi.org/10.1128/AAC.01672-07
24. Gülmez D, Woodford N, Palepou MFI, et al. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outermembrane protein loss. Int J Antimicrob Agents. 2008;31(6):523-6. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.01.017
25. Falagas ME, Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, Vardakas KZ. Deaths attributable to carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* infections. Emerg Infect Dis. 2014;20(7):1170-5 https://doi.org/10.3201/eid2007.121004
26. Nabarro LE, Veeraraghavan B. Combination therapy for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: increasing evidence, unanswered questions, potential solutions. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015;34(12):2307-11. https://doi.org/10.1007/s10096-015-2486-7
27. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: epidemiology and prevention. Clin Infect Dis. 2011;53(1):60-7. https://doi.org/10.1093/cid/cir202
28. Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon AM, et al. Carriage rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospitalised patients during a national outbreak. J Hosp Infect. 2010;74(4):344-9. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.07.022
29. Kaygusuz S, Apan TZ, Kılıç D. Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonu etkeni Gram-negatif bakterilerde çeşitli antibiyotiklere direnç. Ankem Derg. 2001;15(4):753-759.
30. Kizirgil A, Yakupoğulları Y, Şenol FF, Aşçı Toraman Z. Kan kültürü örneklerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten enterik basillerin prevalansı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. Infeks Derg. 2005;19(1):111-4.
31. Yetkin G, Kuzucu Ç, Çalışkan A, Ay S. Kan kültürlerinde üreyen *Escherichia coli*'lerin antibiyotik duyarlılıkları, GSBL oranları ve hastane birimlerine göre dağılımı. İnönü Üniv Tıp Fak Derg. 2006;13(3):147-50.
32. Castanheira M, Davis AP, Mendes RE, Serio AW, Krause KM, Flamm RK. In vitro activity of plazomicin against Gram-Negative and Gram-Positive isolates collected from United States hospitals and comparative activity of aminoglycosides against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* and isolates carrying carbapenemase genes. Antimicrob Agents Chemother. 2018;62(8):00313-18. https://doi.org/10.1128/AAC.00313-18
33. Karakullukçu A, Borsa BA, Kuşkucu MA, ve ark. Karbapeneme dirençli enterik bakterilerde isepamisin, kloramfenikol ve minosiklin duyarlılığının araştırılması. Klimik Derg. 2018;31(1):50-5. https://doi.org/10.5152/kd.2018.13
34. Över U, Gür D, Ünal S, et al. The changing nature of aminoglycoside resistance mechanisms and prevalence of newly recognized resistance mechanisms in Turkey. Clin Microbiol Infect. 2001;7(9):470-8. https://doi.org/10.1046/j.1198-743x.2001.00284.x
35. Livermore DM, Warner M, Mushtaq S, Doumith M, Zhang J, Woodford N. What remains against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomycin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. Int J Antimicrob Agents. 2011;37(5):415-9. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.01.012
36. Arias CA, Murray BE. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century-a clinical super-challenge. N Engl J Med. 2009;360(5):439-43. https://doi.org/10.1056/NEJMp0804651
37. Du H, Chen L, Tang YW, Kreiswirth BN. Emergence of the mcr-1 colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. Lancet Infect Dis. 2016;16(3):287-8. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00056-6
38. Toptan H, Altındiş, M. Bir ilaç monografi: Meropenem-Vaborbaktam. J Biotechinol & Strategic Health Res. 2018;2(1):50-7.
39. Shirley M. Ceftazidime-avibactam: A review in the treatment of serious Gram-negative bacterial infections. Drugs. 2018;78(6):675-92. https://doi.org/10.1007/s40265-018-0902-x
40. Kılıç Ü, Demiray T, Altındiş M. Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarının saptanmasında fenotipik ve genotipik metotlar. Ankem Derg. 2016;30(2):62-75. https://doi.org/10.5222/ankem.2016.062

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(3):141-7
doi:10.5222/TMCD.2020.141

Araştırma / *Research Article*

Olea europaea Bitki Ekstrelerinin Türkiye'den Elde Edilmiş *Leishmania tropica* İzolatına Antileishmanial Etkisinin Araştırılması

The Investigation of Antileishmanial Activity of Olea europaea Plant Extracts Against Leishmania tropica Isolates from Turkey

Ahmet Özbilgin*, İbrahim Çavuş*, Çağlar Çelebi, Morteza Haghi*, Cumhur Gündüz****
Hüsniye Kayalar***

*Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye
**Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
***Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Dünyada yaklaşık 1 milyar insanın leishmaniasis riski altında olduğu ve leishmaniasis bildirimi yapan 200 ülke olduğu Dünya Sağlık Örgütü tarafından bildirilmektedir. En sık görülen formu olan kutanöz leishmaniasis tedavisinde ülkemizde meglumin antimonat, sodyum stiboglukonat ve son yıllarda amfoterisin B ilaçları kullanılmaktadır. Kullanılan ilaçların toksik etkisinin yüksek ve maliyetli olması yanı sıra son yıllarda meglumin antimonat ve sodyum stiboglukonat ilaçlarına karşı direnç geliştiği bildirilmektedir. Leishmaniasis tedavisinde kullanılmak üzere yeni ilaç adaylarına gereksinim vardır. Çalışmamızda, Olea europaea bitkisinin yaprak ve meyve kısımlarının su, sulu etanol ve kloroform çözücülerinde hazırlanmış ekstrelerinin Leishmania tropica parazitine karşı duyarlılığının in vitro araştırılması amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'nda MHOM/TR/2012/CBCL-LT kodu verilerek korunan Leishmania tropica izolatının Olea europaea bitkisinin ekstrelerine karşı in vitro olarak antileishmanial aktivitesi XTT ve hemositometre yöntemiyle araştırılmıştır. Ayrıca bitki ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir.*
Bulgular: *Antileishmanial aktivitenin değerlendirilmesinde yaprak su ekstresinin IC_{50} değeri 6.77 mg/kg, yaprak sulu etanol ekstresinin IC_{50} değeri 2.45 mg/kg, yaprak kloroform ekstresinin IC_{50} değeri 6.50 mg/kg, meyve sulu etanol ekstresinin IC_{50} değeri 4.16 mg/kg ve meyve kloroform ekstresinin IC_{50} değeri 0.23 mg/kg olarak belirlenmiş ve meyve su ekstresinin antileishmanial etkisinin istatiksel olarak anlamlı diğerlerinin ise anlamsız olduğu görülmüştür. Sonuçların ilaçsız kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılmasına göre meyve klorofm ekstresinin ($p<0.05$) antileishmanial etki gösterdiği diğer ekstrelerinin anlamsız olduğu görülmüştür ($p>0.05$). Olea europaea bitkisinin yaprak su ekstresi (LC_{50} 58.45 µg/ml) dışındaki ekstreler sitotoksik aktivite göstermemiştir.*
Sonuç: *Bu çalışmamızın sonucunda, Olea europaea bitkisinin meyve kloroform ekstresinin antileishmanial aktivite göstermesi projenin amacı olan antileishmanial etken maddeler saptanması konusunda önemli ve ümit verici bir gelişme olarak değerlendirilmektedir.*

Anahtar kelimeler: *Olea europaea, kutanöz leishmaniasis, direnç testleri, antileishmanial, Türkiye*

ABSTRACT

Objective: *Meglumine antimonate, sodium stibogluconate and amfoterisin B are used in the treatment of cutaneous leishmaniasis which is the most common form in Turkey. Beside being highly toxic and costly, Leishmania parasites also have been reported to have developed resistance against meglumine antimonate and sodium stibogluconate in recent years. In this study, we aimed to investigate the in vitro susceptibility of water, aqueous ethanol and chloroform extracts of the leaves and fruits of Olea europaea against Leishmania tropica parasites.*
Method: *In vitro antileishmanial activities of Olea europaea plant extracts against Leishmania tropica isolates obtained from Manisa Celal Bayar University Faculty of Medicine with MHOM/TR/2012/CBCL-LT code, were investigated by using XTT and hemocytometer methods. Cytotoxic activities of plant extracts were also determined.*
Results: *Evaluation of antileishmanial activity showed that water of the aqueous ethanol and chloroform extracts of the leaves, and aqueous ethanol and chloroform extracts of the fruits had IC_{50} values as 6.77 mg/kg, 2.45 mg/kg, 6.50 mg/kg, 4.16 mg/kg, 0.23 mg/kg respectively. The water extract of fruits did not show any antileishmanial activity. Based on statistical comparison of these results with the control group, it was observed that fruit extract ($p<0,05$) showed no antileishmanial effect ($p>0,05$). Extracts other than leaf water extract (LC_{50} 58.45 µg/ml) of Olea europaea showed no cytotoxic activity.*
Conclusion: *As a result of this study chloroform extract of the fruits of Olea europaea ws found to have antileishmanial activity and this can be considered as an important and promising development in determination of antileishmanial active substances which was the main aim of this study.*

Keywords: *Olea europaea, cutaneous leishmaniasis, resistance tests, antileishmanial, Turkey*

Alındığı tarih / Received:
08.11.2019 / 08.November.2019
Kabul tarihi / Accepted:
02.01.2020 / 02.January.2020
Yayın tarihi / Publication date:
30.09.2020 / 30.September.2020

ORCİD Kayıtları

A. Özbilgin 0000-0003-3613-8741
İ. Çavuş 0000-0002-3860-0146
Ç. Çelebi 0000-0002-2858-8526
M. Haghi 0000-0001-7765-2662
C. Gündüz 0000-0002-6593-3237
H. Kayalar 0000-0001-7882-0517

✉ icvs26@yahoo.com

Atıf: Özbilgin A, Çavuş İ, Çelebi Ç, Haghi M. Gündüz C. Kayalar H. *Olea europaea* bitki ekstrelerinin Türkiye'den elde edilmiş *Leishmania tropica* izolatına antileishmanial etkisinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):141-7.

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

GİRİŞ

Leishmaniasis, Dünya Sağlık Örgütü tarafından önemsenmeyen tropikal hastalıklardan biri olarak kabul edilmektedir. Bugün tüm dünyada toplam leishmaniasis bildirimi yapan 200 ülke ve endemik bölgede yaşayan 1 milyar insan leishmaniasis riski altındadır. Son 5 yılda 1 milyon kutanöz leishmaniasis (KL) olgusu, yılda 300.000 visseral leishmaniasis (VL) olgusu bildirilmektedir. VL'ye bağlı yıllık ölüm sayısının yaklaşık 20.000 olduğu bildirilmektedir[1]. Son yıllarda komşu ülkelerde meydana gelen siyasi karışıklık ve savaş nedeniyle ülkemizde meydana gelen göç hareketinden dolayı olgu ve odaklarda önemli oranda artış görülmektedir. Bu durum önümüzdeki yıllarda bu sağlık sorununda ciddi artışlar olabileceğini düşündürmektedir.

Kutanöz leishmanisis tedavisinde ülkemizde meglumin antimonat (Glucantime®) ve sodyum stiboglukonat (Pentostam®) ilaçları kullanılmaktadır. Son yıllarda bu ilaçlara karşı direnç olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle leishmaniasis tedavisinde kullanılmak üzere yeni ilaç adaylarına gereksinim vardır.

Olea europaea olarak bilinen zeytin ağacı, Akdeniz bölgesi ülkelerinde, Avrupa'nın güneyinde, Kuzey Afrika'da ve ülkemizde ılıman sahil kesimlerinde yetişen ve antik çağlardan beri tıbbi amaçla kullanılan her daim yeşil yapraklı, yaprakları kısa ve geniş, eliptik şekilde olan sığ, kurak ve kireç bakımından zengin topraklarda yetişen bir bitkidir. Eski Mısırlılar mumyalama sürecinde, Yunanlılar ve diğer kültürler ateşe karşı bir ilaç olarak kullanmışlardır. King'in Amerikan İlaç Kodeksi'nin 1898 yılı yayınında zeytin yaprağının kaynatılması ile elde edilen sıvının, vücut sıcaklığını düzenlemeye yardımcı olduğu belirtilmiştir. Son yüzyılda, hem hayvanlar hem de insanlar üzerinde zeytin yaprağı ekstresinin virüslere, bakterilere, mayalara ve parazitlere karşı güçlü antimikrobiyal özellikler sergilediği rapor edilmiştir. Buna ek olarak, zeytin yaprağı ekstresinin kardiyovasküler, hipoglisemik ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir[2,3].

Leishmaniasis tedavisinde kullanılabilecek yeni etken madde ve yeni ilaç adaylarının araştırılması amacıyla çalışmamızda, *O. europaea* bitkisinin yaprak ve meyve kısımlarının su, sulu etanol ve kloroform çözücülerinde hazırlanmış ekstrelerinin *Leishmania tropica* parazitine karşı duyarlılığının in vitro araştırılması amaçlanmıştır.

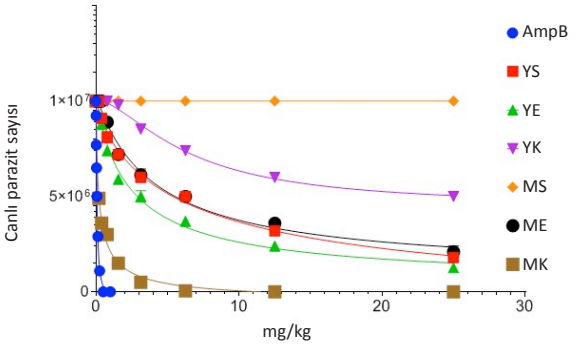
GEREÇ ve YÖNTEM

***Olea europaea* Bitkisinin Toplanması:** *O. europaea* bitkisi ülkemizde ılıman sahil kesimlerinde yetişmektedir. Çalışmamızda kullandığımız *O. europaea* bitkisinin yaprak ve meyveleri İzmir ilimizden, 38.7817 enlem ve 27.0271 boylam koordinatlarına ait bölgeden toplanmıştır (Resim 1).

Resim 1. *Olea europaea* bitkisi.

***Olea europaea* bitkisinin ekstrelerinin hazırlanması:** Toplanan *O. europaea* bitkisinin yaprak ve meyveleri uygun koşullarda kurutulmuş ve kurutulan materyaller değirmende toz hâline getirilmiştir. *O. europaea* bitkisinin su, sulu etanol ve kloroform ekstreleri çıkartılmıştır.

Su ekstresi: Toz haline getirilen 2 g bitkisel materyal 100 ml. kaynamış su içinde 10 dakika bekletilip sıcak-



Grafik 1. ***Olea europaea*** **bitkisinin yaprak ve meyve kısımlarının su, sulu etanol ve kloroform çözücülerinde hazırlanmış ekstrelerinin antileishmanial etki grafiği.**
(AmpB: Amphotericin B; YS: Yaprak Su Ekstresi; YE: Yaprak Sulu Etanol Ekstresi; YK: Yaprak Kloroform Ekstresi; MS: Meyve Su Ekstresi; ME: Meyve Sulu Etanol Ekstresi; MK: Meyve Kloroform Ekstresi).

ken süzgeç kağıdı kullanılarak süzülmüştür. Süzülen kısım alçak basınçta rotavaporda 50˚C'yi geçmeyen sıcaklıkta kurutulmuştur. Daha sonra -80˚C'de dondurulup liyofilize edilmiş ve liyofilize edilen materyal -20˚C'de aktivite çalışmaları yapılana kadar saklanmıştır.

Sulu etanol ekstresi: Toz hâline getirilmiş olan 5 g yaprak ve meyve, %60'lık sulu etanol ile oda sıcaklığında çalkalama maserasyonu tekniği ile ekstrakte edilmiştir. Daha sonra filtre edilerek çözücü rotavaporda 50˚C'yi geçmeyen sıcaklıkta kuruyuncaya kadar buharlaştırılmıştır. Ekstre -80˚C'de dondurulup liyofilize edilmiştir. Liyofilize edilen materyal -20˚C'de aktivite çalışmaları yapılana kadar saklanmıştır.

Kloroform ekstresi: Toz hâline getirilmiş olan 5 g yaprak ve meyve kloroform ile oda sıcaklığında çalkalama maserasyonu tekniği ile ekstrakte edilmiştir. Daha sonra filtre edilerek kloroform alçak basınçta kuruyuncaya kadar uçurulmuştur. Elde edilen bakiye bir miktar distile su içinde süspanse edilerek -80˚C'de dondurulup liyofilize edilmiştir. Liyofilize edilen materyal -20˚C'de aktivite çalışmaları yapılana kadar saklanmıştır.

Olea europaea **bitkisinin ekstrelerinin sitotoksik aktivitelerinin değerlendirilmesi:** *O. europaea* bitkisinin su, sulu etanol ve kloroform ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri için bitki ekstrelerinden 10-1.000 ppm farklı konsantrasyonlar hazırlanmıştır. WST-8 yöntemi ile sitotoksik aktiviteleri klorometrik olarak saptanmış ve istatistiksel olarak değerlendirilerek hücrelerin %50'sini öldüren konsantrasyon (LC_{50}) değerleri belirlenmiştir.

Leishmania tropica **izolatının üretilmesi:** Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'nda bulunan ülkemizden izole edilmiş MHOM/TR/2012/CBCL-LT kodlu *L. tropica* izolatı uygun koşullarda sıvı azot tankından çıkarılmış ve canlılık kontrolü yapıldıktan sonra Novy-Mc Neal-Nicolle (NNN) besiyerine ekimi yapılmıştır. NNN besiyeri 26˚C'lik etüve kaldırılarak inkübasyona bırakılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra ardışık günlerde besiyeri üreme açısından kontrol edilmiştir. Beşinci gün NNN besiyerinde üremesi görülen parazitler, hücre kültür flaksı içerisine konan 5 ml %10 "Fetal Bovine Serum" (FBS) içeren RPMI-1640 besiyerlerinin içerisine inoküle edilmiştir. Daha sonra flaks 26˚C'lik etüve kaldırılarak inkübasyona bırakılmıştır. Ardışık günlerde besiyeri üreme açısından kontrol edilerek parazitin üreme yoğunluğuna bakılmıştır. Üreyen ve logaritmik faza giren *L. topica* promastigotları (10^7 promastigot/ml) çalışma için kullanılmıştır.

Olea europaea **bitkisinin ekstrelerine karşı in vitro direnç testi:** *O. europaea* bitki ekstrelerinin antileishmanial aktivitesi *L. tropica* promastigotları kullanılarak hemositometre yöntemi ve XTT (sodium 3,39-[1-(phenylaminocarbonyl)-3,4-tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro) benzene sülfonik asit hidrat) hücre proliferasyon kiti ile değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, 96'lık düz tabanlı hücre kültürü plağının kuyucukları üçü blank (kör kuyucuk), üçü ilaçsız parazit kontrol, üçü amfoterisin B, üçü *O. europaea* bitkisi yaprak su ekstresi, üçü yaprak sulu etanol ekstresi, üçü yaprak kloroform ekstresi, üçü meyve su ekstresi, üçü meyve sulu etanol ekstresi ve üçü zeytin meyve kloroform ekstresi olacak şekilde işaretlenmiştir. Her bir kuyucuğa %10 FBS içeren RPMI-1640 besiyerinden 100 µl. konulmuştur. Direnç testi uygu-

lanacak olan amfoterisin B ve bitki ekstreleri için ayrılmış olan üç bölmenin her birinin ilk kuyucuğuna 100 µl. ilave edilmiş ve ilk kuyucuktaki ilaç, bitki ekstreleri ve besiyeri homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. Bu karışımlardan seri sulandırmalar hazırlanmıştır.

Daha sonra promastigot sayısı 10^7 promastigot/ml olacak şekilde Thoma lamı ile ayarlanıp, süspansiyonundan 100 µl. olacak şekilde bütün kuyucuklara eklenmiştir. Blank kuyucuklara parazit ilave edilmemiştir. Plağın kapağı kapatılarak etrafı parafilmle kaplanmıştır ve 26°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminin sonunda hemositometre ve XTT yöntemleri ile in vitro etkinlik düzeyleri belirlenmiştir. Bu işlem farklı zamanlarda üç kez yinelenmiştir.

Sonuçlar "Sidak's multiple comparisons" testi uygulanarak istatiksel olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Olea europaea bitkisinin su, sulu etanol ve kloroform ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri WST-8 yöntemi ile kolorometrik olarak saptanmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. *O. europaea* bitkisinin meyve su, kloroform ve sulu etanol ekstreleri ile yaprak kloroform ve sulu etanol ekstreleri sitotoksik aktivite göstermemiştir. *O. europaea* bitkisinin yaprak su ekstresi sitotoksik aktivite göstermiş ve IC_{50} 58.45 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Antileishmanial aktivitenin değerlendirilmesinde kontrol olarak amfoterisin B kullanılmış ve IC_{50} değeri 0.06 µM olarak değerlendirilmiştir. Zeytin yaprak ve meyvenin su, sulu etanol ile kloroform ekstrelerinin antileishmanial etkisi değerlendirildiğinde, yaprak su ekstresinin IC_{50} değeri 6.77 mg/kg, yaprak sulu etanol ekstresinin IC_{50} değeri 2.45 mg/kg, yaprak kloroform ekstresinin IC_{50} değeri 6.50 mg/kg, meyve sulu etanol ekstresinin IC_{50} değeri 4.16 mg/kg ve meyve kloroform ekstresinin IC_{50} değeri 0.23 mg/kg olarak değerlendirilmiş ve meyve su ekstresinin antileishmanial aktivite göstermediği belirlenmiştir (Grafik 1). Bu sonuçlarının ilaçsız kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılmasına göre meyve kloroform ekstresinin ($p<0.05$) antileishmanial etki gösterdiği diğer ekstrelerinin etkinliğinin ise istatiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Ülkemizde tedavide ilk tercih edilen ilaç meglumin antimonat (Glucantime®)'tır. Hindistan'ın kuzeyi başta olmak üzere dünyanın birçok yerinde meglumin antimonata karşı direncin arttığı bildirilmektedir[4,5]. Tedavide kullanılan diğer bir ilaç ise damar yoluyla verilen ancak yan etkieri bulunan amfoterisin B'dir. Yan etkileri düşük, daha iyi tolere edilebilen ancak maliyeti pahalı olduğu için tedavi giderlerini oldukça yükselten diğer bir ilaç lipozomal amfoterisin B'dir. Günümüzde oral yolla kullanılabilen miltefosin ise özellikle gebelerde teratojenik etkiler gösterdiği için riskli kabul edilmektedir[5,6].

Leishmaniasis tedavisinde günümüzde kullanılan hiçbir aşı mevcut değildir. Ayrıca güvenli, etkili ve ucuz ilaçlara gereksinim vardır. Bu nedenle leishmaniasis tedavisinde kullanılabilecek yeni etken madde ve yeni ilaç adaylarının araştırılması gerekmektedir. Doğal bitkisel ürünler uzun yıllardır enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır. 1981-2002 yılları arasında antiinfektif olarak onaylanan 162 yeni maddenin 99'u (%61) doğal bitkisel üründür. Son 20 yıldır, ilaç endüstrisi doğal ürünlerin araştırılmasından uzaklaşmış, yeni keşfedilen moleküler hedeflere odaklanmıştır. Ancak bu yaklaşım beklenildiği gibi verimi arttırmamış ve yeni ilaç sayısında artışa yol açmamıştır. Yeni kimyasal bileşik sayısı 2001'de tüm zamanların en düşüğü olan 37'ye düşerken, FDA'e yapılan yeni ilaç başvuruları 16'da kalmıştır. Bu rakamlar doğal ürünlere yönelik araştırmaların ne derece önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Günümüzde tüketiciler arasında da doğal ürünlere yönelim artış göstermektedir. Reçetesiz satılan ilaçların tüm dünyadaki toplam cirosu 1997'de 10 milyar dolar iken, bu rakamın her yıl %6.5 artış göstereceği hesaplanmıştır. Hâlen keşfedilmeyi bekleyen çok sayıda bitkisel bileşik olduğu sanılmaktadır[7,8].

Yeni ilaçların geliştirilmesi ve değerlendirmesinde öncelikle tarama testlerinin ve toksisite testlerinin yapılması gerekmektedir. Tarama testleri öncelikle in vitro olarak yapılmakta ve etkili olan maddeler için in vivo testlere geçilmektedir. İn vivo testlerde başarılı olan bileşiklerin toksisite testleri yapıldıktan sonra değerlendirilerek hangilerinin kullanılacağına karar verilir. Bir bileşiğin ilaç olarak değerlendirilmesi için Faz I, Faz II, Faz III ve Faz IV denemelerinden başarı ile geçmesi gerekmektedir[5,9].

Yeni ilaçların geliştirilmesi ve değerlendirmesi sırasında özellikle antileishmanial etki gösterebilecek bileşikleri bulabilmek için bitki ekstreleri ve bunların içindeki aktif biyolojik maddeler yönünden araştırılmasının önemli olduğunu vurgulayan araştırmalar bulunmaktadır[5,10-12].

Dünya Sağlık Örgütü ve birçok araştırıcı, leishmaniasis ve diğer enfeksiyon etkenlerinin tedavisinde özellikle bölge halkının kullandığı bitkilerin gözlenip bulunarak etken madde açısından araştırılması ve tedavi için uygun bulunan etken madde ve bileşenlerinin sentetik olarak da hızla yapılabilmesi gerektiğinin vurgulamışlardır[5,13-15]. Tüm dünyada bu konuda çalışmalar başlamış, hızla sürmekte ve başarılı sonuçlar alınmaktadır. Bu çalışmalardan bazılarına bakacak olursak, ilk bitki tarama programı 1984 yılında Fransız Gine'sinde başlamış ve burada halk arasında tedavide kullanılan bitkiler çalışmaya alınmıştır. *Leishmania amazonensis* ile yapılan in vivo ve in vitro tarama testi çalışmalarında, *Faramea guianensis* bitkisinin iyi derecede antileishmanial aktivite gösterdiği saptanmıştır[16].

İspanya'da yapılan bir çalışmada, 7 bitki ailesinden 12 tür taranmış ve *Inula montana, Bupleurum rigidum* ve *Scrophularia scorodonia* türlerinin antileishmanial etki gösterdikleri saptanmıştır[17]. Kolombiya'da yapılan bir çalışmada, *Annona muricata* türünün *Leishmania braziliensis* ve *Leishmania panamensis*'e karşı kontrol ilacı olarak kullanılan meglumine antimoniate'den daha yüksek antileishmanial etki gösterdiği saptanmıştır[18]. Nijerya'da halk arasında tedavide kullanılan 11 bitki türünden beş tanesinin, Sudan'da sekiz bitki türünden üç tanesinin, Bolivya'da 14 bitki türünden iki tanesinin in vitro, üç tanesinin ise in vivo antileishmanial etki gösterdiği saptanmıştır[19-21]. Meksika'da yapılan bir çalışmada, 19 bitki türü antileishmanial etki yönünden taranmış ve bu bitkilerden *Aphelandra scabra, Byrsonima bucidaefolia, Byrsonima crassifolia, Clusia flava, Cupania dentata, Diphysa carthagenensis, Dorstenia contrajerva, Milleria quinquefolia, Tridax procumbens* ve *Vitex gaumeri* türlerinin *Leishmania mexicana'ya* karşı oldukça kuvvetli (IC_{50} 50 µg/ml) antileishmanial etki gösterdiği saptanmıştır[22]. Mali'de halk arasında geleneksel tedavide kullanılan 64 bitki türü arasında yapılan taramada, *Sarcocephalus latifolius, Zanthoxylum zanthoxyloides, Entada africana, Bobgunnia madagascariensis, Pseudocereal kotschyi* ve *Psorospermum guineense* türlerinin oldukça kuvvetli antileishmanial aktif moleküller içerdiği bulunmuştur[23].

Calophyllum brasiliense yapraklarından elde edilen kumarin yapısında madde olan (-) mammea A/BB'nin *L. amazonensis*'e karşı IC_{50} değerleri: 3.0 ve 0.88 µg/ml ve IC_{90} değerleri: 5.0 ve 2.3 µg/ml olarak saptanmış ve bu yüksek bir antileishmanial etki olarak değerlendirilmiştir[24].

Achillea millefolium çiçek ve yapraklarından elde edilen uçucu yağ, *L. amazonensis* ve sıçan makrofajları ile in vitro aktivite yönünden araştırılmış; promastigot ve intrasellüler amastigotların hücre yapılarında antileishmanial etkinin neden olduğu bozulmalar elektron mikroskobunda gösterilmiştir[25].

Kenya'da yapılan bir çalışmada, *Allium sativum*'un metanol ekstresi *Leishmania major* ve *Leishmania donovani* kullanılarak in vitro ve in vivo antileishmanial aktivitesi araştırılmış ve saptanan aktivitenin bitkinin metanol ekstrelerinin immünmodulatör etkisinden kaynaklandığı belirtilmiştir[26].

Avusturya'da 13 bitkiden elde edilen doğal bileşikler, in vitro antileishmanial aktivite yönünden araştırıl-

mış, visseral ve kutanöz leishmaniasis tedavisi için yeni ilaçlara kaynak olabilecek bileşiklerin varlığı gösterilmiştir[27].

Günümüze kadar bitkisel ürünler ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, antileishmanial etki gösteren bitki ekstrelerinin flavonoit, seskiterpen, oleanolik asit gibi triterpenik bileşikler yönünden zengin oldukları görülmektedir. Bu bileşiklerin antiprotozoal ve antimikrobiyal etki gösterdikleri yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Antileishmanial aktivite yönünden araştırdığımız *O. europaea* bitkisinin yaprak ve meyve ekstrelerinin içerdikleri bileşikler incelendiğinde hidroksitirosol, tirozol ve benzoik asitler, oleuropein, flavonoitler, kafeik asit yanında oleanolik asit gibi triterpenoitler açısından zengin olduğu bildirilmektedir[28-31].

Oleuropeinin promastigotlara karşı sitotoksik ve antiproliferatif etkisi olduğu ve apoptozis yoluyla promastigotları ölüme götürdüğü belirtilmektedir[32].

Flavonoitler, antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerdir. Aynı zamanda bazı antiparaziter özelliklerinin olduğu yayınlarda bildirilmiştir[33].

Sifaoui ve ark.'nın[33] 2014 yılında yapmış olduğu bir çalışmaya göre, *O. europaea* bitkisinin metanol ve etanol ekstrelerinin antileishmanial aktivite gösterdiklerini ve bitkinin yaprak ekstrelerinin leishmaniasise karşı yeni bir ilaç geliştirilmesi için potansiyel yeni bileşikler taşıdıklarını bildirmişlerdir.

Kheirandish ve ark.[31] da 2017 yılında yaptıkları bir çalışmaya göre, *O. europaea* bitkisinin etanol ekstresinin %18.45 oranında oleuropein içerdiğini ve in vitro antileishmanial aktivite gösterdiğini bildirilmişlerdir.

Çalışmamızda, meyve su, kloroform ve sulu etanol ekstreleri ile yaprak kloroform ve sulu etanol ekstreleri sitotoksik aktivite göstermemişlerdir. *O. europaea* bitkisinin yaprak su ekstresi (LC_{50} 58.45 µg/ml) sitotoksik aktivite göstermiştir.

Olea europaea bitkisinin meyvesinden hazırlanan su, kloroform ve sulu etanol ekstreleri ile yapraklarından hazırlanan kloroform ve sulu etanol ekstrelerinin antileishmanial aktiviteleri değerlendirildiğinde sırası ile meyve kloroform ekstresi IC_{50} değeri 0.23 mg/kg, yaprak sulu etanol ekstresi IC_{50} değeri 2.45 mg/kg, meyve sulu etanol ekstresi IC_{50} değeri 4.16 mg/kg, yaprak su ekstresi IC_{50} değeri 6.77 mg/kg ve yaprak kloroform ekstresi IC_{50} değeri 6.50 mg/kg olarak saptanmıştır.

Bu sonuçlarının ilaçsız kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında meyve kloroform ekstresinin ($p<0.05$) antileishmanial etki gösterdiği diğer ekstrelerinin anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Bu çalışmamızın sonucunda, *O. europaea* bitkisinin meyve kloroform ekstresinin antileishmanial aktivite göstermesi projenin amacı olan antileishmanial etken maddeler saptanması konusunda önemli ve ümit verici bir gelişme olarak değerlendirilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından BAP 2018-116 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Projenin gerçekleşmesinde *Leishmania tropica* izolatını sağlayan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Leishmaniasis. 2019 [http://www.who.int/leishmaniasis/en]. (Erişim tarihi: 06.11.2018).
2. Felter HW, Lloyd JL. King's American Dispensatory. Cincinnati; OH: Ohio Valley Co. 1898.
3. Elliott GA, Buthala DA, DeYoung EN. Preliminary safety studies with calcium elenolate, an antiviral agent. Antimicrob Agents Chemother (Bethesda). 1969;9: 173-6.
4. Croft, SL, Yardley V. Chemotherapy of leishmaniasis. Curr Pharm Des. 2002;8(4):319-42. https://doi.org/10.2174/1381612023396258
5. Özbilgin A, Çavuş İ, Yıldırım A, Kaya T, Ertabaklar H. Evaluation of In vitro and In vivo Drug Efficacy Over *Leishmania tropica*: A Pilot Study. Turkiye Parazitol

Derg. 2018; 42(1):11-9.
https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5554
6. Berman J. Current treatment approaches to leishmaniasis. Curr Opin Infect Dis. 2003;16(5):397-401.
https://doi.org/10.1097/00001432-200310000-00005
7. Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. J Nat Prod. 2003;66(7):1022-37.
https://doi.org/10.1021/np030096l
8. Rates SM. Plants as source of drugs. Toxicon. 2001;39(5):603-13.
https://doi.org/10.1016/S0041-0101(00)00154-9
9. Kayaalp OS. Klinik farmakolojinin esasları ve temel düzenlemeler. Ankara; 2008:29-46.
10. de Carvalho PB, Ferreira EI. *Leishmaniasis* phytotherapy. Nature's leadership against an ancient disease. Fitoterapia. 2001;72(6):599-618.
https://doi.org/10.1016/S0367-326X(01)00301-X
11. Kayser O, Kiderlen AF. In vitro leishmanicidal activity of naturally occurring chalcones. Phytother Res. 2001;15(2):148-52.
https://doi.org/10.1002/ptr.701
12. Rocha LG, Almeida JRGS, Macêdo RO, Barbosa-Filho JM. A review of natural products with antileishmanial activity. Phytomedicine. 2005;12(6-7):514-35.
https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.10.006
13. Bhadra R. Antileishmanial agents. Drugs Fut. 1993;18(5):451-63.
14. Weniger B, Robledo S, Arango GJ, et al. Antiprotozoal activities of Colombian plants. J Ethnopharmacol. 2001;78(2-3):193-200.
https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00346-4
15. Carvalho PB, Arribas MAG, Ferreira EI. Leishmaniasis. What do we know about its chemotherapy?. Rev Bras Cienc Farm. 2000;36(1):69-96.
https://doi.org/10.1590/S0100-06832000000100009
16. Sauvain M, Dedet JP, Kunesch N, Poisson J. Isolation of flavans from the amazonian shrub *Faramea guianensis*. J Nat Prod. 1994;57(3):403-6.
https://doi.org/10.1021/np50105a014
17. Martín T, Villaescusa L, Gasquet M, et al. Screening for protozoocidal activity of Spanish plants. Pharm Biol. 1998;36(1):56-62.
https://doi.org/10.1076/phbi.36.1.56.4627
18. Jaramillo MC, Arango GJ, González MC, Robledo SM, Velez ID. Cytotoxicity and antileishmanial activity of Annona muricata pericarp. Fitoterapia. 2000;71(2): 183-6.
https://doi.org/10.1016/S0367-326X(99)00138-0
19. Iwu MM, Jackson JE, Tally JD, Klayman DL. Evaluation of plant extracts for antileishmanial activity using a mechanism-based radiorespirometric microtechnique (RAM). Planta Med. 1992;58(5):436-41.
https://doi.org/10.1055/s-2006-961508
20. Tahir AE, Ibrahim AM, Satti GMH, Theander TG, Kharazmi A, Khalid SA. The potential antileishmanial activity of some Sudanese medicinal plants. Phytother Res. 1998;12(8):576-9.
https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199812)12:8<576::AID-PTR354>3.0.CO;2-#
21. Fournet A, Barrios AA, Muñoz V. Leishmanicidal and trypanocidal activities of Bolivian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 1994;41(1-2):19-37.
https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)90054-X
22. Peraza-Sánchez SR, Cen-Pacheco F, Noh-Chimal A, et al. Leishmanicidal evaluation of extracts from native plants of the Yucatan peninsula. Fitoterapia. 2007;78(4):315-8.
https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.03.013
23. Ahua KM, Ioset JN, Ioset KN, Diallo D, Mauël J, Hostettmann K. Antileishmanial activities associated with plants used in the Malian traditional medicine. J Ethnopharmacology. 2007;110(1):99-104.
https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.030
24. Brenzan MA, Nakamura CV, Filho BPD, Ueda-Nakamura T, Young MC, Aparício Garcia Cortaz D. Antileishmanial activity of crude extract and coumarin from *Calophyllum brasiliense* leaves against Leishmania amazonensis. Parasitol Res. 2007;101(3):715-22.
https://doi.org/10.1007/s00436-007-0542-7
25. Santos AO, Santin AC, Yamaguchi MU, et al. Antileishmanial activity of an essential oil from the leaves and flowers of *Achillea millefolium*. Ann Trop Med Parasitol. 2010;104(6):475-83.
https://doi.org/10.1179/136485910X12786389891281
26. Wabwoba BW, Anjili CO, Ngeiywa MM, et al. Experimental chemotherapy with *Allium sativum* (*Liliaceae*) methanolic extract in rodents infected with *Leishmania* major and *Leishmania donovani*. J Vector Borne Dis. 2010;47(3):160-7.
27. Astelbauer F, Obwaller A, Raninger A, et al. Anti-leishmanial activity of plant-derived acridones, flavaglines, and sulfur-containing amides. Vector Borne Zoonotic Dis. 2011;11(7):793-8.
https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0087
28. Karaboğa Arslan AK, Öztürk E, Yerer MB, Koşar M. Zeytin yaprağındaki oleuropein ve farmakolojik etkileri. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2017;26(1):89-93.
29. Altınyay Ç, Altun ML. HPLC Analysis of Oleuropein in *Olea europaea*. Ankara Ecz Fak Derg. 2006;35(1):1-11.
https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000047
30. Benavente-Garcıa O, Castillo J, Lorente J, Ortuño A, Del Rio AJ. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europeae L. leaves.* Food Chem. 2000;68(4):457-62.
https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00221-6
31. Kheirandish F, Delfan B, Fallahi S, Kayedi MH, Rashidipour M, Jahanbakhsh S. Leishmanicidal effects of *Olea europaea* Linn. extract against promastigote and amastigote forms of some *Leishmania* spp. Int J Pharm Sci Res. 2017;8(11):4869-74.
https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8(11).4869-74
32. Elamin MH, Al-Maliki SS. Leishmanicidal and apoptotic activities of oleuropein on *Leishmania* major. Int J Clin Pharmacol Ther. 2014;52(10):880-8.
https://doi.org/10.5414/CP202102
33. Sifaoui I, López-Arencibia A, Martín-Navarro C, et al. Activity of olive leaf extract against the promastigote stage of *Leishmania* species and their correlation with the antioxidant activity. Exp Parasitol. 2014;141:106-11.
https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.03.002

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(3):148-55
doi:10.5222/TMCD.2020.148

Araştırma / *Research Article*

Kronik Süpüratif Otitis Medialı Hastalardan *Staphylococcus aureus* Suşlarının İzolasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması[§,*]

Isolation of Staphylococcus aureus Strains from Patients with Chronic Suppurative Otitis Media and Investigation of Antibiotic Susceptibility

Şeyda Şilan Okalın*, Abdulbaki Aksakal**

*Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
**Adıyaman Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman

ÖZ

Amaç: *Bu çalışmada, Kronik süppüratif otitis medialı hastalardan Staphylococcuc aureus izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Çalışmaya Kulak Burun Boğaz kliniğine Ocak-2016 ile Haziran-2016 tarihleri arasında başvuran ve Kronik süppüratif otitis media tanısı konulan 100 hasta dâhil edildi. Hastaların kulaklarından steril eküvyonla örnek alındı ve %5 defibrine koyun kanlı agara ekimleri yapıldı. 37°C'de 18-24 saatlik inkübasyondan sonra üreyen mikroorganizmalar için konvansiyonel testler yapıldı. İzolatlar, konvansiyonel yöntemler ve otomatize bir sistem ile tanımlandı. S. aureus olarak isimlendirilen 25 izolatın antibiyotiklere duyarlılıkları otomatize sistem ile belirlendi.*
Bulgular: *Toplamda 100 hastadan alınan örneklerden 49 Staphylococcuc ssp. izole edildi. Yüz izolatın 49'unun katalaz pozitifti. Katalaz pozitif olan 49 izolat için koagülaz testi yapıldı ve 49 örneğin 25'inin koagülaz pozitif, 24'ünün ise koagülaz negatif olduğu görüldü. Koagülaz pozitif olan 25 izolat için DNase ve mannitol fermantasyon testleri yapıldı. Bu 25 izolat S. aureus olarak tanımlandı. S. aureus suşlarının tamamının daptomisin, fusidik asit, teikoplanin, tigesiklin, quinopristin-dalfopristin, trimetoprim-sulfametoksazol, linezolit ve vankomisine %100 duyarlı olduğu görüldü. S. aureus suşlarının sefoksitin, oksasilin, fosfomisin, klindamisin, tetrasiklin'e %96, eritromisin, siprofloksasin ve levofloksasin'e ise %92 duyarlı olduğu belirlendi. S. aureus suşlarının tamamının ampisilin ve penisilin G'ye %100 dirençli olduğu belirlendi.*
Sonuç: *Sonuç olarak bu çalışmada, kronik süppüratif otitis media tanısı konulan hastalardan %25 S. aureus izole edildi ve çeşitli antibiyotiklere karşı değişik oranlarda duyarlılık belirlendi. Antibiyotiklere direnç gelişimini önlemek veya geciktirmek için antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre tedaviye başlanması ve tedavinin bu sonuçlara göre yönlendirilmesi daha yararlı olacaktır.*

Anahtar kelimeler: *Kronik süppüratif otitis media, Staphylococcus aureus, antibiyotik duyarlılık*

ABSTRACT

Objective: *In this study, it was aimed to determine the susceptibility to antibiotics of S. aureus isolated from patients of chronic suppurative otitis media (CSOM).*
Method: *The study included 100 patients who were admitted to the Otorhinolaryngology Clinic between January-2016 and June-2016 and were diagnosed as CSOM. The samples were collected from the ear of the patients by sterile swabs and steaked onto 5% defibrinated sheep blood agar. After 18-24 hours of incubation at 37°C, conventional tests were performed for the microorganisms that cultivated. The isolates were identified by both conventional methods and automated system. The antibiotic susceptibilities of these 25 isolates which identified as S. aureus, were determined in automated system.*
Results: *A total of 49 Staphylococcuc ssp. were isolated from specimens. These 25 isolates were identified as S. aureus. All S. aureus strains were found to be 100% susceptible to daptomycin, fusidic acid, teicoplanin, tigecycline, quinopristin-dalfopristin, trimethoprim-sulfamethoxazole, linezolite and vancomycin. The strains were found to be 96% susceptible to cefoxitin, oxacillin, fosfomycin, clindamycin and tetracycline and 92% to erythromycin, ciprofloxacin and levofloxacin. All strains were found to be 100% resistant to ampicillin and penicillin G.*
Conclusion: *As a result, in this study, 25% S. aureus was isolated from patients diagnosed with CSOM and susceptible to various antibiotics was determined at various rates. In order to prevent or delay the development of resistance to antibiotics, it would be more useful to start treatment according to the antibiotic susceptibility test results and to direct the treatment according to these results.*

Keywords: *Chronic suppurative otitis media, Staphylococcus aureus, antibiotic susceptibility*

Alındığı tarih / Received:
27.12.2019 / 27.December.2019

Kabul tarihi / Accepted:
05.02.2020 / 05.February.2020

Yayın tarihi / Publication date:
30.09.2020 / 30.September.2020

ORCİD Kayıtları

Ş. Ş. Okalın 0000-0002-4249-8113
A. Aksakal 0000-0002-1622-5111

✉ abakiaksakal@gmail.com

Atıf: Şilan Okalin Ş, Aksakal A. Kronik süpüratif otitis medialı hastalardan Staphylococcus aureus suşlarının izolasyonu ve antibiyotik d uyarlılıklarının araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):148-55.

§ Bu çalışma, 3. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi'nde (IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies; 26-29 Nisan 2017, P-434, sf:630, İstanbul, Türkiye) poster bildiri olarak sunulmuştur.

* Bu çalışma, aynı isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir (YÖK TEZ NO: 460349)

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

GİRİŞ

Stafilokoklar, deri ve mukoz membranların normal florasında bulunan mikroorganizmalardır. Stafilokokların, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* olmak üzere üç türü insan patojenidir ve bunlardan en önemlisi *S. aureus*'tur[1-4].

Staphylococcus aureus, insanlarda, nozokomiyal enfeksiyonlar, invazyon ve/veya sistemik yayılım sonucu ortaya çıkan enfeksiyonlar, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, otitis media, cerrahi yara enfeksiyonları, santral sinir sistemi enfeksiyonları, solunum sistemi enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, kardiovasküler sistem enfeksiyonları, kas ve iskelet sistemi enfeksiyonlarına ve toksinlere bağlı semptomlara neden olmaktadır[1-5].

Kronik süpüratif otitis media (KSOM), orta kulak ve mastoid kemikte yerleşmiş mikroorganizmaların yaptığı, akıntı ve işitme kaybı ile belirti veren kronik bir enfeksiyondur. Genellikle tedavi edilmemiş veya iyileşmemiş akut otitis media (AOM) sonucu meydana gelen östaki disfonksiyonlarından dolayı gelişmektedir. KSOM, son derece sinsi, inatçı ve ilerleyici bir hastalık olup, sıklıkla kulağın kemik yapısında yıkıcı irreverzibl değişikliklere neden olmaktadır[6,7].

Kronik süpüratif otitis medianın aerobik ve/veya anaerobik polimikrobik yapısı bazı çalışmalarda ortaya konmuştur[7,8]. KSOM, etiyolojik olarak multifaktöriyel bir hastalık olduğu için tedavilerinde zorluklar yaşanmaktadır. Çalışmalarda daha çok Gram-negatif basiller ve stafilokoklar ön plana çıkmakla birlikte, anaerop bakterilerinde belirlendiği gözlenmektedir. En çok görülen bakterilerin *Pseudomonas aeruginosa, S. aureus, Proteus* spp. ve *Klebsiella pneumonia* gibi enterik bakteriler olduğu bildirilmiştir[6-8].

Kronik süpüratif otitis media hastalarında, hastalık sürelerine bağlı olarak patojen etkenlerde farklılıklar görülebilmektedir. Bu yüzden mikroorganizmaların doğru bir şekilde saptanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi oldukça önemlidir. Bakterinin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi hem tedaviyi hızlandırmakta hem de oluşabilecek yeni enfeksiyon ataklarını önlemektedir[8].

Kronik süpüratif otitis media enfeksiyonları, ciddi mortalite ve morbidite riski taşımaktadırlar. Bu enfeksiyonların tedavisinde seçilecek antibiyotiklerin olumlu sonuçlar vermesi beklenmektedir. Uygun antibiyotiğin seçilmesi de hastalığa neden olan bakterilerin antibiyotik duyarlılığının bilinmesiyle olasıdır. Her geçen gün antibiyotiklere karşı direncin artması, tedaviye başlanmadan önce antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılmasını zorunlu kılmaktadır. KSOM tedavisine yönelik duyarlı antibiyotiklerin bilinmesi tedavinin başarılı olmasını sağlayacaktır[8].

Bu çalışma, KSOM'lu hastalardan *S. aureus* izolasyonu ve izole edilen suşların çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile yapılmıştır (Tarih: 18.12.2015 ve Karar No: 04).

Bakteri izolatları ve tanımlaması: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Kulak Burun Boğaz Polikliniği'ne, Ocak-2016 ile Haziran-2016 tarihleri arasında başvuran ve KSOM tanısı konulan 53'ü erkek, 47'si kadın toplam 100 hasta çalışmaya alınmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Örnek alınan hastaların cinsiyet ve yaş grubu dağılımı.

Cinsiyet	18-29 Yaş (n)	30-45 Yaş (n)	45 üstü Yaş (n)
Kadın (N=47)	24	15	8
Erkek (N=53)	28	8	17

Klinik muayene ile KSOM tanısı konulan hastalardan, steril serum fizyolojik ile ıslatılmış bir eküvyon ile dış kulak yolunda birikmiş olan sekresyon ve kurutlar

temizlendikten sonra, ikinci bir eküvyonla çevrilerek dış kulak yolu kanalından sürüntü örnekleri alınmıştır. Sürüntü örnekleri, Stuart Transport Medium (Oxoid, Hampshire, Birleşik Krallık) besiyerine konulmuş ve uygun saklama şartlarında (24 saat, +4°C'de) Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerden %5 defibrine koyun kanlı agara (Merck, Darmstadt, Almanya) ekim yapılmıştır. On sekiz-yirmi dört saat süreyle 36.5-37°C'de aerobik şartlarda inkübe edilmiştir. Üreme görülen kültürlerde, kolonilerin makroskopik morfolojik yapıları incelenmiş, 1-2 mm çapında, hemolitik, non-hemolitik, beyaz, krem, sarımtırak renkli, *Staphylococcus* spp. şüpheli kolonilerden saf kültürler hazırlanmıştır.

İzolatların tanımlaması konvansiyonel bakteriyolojik yöntemler (Gram-pozitif kok kültürlere, katalaz, koagülaz, DNaz, mannitol fermantasyonu) ile yapılmıştır. Konvansiyonel yöntemlerle *S. aureus* ve *Staphylococcus* spp. olarak tanımlanan izolatlar, otomatize sistem ile doğrulaması ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılıncaya kadar %15 gliserollü Triyptone Soya Broth'ta (Oxoid, Hampshire, Birleşik Krallık) derin dondurucuda -20°C'de saklanmıştır[9-11]. Kontrol olarak *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) standart suşu kullanılmıştır.

Elde edilen izolatların tanımlaması ve doğrulaması, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, bakteri tanımlama test kiti (PMIC/ID-87 Combo, Becton Dickinson, ABD) kullanılarak, BD Phoenix™ 100 otomatize sistemi ile yapılmıştır. Kullanılan test kiti ve cihaz, üretici firmanın talimatları doğrultusunda prosedürüne uygun şekilde kullanılmıştır.

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri: İzole edilen *S. aureus* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, antibiyotik duyarlılık test kiti kullanılarak (PMIC/ID-87 Combo, Becton Dickinson, ABD), BD Phoenix™ 100 otomatize sistemi ile yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz: Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler sayı ve yüzde olarak belirtilmiştir. Bakterilerin görülme oranları bakımından grupların karşılaştırılmasında Z testi ile oran karşılaştırılması yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık (önemlilik) düzeyi %5 olarak alındı ve hesaplamalarda Minitab (Ver.14) istatistik paket programı kullanılmıştır.

Bu çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından (Proje no: TYL-2016-5189) desteklenmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 18 yaş ve üstündeki KSOM tanısı konulan 100 hastanın kulak sürüntü örneklerinden, konvansiyonel bakteriyolojik yöntemlerle 49 (%49) adet *Staphylococcus* ssp. izole edilmiştir. Katalaz pozitif olanların %22'si koagülaz pozitif, %27'si ise koagülaz negatif bulunmuştur. Koagülaz pozitif 22 izolat (%22) *S. aureus*, koagülaz negatif olan diğer 27 (%27) izolat ise *Staphylococcus* ssp. olarak tanımlanmıştır.

İzolatların tanımlaması ve doğrulaması Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda BD Phoenix™ 100 otomatize sistemi ile yapılmıştır. Otomatize sistem ile 25 izolat (%25) *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. *Staphylococcus* ssp. olarak tanımlanan 24 izolatın %46'sı *S. epidermidis*, %21'i *Staphylococcus haemolyticus*, %12'si *Staphylococcus auricularis,* %21'i diğer türler (*Staphylococcus hominis, Staphylococcus warneri, Staphylococcus caprae, Staphylococcus lugdunensis ve Staphylococcus carnosus*) olarak identifiye edilmiştir.

Staphylococcus aureus suşlarının 13'ü erkek, 12'si kadın hastalardan izole edilmiştir. Kadın hastalardan, 18-29 yaş arası gruptan %38 (9/24), erkek hastalardan ise aynı yaş grubundan %29 (8/28) *S. aureus* izole edilmiştir. Bu yaş gruplarındaki izolasyon oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.494) (Tablo 2).

Tablo 2. *Staphylococcus aureus* izole edilen hastaların cinsiyet ve yaş grupları.

Cinsiyet	18-29 Yaş (n)	30-45 Yaş (n)	45 üstü Yaş (n)
Kadın (N=47)	9 (9/24)	2 (2/15)	1 (1/8)
Erkek (N=53)	8 (8/28)	2 (2/8)	3 (3/17)

Tablo 3. İzole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılık (S) ve dirençlilikleri (R).

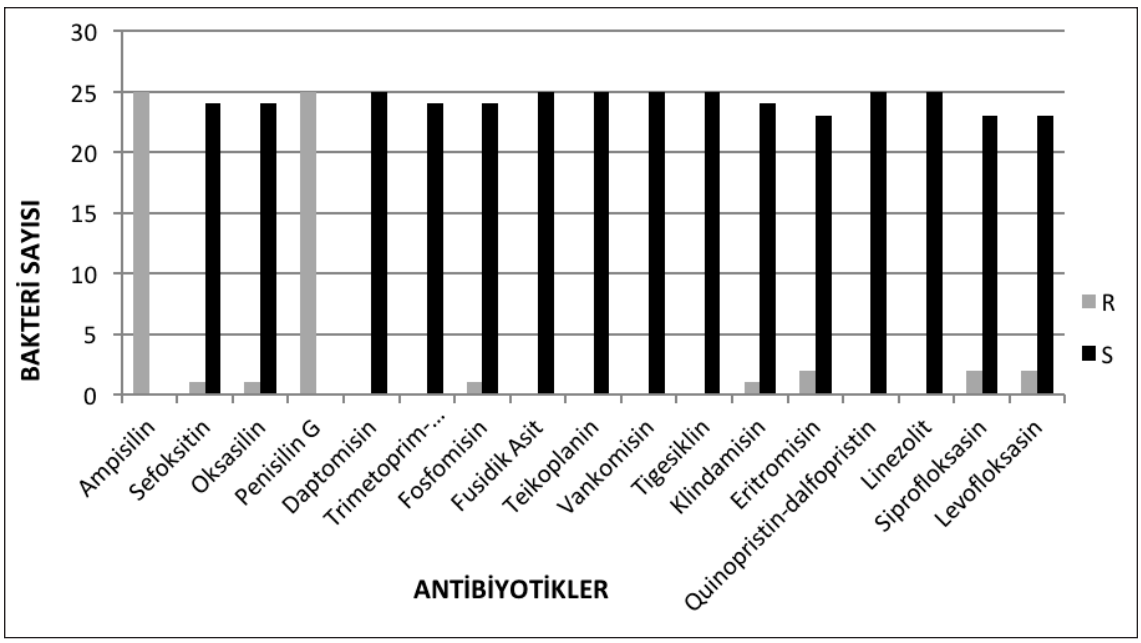
Antibiyotikler	Dirençli (R)	%R	Duyarlı (S)	%S
Ampisilin	25	100	0	0
Sefoksitin	1	4	24	96
Oksasilin	1	4	24	96
Penisilin G	25	100	0	0
Daptomisin	0	0	25	100
Trimetoprim-Sulfametoksazol	0	0	24	100
Fosfomisin	1	4	24	96
Fusidik Asit	0	0	25	100
Teikoplanin	0	0	25	100
Vankomisin	0	0	25	100
Tigesiklin	0	0	25	100
Klindamisin	1	4	24	96
Eritromisin	2	8	23	92
Kinopristin-dalfopristin	0	0	25	100
Linezolit	0	0	25	100
Siprofloksasin	2	8	23	92
Levofloksasin	2	8	23	92
Tetrasiklin	1	4	24	96

Staphylococcus aureus olarak isimlendirilen 25 izolatın antibiyotiklere duyarlılıkları, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda BD Phoenix™ 100 otomatize sistemi ile belirlenmiştir. Alınan ayrıntılı rapora göre 25 adet *S. aureus*'un antibiyotik duyarlılık/dirençlilikleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Elde edilen *S. aureus* izolatlarının tamamının daptomisin, fusidik asit, teikoplanin, tigesiklin, quinopristin-dalfopristin, trimetoprim-sulfametoksazol, linezolit ve vankomisine %100 duyarlı olduğu görülmüştür. İzolatların %96'sının sefoksitin, oksasilin, fosfomisin, klindamisin, tetrasiklin'e, %92'sinin eritromisin, siprofloksasin, levofloksasin'e karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. İzolatların tamamının ampisilin ve penisilin G'ye %100 dirençli olduğu belirlenmiştir (Şekil 1). Elde edilen *S. aureus* izolatlarının biri (%4) metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Stafilokoklar, sağlıklı insanların burunlarında ve derisinde bulunmaktadır. Vücut savunma mekanizmalarının



Şekil 1. İzole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları (R) ve dirençlilikleri (S).

bozulması, iç ve dış stres faktörleri, vücuttaki portantreler stafilokokların hastalık oluşturmasını kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle fırsatçı patojen olarak da nitelendirilmektedir[2-4].

Kronik süpüratif otitis media, orta kulağın 6 haftadan daha uzun süren kronik inflamasyonudur[12]. Yapılan bakteriyolojik incelemelerde kronik otitlerin etkeni olarak çok çeşitli mikrobik ajanlar belirlenmiştir. Bunlar arasında *S. aureus* sık görülen etkenlerden biridir. Medikal tedavilerde antibiyotikli ve steroidli damlalar kullanılmaktadır. Fakat yanıtsız ve ileri olgularda cerrahi tedavi uygulanmaktadır[13,14].

Kronik süpüratif otitis media tedavisinde kullanılacak antibakteriyel ilaçların yeterli doku konsantrasyonu sağlayacak dozda kullanılması, uygun süre devam edilmesi ve uygun etki spektrumunda olması gerekir. En uygun tedavi için KSOM'a neden olan patojenler ve antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi önemlidir[15,16].

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Celal Bayar Üniversitesi Eğitim ve Uygulama Hastanesi KBB Polikliniği'ne Ocak 1996-Temmuz 1997 dönemi içinde başvuran KSOM'lu 309 hasta incelenmiş ve örneklerden %27 *S. aureus* izole edilmiştir[17]. Gümüşsuyu Askeri Hastanesi'nde yapılan çalışmada, KBB Polikliniği'ne Aralık 2002 ve Ekim 2003 tarihleri arasında, KSOM tanısı konulan 70 hasta çalışmaya alınmış ve çalışmada %18 *S. aureus* izole ve identifiye edilmiştir[15]. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde kronik süpüratif otitli 92 hastanın dahil edildiği bir çalışmada incelenen örneklerin %8.7'sinde *S. aureus*'un ürediği bildirilmiştir[18]. Tok ve Coşkun[8], 63 hastanın kulak akıntılarını KSOM tanısından dolayı incelemişler ve %36.53 oranında *S. aureus* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Attallah[19], 79 erkek ve 29 kadından oluşan toplam 108 KSOM'lu hasta üzerinde yaptığı çalışmada, en çok izole edilen bakterinin *S. aureus* (%31) olduğunu bildirmiştir. Yapılan diğer bir araştırmada klinik olarak KSOM teşhisi konulan 117 hastadan 22 adet (%25.4) *S. aureus* izole edilmiştir[9]. Hindistan'da yapılan bir çalışmada, KSOM tanısı konulan 94 hastadan izole edilen bakterilerin %18'ini *S. aureus* oluşturmuştur[20]. Prakash ve ark.[21] ise, klinik olarak KSOM teşhisi konulan toplam 204 hastadan alınan kulak akıntısı örneklerinden 93 adet (%48.69) *S. aureus* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Kronik süpüratif otitis media tanısı konulan hastalardan; Özbakkaloğlu ve ark.[17] %27, Görür ve ark.[18] %8.7, Attallah[19] %31, Gül ve ark.[15] %18, Tok ve Coşkun[8] %36.53, Nia ve ark.[9] %25.4, Vishwanath ve ark.[20] %18 ve Prakash ve ark.[21] %48.69 oranında *S. aureus* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, KSOM tanısı konulan hastalardan %25 oranında *S. aureus* izole edilmiştir. Bu oran; Gül ve ark.[15] ile Vishwanath ve ark.[20] çalışmalarından yüksek, Tok ve Coşkun[8] ile Prakash ve ark.'nın[21] (2013) çalışmalarından ise düşük bulunmuştur. İzolasyon oranı; Özbakkaloğlu ve ark.[17], Attallah[19] ve Nia ve ark.[9] ile uyumlu bulunmuştur. En az izolasyon oranı olan Görür ve ark.'nın[18] izolasyon oranı (%8.7) ile bu çalışmada elde edilen izolasyon oranı (%25) arasındaki farklılık istatistik olarak anlamlıdır (p=0.001). En yüksek izolasyon oranı olan Prakash ve ark.'nın[21] izolasyon oranı (%48.69) ile bu çalışmada elde edilen izolasyon oranı (%25) arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.001).

İzolasyon oranlarının yüksek veya düşük olması bölgesel, mevsimsel ve laboratuvarlarda uygulanan yöntem farklılıklarından kaynaklanabilir. KSOM hastalarında hastalık sürelerine bağlı olarak da patojen etkenlerde farklılıklar görüldüğü bildirilmektedir[8].

Kronik süpüratif otitis medialı hastalardan izole edilen *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları ile ilgili yapılan çalışmalarda, çeşitli antibiyotiklere değişik oranlarda duyarlılıklar saptanmıştır[8,9,15-18,21-25].

Görür ve ark.[18], KSOM'lu hastalardan elde edilen *S. aureus*'ların penisilin G'ye %12.5, eritromisine %62.5, teikoplanine %87.5, metisilin ve vankomisine ise %100 duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada

ise, *S. aureus* suşları eritromisine %92, metisiline %96 ve teikoplanine %100 duyarlı bulunmuştur. İzole edilen *S. aureus*'lardan birinin ise metisiline dirençli olduğu, tamamının penisiline dirençli olduğu saptanmıştır.

Şanlı ve ark.[22], aktif KSOM tanısı konan 24 hastada yaptıkları çalışmada, yapılan antibiyogram testlerinde izole edilen üç *S. aureus*'tan birinin MRSA, vankomisin ve teikoplanine duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise izole edilen *S. aureus*'lardan birinin (%4) MRSA olduğu görülmüştür. Suşların tümünün vankomisin ve teikoplanine duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Gümüşsuyu Askeri Hastanesi KBB Polikliniği'nde yapılan çalışmada, izole edilen *S. aureus* suşlarının tümü (%100) metisilin ve vankomisine, %91'i siprofloksasine, %73'ü trimetoprim-sulfometoksazole duyarlı bulunmuştur. *S. aureus* suşlarında en yüksek direnç ampisilin (%27) ve penisilin G'de (%36) saptanmıştır[15]. Çalışmamızda ise, suşların %100'ünün trimetoprim-sulfometoksazole, %92'sinin siprofloksasine duyarlı olduğu, tamamının ise ampisilin ve penisilin G'ye dirençli olduğu belirlenmiştir. Trimetoprim-sulfometoksazol, ampisilin ve penisilin G'ye direncin daha yüksek olduğu görülmüştür.

Maji ve ark.[24], klinik olarak KSOM teşhisi konulan 160 hastadan izole ettikleri *S. aureus* suşların siprofloksasine %36 ve ampisiline %93 direnç saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, izole edilen *S. aureus* suşların siproflaksasine karşı direnç daha düşük (%8), ampisiline direnç ise daha yüksek (%100) bulunmuştur.

Tok ve Coşkun[8], Ekim 2007 ve Ağustos 2009 tarihleri arasında KSOM tanısı konulan 63 hastadan izole edilen *S. aureus* suşlarının %100'ünün metisilin ve vankomisin, %90'ının siprofloksasine, %70'inin trimetoprim/sülfametaksazol ve %40'ının penisilin G'ye duyarlı olduğu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda ise, *S. aureus* suşlarının, vankomisin ve trimetoprim/sülfametaksazole %100, siprofloksasine %92, metisiline %94 duyarlılık saptandı. Suşların tümünün ise penisilin G'ye dirençli olduğu belirlenmiştir.

Klinik olarak KSOM teşhisi konulan toplam 204 hastanın incelendiği bir çalışmada, 93 adet (%48.69) *S. aureus* izole edilmiş, izolatların %79'u ampisiline, %77'si siprofloksasine ve %63.9'u amoksisilin-klavulanate duyarlı olarak belirlenmiştir[21]. Bu çalışmada ise, suşların tamamının ampisililine dirençli olduğu görüldü. İzolatların %92'si siprofloksasine duyarlılık saptanmıştır.

Bazı çalışmalarda[8,15,18], metisiline karşı hiçbir *S. aureus* izolatında direnç gözlenmezken, çalışmamızda bir suşta (%4) direnç olduğu belirlenmiştir. Park ve ark.[25] ise yaptıkları çalışmada, izole ettikleri suşların %31'inin MRSA olduğunu bildirmişlerdir. MRSA'nın görülme sıklığı ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Kuzey Avrupa Ülkeleri'nde MRSA az görülürken, Güney Avrupa Ülkeler, Amerika Birleşik Devletleri ve bazı Asya ülkelerinde bu oranın %50'leri aştığı bildirilmektedir[26].

Yapılan çalışmaların bir çoğunda[8,15,17,18,25] çalışmamıza benzer olarak *S. aureus*'ların büyük bir kısmının vankomisin, oksasilin, trimetoprim-sulfametoksazol, teikoplanin, klindamisin, eritromisin ve siprofloksasine karşı duyarlı olduğu görülmüştür. Fakat bazı çalışmalarda penisilin G'ye ve ampisiline duyarlı suşlar belirlenmesine rağmen, çalışmamızda bu antibiyotiklere duyarlı suş bulunmamıştır. Antibiyotiklere duyarlılık oranlarının çevresel faktörler, bölgenin kültürel, sosyoekonomik yapısı, eğitim düzeyi ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı ile ilgili olarak farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir[23]. Bu çalışmada da antibiyotiklere duyarlılık oranlarının farklılık göstermesinin benzer nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Antibiyotikler, insanlarda tedavi amacıyla, bitkilerde büyüme ve gelişmeyi hızlandırmak, hayvan yetiştiriciliğinde yem katkı maddesi olarak, profilaksi ve terapötik amaçlarla da kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin insanlar, hayvanlar ve bitkilerde

bilinçsizce ve yüksek miktarda kullanılmasının, uygun olanının seçilmemesinin zamanla dirençliliğin artmasına neden olduğu bildirilmektedir[27,28].

Antibiyotiklere direncin son yıllarda giderek arttığı ve tedavinin gittikçe zorlaştığı bilinen bir gerçektir. KSOM'un tedavisinde ciddi sorunlarla karşılaşılmakta ve yeni enfeksiyon atakları görülebilmektedir[6-8]. Antibiyotiklere direnç gelişimini önlemek veya geciktirmek için, antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre tedaviye başlanması ve tedavinin bu sonuçlara göre yönlendirilmesi daha yararlı olacağı açıktır. Direnç gelişimini önlemek için duyarlılık testi yapılmadan antibiyotik kullanılmaması, akılcı antibiyotik kullanımına dikkat edilmesi, bunun için yeni sağlık politikaları geliştirilmesi için çalışmalar yapılmasının yararlı olacağı düşüncesine varılmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada; KSOM teşhisi konulan hastalardan %25 *S. aureus* izole edildi ve çeşitli antibiyotiklere karşı değişik oranlarda duyarlılık belirlendi. Bu çalışmada elde edilen verilerin, bu konuda yapılacak yeni çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışma ile *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere güncel direnç profillerinin belirlenmesinin KSOM tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bilgehan H. Gram Olumlu Koklar Bölüm VIII. *Staphylococcus*. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları kitabında. İzmir: Barış Yayınları, 1992:188-210.
2. Levinson W. Bakteriyoloji. *Staphylococcus*'ların Özellikleri. Şener B, Esen B (Çeviri editörleri), Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji kitabında. Ankara: Güneş Tıp Kitap Evleri, 2008:106-9.
3. Bradley JS and Nizet V. Staphylococcal Infections. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Nizet V, Maldonad YA (Eds) Infectious Diseases of the Fetus and Newborn. 7th Ed. Elsevier Saunders. 2011:487-508. https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6400-8.00014-6
4. Humphreys H. *Staphylococcus*: Skin infections; osteomyelitis; bloodstream infection; food poisoning; foreign body infections; MRSA. In: Greenwood D, Barer M, Slack R, Irving W (Eds) Medical Microbiology. 18th Ed. Churchill Livingstone, Birleşik Krallık, 2012:176-82. https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4089-4.00030-5
5. Yılmaz S, Kılıç A, Karagöz A, Bedir O, Güçlü AÜ, Başustaoğlu AC. Hastane ve toplum kaynaklı *Staphylococcus aureus* izolatlarında çeşitli virülans faktörlerinin gerçek zamanlı PCR yöntemiyle araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2012;46(4):532-45.
6. Kazkayası M, Özünlü A, Gerek M, Baysallar M. Kronik süpüratif otitis mediada tıbbi tedavi. KBB ve BCC Dergisi. 1996;4(1):1-4.
7. Udden F, Filipe M, Reimer A, et al. Aerobic bacteria associated with chronic suppurative otitis media in Angola. Infect Dis Poverty. 2018;7(42):1-10. https://doi.org/10.1186/s40249-018-0422-7
8. Tok D, Coşkun Ö. Kronik otitis medialı hastaların kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları. TAF Prev Med Bull. 2010;9(1):51-4.
9. Mozafari Nia K, Sepehri G, Khatmi H, Shakibaie MR. Isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria from chronic suppurative otitis media patients in Kerman, Iran. Iran Red Crescent Med J. 2011;13(12):891-4.
10. Kılıç A, Doğan E, Kaya S, Baysallar M. Yedi yıllık sürede klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında *mecC* ve Panton-Valentine lökosidin gen varlığının araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2015;(49)4:594-9. https://doi.org/10.5578/mb.9871
11. Öcal DN, Dolapçı İ, Gençtürk Z, Tekeli A. Vankomisin ve daptomisinin koagülaz-negatif Stafilokok izolatlarının oluşturduğu biyofilm üzerine in vitro etkisi. Mikrobiyol Bul. 2017;51(3):220-35. https://doi.org/10.5578/mb.57435
12. Öz F, Kaytaz A, Aksoy E. Otitis media; Toplumdan edinilmiş enfeksiyonlara pratik yaklaşımlar. Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi, 61. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi. Sempozyum Kitabı. İstanbul: 2008:71-84.
13. Yılmaz M, Akıl F. Kulak enfeksiyonları. Klinik Gelişim Derg. 2012;25(4):18-22.
14. Bhandari R, Bhattarai H, Pokharel B, Ganesh Man, et al. Result of myringoplasty and effect of bacteria in early quiescent stage of chronic otitis media. Nepalese J ENT Head&Neck Surg. 2012;3(1):1-4.
15. Gül HC, Kurnaz A, Turhan V, Öncül O, Pahsa A. Kronik süpüratif otitis medialı hastalarda orta kulak kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. Kulak Burun Boğaz İhtis Derg. 2006;16(4): 164-8.
16. Ataee RA, Mehrabi A, Hosseini SMJ, et al. A method for antibiotic susceptibility testing: applicable and accurate. Jundishapur J Microbiol. 2012;5(1):341-5. https://doi.org/10.5578/10.5812/kowsar.20083645.2374

17. Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Ünlü H, Kurutepe S, Özkütük N, Değerli K. Kronik süpüratif otitis media olgularında dış kulak yolundan izole edilen aerob bakteriler ve antimikrobik maddelere duyarlılıkları. ANKEM Derg. 1998;12(4):457-62.
18. Görür K, Özcan C, Ünal M, ve ark. Kronik süpüratif otitis mediada izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 2000;1(1):48-51.
19. Attallah MS. Microbiology of chronic suppurative otitis media with cholesteatoma. Saudi Med J. 2000;21(10):924-7.
20. Vishwanath S, Mukhopadhyay C, Prakash R, Pillai S, Pujary K, Pujary P. Chronic suppurative otitis media: optimizing ınitial antibiotic therapy in a tertiary care setup. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. 2012;64(3):286-9. https://doi.org/10.1007/s12070-011-0287-6
21. Prakash R, Juyal D, Negi V, et al. Microbiology of chronic suppurative otitis media in a tertiary care setup of uttarakhand state. N Am J Med Sci. 2013;5(4):282-7. https://doi.org/10.4103/1947-2714.110436
22. Şanlı A, Öztürk R, Paksoy M. Kronik süpüratif otitis medialı hastalarda aerob-anaerob kültür çalışması ve antibiyogram test sonuçları. Kartal Eğitim Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi. 2001;12(1):11-4.
23. Kaya E, Kırmalı O, Doğan Ö, Berk D, Kaya D. Kronik otitis media etkeni olan bakterilerin ampisilin ve ampisilin-sulbaktama duyarlılıkları. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2003;33(2):115-7.
24. Maji PK, Chatterjee TK, Chatterjee S, Chakrabarty J, Mukhopadhyay BB. The investigation of bacteriology of chronic suppurative otitis media in patients attending a tertiary care hospital with special emphasis on seasonal variation. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. 2007;59(2):128-31. https://doi.org/10.1007/s12070-007-0038-x
25. Park DC, Lee SK, Cha CI, Lee SO, Lee MS, Yeo SG. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus* from otorrhea in chronic suppurative otitis media and comparison with results of all isolated *Staphylococci*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2008;27(7):571-7. https://doi.org/10.1007/s10096-008-0478-6
26. Sancak B. *Staphylococcus aureus* ve antibiyotik direnci. Mikrobiyol Bul. 2011;45(3):565-76.
27. Çelik O. Otitis Media. "Otoloji ve Nöro-otoloji" kitabında. İstanbul: Elit Matbaacılık, 2013:199-285.
28. Güven K. Antibiyotiklerin etki mekanizması. "Genel Mikrobiyoloji" kitabında. Eskişehir:Web-Ofset (3. Baskı), 2011:88-92.

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(3):156-63
doi:10.5222/TMCD.2020.156

Araştırma / *Research Article*

Streptomisinin *Klebsiella aerogenes*'de Spontan Mutasyonların Hızı ve Moleküler Spektrumuna Etkisinin *İn Vitro* Değerlendirilmesi

In Vitro Evaluation of the Effect of Streptomycin on the Rate and Molecular Spectrum of Spontaneous Mutations in Klebsiella aerogenes

Sibel Küçükyıldırım

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

ÖZ

Amaç: *Hastalık etkeni bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanması önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ancak, antibiyotiklere maruz kalmanın bakterilerde özellikle uzun dönemde neden olduğu etkiler ve bu durumun antibiyotik dirençliliğinin kazanılmasındaki rolü üzerine bilgilerimiz halen sınırlıdır. Her ne kadar, antibiyotik kullanımının bakterilerde mutasyon hızını arttırdığı biliniyor olsa da, spontan mutasyonların spektrumu ve antibiyotik dirençliliğini arttırıcı etkisi kesin değildir.*

Yöntem: *Bu çalışmada, uzun dönemli düşük dozda streptomisin uygulamasının Klebsiella aerogenes'de spontan mutasyon hızı ve spektrumuna etkisini araştırmak amacıyla mutasyon biriktirme ve yeni nesil tüm genom dizileme teknikleri kullanılmıştır.*

Bulgular: *Elde edilen sonuçlar, streptomisin antibiyotiğinin Klebsiella aerogenes bakterisinde mutasyon hızını arttırdığını doğrulamaktadır.*

Sonuç: *Bu çalışma ile antibiyotiklerin bakterilere yalnızca antibiyotiğin hedefi olma ya da olmama yönünde bir seçilimsel zorluk yaratmadığı aynı zamanda bakteri için yararlı olacak mutasyonların hızını arttırarak da bakterilerin adaptasyonunu hızlandırdığı ortaya konulmuştur.*

Anahtar kelimeler: *Antibiyotik direnci, Klebsiella aerogenes, streptomisin, mutasyon hızı, mutasyon spektrumu, mutasyon biriktirme*

ABSTRACT

Objective: *Gaining resistance to antibiotics is a major public health problem. However, our knowledge of the long-term effects of exposure to antibiotics, particularly on bacteria, and the role of this in the acquisition of antibiotic resistance remains limited. Although the use of antibiotics is known to increase the rate of mutation in bacteria, the spectrum of spontaneous mutations and the effect of increasing antibiotic resistance is not certain.*

Method: *In this study, mutation accumulation and next generation whole genome sequencing techniques were used to investigate the effect of long-term low dose streptomycin on spontaneous mutation rate and spectrum in Klebsiella aerogenes.*

Results: *The results confirm that streptomycin antibiotic increases the rate of mutation in Klebsiella aerogenes bacteria.*

Conclusion: *With this study, it has been shown that antibiotics not only cause a selective difficulty for bacteria to or not to become the target of the antibiotic, but also increase the rate of mutations that will be beneficial for the bacteria and accelerate the adaptation of the bacteria.*

Keywords: *Antibiotic resistance, Klebsiella aerogenes, Streptomycin, mutation rate, mutation spectrum, mutation accumulation*

Alındığı tarih / Received:
03.11.2019 / 03.November.2019

Kabul tarihi / Accepted:
12.02.2020 / 12.February.2020

Yayın tarihi / Publication date:
30.09.2020 / 30.September.2020

ORCİD Kaydı

S. Küçükyıldırım 0000-0003-2241-3060

✉ sibelkucukyildirim@gmail.com

Atıf: Küçükyıdırım S. Streptomisinin *Klebsiella aerogenes*`de spontan mutasyonların hızı ve moleküler spektrumuna etkisinin in vitro değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):156-63.

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

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

GİRİŞ

İlk kez penisilinin keşfinden birkaç yıl sonra tanımlanan antibiyotik direnci, tüm dünyada önemi giderek artan bir halk sağlığı sorunu hâline gelmiştir[1,2]. İnsan hastalıklarının önlenmesinde ve hayvancılıkta antibiyotiklerin yaygın olarak kullanımının bir sonucu olarak, öldürücü olmayan antibiyotik konsantrasyonları çevrede yaygın olarak bulunmaktadır ve bu durum bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesinin yolunu açmıştır[1,3-5]. Bakterilerin horizontal gen transferi ya da yeni mutasyonlarla antibiyotiklere direnç kazandığı bilinmesine rağmen[6-8], uzun süreli ve düşük doz antibiyotik maruziyetinin neden olduğu etkiler ve antibiyotik direncinin kazanılmasındaki rolü üzerine bilgilerimiz hâlen sınırlıdır. Literatürde yer alan çalışmalar, antibiyotik kullanımının bakterilerde mutasyon hızını arttırdığını göstermektedir[7,8], ancak mutasyon spektrumuna etkileri ve antibiyotik direnci gelişmesini sağlayacak mutasyonlarla olan ilişkisi henüz kesin olarak ortaya konulamamıştır.

Bugün *Klebsiella aerogenes* olarak sınıflandırılan bakteriler, ilk kez *Aerobacter aerogenes* olarak bilinen türleri *Enterobacter aerogenes* olarak adlandıran Hormanche ve Edwards[9] tarafından tanımlanmıştır[10]. Gram-negatif ve rod şeklinde olan *K. aerogenes,* suda, havada ve toprakta yaygın olarak bulunan bir türdür. Aynı zamanda, insan ve hayvanların gastrointestinal kanalında da normal mikrobiyotanın bir elemanı olarak yer almaktadır[11]. Solunum ve idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi ve sepsis etkeni olan *K. aerogenes*, 2000`li yılların başından beri çoklu ilaç direncinin (MDR) gözlendiği insan patojenlerinin (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa ve Enterobacter* sp.) arasına dâhil edilmiştir[11-14]. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılmasıyla çoklu ilaç direnci gösteren *K. aerogenes* gibi izolatların ortaya çıkması arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir[2].

Bu çalışmada, geniş spektrumlu bir antibiyotiğin (streptomisin) uzun süreli ve öldürücü olmayan dozda uygulamasının *K. aerogenes*`de mutasyon hızı ve spektrumuna etkisini belirlemek amaçlanmıştır. Streptomisin, çeşitli bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan aminoglikozid sınıfından geniş spektrumlu bir ilaçtır[15,16]. Gram pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı etkilidir. *Streptomyces griseus* bakterisinden köken alan streptomisin, bakteri hücrelerinde 16S rRNA alt birimine bağlanarak protein sentezinin engellenmesine neden olmaktadır ve literatürde yer alan çalışmalarda bu etki mekanizmasıyla uyumlu olarak, streptomisin direncinin ribozomal proteinlerle ilişkili genlerde (*rpsD, rpsL* gibi) ortaya çıkan belirli mutasyonlarla ilişkisi gösterilmiştir[15-17].

Bugüne kadar, geniş spektrumlu antibiyotiklerin genom kararlılığı üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmaların çoğunda raportör genler kullanılmıştır[7,8]. Ancak bu deney sistemlerinin en büyük dezavantajı yalnızca bir ya da birkaç gen bölgesinin değerlendirmeye alınması dolayısıyla genomda gerçekleşen diğer mutasyonların belirlenememesidir[18]. Buna ek olarak, raportör sistemlerde elde edilen sonucun, seçilen bölgenin/bölgelerin içeriğinden etkilenmiş olma olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır[18,19]. Mutasyon biriktirme (Mutation Accumulation, MA) ve yeni nesil tüm genom dizileme (Next-generation Whole Genome Sequencing, WGS) tekniklerinin beraber kullanılması yukarıda söz edilen sınırlamalar olmaksızın mutasyonların belirlenmesine olanak sağlamaktadır[7,19-22]. Mutasyon biriktirme deney sisteminde, aynı atasal hücreden oluşturulan soy hatları, yinelenen popülasyon dar boğazlarına (population bottleneck) maruz bırakılarak doğal seçilim etkisinin asgari düzeyde tutulması amaçlanır. Bu sayede doğal seçilimin, çok büyük etkilere sahip olabilecek nadir mutasyonlar hariç olmak kaydıyla, tüm mutasyonları özendirmesi ya da yok etmesi önlenir ve her hücre bölünmesinde mutasyonlar birikir[7,19-22]. Literatürde farklı filogenetik gruplardan prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmalarda bu yöntem kullanılarak mutasyon hızı ve spektrumu belirlenmiştir [7,19-22].

Bu çalışmada, uzun süreli ve öldürücü olmayan dozda streptomisin uygulamasının *K. aerogenes*`de genomik mutasyonların hızı ve moleküler spektrumuna etkisini karakterize etmek için MA/WGS stratejisi kullanılmıştır. Aynı atasal hücreden köken alan 48 soy hattı oluşturulmuştur. Bu soy hatlarından 24 tanesi kontrol grubu olarak antibiyotik içermeyen ortamda yaklaşık 1.000 nesil boyunca üretilmiştir. Deney grubunu oluşturan diğer 24 soy hattı ise, kontrol grubuyla eşzamanlı olarak, öldürücü olmayan dozda streptomisin içeren ortamda yaklaşık 1.000 nesil boyunca üretilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, *K. aerogenes*'de geniş spektrumlu bir antibiyotik olan streptomisinin spontan mutasyonların hızı ve moleküler spektrumu üzerine etkileri hakkında literatüre katkıda bulunacaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma *Klebsiella aerogenes* Tindall ve ark. ATCC® 13048™ numaralı suş kullanılarak yapılmıştır. Çalışma boyunca tüm kültür aşamalarında ATCC tarafından önerilen şekilde nutrient broth (NB) (Cat no. 105443; Merck) ve nutrient agar (NA) (Cat no.#105450; Merck) kullanılmıştır ve kültürler 30°C'de aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. Streptomisin stok çözeltisi üreticinin talimatlarına göre hazırlanmıştır (Cat no.#S9137; Sigma-Aldrich). Streptomisin, minimum inhibitör konsantrasyonunun ve bu çalışmada uygulanan öldürücü olmayan dozun kontrol edilmesi için Andrews[7,23]'den modifiye edilmiş bir protokol kullanılmıştır*: Klebsiella aerogenes* sıvı besiyeri kullanılarak yaklaşık 18 saat çalkalamalı etüvde (O.D. 600 değeri >0.5 olana kadar) üretilmiştir. Kültür daha sonra seri olarak seyreltilmiştir ve yaklaşık 1.000 hücre, farklı konsantrasyonlarda (0, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 25 ve 50 µg/mL) streptomisin içeren NA plaklarına ekilmiştir. Uygun koşullarda, 24 saat inkübe edildikten sonra plaklardaki koloni sayısı hesaplanmıştır. Bu deney 3 tekrar şeklinde gerçekleştirilmiştir ve 3 yinelemenin ortalamasından 10 µg/mL streptomisin dozunun öldürücü olmadığı doğrulanmıştır.

Öldürücü olmayan dozda uygulanacak streptomisin miktarının belirlenmesinden sonra, tek bir *K. aerogenes* kolonisinden (ATCC 13048) 48 bağımsız mutasyon biriktirme (MA) hattı oluşturulmuştur. Oluşturulan toplam 48 soy hattından 24'ü kontrol grubu olmak üzere, tüm süreç boyunca antibiyotiksiz NA plaklarına ekilmiştir. Diğer 24 soy hattı ise, deney grubu olarak tüm süreç boyunca 10 µg/mL streptomisin içeren NA plaklarına ekilmiştir. Her gün, her MA soy hattından rastgele seçilen bir koloni, taze besiyerine aktarılmıştır. Tüm soy hatları yaklaşık 1.000 hücre bölünmesi geçirene kadar mutasyon biriktirme süreci sürdürülmüştür. Soy hatları ortalama 1.000 hücre bölünmesini tamamladığında rastgele seçilen toplam 24 örnek (12 adet kontrol grubu ve 12 adet deney grubu örneği) tüm genom dizileme için hazırlanmıştır. Genomik DNA izolasyonu için, her örnekten 5 ml sıvı kültür hazırlanmıştır. Sıvı kültürlerin 3 ml'si DNA izolasyonu için, 1 ml'si ise gliserol stok (%20) hazırlanmak için kullanılmıştır. DNA izolasyonu, AMBRD Laboratuvarları (Türkiye) tarafından üretilen bakteri DNA İzolasyon kiti kullanılarak, üretici firmanın talimatlarına göre yapılmıştır. Yeni nesil genom dizileme için genomik DNA örnekleri BGI Genomics Ltd. Hong Kong`a gönderilmiştir.

Firmadan "fastq" formatında alınan okumalar, BWA 0.7.10(24) yazılımı kullanılarak referans genoma (NCBI, NC_01563.1) haritalanmıştır. Duplike okumalar Picard Tools-1.141 ile belirlenerek analizlere dâhil edilmemiştir. "GATK Best Practices" önerileri takip edilerek standart filtreler uygulanmıştır ve "GATK HaplotypeCaller" kullanılarak tek nükleotit mutasyonları ve küçük insersiyon-delesyonlar belirlenmiştir[25-27]. Belirlenen tüm mutasyonlar, "Integrated Genomics Viewer" (IGV) uygulaması kullanılarak görsel olarak doğrulanmıştır[28] ve herhangi bir mutasyonun belirlenmesi için okumaların %99`unun uzlaşması kriteri uygulanmıştır[22]. Doğrulanan mutasyonların fonksiyonel etkileri SnpEff (GNU, LGPLv3) yazılımı kullanılarak belirlenmiştir[29]. Mutasyon hızı (µ) Küçükyıldırım ve ark.'nda[22] izlenen yöntem kullanılarak, her bir soy hattı için belirlenen mutasyon sayısının, çalışmada analiz edilen dizinin (genom) büyüklüğü ve örneğin geçirdiği hücre bölünmesi sayısına bölünmesiyle hesaplanmıştır.

BULGULAR

Mutasyon hızı: Soy hatlarının her biri için mutasyon hızı, gözlenen mutasyon sayısının, çalışmada analiz edilen dizinin büyüklüğü ve örneğin geçirdiği hücre bölünmesi sayısına bölünmesiyle hesaplanmıştır. Toplam 24 soy hattı için analiz edilen ortalama DNA uzunluğu yaklaşık olarak 5.17 Mb'dır (her bir soy hattında genomun ortalama % 97.9'si analiz edilmiştir) ve 13'ü kontrol grubunda, 20'si deney grubunda olmak üzere toplam 33 tek nükleotit mutasyonu tanımlanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, öldürücü olmayan dozda streptomisin içeren plaklarda üretilen (deney grubu) soy hatlarında belirlenen mutasyon hızı, antibiyotik içermeyen ortamda üretilen (kontrol grubu) soy hatlarında belirlenen mutasyon hızından yaklaşık 1.5 kat yüksek bulunmuştur (Tablo 1 ve Şekil 1). On iki kontrol grubu soy hattında 13 tek nükleotit mutasyonu tanımlanmıştır, buna göre tek nükleotit mutasyonlarının hızı ubs = 1.8×10^{-10} (%95 Poisson güven aralığı 0.96 ila 3.08×10^{-10}) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda ölçülen mutasyon hızı genom büyüklüğüne oranlandığında, her hücre bölünmesinde genomik mutasyon hızı 0.0009 mutasyon olarak bulunmuştur. On iki deney grubu soy hattında ise 20 tek nükleotit mutasyonu tanımlanmıştır ve bu soy hatlarında tek nükleotit mutasyonlarının hızı ubs = 2.64×10^{-10}`dur (%95 Poisson güven aralığı 1.61 ila 4.07×10^{-10}) (Tablo 1). Deney grubunda ölçülen mutasyon hızının genom büyüklüğüne oranlanmasıyla, her hücre bölünmesi için mutasyon hızı 0.001 mutasyon/genom olarak bulunmuştur. Ancak, iki grupta gözlenen mutasyon hızları arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (t-test, p=0.2).

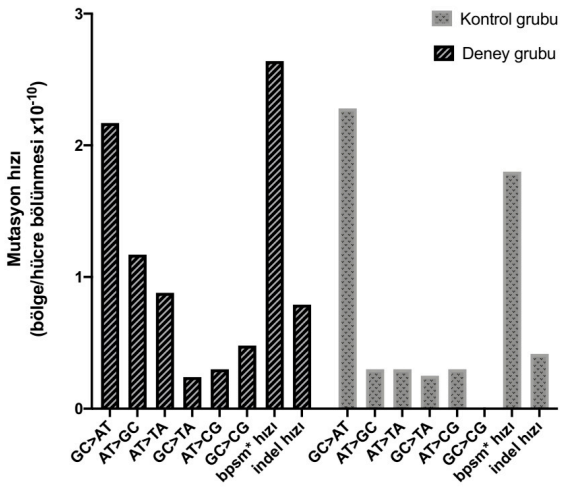
Yirmi dört soy hattında toplam 9 adet küçük insersiyon ve delesyon (indel) olayı (1-30 bç boyutunda) tanımlanmıştır. On iki kontrol grubu soy hattında bir insersiyon ve iki delesyon tanımlanmıştır ve kontrol grubunda indel mutasyonlarının hızı 4.16×10^{-11} olarak hesaplanmıştır. On iki deney grubu soy hattında ise bir insersiyon beş delesyon olmak üzere toplam altı indel mutasyonu tanımlanmıştır ve deney grubu soy hatlarında indel mutasyonlarının hızı 7.92×10^{-11} bulunmuştur (Tablo 1). İnsersiyon-delesyon olaylarının hızı açısından iki bağımsız MA grubu arasında istatiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır (t-test, p= 0.44).

Mutasyon spektrumu: Kontrol grubunda 10 transisyon ve üç transversiyon (Transisyon/Tranversiyon (Ts/Tv) oranı= 10/3= 3.33), deney grubunda ise 13 transisyon ve yedi transversiyon (Ts/Tv oranı=13/7= 1.86) olduğu bulunmuştur. Kontrol ve deney gruplarında belirlenen mutasyon spektrumları arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (χ^2=3.47, df=5, p=0.63). Her iki grupta da G / C → A / T yönündeki toplam transisyon ve transversiyon mutasyonlarının hızının (kontrol grubunda 2.53×10^{-10} ve deney grubunda 2.41×10^{-10}), A / T → G / C yönündeki toplam transisyon ve transversiyon mutasyonlarının hızından (kontrol grubunda 0.61×10^{-10} ve deney grubunda 1.46×10^{-10}) yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 1 ve Şekil 1).

Tablo 1. Gözlenen mutasyon örüntüleri.

	Kontrol grubu	Deney grubu
Analize dahil edilen ortalama genom büyüklüğü	5178270	5164065
Tek nükleotit mutasyonları	13	20
Insersiyon-Delesyon mutasyonları	3	6
Transisyon/Transversiyon oranı	3.33	1.86
Sessiz (eş anlamlı) mutasyonlar	4	5
Eş anlamlı olmayan mutasyonlar	7	7
Kodlayıcı olmayan mutasyonlar	2	8
Tek nükleotit mutasyonlarının hızı ($\times 10^{-10}$)	1.8	2.64
Insersiyon-Delesyon hızı ($\times 10^{-11}$)	4.16	7.92

Mutasyonların fonksiyonel etkileri: Bu çalışmada, mutasyonların fonksiyonel etkileri referans genom ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda belirlenen 13 tek nükleotit mutasyonundan ikisi, deney grubunda ise gözlenen 20 tek nükleotit mutasyonundan sekizi kodlayıcı olmayan intergenik bölgelerde meydana gelmiştir (Tablo 1) ve bu mutasyonlardan bazıları çoklu mutasyonlardır. Gözlenen tek nükleotit mutasyonlarının genomda dağılımının rastgeleliği test edilmiştir (Fisher`s exact test, p=0.01) ve beklenen ile gözlenen mutasyon dağılımları ara-



Şekil 1. Kontrol grubu ve deney grubunda gözlenen spontan mutasyon hızları ve spektrumları.
**bpsm: tek nükleotit mutasyonu*

sında istatiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir. Kodlayıcı bölgelerde beklenen oranda mutasyon görülmezken (gözlenen: 23, beklenen: 29), kodlayıcı olmayan bölgelerde beklenenden daha yüksek oranda mutasyon gözlenmiştir (gözlenen: 10, beklenen: 4). Kontrol grubunda belirlenen indel olaylarının tamamı, deney grubunda ise belirlenen toplam altı indel olayından dördünün kodlayıcı olmayan intergenik bölgelerde meydana geldiği belirlenmiştir (Tablo 1). Gözlenen indel olaylarının genomda dağılımının rastgeleliği test edilmiştir (Fisher's exact test, p=0.015) ve beklenen ile gözlenen indel dağılımları arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir; kodlayıcı bölgelerde beklenen oranda indel gözlenmemiştir (gözlenen: 2, beklenen: 8), ancak kodlayıcı olmayan bölgelerde beklenenden daha yüksek oranda indel mutasyonu gözlenmiştir (gözlenen: 7, beklenen: 1).

Streptomisin uygulamasının ilaç direnci ile ilişkili özgül genlerde meydana gelen mutasyonlarla ilişkisini belirlemek için saptanan tüm mutasyonların fonksiyonel etkileri referans genom ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Fakat bu çalışmada, daha önce streptomisin direnciyle ilişkisi gösterilmiş olan ribozomal proteinlerle ilişkili genlerde (*rpsD, rpsL* gibi) herhangi bir mutasyon belirlenmemiştir[16-18]. Ancak, deney grubuna dâhil olan bir soy hattında, MdtH çoklu ilaç direnci proteinini (multidrug resistance protein) kodlayan *mdtH* geninde bir tek nükleotit mutasyonu belirlenmiştir. Meydana gelen bu mutasyon *MdtH* proteinin 257. kodonunda yer alan lösin amino asidinin arjinin amino asidine dönüşümüne neden olmaktadır.

TARTIŞMA

Bu çalışma, üç ay boyunca her gün tek hücre darboğazlarına maruz bırakılmış 24 *K. aerogenes* (12 kontrol grubu ve 12 deney grubu) MA soy hattında ortaya çıkan genomik mutasyonları ve streptomisinin bu sürecine katkısını değerlendirmiştir. Bu çalışmada kullanılan mutasyon biriktirme ve tüm genom dizileme tekniklerinin kombinasyonuyla, kontrol ve deney gruplarında genom düzeyinde gerçekleşen tüm mutasyonlar belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, diğer antibiyotiklerin ve antimikrobiyal araçlarının da mutajenik etkilerini belirlemek için bu tekniklerin gücünü ve yüksek çözünürlüğünü ortaya koymaktadır. Bu çalışmada kullanılan deneysel tasarım, daha önce mutasyonların doğasını inceleyen çok sayıda çalışmada başarıyla kullanılmıştır ve antibiyotiklerin ya da diğer çevresel faktörlerin mutasyon süreçlerine etkisinin değerlendirilmesinde kullanılabilirliği ve yinelenebilirliği oldukça yüksektir[7,19-22,30].

Bu çalışmada, öldürücü olmayan dozda streptomisin içeren plaklarda üretilen (deney grubu) soy hatlarında belirlenen mutasyon hızının (2.64×10^{-10} nükleotit/hücre bölünmesi ya da 0.001 mutasyon/genom/hücre bölünmesi), antibiyotik içermeyen ortamda üretilen (kontrol grubu) soy hatlarında belirlenen mutasyon hızından (1.8×10^{-10} nükleotit/hücre bölünmesi ya da 0.0009 mutasyon/genom/hücre bölünmesi) yaklaşık 1.5 kat yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 1 ve Şekil 1). Ek olarak, kontrol ve deney gruplarında ölçülen mutasyon hızlarının, prokaryotik organizmaların kullanıldığı önceki çalışmalarda belirlenen ortalama değerden önemli ölçüde düşük olduğu belirlenmiştir (ortalama değer: her hücre bölünmesinde genom başına ortalama 0.003-0.004 mutasyon)[20,30]. Delesyon hızı, her iki grupta da insersiyon

hızından yüksek bulunmuştur, bu durum genel olarak prokaryotlarda gözlenen delesyon eğilimiyle tutarlıdır[31,32]. Mutasyon spektumları incelendiğinde, kontrol grubu ve deney grubunda belirlenen G / C → A / T yönündeki toplam transisyon ve transversiyon mutasyonlarının hızı, A / T → G / C yönündeki toplam transisyon ve transversiyon mutasyonlarının hızından yüksek bulunmuştur ve bu sonuç evrensel AT eğilimi hipotezi ile uyumludur[30,33].

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, yabanıl ve mutant *Escherichia coli* suşlarının norfloksasin uygulamasına verdiği yanıtı ortaya koyan çalışmada rapor edilen sonuçlarla uyumludur ve antibiyotik maruziyetinin doğal seçilimle direnç oluşumunu teşvik etmediği, ancak spontan mutasyon hızını arttırarak adaptasyon için gerekli olan mutasyonların ortaya çıkma olasılığını arttırdığı sonucunu desteklemektedir[7]. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda yaygın şekilde rastlanan bir ajan olan *K. aerogenes*'in, adaptasyon yeteneğinin oldukça yüksek olduğu ve tedavi sırasında beta-laktam antibiyotiklere kolaylıkla direnç kazandığı bilinmektedir[2]. Özellikle, hastanede yatan hastalardan izole edilen *K. aerogenes* suşları genellikle geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı yüksek dirence sahiptir[2,34]. Bu nedenle, elde edilen sonuçlar, *K. aerogenes*'in, adaptasyon yeteneğinin oldukça yüksek olduğunu öneren önceki çalışmalarla benzerdir ve görece kısa olabilecek üç aylık süre zarfında streptomisin uygulamasının MA soy hatlarında neden olduğu mutasyon hızı artışıyla da uyumludur.

Bakterilerde antibiyotik direnci, antibiyotiğin enzimatik degradasyonu, hedef moleküllerine (DNA) bağlanmasının engellenmesi (hedef bölgenin değişime uğraması), hücreye giriş yaptığı porların (porinler) azalması ya da kaybolması ve antibiyotiğin hücre dışına pompalanmasını sağlayacak proteinlerinin ifadesinin artması olarak özetlenebilecek dört temel mekanizma ile sağlanmaktadır[35]. Önceki çalışmalarda, *E. coli, P. aeruginosa, Neisseria gonorrhoeae, K. aerogenes* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi bakterilerin membran porinlerinde meydana gelen fonksiyonel değişiklikler ya da porin kaybı yoluyla yapısal olarak biribirinden farklı olan karbapenem, tetrasiklin, florokinolon, aminoglikozid ve kloramfenikol gibi antibiyotiklere karşı direnç kazandıkları gösterilmiştir[36,37]. Özellikle hastane enfeksiyonlarına etken olan *K. aerogenes* ve *K. pneumoniae* türlerinde, *marRAB, acrAB-tolC* ve *ramA* genlerinden ifade olan proteinler aracılığıyla antibiyotiklerin hücre dışına akışının sağlamasının çoklu ilaç direnci fenotipine katkıda bulunduğu belirlenmiştir[38-41]. Mutasyonlarla hücre içi ilaç konsantrasyonunun düşük tutulmasını başaran bu bakterilerin tetrasiklin, kloroamfenikol, β-laktam ve kinolonlar gibi yapısal olarak birbirinden farklı moleküllere karşı yüksek direnç seviyesini kazanılabildiği bulunmuştur[38-43]. Bu çalışmada ise, ilaç direnci ile ilişkilendirilebilecek bir adet tek nükleotit mutasyonu deney grubundan bir soy hattında tanımlanmıştır ve bu nedenle, belirlenen tek nükleotit mutasyonlarından yalnızca %5'nin (1/20) ilaç direncinin seçilmesiyle ilişkili olduğu sonucuna varılabilir. Gözlenen bu mutasyonun streptomisin direnciyle bağlantısının kesin olarak ortaya konulabilmesi ancak biyokimyasal ve genetik deney sonuçlarıyla desteklenmesiyle mümkündür ve bu çalışmadan edinilen sonuçlar bu tür ileri araştırmalar için mantıklı bir başlangıç noktası sağlayacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan MA/WGS stratejisi, genomik bağlamda, antibiyotiklerin ve diğer kimyasalların mutasyon sürecine katkısını, raportör yapılarla mümkün olmayan hassasiyette değerlendirmek için güçlü bir yaklaşım sağlamaktadır. Antibiyotiklerin ve antimikrobiyal ajanların etki şekillerinin çeşitlilik göstermesi ve aynı zamanda farklı bakteri türlerinin farklı DNA onarım mekanizmalarında sahip olmaları nedeniyle, ancak benzer çalışmalarla literatürün bu konuda zenginleşmesi, bu ve benzeri çalışmalardan elde edilen sonuçların genelleştirilmesini mümkün hale getirecektir. Son olarak, antibiyotiklerin dolaylı şekilde, bakterilerde mutajen gibi davranmasının, antibiyotik tedavisi gören hastaların hücrelerinde DNA kararlılığı için ne tip sonuçlara yol açacağı gelecek çalışmalar için önemli bir soru olarak ortaya çıkmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (FBI-2015-7197 ve FBB-2017-15738). Bu araştırmaya sağladıkları teknik katkılardan dolayı Hacettepe Üniversitesi öğrencileri Özgür Özdemirel, Alp Mete Ümmet, Dilara Ulusal, Merve Demirel ve Elif Melike Sasa`ya teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Lobanovska M, Pilla G. Pennicillin's discovery and antibiotic resistance: lessons for the future? Yale J Biol Med. 2017; 90(1):135-45.
2. Thiolas A, Bollet C, La Scola B, Raoult D, Pagès JM. Successive emergence of Enterobacter aerogenes strains resistant to imipenem and colistin in a patient. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(4):1354-8. https://doi.org/10.1128/AAC.49.4.1354-1358.2005
3. Frana TS, Beahm AR, Hanson BM, et al. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from pork farms and visiting veterinary students. PLoS One. 2013;8(1):e53738. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053738
4. Zurek L, Ghosh A. Insects represent a link between food animal farms and the urban environment for antibiotic resistance traits. Appl Environ Microbiol. 2014;80(12):3562-7. https://doi.org/10.1128/AEM.00600-14
5. Lazarus B, Paterson DL, Mollinger JL, Rogers BA. Do human extraintestinal *Escherichia coli* infections resistant to expanded-spectrum cephalosporins originate from food-producing animals? A systematic review. Clin Infect Dis. 2015;60(3):439-52. https://doi.org/10.1093/cid/ciu785
6. Woodford N, Ellington MJ. The emergence of antibiotic resistance by mutation. Clin Microbiol Infect. 2007;13(1):5-18. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01492.x
7. Long H, Miller SF, Strauss C, et al. Antibiotics treatment enhances the genome-wide mutation of target cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2016;113(18):2498-505. https://doi.org/10.1073/pnas.1601208113
8. Jørgensen KM, Wassermann T, Jensen PØ, et al. Sublethal ciprofloxacin treatment leads to rapid development of high-level ciprofloxacin resistance during long-term experimental evolution of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(9):4215-21. https://doi.org/10.1128/AAC.00493-13
9. Hormaeche E, Edwards PR. A proposed genus *Enterobacter*. Int Bull Bacteriol Nomen Taxon. 1960;10:71-74. https://doi.org/10.1099/0096266X-10-2-71
10. Tindall BJ, Sutton G, Garrity GM. *Enterobacter aerogenes* Hormaeche and Edwards 1960 (Approved Lists 1980) and *Klebsiella mobilis* Bascomb et al. 1971 (Approved Lists 1980) share the same nomenclatural type (ATCC 13048) on the Approved Lists anda re homotypic synonyms, with consequences fort he name *Klebsiella mobilis* Bascomb et al. 1971 (Approved Lists 1980). Int J Syst Evol Microbiol. 2017;67(2):502-4. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001572
11. Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev. 1998;11(4):589-603. https://doi.org/10.1128/CMR.11.4.589
12. Arpin C, Coze C, Rogues AM, Gachie JP, Bebear C, Quentin C. Epidemiological study of an outbreak due to multidrug-resistant *Enterobacter aerogenes* in a medical intensive care unit. J Clin Microbiol. 1996;34(9):2163-9. https://doi.org/10.1128/JCM.34.9.2163-2169.1996
13. Canton R, Oliver A, Coque TM, Varela Mdel C, Perez-Diaz JC, Baquero F. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter isolates* in a Spanish hospital during a 12-year period. J Clin Microbiol. 2002;40(4):1237-43. https://doi.org/10.1128/JCM.40.4.1237-1243.2002
14. Bosi C, Davin-Regli A, Bornet C, Malléa M, Pagès JM, Bollet C. Most *Enterobacter aerogenes* strains in France belong to a prevalent clone. J Clin Microbiol. 1999;37(7):2165-9. https://doi.org/10.1128/JCM.37.7.2165-2169.1999
15. Luzzatto L, Apirion D, Schlessinger D. Mechanism of action of streptomycin in *E. coli*: interruption of the ribosome cycle at the initiation of protein synthesis. Proc Natl Acad Sci USA. 1968;60(3):873-80. https://doi.org/10.1073/pnas.60.3.873
16. Humayun M Z, Ayyappan V. Potential roles for DNA replication and repair functions in cell killing by streptomycin. Mutat Res. 2013;749(1-2):87-91. https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2013.07.009
17. Springer B, Kidan YG, Prammananan T, Ellrott K, Böttger EC, Sander P. Mechanisms of streptomycin resistance: selection of mutations in the 16S rRNA gene conferring resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45(10):2877-84. https://doi.org/10.1128/AAC.45.10.2877-2884.2001
18. Stewart FM. Fluctuation tests: How reliable are the estimates of mutation rates? Genetics. 1994;137(4): 1139-46.
19. Lee H, Popodi E, Tang H, Foster PL. Rate and molecular spectrum of spontaneous mutations in the bacterium *Escherichia coli* as determined by whole-genome sequencing. Proc Natl Acad Sci USA. 2012; 109(41):E2774-83. https://doi.org/10.1073/pnas.1210309109
20. Sung W, Ackerman MS, Miller SF, Doak TG, Lynch M. Drift-barrier hypothesis and mutation-rate evolution.

Proc Natl Acad Sci USA. 2012;109(45):18488-92. https://doi.org/10.1073/pnas.1216223109
21. Morgan AD, Ness RW, Keightley PD, Colegrave N. Spontaneous mutation accumulation in multiple strains of the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii.* Evolution. 2014;68(9):2589-602. https://doi.org/10.1111/evo.12448
22. Kucukyildirim S, Long H, Sung W, Miller S F, Doak T G, Lynch M. The rate and spectrum of spontaneous mutations in *Mycobacterium smegmatis*, a bacterium naturally devoid of the postreplicative mismatch repair pathway. G3 (Bathesda). 2016;6(7):2157-2163. https://doi.org/10.1534/g3.116.030130
23. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. J Antimicrob Chemother. 2001;48(Suppl 1):S5-16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5
24. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. Bioinformatics. 2009;25(14):1754-60. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324
25. McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The genome analysis toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. Genome Res. 2010;20(9):1297-303. https://doi.org/10.1101/gr.107524.110
26. DePristo MA, Banks E, Poplin R, et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. Nat Genet. 2011;43(5):491-8. https://doi.org/10.1038/ng.806
27. Van der Auwera GA, Carneiro MO, Hartl C, et al. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. Curr Protoc Bioinformatics. 2013;43(1110):11.10.1-11.10.33. https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1110s43
28. Thorvaldsdóttir H, Robinson JT, Mesirov JP. Integrated genomics viewer (IGV): High-performance genomics data visulization and exploration. Brief Bioinform. 2013;14(2):178-92. https://doi.org/10.1093/bib/bbs017
29. Cingolani, P, Platts A, Wang L, et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of Drosophila melanogaster strain w1118; iso-2; iso-3. Fly (Austin). 2012;6(2):80-92. https://doi.org/10.4161/fly.19695
30. Long, H, Sung W, Kucukyildirim S, et al. Evolutionary determinants of genome-wide nucleotide composition. Nat Ecol Evol. 2018;2(2):237-40. https://doi.org/10.1038/s41559-017-0425-y
31. Mira A, Ochman H, Moran NA. Deletional bias and evolution of bacterial genomes. Trends Genet. 2001;17(10):589-96. https://doi.org/10.1016/S0168-9525(01)02447-7
32. Sung W, Ackerman MS, Dillon MM, et al. Evolution of the insertion-deletion mutation rate across the tree of life. G3 (Bethesda). 2016;6(8):2583-591. https://doi.org/10.1534/g3.116.030890
33. Hershberg R, Petrov DA. Evidence that mutations is universally biased toward AT in bacteria. PLoS Genet. 2010;6(9):e1001115. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001115
34. Arpin C, Dubois V, Coulange L, et al. Extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in community and private health care centers. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(11):3506-14. https://doi.org/10.1128/AAC.47.11.3506-3514.2003
35. Alekshun MN, Levy SB. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. Cell. 2007;128(6): 1037-50. https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004
36. Achouak W, Heulin T, Pages JM. Multiple facets of bacterial porins. FEMS Microbiol Lett. 2001;199(1): 1-7. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10642.x
37. Page MG. The role of the outer membrane of Gram-negative bacteria in antibiotic resistance: Ajax' shield or Achilles' heel? Handb Exp Pharmacol. 2012;(211):67-86. https://doi.org/10.1007/978-3-642-28951-4_5
38. Gayet S, Chollet R, Molle G, Pagès JM, Chevalier J. Modification of outer membrane protein profile and evidence suggesting an active drug pump in *Enterobacter aerogenes* clinical strains. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(5):1555-9. https://doi.org/10.1128/AAC.47.5.1555-1559.2003
39. Chollet R, Bollet C, Chevalier J, Malléa M, Pagès JM, Davin-Regli A. mar operon involved in multidrug resistance of *Enterobacter aerogenes*. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46(4):1093-7. https://doi.org/10.1128/AAC.46.4.1093-1097.2002
40. Pradel E, Pagès JM. The AcrAB-TolC efflux pump contributes to multidrug resistance in the nosocomial pathogen *Enterobacter aerogenes*. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46(8):2640-3. https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2640-2643.2002
41. Schneiders T, Amyes SGB, Levy SB. Role of AcrR and RamA in fluoroquinolone resistance in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Singapore. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(9):2831-7. https://doi.org/10.1128/AAC.47.9.2831-2837.2003
42. Li XZ, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. Drugs. 2009; 69(12):1555-623. https://doi.org/10.2165/11317030-000000000-00000
43. Chevalier J, Bredin J, Mahamoud A, Mallea M, Barbe J, Pages JM. Inhibitors of antibiotic efflux in resistant *Enterobacter aerogenes* and *Klebsiella pneumoniae* strains. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(3):1043-6. https://doi.org/10.1128/AAC.48.3.1043-1046.2004

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(3):164-71
doi:10.5222/TMCD.2020.164

Araştırma / *Research Article*

Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Kökenlerinde Yıllar İçerisinde Kolistin MİK Değerindeki Artışın *İn Vitro* Değerlendirilmesi

In Vitro Evaluation of the Increase in MIC Value of Colistin in the Carbapenem Resistant Klebsiella pneumoniae Strains Over the Years

İsmail Selçuk Aygar

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

ÖZ

Amaç: *Klebsiella pneumoniae insanda deride, gastrointestinal florada ve nazofarinkste kolonize olarak bulunabilen bakteriler arasındadır. Çalışmada, karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae izolatlarında alternatif tedavi olan kolistinin minimal, inhibitör konsantrasyon değerlerinin yıllar içerisindeki artış düzeyinin irdelenmesi ve kolistin duyarlılığının altın standart olan sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılarak elde edilen sonuçların, otomatize sistemle bulunan sonuçlarla karşılaştırılması amaçlanmıştır.*

Yöntem: *Ocak 2015-Temmuz 2017 tarihleri arasındaki klinik örneklerden izole edilen 66 karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae suşu çalışmaya dâhil edildi. Otomatize sistemle çalışılan suşların karbapenem duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle de test edildi. Kolistin duyarlılıklarını ölçmek için sıvı mikrodilüsyon testi EUCAST önerileri doğrultusunda kolistin sülfat etken maddesi kullanılarak çalışıldı. Kolistin için MIK aralığı 0.125-64 µg/ml değerleri arasında olacak çalışıldı. Verilerin analizde ki-kare testi kullanıldı.*

Bulgular: *2015 yılında altı (%37.5), 2016 yılında sekiz (%35.8), 2017 yılında 10 (%41.7) olmak üzere toplam 24 (%36.4) suş kolistine dirençli olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede yıllar içerisinde kolistin MİK değerlerinde anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). İki farklı yöntemle bulunan sonuçlar arasında uyumsuzluk görüldü. İki izolatta çok büyük hata, iki izolatta büyük hata saptandı.*

Sonuç: *Çalışmadaki karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae izolatlarının yaklaşık 1/3'inde kolistin direncinin belirlenmiş olması kaygı vericidir. Ayrıca kolistin duyarlılığının altın standart olan sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışıp direnç oranını belirlemek büyük önem taşımaktadır. Bu durum tek başına veya kombine tedavi seçeneklerini azaltmakta bu izolatların ileriki yıllarda tedavisinin daha da zorlaşacağını ve yeni tedavi stratejileri üzerinde çalışılması gerektiğini göstermektedir.*

Anahtar kelimeler: *Karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae, kolistin direnci, kolistin MİK düzeyi*

ABSTRACT

Objective: *Klebsiella pneumoniae can be found colonized on human skin, gastrointestinal flora and nasopharynx. We aimed to examine the increase level of minimal inhibitory concentration values of colistin is alternative treatment in carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae and to compare the results of automated system with gold standard fluid microdilution method of colistin sensitivity.*

Method: *Sixty-six carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae strains isolated from clinical samples between January 2015-July 2017 were included in the study. Carbapenem susceptibilities of strains studied with automated system were also tested by disk diffusion method. To measure colistin sensitivities, liquid microdilution test was studied using colistin sulfate active substance in accordance with EUCAST recommendations. The MIC range for colistin was studied with values between 0.125-64 µg/ml. Chi-square test was used to analyze the data.*

Results: *A total of 24 (36.4%) isolates, 6 (37.5%) in 2015, 8 (35.8%) in 2016 and 10 (41.7%) in 2017, were found to be resistant to colistin. No statistically significant difference was found in the MIC values of colistin over the years (p>0.05). There was discrepancy between the results found by two different methods. Very major errors were detected in two isolates and major errors were detected in two isolates.*

Conclusion: *It is worrisome that carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae isolates were detected in about one-third of colistin resistance. Also, it's important to determine the resistance rates with gold standard fluid microdilution method. This reduces the treatment options alone or in combination, suggesting that these isolates will become more difficult to treat in future and new treatment strategies should be studied.*

Keywords: *Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae, colistin resistance, colistin MIC level*

Alındığı tarih / Received:
05.02.2020 / 05.February.2019

Kabul tarihi / Accepted:
12.03.2020 / 12.March.2020

Yayın tarihi / Publication date:
30.09.2020 / 30.September.2020

ORCİD Kaydı

İ. S. Aygar 0000-0002-3344-3508

✉ drisa1986@hotmail.com

Atıf: Aygar İS. Karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae kökenlerinde yıllar içerisinde kolistin MİK değerindeki artışın in vitro değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):164-71.

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

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

GİRİŞ

Son yıllarda toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oranları giderek yükselmektedir[1]. Nozokomiyal enfeksiyonlar arasında *Enterobacteriacea* ailesi üyeleri en sık izole edilen patojenler arasında olup, bu aile içinde *Klebsiella pneumoniae* ile olan enfeksiyonlar öne çıkmaktadır[2]. *Enterobacteriaceae* üyesi olan *K. pneumoniae*, fırsatçı bir patojen olup, özellikle hastanede yatan ve immün sistemi baskılanmış hastalarda septisemi, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve yumuşak doku enfeksiyonlarında rol oynar. *K. pneumoniae*'de çoklu ilaç direnci, genellikle geniş spektrumlu β-laktamaz (ESBL) ve karbapenemazların üretilmesinden kaynaklanır. Çok ilaca dirençli izolatların yaygınlaşması genellikle bu enfeksiyonlar için verilen antibiyotik tedavisinin başarısızlığına yol açar[3].

Karbapenemler, hızlı bakterisidal etki gösteren betalaktam grubu antibiyotikler yer alan ve bu sınıf içerisindeki antibiyotiklere oranla en geniş etki spektrumuna sahip antibiyotiklerdir. Ayrıca aerop ve anaerop birçok farklı etkenin neden olduğu enfeksiyonlarda yaygın kullanım alanına sahiptirler[4-8]. *Enterobacteriaceae*'larda karbapenem direnci eflüks pompa sistemi aracılığıyla, antibiyotiğin bakteri dışına atılması, karbapenemlere karşı zayıf etki gösteren β-laktamazların sentezlenmesine ek olarak, porin ekspresyonunda kalitatif veya kantitatif eksiklik meydana gelmesi sonrasında karbapenemlerin hücre içine girişinde dirençle karşılaşılması ve karbapenemleri yıkan karbapenemaz enzimlerinin etkisiyle olmak üzere başlıca üç mekanizmayla gelişmektedir[8].

Polipeptid bir antibiyotik yapısı taşıyan polimiksinler ilk kez *Bacillus polymyxa* isimli bakteriden 1947 yılında üretilmiştir[10-12]. Kolistin yapı olarak katyonik formda bir peptiddir ve etki gösterdiği yer ise Gram-negatif bakterilerin anyonik yapıdaki dış membran lipopalisakkaritleridir. Buraya bağlanarak bu moleküllerin stabilitesini arttırır. Böylece divalan katyonların (Ca^{+2}, Mg^{+2}) yer değiştirmesi sonucunda membran geçirgenliği artar ve bakteri ölür[10-12]. *K. pneumoniae, Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi çoklu ilaç tedavilerine direnç gösteren Gram-negatif bakterileri sayılarının son yıllarda artış göstermesi nedeniyle, kolistin kullanımı günden güne artış göstermektedir. Kolistin kullanımının artması nedeniyle de dünya çapında kolistin direncini rastlanılan sorunlardan biri hâline gelmiştir[12]. Kolistin direnç oranları genel olarak %10'un altında olsa da son yıllarda bir artış eğilimi gözlenmektedir[10,13,14].

Karbapenem dirençli enterik bakterilerle enfekte hastaların tedavisinde öne çıkan kolistindeki direnç günümüzdeki önemli klinik sorunlardan biri hâline gelmiştir. Etkenlerin geliştirdiği kolistin direnci çoğunlukla kromozomal mutasyonlar veya plazmidle aracılığıyla ortaya çıkabilmektedir[15]. Direnç oranları genellikle %10'un altında olsa da artış eğilimindedir[10]. Bu dirençle mücadele edebilmek ve klinisyenlere verecekleri tedavilerde yol göstermek için kolistin duyarlılığın araştırılmasında doğru ve güncel bir yöntem seçmek büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında alternatif tedavi olan kolistinin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin yıllar içerisindeki artış düzeyinin irdelenmesi ayrıca kolistin duyarlılığının altın standart olan mikro sıvı dilüsyon yöntemiyle de çalışılarak elde edilen sonuçların, otomatize sistemle (Phoenix 100, Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) bulunan sonuçlarla karşılaştırması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Ocak 2015-Ağustos 2017 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin çeşitli klinik ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalara ait klinik örneklerden tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen karbapenem dirençli 66 *K. pneumoniae* türü dâhil edildi. İdentifikasyon ve duyarlılık testleri Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemde çalışılan bu izolatların karbapenem direnci EUCAST önerileri doğrultusunda imipenem, merope-

nem ve ertapenem diskleri kullanılarak disk diffüzyon yöntemiyle yine çalışıldı.

Sıvı mikrodilüsyon testi EUCAST önerileri doğrultusunda kolistin sülfat (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) etken maddesi kullanılarak çalışıldı. Kolistin için MIK aralığı 0.125-64 µg/ml değerleri arasında olacak şekilde dokuz ayrı konsantrasyonda çalışıldı. Testin kalite kontrolü *P. aeruginosa* ATCC® 27853 kullanılarak yapıldı. Kolistin MİK değeri ≤2 µg/ml olan izolatlar kolistine duyarlı, >2 µg/ml olanlar ise kolistine dirençli olarak kabul edildi.

Çalışmada elde edilen veriler, bilgisayar ortamına aktarılarak IBM SPSS (versiyon 15.0) paket programında değerlendirildi. Verilerin analizde ki-kare testi kullanıldı. İstatistiki anlamlılık değeri olarak $p<0.05$ kullanıldı. Bir antibiyotik duyarlılık testinde orta duyarlıyken, referans testinde duyarlı veya dirençli sonuç vermesi küçük hata (KH); bir antibiyotik duyarlılık testinde dirençliyken, referans testinin duyarlı sonuç vermesi büyük hata (BH); bir antibiyotik duyarlılık testinde duyarlı iken, referans testinin dirençli sonuç vermesi çok büyük hata (ÇBH) olarak tanımlandı[16].

Araştırmaya ait etik görüş ve çalışma izni, SBÜ Ankara Sağlık Araştırma Uygulama Merkezi tarafından (No: 10.05.2017/006) verilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya Ocak 2015-Ağustos 2017 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatı dâhil edildi.

Çalışmada test edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatının izole edildiği örnek türlerine ve servislere göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen izolatların test edilen mikrodilüsyon yöntemiyle kolistine duyarlılıkları, MİK aralıkları, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada <0.125 - >64 µg/ml MİK aralığında test edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumaniae* izolatının mikrodilusyon yöntemiyle kolistine duyarlılıkları, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri.

Yıllar	Duyarlı (%)	Dirençli (%)	$MİK_{50}$ (µg/ml)	$MİK_{90}$ (µg/ml)
2015 (n=16)	10 (%62.5)	6 (%37.5)	1	32
2016 (n=26)	18 (%69.2)	8 (%35.8)	1	>64
2017 (n=24)	14 (%58.3)	10 (%41.7)	1	>64
Toplam	42 (%63.6)	24 (%36.4)	1	>64

Çalışmada test edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumaniae* izolatının mikrodilusyon yöntemiyle ölçülen kolistin MİK değerlerinde yıllar içinde bir artış belirlenmekle birlikte, istatistiksel olarak anlam-

Tablo 1. Çalışmada test edilen 66 karbapenem dirençli K. pneumoniae izolatının izole edildiği örnek türlerine ve servislere göre dağılımı.

	Örnek tipi n (%)				
	Trekeal aspirat	Kan	İdrar	Damar içi kateter	Toplam
Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım	6	6	5	1	18 (27.3)
Acil Dahiliye Yoğun Bakım	2	6	4	-	12 (18.2)
Acil Ameliyat Odası ve Cerrahi Yoğun Bakım	5	1	4	-	10 (15.2)
Nöroloji Yoğun Bakım	-	4	3	2	9 (13.6)
Yenidoğan Yoğun Bakım	-	3	2	-	5 (7.6)
Beyin Cerrahi Yoğun Bakım	-	2	2	-	4 (6.1)
Genel Dâhiliye Yoğun Bakım	-	1	2	-	3 (4.5)
Nöroloji Servis	-	1	-	-	1 (1.5)
Üroloji Servis	-	-	1	-	1 (1.5)
Beyin Cerrahisi Servis	-	1	-	-	1 (1.5)
Gastroenteroloji Servis	-	1	-	-	1 (1.5)
Genel Cerrahi Servisi	-	-	1	-	1 (1.5)
Toplam	13 (19)	26 (38)	24 (36)	3 (7)	66 (100)

Tablo 3. Test edilen yöntemlerle büyük hata ve çok büyük hata belirlenen izolatlar.

Yıllar	İzolat numarası	Mikrodilüsyon (MİK değeri µg/ml)	Otomatize sistem (MİK değeri µg/ml)
2015	5*	4 (R)	1 (S)
2016	42**	2 (S)	8 (R)
2017	47*	16 (R)	1 (S)
2017	53**	0.25 (S)	8 (R)

**Çok büyük hata belirlenen izolatlar; **Büyük hata belirlenen izolatlar; R: Dirençli; S: Duyarlı.*

lı bir artış belirlenememiştir (p>0.05).

Çalışmada, 2015 yılına ait bir, 2016 yılına ait bir ve 2017 yılına ait iki izolatta sıvı mikrodilusyon yöntemi ve Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi sonuçları arasında uyumsuzluk görülmüştür. İki izolatta çok büyük hata, iki izolatta büyük hata saptanmıştır.

Test edilen yöntemlerle büyük hata ve çok büyük hata tespit edilen izolatlar Tablo 3'te verilmiştir.

TARTIŞMA

Karbapenemlere dirençli *K. pneumoniae* izolatları son günlerin önemli sorunu olup, bu direnç oranı giderek artmaktadır. Karbapenem dirençli türler ile mücadelede kolistin, tigesiklin, aminoglikozid grubu antibiyotikler monoterapi veya kombine tedaviler şeklinde öne çıkmaktadır. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatları alternatif tedavi olan kolistinin MİK değerleri giderek direnç kazanmaya başlamıştır[17].

Son zamanlarda karbapenemaz üreten dirençli izolatların tedavisindeki en büyük endişe özellikle kolistin dirençli türlerin ortaya çıkmasıdır[18]. Kolistin dirençli bu türlerin ortaya çıkışı yoğun ve artmış şekilde karbapenem grubu antibiyotiklerin kullanımının bir sonucu olduğu belirtilmektedir[17]. Ayrıca literatürde kolistin direnç gelişimi için en önemli risk faktörünün uzun süre kolistin kullanımı olduğu bildirilmiştir[19]. Geçtiğimiz yıllarda sporadik olarak kolistin ve karbapenem dirençli *Klebsiella* izolatları raporlanmıştır ve zaman ilerledikçe başka olgular da çıkmaktadır[20,21]. Amerika'da ilk kolistin dirençli *Klebsiella* spp. izolatları 2009 yılında raporlanmış olup Yunanistan, Güney Kore ve Amerika Birleşik Devletleri gibi birçok ülkedeki hastanelerde kolistin dirençli karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'lara bağlı salgınlar tanımlanmıştır[17,22]. Kolistin direncini belirlemek için günümüzde yapılan çalışmalar gradyan difüzyon yöntemi (GDY) veya otomatize sistemlerin kullanılmamasını bunların yerine sıvı mikrdilüsyon yönteminin kullanılması gerektiğini vurgulamaktadır. EUCAST'in de bu yönde uyarıları bulunmaktadır[23].

Çalışmamızda, kolistin dirençli izolatların %100'ü yoğun bakım hastalarından izole edilmiştir. Saygılı Pekintürk ve ark.'nın[24] yaptıkları çalışmadaki izolatların 10 (%67)'u idrar, dördü (%27) endotrakeal aspirat, biri (%6) ise kan kültüründen; %73'ü yoğun bakımlardan izole edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise, izolatlar sırasıyla en çok kan kültürü (%38) sonra idrar (%36), trakeal aspirat (%19) izole edilmişken, en az damar içi kateterden (%7) izole edilmiştir.

Saygılı Pekintürk ve ark.[24] 2011-2015 yıllarını kapsayan çalışmada, yatan hastalardan izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve yıllar içerisindeki antibiyotik direnç oranlarının değişimini irdelemişlerdir. Bu çalışmaya 315 *Klebsiella* izolatı dâhil edilmiş olup, bunlardan 293'ü *K. pneumoniae,* 21'i *Klebsiella oxytoca* ve biri *Klebsiella ozanea* olarak belirlenmiştir. Yıllara göre kolistin direnç oranları değerlendirildiğinde, 2012 yılında kolistine 23 izolattan yalnızca bir tanesinde (%4) dirençli belirlenmişken, sonraki yıllarda direnç oranı hızla artmış, 2014'de bu oran %6'ya, 2015'de ise %35'e ulaşmıştır. İtalya'dan bildirilen bir çalışmada, karbapenemaz

üreten *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direncinin 2010-2013 yılları arasında %11'den %27'ye yükseldiği belirtilmiştir[25]. 2008 yılında ABD'de yapılan çalışmada, 60 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatından yalnızca beşinde kolistin direncine rastlanılmıştır[26]. Bizim çalışmamızda ise, 2015 yılında 16 izolattan altısı (%37.5) kolistin dirençli bulunurken, 2016 yılında 26 izolattan sekizi (%30.8), 2017 yılında ise 24 izolattan 10 (%41.7)'u; çalışmamıza dâhil edilen yıllara ait tüm izolatlar beraber değerlendirildiğinde, 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatından 24'ü kolistine dirençli olarak bulunmuşur.

Liste ve ark.[27] Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Ocak 2016 ve Temmuz 2017 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen 151 *Klebsiella* spp. izolatında mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin direnci oranlarını araştırdıkları bir çalışmada, 20 izolatta (%13.2) kolistin direnci saptamışlardır. İzolatların kolistin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerini 0.125 µg/ml ve 8 µg/ml olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise, 2015 yılında $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ oranları sırasıyla 1 µg/ml ve 32 µg/ml; 2016 yılında 1 µg/ml ve >64 µg/ml; 2017 yılında ise 1 µg/ml ve >64 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bütün yıllar beraber değerlendirildiğinde bu değerler $MİK_{50}$ 1 µg/ml ve $MİK_{90}$ 64 µg/ml olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda, otomatize sistem olarak kullandığımız Phoenix™ 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) ile yapılan çalışmalar VITEK® 2 (bioMérieux, Hazelwood, MO, Fransa) ile yapılan çalışmalara göre sayıca daha azdır. Yapılan bir çalışmada, *K. pneumoniae*'nın kategorik uyum (KU) oranı %100, ÇBH oranı %0 ve BH oranı %0 olarak saptamıştır[14]. VITEK® 2 ve sıvı mikrdilüsyon yöntemleri kıyaslanan çalışmalardan birinde, KU oranı %94.1, ÇBH oranı %0.7 ve BH oranı %0 olarak saptanmıştır[28,29]. Türkiye'de sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix™ 100 otomatize sisteminin *K. pneumoniae, A. baumannii* ve *P. aeruginosa* izolatları için yapılan çalışmada, *K. pneumoniae* için ÇBH ve BH oranı %0 olarak bulunmuştur[12]. Bizim çalışmamızda ise, *K. pneumoniae* izolatlarında 2015 yılına ait bir, 2016 yılına ait bir ve 2017 yılına ait iki izolatta sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi sonuçları arasında uyumsuzluk görülmüştür. İki izolatta çok büyük hata, iki izolatta büyük hata saptanmıştır. Çalışmamızda, sıvı mikrodilüsyon yönteminden elde edilen kolistine direnç oranlarıyla karşılaştırıldığında, Phoenix™ 100 otomatize sisteminin KU oranı %93, ÇBH oranı %8, BH oranı için %4 olarak saptanmıştır. ISO 20766 standardı tarafından belirtilen kurallar çerçevesinde Phoenix™ 100 otomatize sisteminin bu sonuçlar dikkate alındığında KU oranına göre kabul edilebilir sınırlarda olduğu ÇBH ve BH oranına göre kabul edilebilir sınırlarda olmadığı görülmektedir.

Altın standart yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak ülkemizde yapılan başka çalışmalarda, kolistin direnci, izolatların %90.7'sinin karbapenem dirençli *K. pneumoniae* olduğu 2018 yılında Yiş'in[30] yaptığı çalışmada, %43.8, izolatların %91.16'nın karbapenem dirençli *K. pneumoniae* olduğu Yıldız ve ark.'nın[31] yaptıkları çalışmada %76.2, izolatların %86.1'inin karbapenem dirençli *K. pneumoniae* olduğu Tanrıverdi Çaycı ve ark.'nın[32] yaptıkları başka bir çalışmada ise %29.7 olarak bulunmuştur. Ülkemizde Kahraman ve ark.'nın[33] retrospektif olarak yaptıkları çalışmada, kök hücre nakli yapılan hastalarda nakil sırasında gelişen enfeksiyonlardan 2012-2018 yılları arasında izole edilen karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının %20'sinin kolistin dirençli olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmalar göz önüne alındığında kolistin direnç sıklıklarının yakın tarihlerde izole edilen izolatlarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 2012-2018 yılları arasındaki izolatlardan yapılan Kahraman ve ark.'na[33] ait çalışmada, diğer çalışmalara göre daha düşük bulunan kolistin direnci daha eski yıllarda izole edilen örneklerinde çalışmaya dâhil edilmiş olması ile açıklanabilir. Yalnızca yakın tarihli izolatlarla yapılan çalışmalarda ise, direnç daha yüksek oranlarda bulunmuştur[31,32,34]. Bu durum kolistin direncinin yıllar içerisinde arttığını ve yüksek yayılım gösterdiğini göstermektedir. Çalışmamızda ise, 2015 yılında 16 izolattan altısı (%37.5), kolistin dirençli bulunurken, 2016 yılında bu oran düşerek 26 izolat-

tan sekizi (%30.8), 2017 yılında ise bu oran hızla artarak 24 izolattan 10 (%41.7)'u kolistin dirençli bulunmuştur. Bu artış istatiksel olarak anlamlı bulunmasa da (p>0.05) çalışmamızda belirlenen ve diğer yapılan çalışmalarda önceki yıllarla kıyaslandığında, daha yakın tarihlerdeki izolatlarda direnç oranının artmış bulunması önümüzdeki yıllar için bu sorunun giderek artacağını ve gerekli önlemlerin alınmasının önemini göstermektedir.

Rojas ve ark.'nın[35] 2011-2014 yılları arasındaki karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında yaptıkları kolistin duyarlılığı için sıvı mikrodilüsyon ve E-test yöntemini kıyasladıkları çalışmada kolistin direnci %13 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise, 2015-2017 arasındaki karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direnç oranı %36.4 olarak bulunmuştur. Bu bulgular da yine yıllar geçtikçe kolistin direnç oranlarının arttığını gösterir yöndedir.

Bu durumda kolistin duyarlılığının altın standart olan sıvı mikrodilüsyon ile çalışıp direnç oranını belirlemek büyük önem taşımaktadır. Kolistin duyarlılığının sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmasının rutin laboratuvar uygulamalarında kullanılmasıyla elde edilecek sonuçlar klinisyenlerin doğru tedaviyi vermesinde ve direnç oranlarının takip edilerek gerekli önlemlerin alınmasında daha etkili olacaktır. Tek ajan olarak kolistinin yüksek oranlarda kullanılması yerine başka antibiyotiklerle kombine edilerek sinerjik etkilerinin kullanılması hızla artan kolistin direnciyle mücadelede etkili bir yol olarak değerlendirilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kotapati S, Kuti J L, Nightingale C H, Nicolau D P. Clinical implications of extended spectrum β-lactamase (ESBL) producing *Klebsiella* species and *Escherichia coli* on cefepime effectiveness. J Infect. 2005;51(3):211-7. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2005.01.005
2. Segatore B, Setacci D, Perilli M, et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Enterobacteriaceae* producing complex β-lactamase patterns including extended-spectrum enzymes. Int J Antimicrob. 2004;23(5):480-6. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.10.011
3. Eftekhar F, Naseh Z. Extended-spectrum β-lactamase and carbapenemase production among burn and non-burn clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae.* Iran J Microbiol. 2015;7(3):144-9.
4. Deshpande LM, Rhomberg PR, Sader HS, Jones RN. Emergence of serine carbapenemases (KPC and SME) among clinical strains of *Enterobacteriaceae* isolated in the United States Medical Centers: report from the MYSTIC Program (1999-2005). Diagn Microbiol Infect Dis. 2006;56(4):367-72. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.07.004
5. Zhanel G G, Wiebe R, Dilay L, et al. Comparative review of the carbapenems. Drugs. 2007;67(7):1027-52. https://doi.org/10.2165/00003495-200767070-00006
6. Parra Millán R, Jiménez Mejías ME, Sánchez Encinales V, et al. Efficacy of lysophosphatidylcholine in combination with antimicrobial agents against *Acinetobacter baumannii* in experimental murine peritoneal sepsis and pneumonia models. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(8):4464-70. https://doi.org/10.1128/AAC.02708-15
7. Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, et al. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control. Clin Microbiol Infect. 2010;16(2):102-11. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03115.x
8. Budak S, Aktaş Z, Erdem H. Enterik gram negatif bakterilerde laboratuvardan kliniğe karbapenemazlar. Mediterr J Infect Microbes Antimicrob 2012;(1):1-11.
9. Queenan A M, Bush K. Carbapenemases: the versatile β-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2007;20(3):440-58. https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07
10. Matzneller P, Strommer S, Österreicher Z, Mitteregger D, Zeitlinger M. Target site antimicrobial activity of colistin might be misestimated if tested in conventional growth media. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015;34(10):1989-94. https://doi.org/10.1007/s10096-015-2441-7
11. Osei Sekyere J, Govinden U, Bester LA, Essack SY. Colistin and tigecycline resistance in carbapenemase-producing Gram-negative bacteria: emerging resistance mechanisms and detection methods. J Appl Microbiol. 2016;121(3):601-17. https://doi.org/10.1111/jam.13169
12. Tüzemen NÜ, Efe K, Akalın H, Özakın C. Otomatize sistemde kolistin direnci saptanan izolatların gradyan difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle retrospektif olarak değerlendirilmesi. Klimik Journal. 2019;32(1):57-61. https://doi.org/10.5152/kd.2019.13
13. Grégoire N, Aranzana-Climent V, Magréault S, Marchand S, Couet W. Clinical pharmacokinetics and

pharmacodynamics of colistin. Clin Pharmacokinet. 2017;56(12):1441-60.
https://doi.org/10.1007/s40262-017-0561-1

14. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, et al. Comparative evaluation of colistin susceptibility testing methods among carbapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(8): 4625-30.
https://doi.org/10.1128/AAC.00868-15
15. Özkul-Koçak C, Hazırolan G. Karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatlarında kolistin direnci. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2019;49(1):17-23.
https://doi.org/10.5222/TMCD.2019.017
16. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Development of in-vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters. Approved Guideline. 3rd ed. CLSI Document M23-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
17. Munoz-Price L S, Poirel L, Bonomo R A, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. Lancet Infect Dis. 2013;13(9):785-96.
https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70190-7
18. Labarca J, Poirel L, Ozdamar M, Turkoglü S, Hakko E, Nordmann P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. New Microbes New Infect. 2014;2(2):50-1.
https://doi.org/10.1002/nmi2.42
19. Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH. Colistin heteroresistance in *Acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(1):351-2.
https://doi.org/10.1128/AAC.00766-07
20. Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, et al. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. J Antimicrob Chemother. 2007;59(4):786-90.
https://doi.org/10.1093/jac/dkl562
21. Suh JY, Son JS, Chung DR, Peck KR, Ko KS, Song JH. Nonclonal emergence of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from blood samples in South Korea. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(1): 560-2.
https://doi.org/10.1128/AAC.00762-09
22. Marchaim D, Chopra T, Pogue JM, et al. Outbreak of colistin-resistant, carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in metropolitan Detroit, Michigan. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(2):593-9.
https://doi.org/10.1128/AAC.01020-10
23. Giske CG, Kahlmeter G. Colistin antimicrobial susceptibility testing-can the slow and challenging be replaced by the rapid and convenient?. Clin Microbiol Infect. 2018;24(2):93-4.
https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.10.007
24. Saygılı-Pekintürk N, Akgüneş A. Yatan hastalardan izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotik direnç oranları: 2011-2015 verileri. Turk Hij Den Biyol Derg. 2017;74(3):221-8.
https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2017.66933
25. Candevir Ulu A, Kurtaran B, Inal AS, et al. Risk factors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: a serious threat in ICUs. Med Sci Monit. 2015;21:219-24.
https://doi.org/10.12659/MSM.892516
26. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008;29(11):996-1011.
https://doi.org/10.1086/591861
27. Liste Ü, Nigiz Ş, Çakar A, Altun B, Sancak B, Gür D. Kan kültürlerinden izole edilen 151 *Klebsiella* izolatında mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen antibiyotiklere direnç oranları (2016-2017). 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 8-12 Kasım 2017, Antalya, PS:117.
28. Piewngam P, Kiratisin P. Comparative assessment of antimicrobial susceptibility testing for tigecycline and colistin against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates, including multidrug-resistant isolates. Int J Antimicrob Agents. 2014;44(5):396-401.
https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.014
29. Chew KL, La MV, Lin RTP, Teo JWP. Colistin and polymyxin B susceptibility testing for carbapenem-resistant and mcr-positive *Enterobacteriaceae*: Comparison of Sensititre, MicroScan, Vitek 2, and Etest with broth microdilution. J Clin Microbiol. 2017;55(9):2609-16.
https://doi.org/10.1128/JCM.00268-17
30. Yiş R. Karbapenem dirençli Enterobacterales (KDE) izolatlarında kolistin duyarlılığını ne kadar doğru saptıyoruz? XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-039.
31. Yıldız SS, Kaşkatepe B, Şimşek H, Sarıgüzel FM. Fosfomisin çok ilaca dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinde çare mi, çaresiz mi? XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, 2018:SS-085.
32. Tanrıverdi Çaycı Y, Hacıeminoğlu K, Birinci A. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının tedavisinde tigesiklin, kolistin, fosfomisin ve gentamisin antibiyotiklerinin etkinliğinin araştırılması. XXXVIII Türk

Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-109.
33. Kahraman S, Ece G, Ocakçı S, Çağırgan S. Hastanemize başvuran hematolojik maligniteli hastalarda allogeneik hematopoetik kök hücre nakli esnasında gelişen enfeksiyonların değerlendirilmesi. XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-040.
34. Arabacı Ç, Dal T, Başyiğit T, Genişel N, Durmaz R. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnç mekanizmalarının değerlendirilmesi ve mcr-1 geninin araştırılması. XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-084.
35. Rojas LJ, Salim M, Cober E, et al. Colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory detection and impact on mortality. Clin Infect Dis. 2017;64(6):711-8. https://doi.org/10.1093/cid/ciw805

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(3):172-7
doi:10.5222/TMCD.2020.172

Araştırma / *Research Article*

Üriner Sistem Enfeksiyonu Etkeni *Escherichia coli* İzolatlarının Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Oranlarının Değerlendirilmesi

Evaluation of Resistance Rates of Escherichia coli Isolates of Urinary Tract Infection to Various Antibiotics

Fatma Avcıoğlu, Mustafa Behçet

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu

ÖZ

Amaç: *Hem dünyada hem de ülkemizde Escherichia coli üriner sistem enfeksiyonlarının en sık nedenidir. Gelişen bakteriyel direnç mekanizmaları bu enfeksiyonların tedavisini de kısıtlamaktadır. Tedavide kullanılacak antibiyotiklerin doğru bir antibiyotik duyarlılık testi sonucuna göre belirlenmesi gelişen antibiyotik direncini kontrol altına almakta büyük önem taşımaktadır. Hastanemizde görülen üriner sistem enfeksiyonları etkeni olan E. coli izolatlarının çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının ve direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.*

Yöntem: *01.01.2018-01.11.2019 tarihleri arasında, hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonu ön tanısı ile gönderilen idrar örnekleri hastane arşivinden retrospektif olarak incelenmiştir. İdrar kültür örneklerinde üreme saptanan örneklerin bakteri tanımlanmasında ve antibiyotik duyarlılıklarının tespitinde tam otomatize cihaz (Vitek 2, bioMérieux, Fransa) kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST) 2018 standartlarına uygun olarak minimal inhibitör konsantrasyonlarına göre yorumlanmıştır.*

Bulgular: *Toplam 22.774 idrar örneğinden 1.962'sinde (%9) üreme saptanmıştır. Bunlardan 1.466'sı (%75) E. coli olarak tanımlanmıştır. İzolatların antibiyotik dirençleri incelendiğinde, %81'inde ampisilin, %18'inde gentamisin, %40'ında trimetoprim-sülfametoksazol, %4'ünde nitrofurantoin, %4'ünde fosfomisin, %46'sında amoksisilin-klavulanik asit, %42'sinde sefiksim, %41'inde siprofloksasin, %5'inde amikasin, %2'sinde imipenem direnci saptanmıştır.*

Sonuç: *Bu çalışmada, etkeni E. coli olan üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde ampirik olarak ampisilin, amoksisilin klavulanik asit antibiyotiklerinin kullanımının uygun olmayacağı, fosfomisin, nitrofurantoin antibiyotiklerinin tercih edilmesinin daha uygun olacağı anlaşılmıştır.*

Anahtar kelimeler: *Escherichia coli, antibiyotik, direnç, üriner sistem enfeksiyonları*

ABSTRACT

Objective: *Escherichia coli is the most common cause of urinary tract infections both in the world and in our country. Increase in bacterial resistance mechanisms also limit the treatment of these infections. Selection of antibiotics to be used according to an accurate antibiotic susceptibility test result is of great importance in controle of antibiotic resistance. We aimed to determine the susceptibility and resistance in E. coli, which is one of the pathogens in urinary tract infection in our hospital, to various antibiotics.*

Method: *Between 01.01.2018-01.11.2019, urine samples obtained from patients with an uncomplicated diagnosis of urinary tract infections, sent to the microbiology laboratory of our hospital, were analyzed retrospectively through the hospital archive. Fully automated device (Vitek2, bioMerieux, France) was used to identify bacteria in the urine culture and to determine antibiotic susceptibilities. Antibiotic susceptibility tests reults were interpreted according to minimal inhibitory concentrations in accordance with the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) 2018 standards.*

Results: *Out of a total of 22,774 urine samples, reproduction was detected in 1,962 (9%). Of these, 1466 (75%) were identified as E. coli. The analysis of the antibiotic susceptibility test results have indicated that isolates were resistant to ampicillin in 81%, gentamicin in 18%, trimethoprim-sulfamethoxazole in 40%, nitrofurantoin in 4%, phosphomycin in 4%, amoxicillin-clavulanic acid in 46%, cefixime in 42%, ciprofloxacin in 41%, amikacin in 5%, imipenem in 2%.*

Conclusion: *In this study, it was understood that the use of ampicillin, amoxicillin clavulanic acid would not be appropriate, and phosphomycin and nitrofurantoin would be more appropriate in the treatment of urinary tract infections with the effect of E. coli.*

Keywords: *Escherichia coli, antibiotic, resistance, urinary tract infection*

Alındığı tarih / Received:
10.02.2020 / 10.February.2020

Kabul tarihi / Accepted:
20.04.2020 / 20.April.2020

Yayın tarihi / Publication date:
30.09.2020 / 30.September.2020

ORCİD Kayıtları

F. Avcıoğlu 0000-0002-6011-7775
M. Behçet 0000-0002-5676-6983

✉ fatmaavcioglu@yahoo.com.tr

Atıf: Avcıoğlu F ve Behçet M. Üriner sistem enfeksiyonu etkeni *Escherichia coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):172-7.

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

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

GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE) tanımı üriner sistemde bir ve/veya daha fazla bakterinin enfeksiyonu olarak bilinmektedir. Gelişen teknolojik laboratuvar tanı metotları (16S rRNA sekanslaması) ile idrarın da flora bakterilerini içerdiği bilinmektedir[1]. ÜSE'leri aynı zamanda anatomik lokalizasyon (alt; sistit, üst; pyelonefrit) ve klinik prezentasyona (komplike, komplike olmayan) göre de sınıflandırılabilirler[2].

Hem dünyada hem de ülkemizde *Escherichia coli* ÜSE'lerin en sık görülen nedenidir[3]. *E. coli* bakterileri birçok farklı enfeksiyonda da etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Gelişen bakteriyel direnç mekanizmaları bu enfeksiyonların tedavisini de kısıtlamaktadır. Tedavide kullanılacak antibiyotiklerin doğru bir antibiyotik duyarlılık testi sonucuna göre belirlenmesi gelişen antibiyotik direncini kontrol altına almakta büyük önem taşımaktadır[4]. İdrar kültüründe *E. coli* üremesi olan örneklerde antibiyotiklere karşı direnç oranlarının belirlenmesi klinisyen tarafından seçilecek doğru antibiyotiğe yol gösterici olmaktadır. Doğru tedavi hastaların hastanede kalış sürelerinin azalmasına, tedavi maliyetlerinin düşmesine, morbidite ve mortalite oranlarının azalmasına da neden olmaktadır[5].

Bu çalışmada, hastanemizde görülen ÜSE etkeni olan *E. coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının ve direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 2019/332 karar numarasıyla etik kurul onayı verilmiştir. 01.01.2018-01.11.2019 tarihleri arasında, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na komplike olmayan ÜSE ön tanısı ile gönderilen idrar örnekleri hastane arşivinden retrospektif olarak taranmıştır. Yineleyen hasta sonuçlarından yalnızca bir tanesi çalışmaya dâhil edilmiştir. Toplamda üreme sonucu *E. coli* olarak belirlenen 1.466 idrar örneği incelenmiştir. İdrar örnekleri %5 koyun kanlı agar (RTA, Türkiye) ve Eosin-Methylene Blue (RTA, Türkiye) agar besiyerlerine kantitatif olarak inoküle edilmiştir. Ekim işlemleri 0.001 ml hacminde, 4 mm çapında tek kullanımlık özeler kullanılarak biyogüvenlik (Düzey 2) kabininde yapılmıştır. Besiyerleri 35±2°C ısı aralığında 18-24 saat süre aralığında etüvde inkübe edilmiştir. Kültür örneklerinde üreme saptanması hâlinde şüpheli koloniler; identifikasyon ve antibiyotik duyarlılıkları için işleme alınmıştır. İdentifikasyon ve antibiyogram testleri tam otomatize cihaz (Vitek2, bioMérieux, Fransa) ile çalışılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST) 2018[6] standartlarına uygun olarak minimal inhibitör konsantrasyonlarına (MİK) göre yorumlanmıştır. Çalışmamızda, EUCAST 2018 dokümanına göre MİK değeri "orta duyarlı" olarak sonuçlanabilen antibiyotiklerin (gentamisin, trimetoprim sulfametaksazol, amikasin, imipenem ve siprofloksasin) bu aralıktaki MİK değerlerine rastlanmamıştır. Kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

Duyarlılık sonuçları frekans ve yüzdelerle özetlenmiştir. Veri dağılımları göz önünde bulundurularak gruplar arasındaki farklar tek örneklem için ki-kare uyum iyiliği testi, Pearson ki-kare testi ve Fisher'ın kesin testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. İstatistiksel testler için anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Laboratuvarda incelenen toplam 22.774 idrar örneğinden 1.962 adetinde üreme saptanmıştır. Bunlardan 1.466 (%75)'sının idrar kültüründe $\geq 10^5$ cfu/ml *E. coli* ürediği saptanmıştır. İzole edilen *E. coli* bakterisine ait antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 1'de istatistiksel değerlendirme sonuçları ile birlikte gösterilmiştir. Antibiyotikler arasında duyarlılık ve direnç oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmüştür ($p<0.001$). İzolatların %81'inde ampisilin direnci, %46'sında amoksisilin klavulanik asit,

Tablo 1. Komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonu etkeni *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık ve direnç durumları (EUCAST MIK değerlerine göre).

Antibiyotikler	S n (%)	R n (%)	p
Ampisilin	281 (19)	1185 (81)	<0.001
Gentamisin	1200 (82)	266 (18)	<0.001
Trimetoprim-sülfametoksazol	881 (60)	585 (40)	<0.001
Nitrofurantoin (yalnızca komplike olmayan İYE)	1404 (96)	62 (4)	<0.001
Fosfomisin oral (yalnızca komplike olmayan İYE)	1411 (96)	55 (4)	<0.001
Amoksisilin-klavulanik asit (yalnızca komplike olmayan İYE)	796 (54)	670 (46)	0,001
Sefiksim (yalnızca komplike olmayan İYE)	843 (58)	623 (42)	<0.001
Siprofloksasin	859 (59)	607 (41)	<0.001
Amikasin	1399 (95)	67 (5)	<0.001
İmipenem	1444 (98)	22 (2)	<0.001

*S: Duyarlı, R: Dirençli; *: χ^2 testi*

%42'sinde sefiksim, %41'inde siprofloksasin direnci saptanmıştır. En fazla duyarlılık %98 oranında imipenem antibiyotiğine karşı bulunmuştur. Bununla beraber, en fazla duyarlı olan diğer antibiyotikler nitrofurantoin (%96) ve fosfomisin (%96) olmuştur.

TARTIŞMA

Üriner sistem enfeksiyonları hem toplumda hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında en sık görülen enfeksiyon türlerindendir. Türkiye'de Aral ve ark.[7], Sağlam ve ark.[8], Zengin ve ark.'nın[9] yaptıkları çalışmalarda, ÜSE'larında görülen *E. coli* oranları %70-95 arasında değişmektedir. Bu çalışmada, idrar kültürlerinde %75 oranında *E. coli* ürediği saptanmış ve bu oranın Türkiye verileri ile uyumlu olduğu düşünülmüştür[3,10,11].

Üriner sistem enfeksiyonlarında kesin tanı ve tedavi kültür sonucuna göre yapılır[12]. Kültür işlemlerinin uzun sürmesi, sonuç süresinin üç güne kadar uzaması bu tür enfeksiyonlarda ampirik antibiyotik tedavisinin yaygın olarak kullanılmasına yol açmaktadır[13]. Hekimler tarafından ilk olarak seçilen antibiyotikler genellikle trimetoprim/sülfametoksazol (TMP-SXT), siprofloksasin, nitrofurantoin, fosfomisin ve beta-laktamaz inhibitörü içeren veya içermeyen beta laktam gurubu antibiyotiklerdir[14,15]. Bütün enfeksiyonlarda olduğu gibi ÜSE'da da bakterilerde gelişen antibiyotik direnç oranları giderek artmaktadır[16]. Türkiye'de antibiyotik duyarlılık sonuçlarının değerlendirilmesi 2015 yılı öncesinde "Clinical Laboratory Standards Institute" (CLSI)'a göre yapılmaktaydı. Avrupa Birliği'ne üye ve coğrafi olarak komşu olduğumuz birçok ülkede Türkiye'de olduğu gibi EUCAST standartlarına göre antibiyotik duyarlılık testleri değerlendirilmektedir. EUCAST standartlarının ülkemizde kullanılmaya başlanmasıyla bazı antibiyotiklerin direnç profillerinde ufak değişiklikler olmuştur. MİK sınır değerlerindeki azalma antibakteriyel direnç oranını da arttırmıştır[4,17]. Artmış olan antibakteriyel direnç ampirik tedavinin yönünü de değiştirmektedir[18].

Üriner sistem enfeksiyonları tedavisinde ampirik olarak tercih edilen antibiyotikler genellikle; kinolonlar, sefalosporinler, aminoglikozitler ve TMP-SXT olarak söylenebilir[8,19]. Ne yazık ki bu antibiyotiklerin yoğun ve kültür odaklı kullanılmaması nedenleriyle direnç oranlarında değişiklikler olmuştur[20]. TMP-SXT direnci 2011-2018 yılları arasında ülkemizde yapılan çalışmalarda, %20-60 arasında bildirilmiştir[17,21-24]. Bu çalışmada, TMP-SXT direnci %40 olarak belirlenmiş olup, Türkiye verileri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda, ampisilin direnci %44-74 arasında bildirilmiştir[7,22,25]. Aral ve ark.[7] ile bu çalışmada, en fazla ampisilin direncinin tespit edildiği görülmüştür. Ampisilin ÜSE'da çocukluk çağında daha çok tercih edilen bir antibiyotiktir. Dünya genelinde yapılan bir metaanaliz çalışmasında, "Organisation for Economic Cooperation and Development"(OECD) statüsü baz alınarak ülkeler iki gurupta incelenmiştir. Buna göre 0-17 yaş gurubunda, ÜSE etkeni *E. coli* bakterisinin antimikrobiyal

direnç profilleri belirtilmiştir[26]. Türkiye bu çalışmada, OECD ülkeleri arasında yer almış ve ampisilin direncinin %67 olduğu belirtilmiştir. Tüm çalışmada ise ampisilin direnci OECD ülkeleri arasında %53.4, OECD dışı ülkeler arasında %79.8 olarak belirtilmiştir[26]. Çalışmamızda, ampisilin direnci %81 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, çalışmamızda elde edilen ampisilin direnci Avrupa ülkelerine nazaran daha yüksek oranda bulunmuştur.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda, gentamisine karşı direnç oranlarını Sağlam ve ark.[8] %19.3, Varışlı ve ark.[23] %13, Şahin ve ark.[5] %37.2 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada, gentamisin direnci %18 saptanmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, Sağlam ve ark.[8] ile çalışmamızın sonuçlarının benzer oranlarda olduğu fakat Şahin ve ark.[5]'ına göre daha düşük oranda olduğu görülmüştür. Bunun nedeni olarak Şahin ve ark.'nın[25] yapmış oldukları çalışmada, yalnızca kinolon dirençli *E. coli* izolatlarını değerlendirmeleri olabileceği düşünülmüştür. Sefiksim, ampisilin gibi daha çok pediatrik yaş gurubunda tercih edilmektedir. Sefalosporinlerin üçüncü kuşağında yer alan bu antibiyotiğe karşı direnç profili ülkemizde yapılan çalışmalarda pek gösterilmemiştir. Yalnızca Aşgın ve ark.[25] ile Çoban ve ark.[27] yapmış oldukları çalışmalarda, sefiksim direncini %15.8 ile %26.3 oranında belirtmişlerdir. Bu çalışmada, sefiksim direnci %42 olarak bulunmuştur. Bölgemizde ampisilin ve sefiksim direnç oranları Türkiye ortalamalarına göre daha yüksek bulunmuştur. Çocukluk çağında kullanılan bu antibiyotiklerin kullanım politikalarının yeniden gözden geçirilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Ülkemizde beta laktamaz direncinin giderek artması nedeniyle betalaktam ve beraberinde beta laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar daha çok tercih edilmeye başlanmıştır[8]. Bunlardan en çok kullanılan amoksisilin klavulanik asite karşı çalışmamızda elde edilen direnç %46 olarak bulunmuştur. Türkiye'de yapılan çalışmalarda, amoksisilin-klavulanik asit direncini Zengin ve ark.[9] %42, Maçin ve ark.[17] %38.3, Öztürk ve ark.[28] %41 olarak saptamışlardır. ÜSE'da ampirik olarak en çok tercih edilen antibiyotiklerden birisi de kinolon gurubudur. Siprofloksasine karşı direnç oranı %10'un altında ise ampirik olarak tercih edilmesi uygun kinolon gurubu bir antibiyotiktir[14]. Bu çalışmada elde edilen siprofloksasin direnci %41 olarak saptanmış olup, ÜSE'da kültür sonucuna göre kullanılmasının daha uygun olacağı düşünülmüştür. Çalışmamızda en az direnç nitrofurantoin, fosfomisin ve imipenem antibiyotiklerine karşı görülmüştür. Fosfomisine karşı direnç oranı konusunda ülkemizde yapılan çalışmalarda Tekin ve ark.[24] %3, Bayram ve ark.[22] %5, Aşgın ve ark.[25] %4.1 olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada, fosfomisin direnci %4 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızın kısıtlılığı; kullanılan antibiyotik duyarlılık testleri olarak yalnızca tam otomotize cihaz sonucunun verdiği MİK değerlerine göre sonuçların değerlendirilmiş olması ve farklı metotlarla doğrulatılmamasıdır. Ayrıca çalışmanın retrospektif olması nedeniyle hastaların risk faktörleri bakımından değerlendirilmemiş olması da diğer bir kısıtlılıktır.

Sonuç olarak bu çalışmada, ampisilin, amoksisilin klavulanik asit, TMP-SXT ve siprofloksasin antibiyotiklerinin direnç oranları fosfomisin, nitrofurantoin, amikasin, imipenem ve gentamisine göre daha yüksek bulunmuştur. Bölgemizde ÜSE'larının ampirik tedavisine bu sonuçların katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Hilt EE, McKinley K, Pearce MM, et al. Urine is not sterile: Use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. J Clin Microbiol. 2014;52(3):871-6. https://doi.org/10.1128/JCM.02876-13
2. Price TK, Dune T, Hilt EE, et al. The clinical urine culture: Enhanced techniques improve detection of clinically relevant microorganisms. J Clin Microbiol. 2016;54(5):1216-22. https://doi.org/10.1128/JCM.00044-16
3. Aykan BŞ, Çiftci İH. Türkiye'de idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: Bir meta-analiz. Mikrobiyol Bul. 2013;47(4): 603-18. https://doi.org/10.5578/mb.6383

4. Süzük S, Kaşkatepe B, Avcıküçük H, Aksaray S, Başustaoğlu A. CLSI'dan EUCAST'e geçişte üriner sistem enfeksiyonu etkeni *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının karşılaştırılması. Mikrobiyol Bul. 2015;49(4):494-501. https://doi.org/10.5578/mb.10106
5. Şahin K, Altan G. Kinolon dirençli *Escherichia coli* izolatlarında diğer antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması. J Biotechnol Strateg Health Res. 2019;3(3):197-202. https://doi.org/10.34084/bshr.611956
6. EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, valid from 2018-05-15 [http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/pre-viou]. (erişim tarihi 1 Kasım 2019).
7. Aral M, Kireçci E, Doğan SŞ. İdrar örneklerinden izole edilen gram negatif bakteriler ve antibiyotiklere direnç oranlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2011;41(4):139-42. https://doi.org/10.5222/TMCD.2011.139
8. Sağlam HS, Öğütlü A, Demiray V, Karabay O. Üriner enfeksiyonlarda toplum kökenli *Escherichia coli*'nin yeri ve gelişen antibiyotik direnci. Nobel Med. 2012;8(1):67-71.
9. Zengin K, Tanık S, Albayrak S, Taken K, Pirinççi N. Van bölgesi'ndeki üriner sistem enfeksiyon etkenleri ve antibiyotik duyarlılıkları. Bozok Tıp Derg. 2014;4(1):1-5. https://doi.org/10.16919/btd.30666
10. Denk A, Tartar AS. İdrar kültürlerinden izole edilen toplum kökenli *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Derg. 2015;29(2):51-5.
11. Gül S, Ecemiş E, Kaçmaz B, Kaygusuz S, Ayaşlıoğlu E, Kılıç D. İdrar kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 2016;16(3):17-21. https://doi.org/10.24938/kutfd.124899
12. Sobel JD, Kaye D. Urinary Tract Infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010:957-83.
13. Etienne M, Lefebvre E, Frebourg N, et al. Antibiotic treatment of acute uncomplicated cystitis based on rapid urine test and local epidemiology: Lessons from a primary care series. BMC Infect Dis 2014;14:137. https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-137
14. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: A 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. Clin Infect Dis. 2011;52(5): e103-20. https://doi.org/10.1093/cid/ciq257
15. Taşbakan MI, Pullukçu H, Sipahi OR, Yamazhan T, Arda B, Ulusoy S. A pooled analysis of the resistance patterns of *Escherichia coli* strains isolated from urine cultures in Turkey: A comparison of the periods 1997-2001 and 2002-2007. Turkish J Med Sci. 2011;41(3):557-64. https://doi.org/10.3906/sag-1006-893
16. Van der Bij AK, Van Dijk K, Muilwijk J, et al. Clinical breakpoint changes and their impact on surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* causing bacteraemia. Clin Microbiol Infect. 2012;18(11):E466-72. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03996.x
17. Maçin S, Akyön Yılmaz Y, Özden Ö, Gür D. *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii* ve *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının EUCAST ve CLSI'ya göre yorumlanması: Hacettepe deneyimi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2017;47(1):21-5. https://doi.org/10.5222/tmcd.2017.021
18. Kaki R, Elligsen M, Walker S, Simor A, Palmay L, Daneman N. Impact of antimicrobial stewardship in critical care: A systematic review. J Antimicrob Chemother 2011;66(6):1223-30. https://doi.org/10.1093/jac/dkr137
19. Mehnert-Kay SA. Diagnosis and management of uncomplicated urinary tract infections. Am Fam Physician. 2005;72(3):451-56.
20. Nguyen T. Bacterial infections of the urinary tract. In: Tanagho EA, McAninch JW. (eds.) Smith's & Tanako's General Urology, 16th Ed., McGraw Hill, 2004:203-27.
21. Coşkun USŞ, Coşkun G. Bir devlet hastanesinde poliklinik hastalarına ait idrar örneklerinden izole edilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz pozitif *Escherichia coli* suşlarının prevalans ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Kocatepe Tıp Derg. 2015;16(1):25-30. https://doi.org/10.18229/ktd.27083
22. Bayram Y, Eren H, Berktas M. İdrar örneklerinden izole edilen bakteriyel patojenlerin dağılımı ve GSBL pozitif ve negatif *Escherichia coli* suşlarının fosfomisin ve diğer antimikrobiyallere duyarlılık paterni. Ankem Derg. 2012;25(4):232-36. https://doi.org/10.5222/ankem.2011.232
23. Varışlı AN, Cetin Hazırolan G, Kocagul Celikbas A, Aksoy A. Resistance patterns of gram negative bacteria in urinary tract infections and efficacy of empirical treatment in noncomplicated cases: Retrospective cohort study of 2180 women. J Surg Med. 2018;2(2):99-104.

https://doi.org/10.28982/josam.399562
24. Tekin A, Deveci Ö, Dal T, et al. Üropatojen *Escherichia coli* izolatlarına fosfomisin ve bazı antibiyotiklerin in vitro etkinliği. Ankem Derg. 2012;26(2):61-8. https://doi.org/10.5222/ankem.2012.061
25. Aşgın N, Kal Çakmaklıoğulları E. Karabük ilinde toplum kökenli pediatrik üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının in-vitro antibiyotik direnç profili. J Contemp Med. 2017;7(3):241-5. https://doi.org/10.16899/gopctd.349939
26. Bryce A, Hay AD, Lane IF, Thornton HV, Wootton M, Costelloe C. Global prevalence of antibiotic resistance in paediatric urinary tract infections caused by *Escherichia coli* and association with routine use of antibiotics in primary care: Systematic review and meta-analysis. BMJ. 2016;352. https://doi.org/10.1136/bmj.i939
27. Çoban B, Ülkü N, Kaplan H, Topal B, Erdoğan H, Baskın E. Çocuklarda idrar yolu enfeksiyonu etkenleri ve antibiyotik dirençlerinin beş yıllık değerlendirmesi. Turk Ped Arş. 2014;49(2):124-29. https://doi.org/10.5152/tpa.2014.1505
28. Öztürk CE, Kaya AD, Göçmen Ş, Arslan E. Toplum kaynaklı idrar yolu infeksiyonu etkeni olan *Escherichia coli i*zolatlarının fosfomisin ile idrar yolu infeksiyonlarında sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları. Ankem Derg. 2008;22(2):81-4.

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(3):178-82
doi:10.5222/TMCD.2020.178

Olgu Sunumu / *Case a Report*

İtrakonazol ve Kryoterapi Kombinasyonu ile Tedavi Edilen Bir Kutanöz Leishmaniasis Olgusu

A Case of Cutaneous Leishmaniasis Treated with Combination of Itraconazole and Cryotherapy

Yener Özel*, Sinan Özçelik, İbrahim Çavuş***, Rana Başara**, Mehmet Ünlü*, Ahmet Özbilgin*****

*Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir
**Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Balıkesir
***Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa

Alındığı tarih / Received:
31.01.2020 / 31.January.2020
Kabul tarihi / Accepted:
19.02.2020 / 19.February.2020
Yayın tarihi / Publication date:
30.09.2020 / 30.September.2020

ORCİD Kayıtları

Y. Özel 0000-0001-6618-8251
S. Özçelik 0000-0003-2115-276X
İ. Çavuş 0000-0002-3860-0146
R. Başara 0000-0003-3230-3383
M. Ünlü 0000-0001-8023-2976
A. Özbilgin 0000-0003-3613-8741

✉ yener_ozel@hotmail.com

Atıf: Özel Y, Özçelik S, Çavuş İ, Başara R, Ünlü M. İtrakonazol ve kryoterapi kombinasyonu ile tedavi edilen bir kutanöz Leishmaniasis Olgusu. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):178-82.

ÖZ

Leishmaniasis, kamçılı protozoonlardan olan Leishmania türlerinin neden olduğu, insanlara Phlebotomus cinsi dişi kum sinekleri ile bulaşan paraziter bir hastalıktır. Leishmaniasisin en sık görülen formu kutanöz (KL) formudur. Dünya Sağlık Örgütü dünyada 98 ülkede yaklaşık 12 milyon insanın leishmaniasis ile enfekte olduğunu, 350 milyon kişinin ise risk altında olduğunu bildirmektedir. Her yıl bu rakamlara iki milyon yeni olgunun katıldığı, bu olguların yaklaşık bir buçuk milyonunun KL olduğu düşünülmektedir. Özellikle son yıllarda yaşanan siyasi iç karışıklıklara ve savaşlara bağlı olarak endemik bölgelerden ülkemize göç eden mülteciler ya da bu bölgelere belirli süreler için giden vatandaşlarımızın Leishmania ile enfekte olması sonucu ülkemizin endemik olmayan bölgelerinde de KL olguları görülmeye başlanmıştır. Bu makalede, yurt dışı kaynaklı bir KL olgusunun itrakonazol-kryoterapi kombinasyonu ile tedavisini sunmaktayız.

Anahtar kelimeler: *İtrakonazol, kryoterapi, kutanöz Leishmaniasis*

ABSTRACT

Leishmaniasis is a parasitic disease caused by the flagellate protozoa, Leishmania species, and transmitted by female sandflies (Phlebotomus sp.). The cutaneous form (CL) is the most common form of leishmaniasis. According to World Health Organization, almost 12 million people from 98 countries worldwide are currently infected with leishmaniasis, while 350 million people are at risk. It was reported that 2 million new cases are diagnosed every year, and estimated 1.5 million are CL among them. Recently, due to political conflicts and wars, refugees who migrated from endemic regions to our country or our citizens who have been going to these regions for certain periods of time have been infected with Leishmania and CL cases have begun to be seen in non-endemic areas of our country. In this article, we present an imported case of CL and its itraconazole-cryotherapy treatment.

Keywords: *Cryotherapy, cutaneous Leishmaniasis, itraconazole*

GİRİŞ

Leishmaniasis, *Phlebotomus* cinsi dişi kum sineklerinin vektörlük yaptığı paraziter bir hastalıktır. Dünyada 98 kum sineği türünün hastalığa vektörlük ettiği ve yaklaşık 70 hayvan türünün parazitin rezervuarı olduğu bildirilmiştir[1]. Kutanöz leishmaniasis (KL) en sık görülen klinik formdur. KL kum sineğinin ısırdığı yerde papül tarzında başlayıp büyüyerek kabuklanmakta ve ülserleşmektedir. Olguların %90'ından fazlası üç ay ile 18 ay içinde iyileşmektedir. Hastalığın kuluçka dönemi iki haftadan birkaç aya kadar sürmektedir[2]. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) dünyada 98 ülkede yaklaşık 12 milyon insanın leishmaniasis ile enfekte olduğunu, 350 milyon kişinin ise risk altında olduğunu bildirmektedir. Her yıl bu rakamlara iki milyon yeni olgunun katıldığı, bu olguların yaklaşık bir buçuk milyonunun KL olduğu düşünülmektedir. KL

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

olguların % 90'ı Afganistan, Pakistan, Suriye, Suudi Arabistan, Cezayir, İran, Brezilya ve Peru'da görülmektedir[3]. Leishmaniasis, ülkemizde Şanlıurfa başta olmak üzere Güneydoğu Anadolu, Ege ve Akdeniz bölgesindeki illerimizde sık olarak görülmektedir. Son yıllarda ülkemize olan büyük göçün yanı sıra farklı nedenlerle endemik ülkelere yolculuk eden vatandaşlarımız ile birlikte KL'nin endemik olarak görülmediği bölgelerimizde de olgular görülmeye başlanmıştır[4].

Bu olgu sunumunda, endemik bölgede görev yapmış ve Balıkesir'e döndükten sonra KL gelişmiş bir ordu mensubuna ait olgu ve tedavisi sunulmuştur.

OLGU

Daha önce bilinen bir deri hastalığı olmayan 37 yaşında erkek hasta, 9 ay önce boyun sol yanında sivilce şeklinde başlayıp genişlediği öğrenilen ağrısız, deriden kabarık kızarıklık yakınmasıyla Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Polikliniği'ne başvurdu. Yakınmasının başlangıcından bir yıl öncesinde Suriye'nin El-Bab kentine yolculuk öyküsü olup bu yerde bir süre yaşadığı öğrenilen hastanın öz ve soygeçmişinde özellik yoktu.

Olgunun dermatolojik muayenesinde boynun sol yanında 3x10 cm boyutlarında morumsu eritemli plak saptandı (Resim 1).

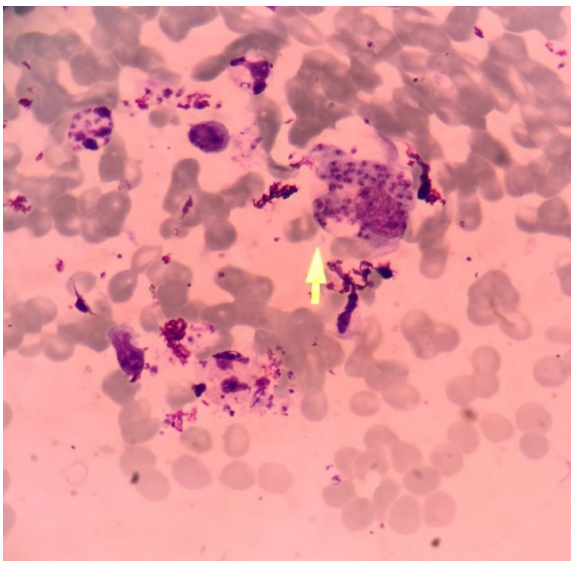
Fizik muayenesi normal olan olgunun periferik lenf nodu muayenesinde palpabl lenf nodu saptanmadı.

Lezyondan alınan biyopsi örneğinin histopatolojik incelemesinde *"epidermiste fokal parakeratoz, düzensiz akantoz, spongioz ile dermiste tüm alanlarda farklı boyutlarda epiteloid histiyositle az sayıda langerhans tipi dev hücrelerden oluşan granülom yapıları ve bu granülomların çevresinde çok sayıda lenfoplasmositer hücre"* saptandı.

Laboratuvarımıza KL şüphesiyle gönderilen hastanın boynundaki lezyonun çevresinde bulunan doku %70

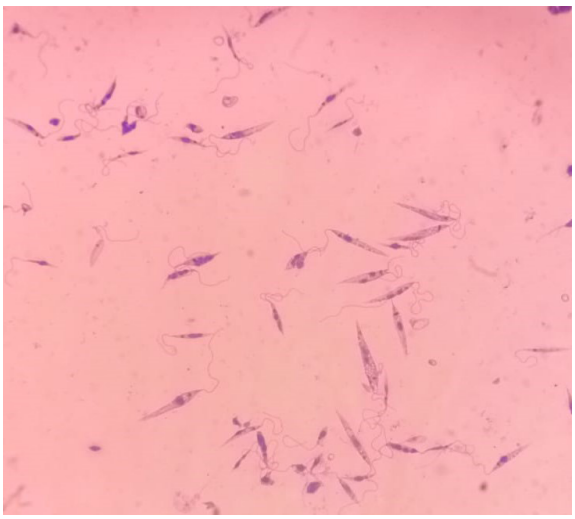
Resim 1. Tedavi öncesi lezyonun görünümü.

alkol ile temizlendi ve kurumaya bırakıldı. Lezyon, baş ve işaret parmağı arasında sıkılarak, sağlam doku sınırından 1 ml'lik insülin enjektörü ile 0.2-0.5 ml serum fizyolojik lezyon içine verilip geri çekilerek aspirasyon sıvısı alındı. Alınan aspirasyon sıvısı NNN besiyerinin sıvı fazı içinde süspanse edildi. Besiyeri 26°C'de inkübasyona kaldırıldı. Ayrıca lezyonun sağlam doku sınırından yara kabuğu kaldırılarak bu bölgeden dokundurma yöntemi ile yayma preparatlar hazırlandı ve metil alkol ile saptandı. Giemsa ile boyanan lamlar 100x büyütmede ışık mikroskobunda incelendi ve *Leishmania* spp. amastigotları görülerek KL tanısı kondu (Resim 2).



Resim 2. Yayma preparatlarda görülen amastigot formlar.

NNN besiyerinin 24 saat sonra yapılan kontrolünde promastigot formların ürediği gözlemlenmiştir (Resim 3).



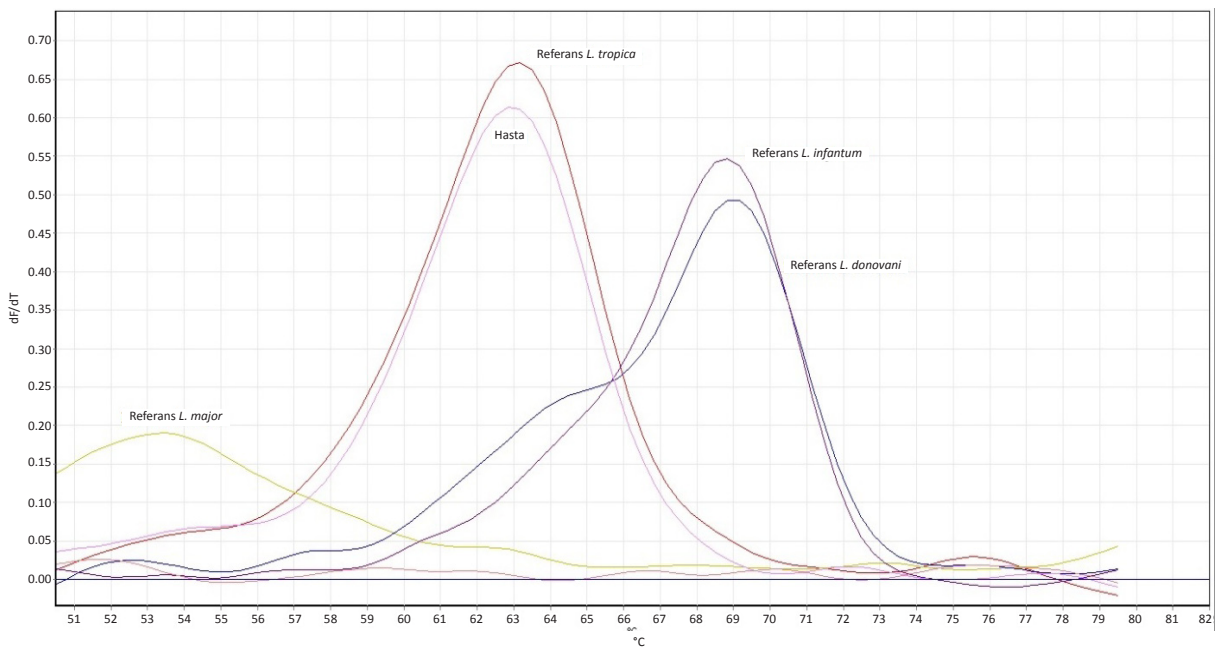
Resim 3. NNN besiyerinde üretilen promastigot formlar.

Hastanın lezyonundan alınan aspirasyon sıvısından DNA izolasyonu, High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche®, Almanya) kullanılarak üreticinin talimatlarına uygun olarak yapıldı. Elde edilen DNA örneğine, *Leishmania* spp. parazitlerinin SSU rRNA ve 5.8 S rRNA'sını kodlayan genleri ayıran ribozomal internal transcribed spacer-1 (ITS-1) bölgesine özgü primer ve problar kullanılarak Polimer Zincir Reaksiyonu (PZR) testi uygulandı[5,6]. Rotor Gene Q (Qiagen, Almanya) cihazı kullanılarak PZR protokolü çalışıldı. Hasta örneğine ait erime eğrisi, dört farklı standart *Leishmania* türüne spesifik erime eğrileri ile karşılaştırılarak etken *Leishmania tropica* olarak tiplendirildi (Şekil 1).

Kutanöz leishmaniasis tanısı konulan olguya beş değerli antimon bileşiği (meglumine antimonate/sodium stibogluconate) tedavisi planlandı. Olgunun kurumumuza başvurduğu dönemde ülkemizdeki tedarik sorunu nedeniyle beş değerli antimon bileşikleri temin edilemedi. Bunun üzerine hastaya altı hafta süreyle 400 mg/gün itrakonazol ve iki hafta arayla üç seans şeklinde kriyoterapi kombinasyonu başlandı.

Uygulanan tedavi ile hastanın lezyonu tamamen iyileşti.

Bu olguya ait döküman, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu, 26.11.2018 tarihli hasta onam formu ile kayıt altındadır.



Şekil 1. *Leishmania*'nın türe spesifik erime eğrileri kullanılarak PZR ile tiplendirilmesi.

TARTIŞMA

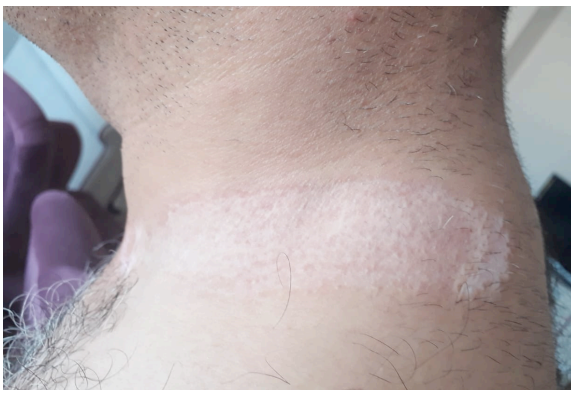
Kutanöz leishmaniasis, deride uzun süreli nodülo-ülseratif yaralar oluşturmakta ve lezyon tedavi edilemediği durumlarda skar bırakarak iyileşebilmektedir. Hastalık ayrıca Urfa çıbanı, Antep çıbanı, yıl çıbanı, Halep çıbanı, Şark çıbanı, güzellik yarası gibi farklı isimlerle yüzyıllardır ülkemizde tanınmaktadır. Türkiye KL açısından endemik bir ülke olmakla birlikte, özellikle İran ve Suriye gibi sınır komşularında ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak önemini korumaya devam etmektedir[7]. İran, Irak, Kolombiya ve en son Suriye'de yaşanan savaşların Leishmaniasis ile yakından ilişkisi bulunmaktadır. Suriye'deki iç savaş, sağlık altyapısının bozulması ve insanların kitlesel olarak yer değiştirmeleri KL olgularının artmasına yol açmıştır[8,9]. Türkiye'de 2013 yılında 2.268 yerli ve 2000'den fazla Suriye kaynaklı KL olgusu rapor edilmiştir[10]. Ayrıca Lübnan ve Ürdün'de bulunan mültecilerde de KL olguları sayısında önemli artış görülmüştür[11,12]. Türkiye'ye sığınan yaklaşık üç buçuk milyon mülteci KL dâhil birçok bulaşıcı hastalığın ülkemize taşınmasında risk oluşturmaktadır.

Beş değerli antimon bileşikleri yaklaşık 90 yıldır KL tedavisinin temelini oluşturmaktadır[13]. Terapötik olarak eş değerli olan iki adet beş değerli antimon bileşiği vardır. Bunlar meglumine antimonate (Glucantime®) ve sodium stibogluconate'dır (Pentostam®). Bu ilaçlara karşı farklı coğrafik bölgelerde %15'e varan primer direnç oranları bildirilmiştir[14]. Tedavinin etkisiz olması sıklıkla bu ilaçların terapötik dozların altında ve yetersiz süre kullanımı ile ilişkilidir. İkinci seçenek olarak, amfoterisin B, miltefosin ve pentamidin kullanılırken, paromomisin, azol türevleri, azitromisin, allopurinol, dapson, çinko sülfat, rifampisin ve fiziksel tedavi yöntemlerinden kriyoterapi de bu ilaçlar ile kombine edilerek kullanılmaktadır[15].

Pektaş ve ark.[4] tarafından İzmir'den bildirilen bir yurt dışı kaynaklı ve Özbilgin ve ark.[16] tarafından Manisa ilinden bildirilen üç yerli KL olgularında, etken *L. tropica* olarak tanımlanmış ve tüm hastalara dört hafta süreyle haftada iki gün intralezyonel meglumine antimonate (Glucantime®) tedavisi uygulanmıştır. Tedavi sonunda lezyonlar tam olarak düzelmiştir. Ancak, beş değerlikli antimon bileşiklerinin tedaviye yanıt vermediği ya da ilacın sağlanamadığı durumlarda itrakonazol alternatif olarak uygulanabilmektedir. Consigli ve ark.[17] tarafından yapılan bir çalışmada, iki KL olgusu itrakonazol ile başarıyla tedavi edilmiştir.

Kutanöz leishmaniasis'de, kriyoterapi kullanımı genellikle eski dünya türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar ile sınırlıdır, çünkü bu türlerin oluşturduğu lezyonlarda metastaz riski yoktur ve lenfokutanöz tutulum söz konusu değildir. Kriyoterapi, yakın zamanda başlayan (üç aydan daha kısa süreli), nispeten az ve küçük lezyonları (<3 cm) olan hastalar için uygundur. Bununla birlikte, nodüler lezyonları olan ve sistemik tedavi uygulanamayan kişiler için de kullanılabilir. Kriyoterapinin klinik çalışmalardaki etkinliği %53-100 arasındadır. Kriyoterapi, intralezyonel pentavalent antimoniyallerle birlikte kullanıldığında etkinliği artmaktadır[18,19].

Bizim olgumuzda da, etken tür *L. tropica* olarak tanımlandı ve beş değerli antimon bileşiği (meglumine antimonate/sodium stibogluconate) tedavisi planlanarak hasta ilaç temini açısından il sağlık müdürlüğüne yönlendirildi. Olgunun kurumumuza başvurduğu dönemde beş değerli antimon bileşiklerinde tedarik sorunu olduğundan ilaç sağlanamadı. Bunun üzerine hasta itrakonazol ve kriyoterapi kombinasyonu ile başarıyla tedavi edildi ve hastanın lezyonu tamamen iyileşti (Resim 4).



Resim 4. Tedavi sonrası lezyonun görünümü.

Sonuç olarak, şüpheli olgularda hastanın endemik bölgelere yolculuk öyküsü olup olmadığı kesinlikle sorgulanmalıdır. Özellikle endemik bölgeden gelen göçmenlerin veya bu bölgelerde görev yapan askeri personelin ya da çalışmak için bu bölgelere giden vatandaşlarımızda görülen şüpheli olgularda KL kesinlikle akılda tutulmalıdır. Bu olguda, KL tedavisinde ilk seçenek olan beş değerli antimon bileşiklerine alternatif olarak itrakonazol ve kriyoterapi kombinasyonunun tedavi etkinliği gösterilmiştir. KL enfeksiyonlarında hızlı tanıya yönelik uygun laboratuvar yöntemleri uygulanmalı, bu süreçte laboratuvar ve klinik arasında aktif diyalog kurulmalı ve etkin tedavi uygulanarak enfeksiyon zinciri kırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L, Charrel RN, Gradoni L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern. Med Vet Entomol. 2013;27(2):123-47. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x
2. Harman M. Kutanöz leishmaniasis. Turk J Dermatol. 2015;9(4):168-76. https://doi.org/10.4274/tdd.2880
3. WHO. Leishmaniasis. World Health Organization. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis] (Erişim tarihi: 15.01.2020).
4. Pektaş B, Aksoy Gökmen A, Kelekçi KH ve ark. Glucantime ile tedavi edilen yurtdışı kaynaklı bir kutanöz Leishmaniasis olgusu. Turk Hij Den Biyol Derg. 2014;71(2):89-92. https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2014.26680
5. Özensoy Töz S, Çulha G, Yıldız Zeyrek F, 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
6. 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 singlestrand 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
7. WHO. Leishmaniasis: the disease and its epidemiology. World Health Organization. [http://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/] (Erişim tarihi: 10.01.2020).
8. Hayani K, Dandashli A, Weisshaar E. Cutaneous leishmaniasis in Syria: clinical features, current status and the effects of war. Acta Derm Venereol. 2015;95(1):62-6. https://doi.org/10.2340/00015555-1988
9. Du R, Hotez PJ, Al-Salem WS, Acosta-Serrano A. Old World cutaneous leishmaniasis and refugee crises in the Middle East and North Africa. PLoS Negl Trop Dis. 2016:10(5):e0004545. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004545
10. TC Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı, 02.01.2014 tarih ve 13588366 sayılı evrak.
11. Alawieh A, Musharrafieh U, Jaber A, Berry A, Ghosn N, Bizri AR. Revisiting leishmaniasis in the time of war: the Syrian conflict and the Lebanese outbreak. Int J Infect Dis. 2014;29:115-9. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.04.023
12. Inci R, Ozturk P, Mulayim MK, Ozyurt K, Alatas ET, Inci MF. Effect of the Syrian civil war on prevalence of cutaneous leishmaniasis in Southeastern Anatolia, Turkey. Med Sci Monit. 2015;20(21):2100-4. https://doi.org/10.12659/MSM.893977
13. David CV, Craft N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. Dermatol Ther. 2009;22(6):491-502. https://doi.org/10.1111/j.1529-8019.2009.01272.x
14. Lupi O, Bartlett BL, Haugen RN, et al. Tropical dermatology: Tropical diseases caused by protozoa. J Am Acad Dermatol. 2009;60(6):897-925. https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.03.004
15. Uzun S, Gürel MS, Harman M. Kutanöz layşmanyazis tanı ve tedavi rehberi. [http://cms.galenos.com.tr/SolvePark/Uploads/files/573ed560a9ec42ed8c04c39ec743e34e.pdf] (Erişim Tarihi:18.02.2020)
16. Özbilgin A, Yıldırım A, Çavuş İ, Baştemir S. Manisa İli 3 yerli kutanöz leishmaniasis olgusu. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2015;45(2):103-8. https://doi.org/10.5222/TMCD.2015.103
17. Consigli J, Danielo C, Gallerano V, Papa M, Guidi A. Cutaneous leishmaniasis: successful treatment with itraconazole. Int J Dermatol. 2006;45(1):46-9. https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2004.02429.x
18. Uzun S, Durdu M, Culha G, Allahverdiyev AM, Memisoglu HR. Clinical features, epidemiology, and efficacy and safety of intralesional antimony treatment of cutaneous leishmaniasis: recent experience in Turkey. J Parasitol. 2004;90(4):853-9. https://doi.org/10.1645/GE-185R
19. Layegh P, Pezeshkpoor F, Soruri AH, Naviafar P, Moghiman T. Efficacy of cryotherapy versus intralesional meglumine antimoniate (glucantime) for treatment of cutaneous leishmaniasis in children. Am J Trop Med Hyg. 2009;80(2)172-5. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.80.172

YAZARLARA BİLGİ

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

Başvuru

- Sadece on-line başvurular kabul edilir.
- Başvurularda, tüm yazarların adları ve adresleri, açık olarak yazılmalıdır. Tüm yazarların ORCID numaraları başvuru esnasında on-line olarak ilgili alana eklenmelidir. ORCID ID kaydı için **https://orcid.org** adresini kullanınız. Ayrıca, yazının tüm yazarlar tarafından onaylandığını ve daha önce hiçbir yerde yayımlanmadığını ve teklif hakkının dergiye bırakılacağını belirten ve tüm yazarlar tarafından imzalanmış web sayfasındaki belgenin (Copyright-Telif) on-line olarak 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: tmcdeditor@gmail.com

Metin Çeşitleri

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

Metin yazımı esnasında uyulacak kurallar

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

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

Örnekler

A. Makaleler

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

- Standart Dergi Makalesi: Standart Dergi Makalesi: Courvalin P, Davies J. Mechanisms of resistance to aminoglycosides. Am J Med. 1977;62(6):868-72. https://doi.org/:.....
- Dergi Ekinde (Supplement) yer alan makale: Snydman 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.
- Süreli resmi yayın: TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 30.05.2007(26537).
- Süreli resmi yayın (internet): TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 2007(26537). İnternet adresi: http://..... Erişim tarihi: ../../20..
- Kongre Bildiri Özeti: Başustaoğlu AC, Süzük S, Mumcuoğlu İ, ve ark. Kan kültürü uygulamalarının değerlendirilmesi: EpiCenter verilerinin kullanımı. XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 16-20 Kasım 2016, Belek, Antalya; 2016:TPS-85.
- Tez: Öktem İMA. Endoservikal sürüntü örneklerinde *Chlamydia trachomatis* hücre kültürü sonuçlarının direk floreson antikor (DFA) ve enzim immunoassay (EIA) yöntemleri ile karşılaştırılması [Tıpta uzmanlık tezi]. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 1998.

C. Sanal Ortam

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

Şekil, Tablo, Fotoğraf, Resim, Grafik

- Tablo, şekil, fotoğraf, resim ve grafikler Arap rakamları ile numaralandırılmalı ve yazı içinde geçtiği yerler belirtilmelidir.
- Tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne, sol kenardan başlanarak yazılmalı ve tablo sıra numarasından sonra nokta kullanılmalıdır. Örneğin; Tablo 1. *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.