Cilt / *Volume* 50
Sayı / *Number* 4
Aralık / *December* 2020

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✔ SARS-CoV-2 Patogenezi ve Covid-19'da İmmun Yanıt
- ✔ Bitki Virüslerinde Genom Yapısı ve Organizasyonu
- ✔ *Entamoeba gingivalis* ve Periodontal Hasalıklardaki Etkinliğinin Değerlendirilmesi
- ✔ Obezite ve Bakteriyel Vajinoz İlişkisinin Mikrobiyolojik Yöntemler ve Antropometrik Ölçümler Kullanılarak Araştırılması
- ✔ Kolistin Direnci ile İlişkili Literatürün Bibliyometrik Analizi: 1947-2019

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 50

Sayı / *Number* 4

Aralık / *December* 2020

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 50 Sayı / *Number* 4 Aralık / *December* 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*

Ayşe Esin Aktaş, Ankara
Işın Akyar, İstanbul
Sibel Aydoğan, Ankara
Canan Can, Gaziantep
Ayşe Caner, İzmir
Zeynep Taş Cengiz, Van
Bayram Çevik, Isparta
Fahriye Ekşi, Gaziantep
Bahadır Feyzioğlu, Konya
Duygu Fındık, Konya
Semra Ayşe Güreser, Çorum
İlknur Kaleli, Denizli
Ülkü Karaman, Ordu
Deniz Bahar Akgün Karapınar, İstanbul
Hatice Güven Külekçi, stanbul
Barış Otlu, Malatya
Cüneyt Özakın, Bursa
Ahmet Özbilgin, Manisa
Tuncer Özekinci, İstanbul
Ayşegül Taylan Özkan, Çorum
Pınar Işkın Zarakolu, Ankara

Yayımlanan sayıya ait değerlendirme sürecini kapsamaktadır.

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

Sahibi / *Owner*

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

Prof. Dr. Barış Otlu

Yazışma Adresi / *Correspondence Adres*

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

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

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

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

Yayın Türü: Yerel Süreli

Basım Yeri / *Printed by*
LOGOS YAYINCILIK TİC. A.Ş.
Yıldız Posta Cad. Sinan Apt. No. 36 D. 63/64
34349 Gayrettepe-İstanbul

LOGOS TIP YAYINCILIĞI
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* 4 Aralık / *December* 2020

İÇİNDEKİLER / *CONTENTS*

DERLEME / *REVIEW*

- **SARS-CoV-2 Patogenezi ve Covid-19'da İmmun Yanıt**

  Pathogenesis of SARS-CoV-2 and Immune Response in COVID-19

  Mehmet DEMİRCİ, Özge ÜNLÜ, Akın YİĞİT, Fadile Yıldız ZEYREK **183-191**

- **Bitki Virüslerinde Genom Yapısı ve Organizasyonu**

  Genome Structure and Organization in Plant Viruses

  Nihan GÜNEŞ, Mustafa GÜMÜŞ **192-203**

- ***Entamoeba gingivalis* ve Periodontal Hastalıklardaki Etkinliğinin Değerlendirilmesi**

  Entamoeba gingivalis and Evaluation of its Effectiveness in Periodontal Diseases

  Fatma ESENKAYA TAŞBENT, Ceren CERAN BORAN **204-210**

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / *CLINICAL INVESTIGATIONS*

- **Hastanemize Başvuran Gebelerde Toksoplazma, Rubella Virüs ve Sitomegalovirus Enfeksiyonları İçin Serolojik Göstergelerin Değerlendirilmesi**

  Evaluation of Serological Indicators for Toxoplasma, Rubella Virus and Cytomegalovirus Infections in Pregnant Women Applied to Our Hospital

  Fatih ÇUBUK, Mürşit HASBEK, Ayşe Hümeyra TAŞKIN KAFA, Cem ÇELİK **211-217**

- **Obezite ve Bakteriyel Vajinoz İlişkisinin Mikrobiyolojik Yöntemler ve Antropometrik Ölçümler Kullanılarak Araştırılması**

  Investigation of the Relationship Between Obesity and Bacterial Vaginosis Using Microbiological Methods and Anthropometric Measurements

  Zuhal BULUT, Deniz GAZEL, Evrim KOÇ **218-224**

- **Kolistin Direnci ile İlişkili Literatürün Bibliyometrik Analizi: 1947-2019**
  Bibliometric Analysis of Literature on Colistin Resistance: 1947-2019
  Serhat SİREKBASAN, Serap SÜZÜK YILDIZ **225-233**

- **Köpeklerde Kanin Leishmaniasis Etkeni *Leishmania tropica*'da İlaç Dirençlerinin Araştırılması**
  Investigation of Drug Resistance in Leishmania tropica as Causative Agent of Canine Leishmaniasis
  Nami Ege PERK, İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN **234-243**

- ***Dientamoeba fragilis* Dost mu, Düşman mı? İstanbul'dan farklı Kohortlara Ait Hasta ve Sağlıklı Bireylerle Yürütülen Bir Çalışma**
  Is Dientamoeba fragilis Friend or Foe? A Study from Istanbul on Patients and Healthy Individuals from Different Cohorts
  Özgür KURT, Sinem ÖKTEM OKULLU, Nesteren Mansur ÖZEN, Nihan ÜNÜBOL, Selma CAT, Şebnem SÜRER NURDAĞI, Işın AKYAR, Tanıl KOCAGÖZ **244-249**

DİZİN ..... **V-VII**

YAZARLARA BİLGİ ..... **VIII-IX**

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(4):183-91
doi:10.5222/TMCD.2020.183

Derleme / *Review*

SARS-CoV-2 Patogenezi ve Covid-19'da İmmun Yanıt

Pathogenesis of SARS-CoV-2 and Immune Response in COVID-19

Mehmet Demirci*, Özge Ünlü*, Akın Yiğin, Fadile Yıldız Zeyrek*****

*Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
** Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye
*** Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

ÖZ

İlk defa 2019 yılı, Aralık ayında, Çin'in Wuhan eyaletinde ortaya çıkan ve tüm dünyaya hızlı bir şekilde yayılan SARS-CoV-2, hâlen salgın etkisini sürdürmektedir. SARS-CoV-2, SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonlarından sonra karşılaştığımız üçüncü koronavirüs salgınıdır. SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonları dolayısıyla, koronavirüslere ait patogenez ve immun yanıtla ilgili deneyimlerimiz bulunmaktadır. Fakat bu zor süreçte yapılan çalışmalar, SARS-CoV-2'nin deneyimlerimizdeki bilgilerden, farklı olarak hem çok bulaştırıcı olduğunu hem de hücrelere olan etkisinin farklı olduğunu göstermiştir. Biz de bu nedenle, SARS-CoV-2 patogenezi ve oluşan konak immün yanıt ile ilgili yayınlanan çalışmaları derlemeyi amaçladık. Birçok çalışmada, yalnızca konak ACE2 reseptör varlığının, konak hücrenin enfeksiyonu için yeterli olmadığı aynı zamanda proteazlarla yapısal S proteininin kesiminin de gerçekleşmesi gerektiği bildirilmiştir. SARS-CoV-2, SARS-CoV ve MERS-CoV'dan farklı olarak farklı proteaz kesim sistemleri içerdiği, ayrıca ACE2 reseptör bağlanma bölgesinde bulunan aminoasit dizilimlerinin daha farklı olduğu gösterilmiştir. SARS-CoV-2 enfeksiyonunda, konaktaki Th1 ve Th2 aracılı sitokin ve kemokin düzeylerinin SARS-CoV enfeksiyonlarına göre farklı olduğu, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında, diğer CoV'lere göre farklı kemokinlerin upregüle olabildiği şu ana kadar yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Uzun yıllardır devam eden denemelere rağmen, enfeksiyon etkeni olan RNA virüsleri için etkin aşılar geliştirilmemiş olduğu düşünüldüğünde, patogenez ve immun yanıt sürecindeki, tüm bu farklılıkların ortaya çıkarılması ve SARS-CoV-2'ye karşı kısa sürede etkin antiviraller geliştirilebilmesi için SARS-CoV-2 patogenezi ve konak immun yanıtıyla ilgili kapsamlı çalışmaların yapılması gerekliliği aşikardır.

Anahtar kelimeler: *SARS-CoV-2, Covid-19, bağışıklık, patogenez*

ABSTRACT

SARS-CoV-2, which emerged in Wuhan province of China for the first time in December 2019 and spread rapidly all over the world, is still causing an epidemic. SARS-CoV-2 is the third coronavirus outbreak we encountered after SARS-CoV and MERS-CoV infections. Due to SARS-CoV and MERS-CoV infections, we have gained experience about the pathogenesis and immune responses of coronaviruses. However, studies have shown that, unlike the information derived from our experience, SARS-CoV-2 is both very infectious and its effect on cells is different. Therefore, we aimed to compile the data of the published studies on the pathogenesis of SARS-CoV-2 and the resulting host immune response. In many studies, it has been reported that not only the presence of the host ACE2 receptor is sufficient for the infection of the host cell, but also the cleavage of the structural S protein by proteases should be materialized. It has been shown that, unlike SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV, it contains different protease cleavage systems and amino acid sequences in the ACE2 receptor binding site. In SARS-CoV-2 infection, as reported in studies conducted up to now, Th1 and Th2-mediated cytokine and chemokine levels in the host are different than SARS-CoV infection, and also different chemokines can be upregulated compared to other CoVs. Considering that effective vaccines have not been developed for the infectious RNA viruses despite the ongoing trials for many years, in order to reveal all these differences in the pathogenesis and immune response process and to develop effective antivirals against SARS-CoV-2 within a short time. the need for comprehensive studies on host immune response is evident.

Keywords: *SARS-CoV-2, Covid-19, immunity, pathogenesis*

Alındığı tarih / Received:
01.10.2020 / 01.October.2020
Kabul tarihi / Accepted:
10.11.2020 / 10.November.2020
Yayın tarihi / Publication date:
31.12.2020 / 31.December.2020

ORCİD Kayıtları

M. Demirci 0000-0001-9670-2426
Ö. Ünlü 0000-0002-5411-5925
A. Yiğin 0000-0001-9758-1697
F. Yıldız Zeyrek 0000-0001-7386-9944

✉ demircimehmet@hotmail.com

Atıf: Demirci M, Ünlü Ö, Yiğin A, Yıldız Zeyrek F. SARS-CoV-2 patogenezi ve Covid-19'da immün yanıt. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):183-91.

© 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

Koronavirüsler (CoV), 60 nm ila 140 nm çapında değişen zarflı, pozitif polariteli, tek zincirli RNA virüslerdir ve isimlerini yüzeyindeki sivri uçlu çıkıntıların, elektron mikroskobu altında taç benzeri bir görünüm vermesi dolayısıyla alırlar[1]. Koronavirüs ailesi, alfa, beta, gama ve delta koronavirüs olmak üzere dört alt gruba ayrılırlar. Bazıları zoonotik virüslerdir ve tipik olarak insanlar dâhil memelilerin solunum ve sindirim yolunu etkileyebilirler[2]. İnsan Koronavirüs (HCoV)-HKU1, HCoV-NL63, HCoV-229E ve HCoV-OC43 insanlarda sıklıkla hastalık yapan dört koronavirüs tipidir ve genellikle hafif solunum yolu hastalıklarına neden olurlar[1].

İlk olarak 2019 yılı, Aralık ayında, Çin'in Wuhan eyaletinde yeni bir koronavirüs enfeksiyonu belirlenmiş[3], hastalıklara neden olan virüsün ilk kaynağı net bilinmemesine karşın, teşhis edilen ilk olguların, insanların yarasalar gibi vahşi hayvanları satın alabileceği Huanan Deniz Ürünleri Toptan Satış Pazarı ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir[4]. Etken patojenin şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü (severe acute respiratory syndrome-CoV (SARS-CoV)) ile benzerlikleri olduğu belirlendiği için, yeni (novel) coronavirus (2019-nCoV) olarak isimlendirilmiştir[5].

Dünya Sağlık örgütü 11 Şubat 2020 tarihinde, bu yeni koronavirüs enfeksiyonununa bağlı viral hastalığı, "2019 korona virüs hastalığı (COVID-19)" olarak tanımlamıştır. Bu hastalığa neden olan virüs ise, Uluslararası Virüs Sınıflandırma Komitesi (the International Committee on Taxonomy of Viruses) tarafından şiddetli akut solunum sendromu koronavirus-2 (SARS-CoV-2) olarak yeniden isimlendirilmiştir[3]. SARS-CoV-2, betacoronavirus alt grubuna dâhildir. İnsan koronavirüsleri arasında en yakın akrabası, %79 genetik benzerlik ile SARS-CoV'dur. Bilinen tüm koronavirüs sekansları incelendiğinde ise, SARS-CoV-2'nin en fazla yarasa koronavirüs RaTG13'e ve pangolin (pullu bir karınca yiyen) koronavirüs sekansları ile de benzerlik gösterdiği saptanmıştır[6].

SARS-CoV-2'nin çok bulaşıcı olması, insandan insana bulaşabilmesi ve Çin'den sonra farklı ülkelerde de olgu sayılarının hızla artması nedeniyle Dünya Sağlık Örgütü 11 Mart 2020 tarihinde, COVID-19 enfeksiyonunu pandemi olarak ilan etmiştir[7]. SARS-CoV-2 şu ana kadar tüm dünyada 216 ülkede etkili olmuş, yaklaşık 51 milyona yakın insanı enfekte etmiş ve 1.3 milyona yakın insanın ölmesine neden olmuştur[8]. SARS-CoV-2, Kasım 2002'de, Çin'in Guangdong şehrinde belirlenen şiddetli akut solunum sendromu-koronavirüs (SARS-CoV) ve 2012 yılında da Suudi Arabistan'da belirlenen Ortadoğu solunum sendromu ile ilişkili koronavirüs (Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV))'den sonra belirlenen üçüncü ciddi koronavirüs enfeksiyonu olarak kayıtlara geçmiştir[9].

SARS-CoV-2, ateş, öksürük, nefes darlığı ve yorgunluk gibi yaygın semptomların görüldüğü 2019 korona virüsü hastalığına (COVID-19) neden olur. Hastaların yaklaşık %20'sinde hastaneye yatmayı gerektiren ciddi COVID-19 gelişirken, %5'i yoğun bakım ünitesine ihtiyacı olmaktadır. Tahmini olgu ölüm oranı ülkeden ülkeye değişiklik göstermesine karşın, ortalama %6.6 olup, SARS-CoV (%9.6) veya MERS-CoV'den (%34.3) daha düşüktür[10]. İnsan solunum yolu epitelleri ile yapılan in-vitro çalışmalar sonrasında, SARS-CoV-2'nin neden olduğu sitopatik etkinin, SARS-CoV ve MERS-CoV'den farklı olduğu ve daha kısa sürede bu hücrelere ciddi etki gösterdiği belirlenmiştir[11]. Bu kadar kısa süre içinde SARS-CoV-2 ile ilgili birçok araştırma yapılmasına karşın, hâlen SARS-CoV-2 patogenezi ve konak hücrede ona karşı gelişen immun yanıt ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Biz de bu makalede SARS-CoV-2 patogenezi ve COVID-19'da gelişen immun yanıt ile ilgili eldeki bilgileri özetlemeyi amaçladık.

Sars-Cov-2'nin Yapısı ve Patogenezi

SARS-CoV-2 genomunda 10 ila 12 açık okuma bölgesi (open reading frame (ORF)) bulunduğu varsayılmaktadır. ORF1ab bölgesi, virüs replikasyonunda yer alan çok fonksiyonlu proteinler olan yapısal olmayan proteinleri (NSP) kodlarken, geri kalan ORF'lar ise viral yapısal proteinleri (spike [S], zarf [E], membran [M]

ve nükleokapsid [N] gibi) ve diğer yardımcı proteinleri kodlar. Özellikle, ORF1ab bölgesi, tüm SARS-CoV-2 genomunun yaklaşık %67'sini temsil eder[2]. Trimerik yapıda olan S proteininin her monomeri yaklaşık 180 kDa'dır ve iki alt birimden oluşmaktadır[12]. S1 alt biriminde N-terminal alanı (NTD: 14-305 aa), reseptör bağlanma alanı (RBD:319-541 aa) ve reseptör bağlanma motifi (RBM: 437-508 aa) bulunurken, S2 alt birimi ise füzyon peptidi (FP:788-806 aa), heptad tekrar 1 (HR1: 912-984 aa), heptad tekrar 2 (HR2: 1163-1213 aa), transmembranik alan (TM: 1214-1237 aa) ve sitoplazmik alan (CP: 1238-1273 aa) içerir[13]. S1 alt biriminin kendi üstüne katlanması sonucu birbirinden bağımsız N-terminal alanı (NTD) ve C-terminal alanları meydana gelir. N-terminal alanı (NTD) ve C-terminal alanları virüsün konak hücre yüzeyinde bulunan reseptöre bağlanmasında rol oynarken, S2 alt biriminde bulunan HR1 ve HR2 alanları özellikle virüsün füzyon ve hücreye girişine aracılık etmektedir. MERS-CoV ve SARS-CoV enfeksiyonları için HR1 ve HR2 alanlarına spesifik hazırlanan inhibitör peptidlerin virüslerin akciğer hücrelerine girişini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibitör peptidler aynı düzeyde olmasa da SARS-CoV-2 enfeksiyonları içinde etkili olabileceği rapor edilmiştir[12]. S proteini, konak hücrenin, anjiyotensin dönüştürücü enzim (angiotensin-converting enzyme) 2 (ACE2) reseptörüne bağlanır ve oluşan bu kompleks konak tip II transmembran serin proteaz (TMPRSS-2) enzimi tarafından proteolitik işleme tabii tutularak, virüsün hücreye girişinin gerçekleştiği düşünülmektedir. Özellikle tip 2 alveolar epitel hücrelerinde eksprese edilen ACE2, SARS-CoV-2'nin insanlara hücresel giriş reseptörü olarak kabul edilmiştir[2,12]. Buna karşın, yalnızca konak ACE2 reseptörlerinin varlığı, konak hücrenin SARS-CoV-2 ile enfekte olması için yeterli değildir, aynı zamanda S proteininin konak hücre proteazları tarafından kesimi de gereklidir[14]. Koronavirüs S proteinleri, tipik olarak sınıf I viral füzyon proteinleridir ve aktivasyonu için proteazlarla bölünmesi gereklidir. S proteininin aktivasyonu için, S1 & S2 bölgeleri arasında ve S2 bölgesinde olmak üzere iki aşamalı bir proteaz kesim modeli olması gerektiği düşünülmektedir. Koronavirüs S proteinleri, furin, tripsin, katepsin, TMPRSS-2, TMPRSS-4 veya insan hava yolu tripsin benzeri proteazlar (HAT) dahil, bir veya birkaç konak proteazı tarafından kesilerek aktive edilebilirler. Bu proteazların hedef hücreler üzerinde bulunması, koronavirüslerin hücrelere plazma membranından mı veya endositoz yoluyla mı gireceğini belirlemektedir[2,12]. Elektron mikroskobi çalışmaları, SARS-CoV-2'nin, SARS-CoV'dan daha yüksek afinitede ACE2 reseptörlerine bağlandığını göstermiştir. SARS-CoV-2, S proteininin, HCoV-OC43 ve MERS-CoV'dakine benzer şekilde S1&S2 bölgeleri arasında 12 nükleotidlik RRAR (polibazik bir ayrılma bölgesi) insersiyonu içeren furin-like kesim bölgesini (FCS) içerdiği, fakat SARS-CoV'da bu kesim bölgesinin bulunmadığı saptanmıştır. Ayrıca SARS-CoV-2'nin S proteinleri ACE2 reseptör bağlama alanı (RPD) açısından SARS-CoV ve MERS-CoV'a göre daha değişken olduğu ve bu bölgede farklı amino asit rezidüleri (Asn439, Asn501, Gln493, Gly485, Lys317 and Phe486 gibi) olduğu bildirilmiştir[14-16]. SARS-CoV-2 RPD'de bulunan, Lys317 ve Phe486 aminoasit rezidülerinin ACE2 reseptörüne afinite artışı ile ilgili olabileceği bildirilmesine karşın henüz bunlara karşı antikor veya spesifik inhibitör bulunamamış ve oluşturulamamıştır[2,14]. Buna karşın RRAR insersiyonu içeren FCS bölgesinin, ACE2 reseptörlerine karşı afiniteyi arttırmadığı, HAT konsantrasyonunun bu afinite değişikliğine neden olduğu görüşü de bildirilmiştir[17]. Yapılan bazı çalışmalar, nöropilin reseptör 1 gibi (NRP1), furinlerle kesimleri yapılan substratları bağladığı bilinen reseptörlerin varlığının da, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarını önemli ölçüde güçlendirdiğine işaret etmektedir. Vasküler endotelyal büyüme faktör A (VEGFA) ve semaforin sınıf 3 (SEMA-3) gibi fizyolojik NRP ligandları, C-terminal kısmından kesimi gerçekleşen substratlarla hücre yüzeyinde "C-end rule" (CendR) bölgesinde etkileştiklerinde aktive olmaktadırlar. S1&S2 bölgeleri arasında RRAR'da olan bu kesim bölgesindeki benzer dizilim Ebola, HIV-1 ve oldukça virülan avian influenza kökenlerinin spike proteinlerinde de bulunmaktadır. SARS-CoV-2'nin, hücreye girişinde genelde odak noktası olan ACE2 reseptörleriyken, bu çalışmalarda ACE2 reseptörlerinin tek yol olmadığını düşündürmektedir. Düşük ACE2 ekspresyonuna sahip

hücrelerde virüs-konakçı hücre etkileşimlerini kolaylaştırmak için kofaktörlerin gerekli olma olasılığını vardır ve NRP1, ACE2 reseptörü için kofaktör olabilir. Ayrıca, SARS-CoV-2'nin yüksek viral yük durumunda ACE2'den bağımsız olarak hücrelere girebildiği bildirilmiştir[18].

SARS-CoV-2 spike proteininde saptanan D614G mutasyonu, COVID-19 salgınında son dönemde daha dominant olmaya başlamıştır. Şubat ayındaki enfeksiyon olgularında saptanan SARS-CoV-2 kökenleri incelendiğinde bulunmayan bu mutasyon, Nisan ve Mayıs aylarından sonra belirlenen olgularda karşımıza çıkmaktadır[19,20]. S proteininin 614. rezidüsünde saptanan bu mutasyonda aspartik asit yerine glisin değişimi olmaktadır[20]. SARS-CoV-2 genomunda, D614G mutasyonu eşliğinde 3 mutasyon daha saptanmıştır; 241. pozisyonda 5' çevrilmemiş (untranslated) genom bölgesinde bir C'den T'ye mutasyon, 3.037 konumunda bir C'den T'ye mutasyon ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz geninde 14.408. pozisyonunda anonim olmayan bir C'den T'ye mutasyon. Özellikle D614G mutasyonunun enfektivite için kritik olduğu ve bu mutasyonun varlığının COVID-19 hastalarının nazofarinkslerindeki viral yükün yüksekliği ile korele olduğu saptanmıştır[19]. Yine bu mutasyona sahip ve sahip olmayan retrovirüslerin kullanıldığı, ACE2 eksprese eden enfekte hücrelerde yapılan bir çalışmada, mutasyonun varlığında enfektivitenin arttığı ama bu virüslerin konvelesan plazma tedavisi ile daha kolay nötralize edilebildiği fakat mutasyonu içermeyen virüslerin daha stabil oldukları bildirilmiştir[20].

SARS-CoV-2 konak membran füzyonu sağlandıktan sonra virüsün hücreye girişi tamamlanır ve viral genomik RNA sitoplazmada salınarak viral polimeraz proteinlerine çevrilir. Kaplanmamış RNA, NSP'yi kodlayan ve çift membranlı vezikülde bir replikasyon-transkripsiyon kompleksi (RTC) oluşturan 2 poliprotein (viral replikaz poliproteinleri), pp1a ve pp1ab'yi sentezler. RTC, yardımcı ve yapısal proteinleri kodlayan bir dizi alt genomik RNA'yı sürekli olarak çoğaltır ve sentezler. Negatif (-) polariteli genomik RNA sentezlenir ve subgenomik veya genomik pozitif (+) polariteli RNA'yı oluşturmak için kalıp olarak kullanılır. Viral RNA ve N yapısal proteini sitoplazmada çoğaltılıp, kopyalanır veya sentezlenirken, S, M ve E proteini endoplazmik retikulumda (ER) transkripte edilir ve Golgi'ye nakledilir. Olgun bir viryon oluşturmak üzere, Viral RNA - N kompleksi, S, M ve E proteinleri ER-Golgi ara bölmesinde (ERGIC) birleştirilirler. Birleştirilen bu yapı daha sonra konakçı hücrelerden ekstraselüler alana ekzositoz ile salınır[2,21]. Zarf membran (E) proteinleri, viryonların toplanmasına ve salınmasına yardımcı olan nispeten küçük viral yapısal proteinlerdir. M proteinleri, E, N ve S proteinleri ile birlikte işlev gören ve RNA paketlenmesinde önemli bir rol oynayan 222 amino asit uzunluğunda yapısal proteinlerdir. Nükleokapsid proteinleri (N) ise, viral RNA'nın ribonükleokapsid içine paketlenmesinde önemli bir rol oynar ve viral RNA transkripsiyonu ve replikasyonunun arttırılmasında yardımcı olur. Viral montaj sırasında, M proteini ile etkileşim sağlayarak düzenin sağlanmasına katkı sağlar. Yapısal proteinlere ek olarak, SARS-CoV-2 genomu, replikasyon ve virüsün montajı aşamalarında rol oynayan çok sayıda NSP'yi kodlar. Bu proteinler, erken transkripsiyon regülasyonunu, helikaz aktivitesini, immünomodülasyonu, gen transaktivasyonunu ve antiviral yanıtı önleyerek veya modifiye ederek viral patogeneze katkı sağlarlar[22].

Sars-Cov-2'ye Karşı İmmun Yanıt

Doğal bağışıklık, virüslere karşı gelişen bağışık yanıtta ilk savunma mekanizması olmasına karşın SARS-CoV-2'ye karşı gelişen doğal bağışık yanıtla ilgili bilgilerimiz oldukça sınırlıdır[23]. SARS-CoV-2'de de bu bağışık yanıt diğer koronavirüslere benzer şekilde gerçekleşir. Konakta Sitozolik RIG-I like reseptörler (RLR'ler), hücre dışı ve endozomal Toll-like reseptörler (özellikle TLR3 ve TLR7) gibi kalıp tanıma reseptörlerinin (pattern-recognition reseptörleri (PRR'ler)), viral tek zincirli RNA (ssRNA) ile etkileşimi sonrası doğal bağışıklık yolu başlatılır. PRR aktivasyonu sonrası, Transkripsiyon faktörlerinin nükleer translokasyonu kappa B (nuclear translocation of the transcription factors (NFκB)) ve IRF3 sinyal yolaklarının aktivasyonu özellikle doğal bağışıklıkla ilişkili sitokinlerin salgı-

lanmasını tetikler. Antiviral etkili tip I / III interferonlar (IFN'ler) yanında, proinflamatuar sitokinler olan tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) ve interlökin-1 (IL-1), IL-6 gibi sitokinler ve IL-18'inde salgılanmasına katkı sağlar[23,24]. Kazanılmış bağışıklık, virüs bulaşmış hücreleri yok eden aktif CD8 (+) sitotoksik T hücreleri ve virüse spesifik antijenlere karşı antikor üreten B hücreleri yoluyla SARS-CoV-2'ye karşı savunmada önemli bir rol oynar. Sitopatik etkili SARS-CoV-2 gibi virüsler konak hücrenin ölümüne ve hasarına neden olduğu için "piropitoz (pyroptosis)" olarak adlandırılan oldukça inflamatuvar bir sürecin gelişimine neden olan programlı hücre ölümünü aktive eder. Farklı PRR'ler, alveolar epitelial hücreleri ve alveolar makrofajları aktive eder ve bu savunma hücrelerinin, tek zincirli RNA'lar gibi patojen ilişkili moleküler kalıpları (pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)), ve ATP, DNA ve ASC oligomer gibi tehlike ile ilişkili moleküler kalıpları (damage-associated molecular patterns (DAMPs)) saptanmasını sağlar[16]. Sitozolde bulunan ve patojen tanımlanmasını sağlayan diğer bir protein ailesi; nükleotid ilişkili lösin zengin tekrar bölgeleri içeren (nucleotide-binding domain leucine-rich repeat (NLR)) proteinlerdir. Bu NLR protein ailesi hücre içinde meydana gelen DAMP'ların tanımlanması için gereklidir. NLR proteinlerinin (NLRP3) DAMP'lara bağlanması sonrasında "İnflamazom (inflammasomes)" adı verilen multiprotein sitoplazmik kompleksler oluşturulur ve caspase-1'i aktive eder. Caspase-1, önemli proinflamatuvar sitokin olan aktive IL-1β'nin ve IL-18'in dönüşümü için önemli bir basamaktır[25]. Tüm bu süreç sırasında komşu konak epitel hücreleri, endotel hücreleri ve alveolar makrofajlarda gelen uyarıyla proenflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimi (IL-6, IFNγ-indükleyici protein-10 (IP-10), makrofaj inflamatuvar protein 1α (MIP1α), MIP1β ve Monosit Kemotaktik Proteini (MCP1)) tetiklenir. Bu sitokin ve kemokinler, monosit, makrofaj ve T hücrelerini enfeksiyon bölgesine çeker ve T hücrelerinin IFN-γ salgılamasıyla immün yanıt güçlenir[16]. Virüsle enfekte hücrelerden salınan "stresle indüklenebilir ligandlar" ve "virüs kaynaklı proteinler", NK hücrelerini aktive eden NKp46 gibi reseptörler tarafından belirlenir ve bu reseptörler aracılığıyla, NK hücreleri aktive edilir. SARS-CoV-2 enfeksiyonunda ortaya çıkan IgG1 ve IgG3 antikorları CD56dim CD16+, NK hücrelerini Fc reseptörleri aracılığıyla aktive ederek, immun kompleksler gibi ekstraselüler viryonlar ve enfekte hücrelerin yüzeylerinde eksprese olan antijenlere bağlanarak "antikor aracılı hücresel sitotoksisite (antibody-mediated cellular cytotoxicity (ADCC))" yolunu aktiflerler. Böylelikle NK hücrelerinin sitokin üretimi ve infekte hücrelerin lizisine katkı sağlarlar[23]. SARS-CoV-2 pozitif hastalarda yapılan çalışmalarda, hastaların plazma sitokin konsantrasyonları incelendiğinde, hem T-Helper (Th)1 (IL-1β ve IFNγ gibi) hemde Th2 (IL-4 ve IL-10 gibi) yoluyla ilişkili sitokinlerin konsantrasyonlarının yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yoğun bakıma alınan hastaları, plazma IL-2, IL-7, IL-10, Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör (GCSF), IFNγ-indükleyici protein-10 (IP-10), MCP-1, MIP-1α, ve TNF konsantrasyonlarının, yoğun bakıma alınmayan hastalardan daha yüksek olduğu saptanmıştır[26]. Hastalarda CD4 ve CD8 alt tipi T hücreleri ile NK hücrelerinin düşük olduğu özellikle lenfopeni görüldüğü, total lökosit ve nötrofil sayısı ile nötrofil/lenfosit oranının yükseldiği bildirilmiştir. Hastalardan yapılan otopside dalak gibi sekonder lenfoid organlarda atrofi olduğu saptanmıştır. Proenflamatuvar sitokinlerin etkisi ile ise monosit ve makrofaj sayıları artmıştır[25].

Sitokin fırtınası terimi, hem pek çok makalede hem de pek çok haberde COVID-19 hastaları için kullanılmış ve popüler olmuştur[27]. Aslında anlamı hastalarda konak immun sisteminin kontrolsüz ve genel bir enflamatuvar yanıt oluşturmasıdır. Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), iki taraflı akciğer infiltratları ve ciddi hipoksemi varlığı olarak tanımlanır. Pnömoni, sepsis, pankreatit gibi farklı klinik tablolarda gözlenebilir fakat ARDS gelişen hastalarda yaklaşık %40'lık bir mortalite oranı vardır. İlk COVID-19 hastalarında saptanan ARDS olgularının SARS-CoV ve MERS-CoV'da gözlenen ile aynı olduğu düşünülmüştür[28]. Fakat yoğun bakıma alınan COVID-19 hastaların, yoğun bakıma alınmayan hastalara göre IL-1B, IFNγ yanında, CXCL10, ve CCL2 gibi kemokinlerin plazma konsantrasyonlarının da daha yüksek

olduğunun bildirilmesi, SARS-CoV-2'ye bağlı immun yanıtı, SARS-CoV enfeksiyonlarından ayırmıştır[26,28]. Hem Th1 hem de Th2 aracılığıyla sitokinlerin ve kemokinlerin salınımı bazı hastalarda sistemik enflamatuvar yanıtın oluşmasına ve sitokin fırtınası olarak tarif edilen makrofaj aktivasyon sendromu (MAS) veya sekonder hemofagositik lenfohistiyositoz (sHLH) durumlarını geliştirerek, konağa immun sistemin saldırısı sonrası ARDS ve çoklu organ yetmezliklerine ve doku hasarlarına neden olduğu anlaşılmıştır[28]. Yapılan bir çalışmada, SARS-CoV-2'nin bazı kemokinleri upregule ettiği (CXCL10, IL6, CCL2, CXCL1, CXCL5 gibi) bildirilirken, ilginç bir şekilde, CXCL8'nin yalnızca SARS-CoV enfeksiyonunda, CXCL10'nun ise yalnızca SARS-CoV-2 enfeksiyonunda upregüle olduğu bildirilmiştir[29]. Hastalarda saptanan IL-10 seviyesi de, SARS-CoV enfeksiyonlarında düşük belirlenmesine karşın SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında daha yüksektir. Şu an eldeki verilere göre hastaların kanlarında saptanan inflamatuvar belirteçlerin (C-reaktif protein, ferritin ve D-dimer gibi) yüksekliğinin, artmış nötrofil/lenfosit oranının ve bazı inflamatuar sitokin ve kemokin seviyelerinin yüksekliğinin, COVID-19 şiddeti ve ölüm oranı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir[30]. NLRP3 inflamazomunun, COVID-19'lu hastaların klinik seyrindeki başlıca patofizyolojik bileşenlerden biri olduğuna inanılmaktadır ve bunun gelişiminin akut akciğer hasarı (ALI) ve ARDS gelişiminde önemli basamak olduğu rapor edilmiştir. SARS-CoV'da NLRP3 inflamazomu, ORF8 bölgesindeki VLVVL (75-79. kalıntı) motifi tarafından aktive edilirken, SARS-CoV-2'de bu motif bulunmamaktadır[31].

SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonlarına benzer şekilde, SARS-CoV-2 enfeksiyonunda da artmış tromboz riski olduğu belirlenmiştir ve SARS-CoV-2'nin, derin bir protrombotik ortam oluşturduğu düşünülmektedir. Pulmoner emboli, COVID-19'un en yaygın trombotik belirtisidir. SARS-CoV-2 hastalarında gözlenen pulmoner emboli gibi bu klinik hiperkoagülabilite belirtileri yanında, artmış D-dimer, fibrinojen, faktör VIII (FVIII), von Willebrand faktörü (vWF) ile azalmış antitrombin ve tromboelastografi (TEG) test sonuçları da virüsün protrombotik ortam oluşturması ile tutarlıdır. SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında gözlenen bu hiperkoagülabilite durumunun altında yatan patofizyoloji halen tam olarak anlaşılamamıştır. Alveollerden kaynaklanan şiddetli bir enflamatuar yanıtla birlikte, gelişen pulmoner damarlarda fonksiyon kaybının, inflamatuvar bir tromboz kaskadını tetiklediği ve lokal bir koagülopati durumuna yol açtığı düşünülmektedir. Ağır kronik hastalığı olan hastalarda, makro ve mikrovasküler tromboz gelişimi sonrası, genel bir hiperkoagülabilite durumunda görüldüğü düşünülmektedir. Bu nedenle ağır hastalarda antikoagülan ilaçlar yetersiz kalabilmekte ve alternatif veya ek tedavilere ihtiyaç duyulabilmektedir[32].

Diğer koronavirüslere benzer şekilde, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında, T lenfosit aracılı bir koruyucu bağışık yanıt indüklenmektedir[33]. Hastaneye yatırılan SARS-CoV-2 ile enfekte hastalar sıklıkla lenfopeni göstermektedir ve bu da konak hücresel bağışık yanıtlarının baskılandığını düşündürmektedir. Son çalışmalar, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında, sürecin ilerleyişine T hücre aracılı bağışıklığı da içeren konak faktörleri ve virüs yükünün etkili olabileceğini bildiren bazı hipotezleri ortaya çıkarmıştır. Bazı kişilerde SARS-CoV-2 ve bağışıklık sistemi arasındaki denge kurulduğuna dair hipotezde; konak, virüs ile enfekte olmuş hücrelerin ortadan kaldırılmasına (ve dolayısıyla enfeksiyonun temizlenmesine) yol açan T hücre aracılı bir bağışıklık yanıt meydana getirir ve ayrıca oluşan bu bağışık yanıtı da bastırarak durumu kontrol altına alabilir. İlk bulaşmada konak tarafından alınan SARS-CoV-2 viral yükünün, enfeksiyonun seyrine etki ettiğine dair hipotezde ise; düşük SARS-CoV-2 viral yükü ile karşılaşan konakta, T hücre aracılığı kazanılmış bağışık yanıt gelişmekte, bu da hızlı şekilde virüsü temizleyerek, hastalığın hafif seyirli veya belirti göstermeksizin geçmesine neden olmaktadır, yüksek SARS-CoV-2 viral yükü ile karşılaşan konakta ise, bağışıklık sisteminin baskılanması sonrası T hücre aracılı bağışık yanıt gelişememekte ve virüsün temizlenememesi sonrası şiddetli hastalık görülebilmektedir. Bu hipotezde, gelişecek bağışık yanıtlar arasında farklara, konağın bağışık sisteminin uygunluğu, diğer koronavirüslerle daha önce karşılaşmış olması ve

onlara karşı geliştirdiği çapraz reaksiyonlar gibi faktörlerin neden olabileceği bildirilmiştir. Son hipotez ise; SARS-CoV-2'nin bulaşma tarzının etkili olabileceği, özellikle, asemptomatik taşıyıcılarla karşılaşma sonrası alınan düşük SARS-CoV-2 viral yükünün düşük etkili enfeksiyonlar yaratarak, konakta T hücre aracılı kazanılmış bağışık yanıtı geliştirebileceği, semptomatik bireylerle karşılaşma sonrası ise alınan yüksek SARS-CoV-2 viral yükünün bağışıklık sistemini baskılaması sonrası şiddetli enfeksiyonlara yol açtığıdır[33]. Buna karşın, yapılan bir çalışmada, SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan birçok kişide virüsün uzun bir süre asemptomatik kalabildiği ve viral yük seviyesinin semptomatik hastalardakine benzer olduğu bildirilmiştir[34].

Sonuç olarak, koronavirüs ailesine ait bir virüs olmasına karşın SARS-CoV-2 patogenezi ve immun yanıt açısından bilgilerimiz sınırlıdır. SARS-CoV-2 için denediğimiz tedaviler, SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonları ile ilgili deneyimlerimizden gelmesine karşın, SARS-CoV-2'de ciddi farklılıkları olduğu görülmektedir. Etkili antiviral tedaviler ve aşılar geliştirebilmek için SARS-CoV-2'nin patogenezi, konak hücrelerine giriş yolları ve konak immun yanıt ile ilgili süreçlerin çözülmesi ve farklılıklarının anlaşılması gerekmektedir. SARS-CoV-2 için aşı çalışmaları üzerine gelecek haberler merakla takip edilse de, HIV, Ebola, SARS-CoV, MERS-CoV gibi RNA virüsleri için uzun yıllardır denenmesine rağmen, aşı geliştirme aşamalarında karşılaştığımız zorluklar ve başarısızlıklar kesinlikle akılda bulundurulmalıdır. RNA virüslerinin çoğalması için kullandıkları RNA polimeraz enzimi doğası dolayısıyla genomunda mutasyonlar geçirebileceği ve bunun aşı çalışmalarının da başarısızlıklara neden olabileceği her zaman hatırlanmalıdır. Buna karşın yapılacak kapsamlı çalışmalarla SARS-CoV-2 patogenezi ve COVID-19'a karşı immun yanıt net şekilde anlaşılabilirse, aşılara göre daha hızlı etkin antiviral tedaviler geliştirilerek pek çoğumuz için umut olabilir.

KAYNAKLAR

1. Singhal T. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). Indian J Pediatr. 2020;87(4):281-6. https://doi.org/10.1007/s12098-020-03263-6
2. Tang D, Comish P, Kang R. The hallmarks of COVID-19 disease. PLoS Pathog. 2020;16(5):e1008536. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008536
3. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. Int J Antimicrob Agents. 2020;55(3):105924. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924
4. Tobaiqy M, Qashqary M, Al-Dahery S, et al. Therapeutic management of patients with COVID-19: a systematic review. Infect Prev Pract 2020;2(3): 100061. https://doi.org/10.1016/j.infpip.2020.100061
5. Wang M, Cao R, Zhang L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. Cell Res. 2020;30(3):269-71. https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0
6. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat Med. 2020;26(4):450-2. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9
7. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19. https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19. WHO: 11-March-2020 (Erişim: Ağustos 2020).
8. World Health Organization (WHO), Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic. [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019](Erişim tarihi: 09.11.2020).
9. Ge H, Wang X, Yuan X, et al. The epidemiology and clinical information about COVID-19. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020;39(6):1011-9. https://doi.org/10.1007/s10096-020-03874-z
10. Koyama T, Platt D, Parida L. Variant analysis of SARS-CoV-2 genomes. Bull World Health Organ. 2020;98(7):495-504. https://doi.org/10.2471/BLT.20.253591
11. 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
12. Ou X, Liu Y, Lei X, et al. Characterization of spike

glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. Nat Commun. 2020;11(1):1620. https://doi.org/10.1038/s41467-020-15562-9

13. Xia S, Liu M, Wang C, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. Cell Res 2020;30:343-55. https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x
14. Mahmoud IS, Jarrar YB, Alshaer W, Ismail S. SARS-CoV-2 entry in host cells-multiple targets for treatment and prevention. Biochimie. 2020;175:93-8. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.05.012
15. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet. 2020;395(10224):565-74. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8
16. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. Nat Rev Immunol. 2020;20(6):363-74. https://doi.org/10.1038/s41577-020-0311-8
17. Xia S, Lan Q, Su S, et al. The role of furin cleavage site in SARS-CoV-2 spike protein-mediated membrane fusion in the presence or absence of trypsin. Signal Transduct Target Ther. 2020;5(1):92. https://doi.org/10.1038/s41392-020-0184-0
18. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. Science. 2020;370(6518):856-60. https://doi.org/10.1126/science.abd2985
19. Plante JA, Liu Y, Liu J. et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature. 2020 (baskıda) https://doi.org/10.1038/s41586-020-2895-3
20. Zhang L, Jackson CB, Mou H, et al. The D614G mutation in the SARS-CoV-2 spike protein reduces S1 shedding and increases infectivity. bioRxiv. [Preprint] 2020;2020.06.12.148726. https://doi.org/10.1101/2020.06.12.148726
21. Jiang S, Hillyer C, Du L. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. Trends Immunol. 2020;41(5):355-9. https://doi.org/10.1016/j.it.2020.03.007
22. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2020;1866(10):165878. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878
23. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, et al. Immunology of COVID-19: Current state of the science. Immunity. 2020;52(6):910-41. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.05.002
24. Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM. COVID-19: Immunology and treatment options. Clin Immunol. 2020;215:108448. https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108448
25. Soy M, Keser G, Atagündüz P, Tabak F, Atagündüz I, Kayhan S. Cytokine storm in COVID-19: pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. Clin Rheumatol. 2020;39(7):2085-94. https://doi.org/10.1007/s10067-020-05190-5
26. 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
27. Hojyo S, Uchida M, Tanaka K, et al. How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. Inflamm Regener. 2020;40:37. https://doi.org/10.1186/s41232-020-00146-3
28. Coperchini F, Chiovato L, Croce L, Magri F, Rotondi M. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. Cytokine Growth Factor Rev. 2020;53:25-32. https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.05.003
29. Chu H, Chan JF, Wang Y, et al. Comparative replication and immune activation profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in human lungs: an ex vivo study with implications for the pathogenesis of COVID-19. Clin Infect Dis. 2020;71(6):1400-9. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa410
30. Merad M, Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. Nat Rev Immunol. 2020;20(6):355-362. https://doi.org/10.1038/s41577-020-0331-4
31. Elrashdy F, Redwan EM, Uversky VN. Why COVID-19 Transmission is more efficient and aggressive than viral transmission in previous coronavirus epidemics? Biomolecules. 2020;10(9):1312. https://doi.org/10.3390/biom10091312
32. Abou-Ismail MY, Diamond A, Kapoor S, Arafah Y, Nayak L. The hypercoagulable state in COVID-19: Incidence,

pathophysiology, and management. Thromb Res. 2020;194:101-15. https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.06.029

33. Raoult D, Zumla A, Locatelli F, Ippolito G, Kroemer G. Coronavirus infections: Epidemiological, clinical and immunological features and hypotheses. Cell Stress. 2020;4(4):66-75. https://doi.org/10.15698/cst2020.04.216
34. Lee S, Kim T, Lee E, et al. Clinical course and molecular viral shedding among asymptomatic and symptomatic patients with SARS-CoV-2 infection in a community treatment center in the Republic of Korea. JAMA Intern Med. 2020;180(11):1-6. https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.3862

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(4):192-203
doi:10.5222/TMCD.2020.192

Derleme / *Review*

Bitki Virüslerinde Genom Yapısı ve Organizasyonu

Genome Structure and Organization in Plant Viruses

Nihan Güneş, Mustafa Gümüş

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Alındığı tarih / Received:
20.12.2019 / 20.December.2019
Kabul tarihi / Accepted:
03.07.2020 / 03.July.2020
Yayın tarihi / Publication date:
31.12.2020 / 31.December.2020

ORCİD Kayıtları

N. Güneş 0000-0002-6608-4871
M. Gümüş 0000-0002-1603-8666

✉ nihangunes07@gmail.com

Atıf: Güneş N, Gümüş M. Bitki virüslerinde genom yapısı ve organizasyonu. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):192-203.

ÖZ

Obligat bitki patojeni olan viral etmenler farklı şekil ve büyüklüklere sahip olup genellikle nükleik asit ve protein kılıftan oluşmaktadır. Bu yapılarından dolayı diğer bitki patojenlerinden farklıdır. Viral genomlar, virüslerin bitkide replikasyonu ve genlerinin belirtilmesi için gerekli olan bilgiyi içermektedir. Bitkilerde hastalığa neden olan çoğu viral etmen nükleik asit olarak RNA içermektedir. Bitkilerde hastalık yapma mekanizmalarında direkt rol alan viral genom, çeşitli dış faktörlere bağlı olarak da evrimsel süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Kültür bitkilerinde sorun olan virüslerin genomlarının oldukça sık genetik değişikliğe uğradığı bilinmektedir. Günden güne gelişen çeşitli moleküler biyoloji teknikleri genomları moleküler düzeyde analiz etmeye ve modifiye etmeye olanak sağlamaktadır. Bitki virüs genomları küçük boyutlarda olduğundan moleküler düzeyde araştırmalara uygundur ve son 50 yılda bu konuda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu sayede genomların organizasyonunu daha iyi anlamak olası hâle gelmektedir. Virüslerin genom yapılarının anlaşılması onların tanılanmasına ve mücadele yollarının geliştirilmesine ışık tutmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Bitki virüsleri, genom organizasyonu, moleküler biyoloji*

ABSTRACT

Viral agents that are obligate plant pathogens have different shapes and sizes and usually consist of nucleic acid and protein coat. They are different from other plant pathogens due to their unique structure. Viral genomes contain information necessary for replication of viruses and expression of their genes in plant. Many viral agents that cause disease in plants contain RNA as nucleic acid. Viral genome, which plays a direct role in the mechanism of disease in plants, plays an important role in evolutionary processes due to various external factors. It is known that genomes of viruses which cause problem on cultivated plants undergo genetic changes quite frequently. A variety of molecular biology techniques that are advancing day by day allow us to analyze and modify genomes on molecular level. Since genomes of plant viruses are small in size, they are suitable for researches on molecular level and great number of researches have been done in the last 50 years. Thus, it is possible to have better understanding of the organization of genomes. Understanding the genome structure of viruses offers an insight into their identification and development of control strategies.

Keywords: *Plant viruses, genom organization, molecular biology*

GİRİŞ

Bitki virüsleri yaygın olarak görülen ve ekonomik öneme sahip bitki patojenleridir. İnsanların yiyecek olarak yetiştirdiği tüm bitkiler en az bir virüs tarafından etkilenmektedir. Ekonomik kayıplara yol açtıklarından dolayı en çok kültür bitkilerinde zarara neden olan virüsler çalışılmıştır. Birçok yabani bitki de virüslere konukçuluk yapmaktadır. Bitki virüslerinin insanlarda hastalığa neden olan virüsler gibi insanlar üzerinde doğrudan etkileri bulunmamaktadır. Bu virüsler bitkisel ürünlere zarar verdikleri için insanlar üzerinde dolaylı etkileri oldukça önemlidir[1].

Virüslerin sınıflandırılması ve taksonomisinde kullanılan ölçütler arasında virüsün genom tipi, genom

© 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)

organizasyonu ve replikasyon stratejisi oldukça önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra virüsü oluşturan virionun şekli ve büyüklüğü, virüsün proteinleri ve antijenik özellikleri, konukçu dizini, patojenisitesi ve taşınması gibi biyolojik özellikleri de önem taşımaktadır. Ancak, genomik nükleik asitin yapısı ve dizisi bu kriterler arasında kullanılan ana karakterlerdir[2].

1980'li yıllardan itibaren viral genomların dizilerinin belirlenmesi çalışmalarında önemli gelişmeler yaşanmıştır. Dizilenen ilk bitki virüs genomu 1980 yılında *Cauliflower mosaic virus* (CaMV)'ün DNA genomudur[3]. Ardından 1982 senesinde *Tobacco mosaic virus* (TMV)'ünün RNA genomu dizilenmiştir[4]. 2007 yılına kadar 80 bitki virüs cinsine ait en az bir üyenin olmak koşuluyla çoğu cinsin birçok türüne ait tüm genom dizileri belirlenerek veri tabanlarında mevcut hâle gelmiştir. Dizileme verilerindeki bolluk viral dizilerin birbiriyle karşılaştırılmasını sağlamıştır. Karşılaştırmalar virüslerin infeksiyöz klonlarıyla birlikte kullanılınca mutagenez çalışmaları için çok değerli bilgiler açığa çıkarmıştır. Bu sayede çeşitli genlerin kodladıkları proteinlerin yapı ve fonksiyonları ve kodlama yapmayan bölgelerin durumu ve işlevi açıklığa kavuşmuştur[5].

Bitki Virüs Genomlarının Genel Özellikleri

Bir viral genomun yapısını açıklamak için aşağıdaki özelliklerinin tanımlanması gerekmektedir.

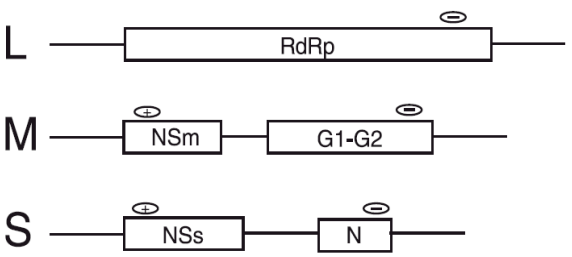
Nükleik asit yapıları

Viral etmenler ya DNA ya da RNA içermektedir, ikisi beraber bulunmamaktadır. Nükleik asitler tek iplikçikli ya da çift iplikçikli şekilde olmaktadır. Bitki viral genomları dsDNA, ssDNA, dsRNA ve ss negatif duyarlıklı RNA olmakla birlikte, çoğunlukla ss pozitif duyarlıklı RNA içermektedir (Tablo 1). Nükleik asit eğer tek iplikçikli ise pozitif ya da negatif duyarlıklı olmaktadır. Pozitif duyarlıklı iplikçik proteinin translasyonu için gerekli mRNA dizisi olarak görev almaktadır. Bazı viral etmenler ambisense RNA içerebilmektedir. Ambisense RNA hem negatif hem pozitif duyarlıklı özellikte RNA içermektedir[6]. Kültür bitkilerinde hastalığa neden olan TMV, *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Potato virus* Y (PVY), *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Barley stripe mosaic virus* (BSMV), *Brome mosaic virus* (BMV), *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV), *Citrus tristeza virus* (CTV), *Potato leafroll virus* (PLRV), *Potato virus X* (PVX), *Cowpea mosaic virus* (CPMV), *Tobacco ringspot virus* (TRSV) vb. çoğu viral etmen pozitif duyarlıklı ss RNA genomlarına sahiptir[7-18]. *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) genomu (Şekil 1) L RNA segmenti negatif duyarlıklı ve M RNA ve S RNA segmentleri ambisense ssRNA özellikte üç RNA segmenti içermektedir[19]. *Lettuce big-vein virus* (LBVV) ds RNA genomuna sahiptir[20]. CaMV etmeni dsDNA genomuna sahipken[3] *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) ve *Maize streak virus* (MSV) etmenleri ssDNA genomlarına sahiptir[21,22].

Tablo 1. Bitki virüslerinin genom tipine göre gruplandırılması[6].

Nükleik asit	Sayı
Çift iplikçikli DNA	1
Tek iplikçikli DNA	644
Çift iplikçikli RNA	46
Tek iplikçikli negatif duyarlıklı RNA	70
Tek iplikçikli pozitif duyarlıklı RNA	847
Tek iplikçikli ambisense duyarlıklı RNA	28

Sayılar tür bazında verilmiştir.



Şekil 1. TSWV genom yapısı[23].

Çok parçalı genomlar

İnfeksiyöz genomu kaç parça nükleik asitin oluşturduğu genomun yapısını belirlemek için önemlidir. Bitki virüslerinin 80 cinsinden 33'ünün genomları farklı uzunluklara sahip iki veya daha fazla ayrı parçadan oluşmaktadır. Bu durum çok parçalı genom olarak adlandırılmaktadır. Çoğu cinste her parça ayrı kılıf proteinine sahiptir[24]. TSWV[19], CMV[8], AMV[10], BSMV[11], BMV[12], BNYVV[13], CPMV[17] ve TRSV[18] etmenleri çok parçalı genoma sahiptir.

Tam genom nükleik asit dizisi

Bitkiler alemindeki viral etmenlerin çoğu RNA genomlarına sahip olup yüksek mutasyon oranları, hızlı çoğalmaları ve büyük populasyonlara sahip olmalarından dolayı hızlı evrimleşme yeteneğine sahiptir. İnfeksiyöz cDNA klonlarının elde edilmesi RNA virüslerinin genomlarının araştırılmasına olanak sağlamıştır. Tam genom nükleik asit dizileri sayesinde viral etmenlerin ve ırkların dizilerinin karşılaştırılması virüsleri filogenetik açıdan değerlendirmede oldukça önemlidir. İnfeksiyöz genomun tam nükleik asit dizisi elde etme çalışmaları sayesinde viral genler ve dizileri kullanılarak havuzlar oluşturulması yeni antiviral stratejilerin ve viral vektörlerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır[5].

Virüslerde genetik çeşitliliğin mutasyon (nükleotit değişimi) ve rekombinasyon (nükleik asit dizilerinin yeniden düzenlenmesi) olmak üzere iki formu bulunmaktadır.

Mutasyonlar, genellikle nükleik asit replikasyonu sırasında yeni sentezlenen dizide düzeltme işleminin RNA-bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enzimi tarafından yapılmamasından kaynaklanmaktadır. Nokta mutasyonları, genom replikasyonu sırasında kopyalama işleminde meydana gelen hataların nükleotit değişimlerine neden olmasından dolayı oldukça sık meydana gelmektedir. Kodlama yapan bölgedeki tek baz değişimi sentezlenecek proteinde aminoasit değişimine neden olabilmektedir. Baz değişimi ile yeni durdurma kodonunun erken oluşmasıyla translasyon erken biterek daha kısa polipeptid oluşabilmektedir. Kodlama bölgelerinde tek bir nükleotidin silinmesi veya eklenmesi çerçeve kaymasına neden olarak aminoasit değişimine neden olmaktadır. Birden fazla nükleotid değişimine neden olan mutasyonlar kodlanan proteinde ve düzenleyici dizide daha büyük değişimlere neden olmaktadır. Kodlama yapmayan bölgelerdeki nükleotid değişimlerinin etkisi içerdikleri dizinin düzenleyici veya tanıma işlevine göre değişmektedir[25].

Yeni ortaya çıkan bitki virüslerinin neden olduğu şiddetli ekonomik kayıplar bitki virüslerinin evriminin önemine ışık tutmaktadır. Bu durum bitki virüslerin genomlarının rekombinasyonla ne derece şekillendiği sorusunu açığa çıkarmaktadır. RNA ya da DNA genomuna sahip virüslerde rekombinasyon meydana gelmektedir. Rekombinasyon, iki genom arasındaki dizilerde birbiriyle değişime neden olarak viral genomlarda farklılaşmaya neden olmaktadır. Bazı RNA virüslerinde rekombinasyonun genetik çeşitliliği şekillendirici etkisi bulunmaktadır. Potyvirus, Luteovirus, Nepovirus, Closterovirus, Cucumovirus ve Bromovirus cinslerinde doğal rekombinasyonun gerçekleştiği belirlenmiştir. Yüz elli yedi tam genom nükleik asit dizisi ve 957 kılıf proteini dizisi analizlerinin karşılaştırılmasıyla yapılan çalışmada, pozitif RNA virüslerinde rekombinasyon sıklığı araştırılmıştır. Çalışmada, etmenlerin yarısına yakınında rekombinasyon gerçekleştiği belirlenmiş olup, özellikle Potyvirüslerde rekombinasyon sıklığının oldukça yaygın olduğu bulunmuştur[1]. Rekombinasyonun, yalancı rekombinasyon olarak da söz edilen reassortment olarak adlandırılan bir diğer formu da bulunmaktadır. Parçalı genoma sahip virüslerde meydana gelmektedir. Virüsün iki ırkının birlikte enfeksiyon gerçekleştirmesi sırasında iki genomun genom parçalarının enkapsidasyonu sırasında yeni varyeteler oluşmaktadır. Bu durum parçalı genomlara sahip Bromovirus, Geminivirus ve Orthotospovirus familyalarında görülmektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada, TSWV izolatlarının, koinfeksiyon sırasında genom segmentlerini birbirleriyle değiştirebildiği belirlenmiştir. TSWV M RNA'sından kodlanan G^N ve G^C proteinleri trips ile taşınmanın belirleyicisidir. TSWV-RG2 izolatı *Frankliniella occidentalis* ve *Frankliniella fusca* vektörleriyle taşınırken TSWV-D izolatı tripslerle taşınmamaktadır. İzolatların koinfeksiyonu sonucu oluşan yeni izolatlarda RNA'larını değişimi meydana gelmiştir ve yeni izolat tripslerle taşınmaktadır[26].

Doğrusal nükleik asitin 5' ve 3' ucu yapıları

Çoğu ssRNA genomuna sahip bitki virüslerinin 5' ucunda ve 3' ucunda özelleşmiş yapılar bulunmaktadır.

5’ ucu başlığı ve Poly(A) kuyruğu

Bazı virüslerin 5’ ucunda metillenme meydana geldiği için başlık bulunmaktadır. Başlık takma aktivitesi virüs tarafından kodlanmaktadır ve translasyonu arttırıcı etkisi bulunmaktadır[27]. Birçok viral RNA’nın 3’ ucunda poliadenilasyonun gerçekleştiği diziler bulunmaktadır ve Poly(A) kuyruğu olarak isimlendirilmektedir. Poly(A) kuyruğu viral RNA’yı daha stabil hâle getirip degredasyonunu engellemekle beraber, viral RNA replikasyonunda rolü bulunmaktadır[28]. Bazı viral RNA’lar hem 5’ ucu başlığına hem de Poly(A) kuyruğuna sahiptir. BSMV, BNYVV, PVX hem 5’ ucu başlığına hem de Poly(A) kuyruğuna sahiptir[11,13,16]. Viral RNA’ların büyük çoğunluğu ise 5’ ucu başlığına ya da Poly(A) kuyruğuna sahiptir veya hiç birine sahip değildir. TMV, CMV, AMV, BMV ve CTV etmenleri 5’ ucu başlığına sahiptir ancak Poly(A) kuyruğu yoktur[7,8,10,12,14]. CPMV, TRSV ve Potyvirüsler yalnızca Poly(A) kuyruğuna sahiptir[9,17,18]. 5’ ucu başlığına veya Poly(A) kuyruğuna sahip olmayan etmenlerin de etkili şekilde eksprese olduğu belirlenmiş olup, translasyonu arttırıcı başka bir mekanizmaya sahip olduğu düşünülmektedir[27]. Viral etmenlerle polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirmek için önce tamamlayıcı DNA sentezinin (cDNA) gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Tamamlayıcı DNA sentezi sırasında Oligo(dT) veya Random primerler kullanılmaktadır. Oligo(dT) RNA’nın Poly(A) kuyruğuna bağlanarak işlev görürken Random primerler RNA’da herhangibir yere bağlanarak işlev gören oligonükleotitlerdir[29].

Genoma bağlanmış virüs proteini (VPg)

Bazı bitki virüs genomlarının 5’ ucuna bağlanmış virüs tarafından kodlanan “genoma bağlanmış virüs proteini” (VPg) olarak isimlendirilen proteinler bulunmaktadır. Eğer çok parçalı genomlar VPg içerirse tüm genomik RNA’lar kendilerine bağlantılı aynı proteini içermektedir. VPg’ler virüs replikasyonunda görev almaktadır. CPMV, TRSV, PLRV ve PVY etmenleri VPg proteinine sahiptir[9,15,17,18]. PVY etmeninde VPg proteini aynı zamanda virülenslik belirleyicisidir. Proteinin merkez bölgesindeki amino asit değişimi domates bitkilerinde PVY’ye karşı eIF4E tarafından kontrol edilen resesif dayanıklılığın kırılmasında sorumludur[30].

3’ucu tRNA-benzeri yapılar

Birçok bitki viral genomlarının 3’ ucunda özelleşmiş konukçu tRNA’larını kabul etme ve bağlanma özelliğine sahip 3’ucu tRNA-benzeri yapılar bulunmaktadır.

TMV, CMV, AMV, BSMV ve BMV 3’ucu tRNA-benzeri yapıya sahiptir[7,8,10-12]. Çeşitli viral RNA’ların 3’ ucundaki tRNA-benzeri yapılar pseudoknotlar oluşturmaktadır ve RNA replikasyonunun regülasyonunda rol oynamaktadır[31].

5’ ve 3’ ucunda kodlama yapmayan bölgeler

Bitki virüslerinin 5’ ucunda değişen uzunluklarda kodlama yapmayan bölgeler bulunmaktadır. Bu bölgenin translasyonu arttırıcı etkisi olduğu belirlenmiştir. TMV RNA’sının 68 nükleotit uzunluğundaki 5’ ucu kodlama yapmayan bölgesinin translasyonu arttırıcı etkisi oldukça yüksektir[32]. Bu durum *Pea seeborne mosaic virus* (PSbMV), *Tobacco etch virus* (TEV) ve PVX gibi etmenlerde belirlenmiştir[33]. AMV’nin RNA 4’ünde bulunan kodlama yapmayan bölgenin translasyonu arttırıcı etkisi bulunurken RNA3’ündekinin translasyonu engelleyici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir[34,35]. 5’ ve 3’ ucunda kodlama yapmayan bölgelerin her ikisi de translasyonu ve replikasyonu kontrol etmektedir[31].

Genomun içerdiği açık okuma çerçevesi sayısı

Viral genom, hangi alemi enfekte ettiğinden bağımsız olarak viral enfeksiyon döngüsü (enfeksiyonun başlaması, konukçuda hareket, konukçu ile etkileşim ve konukçular arasındaki taşınma) için gerekli olan protein ifadesini sağlayan kodlama yapan bölgeleri içermektedir. Bununla beraber, viral genomda kodlama yapmayan ama ifadeyi ve replikasyonu kontrol eden bölgeler bulunmaktadır. Kontrol dizileri ayrıca kodlama yapan bölgelerde de bulunmaktadır[33].

Açık okuma çerçevesi bir okuma çerçevesinin proteine çevrilme yeteneğine sahip olan kısmıdır. Açık okuma çerçevesi bir başlangıç kodon ile başlayan ve bir durdurma kodunu ile biten sürekli bir kodon dizisidir. 10 kDa ve daha fazla büyüklükte proteinin ifadesini sağlamaktadır. Genel olarak başlangıç kodonu

Tablo 2. Farklı bitki virüs etmenlerinin genom içeriği ve organizasyonu[3,7-10,12,14-16,21,38,41,42].

Viral etmen	Genom Büyüklüğü (nt)	Gene Sayısı (ORFs)
Alfalfa mosaic virus	9.125	4
Barley yellow dwarf virus-PAV	5.677	6
Beet yellows virus	15.500	9
Brome mosaic virus	9.092	5
Cauliflower mosaic virus	8.000	7
Citrus tristeza virus	19.300	12
Cowpea mosaic virus	9.370	7
Cucumber mosaic virus	8.523	6
Potato leafroll virus	5.882	5
Potato virus X	5.835	5
Potato virus Y	9.704	10
Tobacco mosaic virus	6.395	4
Tobacco necrosis satellite virus	1.239	1
Tomato spotted wilt virus	16.600	6
Tomato yellow leaf curl virus	2.790	6

nt: nükleotit

AUG ve bitiş kodonu UAG, UAA veya UGA'dan oluşmaktadır. Açık okuma çerçeveleri zorunlu olarak AUG başlangıç kodonu ile başlamamaktadır. *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) açık okuma çerçevesinin AUU başlangıç kodonuna sahip olduğu belirlenmiştir. *Soil-borne wheat mosaic virus* kılıf proteninin başlangıç kodonunun CUG olduğu belirlenmiştir[36, 37].

Açık okuma çerçevesinin bulunması o bölgenin her zaman proteine çevrildiği anlamına gelmemektedir. Açık okuma çerçevelerinin bir kısmı in vivoda protein kodlarken bir kısmı kodlamamaktadır. Fonksiyonel açık okuma çerçeveleri ilgili proteinin enfekteli hücrede saptanması ya da viral mRNA'ların in vitro translasyon çalışmalarında kullanılmasıyla belirlenmektedir[38].

Bitki viral genomlarının bazıları bir protein kodlarken bazıları 250 protein kodlayabilecek şekilde oldukça değişiklik göstermektedir. Bu aralıktaki en küçük bitki viral genomları çoğunlukla bir ve 12 arasında protein kodlamaktadır (Tablo 2). *Tobacco necrosis virus* (TNV) yokluğunda konukçu bitkide çoğalamayan *Satellite tobacco necrosis virus* (STNV) yalnızca kendi kılıf proteinini (yaklaşık 400 aminoasit) kodlayabilmektedir[39]. Closterovirus cinsindeki virüsler çok sayıda protein kodlamaktadır. Turunçgillerde ciddi epidemilere sebep olan Clestorovirus cinsinde bulunan CTV genomu 12 açık okuma çerçevesine sahiptir ve an az 17 protein kodlayabilme kapasitesine sahiptir. Bu proteinler virüs replikasyonu, hücreden hücreye hareket ve taşınma gibi farklı işlevlere sahiptir[40].

Viral Gen Ürünlerinin Fonksiyonları

Virüs genomlarında kodlanan proteinler yapısal ve fonksiyonel olmak üzere iki çeşit gen ürünü olarak bulunmaktadır.

Yapısal Proteinler

Yapısal gen ürünleri arasında kılıf proteinleri bulunmaktadır. Virüs partikülünün yapısı kılıf proteinin alt ünitelerinin yapısı ile belirlenmektedir. Çubuk şekilli partikülerin oluşmasını sağlayan proteinlerin takoz şeklinde olurken küre şeklindeki partiküllerin proteinlerinin konik şekilde olması gerekmektedir. Proteinlerin bu şekli polipeptid zincirlerin ikincil ve üçüncül yapıları tarafından belirlenmektedir[38]. CMV etmeninin çoğu ırkı tütünde mozaik belirtisine neden olurken bazı ırkları kloroza neden olmaktadır. CMV cDNA klonlarının rekombinasyonu ile yapılan çalışmada klorozun kılıf proteindeki iki nükleotitlik değişimden kaynaklandığı belirlenmiştir[43].

Fonksiyonel Proteinler

Bitki virüslerinde bulunan fonksiyonel viral proteinler arasında infeksiyonu başlatan proteinler, viral genom replikasyonu, gen ürünü işleme, konukçu içinde taşınma ve konukçular arasında taşınma proteinleri bulunmaktadır[38].

Viral Genomu Çoğaltan Proteinler

Satellit virüsler hariç tüm virüsler nükleik asit senzetinde enzimatik fonksiyonu olan bir ya da daha fazla proteini kodlamaktadır. Bu durum genomik nükleik asit için, mRNA için ya da her ikisi için olasıdır. Bu tür enzimler polimeraz olarak adlandırılmaktadır. Farklı polimerazlar bulunmaktadır. RNA-bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enzimi, kalıp RNA'dan RNA transkripsiyonunu katalizlemektedir. RNA-bağımlı DNA polimeraz (ters transkriptaz: RT) enzimi örneğin *Retroviridae* ve *Caulimoviridae* üyelerinde viral RNA'yı genomik DNA'ya kopyalamaktadır. Replikaz, RNA genomunun

tamamını ve subgenomik mRNA'ları kopyayan enzim kompleksidir. Replikaz enzimleri sıklıkla çeşitli fonksiyonel bölgeler veya farklı fonksiyonlara sahip virüs tarafından kodlanmış alt ünitelerden oluşmaktadır. Örneğin, RNA→RNA replikasyonu metil transferaz ve helikaz aktivitelerine sahiptir. Metil transferaz, protein moleküllerine metil grubu ekleyen enzimdir. Helikaz, nükleik asitlerin iplikçiklerinin ayrışmasında görev almaktadır. Bitki virüsleri arasında virüs tarafından kodlanan DNA-bağımlı DNA polimeraz (DdDp) enzimi kullanarak DNA çoğaltan etmen bulunmamaktadır. Örneğin, CaMV ve *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) etmenleri konukçudaki DdDp enzimini kullanarak çoğalmaktadır[38,44].

Viral Gen Ürünlerini İşleyen Proteinler

Virüslerin tüm genomu ya da genoma ait bir segment, bir poliproteine transkribe olduktan sonra genellikle poliproteinleri fonksiyonel proteinlere ayıran bir ya da daha fazla proteinaz kodlamaktadır. Birden fazla protein kodlama kapasitesine sahip RNA tek bir açık okuma çerçevesine sahip olduğu için poliprotein sentezlenmektedir. Virüs tarafından kodlanan bir, iki ya da üç proteinaz kullanılarak poliprotein belli bölgelerden proteinlere ayrılmaktadır. Bu strateji Potyvirüslerde görülmektedir. 10 kb büyüklüğünde genoma sahip 3000-3300 amino asitlik poliprotein için tek bir açık okuma çerçevesi bulunmaktadır. Poliprotein 3 proteinaz tarafından kesilerek 10 protein oluşmaktadır. Bu durum virüslerin konukçuda mRNA'larının translasyonunu kısıtlayan sorunların üstesinden gelmek için kullandığı yöntemlerden birisidir[45].

Konukçu içerisinde viral hareketi sağlayan proteinler

Birçok bitki virüsü tarafından kodlanan bir ya da daha fazla protein konukçuda plasmodesmatalar aracılığıyla hücreden hücreye ve sistemik hareket için gereklidir. Hareket proteini infekte olmamış hücrelere virionların geçişi için plasmodesmataları kullanmayı sağlamaktadır. Bazı viral nükleik asitler plasmodesmataları geçmek için çok büyüktür. Hareket proteinleri bu sınırlamayı aşmayı sağlayıp viral nükleik asitlere bağlanarak taşımaktadır[46].

Konukçu Dayanıklılığını Bastıran Proteinler

Bitkilerde RNA susturma savunma sistemi bulunmaktadır. Bitkilerde susturma yanıtı infekte olan hücreden başlayarak sistemik olarak yayılmaktadır. Savunma sistemi, küçük RNA molekülleri oluşturan dsRNA tarafından aktive olmaktadır. Oluşan siRNA ve miRNA molekülleri ile RNA ve DNA virüslerine karşı savunma sistemi gerçekleşmektedir. Bununla beraber, başarılı virüsler ise bir ya da daha fazla protein kodlayarak konukçu savunma sistemini baskılamaktadır[47,48]. RNA susturma sistemi virüsün karşılaştığı en büyük sorun olmakla birlikte, özellikle RNA genomuna sahip olanlar için oldukça önemlidir. Virüsler bu sistemin üstesinden gelmek için RNA susturmayı bastırma, savunma sisteminden kaçınma ve atlatma gibi çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Çoğu bitki virüsü, bitkinin virüslere karşı kullandığı gen susturma savunma sistemini bastıran proteinleri kodlayan genlere sahiptir (Tablo 3). Baskılayıcı proteinler çoğunlukla başka fonksiyonlara sahiptir ve sıklıkla patojenisite belirleyicisi olarak tanımlanmaktadır. Bununla beraber, replikasyon arttırıcı, virüs hareketi belirleyicisi ve belirti oluşumu gibi fonksiyonları da olabilmektedir. Çoğu baskılayıcı proteinin ortak özelliği dsRNA'ya, hem uzun hem kısa dsRNA'lara ya da ds siRNA'ya bağlanmasıdır[49]. *Tomato bushy stunt virus* (TBSV) p19 proteini, Closterovirus p20 proteini, *Peanut clump virus* p15 proteini ve Potyvirus HC-Pro proteini ds siRNA'ya bağlanarak RNA susturma sisteminin ara basamağını inhibe etmektedir. Turnip crinkle virüs kılıf proteini uzun ve kısa dsRNA'lara bağlanmaktadır ve RNA susturma sistemini daha erken basamaktan inhibe etmektedir. Bazı baskılayıcı proteinler ise dsRNA'lara bağlanarak değil RISC kompleksini (RNA inducing silencing complex) inhibe ederek işlev göstermektedir[50-53]. CMV 2b proteini ve Polerovirus P0 proteini RISC bileşeni Argonaute 1 proteini ile etkileşime geçerek işlev göstermektedir[48,54]. Bazı baskılayıcı proteinler miRNA'ları da etkilemektedir ancak bazı miRNA'ların etkilenmediği belirlenmiştir[55]. Bazı virüslerde susturmayı baskılayan proteinler bulunmamaktadır. Viral replikasyonun bitkilerin susturma savunma sistemine karşı duyarlı basamağı RNA replikasyonu ve

Tablo 3. Konukçu dayanıklılığını bastıran bazı viral proteinler[48,53,58-62].

Viral etmen	Baskılayıcı(lar)	Diğer fonksiyonlar	Mekanizma
Potato virus Y, Tobacco etch virus	HCPro	Hareket, poliprotein işlemesi yaprakbiti ile taşınma, patojenisite belirleyicisi	si dsRNA'ya bağlanma
Cucumber mosaic virus	2b	Konukçuya özgü hareket, belirti oluşturma	Argonat protein 1 ile etkileşime geçme
Citrus tristeza virus	p20, p23, CP	Replikasyon arttırıcı, nükleik asit bağlama, kılıf protein	Hücre içi ve hücreler arası baskılama
Turnip crinkle virus	p38	Kılıf protein	Uzun ve si dsRNA'ya bağlanma
Tomato spotted wilt virus	NSs	Patojenisite belirleyicisi	Belirlenmemiş
Tomato yellow leafcurl virus	AC2	Transkripsiyonu aktive eden protein	Konukçu baskılayıcısını aktive etme
Cauliflower mosaic virus	p6	Genom ekspresyonu transaktivatörü, belirti şiddeti belirleyicisi	Belirlenmemiş

translasyonu sırasında dsRNA'ya maruz kalmasıdır. Bazı virüslerin vesiküller gibi ulaşılamaz bölgelerde çoğalarak savunma sisteminden kaçtığı tahmin edilmektedir. Eğer virüs replike olur ve hızlıca gen ifadesi gerçekleştirip genomunun enkapsidasyonunu gerçekleştirirse savunma sisteminin üstesinden gelmektedir[38].

Susturma ve susturmayı baskılama bitkilerdeki virüslerin oluşturduğu belirtiler üzerinde başlıca etkiye sahiptir. Başarılı bir enfeksiyon susturma ve susturmayı baskılama arasındaki denge ile gerçekleşmektedir. Eğer susturma gerçekleşmez ya da susturmayı tamamen baskılama gerçekleşirse enfeksiyondan hemen sonra bitki ölmektedir. Hızlı bitki ölümü ise virüs için bir dezavantajdır. Bununla beraber eğer susturmayı baskılama gerçekleşmezse virüs enfeksiyon gerçekleştirememektedir. Birçok belirtinin oluşması RNA susturulması ve savunma mekanizmasının baskılanması arasındaki dengeyi yansıtmaktadır[56].

Viral enfeksiyonun en çok gözlenen belirtilerinden biri açık yeşil ve koyu yeşil alanlardan oluşan mozaik simptomudur. Koyu yeşil alanlarda belirlenebilir virüs bulunmamaktadır ve bu alanlar daha sonraki virüs enfeksiyonuna dayanıklıdır. Bu hücrelerde susturma gerçekleşmektedir ancak baskılanma gerçekleşmemektedir[38].

İki virüsün ortak enfeksiyonunda bir virüsün susturmayı baskılaması diğer virüsün replikasyonunu etkileyerek sinerjistik etki görülmektedir. Tütün bitkilerinde PVX ve PVY etmenlerinin ortak infeksiyonun sistemik olarak infekte olmuş ilk yapraklarda şiddetli damar nekrozu karakterize edilmektedir. Bu sinerjistik reaksiyonu gösteren yapraklar PVX'in tek başına infeksiyonundan 10 kata kadar daha fazla PVX içerirken PVY miktarı sabit kalmaktadır. Bunun nedeninin PVX çoğalımı görülen hücre sayısının artması yerine her hücredeki virüs çoğalımındaki artış olduğu belirlenmiştir. PVX miktarının çoğalmasından PVY'nin susturmayı baskılayıcı HC-Pro proteininin sorumlu olduğu belirlenmiştir[57].

Virüslerin Genomik Nükleik Asitlerini Yararlı Kullanımı

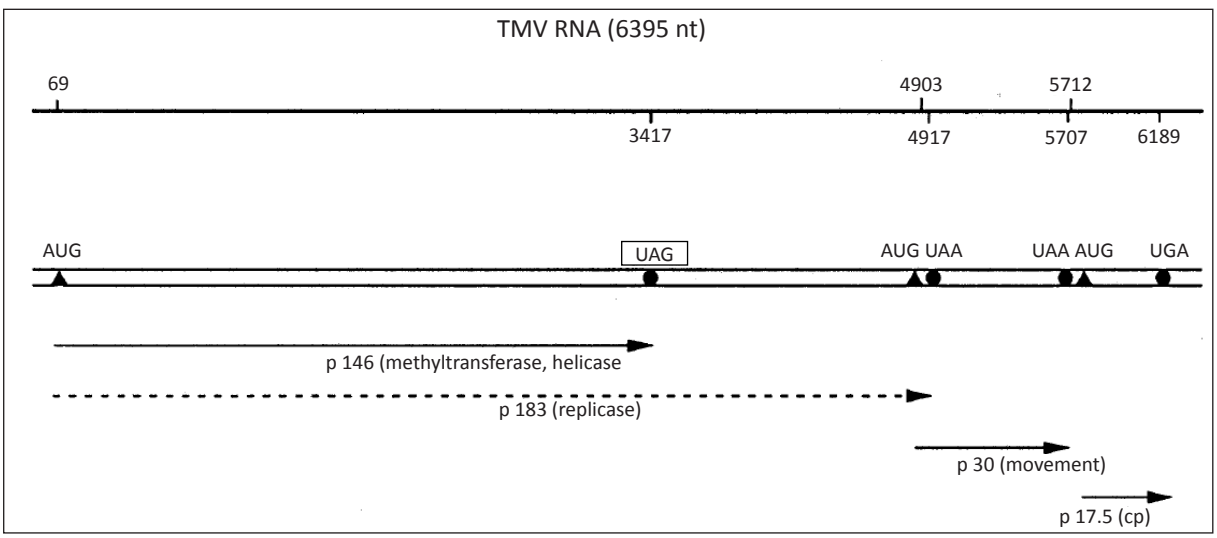
Virüsler içerdikleri sınırlı sayıdaki genomik nükleik asitleri oldukça etkili şekilde kullanmaktadır. Bir gen ürünü birden fazla fonksiyona sahip olabilmektedir. MSV etmeninin kılıf proteininin koruma fonksiyonu ile beraber böcek vektör spesifikliği, virüsün hücreden hücreye taşınımı, belirti ifadesi ve replikasyon kontrolü fonksiyonları da bulunmaktadır[63].

İki farklı genin kodlama yapan bölgeleri farklı okuma çerçevelerinde üst üste binmiş şekilde bulunabilmektedir. Örneğin, 6318 nükleotit uzunluğundaki *Turnip yellow mosaic virus* etmeninde baskılayıcı protein olarak da görev alan 69 kDa büyüklüğündeki hareket proteininin açık okuma çerçevesi 206 kDa

Tablo 4. (+) duyarlıklı ssRNA virüslerinde baskılanabilir translasyon durdurma kodonları[65].

Virüs	Baskılanabilir durdurma kodonu	Okuma ürünü/fonksiyonu
Tomato bushy stunt virus	UAG	Replikaz
Carnation mottle virus	UAG	Replikaz
Tobacco necrosis virus	UAG	Replikaz
Barley yellow dwarf virus	UAG	Kılıf protein, yaprakbiti ile taşınımı
Potato leafroll virus	UAG	Kılıf protein, yaprakbiti ile taşınımı
Pea enation mosaic virus RNA-1	UGA	Kılıf protein, yaprakbiti ile taşınımı
Tobacco mosaic virus	UAG	Replikaz
Tobacco rattle virus RNA-1	UGA	Replikaz
Soilborne wheat mosaic virus RNA-1 RNA-2	UGA UGA	Replikaz Kılıf protein uzaması, fungus ile taşınımı
Potato mop-top virus RNA-1 RNA-3	UGA UAG	Replikaz Kılıf protein
Beet soil-borne virus RNA-1 RNA-2	UAA UAG	
Beet necrotic yellow vein virus RNA-2	UAG	Kılıf protein, fungus ile taşınımı

büyüklüğündeki replikaz proteininin açık okuma çerçevesi ile üst üste binmiş şekilde bulunmaktadır[64]. Viral genomlarda baskılanabilir durdurma kodonu (UGA, UAG, UAA) bulunabilmektedir. Okuma sırasında durdurma kodonunun es geçilmesi ile önceki kısa polipeptidden farklı olarak daha uzun polipeptid oluşabilmektedir. Bu durum (+) duyarlıklı ss RNA genomlarında oldukça sık görülmektedir (Tablo 4). Baskılayıcı tRNA'nın ilk durdurma kodonunu geçiştirerek diğer okuma çerçevesine devam etmesi sonucu oluşan bu proteinlere çerçeve kayması proteinleri denmektedir. TMV'de durdurma kodonunun yanlış okunarak es



Şekil 2. TMV genomik RNA'sının şematik yapısı. TMV'nin 6,4 kb genomik ssRNA'sı yatay çizgi ile gösterilmiştir. İlk çizgi açık okuma çerçevelerinin dizideki yerlerini göstermektedir. Başlama ve bitiş kodonlarının yerleri ikinci çizgide sırasıyla üçgenler ve yuvarlaklar olarak gösterilmiştir. In vivo'da sentezlenen proteinler oklar ile gösterilmiştir.183 kDa okuma ürünü kesikli çizgi ile gösterilmiştir. 126 kDa nükleotit dizisindeki baskılanabilir UAG durdurma kodonu kutu ile gösterilmiştir[65].

geçilmesi ile metil transferaz, helikaz proteini yerine replikaz bölgesinin ifadesi gerçekleşmektedir. Bu durum viral etmene karşı konukçunun translasyon sistemindeki kısıtlamaların üstesinden gelmek için virüsün gen ürünlerinin ekspresyonunu kontrol etmesini sağlayan bir mekanizmadır[65].

Çoğu virüs intronlara sahip değildir ancak bazılarında bulunmaktadır. DNA genomuna sahip *Caulimoviridae* ve *Geminiviridae* familyalarına üye viral etmenlerde mRNA uçbirleştirmesi (splicing) sayesinde çok sayıda gen ürünü mümkün olabilmektedir. Kodlama yapmayan dizilerin çıkarılması ve kodlamaya yapılan bölgelerin tekrar birleştirilmesi ile mRNA transkriptlerinin çeşitliliği artmaktadır[66].

Sonuç olarak, viral genomlar bitkide enfeksiyon için her hücrede anahtar görev üstlenmektedir. Teknolojideki ilerleme ile viral genomların yapısının ve hangi proteinleri kodlayıp işlevlerinin ne olduğu belirlenmesi sağlanmıştır. Tam genom nükleik asit dizileri protein ifadesi için gerekli her nükleotiti okumayı sağlamıştır. Önemli proteinleri kodlayan genlerin dizilerinin ve fonksiyonlarının öğrenilmesiyle beraber kodlama yapmayan düzenleyici dizilerle ilgili bilgi oldukça kısıtlıdır ve bu konuda çalışma yapılmasına gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Chare ER, Holmes EC. A phylogenetic survey of recombination frequency in plant RNA viruses. Arch Virol. 2006;151(5):933-46. https://doi.org/10.1007/s00705-005-0675-x
2. Virus taxonomy. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 1995; Springer-Verlag, Viyana, Avusturya.
3. Franck A, Guilley H, Jonard G, Richards K, Hirth L. Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. Cell. 1980;21(1);285-94. https://doi.org/10.1016/0092-8674(80)90136-1
4. Goelet P, Lomonossoff GP, Butler PJ, Akam ME, Gait MJ, Karn J. Nucleotide sequence of tobacco mosaic virus RNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 1982;79(19):5818-22. https://doi.org/10.1073/pnas.79.19.5818
5. Boyer JC, Haenni AL. Infectious transcripts and cDNA clones of RNA viruses. Virology. 1994;198(2):415-26. https://doi.org/10.1006/viro.1994.1053
6. ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Metadata Repository: version May 1, 2020; MSL35 [https://talk.ictvonline.org/taxonomy/vmr/]. (Erişim tarihi: 30 Haziran 2020).
7. Van Regenmortel MHV. Tobacco mosaic virus. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol 5. Elsevier, Academic Press. 2008:54-9. https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00595-1
8. Garcia-Arenal F. Palukaitis P. Cucumber mosaic virus. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol 1. Elsevier, Academic Press. 2008:614-9. https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00640-3
9. Lo´pez-Moya JJ, Garcia JA. Potyviruses. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol 4. Elsevier, Academic Press. 2008:314-24. https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00475-1
10. Bol JF. Alfalfa mosaic virus. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol 1. Elsevier, Academic Press. 2008:81-6. https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00635-X
11. Bragg JN, Lim H-S, Jackson AO. Hordeivirus. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol 2. Elsevier, Academic Press. 2008:459-66. https://doi.org/ 10.1016/B978-012374410-4.00426-X
12. Wang X, Ahlquist P. Brome mosaic virus. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol 1. Elsevier, Academic Press. 2008:381-5. https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00560-4
13. Schirmer A, Link D, Cogmat V, et al. Phylogenetic analysis of isolates of Beet necrotic yellow vein virus collected worldwide. J Gen Virol. 2005;86(Pt 10):2897-911. https://doi.org/10.1099/vir.0.81167-0
14. Bar-Joseph M, Dawson WO. Citrus tristeza virus. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol 1. Elsevier, Academic Press. 2008:520-4. https://doi.org/ 10.1016/B978-012374410-4.00639-7
15. Taliansky M, Mayo MA, Barker H. Potato leafroll virus: A classic pathogen shows some new tricks. Molec Plant Pathol. 2003;4(2):81-9. https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00153.x
16. Ryu KH, Hong JS. Potexvirus. In: Mahy BWJ, van

Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol. 4, 2008:310-3. https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00738-X

17. Pouwels J, Carette JE, van Lent J, Wellink J. Cowpea mosaic virus: Effects on host cell processes. Molec Plant Pathol. 2002;3(6):, 411-8. https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2002.00135.x
18. Sanfaçon H. Nepovirus. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol. 3, 2008: 405-12. https://doi.org/ 10.1016/B978-012374410-4.00449-0
19. Adkins S. Tomato spotted wilt virus-positive steps towards negative success. Mol Plant Pathol. 2000;1(3):151-7. https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2000.00022.x
20. ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. Genus Varicosavirus. Academic Press, San Diego, ABD, 2000:521-3.
21. Gafni Y. Tomato yellow leaf curl virus, the intracellular dynamics of a plant DNA virus. Mol Plant Pathol. 2003;4(1):9-15. https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00147.x
22. Martin DP, Shepherd DN, Rybicki EP. Maize streak virus. In: Mahy BWJ, van Regenwortel MHV (Eds) Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Vol. 3. 2008:263-71
23. Tsompana M, Abad J, Purugganan M. Moyer JW. The molecular population genetics of the Tomato spotted wilt virus (TSWV) genome. Mol Ecol. 2005;14(1):53-66 https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02392.x
24. Jaspars EM. Plant viruses with a multipartite genome. Adv Virus Res. 1974;19:37-149. https://doi.org/10.1016/S0065-3527(08)60659-4
25. Tromas N, Elena SF. The rate and spectrum of spontaneous mutations in a plant RNA virus. Genetics. 2010;185(3):983-9. https://doi.org/10.1534/genetics.110.115915
26. Whitfield AE, Ullman DE, German TL. Tospovirus-thrips interactions. Annu Rev Phytopathol 2005;43:459-89. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.140017
27. Gallie DR. The 5′-leader of tobacco mosaic virus promotes translation through enhanced recruitment of eIF4F. Nucleic Acids Res. 2002;30(15):3401-11. https://doi.org/10.1093/nar/gkf457
28. Eggen R, Verver J, Wellink J, Pleij K, van Kammen A, Goldbach R. Analysis of sequences involved in cowpea mosaic virus RNA replication using site-specific mutants. Virology. 1989;173(2):456-64. https://doi.org/10.1016/0042-6822(89)90558-8
29. Nam DK, Lee S, Zhou G, et al. Oligo (dT) primer generates a high frequency of truncated cDNAs through internal poly (A) priming during reverse transcription. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(9):6152-6. https://doi.org/10.1073/pnas.092140899
30. Moury B, Morel C, Johansen E, et al. Mutations in Potato virus Y genome-linked protein determine virulence toward recessive resistances in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum*. Mol Plant Microbe Interact. 2004;17(3):322-9. https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.3.322
31. Leathers V, Tanguay R, Kobayashi M, Gallie DR. A phylogenetically conserved sequence within viral 3'untranslated RNA pseudoknots regulates translation. Mol Cell Biol. 1993;13(9):5331-47. https://doi.org/10.1128/MCB.13.9.5331
32. Gallie DR, Sleat, DE, Watts JW, Turner PC, Wilson TMA. The 5'-leader sequence of tobacco mosaic virus RNA enhances the expression of foreign gene transcripts in vitro and in vivo. Nucleic Acid Res. 1987;15(8):3257-73. https://doi.org/10.1093/nar/15.8.3257
33. Zaccomer B, Haenni AL, Macaya G. The remarkable variety of plant RNA virus genomes. J Gen Virol. 1995;76(2):231-47. https://doi.org/10.1099/0022-1317-76-2-231
34. Jobling, SA. Gehrke L. Enhanced translation of chimaeric messenger RNAs containing a plant viral untranslated leader sequence. Nature. 1987;325(6105):622-5.
35. Van Der Vossen EAG, Neeleman L, Bol JF. Role of the 5' leader sequence of alfalfa mosaic virus RNA 3 in replication and translation of the viral RNA. Nucleic Acid Res. 1993;21(6):1361-7. https://doi.org/10.1093/nar/21.6.1361
36. Fütterer J, Potrykus I, Bao Y, et al. Position-dependent ATT initiation during plant pararetrovirus rice tungro bacilliform virus translation. J Virol. 1996;70(5):2999-3010. https://doi.org/10.1128/JVI.70.5.2999-3010.1996
37. Sun L, Andika IB, Shen J, Yang D, Ratti C, Chen J. The CUG-initiated larger form coat protein of Chinese wheat mosaic virus binds to the cysteine-rich RNA silencing suppressor. Vir Res. 2013;177(1):66-74. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.07.013
38. Hull R. Comparative plant virology. 2nd Ed. Elsevier, Academic Press. 2009.
39. Reichmann ME. The satellite tobacco necrosis virus: A single protein and its genetic code. Proc Natl Acad Sci U S A. 1964;52(4):1009-17. https://doi.org/10.1073/pnas.52.4.1009
40. Karasev AV, Boyko VP, Gowda S, et al. Complete sequence of the citrus tristeza virus RNA genome.

Virology. 1995;208(2):511-20.
https://doi.org/ 10.1006/viro.1995.1182

41. Miller WA, Liu S, Beckett R. Barley yellow dwarf virus: Luteoviridae or Tombusviridae. Mol Plant Pathol. 2002;3(4):177-84.
https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2002.00112.x
42. Peremyslov VV, Andreev IA, Prokhnevsky AI, Duncan GH, Taliansky ME, Dolja VV. Complex molecular architecture of beet yellows virus particles. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101(14):5030-5.
https://doi.org/10.1073/pnas.0400303101
43. Shintaku MH, Zhang L, Palukaitis P. A single amino acid substitution in the coat protein of cucumber mosaic virus induces chlorosis in tobacco. Plant Cell. 1992;4(7):751-7.
https://doi.org/10.1105/tpc.4.7.751
44. Koonin EV. The phylogeny of RNA-dependent RNA polymerases of positive-strand RNA viruses. J Gen Virol. 1991;72(Pt 9):2197-206.
https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-9-2197
45. Parks TD, Leuther KK, Howard ED, Johnston SA, Dougherty WG. Release of proteins and peptides from fusion proteins using a recombinant plant virus proteinase. Anal Biochem. 1994;216(2):413-7.
https://doi.org/10.1006/abio.1994.1060
46. Deom CM, Lapidot M, Beachy RN. Plant virus movement proteins. Cell. 1992;69(2):221-4.
https://doi.org/10.1105/tpc.4.8.915
47. Xie Q, Guo HS. Systemic antiviral silencing in plants. Virus Res. 2006;118(1-2):1-6.
https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.11.012
48. Zhang X, Yuan Y-R, Pei Y, et al. Cucumber mosaic virus-encoded 2b suppressor inhibits *Arabidopsis* Argonaute1 cleavage activity to counter plant defense. Genes Dev. 2006;20(23):3255:68.
https://doi.org/10.1101/gad.1495506
49. Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: Insights from viral infections. Nat Rev Genet. 2005;6(3):206-20.
https://doi.org/10.1038/nrg1555
50. Lakatos L, Csorba T, Pantaleo V, et al. Small RNA binding is a common strategy to suppress RNA silencing by several viral suppressors. EMBO J. 2006;25(12):2768-80.
https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601164
51. Bisaro DM. Silencing suppression by geminivirus proteins. Virology. 2006;344(1):158-68.
https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.09.041
52. Díaz-Pendón JA, Ding SW. Direct and indirect roles of viral suppressors of RNA silencing in pathogenesis. Annu Rev Phytopathol. 2008;46:303-26.
https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.46.081407.104746
53. Shams-Bakhsh M, Canto T. Palukaitis P. Enhanced resistance and neutralisation of defense responses by suppressors of RNA silencing. Virus Res. 2007;130(1-2):103-9.
https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.05.023
54. Bortolamiol D, Pazhouhandeh M, Marrocco K, Genschik P, Ziegler-Graff V. The Polerovirus F box protein P0 targets ARGONAUTE1 to suppress RNA silencing. Curr Biol. 2007;17(18):1615-21.
https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.07.061
55. Lewsey M, Robertson FC, Canto T, Palukaitis P, Carr JP. Selective targeting of miRNA-regulated plant development by a viral counter-silencing protein. Plant J. 2007;50(2):240-52.
https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03042.x
56. MacDiarmid R. RNA silencing in productive virus infections. Annu Rev Phytopathol. 2005;43:523-44.
https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.140204
57. Shi XM, Miller H, Verchot J, Carrington JC, Vance VB. Mutations in the region encoding the central domain of helper component-proteinase (HC-Pro) eliminate potato virus X/potyviral synergism. Virology. 1997;231(1):35-42.
https://doi.org/10.1006/viro.1997.8488
58. Trinks D, Rajeswaran R, Shivaprasad PV, et al. Suppression of RNA silencing by a geminivirus nuclear protein, AC2, correlates with transactivation of host genes. J Virol. 2005;79(4):2517-27.
https://doi.org/10.1128/JVI.79.4.2517-2527.2005
59. Fagoaga C, López C, de Mendoza AH, et al. Post-transcriptional gene silencing of the p23 silencing suppressor of Citrus tristeza virus confers resistance to the virus in transgenic Mexican lime. Plant Mol Biol. 2006;60(2):153-65.
https://doi.org/10.1007/s11103-005-3129-7
60. Thomas CL, Leh V, Lederer C, Maule AJ. Turnip crinkle virus coat protein mediates suppression of RNA silencing in *Nicotiana benthamiana*. Virology. 2003;306(1): 33-41.
https://doi.org/10.1016/S0042-6822(02)00018-1
61. Takeda A, Sugiyama K, Nagano H, et al. Identification of a novel RNA silencing suppressor, NSs protein of Tomato spotted wilt virus. FEBS Lett. 2002;532(1-2):75-9.
https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)03632-3
62. Love AJ, Laird J, Holt J, Hamilton AJ, Sadanandom A, Milner JJ. Cauliflower mosaic virus protein P6 is a

suppressor of RNA silencing. J Gen Virol. 2007;88(Pt 12):3439-44.
https://doi.org/10.1099/vir.0.83090-0

63. Lazarowitz SG, Pinder AJ, Damsteegt VD, Rogers SG. Maize streak virus genes essential for systemic spread and symptom development. EMBO J. 1989;8(4):1023-32.
https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1989.tb03469.x
64. Morch MD, Boyer JC, Haenni AL. Overlapping open reading frames revealed by complete nucleotide sequencing of turnip yellow mosaic virus genomic RNA. Nucleic Acid Res. 1988;16(13):6157-73.
https://doi.org/10.1093/nar/16.13.6157
65. Beier H, Grimm M. Misreading of termination codons in eukaryotes by natural nonsense suppressor tRNAs. Nucleic Acid Res. 2001;29(23):4767-82.
https://doi.org/10.1093/nar/29.23.4767
66. Schalk HJ, Matzeit V, Schiller B, Schell J, Gronenborn B. Wheat dwarf virus, a geminivirus of graminaceous plants needs splicing for replication. EMBO J. 1989;8(2):359-64.
https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1989.tb03385.x

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(4):204-10
doi:10.5222/TMCD.2020.204

Derleme / *Review*

Entamoeba gingivalis ve Periodontal Hastalıklardaki Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Entamoeba gingivalis and Evaluation of its Effectiveness in Periodontal Diseases

Fatma Esenkaya Taşbent*, Ceren Ceran Boran**

*Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye
**Konya Ağız ve Diş Sağlığı Hastanesi, Konya, Türkiye

Alındığı tarih / Received:
18.04.2020 / 18.April.2020
Kabul tarihi / Accepted:
04.07.2020 / 04.July.2020
Yayın tarihi / Publication date:
31.12.2020 / 31.December.2020

ORCİD Kayıtları

F. E. Taşbent 0000-0003-4190-5095
C. C. Boran 0000-0003-3341-4827

✉ fesentas@hotmail.com

Atıf: Esenkaya Taşbent F, Ceran Boran C. *Entamoeba gingivalis* ve periodontal hastalıklardaki etkinliğinin değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):204-10.

ÖZ

Periodontitis, dünya çapında en yaygın hastalıklardan ve halk sağlığı sorunlarından biridir. Çeşitli etiyolojik etkenler, konak yanıtları ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık etkileşimi içeren çok faktörlü bir kronik enflamatuvar hastalıktır. Risk faktörleri hâlen araştırılmaktadır. Çoğu çalışma özellikle olası bakteriyel etiyoloji ve konak yanıtları üzerine vurgu yapar. Bir protozoa olan Entamoeba gingivalis ağız boşluğunda yaşayan paraziter bir etkendir. Birçok çalışma, bu protozoanın enfeksiyon oranlarını periodontitisli hastalarda, sağlıklı kontrol gruplarına göre daha yüksek oranda bildirmiştir. Ancak, bu protozoanın periodontal hastalığın gelişimindeki rolü halen tartışmalıdır. Bu nedenle bu derlemede, esas olarak patojenliği henüz belirlenemeyen E. gingivalis ile ilgili literatür verilerinin derlenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Periodontal hastalık, periodontitis, Entamoeba gingivalis*

ABSTRACT

Periodontitis is one of the most common and public health problems worldwide. It is a multifactorial chronic inflammatory disease involving a complex interaction between various etiological factors, host responses, and environmental factors. Risk factors have still been under investigation. Many studies emphasize the possible bacterial etiology and host responses. Entamoeba gingivalis, is a protozoon that resides in the oral cavity of individuals. Many studies have reported that infection rates of this protozoa was higher in patients with periodontitis compared to healthy controls. However, the role of this protozoon in the development of periodontal disease remains controversial. Therefore, in this review, it is aimed to compile the literature data on E. gingivalis whose pathogenicity is yet to be determined.

Keywords: *Periodontal disease, periodontitis, Entamoeba gingivalis*

GİRİŞ

Periodontitis, periodontal ligament, sement ve alveol kemiğinde yıkıma neden olan kronik bir iltihaptır. En sık peridontal hastalıklardan biri olan periodontitis, 35-44 yaş aralığında yaklaşık %50 sıklıkla görülen bir durumdur. Şiddetli periodontitis denilen hastalığın ilerlemiş formunun, son epidemiyolojik verilere göre 2017 yılında yaşa göre standardize edilmiş prevalansı %9.8 iken, insidansı her 100.000 kişide 900 olgudur. Küresel Hastalık Yükü 2017 raporunda tüm dünyada 796 milyon ciddi periodontitis olgusu olduğu bildirilmektedir[1].

Periodontal hastalıklarda süreç; duyarlı kişilerde genetik-çevresel faktörlerin de katkısıyla, konak yanıtı ve biyofilm yapısındaki spesifik olmayan mikrobiyota arasında geçen yineleyen karmaşık etkileşimlerle başlamaktadır. Bu etkileşimlerle oluşan enflamasyonun öncülüğünde patolojik değişimlerin başladığı düşünülmektedir[2]. Bu akut enflamasyon (gingivitis)

© 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)

kontrol altına alınmadığında hastalık ilerleyerek periodontitis gelişir[3].

Çeşitli sistemik hastalıklar ve koşullar periodontitis seyrini olumsuz etkileyebilir. HIV enfeksiyonu, Down sendromu, çeşitli tümörler, obezite, diabet, artrit, osteoporoz, stres ve depresyon gibi çeşitli hastalık durumlarında periodonsiyumun etkilendiği bildirilmiştir[4].

Araştırmalar yıkıcı konak inflamatuvar yanıtın etkilerinin yanı sıra, periodontitisin temelde biyofilm ile ilişkili bir hastalık olduğunu ortaya koymaktadır. Biyofilm tabakası, konak ve mikroorganizma tarafından salgılanan yapışkan hücredışı polimerler tarafından oluşturulmuş ekstraselüler yapıdaki matriksin, diş yüzeyine tutunması ile meydana gelmiş polimikrobial bir yapıdır. Biyofilm oluşumunda salgılanan polimerik madde; polisakkaritler, proteinler, lipitler, nükleik asitler ve diğer polimerlerden oluşur. Bu madde bakterilerin yüzeye ve birbirlerine yapışmasına yardımcı olur. Biyofilmde bulunan bakterilerin minimum inhibitör konsantrasyonlarının normal kültür ortamındaki bakterilere göre 20-100 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bunun nedeni antibiyotiklerin biyofilm içine nüfus edememeleri ve ayrıca biyofilm popülasyonundaki bakterilerin antibiyotiklere daha az duyarlı olmasıdır. Biyofilm ayrıca konakçı bağışıklıktan kaçmak için de iyi bir korunaktır. Biyofilm polimikrobial yapıdadır. Oral biyofilm içerisinde yüzlerce farklı bakterinin yanı sıra spiroketler, protozoalar, mantar ve virüsler de bulunur[3,5].

Birçok kronik hastalık durumunda belirli bir etiyolojik ajan yerine, mikrobiyatadaki faydalı mikroorganizmaların azalması, patojen olanların artmasıyla oluşan yeni mikrobiyal ortam sorumlu tutulmaktadır. Mikrobiyatada oluşan bu değişime disbiyozis denilmektedir. Periodontitis, otitis media, inflamatuvar bağırsak hastalığı, gastro-ösafagial reflü, bakteriyel vaginozis gibi hastalıkların etyopatogenezinde mikrofloradaki disbiyozis olduğu düşünülmektedir[3,6]. Oral disbiyozis ile simbiyotik olan konak-mikroorganizma ilişkisi, yavaş yavaş patojenik olanla yer değiştirmektedir. Birçok çalışmada periodontitis disbiyotik bir hastalık olarak bildirilmektedir. Periodontitis geliştikçe oral mikrobiyata Gram pozitif aeroblardan, Gram negatif anaeroblara kaymaktadır[3,6,7].

Disbiyotik mikrobiyataya geçiş aynı zamanda, doku yıkımı ve alveolar kemik kaybına neden olan güçlü konakçı inflamatuvar yanıtı da tetiklemektedir. Disbiyosizde bakteriyel etiyolojiye ek olarak, çoğunlukla izole edilmeyen viral, protozoal etiyolojilerin, genetik ve immünolojik faktörlerin de katkı sağladığı ileri sürülmektedir[2,3,6]. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, enfekte peridontal ceplerde *Entamoeba gingivalis* sıklığının önemli ölçüde arttığı ve hatta bu bölgede insan rRNA'sından sonra ikinci sıklıkta *E. gingivalis* rRNA'sına rastlandığı belirtilmektedir[8]. Bu derlemede, *E. gingivalis*'in tartışılagelen patojenitesi ile ilgili son güncel bilgilerin ortaya konması amaçlanmıştır.

Periodontal hastalıkta *Entamoeba gingivalis*

Periodontitis antik çağlardan beri tanımlanmış olmasına rağmen, parazitler ile ilişkisi yalnızca bir yüzyıl önce kanıtlanmıştır[9]. Periodontal hastalığa sahip kişilerin biyofilm ve tükrük örneklerinden, *E. gingivalis*'in sık izole edilmiş olması, bu amibin periodontal hastalıkların etiyolojisinde önemli rol oynadığını düşündürmüştür. Diğer taraftan sağlıklı ağızlarda da bulunabilmesi kommensal bir parazit olarak kabul görmesine neden olmuştur[10-13].

Entamoeba gingivalis'in patojenitesi 1893'te sorgulanmış ve bunu periodontitis ile ilişkilendiren ilk sistematik çalışma 1914'te yayınlanmıştır. Bu çalışmada, 46 piyore olgusunun (periodontitis) toplamında amip saptanmıştır[9,14]. Günümüzde patojenik etkisi üzerine tam olarak net bilgiler elde edilememiştir. Parazitin eliminasyonu ile çeşitli periodontitis tiplerinde iyileşme sağlandığı klinik ve mikroskobik bir incelemede gösterilmiştir[15].

Entamoeba gingivalis protozoaları, ökaryotik tek hücreli mikroskobik organizmalardır. *E. gingivalis* Rhizopoda şubesi amip takımı, *Entamoebidae* ailesi ve *Entamoeba* cinsi bir protozoondur. Uzunluğu 10-30 mm'dir, hızlı hareket etmelerine izin veren psödopodlara sahiptir. Sferoid çekirdeği 2-4 mm'dir. Çevresel kromatin materyali küçük ve hemen hemen eşit büyüklükte düzensiz tanecikler şeklindedir. Nükleolus küçük ve çoğunlukla merkezi konumludur. Ektoplazma ve endoplazma ayırımı çok barizdir. Endoplazmada çok sayıda besin vakuolü bulunur. Besinlerini çoğu kez bakteriler, bazen de konağın epitel hücreleri, lökositler ve oldukça ender olarak da eritrositler oluşturur. Dişlerin ve dişeti dokularının yüzeyinde yaşar[15-17]. Tonsil ve tonsil kriptalarında da gözlenmiştir. Baş ve boyun lezyonlarında veya osteomyelit ile birlikte ender olarak bulunur. Ayrıca serviks, uterus, boyun lenf nodları ve akciğerden alınan örneklerde de *E. gingivalis*'e rastlandığı bildirilmiştir[18-20].

Entamoeba gingivalis kist meydana getirmez, yalnızca trofozoit (serbest hareket eden ve beslenen, kistleşmemiş dönem) formda bulunur. Bu tür konağına ulaşmak için mideden geçme zorunluluğuna sahip olmadığından doğrudan trofozoit şekilleri ile bulaşır[16]. İnsanlar arasında tükürükle, kontamine besinlerle, mutfak eşyalarının ortak kullanımıyla ve damlacık yoluyla bulaşır[21,22].

Entamoeba gingivalis'in ağızda yerleşebilmesinde ağız hijyeni en önemli faktördür. Sağlıklı ve temiz ağızlarda parazit kolonize olamaz. Dişlerini düzenli fırçalayanlarda, diğerlerine göre parazite daha az rastlandığı bildirilmiştir[23].

Entamoeba gingivalis bebeklerde ve çocuklarda bulunmaz. Ergenlik döneminde enfeksiyon oranı; hastalıklı dişetlerinde, diş taşında, çürük dişlerde ve diş kaybının fazla olduğu bireylerde, enflamasyonu destekleyen bir süreç ile ilişkili olarak giderek artmaktadır. *E. gingivalis*'in görülmesi ile periodontal durum arasında önemli korelasyon olduğu düşünülmektedir. En yüksek insidans periodontitis veya periodonsiyum atrofisi olan erişkinlerde kaydedilmiştir[24]. Enflamatuvar sürecin, parazitin çoğalması için uygun bir anaerobik ortam oluşturabileceği bildirilmektedir[10,25].

Entamoeba gingivalis, insanda tanımlanmış ilk amip olasına rağmen yakından ilişkili türlerin aksine, hareket kabiliyetinin özellikleri çalışılmamıştır. Fizyolojisi hakkında bilgi yetersizdir[9,25].

Entamoeba gingivalis ve Periodontal Hastalıkların Patogenezi

Entamoeba gingivalis ile ilgili çalışmalar ilk yıllarda mikroskobik tanıya dayalı olup, daha sonra moleküler çalışmalar ile gen amplifikasyonunun gelişmesi ve amibin gen sekansının yapılmasıyla, çalışmaların daha doğru bir şekilde ilerlemesi sağlanmıştır[14].

Entamoeba gingivalis'in virulans faktörleri net olarak belirlenememiş, ancak yakın ilişkili diğer tür olan *Entamoeba histolytica*'nın doku tahribatına neden olan virulans faktörleri açıkça tanımlanmıştır. *Entamoeba* cinsinin diğer türleri üzerinde yapılan çalışmalar, bakterilerin amibi konak hücreler olarak kullanabildiklerini ve böylece çevresel faktörlerden korunabildiklerini belirtmektedir. Bir in vivo çalışmada, periodontopatojenik bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'ın gelişmesinin tanımlanamayan oral amiplerin varlığında etkilendiği gösterilmiştir. Amipler besin gereksinimlerini sağlayamayan *A. actinomycetemcomitans*'ların büyümesini artırmıştır. *A. actinomycetemcomitans* amip içindeki vakuollerde ve amip çevresinde bulunmuştur. Vakuoller içinde bağışıklık sisteminden ve periodontal tedavinin bir basamağı olan antibiyotiklerden korunabilmiştir. Bu nedenle periodontal tedavinin yokluğunda bakterinin amipten çıkarak refrakter periodontitise neden olabileceği belirtilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise, morfolojik olarak aktinomiçesi andıran kolonilerle *E. gingivalis*'in ilişkili olduğu gözlemlenmiştir[18,22].

Ağız içi enfekte dokulardaki *E. gingivalis*'in temel hedefi nötrofillerdir. Polimorf nüveli nötrofillerin çekirdeklerinin amip tarafından negatif emme ile

alınması sonucunda oluşan çekirdeksiz nötrofilin, hücre dışı tuzak aktivitesinin bozulduğu ve programlı apoptozise uğramadığı bildirilmektedir. Daha sonra bu nötrofiller tarafından çevre dokulara kontrolsüz bir şekilde proteolitik enzimlerin salındığı ve bu fagositik aktiviteye neden olduğu için *E. gingivalis*'in bir patojen olarak düşünülmesi gerektiği rapor edilmiştir[26].

İmmunosupresif ilaçlar verildiğinde farelerde bazı aerobik (Örn. *Pseudomonas aeruginosa*) ve fakültatif anaerobik (Örn. *Klebsiella pneumoniae*) bakterilerin periodontitise neden olabildiği bildirilmiştir. *E. gingivalis* bakterilerin periodontal hastalığa neden olmasına yardımcı olabilir. Bazı çalışmalarda, *E. gingivalis* farelerin dişeti sulkusunun tabanına enjekte edilmiş ve bu da örneklerin %78.9'unda (30/38) periodontal apseyi indüklemiştir. Böylece canlı *E. gingivalis* pürülan salgılarda bulunmuş ve periodontal apseden kültüre edilmiştir. Bu sonuçlar, *E. gingivalis*'in neden olduğu enfeksiyonun diş eti dokularını tahrip edebileceğini kuvvetle göstermektedir. Ayrıca, *E. gingivalis* ile indüklenen periodontitisli hastalarda tükürük enzimlerinin ve serbest oksijen radikallerinin, hücre membranı ve organel membranlarını parçalayarak diş eti epitel hücrelerine zarar verebileceği ileri sürülmüştür[10,27].

Bazı çalışmalarda ise *E. gingivalis,* düşük bağışıklığa sahip kişilerde sinerjistik bakterilerle periodontal hastalığa neden olabilen fırsatçı bir parazit olarak bildirilmiştir[15]. Mikroskobik bakıya dayalı eski bir çalışmada, Human Immmunodeficiency Virus (HIV) ile enfekte hastaların %29'unda periodontal hastalık görüldüğü ve bu hastaların %77'sinde *E. gingivalis* bulunduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, periodontal hastalık olmayan HIV ile enfekte kişilerde *E. gingivalis* bulunmamıştır[28]. *E. gingivalis*, periodontal hastalığı olan HIV pozitif hastaların oral kavitelerinde bulunan tek protozoa olarak bildirilmektedir. Kemoterapi gören hastalarda *E. gingivalis* prevalansı (%58) normal kontrolden (%34) daha yüksek gözlenmiştir[22,29].

Bonner ve ark.[12] yaptıkları çalışmada, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile periodontal hastalığı olan kişilerde *E. gingivalis* için %80.6, kontrol grubunda ise %33.3 pozitiflik belirlediklerini bildirmişlerdir ve parazitin varlığının periodontitis ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Trim ve ark.[25] konvansiyonel PCR ile periodontal ceplerin %27'sinde, gerçek zamanlı PCR ile periodontal ceplerin %69'unda *E. gingivalis* belirlemişlerdir. Her iki tip PCR çalışmasında da sağlıklı gingival cep bölgelerinin herhangi birinde *E. gingivalis* saptanmamıştır. Araştırma sonuçları *E. gingivalis*'in varlığının yalnızca periodontal cepler ile ilişkili olduğu kavramını desteklemiştir. Rahdar ve ark.'nın[30] çalışmasında, sağlıklı kişiler ve şiddetli periodontitisi olan hastalardan oluşan iki grupta mikroskobik bakı ve PCR sonuçları, *E. gingivalis* varlığı açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmada, şiddetli periodontitisi bulunan kişilerde %16 oranında pozitiflik bulunurken, sağlıklı grupta bu oran %8 olarak belirlenmiş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Bonner ve ark.'na[9] göre, *E. gingivalis* enfeksiyonunun periodontitis etiyolojisindeki olası rolü ile ilgili kesin sonuca varılmasının önündeki en büyük engel, *E. gingivalis*'in saf olarak üretildiği aksenik kültürlerle yapılmış güvenilir hayvan modellerinin bulunmamasıdır. *Entamoeba* türlerinin aksenik kültürlerde üretilememesi, morfolojik olarak birbirine benzer türlerin ayrımını da zorlaştırmaktadır. Moleküler karakterizasyon ve filogenetik analizler; morfolojik olarak ayırt edilmesi zor organizmaları ayırt etmek için yararlıdır[9]. Son yıllarda *E. gingivalis* için yapılan bu analizler patojenite basamaklarının aydınlatılmasına ışık tutmaktadır[8,31].

Daha kapsamlı bir metagenomik analizde; enfekte peridontal ceplerde insan rRNA'sından sonra ikinci sıklıkta *E. gingivalis* rRNA'sına rastlandığı belirtilmiştir. Çalışmada, sağlıklı ve periodontitisli hastalar *E. gingivalis* sıklığı bakımından karşılaştırılmıştır. Yapılan PCR ile sağlıklı kişilerden alınan örneklerde parazitin sıklığı %15 olarak bulunurken, periodontitisli kişilerin enfekte peridontal ceplerinde %77, aynı kişilerin sağlıklı ağız içi bölgelerinden alınan örnek-

lerde ise %22 oranında pozitiflik belirlenmiştir. Bir diğer deyişle sağlıklı bölgedeki kolonizasyona bakınca hasta ve kontrol grubu arasında önemli farklılık gözlenmezken, enfekte peridontal cepten alınan örneklerde *E. gingivalis* sıklığının önemli oranda arttığı görülmüştür. Aynı çalışmanın ikinci aşamasında, bağımsız donörlerden alınan diş eti epitelyum ve fibroblast hücrelerinde in vitro olarak amip enfeksiyonu oluşturularak sonuçlar gözlenmiştir. Oluşturulan hücre kültüründe *E. gingivalis*'in enflamatuvar sitokin olan IL-8 salınımını ve epitelyel bariyer geni olan MUC2I'yı artırdığı gösterilmiş; doku istilası ve yıkım mekanizmalarının kolonik protozoon parazit *E. histolytica*'ya benzer olduğu, *E. gingivalis*'in oral enflamasyona ve doku yıkımına neden olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonuç kısmında, bugüne kadar çoğunlukla etkisi göz ardı edilse de periodontitisin yıkıcı formlarının oluşmasında, *E. gingivalis* başı çeken güçlü bir mikrobiyal etken olarak vurgulanmıştır[8].

Garcia ve ark.[31] *E. gingivalis* genomunun tanımlanması bağlamında yaptıkları moleküler çalışmada, sekans bölgelerinin %89'u *E. gingivalis* ile aynı olan yeni bir alttip saptamışlardır. Bu yeni organizma *E. gingivalis* subtype2 (ST2) (kamaktli varyant) olarak adlandırılmış ve bu konuyla ilgili çalışmalara yeni bir pencere açmıştır. Yapılan filogenetik analizde, aynı taksonda kümelenen bu iki organizma yakın ilişkili bulunmuştur. Bu yeni tanımlamanın ardından yapılan bir diğer çalışmada, sağlıklı kişiler, peridontal tedavi alan hastalar ve peridontal hastalığı olan kişilerden oluşan üç grupta, *E. gingivalis* subtype1 (ST1) ve kamaktli varyant varlığı karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda, sağlıklı kişilere göre hem peridontal tedavi alan grupta hem de peridontal hastalığı olan grupta kamaktli varyant anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. *E. gingivalis* subtype1 için ise sağlıklı grup ve diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Çalışmada, kamaktli varyantın yeni bir tür olarak kabul edilebileceği ileri sürülmüştür[31,32].

Yukarıda adı geçen çalışmanın sonuçları; *E. histolytica* ve *Entamoeba dispar* arasındaki ilişkiye benzer bir durum *E. gingivalis* için de geçerli olabilir mi sorusunu düşündürmektedir. Morfolojik olarak birbirinden ayırt edilemeyen ve yıllarca birbirinin varyantı kabul edilmiş iki tür olan *E. histolytica* ve *E. dispar*'dan birinin patojenitesi çok net ortaya koyulmuşken diğeri non-patojen olarak bildirilmektedir. Ayrıca bu iki tür genetik ve patojenik farklılıklarından dolayı, birbiriyle yakın ilişkili olmalarına rağmen, bağımsız olarak sınıflandırılmaktadırlar. *E. gingivalis* ST1'den yüksek bir genetik sapma olan ST2 "kamaktli" varyantı, bize parazitlerin suşlarının eşit derecede virülant olamayacağını veya aynı tropizme sahip olmayabileceğini anımsatmaktadır[32].

Tedavi öncesi ve sonrası durumun değerlendirildiği Dubar ve ark.'nın[33] çalışmasında, periodontitisli hastaların patolojik bölgelerinden ve sağlıklı ağız içi bölgelerinden alınan örnekler ve sağlıklı kontrol grubu örnekleri araştırılmıştır. Bu çalışmada, hem *E. gingivalis* ST1 ve ST2 (kamaktli varyant) hem de bakteriyel mikrobiyota varlığı araştırılmış ve çeşitli klinik parametrelerle karşılaştırılmıştır. Çalışmada, hastaların periodontal ceplerinden alınan subgingival biyofilm örneklerinde *E. gingivalis* (ST1 ya da ST2) belirleme sıklığı %88.3 olup, moleküler yöntemler kullanan önceki çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca *E. gingivalis*, kontrol ya da periodontitisli hastaların sağlıklı bölgelerine göre patolojik bölgelerde anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Ancak Garcia ve ark.[31] çalışmasında vurgulananın aksine, patolojik bölgelerde ST2 varyantı ST1'e göre daha düşük sıklıkta gözlenmiştir. Tedavi sonrası değerlendirmede ise; *E. gingivalis* varlığı ya da sayıca azalmaları ile patolojik bölgelerin iyileşmesi veya peridontal cep derinliğinin azalması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. Çalışma bulguları, etyopatogenezde *E. gingivalis*'in tek başına yer almaktan çok, peridontal biyofilm oluşumunda bakterilerle etkileşim içinde olabileceğini düşündürmektedir[33].

Sonuç

Periodontitisde etyopatogenez, çok faktörlü olarak

belirtilmekte, ancak birçok yönüyle belirsizliğini korumaktadır. Literatürde son yıllarda periodontitisde *E. gingivalis*'in rolünü ortaya koyan önemli çalışmalar göze çarpmaktadır. Ancak *E. gingivalis*'in patogenezi ile ilgili yıllardır tartışılagelen belirsizliğin netleşmesi için, var olan veriler daha çok çalışma ile desteklenmelidir. Hasta ve sağlıklı gruplar arasında yapılan sıklık çalışmalarından ziyade, kültür ortamlarında hücresel düzeyde olası invazyon ve yıkımı gösteren, mekanizmaları açıklayan daha çok yeni çalışmaya gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. GBD 2017 Oral Disorders Collaborators, Bernabe E, Marcenes W, et al. Global, regional, and national levels and trends in burden of oral conditions from 1990 to 2017: A systematic analysis for the global burden of disease 2017 Study. J Dent Res. 2020;99(4):362-73. https://doi.org/10.1177/0022034520908533
2. Bartold PM, Van Dyke TE. Host modulation: Controlling the inflammation to control the infection. Periodontol 2000. 2017;75(1):317-29. https://doi.org/10.1111/prd.12169
3. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. Periodontol 2000. 2011;55(1):36-47. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2010.00350.x
4. Jepsen S, Caton JG, Albandar JM, et al. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. J Clin Periodontol. 2018;45(Suppl 20):S219-29. https://doi.org/10.1111/jcpe.12951
5. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. J Clin Periodontol. 1979;6(5):351-82. https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1979.tb01935.x
6. Roberts FA, Darveau RP. Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. Periodontol 2000. 2015;69:18-27. https://doi.org/10.1111/prd.12087
7. Rosier BT, Marsh PD, Mira A. Resilience of the oral microbiota in health: Mechanisms that prevent dysbiosis. J Dent Res. 2018;97(4)371-80. https://doi.org/ 10.1177/0022034517742139
8. Bao X, Wiehe R, Dommisch H, Schaefer AS. *Entamoeba gingivalis* causes oral inflammation and tissue destruction. J Dent Res. 2020;99(5):561-7. https://doi.org/10.1177/0022034520901738
9. Bonner M, Fresno M, Gironès N, Guillén N, Santi-Rocca J. Reassessing the role of *Entamoeba gingivalis* in periodontitis. Front Cell Infect Microbiol. 2018;8:379. https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00379
10. Albuquerque Júnior RLC, de Melo CM, de Santana WA, Ribeiro J L, Silva FA. Incidence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in samples of dental biofilm and saliva from patients with periodontal disease. Rev Gaúcha Odontol. 2011;59(1):35-40.
11. Ibrahim S, Abbas R. Evaluation of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in patients with periodontitis and gingivitis and its correlation with some risk factors. J Bagh Coll Dentistry. 2012;24(3):158-62.
12. Bonner M, Amard V, Bar-Pinatel C, et al. Detection of the amoeba *Entamoeba gingivalis* in periodontal pockets. Parasite. 2014;21:30. https://doi.org/10.1051/parasite/2014029
13. Yazar S, Çetinkaya Ü, Hamamcı B, ve ark. Kayseri'de periodontitis veya gingivitisli hastalarda *Trichomonas tenax* ve *Entamoeba gingivalis*'in araştırılması. Turkiye Parazitol Derg. 2016;40(1):17-21. https://doi.org/10.5152/tpd.2016.4351
14. Keyes PH, Rams TE. A rationale for management of periodontal diseases: rapid identification of microbial 'therapeutic targets' with phase-contrast microscopy. J Am Dent Assoc. 1983;106(6):803-12. https://doi.org/10.14219/jada.archive.1983.0436
15. Maybodi FR, Haerian Ardakani A, Fattahi Bafghi A, Haerian Ardakani A, Zafarbakhsh A. The effect of nonsurgical periodontal therapy on *Trichomonas tenax* and *Entamoeba gingivalis* in patients with chronic periodontitis. J Dent Shiraz Univ Med Sci. 2016;17(3):171-6.
16. Göçmen B. Genel Parazitoloji Ders Kitabı. 2008, 2. Baskı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No. 168, İzmir.
17. Issa RM. Non-pathogenic protozoa. Int J Pharm Pharm Sci. 2014;6(3):30-40.
18. Bhaijee F, Bell D. Entamoeba gingivalis in acute osteomyelitis of the mandible. Case Rep Med. 2011:357301. https://doi.org/10.1155/2011/357301
19. Jian B, Kolansky AS, Baloach ZW, Gupta PK. *Entamoeba gingivalis* pulmonary abscess - Diagnosed by fine needle aspiration. Cytojournal 2008;5:12. https://doi.org/10.4103/1742-6413.43179
20. Bradbury RS, Roy S, Ali IK, et al. Case Report: Cervicovaginal co-colonization with *Entamoeba gingivalis* and *Entamoeba polecki* in association with an intrauterine device. Am J Trop Med Hyg. 2019;100(2):311-3.

https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0522
21. Gharavi MJ, Hekmat S, Ebrahimi A, Jahani lMR. Buccal cavity protozoa in patients referred to the Faculty of Dentistry in Tehran, Iran. Iranian J Parasitol. 2006;1(1):43-6.
22. Vundela RR, Sisnity VS, Palaparthi RB, Guntakanla VR. Role of *Entamoeba gingivalis* in periodontitis: Myth or reality. Indian J Dent Adv. 2016;8(2):100-5. https://doi.org/10.5866/2016.8.10100
23. Özçelik S, Gedik T, Gedik R, Malatyalı E. Ağız ve diş sağlığı ile *Entamoeba gingivalis* ve *Trichomonas tenax* varlığı arasındaki ilişkinin araştırılması. Turkiye Parazitol Derg. 2010;34:155-9. https://doi.org/10.5152/tpd.2010.03
24. Norberg CMBM, Ribeiro PS, Carvalho NS, Sanches FG, de Carvalho RW, Norberg AN. *Entamoeba gingivalis* (Gros, 1849) and *Trichomonas tenax* (Muller, 1773) oral infections in patients from Baixada Fluminense, province of Rio de Janeiro, Brazil. Sci J Public Health. 2014;2(4):288-92. https://doi.org/10.11648/j.sjph.20140204.17
25. Trim RD, Skinner MA, Farone MB, Du Bois JD, Newsome AL. Use of PCR to detect *Entamoeba gingivalis* in diseased gingival pockets and demonstrate its absence in healthy gingival sites. Parasitol Res. 2011;109(3):857-64. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2312-9
26. Ramamurthy S, Sudarsana S, Sivasamy S, Ulaganathan A, Rathinasamy K, Govindarajan S. Incidence of the oral protozoa - *Entamoeba gingivalis* in a hospital-based population in South India - A preliminary study. J Oral Dis Markers. 2018; 2:1-4.
27. Liu G, Chen J, Liu Y. The content and roles of enzymes and MDA in saliva of patients with periodontitis induced by *Entamoeba gingivalis*. J Clin Stomatol. 2000;1:10-2.
28. Lucht E, Evengard B, Skott J, Pehrson PO, Nord CE. *Entamoeba gingivalis* in Human immunodeficiency virus type 1-infected patients with periodontal disease. Clin Infect Dis. 1998;27(3):471-3. https://doi.org/10.1086/514709
29. Ghabanchi J, Zibaei M, Afkar M, Sarbazie A. Prevalence of oral *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in patients with periodontal disease and healthy population in Shiraz, southern Iran. Indian J Dent Res. 2010;21(1):89-91. https://doi.org/10.4103/0970-9290.62821
30. Rahdar M, Abolfazli-Karizi S, Pedram H. The comparison of *Entamoeba gingivalis* presence in healthy and periodontitis patients by using direct examination and PCR methods. Jundishapur J Health Sci. 2019;11(1): e86066. https://doi.org/10.5812/jjhs.86066
31. García G, Ramos F, Martínez-Hernández F, Hernández L,Yáñez J, Gaytán P. A new subtype of *Entamoeba gingivalis*: '*E. gingivalis* ST2, kamaktli variant'. Parasitol Res. 2018;117:1277-84. https://doi.org/10.1007/s00436-018-5798-6
32. Garcia G, Ramos F, Maldonado J, et al. Prevalence of two *Entamoeba gingivalis* ST1 and ST2-kamaktli subtypes in the human oral cavity under various conditions. Parasitol Res. 208;117:2941-8. https://doi.org/10.1007/s00436-018-5990-8
33. Dubar M, Zaffino M, Remen T, et al. Protozoans in subgingival biofilm: clinical and bacterial associated factors and impact of scaling and root planing treatment. J Oral Microbiol. 2020;12(1):1693222. https://doi.org/10.1080/20002297.2019.1693222

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(4):211-7
doi:10.5222/TMCD.2020.211

Araştırma / *Research Article*

Hastanemize Başvuran Gebelerde Toksoplazma, Rubella Virüs ve Sitomegalovirus Enfeksiyonları İçin Serolojik Göstergelerin Değerlendirilmesi

Evaluation of Serological Indicators for Toxoplasma, Rubella Virus and Cytomegalovirus Infections in Pregnant Women Applied to Our Hospital

Fatih Çubuk, Mürşit Hasbek, Ayşe Hümeyra Taşkın Kafa, Cem Çelik

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Toxoplazma gondii, rubella virus ve sitomegalovirüs (CMV) anneden bebeğe bulaşabilen ve fetus ya da yenidoğanda klinik bulgulara yol açabilen önemli etkenlerdendir. Çalışmamızda, hastanemize başvuran gebelerdeki Toxoplasma gondii, rubella virüs ve sitomegalovirus antikorlarının dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.*

Yöntem: *Çalışmamızda, 2018-2019 yıllarını kapsayan iki yıllık dönemde, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen, gebe hastalara ait kan örneklerinden elde edilen T. gondii, rubella virus ve sitomegalovirus enfeksiyonlarının tanısında kullanılan serolojik test sonuçları laboratuvar bilgi sisteminden geriye dönük olarak incelenmiştir.*

Bulgular: *: Çalışmamızda, hastanemize başvuran gebelerde, T. gondii, rubella virüs ve sitomegalovirus test sonuçları incelendiğinde anti-T.gondii IgG için %26.7, anti-Rubella virus IgG için %87.9 ve anti-CMV IgG için % 99 pozitiflik oranları belirlenmiştir. Aynı etkenlerin IgM testlerinin pozitifliği sırası ile %1.3, %0.3 ve %0.7 olarak belirlenmiştir T. gondii açısından 4 hastada (%22.2) düşük avidite sonucu ile karşılaşılırken, rubella virüs ve sitomegalovirus açısından çalışılan tüm testlerin sonucu yüksek avidite olarak bulunmuştur.*

Sonuç: *Rutin tarama yaklaşımının veya enfeksiyon etkenlerinden hangilerinin bebek üzerine oluşturacağı riskin daha önemli olacağının belirlenmesi açısından bölgesel epidemiyolojik veriler önem taşımaktadır. Biz de, bölgesel veriler içeren çalışmamız ile bu konuda literatüre katkı sağlayacağımızı düşünüyoruz.*

Anahtar kelimeler: *Toksoplazma, rubella, sitomegalovirüs, serolojik göstergeler, gebelik*

ABSTRACT

Objective: *Toxoplasma gondii, rubella virus and cytomegalovirus (CMV) are important infectious agents that can be transmitted vertically from mother to baby, and can cause clinical signs in the fetus and the newborn. In our study, it was aimed to determine the distribution of antibodies against T. gondii, Rubella and CMV in pregnant women applied to our hospital.*

Method: *In our study, the serological test results of the blood samples of pregnant women used in the diagnosis of T. gondii, Rubella and CMV infections in Microbiology Laboratory of Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine, were retrospectively analyzed in a two-year period between 2018 and 2019.*

Results: *The positivity rates were determined to be 26.7% for T. gondii IgG, 87.9% for Rubella virus IgG and 99% for CMV IgG. While IgM test positivities for the same pathogens were 1.3%, 0.3%, and 0.7%, respectively. Low avidity results were encountered in 4 patients (22.2%) for T. gondii, whereas the results of all examined tests for Rubella and CMV were found to have high avidity.*

Conclusion: *Regional epidemiological data are important to determine routine screening approach or infectious agents that will be more important for the newborn. We think that we will contribute to the literature with our study based on regional data.*

Keywords: *Toxoplasma, rubella, cytomegalovirus, serological indicators, pregnancy*

Alındığı tarih / Received:
12.02.2020 / 12.February.2020

Kabul tarihi / Accepted:
16.03.2020 / 16.March.2020

Yayın tarihi / Publication date:
31.12.2020 / 31.December.2020

ORCİD Kayıtları

F. Çubuk 0000-0002-8976-7691
M. Hasbek 0000-0002-5217-8607
A. H. Taşkın Kafa 0000-0002-7282-4928
C. Çelik 0000-0002-7141-5874

✉ mhasbek@hotmail.com

Atıf: Çubuk F, Hasbek M, Taşkın Kafa AH, Çelik C. Hastanemize başvuran gebelerde toksoplazma, rubella virus ve sitomegalovirus enfeksiyonları için serolojik göstergelerin değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):211-7.

© 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

Anneden fetüse veya yenidoğana bulaşabilen ve onun için risk oluşturan çok sayıda bakteriyel, viral ve paraziter enfeksiyon etkeni vardır. Anneden bebeğe bulaş intrauterin dönemde, doğumda veya doğum sonrası dönemde olabilir. Bu enfeksiyöz sürecin nihai sonucu, asemptomatik enfeksiyon ile düşük, ölü doğum, intrauterin büyüme geriliği, prematürite, konjenital malformasyonlar, kronik nörolojik sekel hatta ölüm ile sonuçlanabilir[1].

Toxoplasma gondii, rubella virus ve sitomegalovirüs (CMV) anneden bebeğe bulaşabilen ve fetüs ya da yenidoğanda klinik bulgulara yol açabilen önemli etkenlerdendir. Özellikle de düşük ve orta gelirli ülkelerde bu etkenlerle meydana gelen enfeksiyonlar, doğum öncesi ve bebeklik dönemi morbidite ve mortalitesi açısından oldukça önemlidirler[2].

Toxoplasma gondii, rubella virus ve CMV etkenlerine bağlı konjenital enfeksiyonlarda ortaya çıkan klinik bulgular peteşi-purpura şeklinde cilt lezyonları, hepatosplenomegali, düşük doğum ağırlığı, kardiyak anomaliler, oküler lezyonlar, duyma bozuklukları, hidrosefali, mikrosefali veya intrakraniyal kalsifikasyon gibi merkezi sinir sistemi bozuklukları olarak sayılabilir[1].

Toxoplasma gondii, rubella virus ve CMV ile meydana gelen enfeksiyonlar sonucunda gelişebilecek doğum öncesi ve bebeklik dönemi hastalıkların, konjenital anomalilerin, uzun süreli sakatlıkların önlenebilmesi için erken tanı ve tedavisi açısından bu etkenlere yönelik doğurgan çağdaki kadınların ve gebelerin taranması çok önemlidir[3]. Bununla birlikte, gebelikte bu etkenler açısından rutin tarama yapılmasının gerekliliği hâlâ tartışmalı bir konudur. Günümüzde bu konuda ülkelerin yaklaşımı birbirinden farklılıklar göstermektedir[4,5]. Ülkemizde ise bu etkenlere yönelik tarama yapmanın etkinliği üzerine çalışmalar yapılmış olup, ortak bir yaklaşım oluşturulamamıştır[6,7].

Rutin tarama yaklaşımının veya enfeksiyon etkenlerinden hangilerinin bebek üzerine oluşturacağı riskin daha önemli olacağının belirlenmesi açısından bölgesel epidemiyolojik veriler önem taşımaktadır[1,3]. Biz de çalışmamızda, hastanemize başvuran gebelerdeki *T. gondii,* rubella virus ve CMV antikorlarının dağılımını belirledik. Bölgesel veriler içeren çalışmamızın bu konuda literatüre katkı sunacağını düşünüyoruz.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız 1.150 yatak kapasiteli bir üçüncü basamak eğitim ve araştırma hastanesi olan Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapılmıştır. Çalışmamızda, 2018-2019 yıllarını kapsayan iki yıllık dönemde, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen gebe hastalara ait kan örneklerinden elde edilen *T. gondii*, rubella virus ve CMV enfeksiyonlarının tanısında kullanılan seroloji test sonuçları (anti-*T.gondii* IgG ve IgM, anti-rubella virüs IgG ve IgM, anti-CMV IgG ve IgM) laboratuvar bilgi sisteminden geriye dönük olarak incelenmiştir.

Hastalardan EDTA'lı tüplere alınan 3-5 ml kan örneği, laboratuvarda santrifüj işlemi ile serumlarına ayrıştırılarak en geç iki saat içinde serumda antikorların tespiti için, Enzyme Immunoassay (EIA) yöntemi kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda Alinity i (Abbott Diagnostics, Illinois, ABD) cihazında Alinity (Abbott Diagnostics, Illinois, ABD) marka test kitleri kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca avidite test çalışmaları, Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda Chorus (Diesse Diagnostica, Siena, İtalya) cihazında Chorus (Diesse Diagnostica, Siena, İtalya) marka test kitleri kullanılarak çalışılmıştır. Lipemik ve hemolizli serumlar çalışmaya alınmamıştır. Araştırmada, aynı hastaların yinelenen test sonuçları çalışmaya dâhil edilmemiştir.

Araştırma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 19.02.2020 tarih ve 2020-02/29 no. karar ile onaylanmıştır.

Tablo 1. Hastaların *Totoxplasma gondii,* rubella, sitomegalovirus test sonuçları.

	Totoxplasma gondii		Rubella virüs		Sitomegalovirus	
	IgM n (%)	IgG n (%)	IgM n (%)	IgG n (%)	IgM n (%)	IgG n (%)
Pozitif	15 (1.3)	306 (26.7)	4 (0.3)	998 (87.9)	8 (0.7)	1.111 (99)
Ara değer	7 (0.6)	33 (2.8)	7 (0.6)	58 (5.1)	4 (0.3)	0 (0.0)
Negatif	1.128 (98.1)	811 (70.5)	1.127 (99.1)	79 (7.0)	1.114 (99.0)	12 (1.0)
Toplam	1.150 (100.0)	1.150 (100.0)	1.138 (100.0)	1.135 (100.0)	1.126 (100.0)	1.123 (100.0)

BULGULAR

Çalışmamızda, hastanemize başvuran gebelerde *T. gondii*, rubella virüs ve CMV test sonuçları incelendiğinde, anti-*T.gondii* IgG için %26.7, anti-rubella virüs IgG için %87.9 ve anti-CMV IgG için %99 pozitiflik oranları belirlenmiştir (Tablo 1). IgM açısından test sonuçları incelendiğinde ise, bu üç etken için sırasıyla 15 (%1.3), 4 (%0.3) ve 8 (%0.7) hastada pozitif sonuç belirlenmiştir.

T. gondii, rubella virus ve CMV için IgG pozitifliklerine, IgM pozitif veya ara değer olan test sonuçlarının eşlik etmesi durumunda, ilgili hastanın serum örneği IgG avidite test çalışmasına alınmıştır. Hastaların avidite test sonuçları Tablo 2'de verilmiş olup, *T. gondii* için 4 hastada düşük avidite sonucuyla karşılaşılırken, rubella virus veya CMV için avidite çalışılan hastaların tamamının sonuçları yüksek avidite olarak bulunmuştur.

Tablo 2. IgG avidite düzeyleri.

Avidite	Düşük Avidite n (%)	Yüksek Avidite n (%)	Toplam n (%)
Toxoplasma gondii	4 (22.2)	14 (78.8)	18 (100)
Rubella virüs	0	7 (100)	7 (100)
Sitomegalovirus	0	5 100)	5 (100)

TARTIŞMA

Toxoplasma gondii, rubella virus ve CMV, anneden bebeğe vertikal olarak geçebilir ve konjenital enfeksiyona neden olarak fetal ve neonatal morbidite ve mortaliteye yol açabilirler. Diğer taraftan bu üç etken için, bulaş yolları, epidemiyoloji risk faktörleri, yeryüzündeki dağılımları ve tedavi yöntemleri farklılıklar göstermektedir. Hem maternal hem de fetal ya da neonatal enfeksiyonların önlenmesi açısından, bu üç etkenin seroprevalanslarının bilinmesi gereklidir[2,8].

İnsanlara *T. gondii* bulaşı, kontamine yiyecek veya sudaki parazit kistlerinin yutulması, enfekte kedi dışkısıyla temas veya doku kistlerini barındıran ara konakçılardan az pişmiş etlerin tüketilmesi ile meydana gelebilir. Hamilelik sırasında ise, primer maternal enfeksiyon nedeniyle anneden fetüse vertikal olarak bulaşabilir[9].

Yaptığımız çalışmada, hastanemize başvuran gebelerde anti-*T.gondii* IgG pozitiflik oranını %26.7, anti-*T.gondii* IgM pozitiflik oranını ise %1.3 olarak tespit ettik. 2002 yılında Duran ve ark.[6], aynı hastanede 103 gebe ile yaptıkları çalışmada, anti-*T.gondii* IgG pozitifliğini %46 olarak bildirmişlerdir. Yıldırım ve ark.[10] yine bölgemizde yaptıkları çalışmada, bu oranı %35 olarak bulmuşlardır. Ancak, bu çalışmaya gebelik durumu gözetilmeksizin tüm kadın ve erkek hastalar dâhil edilmiştir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, bölgemizde geçmişte yapılan çalışmalarda bildirilen sonuçlara kıyasla nisbeten daha düşük görünmektedir. Bu durumun bölgemizde özellikle hanımların çiğ et içeren yöresel besinleri geçmişe oranla daha az tüketmeleri ile ev ve sokak hayvanlarıyla olan ilişkilerinde daha bilinçli davranmaları ile ilgili olabileceğini düşünüyoruz.

Ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan çalışmaları incelediğimizde, gebelerdeki anti-*T.gondii* IgG pozitifliği oranlarının %27-47 aralığında, anti-*T.gondii* IgM pozitifliği oranlarının ise %0.3-3 aralığında bildirildiği görülmüştür[11-19]. Bununla birlikte, Şanlıurfa ilinde Tekay ve ark.'nın[20] yaptıkları çalışmada, doğurgan çağdaki kadınlarda anti-*T.gondii* IgG oranı %69.6 olarak saptanmıştır. Araştırmacılar bu yüksek pozitiflik oranına araştırmanın yapıldığı ildeki çiğ et (çiğ köfte) yeme alışkanlığının neden olabileceğini vurgulamışlardır. Çalışmamızda elde ettiğimiz anti-*T.gondii* IgG ve IgM pozitiflikleri, Şanlıurfa ilindeki çalışma ayrı tutulduğunda, ülkemizdeki diğer bölge sonuçları ile uyumlu görünmektedir.

Dünyadaki durumu incelediğimizde, doğurgan çağdaki kadınlarda anti-*T.gondii* IgG pozitiflik oranları Avrupa ülkelerinde %19-46 aralığında, Brezilya'da %72.3, Afrika ülkelerinde %45-83 aralığında ve İran'da %36-45 olarak bildirilmiştir[21-29].

"American College of Obstetricians and Gynecologists" ve "Centers for Disease Control and Prevention" (CDC) gebelerde *T. gondii* açısından rutin bir serolojik tarama önermemektedir[30,31].

Rubella virus, *Togaviridae* ailesinden pozitif sarmallı bir RNA virüsü olup, kızamıkçık hastalığı veya "Alman kızamığı" tablosunun etkenidir[32]. Gebeliğin ilk üç ayında maternal kızamıkçık enfeksiyonu oldukça önemlidir ve fetal ölümle veya oftalmik anormallikler, işitme kaybı, kardiyak defektler ile mental retardasyon gibi konjenital anomalileri içeren Konjenital Rubella Sendorumuna sahip bir bebeğin doğumuyla sonuçlanabilir[33].

Canlı attenüe bir aşı olan rubella virus aşısı ile yapılan bağışıklamanın, enfeksiyonu ve en korkulan komplikasyonlardan biri olan Konjenital Rubella Sendromunu önleyebildiği gösterilmiştir[32]. Konjenital Rubella Sendromunun insidansı, rubella virus aşılamasının kapsamının artması nedeniyle dünya çapında azalmaktadır, ancak aşılamanın yetersiz olduğu ve koruyucu anti-rubella virus IgG seviyelerinin olmadığı bölgelerde tehdit edici ve maliyetli bir hastalık olmaya devam etmektedir[34].

Doğurgan çağdaki kadınlarda anti-rubella virus IgG pozitiflik oranları Avrupa'da %96.5-97.7, Amerika'da %91.5 olarak bildirilmiştir[8]. Afrika ülkelerinde ise bu oran %52.9 ile 97.9 arasında değişkenlik göstermektedir[35]. Araştırmacılar bu durumun Güney Amerika ve Hindistan verileriyle uyumlu olduğunu, Avrupa verilerinden farklılıklar gösterdiğini belirtmişler ve bu durumu Avrupa'da gerçekleştirilen rubella virüs aşılama çalışmalarının bir sonucu olarak değerlendirmişlerdir.

Ülkemizde yakın zamanlı yapılan bir metaanaliz çalışmasında, anti-rubella virus IgG ve IgM pozitiflik oranları sırası ile %91-95 ve %0.5-1.1 olarak belirlenmiştir[36]. Çalışmamızda, hastanemize başvuran gebelerde anti-rubella virus IgG pozitiflik oranını %87.9, anti-rubella virus IgM pozitiflik oranını ise %0.3 olarak bulduk. Çalışmamızda elde ettiğimiz anti-rubella virus IgG pozitiflik oranı, ülkemizde tespit edilen oranlarla kıyaslandığında görece düşük olarak değerlendirilmiştir.

Ülkemizde rubella virus aşısı, Kızamık-Kızamıkçık-Kabakulak (KKK) aşısının bir bileşeni olarak aşı takvimimizde yer almaktadır ve çocuklara 12. ayın sonunda ve ilköğretim 1. sınıfta uygulanmaktadır. Elde edilen anti-rubella virus IgG pozitiflik oranları ülkemizde aşılama çalışmalarının başarısını ortaya koymaktadır. Ancak, günümüzde aşı ile ilişkili olarak son dönemde ortaya çıkan kimi olumsuz yaklaşımların bu başarıyı zaman içerisinde gölgelemesinden endişe duymaktayız.

Amerika Birleşik Devletleri'nde doğurganlık çağındaki kadınların rubella virusa karşı bağışıklık kanıtlarının olması istenmekte ve bağışıklığı olmayan kadınların gebelik planlaması öncesi bir doz KKK aşısı ile aşılanmaları önerilmektedir. Aynı şekilde gebe kadınlarda kızamıkçık bağışıklığı kanıtı yoksa, anti-rubella virus IgG ile serolojik tarama yapılması ve bağışıklığı olmayanların gebeliklerini tamamladıktan sonra bir doz

KKK aşısı ile aşılanmaları önerilmektedir[2]. Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı'nın saha rehberinde, gebelik takibinde rubella virus immunizasyonu açısından öykü sorgulanması önerisi yer almaktadır[37].

CMV, Herpesviridae ailesine dâhil edilen, insana özgü bir DNA virüsüdür ve tüm dünyada görülebilen konjenital CMV enfeksiyonunun etkenidir[1]. Genel bir kural olarak, düşük sosyoekonomik düzey, CMV'ye maruz kalma sıklığını artırmaktadır ve CMV seropozitiflik düzeylerini yükseltmektedir. Bu epidemiyolojik durumun konjenital enfeksiyon ve hastalık insidansı üzerinde doğrudan etkisi vardır[38].

Doğurganlık çağındaki kadınlarda anti-CMV IgG pozitifliği oranı İran, Yemen ve Pakistan gibi Ortadoğu ülkelerinde %90 ve üzerinde bildirilmiştir[39-41]. Sosyoekonomik yönden gelişmiş Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde ise, bu oran %40-60 seviyesindedir[38].

Ülkemizde yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde anti-CMV IgG pozitiflik oranlarının % 90-95'leri aşan oranlarda, anti-CMV IgM pozitiflik oranlarının ise %0.2-1.7 civarında olduğu gözlenmektedir[11,13,14,18,19]. Biz de çalışmamızda, anti-CMV IgG pozitiflik oranını %99 ve anti-CMV IgM pozitiflik oranını %0.7 olarak saptadık. Çalışmamızdaki sonuçlar, ülkemizdeki verilerle uyumludur.

Sonuç olarak *T. gondii* açısından rutin bir tarama gerekli görülmemekle birlikte, gebelerin ilk kontrollerinde toksoplazmoz hastalığı ve bulaş yolları ile yeme alışkanlıkları ve başta kedi olmak üzere hayvan teması konularında bilinçlendirilmeleri uygun olacaktır. Aşıyla önlenebilir bir hastalık etkeni olduğundan, gebelik planlayan kadınların rubella virus bağışıklığının araştırılmasının ve bağışıklığı olmayanların aşılanmasının, bağışıklık durumu bilinmeyen bütün gebelerde ise anti-rubella virus IgG ile serolojik tarama yapılmasının önemi göz önünde bulundurulmalıdır. Bu konuda yapılacak çalışmaların tarama testleri konusunda literatüre katkı sağlayacağı ve sağlık otoriteleri tarafından geliştirilecek yol haritalarına katkı sunacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Cofre F, Delpiano L, Labraña Y, Reyes A, Sandoval A, Izquierdo G. TORCH syndrome: Rational approach of pre and post natal diagnosis and treatment. Recommendations of the Advisory Committee on Neonatal Infections Sociedad Chilena de Infectología, 2016. Rev Chilena Infectol. 2016;33(2):191-216. https://doi.org/10.4067/S0716-10182016000200010
2. Neu N, Duchon J, Zachariah P. TORCH infections. Clin Perinatol. 2015;42(1):77-103. https://doi.org/10.1016/j.clp.2014.11.001
3. Halawa S, McDermott L, Donati M, Denbow M. TORCH screening in pregnancy. Where are we now? An audit of use in a tertiary level centre. J Obstet Gynaecol. 2014;34(4):309-12. https://doi.org/10.3109/01443615.2013.872609
4. Abdel-Fattah SA, Bhat A, Illanes S, Bartha JL, Carrington D. TORCH test for fetal medicine indications: only CMV is necessary in the United Kingdom. Prenat Diagn. 2005;25(11):1028-31. https://doi.org/10.1002/pd.1242
5. Stillwaggon E, Carrier CS, Sautter M, McLeod R. Maternal serologic screening to prevent congenital toxoplasmosis: a decision-analytic economic model. PLoS Negl Trop Dis. 2011;5(9):e1333. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001333
6. Duran B, Toktamış A, Erden Ö, Demirel Y, Mamik B A, Çetin M. Doğum öncesi bakımda tartışmalı bir konu: TORCH taraması. C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 2002;24(4):185-90.
7. Çakıcı C, Aka N, Yorulmaz S, Acar N, Gökmen B. Gebelerde rutin olarak toksoplazma, rubella ve sitomegalovirus taraması yapılmalı mıdır? Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst. 1995;5(1):20-2.
8. de Jong EP, Vossen AC, Walther FJ, Lopriore E. How to use... neonatal TORCH testing. Arch Dis Child Educ Pract Ed. 2013;98(3):93-8. https://doi.org/10.1136/archdischild-2012-303327
9. Harker KS, Ueno N, Lodoen MB. Toxoplasma gondii dissemination: a parasite's journey through the infected host. Parasite Immunol. 2015;37(3):141-9. https://doi.org/10.1111/pim.12163
10. Yıldırım D, Büyükboyacı N, Bölükbaşı S, ve ark. Toxoplasmoz şüpheli hastalarda *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin kemilüminesan mikropartikül immunolojik test (CMIA) yöntemi ile araştırılması. Cumhuriyet Med J. 2013;35:468-74. https://doi.org/10.7197/1305-0028.2260
11. Obut M, Doğan Y, Bademkıran MH, ve ark. Diyarbakır ilindeki gebe kadınlarda toksoplazma, rubella ve sitomegalovirus seroprevalansı. Dicle Med J. 2019;46(2):189-94.

https://doi.org/10.5798/dicletip.539888
12. Şimşek M, Keşli R, Demir C, Çetinkaya Ö, Arıöz DT. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesinde takip edilen gebelerde toksoplazma, rubella, sitomegalovirus ve Herpes Simpleks Virus Tip 2 deroprevalansının incelenmesi. Ortadoğu Tıp Derg. 2016;8(1):1-6.
13. Madendağ Y, Eraslan Şahin M, Çöl Madendağ İ, Şahin E, Açmaz G. Hastanemize başvuran gebelerde toksoplazma, sitomegalovirüs ve rubella seroprevalansının araştırılması. Perinatoloji Dergisi. 2018;26(1):7-10.
https://doi.org/10.2399/prn.18.0261004
14. Efe Ş, Kurdoğlu Z, Korkmaz G. Van yöresindeki gebelerde sitomegalovirüs, rubella ve toksoplazma antikorlarının seroprevalansı. Van Tıp Derg. 2009;16(1):6-9.
15. Çınar Tanrıverdi E, Göktuğ Kadıoğlu B, Alay H, Özkurt Z. Erzurum Nenehatun Doğum Hastanesine 2013-2017 yılları arasında başvuran ilk trimester gebelerde, anti-*Toxoplasma gondii* antikor sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. Turkiye Parazitol Derg. 2018;42(2):101-5.
https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5544
16. Yazıcı V, Kale A, Malatyalı E, Ertabaklar H. Kocaeli Derince'de *Toxoplasma gondii* serolojisi için gönderilen doğurganlık yaş grubundaki olgulara ait sonuçların retrospektif olarak değerlendirilmesi. Turkiye Parazitol Derg. 2014;38(4):223-7.
17. Bakacak M, Bostancı MS, Köstü B ve ark. Gebelerde *Toxoplasma gondii,* rubella ve sitomegalovirüs seroprevalansı. Dicle Med J. 2014;40(2):326-31.
18. Yıldız Çeltek N, Tetikçok R, Günal Ö, ve ark. Türkiye'nin Orta Karadeniz Bölgesi'nde gebelerde rubella, CMV ve toksoplazmozis seroprevalansı. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2014;6(1):54-62.
19. İnci A, Yener C, Güven D. Bir devlet hastanesinde gebe kadınlarda toksoplazma, rubella ve sitomegalovirüs seroprevalansının araştırılması. Pam Tıp Derg. 2014;7(2):143-6.
20. Tekay F, Özbek E. Çiğ köftenin yaygın tüketildiği Şanlıurfa ilinde kadınlarda *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. Turkiye Parazitol Derg. 2007;31(3):176-9.
21. Bobić B, Klun I, Nikolić A, Djurković-Djaković O. *Toxoplasma gondii* Infection in South-East Europe: Epidemiology and Epizootiology. In: Toxoplasmosis - Recent Advances, Olgica Djurković Djaković, IntechOpen. [https://www.intechopen.com/books/toxoplasmosis-recent-advances/toxoplasma-gondii-infection-in-south-east-europe-epidemiology-and-epizootiology] Erişim tarihi: Mart.2020
https://doi.org/10.5772/50831
22. Fanigliulo D, Marchi S, Montomoli E, Trombetta CM. *Toxoplasma gondii* in women of childbearing age and duringpregnancy: seroprevalence study in Central and Southern Italy from 2013 to 2017. Parasite. 2020;27(2):1-4.
https://doi.org/10.1051/parasite/2019080
23. Berghold C, Herzog SA, Jakse H, Berghold A. Prevalence and incidence of toxoplasmosis: a retrospective analysis of mother-child examinations, Styria, Austria, 1995 to 2012. Euro Surveill. 2016;21(33).
https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.33.30317
24. Vilibic-Cavlek T, Ljubin-Sternak S, Ban M, Kolaric B, Sviben M, Mlinaric-Galinovic G. Seroprevalence of TORCH infections in women of childbearingage in Croatia. The J Matern Fetal Neonatal Med. 2011;24(2):280-3.
https://doi.org/10.3109/14767058.2010.485233
25. Costa GB, De Oliveira MC, Gadelha SR, et al. Infectious diseases during pregnancy in Brazil: seroprevalence and risk factors. J Infect Dev Ctries. 2018;12(8):657-65.
https://doi.org/10.3855/jidc.9492
26. Al-Eryani SM, Al-Mekhlafi AM, Al-Shibani LA, Mahdy MM, Azazy AA. *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in Yemen: Factors associated with high seroprevalence. J Infect Dev Ctries. 2016;10(6):667-72.
https://doi.org/10.3855/jidc.6638
27. El Deeb HK, Salah-Eldin H, Khodeer S, Allah AA. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in antenatal population in Menoufia governorate, Egypt. Acta Trop. 2012;124(3):185-91.
https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.08.005
28. Zemene E, Yewhalaw D, Abera S, Belay T, Samuel A, Zeynudin A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and associated risk factors among pregnant women in Jimma town, Southwestern Ethiopia. BMC Infect Dis. 2012;12:337.
https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-337
29. Foroutan-Rad M, Khademvatan S, Majidiani H, Aryamand S, Rahim F, Malehi AS. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Iranian pregnant women: A systematic review and meta-analysis. Acta Trop. 2016;158:160-9.
https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.03.003
30. American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice bulletin no.151: Cytomegalovirus, parvovirus B19, varicellazoster, and toxoplasmosis in pregnancy. Obstet Gynecol. 2015 Jun;125(6):1510-25.
https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000466430.19823.53
31. Lopez A, Dietz VJ, Wilson M, Navin TR, Jones JL. Preventing congenital toxoplasmosis. MMWR Recomm Rep. 2000;49(RR-2):57-75.
32. Lambert N, Strebel P, Orenstein W, Icenogle J, Poland GA. Rubella. Lancet. 2015;385(9984):2297-307.

https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60539-0
33. Bouthry E, Picone O, Hamdi G, Grangeot-Keros L, Ayoubi JM, Vauloup-Fellous C. Rubella and pregnancy: diagnosis, management and outcomes. Prenat Diagn. 2014;34(13):1246-53. https://doi.org/10.1002/pd.4467
34. Honarvar B, Moghadami M, Moattari A, Emami A, Odoomi N, Bagheri Lankarani K. Seroprevalence of anti-rubella and anti-measles IgG antibodies in pregnant women in Shiraz, Southern Iran: outcomes of a nationwide measles-rubella mass vaccination campaign. PLoS One. 2013;8(1):e55043. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055043
35. Mirambo MM, Majigo M, Aboud S, Groß U, Mshana SE. Serological makers of rubella infection in Africa in the pre vaccination era: a systematic review. BMC Res Notes. 2015;8:716. https://doi.org/10.1186/s13104-015-1711-x
36. Çetinkaya RA, Yenilmez E. The seroprevalence of Rubella in pregnant women in Turkey: a meta-analysis research of 90988 Rubella IgM, 84398 Rubella IgG, and 522 avidity results. Turk J Obstet Gynecol. 2019;16(1): 63-71 https://doi.org/10.4274/tjod.galenos.2018.89663
37. Doğum Öncesi Bakım Yönetim Rehberi, 2014. TC Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Kurumu, Ankara, 2014.
38. Emery VC, Lazzarotto T. Cytomegalovirus in pregnancy and the neonate. F1000Res. 2017;6:138. https://doi.org/10.12688/f1000research.10276.1
39. Sharghi M, Musavi H, Mansurkhani SM, et al. Seroprevalence of cytomegalovirus among women of reproductive age in Iran: A systematic review and meta-analysis. Iran J Public Health. 2019;48(2):206-16.
40. Mujtaba G, Khurshid A, Sharif S, et al. Distribution of cytomegalovirus genotypes among neonates born to infected mothers in Islamabad, Pakistan. PLoS One. 2016;11(7):e0156049. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156049
41. El Sanousi SM, Osman ZA, Mohmed ABS, Al Awfi MSH. Cytomegalovirus infection in a cohort of pregnant women. American Journal of Infection Control. 2016;44(4):e41-3. https://doi.org/10.1016/j.ajic.2015.11.002

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(4):218-24
doi:10.5222/TMCD.2020.218

Araştırma / *Research Article*

Obezite ve Bakteriyel Vajinoz İlişkisinin Mikrobiyolojik Yöntemler ve Antropometrik Ölçümler Kullanılarak Araştırılması[§,*]

Investigation of the Relationship Between Obesity and Bacterial Vaginosis Using Microbiological Methods and Anthropometric Measurements

Zuhal Bulut*, Deniz Gazel*, Evrim Koç**

*Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye
**Gaziantep Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Gaziantep, Türkiye

Alındığı tarih / Received:
25.01.2020 / 25.January.2020
Kabul tarihi / Accepted:
06.05.2020 / 06.May.2020
Yayın tarihi / Publication date:
31.12.2020 / 31.December.2020

ORCİD Kayıtları

Z. Bulut 0000-0003-1747-7430
D. Gazel 0000-0003-2764-3113
E. Koç 0000-0001-8833-6569

✉ denizgazel@yahoo.com

§ *Bu araştırma, İzmir'de düzenlenen 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde, 30 Ekim 2019 tarihinde, S64 numara ile poster olarak sunulmuştur.*

* *Bu çalışma, Dr. Öğretim Üyesi Deniz GAZEL'in tez danışmanlığında Gaziantep Üniversitesi'nde tıbbi mikrobiyoloji yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.*

Atıf: Bulut Z, Gazel D, Koç E. Obezite ve bakteriyel vajinoz ilişkisinin mikrobiyolojik yöntemler ve antropometrik ölçümler kullanılarak araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):218-24.

ÖZ

Amaç: *Bakteriyel vajinoz için Nugent skorlaması altın standart kabul edilmektedir. Son yıllarda bakteriyel vajinoz ile obezite arasında ilişki olabileceği raporlanmıştır. Bu çalışmada, Nugent skoru ve beden kütle indeksi (BKİ) kullanılarak bakteriyel vajinozun obezite ile ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır.*
Yöntem: *İlimizdeki devlet hastanesi kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine 1 Mayıs - 1 Kasım 2019 tarihleri arasında vajinal akıntı/kaşıntı yakınması ile başvuran doğurganlık çağındaki 106 cinsel aktif hasta çalışmaya dâhil edilmiştir. Gebeler, kanamalılar, önceki üç hafta boyunca kontraseptif/antibiyotik/vajinal ilaç kullananlar, kronik hastalığı olanlar ve son iki günde cinsel ilişkide bulunanlar çalışma dışı bırakılmıştır. Hastaların diyetisyen tarafından antropometrik ölçüleri yapılmış ve BKİ'leri hesaplanmıştır. Akabinde, jinekoloji uzmanı tarafından vajinal süründü alınıp lama yayılmıştır. Gram boyama sonrasında, Nugent skorlaması yapılmıştır.*
Bulgular: *Nugent skoruna göre, hastalar bakteriyel vajinoz, ara değer flora ve normal flora olarak sınıflanmıştır. BKİ kullanılarak ise obez (%36.8), fazla kilolu (%34.9), normal (%28.3) olarak sınıflandırılmıştır. Nugent skorlama yöntemiyle 106 hastanın 33'ünün (%31.1) ara değer flora, 45'inin (%42.5) bakteriyel vajinoz, 28'inin (%26.4) de normal floraya sahip olduğu saptanmıştır. BKİ ile bakteriyel vajinoz arasında anlamlı bir ilişki olmadığı belirlenmiştir.*
Sonuç: *Çalışmamızda, beden kütle indeksi ve bakteriyel vajinoz arasında arasında anlamlı bir ilişki olmadığını saptadık. Literatürde bakteriyel vajinoz ve beden kütle indeksi arasındaki ilişkinin incelendiği sınırlı sayıdaki araştırmaların sonuçları birbirleriyle çelişmektedir. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmanın bu konudaki açığı kapatmaya yardımcı olduğunu düşünmekteyiz.*

Anahtar kelimeler: *Bakteriyel vajinoz, obezite, beden kütle indeksi*

ABSTRACT

Objective: *Nugent scoring is accepted as the gold standard for diagnosis of bacterial vaginosis. Recently, it was reported that there could be a relationship between obesity and bacterial vaginosis. In this study, we aimed to investigate the relationship between bacterial vaginosis and obesity using Nugent score and body mass index (BMI).*
Method: *A total of 106 fertile and sexually active patients in the childbearing age admitted to gynecology outpatient department of a state hospital in our city with symptoms of vaginal discharge and itching between May 1 and November 1, 2019 were included. Pregnant women, patients with bleeding, patients with a history of cancer, contraceptives/antibiotic/vaginal drug use within the previous three weeks, chronic disease and sexual intercourse within the last two days were excluded from the study. Anthropometric measurements and calculations of BMI were performed by the dietitian. Vaginal smears were obtained by a gynecologist and Nugent scoring was performed after Gram-staining.*
Results: *According to Nugent score, patients were classified as having bacterial vaginosis, intermediate and normal flora. Using BMI, patients were classified as obese (36.8%), overweight (34.9%), and normal (28.3%). Nugent scoring method revealed that 33 (31.1%) of 106 patients had intermediate flora, 45 (42.5%) had bacterial vaginosis and 28 (26.4%) had normal flora. No significant relationship was found between BMI and bacterial vaginosis.*
Conclusion: *We found no significant relationship between body mass index and bacterial vaginosis. Limited number of studies investigating the relationship between bacterial vaginosis and body mass index have contradictory results. Therefore, our study may help to close the gap on this issue.*

Keywords: *Bacterial vaginosis, obesity, body mass index*

© 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

Bakteriyel vajinoz (BV), normal vajen florasında baskın olan laktobasillerin azalması sonucu vajen pH'ının yükselmesi, normalde az sayıda bulunan *Gardnerella vaginalis, Mycoplasma hominis,* anaeroblardan *Bacteroides* spp., *Provotella* spp., *Porphyromonas* spp. ve *Peptostreptococcus* spp. gibi bakterilerin artması sonucu oluşan, vajen florasının bozulması ile ilişkili olan polimikrobiyal bir hastalıktır[1-3]. Kısaca, vajinanın bakteriyel florasının bozulması bakteriyel vajinoz olarak tanımlanmaktadır. Üreme dönemindeki kadınlarda en sık görülen vajinal sendrom olan bakteriyel vajinoz anormal vajinal akıntının en sık nedenlerinden biridir[4]. BV ilk olarak 1895'te tanımlanmış olmasına rağmen, 1980'lerin başlarında kadınların cinsel sağlığında önemli yerinin olduğu anlaşılmış ve yapılan çalışmalar önem kazanmıştır[5]. Bakteriyel vajinozun indikatör bakterisi olan *G. vaginalis* ilk olarak Gardner ve Dukes[6] tarafından 1955 yılında tanımlanmıştır. BV olan hastaların yarısı asemptomatik olabilirken, semptomatik olan hastaların esas yakınması kötü kokulu vajinal akıntıdır[7,8]. Gardner ve Dukes tarafından ortaya atılan tanı kriterlerini Amsel ve ark.[9] geliştirmişlerdir. Amsel kriterleri günümüzde BV'nin klinik tanısında kullanılmaktadır[9]. BV'in klinik tanısında ince homojen gri bir vajinal akıntının varlığı, mikroskobik incelemede ipucu hücrelerinin (clue cell) bulunması, vajinal pH'nın 4.5 veya üzerinde olması, pozitif potasyum hidroksit (KOH) testi (pozitif amin testi) bu dört objektif kriterden 3 veya daha fazlası varsa BV'nin tanısı için yeterlidir[9]. Daha sonra geliştirilen ve BV tanısında kullanılan bir diğer test de Nugent skorlama yöntemidir[10]. Nugent skorlama yöntemi BV'nin tanısında en sık kullanılan yöntemdir ve altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu skorlama yönteminde üç bakteriyel morfotip 0-10 aralığında değişen skorlama ile değerlendirilmektedir[8,10-12].

Önceleri selim bir durum gibi görünen BV ciddi üst genital yol enfeksiyonlarına zemin hazırlayan bir önemli sendromdur. Bakteriyel vajinozlu hastalardan izole edilen mikroorganizmaların endometrit, erken doğum eylemi, pelvik inflamatuvar hastalık, postpartum bakteriyemi, erken membran rüptürü, koriyoamniyonitis, postoperatif enfeksiyonlar ve vajinal abselerle ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca bakteriyel vajinozlu kadınlar cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonu, pelvik inflamatuvar hastalık ve preterm doğum için yüksek risk altındadır[4]. BV ile ilişkili risk faktörleri arasında cinsel aktivite, intrauterin cihaz, siyah ırk/etnik köken, vajinal duş alma, sigara kullanımı, mens, düşük sosyoekonomik durum, düşük D vitamini düzeyleri gibi faktörler olduğu bilinmektedir[13]. Bu nedenle, BV için yeni risk faktörlerinin tanımlanması ve çelişkili risk faktörlerinin yeniden araştırılması, hastalığın önlenmesi için yeni hedeflerin belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır[2,3].

Obezite bütün yaş gruplarında görülen, görülme sıklığı giderek artan, sosyal ve psikolojik yönleri ile ciddi bir halk sağlığı sorunu olduğu Dünya Sağlık Örgütü tarafından bildirilmektedir[14]. Obezite ve bağırsak disbiyozisi arasındaki ilişkiyi araştıran birçok araştırma[15,16] bulunmaktaysa da, obezite ve bakteriyel vajinoz ilişkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu çalışmada, bir mikrobiyolojk tanı yöntemi olan Nugent skoru ve bir antropometrik ölçüm yöntemi olan beden kitle indeksi (BKİ) kullanılarak, obezite ile bakteriyel vajinoz ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırma örneklerini, Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne 1 Mayıs 2019-1 Kasım 2019 tarihleri arasında vajinal akıntı yakınması nedeniyle başvuran hastalar oluşturdu. Araştırmaya gönüllü olarak katılan hastalardan yazılı onam alındı. Fertil dönemdeki (18-45 yaş) kadınlar, cinsel olarak aktif kadınlar ve vajinal akıntı/kaşıntı yakınması ile polikliniğe başvuran kadınlar araştırmaya dâhil edildi. Muayene sırasında kanaması olan kadınlar, jinekolojik kanser öyküsü olan kadınlar, önceki üç hafta kontraseptif/antibiyotik/vajinal ilaç kullananlar, son iki günde

cinsel ilişkide bulunanlar, kronik hastalığı olanlar ve gebe kadınlar çalışmaya dâhil edilmedi. Bu araştırma, Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2019/133 sayı numarası ile etik kurul onayı almıştır. Araştırmaya Gaziantep İl Sağlık Müdürlüğü'nden, 25.04.2019/24 sayı No ile çalışma izni alınmıştır.

Klinik Analiz: Hastalar jinekoloji polikliniğinde litotomi pozisyonunda muayene masasına alındı. Kadın hastalıkları ve doğum uzmanı tarafından steril pamuklu eküvyon çubuğu ile vajen arka fornikste biriken sıvıdan örnekler alındı. Akıntı örneği, mikrobiyolojik inceleme için lama tek yönlü olarak yayıldı. Diğer örnekler Whiff testi ve pH ölçümü için kullanıldı[8,9]. Eküvyon çubuk ile gönüllüden alınan vajinal sekresyon örnekleri 4-7 arası skaladaki pH indikatör kağıdına (Merck, Daimstadt, Almanya) sürüldü ve kısa bir süre sonra pH indikatör kağıdı üzerinde oluşan renk değişimine göre olan pH değerleri her hasta için takip formuna kaydedildi. Amsel kriterlerine göre pH 4.7 ve üzerindeki pH'a sahip olan örnekler pozitif kabul edildi. Whiff testi için öncelikle % 10'luk KOH çözeltisi hazırlandı. Whiff testinde balık kokusunun ortaya çıktığı örnekler takip formuna kaydedildi[9].

Beden Kütle İndeksi Kullanılarak Antropometrik İncelemelerin Yapılması: Araştırmaya dâhil edilen hastalar kadın hastalıkları ve doğum uzmanı tarafından yapılan vajinal muayenenin hemen ardından diyet polikliniğine yönlendirildi. Hastaların boy uzunluğu, vücut ağırlığı ölçümleri diyet polikliniğinde diyetisyen tarafından yapıldı. Boy uzunluğu ve vücut ağırlığı ölçümleri otomatik ağırlık ölçüm cihazı (Seca, Türkiye) ile yapıldı ve BKİ değerleri hesaplandı. Obezitenin objektif tanısında; beden kütle indeksi, kilogram olarak vücut ağırlığının, metre cinsinden boy uzunluğunun karesine bölünmesiyle hesaplandı. Araştırmaya dahil edilen hastalar beden kütle indeksi değerlerine göre; BKİ<18.50 zayıf (düşük ağırlıklı), 18.50–24.99 normal, ≥25.00 toplu hafif şişman, ≥30.00 şişman/obez olarak sınıflandırıldı[17].

Mikrobiyolojik Analiz: Lam üzerine yayılan örnekler havada kurutularak (24 saat) belirlendi, daha sonra Gram boyama yöntemine göre boyandı. Değerlendirme Nugent skorlamasına göre yapıldı, 0-3 Normal, 4-6 orta düzey (ara değer), 7 ve üzerindeki skora sahip preparatlar BV pozitif olarak takip formuna kaydedildi[8,10].

İstatistiksel Analiz: Sayısal değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile test edilmiştir. İkiden fazla bağımsız grupta karşılaştırmada tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) yapılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişki çapraz tablolar (Cross-Tabs; Chi Square) ki-kare analizi yapılmıştır. Analizlerde SPSS 22 Windows versiyonu kullanılıp, p değerinin 0.05'ten küçük olması istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Yapmış olduğumuz çalışmada, 115 hasta gönüllü olarak çalışmamıza katılmıştır. Dokuz hasta, analiz aşamasında araştırmaya katılma kriterlerine uymadığı belirlendiğinden çalışma dışı bırakılmıştır. Yüz altı gönüllü hasta çalışma grubumuzu oluşturmuştur. Çalışmaya dâhil edilen hastaların yaşları 19-45 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 32.1 olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya dâhil edilen hastaların BKİ değerleri 18.50-46.60 arasında değişmekte olup, BKİ ortalaması 28.8 olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya dâhil edilen hastaların BKİ değerleri dikkate alındığında 30'unun (%28.3) normal, 37'sinin (%34.9) kilolu, 39'unun da (%36.8) obez olduğu görülmüştür (Tablo 1). Kriterlere uyan zayıf hasta bulunamamıştır.

Çalışmamızda, Amsel kriterleri ve ön klinik değerlendirme sonucunda 100 hastaya BV tanısı konulmuştur. Daha sonra tüm preparatlar ileri mikrobiyolojik incelemeye alınmıştır. Yapılan Nugent skorlaması sonucunda 45 (%42.5) hasta BV, 33 (%31.1) hasta ara değer flora ve 28 (%26.4) hasta normal flora olarak değerlendirilmiştir (Tablo 2). Referans test olan Nugent skorlama yönteminde yalnızca 45 hastaya BV tanısı konulmuştur. Sonra, hastaların BKİ değerleri ile

Tablo 1. Çalışmaya dâhil edilen hastaların beden kitle indeksi değerlerine göre sınıflandırılması.

BKİ Durumu	N	%
Normal	30	28.3
Kilolu	37	34.9
Obez	39	36.8
Toplam	106	100.0

Tablo 2. Hastaların bakteriyel vajinoz durumları dağılımları.

Bakteriyel vajinoz kategorisi	N	%
Bakteriyel vajinoz	45	42.5
Ara değer	33	31.1
Normal	28	26.4
Toplam	106	100

Tablo 3. Hastaların beden kitle indeksi ve Nugent kategorilerinin dağılımları.

	Bakteriyel vajinoz (skor: 7-10)	Ara değer (skor: 4-6)	Normal flora (skor: 0-3)	Toplam
Normal	13 (%43.3)	8 (%26.7)	9 (%30)	30
Kilolu	16 (%43.2)	9 (%24.3)	12 (%32.4)	37
Obez	16 (%41)	16 (%41)	7 (%17.9)	39
Toplam	45 (%42.5)	33 (%31.1)	28 (%26.4)	106

Nugent skorları arasında ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan Spearman korelasyon analizi sonucunda anlamlı bir ilişki olmadığı (p>0.05) görülmüştür. Hastaların BKİ kategorilerine göre Nugent skorlarının farklılaşıp farklılaşmadığını tespit etmek için yapılan tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) neticesinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0.05). BV durumuna göre BKİ ortalamaları arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için yapılan tek yönlü varyans analizi neticesinde ara değerde olan hastaların BKİ değerlerinin diğerlerinden daha yüksek, normal olarak belirlenen hastaların ise diğerlerinden daha düşük olduğu, ancak gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı (p>0.05) görülmüştür. BKİ durumuna göre, BV kategorilerinin karşılaştırılması için yapılan çapraz tablolar (Cross-Tabs; Chi Square) ki-kare analizi neticesinde normal kilolu hastaların %26.7'sinin ara değer, %43.3'ünün BV, %30'unun normal; kilolu hastaların %24.3'ünün ara değer, %43.2'sinin BV, %32.4'ünün normal; obez hastaların %41'inin ara değer, %41'inin BV, %17.9'unun da normal olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür (p>0.05, Tablo 3).

TARTIŞMA

Obezite, Dünya Sağlık Örgütü tarafından "sağlığı bozacak ölçüde vücutta aşırı yağ birikmesi" olarak tanımlanmaktadır[18,19]. Obezite bütün yaş gruplarında görülen, görülme sıklığı giderek artan, sosyal ve psikolojik yönleri ile ciddi bir halk sağlığı sorunu olup, obezitenin objektif tanısında beden kütle indeksi kullanılmaktadır. Beden kütle indeksine göre BKİ<18.50 zayıf (düşük ağırlıklı), 18.50-24.99 normal, ≥25.00 toplu hafif şişman, ≥30.00 şişman/obez, 30.00-34.99 I. derece şişman, 35.00-39.99 II. derece şişman, ≥40.00 III. derece şişman olarak sınıflandırılmaktadır[17]. Obezite, geçmiş çalışmalarda kalp damar hastalıkları ve diyabet dâhil olmak üzere birçok kronik hastalıkla ilişkili bulunmuştur[3]. Yapılan çalışmalarda, obez bireylerin bağırsak mikrobiyotasındaki bakteriyel çeşitliliğin azaldığı ve disbiyosiz oluştuğu rapor edilmiştir[15,16,20]. Bu nedenle çalışmamız öncesinde, bağırsak disbiyozisine neden olan obezitenin vajinal floraya da etkilerinin olabileceğini öngördük ve obezite ile bakteriyel vajinoz arasında bir ilişki olup olmadığını saptamak için bu araştırmayı tasarladık. Nitekim, obez kadınların, yüksek plazma östrojen düzeyleri, sistemik inflamasyon ve bağışıklık fonksiyonlarının zayıf olması dâhil olmak üzere, genital sistemde disbiyozise yol açabilecek farklı fizyolojik özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir[21-23].

Üreme dönemindeki kadınlarda en sık görülen vajinal sendrom olan bakteriyel vajinoz anormal vajinal akıntının en sık nedenlerinden biridir. Bakteriyel vaji-

noz ciddi enfeksiyonlara zemin hazırlaması nedeniyle kadın sağlığında önemli bir yer tutmaktadır[1,4]. Çalışmamızda, kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine vajinal akıntı/kaşıntı yakınması nedeniyle başvuran cinsel olarak aktif 18-45 yaş aralığında yer alan 106 hasta çalışma grubunu oluşturmuştur. Literatürde, fazla kilolu ve obez popülasyonlarda bakteriyel vajinoz prevalansını araştıran çalışmalar az sayıdadır. Bu çalışmalar BKİ ve BV arasındaki ilişkiyi de araştırmışlardır. Ancak, BKİ'nin BV için bir risk faktörü olup olmadığı hakkında tam bir fikir birliğine varılamamıştır. Yakın zamanda ABD'de Brookheart ve ark.[11] 5918 kadınının vajinal smearlarını inceleyip Nugent skorlamasına göre BV durumlarını değerlendirmişler ve fazla kilolu ve obez kadınların, zayıf kadınlara nazaran Nugent skorlarının ve BV prevalanslarının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Mastrobattista ve ark.[24] gebe olan 1497 katılımcı üzerinde yaptıkları araştırmada, bakteriyel vajinoz ve beden kütle indeksi arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Lokken ve ark.[3] Kenya'da 1946 kadın seks işçisi üzerinde 2014 yılında yaptıkları araştırmada, obez kadınların normal kilolu kadınlara kıyasla %20 daha düşük BV riskine sahip olduğunu raporlamışlardır. Bu çalışma, obez kadınların BV için daha düşük riske sahip olduğunu gösteren ilk prospektif kohort araştırmadır[3]. Son zamanlarda yapılan bir araştırmada, kilolu ve obez Koreli kadınların vajinal mikrobiyotalarının zayıf kadınlara kıyasla daha yüksek oranda *Lactobacillus iners* ve *Prevotella* bulundurduğu bildirilmiştir[21]. Koumans ve ark.[25] Ulusal Sağlık ve Beslenme Anketi'ne katılan 14-49 yaş aralığında olan 3739 kadından vajinal örnek toplamışlardır. Nugent Skorlaması ile yapılan değerlendirme sonucunda BKİ ile BV arasında anlamlı ilişki bulmuşlar ancak daha sonra çok değişkenli analizde etnik köken, vajinal duş sıklığı, doğum kontrol hapı kullanımı, eğitim gibi özellikler hep beraber analiz edildiğinde yüksek BKİ ile BV'nin ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır. Bu araştırmalar değerlendirildiğinde, çalışma sonuçlarımızın Koumans[25] ve Mastrobattista[24] grubunun çalışmalarına daha yakın çıktığı söylenebilir.

Bu çalışmanın bir kısıtlılığı olarak, araştırmamızda, çalışma grubunu yalnızca polikliniğe akıntı ve kaşıntı yakınmasıyla başvuran semptomlu hastalar oluşturmaktadır. Çalışma grubumuzda asemptomatik hastalar yer almamaktadır. Asemptomatik olup BV'li olan hastalar bu şekilde kaçırılmış olabilir. Çünkü BV'li kadınların yarısından fazlası asemptomatiktir[1]. Ayrıca, Koumans ve ark.'nın[25] yaptığı çalışmada, BV'li hastaların %84'ünde BV semptomları gözlenmemiştir. İkinci bir kısıtlılık olarak, evrenimiz, literatürde çalışmamıza benzer olan diğer yurt dışı çalışmalara göre daha dardır (n=106). BV için risk faktörü olan sigara kullanımı[26,27], beslenme alışkanlıkları[28] ve kronik stres[29] gibi değişkenler çalışmamızda değerlendirilmemiş olması da çalışmamızın gücünü azaltmıştır. Çalışmamızda, bakteriyel vajinoz ile diğer etkenlere bağlı vajinitin ayrımı kadın hastalıkları ve doğum uzmanı tarafından anamnez, direk bakı ve fizik muayene bulguları ile yapılmıştır. Bu ayrım yapılırken, öncelikle perine, vulva ve vajina inspeksiyonu (vajinitlerde eritem, kaşıntı, abrazyon, renk değişimi, vulvar lezyon, spekulum muayenesinde pürülan-mukopürülan akıntı, mukozada inflamasyon mevcuttur, vajinozlarda gri-beyaz yoğun kıvamlı akıntı izlenir ve mukozada inflamasyon nadirdir), hasta anamnezi (vajinozlar özellikle ovulatuar döneme yakın olurken, vajinitler siklustan bağımsızdır) göz önüne alınmıştır[30-32]. Çalışmaya bakteriyel vajinoz ön tanısı alan hastalar dâhil edilmiştir. Bu hastalarda, akıntı etkeni olan ve vajinit yapabilen diğer patojenlerin ek yöntemler ile araştırılmamış olması bir diğer kısıtlılık olarak değerlendirilebilir. Antropometrik ölçümlerin diyetisyen tarafından, mikrobiyolojik değerlendirmenin tıbbi mikrobiyoloji uzmanı tarafından ve klinik değerlendirmenin kadın hastalıkları ve doğum uzmanı tarafından yapılmış olması ise çalışmamızın standardizasyonunu sağlamıştır.

Sonuç olarak, çalışmamızda beden kütle indeksi (obezite düzeyi) ile bakteriyel vajinoz arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır. Literatür araştırıldığında, ülkemizde bu konuda yapılmış bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmanın bu konudaki açığı kapatmaya yardımcı olduğunu düşünmekteyiz.

Bakteriyel vajinoz ile obezite ilişkisini daha kesin tanımlayabilmek için bu alanda daha geniş ve ayrıntılı araştırmalara gereksinim bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Akata F. Bakteriyel vajinoz. Flora. 1997;3(2):216-22.
2. Morris M, Nicoll A, Simms I, Wilson J, Catchpole M. Bacterial vaginosis: a public health review. BJOG. 2001;108(5):439-50. https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2001.00124.x
3. Lokken EM, Richardson BA, Kinuthi J, et al. A prospective cohort study of the association between body mass index and incident bacterial vaginosis. Sex Transm Dis. 2019;46(1):31-6. https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000905
4. Günay T, Aksaoğlu G. Bakteriyel vaginozis. STED. 2002;11(9):369-70
5. Eriksson K. Bacterial vaginosis diagnosis, prevalence, and treatment. [PhD thesis]. Linköping: Linköping University Medical Dissertations, 2011.
6. Gardner HL, Dukes CD. Haemophilus vaginalis vaginitis. Am J Obstet Gynecol. 1955;69(5):962-76.
7. Sobel JD. Bacterial vaginosis-an ecologic mystrey. Ann Intern Med. 1989;111(7):551-3. https://doi.org/10.7326/0003-4819-111-7-551
8. Klinik örnekten sonuç raporuna uygulama rehberi: Genital sistem örnekleri. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği, Ankara; 2015. [https://www.klimud.org/public/uploads/files/genital-sistem-ornekleri.pdf] Erişim tarihi: 19/12/2019.
9. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. Am J Med. 1983;74(1):14-22. https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)91112-9
10. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol. 1991;29(2):297-301.
11. Brookheart RT, Lewis WG, Peipert JF, Lewis AL, Allsworth JE. Association between obesity and bacterial vaginosis. As assessed by Nugent score Am J Obstet Gynecol. 2019;220(5):476.e1-476.e11. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.01.229
12. Zarakolu P, Tuncer A, Yıldız KM, Akbayrak H. Bakteriyel vajinozisin laboratuvar tanısında gram boyama yönteminin geçerliliği. Mikrobiyol Bul. 1998;32(3): 195-9.
13. Kenyon C, Colebunders R, Crucitti T. The global epidemiology of bacterial vaginosis: a systematic review. Am J Obstet Gynecol. 2013;209(6):505-23. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.05.006
14. Baş M, Sağlam D. Yetişkinlerde ağırlık yönetimi. Alphan ET(Ed). Hastalıklarda Beslenme Tedavisi. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 2017:137-275.
15. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012;486(7402):207-14. https://doi.org/10.1038/nature11234
16. Durmaz B. Bağırsak mikrobiyotası ve obezite ile ilişkisi. Turk Hij Den Biyol Derg. 2019;76(3):353-60. https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2019.50375
17. World Health Organization. Body mass indeks-BMI. [http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi]. (Erişim tarihi: 19.12.2019)
18. Barışkan E, Ersoy G, Görpelioğlu S. Birinci basamak hekimler için obezite ile mücadele el kitabı. Anıl Matbaacılık, Ankara, 2013.
19. World Health Organization. Obesity. [https://www.who.int/topics/obesity/en/.] (Erişim tarihi: 19.12.2019)
20. Zhu L, Baker SS, Gill C, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. Hepatology. 2013;57(2):601-9. https://doi.org/10.1002/hep.26093
21. Oh HY, Seo S-S, Kong J-S, Lee J-K, Kim MK. Association between obesity and cervical microflora dominated by lactobacillus iners in Korean women. J Clin Microbiol. 2015;53(10):3304-9. https://doi.org/10.1128/JCM.01387-15
22. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. Nat Rev Cancer. 2004;4(8):579–91. https://doi.org/10.1038/nrc1408
23. Choi J, Joseph L, Pilote L. Obesity and C-reactive protein in various populations: a systematic review and meta-analysis. Obes Rev. 2013;14(3):232-44. https://doi.org/10.1111/obr.12003
24. Mastrobattista JM, Klebanoff MA, Carey JC, et al. The effect of body mass index on therapeutic response to bacterial vaginosis in pregnancy. Am J Perinatol. 2008;25(4):233-7. https://doi.org/10.1055/s-2008-1066875
25. Koumans EH, Sternberg M, Bruce C, et al. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001-2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health. Sex Transm Dis. 2007;34(11):864-9. https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e318074e565
26. Brotman RM, He X, Gajer P, et al. Association between cigarette smoking and the vaginal microbiota: a pilot study. BMC Infect Dis. 2014;14:471. https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-471

27. Smart S, Singal A, Mindel A. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. Sex Transm Infect. 2004;80(1):58-62. https://doi.org/10.1136/sti.2003.004978
28. Neggers YH, Nansel TR, Andrews WW, et al. Dietary intake of selected nutrients affects bacterial vaginosis in women. J Nutr. 2007;137(9):2128-33. https://doi.org/10.1093/jn/137.9.2128
29. Culhane JF, Rauh V, McCollum KF, Elo IT, Hogan V. Exposure to chronic stress and ethnic differences in rates of bacterial vaginosis among pregnant women. Am J Obstet Gynecol. 2002;187(5):1272-6. https://doi.org/10.1067/mob.2002.127311
30. Türkmen Albayrak H, Albayrak AM, Bakır A, Şahin İ. Vulvovajinal enfeksiyon tanı yöntemlerinin karşılaştırılması ve predispozan faktörlerin etkilerinin incelenmesi. DÜ Sağlık Bil Enst Derg. 2020; 10(1):52-7. https://doi.org/10.33631/duzcesbed.558836
31. Edwards L. The diagnosis and treatment of infectious vaginitis. Dermatol Ther. 2004;17(1):102-10. https://doi.org/10.1111/j.1396-0296.2004.04010.x
32. Morison L, Ekpo G, West B, et al. Bacterial vaginosis in relation to menstrual cycle, menstrual protection method, and sexual intercourse in rural Gambian women. Sex Transm Infect. 2005;81(3):242-7. https://doi.org/10.1136/sti.2004.011684

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(4):225-33
doi:10.5222/TMCD.2020.225

Araştırma / *Research Article*

Kolistin Direnci ile İlişkili Literatürün Bibliyometrik Analizi: 1947-2019

Bibliometric Analysis of Literature on Colistin Resistance: 1947-2019

Serhat Sirekbasan*, Serap Süzük Yıldız**

*Çankırı Karatekin Üniversitesi, Eldivan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Çankırı, Türkiye
**Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Günümüzde antibiyotik direnci küresel bir halk sağlığı sorunu olarak tanımlanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü hem kritik önemi olan antibiyotikleri hem de dirençli bakterileri gruplandırarak kullanıcılarda ve politika geliştiricilerde farkındalık oluşturmayı hedeflemiştir. Bu çalışmada, kolistin direnci ile ilgili literatürün bibliyometrik bir değerlendirmesini yapmak amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Scopus veritabanında kolistin direncine ait spesifik anahtar kelimeler kullanılarak ilgili makaleler 1947-2019 dönemi için analiz edilmiştir. Elde edilen verilerin nicel ve nitel analizi uygun bibliyometrik göstergeler kullanılarak yayın sayısı, yayın dili, literatüre en fazla katkı sunan ülkeler, en etkili kurumlar, en sık atıfta bulunulan yayınlar, aktif yazarlar ve aktif dergiler bakımından incelenerek sunulmuştur.*
Bulgular: *Toplam 1.454 makale değerlendirmeye alınmıştır. Makalelerin sayısı 2009'dan 2015'e bir artış göstermekle beraber 2015'ten sonraki artışların oldukça çarpıcı olduğu belirlenmiştir. Yayınlanan makalelerde en sık kullanılan dilin İngilizce (%95.75), ikinci sık kullanılan dilin ise Çince (%1.16) olduğu saptanmıştır. Literatüre en fazla katkı sağlayan ülke Amerika Birleşik Devletleri (%21.46) olup ikinci sırada Çin (%16.02) yer almıştır. Kolistin direnci ile ilgili makalelerin yaklaşık %13'ü Antimicrobial Agents and Chemotherapy dergisinde yayınlanmıştır.*
Sonuç: *Karbapenemazların gittikçe yaygınlaşmasına bağlı olarak kullanıma giren kolistine karşı gelişen direncin konu edildiği yayın sayısında son beş yılda çarpıcı bir artış olmuştur. Bu bibliyometrik çalışmada ortaya konan sonuçların, kolistin ile ilgili yapılacak çalışmaların planlanmasına ve politikaların geliştirilmesine ışık tutması beklenmektedir.*

Anahtar kelimeler: *Antibiyotik direnci, bibliyometrik analiz, kolistin*

ABSTRACT

Objective: *Nowadays, antibiotic resistance is defined as a global public health problem. The World Health Organization aims to raise awareness among users and policy makers by grouping both critically importantl antibiotics and resistant bacteria. In this study, it is aimed to make the bibliometric evaluation of of the literature on the resistance of colistin.*
Method: *Specific keywords associated with colistin resistance were used in Scopus database covering the period between 1947, and 2019. Quantitative and qualitative analysis of retrieved data were presented using appropriate bibliometric indicators, the number, and language of the publications, the countries that contributed mostly to the literature, the most influential institutions, the most frequently cited publications, active writers and active journals.*
Results: *A total of 1454 articles were evaluated. Although the number of articles showed an increase from 2009 to 2015, it was determined that the increases after 2015 were quite dramatical. The most common language in the published articles was English (95.75%) followed by Chinese (1.16%). The United States of America (USA) contributed mostly with 21.46% of the articles followed by China with 16.02% of articles. Approximately 13% of the retrieved articles on colistin resistance were published in the journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*
Conclusion: *There has been a dramatical increase in the number of publications on the resistance to colistin, which came into use due to the widespread use of carbapenemases. This bibliometric study is expected to help health policy makers and researcher on the planning and development of policies regarding colistin.*

Keywords: *Antibiotics resistance, bibliometric analysis, colistin*

Alındığı tarih / Received:
24.04.2020 / 24.April.2020
Kabul tarihi / Accepted:
23.06.2020 / 23.June.2020
Yayın tarihi / Publication date:
31.12.2020 / 31.December.2020

ORCİD Kayıtları

S. Sirekbasan 0000-0001-7967-3539
S. Süzük Yıldız 0000-0002-4820-6986

✉ serhatsirekbasan@gmail.com

Atıf: Sirekbasan S, Süzük Yıldız S. Kolistin direnci ile ilişkili literatürün bibliyometrik analizi: 1947-2019. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):225-33.

© 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

Tıp tarihinin en önemli keşiflerinden biri olan antibiyotikler, son 80 yılda insanların enfeksiyonlardan kurtulmasını sağlayarak devrim yaratmıştır[1,2]. Ne var ki klinik ve klinik dışı antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı sonrası "multidrug-resistant" (MDR), "extremely drug-resistant" (XDR) ve hatta "pandrug-resistant" (PDR) bakterilerin ortaya çıkmasıyla bu devrim yerle bir olmuştur[3,4].

Artan antibiyotik direncine dikkat çekmek için Dünya Sağlık Örgütü, ilk olarak 2005 yılında insan sağlığı için kritik öneme sahip olan antimikrobiyal ajanların listesi (WHO list of critically important antimicrobials, WHO CIA list) hakkında bir rapor yayınlamıştır. Bu rapor tıp dışı antibiyotik kullanımından kaynaklanacak direncin, insanların tedavisini tehdit edebilecek potansiyele sahip antibakteriyel ajanlar hakkında yazılmıştır. Bu liste, insan sağlığında kullanılan tüm antibiyotikleri önemine göre "Critically important", "Highly important", ya da "Important" olmak üzere üç gruba ayırmaktadır. Polimiksinler ilk zamanlar listede "highly important" grubunda yer alırken, son birkaç yılda hem toplumda hem de hastanelerde çok dirençli gram negatif enfeksiyonlarında yaşanan çarpıcı artışlar sonrası raporun sonraki versiyonlarında "Critically important" olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Bu durum kolistinin çok ilaca dirençli Gram negatif bakterilerin tedavisinde yaygın olarak kullanıldığının göstergesidir. Aynı zamanda da bu yeni sınıflandırma bize tıp dışı kullanımının da yaygınlığı hakkında bilgi vermektedir[5].

Karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi çoklu ilaç direnci bulunan Gram negatif mikroorganizmalar tüm dünyada gerçek ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bu bakteriler ile oluşan enfeksiyonların sıklığındaki artış ve tedavilerinde yaşanan sorunlar 1960'ların antibiyotiği olan ve yan etkilerinden dolayı kullanımından uzaklaşılan kolistinin yeniden gündeme gelmesini sağlamıştır. Ancak, yakın zamanda izole edilen plazmit aracılı kolistin direncine yol açan *mcr* (mobile colistin resistance) genlerinin yayılımı kontrol altına alınamazsa "kolistin kâbusunun" gelmesi çok yakındır. Bu kâbusun içinde hekimlerin çaresiz kalacağı olgu sayısı da gün gün artış gösterecektir[6,7].

Kolistin direnci ile ilgili araştırmaların küresel sağlık açısından ne kadar önemli olduğu göz önüne alındığında, bu dirence ilişkin dünya çapında yayınlanan araştırma çıktılarını analiz etmek ve kapsamlı bir bilgi oluşturmak önemlidir. Bu bağlamda, kolistin direnci ile ilgili araştırmaların durumunu incelemek ve bu çalışmaların özelliklerini tanımlamak için temel bibliyometrik verilere gereksinim vardır. Bu veriler mevcut bilimsel değişimleri de ortaya koyacağından yeni çalışmaların planlanmasına ve kolistin direncine yönelik alınacak kontrol programlarının hazırlanmasına da katkı sunması beklenir. Bu çalışmada, kolistin direncine ilişkin bibliyometrik göstergeleri ortaya koymak ve bu alandaki en son bilimsel katkıları analiz etmek amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Veri kaynağı ve araştırma stratejisi: Bu bibliyometrik çalışmada, Scopus veritabanından kolistin direnci ile ilgili indekslenen makaleler seçilmiştir çünkü akademik çalışmalar açısından bu veri tabanının PubMed, Web of Science ve Google Scholar ile karşılaştırıldığında daha kapsamlı olduğu kabul edilmektedir[8,9]. Makale başlığı, özet ve anahtar kelimelerde "polymyxin" ve "colistin" sözcükleri taranmıştır. Çalışmada, hedeflenen makalelere ulaşmak için başlık aramada "resist*" anahtar sözcüğü kullanılmıştır. Araştırmanın zaman aralığı kolistin direnci ile ilgili en eski makalenin yayınlandığı 1947 yılı ile 2019 yılı olarak belirlenmiştir. Ayrıca analizin yalnızca hakemli dergilerden gelen literatürle sınırlandırılması için belge türü olarak makale seçilmiştir. Scopus'ta yapılan son arama sorgusu görüntüsü şu şekildedir:

[TITLE-ABS-KEY ("polymyxin resist*" OR "colistin resist*") AND DOCTYPE (ar) AND PUBYEAR < 2020]

Bibliyometrik analiz: Bibliyometrik göstergeler

olarak; yıllara göre yayın çıktı sayısı, yayın dili, ülke, enstitü, yazar, dergi ve impact faktörleri (IF) sunulmuştur. Ayrıca literatüre en fazla bilimsel katkı sağlayan 15 ülke, 10 kurum ve en sık atıfta bulunulan 10 yayın da tartışılmıştır. Yayın kalitesinin değerlendirilmesinde ise makale başına ortalama atıf sayısı, toplam atıf sayısı, makaleleri yayınlayan dergilerin IF ve h-indeksi kullanılmıştır.

Dergiler için; IF Thompson Reuters[10] tarafından yayınlanan Journal Citation Report 2019'dan, Scientific Journal Rankings (SJR) ise Scimago Journal Rank'dan[11] elde edilmiştir.

İstatistiksel analiz: Toplanan verilerin analizinde frekans, yüzde ve aritmetik ortalama değerleri hesaplanmıştır. İstatistiki işlemler için Microsoft Excel (Ver 2013) ve IBM SPSS (Statistics for Windows, Version 25, IBM Corp. Armonk, NY, ABD, Rel. 2017) aracı kullanılmıştır.

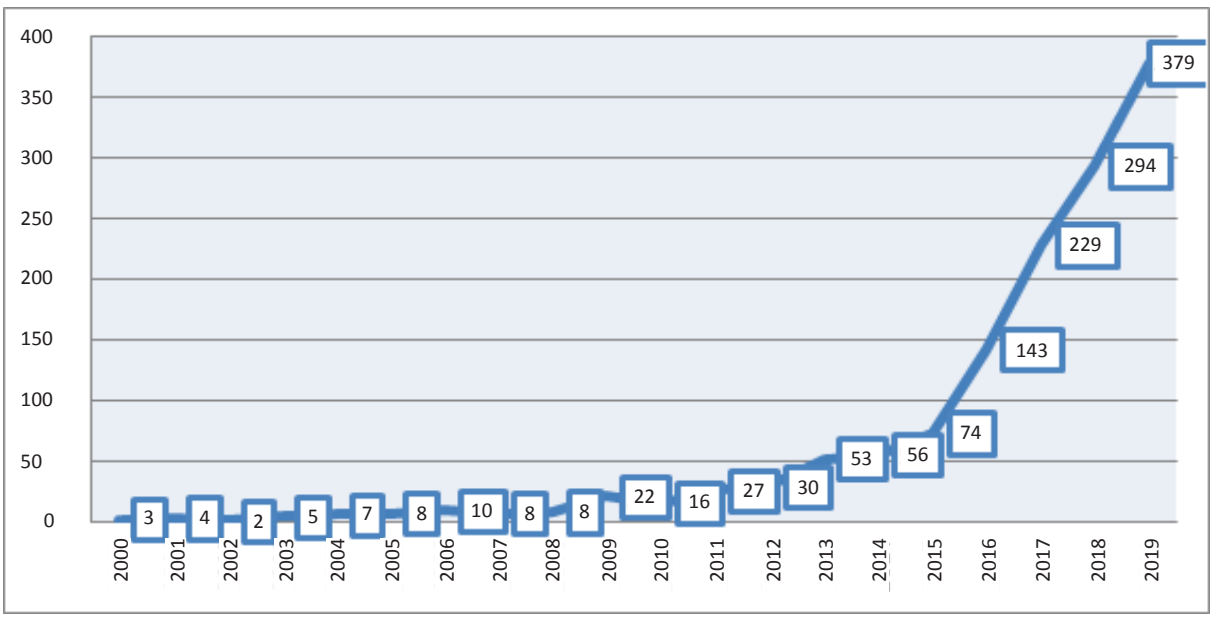
BULGULAR

Kolistin Direnç Çalışmalarının Niceliksel Değerlendirilmesi ve Yayın Dili: Bu çalışmada, yöntemlerde sunulan arama stratejisine dayanarak Scopus veri tabanında 1947-2019 yılları arasında 1.454 makale bulunmuştur. Kolistin direnci ile ilgili ilk makale 1947'de yayınlanmış ve 2000'lerin sonlarına kadar yılda on makaleyi geçmemiştir. Makalelerin sayısında 2009'dan 2015'e kadar belirgin olmayan bir artış gözlenirken, 2015'ten sonra çarpıcı bir artış izlenmiştir (Şekil 1). Buna bağlı olarak zaman içinde makale başına atıf sayısında da doğrusal bir artış olmuştur.

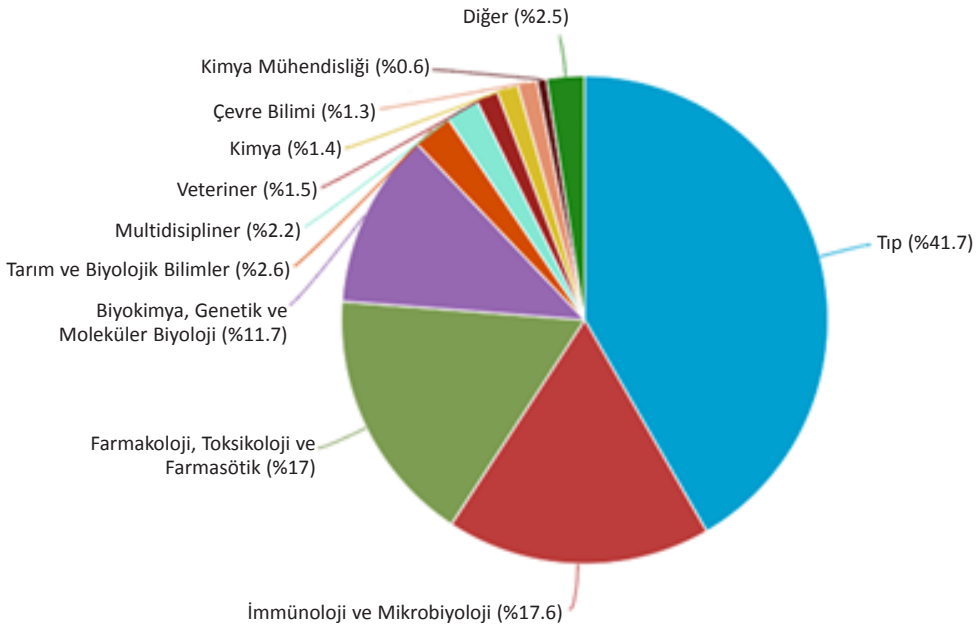
Elde edilen makaleler toplam 17 farklı dilde yazılmıştır. En popüler dil beklendiği gibi İngilizce (n:1398) olup, toplam yayınların %95.75'ini oluşturduğu saptanmıştır. Bunu sırasıyla Çince (n=17; %1.16), Türkçe (n=14; %0.96), İspanyolca (n=8; %0.55) ve diğerleri (n=23; %1.58) izlemiştir.

Seçilen araştırma döneminde elde edilen makalelerin en büyük paya sahip olduğu alan "tıp"dır. Bunu sırasıyla "immünoloji ve mikrobiyoloji", "farmakoloji, toksikoloji ve eczacılık", "biyokimya, genetik ve moleküler biyoloji", "tarım ve biyolojik bilimler" ve "multidisipliner" izlemektedir (Şekil 2).

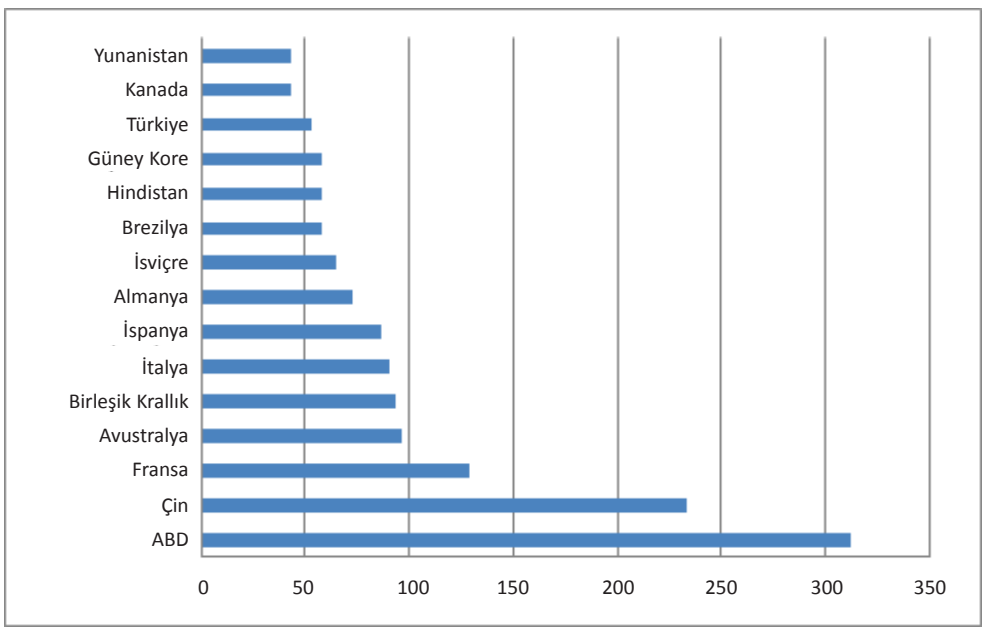
Kolistin Direnci Çalışmalarının Coğrafi Dağılımı: Dünya genelinde literatüre toplam 88 ülkeden makale sunulmuştur. Yayın sayısı içinde %21.46'lık oranla ilk sırada Amerika Birleşik Devletleri (ABD) yer



Şekil 1. Kolistin direnci ile ilgili makalelerin yıllara göre dağılımı.



Şekil 2. Makalelerin konu alanlarına göre gruplandırılması.



Şekil 3. Kolistin direnci yayınlarında önde gelen ilk 15 ülkenin dağılımı.

alırken, onu Çin, Fransa, Avustralya ve Birleşik Krallık (İngiltere) izlemiştir. Yayın sayısına göre önde gelen ilk 15 ülke Şekil 3'te gösterilmiştir. Ülke bağlantısı olarak tanımlanmamış toplam 6 makale belirlenmiştir[22-27].

En Çok Araştırma Yapan Kurumlar/Kuruluşlar ve Tercih Edilen Dergiler: Literatüre katkı sunan ilk on kurum/kuruluşlar Tablo 1'de gösterilmiştir. En fazla bilimsel veriye katkı sunan kurum 68 makale ile Avustralya'daki Monash Üniversitesi olup, onu İsviçre'deki Fribourg Üniversitesi (44 makale) izlemiştir. Listede yer alan makaleler kurumlarına göre değerlendirildiğinde, ikisinin Avustralya, ikisinin Çin, ikisinin Fransa, ikisinin İsviçre, kalan her birinin ise Brezilya ve Güney Kore olduğu saptanmıştır.

Tablo 1. Kolistin direnci ile ilgili en fazla yayın yapan on kurum/kuruluş/enstitünün dağılımı.

SRS*	Kurum/Kuruluş/Enstitü	Ülke	Sayı	%
1	Monash Üniversitesi	Avustralya	68	4.68
2	Fribourg Üniversitesi	İsviçre	44	3.03
3	Zhejiang Üniversitesi	Çin	35	2.41
4	Çin Tarım Üniversitesi	Çin	33	2.27
5	Aix Marseille Üniversitesi	Fransa	32	2.2
6	Sao Paulo Üniversitesi	Brezilya	31	2.13
7	Lausanne Üniversitesi	İsviçre	29	1.99
8	Sungkyunkwan Üniversitesi	Güney Kore	29	1.99
9	Melbourne Üniversitesi	Avustralya	27	1.86
10	Inserm**	Fransa	25	1.72

** = Standart rekabet sıralaması, ** = Inserm Institut National De La Santé Et De La Recherche Médicale*

Tablo 2. Kolistin direnci ile ilgili ilk on derginin dağılımı (1947-2019).

SRS*	Dergi	Makale sayısı (%)	Toplam alıntı sayısı (S)	Makale başına alıntı sayısı (S)	IF** (S)	SJR*** (S)
1	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	184	6.832 (1)	37.13 (1)	4.715 (3)	2.1 (3)
2	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	95	3.038 (2)	31.98 (2)	5.113 (1)	2.14 (2)
3	International Journal of Antimicrobial Agents	71	1.117 (3)	15.73 (4)	4.615 (4)	1.53 (5)
4	Frontiers In Microbiology	56	383 (7)	6.84 (8)	4.259 (5)	1.63 (4)
5	Microbial Drug Resistance	36	246 (8)	6.83 (9)	2.397 (8)	0.95 (9)
6	Diagnostic Microbiology And Infectious Disease	31	434 (5)	14 (5)	2.314 (9)	1.13 (8)
7	Infection And Drug Resistance	31	63 (10)	2.03 (10)	3.000 (7)	1.35 (7)
8	Scientific Reports	28	384 (6)	13.71 (6)	4.011 (6)	1.41 (6)
9	Journal of Clinical Microbiology	27	797 (4)	29.52 (3)	4.959 (2)	2.31 (1)
10	Journal of Medical Microbiology	24	185 (9)	7.71 (7)	1.926 (10)	0.87 (10)

*S = Sıralama, * = standart rekabet sıralaması, ** = impact factor, *** = scientific journal rank*

Tablo 3. Kolistin direnci ile ilgili ilk on makalenin dağılımı (1947-2019).

SRS*	Yazarlar (kaynak)	Başlık	Yıl	Dergi adı	Alıntı sayısı	IF*
1	Liu ve ark.[12]	Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study	2016	The Lancet Infectious Diseases	1.703	27.516
2	Gunn ve ark.[13]	PmrA-PmrB-regulated genes necessary for 4-aminoarabinose lipid A modification and polymyxin resistance	1998	Molecular Microbiology	439	3.649
3	Li ve ark.[14]	Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*	2006	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	363	4.715
4	Moffatt ve ark.[15]	Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production	2010	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	341	4.715
5	Gunn ve ark.[16]	PhoP-PhoQ activates transcription of pmrAB, encoding a two-component regulatory system involved in *Salmonella* Typhimurium antimicrobial peptide resistance	1996	Journal of Bacteriology	305	3.234
6	Adams ve ark.[17]	Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system	2009	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	251	4.715
7	Tumbarello ve ark.[18]	Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: Differences in therapy and mortality in a multicentre study	2015	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	245	5.113
8	Moskowitz ve ark.[19]	PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to Lipid A	2004	Journal of Bacteriology	234	3.234
9	Yin ve ark.[20]	Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*	2017	mBio	220	6.747
10	Zhang ve ark.[21]	Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes	2014	Stem Cells and Development	220	3.147

** = standart rekabet sıralaması, ** = impact factor*

Tablo 4. Kolistin direnci üzerine yayın yapan ilk on yazarın dağılımı (1947-2019)

SRS*	Yazar	Yayınlanmış makale sayısı	Toplam alıntı (S)	h-index** (S)	Ülke
1	Li J.	61	2.499 (2)	24 (1)	Avustralya
2	Nordmann P.	44	1.133 (6)	19 (4)	İsviçre
3	Poirel L.	43	1.166 (5)	20 (3)	İsviçre
4	Velkov T.	36	626 (7)	13 (7)	Avustralya
5	Rolain JM.	34	537 (9)	12 (8)	Fransa
6	Nation RL.	33	2.233 (4)	23 (2)	Avustralya
7	Ko KS.	30	565 (8)	15 (5)	Güney Kore
8	Wang Y.	26	2.389 (3)	12 (9)	Çin
9	Doi Y.	24	2.520 (1)	15 (6)	ABD
10	Feng Y.	22	407 (10)	12 (10)	Çin

*S = Sıralama, * = standart rekabet sıralaması, ** = Hirsh index*

Kolistin direnci ile ilgili makalelerin yayınlanması için tercih edilen ilk on dergi Tablo 2'de sunulmuştur. Listede yer alan dergilerin IF değerleri 1.926 ile 5.113 arasındadır. Kolistin direnci ile ilgili toplam 583 (%40.1) makale Tablo 2'de listelenen ilk on dergide yayınlanmıştır. Elde edilen makalelerin yaklaşık %13'ü (n=184) "Antimicrobial Agents and Chemotherapy" dergisinde (IF = 4.715) yayınlanmıştır.

En Çok Atıfta Bulunulan Makaleler ve Yazarlar: En çok atıfta bulunulan ilk on makale ise Tablo 3'de verilmiştir. The Lancet Infectious Diseases dergisinde yayınlanan "Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study" başlıklı makale en fazla atıf alan çalışmadır[12]. En çok atıfta bulunulan 10 makaleden üçü Antimicrobial Agents and Chemotherapy'de[14,15,17], ikisi ise Journal of Bacteriology'de[16,19] yayınlanmıştır.

Tablo 4'de kolistin direnci hakkında yayın yapan ilk on yazar listelenmiştir. Avustralya'dan Li J., 61 makale ve h-indeksi 24 olan yayın sayısı ilk sırada yer almıştır. Nordmann P. ise 44 makale ve h-indeksi 19 olan yayın sayısı ile ikinci, Poirel L. 43 makale ve h-indeksi 20 olan yayınların sayısı ile üçüncü sırada yer almıştır. Listede yer alan yazarlar ülkelerine göre değerlendirildiğinde, üçünün Avustralya, ikisinin İsviçre, ikisinin Çin, kalan her birinin ise Fransa, Güney Kore ve ABD olduğu saptanmıştır. Nordmann P. ve Poirel L. aynı enstitüye bağlı olarak yayın yapmışlardır. Li J. ve Nation RL. için de benzer bir araştırma iş birliği mevcuttur (Tablo 4).

Türkiye Kaynaklı Makalelerin Analizi: Araştırma süresi kapsamında Türkiye kaynaklı toplam 53 makale onaylanmış olup, en yüksek sayı 14 ile 2019'da elde edilmiştir. Bunun yanı sıra Türkiye orijinli yayınlanan çalışmaların 39'u İngilizce, 13'ü Türkçe ve biri ise hem İngilizce hem de Türkçe olmak üzere toplam iki farklı dilde yazılmıştır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, milyonlarca insanın yaşamını kurtarmak için gösterilen küresel çabaları tehdit eden kolistin direnci ile ilgili makalelerin bibliyometrik bir özetinin sunulması amaçlanmıştır. Kolistin direnci ile ilgili araştırmaların küresel sağlık açısından ne kadar önemli olduğu göz önüne alındığında, bu alanda yapılmış olan araştırmaların durumu hakkında kapsamlı bir bilgi sunulması ve mevcut bilimsel değişimlerin ortaya konması hem sağlık çalışanlarına hem de politika üreticilerine katkı sağlayacaktır.

Çalışmamız, kolistin direnci ile ilgili makalelerin dünya çapında özellikle son yıllarda olmak üzere sürekli bir artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu sonuç, aslında kolistin direncinin küresel bir sağlık sorunu olduğunun da göstergesidir. Bu durumu ortaya koyan bir diğer önemli veri ise makale başına yapılan atıf sayısının zamana bağlı doğrusal olarak artışıdır. Makalelerin aldığı yüksek atıf sayısı ve h-indeksi de kolistinin son yıllarda araştırmacılar tarafından tercih edilen konu olduğunu göstermektedir.

Jim O'Neil'in raporunda[28], antibiyotik direncinde bugün gördüğümüz oranda artış olması durumunda 2050 yılında antibiyotik direncine bağlı yaklaşık 10 milyon insanın yaşamını kaybedebileceği öngörülmektedir. Buna ek olarak enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisinde etkili antibiyotiklerin olmaması, temel tıbbi uygulamaları da yüksek riskli hâle getirebilecektir. Bazı enfeksiyonlardan etken olarak izole edilen Gram negatif bakteriler neredeyse bilinen tüm antibiyotiklere dirençlidirler ve bu durum antibiyotiklerin işe yaramayacağı bir döneme girmek üzere olduğumuzu ortaya koymaktadır[29]. Bu nedenle eskiden yan etkilerinden dolayı kullanımından kolistin gibi kaçındığımız antibiyotikler tekrar tedavi seçenekleri olarak karşımıza çıkmaktadır[30]. Kolistin, karbapenem dirençli bakterilere karşı dünya genelinde yeniden kullanıma girmesinden ve yaygın bir şekilde tıp dışı kullanımının olmasından dolayı bu araştırmanın konusu olmuştur.

Beklenildiği gibi çalışmaların çok büyük bir kısmı artık bilim dili olarak kabul edilen İngilizcedir (%95.75). Çalışmaların yayınlandığı en yaygın ikinci dil ise Çincedir (%1.16). Bu durumla ilişkili olarak *mcr*'nin ilk kez Çin'de belirlenmesinin etkisi olabileceğini düşünüyoruz. Kolistin direnci ile ilgili üçüncü sırada yer alan dil ise Türkçedir (%0.96). Türkiye'de yüksek karbapenemaz direncine bağlı olarak kolistinin tedavide sıkça kullanılmasının, araştırmacılara bu konuda makale üretmek için itici bir güç olabileceği kanaatindeyiz.

Literatürde yer alan kolistin direnci ile ilgili makalelerin %21.46'sına katkı sağlayan ABD, 88 ülke arasında en fazla makale üreten ülke olmuştur. Bunu sırasıyla Çin, Fransa, Avustralya ve İngiltere izlemiştir. Bu ülkeler kendi içinde değerlendirildiğinde, aslında ekonomik olarak da güçlü ülkelerdir ve şüphesiz ki küresel ölçekte araştırma yapmak aynı zamanda ekonomik güç ile de ilişkilidir. Sonuç olarak nitelikli makale üretmenin bir ülkenin ekonomik gücü ile de ilişkili olduğu ileri sürülmektedir[31-33].

Yapılan değerlendirmede beklenildiği gibi kolistin direnci ile ilgili makalelerin yayınlandığı dergilerin sıklıkla mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıkları ile ilişkili dergiler olduğu görülmüştür. Yayınlanan makalelerin %40.1'i listede yer alan ilk on dergide yayınlanmıştır. Bu dergilerin IF değeri 4.715-1.926 arasında yer almaktadır. Makalelerin %13'ünün yayınlandığı "Antimicrobial Agents and Chemotherapy" dergisinin IF değeri ise 4.715'tir. İncelemeye alınan makalelerin mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıklarının dışında klinik, farmakolojik ve halk sağlığı alanlarında da yer alması konunun aslında ciddi bir halk sağlığı sorunu olduğunu ve editörlerinde bu konuda farkındalıklarını ortaya koymaktadır. Yapılan değerlendirmede makalelerin çoğunun ABD ve İngiltere kaynaklı olması da en yaygın dilin İngilizce olduğunu gösteren bir diğer önemli bir faktördür. İkinci sırada karşımıza çıkan Çince makaleler ise Çinli araştırmacıların konuya ciddi bir ilgilerinin olduğunu göstermektedir. Çin dilinde yazılan makalelerin ilk sırada yer alamaması ise Çin dergilerinin büyük bir kısmının hala Scopus'ta indekslenmemesinden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle bilimsel arenada bazı araştırmacılar Scopus dışında veri kaynaklarının kullanımını önermekle birlikte daha kapsamlı ve güvenilir veri sağlanması açısından bibliyometrik çalışmaları da önermektedir[8,9].

İlk on sırada yer alan makaleler arasında direncin moleküler mekanizmasını anlamaya yönelik çalışmalar olduğu görülmektedir. İlk çalışma, Liu ve ark.'nın[12] 2016 tarihli MCR-1'in keşfi ile ilgili makalesi olup, IF değeri 27.516 olan "The Lancet Infectious Diseases" dergisinde yayınlanmıştır ve analiz sürecinde 1703 atıf aldığı belirlenmiştir. İkincisi ise, 1998 yılında Gunn ve ark.'nın[13] kromozomal dirence yönelik yapılan çalışmasıdır. Üçüncü sırada en sık atıf alan makale ise kolistinin heterodirencine yöneliktir[14]. İlk on sırada yer alan çalışmalar da kolistin direncinin mekanizmasını ortaya koymaya yönelik çalışmalardır. Tüm genom analizlerinin artması ile direncin mekanizmasını anlama yönünde bilim insanlarının deneyimlerinin artacağı beklenmektedir.

Kolistin direnci konusunda yayın yapan ilk on kurum/kuruluş listesinde Avustralya'dan iki, Çin'den iki,

Fransa'dan iki, İsviçre'den iki, Brezilya ve Güney Kore'den ise birer kurum yer almaktadır. Bu ülkelerde yer alan araştırmacılar ve akademisyenlerin bu konuyu ciddi bir sorun olarak algıladıklarını göstermektedir. Kolistin direncine ilişkin farklı ülkelerin de bu alanda etkili bilimsel programlar yürüttüğü uluslararası iş birliğine gereksinim vardır.

Bu çalışma, küresel düzeyde kolistin direnci alanındaki makalelerin 2019 yılını kapsayan ilk bibliyometrik çalışmadır. Yapılan analize göre farklı ülkelerden yapılan bu çalışmalar, kolistin direncinin artık küresel bir sağlık tehdidi olarak ele alınması gerektiğini göstermektedir. Karbapenem direncinin artmasıyla birlikte karşılaşılan kısıtlı tedavi seçenekleri ve plazmid aracılı *mcr* direncinin de ortaya konması sonrasında kolistin direnci ile ilgili yapılan çalışmalarda 2015 yılından sonra büyük bir ivme görülmüştür. Ayrıca incelenen makalelerin yüksek impact değerine sahip dergilerde yayınlanması mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıkları alanında bu konunun ilk sıralarda yer aldığını göstermektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı, kolistin direncine yönelik koruma ve önleme programlarının küresel boyutta sağlaması yönünde eylem planlarına gereksinim vardır. Sonuç olarak, çalışmada sunulan veriler kolistin direnci alanında gerçekleştirilen yayınların artışı hakkında net bir tablo sunmaktadır ve bu çalışma konuya ilgi duyan araştırmacılara da kendi çalışmalarının bilimsel alandaki yeri hakkında bilgi verici olabilir.

KAYNAKLAR

1. Gómez-Ríos D, Ramírez-Malule H. Bibliometric analysis of recent research on multidrug and antibiotics resistance (2017-2018). J Appl Pharm Sci. 2019;9(05): 112-6. https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90515
2. Smalla K, Cook K, Djordjevic SP, Klümper U, Gillings M. Environmental dimensions of antibiotic resistance: assessment of basic science gaps. FEMS Microbiol Ecol. 2018;94(12):10.1093/femsec/fiy195. https://doi.org/10.1093/femsec/fiy195
3. Hernando-Amado S, Coque TM, Baquero F, Martínez JL. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. Nat Microbiol. 2019;4(9):1432-42. https://doi.org/10.1038/s41564-019-0503-9
4. Banin E, Hughes D, Kuipers OP. Editorial: Bacterial pathogens, antibiotics and antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev. 2017;41(3):450-2. https://doi.org/10.1093/femsre/fux016
5. WHO. Critically important antimicrobials for human medicine, 6th revision. World Health Organization, Geneva, 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/312266/9789241515528-eng.pdf?ua=1]. (Erişim tarihi: 02 Aralık 2019).
6. Karaiskos I, Souli M, Galani I, Giamarellou H. Colistin: still a lifesaver for the 21st century? Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2017;13(1):59-71. https://doi.org/10.1080/17425255.2017.1230200
7. Paterson DL, Harris PN. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016;16(2):132-3. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00463-6
8. Archambault É, Campbell D, Gingras Y, Larivière V. Comparing bibliometric statistics obtained from the Web of Science and Scopus. J Am Soc Inf Sci Technol. 2009;60:1320-6. https://doi.org/10.1002/asi.21062
9. Kulkarni AV, Aziz B, Shams I, Busse JW. Comparisons of citations in Web of Science, Scopus, and Google Scholar for articles published in general medical journals. JAMA. 2009;302:1092-6. https://doi.org/10.1001/jama.2009.1307
10. JCR. Thomson Reuters. Journal Citation Reports. 2019. [https://jcr.incites.thomsonreuters.com/]. (Erişim tarihi: 11 Kasım 2019).
11. SCImago. Scimago Journal & Country Rank. 2019. http://www. [https://www.scimagojr.com/journalrank.php]. (Erişim tarihi: 11 Kasım 2019).
12. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016;16(2):161-8. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7
13. Gunn JS, Lim KB, Krueger J, et al. PmrA-PmrB-regulated genes necessary for 4-aminoarabinose lipid A modification and polymyxin resistance. Mol Microbiol. 1998;27(6):1171-82. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00757.x
14. Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(9):2946-50. https://doi.org/10.1128/AAC.00103-06
15. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by

complete loss of lipopolysaccharide production. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(12):4971-7. https://doi.org/10.1128/AAC.00834-10
16. Gunn JS, Miller SI. PhoP-PhoQ activates transcription of pmrAB, encoding a two-component regulatory system involved in *Salmonella* Typhimurium antimicrobial peptide resistance. J Bacteriol. 1996;178(23):6857-64. https://doi.org/10.1128/jb.178.23.6857-6864.1996
17. Adams MD, Nickel GC, Bajaksouzian S, et al. Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(9):3628-34. https://doi.org/10.1128/AAC.00284-09
18. Tumbarello M, Viale P, Bassetti M, De Rosa FG, Spanu T, Viscoli C. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study-authors' response. J Antimicrob Chemother. 2015;70(10):2922. https://doi.org/10.1093/jac/dkv200
19. Moskowitz SM, Ernst RK, Miller SI. PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. J Bacteriol. 2004;186(2):575-9. https://doi.org/10.1128/jb.186.2.575-579.2004
20. Yin W, Li H, Shen Y, et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr*-3 in *Escherichia coli*. mBio. 2017;8(3):e00543-17. https://doi.org/10.1128/mBio.00543-17
21. Zhang B, Yin Y, Lai RC, Tan SS, Choo AB, Lim SK. Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes. Stem Cells Dev. 2014;23(11):1233-44. https://doi.org/10.1089/scd.2013.0479
22. Messina AP, Brink AJ, Richards GA, Van Vuuren S. Opportunities to optimise colistin stewardship in hospitalised patients in South Africa: Results of a multisite utilisation audit. S Afr Med J. 2017;108(1):28-32. https://doi.org/10.7196/SAMJ.2017.v108i1.12561
23. Monitoring of colistin resistance in pigs in scanning surveillance submissions. Vet Rec. 2016;179(1):14. https://doi.org/10.1136/vr.i3521
24. Stoyanova GP, Strateva TV, Atanasova ST, Miteva DS, Papochieva VE, Perenovska PI. Pulmonary exacerbation due to colistin-resistant *Stenotrophomonas maltophilia* in a Bulgarian cystic fibrosis patient. Folia Med (Plovdiv). 2016;58(2):136-40. https://doi.org/10.1515/folmed-2016-0014
25. Marakusha BI. Isolation and characteristics of polymyxin-resistant mutants of *Shigella flexneri*. Antibiotiki. 1980;25(10):753-8.
26. Muyembe T, Vandepitte J, Desmyter J. Natural colistin resistance in *Edwardsiella tarda*. Antimicrob Agents Chemother. 1973;4(5):521-4. https://doi.org/10.1128/aac.4.5.521
27. Stansly PG, Ananendo NH. Resistance of polymyxin to some proteolytic enzymes. Arch Biochem. 1947;15(3):473.
28. O'Neill J. Review on Antimicrobial Resistance Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. London: Review on Antimicrobial Resistance; 2014. [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf] (Erişim tarihi: 13 Kasım 2019).
29. Carlet J, Jarlier V, Harbarth S, et al. Ready for a world without antibiotics? The pensieres antibiotic resistance call to action. Antimicrob Resist Infect Control. 2012;1(1):11. https://doi.org/10.1186/2047-2994-1-11
30. Lim LM, Ly N, Anderson D, et al. Resurgence of colistin: a review of resistance, toxicity, pharmacodynamics, and dosing. Pharmacotherapy. 2010;30(12):1279-91. https://doi.org/10.1592/phco.30.12.1279
31. Bornmann L, Wagner C, Leydesdorff L. BRICS countries and scientific excellence: A bibliometric analysis of most frequently cited papers. J Assoc Inf Sci Technol. 2015;66(7):1507-13. https://doi.org/10.1002/asi.23333
32. Liu X, Zhang L, Hong S. Global biodiversity research during 1900-2009: a bibliometric analysis. Biodivers Conserv. 2011;20:807-26. https://doi.org/10.1007/s10531-010-9981-z
33. Zyoud SH. Global toxocariasis research trends from 1932 to 2015: a bibliometric analysis. Health Res Policy Syst. 2017;15(1):14. https://doi.org/10.1186/s12961-017-017

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(4):234-43
doi:10.5222/TMCD.2020.234

Araştırma / *Research Article*

Köpeklerde Kanin Leishmaniasis Etkeni *Leishmania tropica*'da İlaç Dirençlerinin Araştırılması

Investigation of Drug Resistance in Leishmania tropica as Causative Agent of Canine Leishmaniasis

Nami Ege Perk, İbrahim Çavuş, Ahmet Özbilgin

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

ÖZ

Amaç: *Leishmaniasis dünyada 98 ülkede endemik olarak görülmekte ve 1 milyar insan için risk oluşturmaktadır. Zorunlu hücre içi paraziti Leishmania spp.'nin köpeklerde oluşturduğu enfeksiyona ise Kanin Leishmanisis (KanL) adı verilmektedir. Bu çalışmada, ülkemizdeki köpeklerden izole edilmiş Leishmania tropica suşlarının, leishmaniasis tedavisinde uygulanan amfoterisin B, meglumin antimonat ve sodyum stiboglukonata karşı direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Sıvı azottan çıkarılan Leishmania spp. promastigotları NNN besiyerine ekilmiş ve üremeye başlayan izolatların RPMI-1640 besiyerinde kültivasyonu yapılarak bol miktarda promastigot elde edilmiştir. Leishmania spp.'nin ITS-1 bölgesine özgü primer ve problarıyla gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle genotiplendirme gerçekleştirilen ve KanL etkeni L. tropica olduğu saptanan beş izolatta hemositometre ve XTT yöntemleriyle amfoterisin B, meglumin antimonata ve sodyum stiboglukonat direnç durumu incelenmiştir.*
Bulgular: *Hemositometre yöntemi beş izolat için ortalama IC_{50} değerleri meglumin antimonat için 10.60 mg/ml, sodyum stiboglukonat için 0.1471 mg/ml, amfoterisin B için 0.0328 µM/ml olarak saptanmıştır. XTT yöntemi ile saptanan ortalama IC_{50} değerleri ise meglumin antimonat için 10.48 mg/ml, sodyum stiboglukonat için 0.1470 mg/ml, amfoterisin B için 0.0326 µM/ml olarak bulunmuştur.*
Sonuç: *Verilerimiz doğrultusunda KanL olgularından izole edilen ve köpeklerde çok ender olarak etken olan L. tropica suşlarında amfoterisin B ve sodyum stiboglukonata direnç geliştiği saptanmazken, parazitin meglumin antimonata karşı ilaç direnci geliştirdiği görülmektedir. İleride bu durumun insan kutanöz leishmaniasis olgularında tedavi sırasında bir sorun olarak karşımıza çıkacağı düşünülmüştür.*

Anahtar kelimeler: *Kanin Leishmaniasis, Leishmania tropica, direnç, antiparaziter ilaç, Türkiye*

ABSTRACT

Objective: *Leishmaniasis is endemic in 98 countries, and poses risk to 1 billion people in the world. The infection caused by obligatory intracellular parasite Leishmania spp. in dogs is called Canine Leishmaniasis (CanL). In this study, it was aimed to detect the resistance status of Leishmania tropica strains isolated from dogs in our country against amphotericin B, meglumine antimoniate and sodium stibogluconate applied in leishmaniasis treatment.*
Method: *Leishmania spp. promastigotes, taken out from the liquid nitrogen were first cultured in NNN media, then the growing isolates were transferred to RPMI-1640 medium and abundant amount of promastigotes were obtained. Isolates were genotyped using real-time polymerase chain reaction method with primers and probes specific to the ITS-1 region of Leishmania spp. and in five isolates that were found to be L. tropica causing CanL, resistance status against amphotericin B, meglumine antimoniate and sodium stibogluconate was investigated by hemocytometer and XTT methods.*
Results: *The mean IC_{50} values were determined as 10.60 mg/ml for meglumine antimoniate, 0.1471 mg/ml for sodium stibogluconate, 0.0328 µM/ml for amphotericin B by hemocytometer method. Average IC_{50} values determined by XTT method were 10.48 mg/ml for meglumine antimoniate, 0.1470 mg/ml for sodium stibogluconate, 0.0326 µM/ml for amphotericin B.*
Conclusion: *According to our data, while L. tropica strains which were isolated from CanL cases which are very rarely found causative agents in dogs, were not found to be resistant to amphoreticin B and sodium stibogluconate, parasite developed drug resistance against meglumine antimoniate. In future, this situation is thought to be a problem during treatment in human cutaneous leishmaniasis cases.*

Keywords: *Canine Leishmaniasis, Leishmania tropica, resistance, antiparasitic drug, Turkey*

Alındığı tarih / Received:
23.03.2020 / 23.March.2020

Kabul tarihi / Accepted:
27.07.2020 / 27.July.2020

Yayın tarihi / Publication date:
31.12.2020 / 31.December.2020

ORCİD Kayıtları

N. E. Perk 0000-0002-6411-4096
İ. Çavuş 0000-0002-3860-0146
A. Özbilgin 0000-0003-3613-8741

egeprk@gmail.com

Atıf: Perk NE, Çavuş İ, Özbilgin A. Köpeklerde kanin Leishmaniasis etkeni *Leishmania tropica*'da ilaç dirençlerinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):234-43.

© 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, eski dünyada *Phlebotomus* ve yeni dünyada *Lutzomyia* cinsi kum sineklerinin kan emmesi ile omurgalı konaklara bulaşan heteroksen hücre içi bir parazitten kaynaklanan tropikal ve subtropikal bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, leishmaniasis yedi önemli tropikal hastalıktan biridir ve ölümle sonuçlanabilen geniş bir klinik yelpazesi olan dünya halk sağlığı sorunudur. Parazit insanlarda kutanöz (KL), visseral (VL) ve mukokutanöz leishmaniasis (MKL) olmak üzere üç temel formda hastalık oluşturmaktadır. Parazitin doğada en önemli rezervuarı olan köpeklerde meydana gelen enfeksiyona ise kanin leishmaniasis (KanL) adı verilmektedir. Dünyada 98 ülkede endemik olarak görülen lesihmaniasis Asya, Afrika, Amerika kıtaları ile Akdeniz havzasında sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Hastalıkla enfekte yaklaşık 12-15 milyon insanın olduğu ve bu sayıya her sene 1-1.5 milyon yeni olgunun eklendiği tahmin edilmektedir. Leishmaniasise bağlı yıllık ölüm sayısının 65 bine varan sayılarda olabileceği ve dünya çapında endemik bölgelerde yaşayan 1 milyar insanın risk altında olduğu düşünülmektedir[1,2].

Leishmaniasis tedavisinde uzun yıllardır ilk seçenek olarak pentavalent antimon bileşiklikleri kullanılmaktadır. Antimon bileşikleri son derece toksik maddelerdir ve uzun kullanım sonucu miyalji, pansitopeni, karaciğer ve pankreas enzimlerinde yükselme, pankreatit, kardiyak aritmi ve hepatit gibi ciddi yan etkiler gösterebilmektedir. Ayrıca bu bileşiklere direnç gösteren olgular sıklıkla bildirilmektedir. Tedavide bir diğer seçenek amfoterisin B (AmpB)'dir. Çoğu zaman %95 etkinlik gösteren bu ilaç oldukça pahalıdır ve özellikle HIV/*Leishmania* koenfeksiyonunda başarısız olabilmektedir. Tedavide alternatif olarak miltefosin, paramomisin ve pentamidin gibi farklı bileşikler de kullanılmaktadır, ancak bu ilaçlar parazitin türüne, klinik forma ve bağışıklık durumuna göre değişken etkiler göstermektedir. Köpeklerde tedavi, parazitin tamamen elimine edilememesi nedeniyle insan olgularındaki tedaviye göre çok daha zorludur. Köpeklerde sıklıkla allopurinol kullanılmaktayken, özellikle Akdeniz havzasında meglumin antimonat kullanımı da bildirilmektedir. KanL tedavisi daha çok klinik belirtileri hafifletmeye yöneliktir ve köpeklerde parazitin relapse olması ile sık karşılaşılmaktadır. İnsan olgularında kullanılan ilaçların köpeklerde çok daha toksik etki yaratması ve yine insan olgularında kullanılan ilaçlara olası bir direncin gelişmesine neden olabilmesi gibi riskler, KanL tedavisini kısıtlamaktadır[3].

Geçtiğimiz 15 yılda dünyada antimon bileşiklerine karşı gelişen bir direnç söz konusudur. Özellikle Hindistan'da antimon direnci ciddi boyutlara ulaşmış ve Bihar bölgesinde olguların %60'ı antimon bileşikleri ile tedavi edilemez duruma gelmiştir. Dünyanın farklı bölgelerinde olduğu gibi ülkemizde de antimona dirençli olgular ile karşımıza çıkmaktadır[4]. Yüksek oranda etkili olan AmpB'nin tedavi de başarısız olduğu olgular Hindistan ve Avrupa'nın çeşitli ülkelerinden bildirilmektedir[5,6].

Çalışmamızda, veteriner hekimlik ve halk sağlığı sorunu oluşturan leishmaniasis etkeni *Leishmania tropica* ile doğal yollardan enfekte olmuş köpeklerden elde edilmiş ve sıvı azotta saklanmış izolatlarda olası bir direnç durumunun araştırılması amaçlanmıştır. İzolatların her biri *in vitro* ortamda etken maddeler ile taranmış ve izolatlarda yarı-maksimum inhibisyon konsantrasyon değerleri (IC_{50}) saptanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Sıvı azotta muhafaza edilen KanL olgularından izole edilmiş 10 *Leishmania* spp. azot tankından çıkarılmış ve 37 ^{o}C'lik su banyosundan hızlı bir şekilde çözdürülmüştür. Çözdürülen izolatların mikroskop altında canlılıkları kontrol edilmiştir. Promastigotlarında canlılık saptanan 10 izolat RPMI-1640 ve %15 FCS içeren NNN besiyerine ekilmiştir. Ekimi gerçekleştirilen NNN besiyerleri 25°C etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Ekim işlemini takip eden 3., 5., 7. ve 9. günlerde besiyerleri kontrol edilmiş ve üreyen promastigotlar RPMI-1640 besiyeri ile flasklara aktarılmıştır. Eş zamanlı olarak kontrol grubu amacıyla kullanılacak olan referans *L. tropica* (MHOM/A7/1974/SAF-K27)

izolatı da flasklarda üretilmiştir.

Flasklarda 10^7 promastigot/ml miktarda üreyen promastigotlar steril 15 ml'lik falconlara aktarılmıştır. Falconlara eklenen serum fizyolojik ile iki kez yinelenen santrifüj işleminin ardından elde edilen pelletlerden 200 µl DNA izolasyonunda kullanmak amacıyla ependorf tüplerine aktarılmıştır. Ependorf tüplerinde bulunan materyallerden "Roche High Pure PCR Template Preparation Kit" ticari kiti ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen DNA'lar ilk olarak, *Leishmania* türlerinin small subunit rRNA (SSU rRNA) ve 5.8S rRNA'yı kodlayan genlerini ayıran ribozomal internal transcribed spacer 1 (ITS-1) bölgesine özgü primer ve problar ile çoğaltılmıştır[7,8].

Forwardprimer; 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3'
ReversePrimer; 5'-GAAGCCAAGTCATCCATCGC-3'
Probe 1: 5'-CCGTTTATACAAAAAATATACGGCGTTTCGGTTT-Fluo-3'
Probe 2: 5'-LCRed-640-GCGGGGTGGGTGCGTGTGTG-Pho-3'

Çalışmada, leishmaniasis tedavisinde uygulanan standart ilaçlar olan meglumin antimonat (Glucantime®), sodyum stiboglukonat (Pentostam®) ve AmpB'nin direnç durumları, mikroplak dilüsyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir.

Besiyeri ile homojen şekilde karıştırılan ilaçlı ilk kuyucuktan başlayarak sırasıyla tüm kuyucuklara mikropipet ile 100 µl alıp vererek dilüe edilmiş, son kuyucuktan alınan 100 µL karışım atılmıştır. Plakların ilk kuyucuklarına meglumin antimonat için 40.5 mg/ml, sodyum stiboglukonat için 50 mg/ml, AmpB için ise 1 µM/mL konsanrasyonda ilaç konmuş ve tüm kuyucuklara dilüe edilmiştir. Ardından kuyucuklardaki karışımların üzerine 100 µl promastigot süspansiyonu (10^6 promastigot/ml) eklenmiştir. Kör kuyucuklara parazit, pozitif kontrol kuyucuklarına ise ilaç eklenmemiştir. Plakların kapağı kapatılmış ve parafilm ile sıkı bir şekilde sarılarak 25°C etüvde 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kırk sekiz saat sonra etüvden çıkarılan plaklarda ilaçların, hemositometre ve XTT ((sodium 3,39-[1-(phenylaminocarbonyl)-3,4-tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro)) yöntemleri ile *in vitro* etkinlikleri incelenmiş ve değerlendirilmiştir.

Hemositometre yöntemi Neubauer'in Thoma lamı ile gerçekleştirilmiştir. Lamın iki ucunda bulunan çıkıntılar ıslatılmış ve bu çıkıntıların arasını kapatacak şekilde lamel yerleştirilmiştir. Ardından plaklar etüvden çıkarılmış, tüm kuyucuklardan alınan her bir örnek, farklı lamların sayım kamaralarına damlatılmıştır. Lam üzerine yayılması ve hareketsizleşmesi beklenen sıvı materyal mikroskop altında 40x objektif ile incelenmiştir. Lamın köşelerindeki dört kare ve orta alanda bulunan karedeki canlı promastigotlar sayılarak 10.000 ile çarpılmıştır. Elde edilen sonuç sayılan kare sayısına bölünerek mililitredeki promastigot sayısı belirlenmiştir[9].

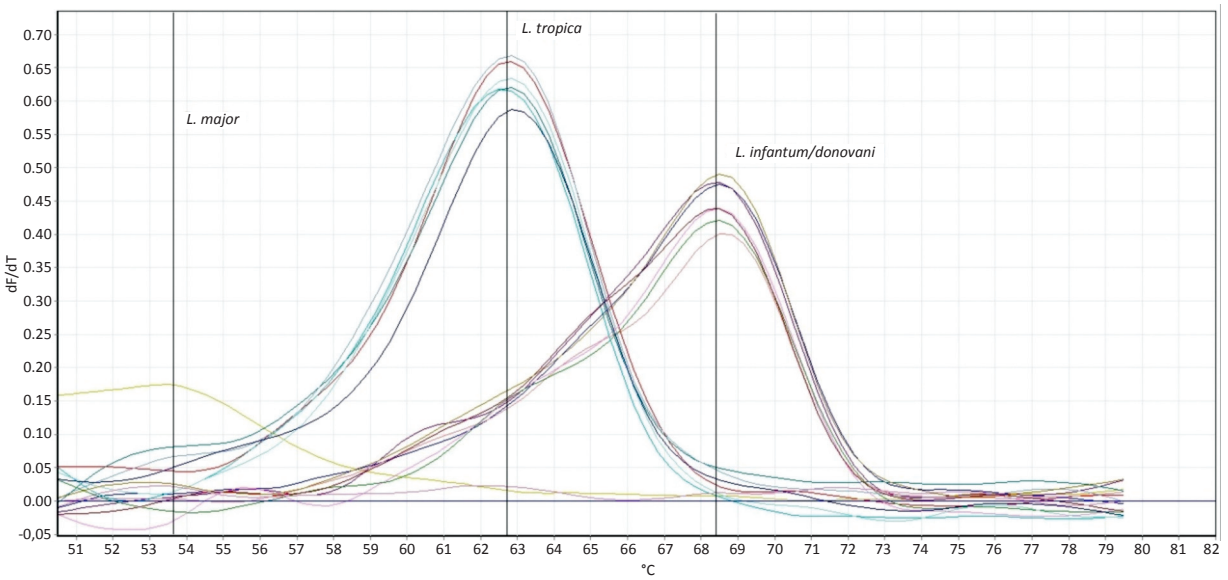
Hemositometre yöntemi sonrasında XTT yöntemi için, plak içerisindeki tüm kuyucuklardan alınan 100 µl materyal yeni bir 96'lık plağa aktarılmıştır. Steril bir küvette 0.1 ml electron coupling ve 5 ml reagent karıştırılmış, karışım plağın her bir kuyucuğuna 50 µl miktarda eklenmiştir. Plak 25°C etüvde dört saat inkübasyona bırakılmıştır. Dört saat sonunda etüvden çıkarılan plak 450 nm spektrofotometrede okunmuş ve absorbans değerleri elde edilmiştir. Canlılık yüzdeleri aşağıda paylaşılan formülasyon ile hesaplanmıştır[10].

$$\text{Canlılık Yüzdesi (\%)} = \frac{\text{(Çalışma örneği absorbansı) - (Blank absorbansı)}}{\text{(Kontrol absorbansı) - (Blank absorbansı)}} \times 100$$

Bu araştırma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 21.05.2019-E.42583 tarih ve sayı ile onaylanmıştır.

BULGULAR

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ – PZR) analizleri sonucunda 10 izolattan beşi *L. tropica,* diğer beşi ise *L. infantun/donovani* olarak genotiplendirilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Kanin leishmanasis olgularından izole edilen izolatlarda ITS-1 bölgesine özgü GZ-PZR 'de erime eğrileri.

Kullanılan MCBÜCAN3, MCBÜCAN6, MCBÜCAN7, MCBÜCAN8 VE MCBÜCAN10 izolatlarında meglumin antimonat için IC_{50} değerleri hemositometre yönteminde sırasıyla 7.362 mg/ml (6.768-8.007), 18.15 mg/ml (16.58-19.86), 14.78 mg/ml 12.66-17.23), 2.627 mg/ml (2.506-2.754), 10.06 mg/ml (9.875-10.25), XTT yönteminde ise 7.351 mg/ml (6.755-8.00), 17.55 mg/ml (16.18-19.03), 14.78 mg/ml (12.70-17.19), 2.621 mg/ml (2.498-2.749), 10.08 mg/ml (9.895-10.26) olarak saptanmıştır. Sodyum stiboglukonat için IC_{50} değerleri hemositometre yönteminde sırasıyla 0.0751 mg/ml (0.0731-0.0768), 0.1135 mg/ml (0.1096-0.1176), 0.2024 mg/ml (0.1932-0.2120), 0.2416 mg/ml (0.2314-0.2531), 0.1029 mg/ml (0.0992-0.1067) olarak hesaplanırken, XTT yönteminde 0.0754 mg/ml (00729-0.0772), 0.1128 mg/ml (0.1089-0.1169), 0.2019 mg/ml (0.1935-0.2107), 0.2417 mg/ml (0.2320-0.2525), 0.1033 mg/ml (0.0996-0.1070) olarak hesaplanmıştır. AmpB için hemositometre yönteminde IC_{50} değerleri 0.0263 µm/ml (0.0230-0.02995), 0.0277 µm/ml (0.02582-0.02977), 0.0474 µm/ml (0.04373-0.05143), 0.0301 µm/ml (0.02763-0.03269), 0.0317 µm/ml (0.03019-0.03331) olarak belirlenirken, XTT yönteminde ise 0.0264 µm/ml (0.02311-0.03006), 0.0277 µm/ml (0.02579-0.02967), 0.0470 µm/ml (0.04332-0.05087), 0.0316 µm/ml (0.03019-0.03334) olarak belirlenmiştir. Referans izolatı olarak kullanılan *L. tropica* (MHOM/A7/1974/SAF-K27) izolatının hemositometre yönteminde meglumin antimonat için IC_{50} değeri 1.129 mg/ml (0.9827-1.296) sodyum stiboglukonat için 0.1128 mg/ml (0.1072-0.1187), AmpB için ise 0.04278 µM/ml (0.03934-0.04651) olarak hesaplanırken, XTT yönteminde bu değerler meglumin antimonat için 1.102 mg/ml (0.975-1.249), sodyum stiboglukonat için 0.1142 mg/ml (0.1085-0.1202), AmpB için ise 0.04337 µM/ml (0.03963-0.04743) olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda kullanılan KanL izolatları, referans izolatının IC_{50} değerleri ile değerlendirildiğinde, izolatlar sodyum stiboglukonat ve AmpB'ye duyarlılık göstermektedir. Diğer bir yandan meglumin antimonat değerlerinde MCBÜCAN8 ilaca duyarlılık göstermekteyken, diğer izolatlar yüksek IC_{50} değerleri ile dirence işaret etmektedir. IC_{50} değerleri Prism 8.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, www.graphpad.com) programı ve [log(inhibitor) vb. normalized response -Variable slope] denklemi ile hesaplanmıştır (Tablo 1, 2).

Çalışmamızda, hemositometre yöntemi beş izolatta ortalama IC_{50} değerleri meglumin antimonat için

Tablo 1. Hemositometre yöntemine göre IC_{50} değerleri.

İzolat Kodu	Meglumin Antimonat (mg/ml)	Sodyum Stiboglukonat (mg/ml)	Amfoterisin B (µM/ml)
MCBÜCAN 3	7.362 (6.768-8.007)	0.0751 (0.0731-0.0768)	0.0263 (0.0230-0.02995)
MCBÜCAN 6	18.15 (16.58-19.86)	0.1135 (0.1096-0.1176)	0.0277 (0.0258-0.0298)
MCBÜCAN 7	14.78 (12.66-17.23)	0.2024 (0.1932-0.2120)	0.0474 (0.0437-0.0514)
MCBÜCAN 8	2.627 (2.506-2.754)	0.2416 (0.2314-0.2531)	0.0301 (0.0276-0.0327)
MCBÜCAN 10	10.06 (9.875-10.25)	0.1029 (0.0992-0.1067)	0.0317 (0.0302-0.0333)
Leishmania tropica (MHOM/A7/1974/SAF-K27) (Kontrol Grubu)	1.129 (0.9827-1.296)	0.1128 (0.1072-0.1187)	0.0428 (0.0393-0.0465)

Tablo 2. XTT yöntemine göre IC_{50} değerleri.

İzolat Kodu	Meglumin Antimonat (mg/ml)	Sodyum Stiboglukonat (mg/ml)	Amfoterisin B (µM/ml)
MCBÜCAN 3	7.351 (6.755-8.00)	0.0754 (0.0729-0.0772)	0.0264 (0.0231-0.0301)
MCBÜCAN 6	17.55 (16.18-19.03)	0.1128 (0.1089-0.1169)	0.0277 (0.0258-0.0297)
MCBÜCAN 7	14.78 (12.70-17.19)	0.2019 (0.1935-0.2107)	0.0470 (0.0433-0.0509)
MCBÜCAN 8	2.621 (2.498-2.749)	0.2417 (0.2320-0.2525)	0.0301 (0.0276-0.0326)
MCBÜCAN 10	10.08 (9.895-10.26)	0.1033 (0.0996-0.1070)	0.0316 (0.0302-0.0333)
Leishmania tropica (MHOM/A7/1974/SAF-K27) (Kontrol Grubu)	1.102 (0.975-1.249)	0.1142 (0.1085-0.1202)	0.0434 (0.0396-0.0474)

Tablo 3. İzolatların Hemositometre ve XTT yöntemleri ile saptanan ortalama IC_{50} değerleri.

İlaçlar	Hemositometre Ortalama IC_{50} Değerleri	XTT Ortalama IC_{50} Değerleri
Meglumin Antimonat (mg/ml)	10.60±6.1	10.48±5.9
Sodyum Stiboglukonat (mg/ml)	0.1471±0.07	0.1470±0.07
Amfoterisin B (µM/ml)	0.0328±0.008	0.0326±0.008

10.60±6.1 mg/ml, sodyum stiboglukonat için 0.1471±0.07 mg/ml, AmpB için 0.0328±0.008 µM/ml olarak saptanmıştır. XTT yöntemi ile saptanan ortalama IC_{50} değerleri ise meglumin antimonat için 10.48±5.9 mg/ml, sodyum stiboglukonat için 0.1470±0.07 mg/ml, AmpB için 0.0326±0.008 µM/ml olarak bulunmuştur (Tablo 3).

TARTIŞMA

Geçtiğimiz 10 yılda görülme sıklığında artış gözlenen KL ile yaklaşık her 20 saniyede bir kişinin enfekte olduğu hesaplanmaktadır. Kırsal bölgelerden şehir merkezlerine göç, endemik bölgelere çalışmaya giden insanlar, yetersiz beslenme, sosyoekonomik düzeyin düşüklüğü ve HIV/*Leishmania* koenfeksiyonundaki artış, görülme sıklığının yükselmesine neden olmaktadır. Leishmaniasis ihmal edilen, gelişmemiş ülkelerde tanısının gerçekleştirilemediği ve bu nedenle rapor edilemeyen hastalıklar arasındadır. Dolayısıyla gerçek prevalansının resmi rakamların üzerinde olduğu düşünülmektedir. Leishmaniasis nedeniyle tıbbi bakım ve tedaviler ile birlikte iş gücü kaybına bağlı ekonomik zarar ciddi bir boyut almaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise HIV/*Leishmania* koenfeksiyonunda görülen artış ve koenfeksiyona bağlı tedavide başarısızlıklar, vektörün iklim değişikliği ile kuzey paralellerde ortaya çıkması sonucu gibi nedenlerle leishmaniasise ilgiyi artmaktadır[1,11].

Leishmaniasis standart tedavisinde meglumin antimonat ve sodyum stiboglukonat 60 yıldan fazla bir süredir ilk seçenek olarak tercih edilmektedir. Ancak, geçtiğimiz 15 yılda dünyanın farklı bölgelerinden, çeşitli *Leishmania* türlerinin, bu bileşiklere direnç geliştirdiğini gösteren olgularla karşılaşmaktayız. Yapılan çalışmalarda VL'nin endemik olarak görüldüğü Hindistan'ın kuzeyinde bu ilaçlara karşı direnç gelişiminin arttığı bildirilmektedir[4]. Aynı zamanda Ortadoğu[12,13], Avrupa[14] ve Güney Amerika'da[15] pantavalent antimon bileşiklerine karşı dirençli olgular bildirilmektedir. Hindistan'ın Bihar bölgesinde antimon bileşikleri ile tedavi %60 oranda başarısız olmakta ve dirençli parazitler ile enfekte hastalar artık tedaviye yanıt vermemektedir. Ülkemizde de yakın zamanda meglumin antimonata dirençli olgular bildirilmektedir[16].

Tedavide 1960'lı yıllardan beri antileishmanial ilaç olarak kullanılan bir diğer seçenek AmpB'dir[17]. İntravenöz yolla verilen bu ilaç, böbrekler üzerinde toksisite göstermektedir ve yüksek maliyetlidir. Laboratuvar ortamında, *in vitro* çalışmalarda *Leishmania* spp. suşlarına uygulanan AmpB'ye hem promastigot hem de amastigot formların direnç gösterebildiği bildirilmiştir[18,19]. İlaca direnç gösteren ilk olgular Hindistan'dan bildirilmektedir[20,21]. Fransa'da HIV/*Leishmania* koenfeksiyonunda ve İsviçre'de immün sistemi baskılanmış bir hastada AmpB'nin tedavide başarısız olduğu rapor edilmiştir[22,23].

Kanin leishmaniasis tedavisinde günümüzde en sık uygulanan ilaçlar arasında allopurinol, miltefosin ve meglumin antimonat yer almaktadır. Bu ilaçların yanı sıra sodyum stiboglukonat ve AmpB ile deneysel ilaç çalışmaları da bildirilmektedir[24-27]. Bununla birlikte, Grandoni ve ark.'nın[28] yaptığı araştırma, meglumin antimonat tedavisi alan hasta köpeklerde klinik belirtilerin hafiflediğini ancak hastalığın relapse olduğunu ve birden çok ilaç tedavisi alan köpeklerin de kum sineklerini enfekte edebildiğini göstermektedir.

Eski Dünya'da *L. infantum*, Yeni Dünya'da ise *L. infantum*'un sinonimi olan *L. chagisi*, köpeklerde KanL hastalığını oluşturmakta ve etkenin köpeklerde rezervuar olarak bulunması ile zoonotik leishmaniasisin tekrarı sağlanmaktadır[29]. Fakat çok ender olarak, *L. tropica* türü de köpeklerde KanL enfeksiyonu meydana getirebilmektedir[30-32]. İnsanlarda en sık KL oluşturan tür olan *L. tropica* türü bölgemizde beş köpekten izole edilmiştir. Bu çalışmada, zaman zaman karşımıza çıkan dirençli insan KL olgularının, rezervuar olan köpeklerdeki *L. tropica* türleri ile ilişkisi ve köpeklerden elde edilen beş ender *L. tropica* suşlarının direnç durumu ilk kez araştırılmıştır. Bu nedenle çalışmamız, *L. infantum* köpek suşları ile yapılan diğer çalışmalardan farklıdır. Çalışmamızda, köpeklerde ender olarak parazitlenen insan KL etkeni *L. tropica* türünün ülkemizdeki elde edilen ilk ender izolatlardır. Bu nedenle çalışma zoonotik *L. tropica*'ya odaklanmıştır.

Ülkemizin de içerisinde bulunduğu Akdeniz havzasında KanL etkeni sıklıkla *L. infantum*'dur. Köpeklerden izole edilmiş *L. tropica* suşları ile yapılmış bir çalışma olmaması, köpek suşlarında az sayıda *in vitro* ve

in vivo direnç testi çalışması yapılması gibi nedenlerden dolayı sonuçlarımızın oldukça değerli olduğunu düşünmekteyiz.

Altı sağlıklı köpeğin *L. infantum* ile enfekte edildiği bir çalışmada, köpeklere meglumin antimonat tedavisi uygulanmıştır. Klinik belirtileri kaybolan köpeklerin tedaviye başlanılan tarihten 20 hafta sonra total protein ve gamaglobülin seviyelerinde yeni bir artış gözlemlenmiş ve bu artış parazitin relapse olduğunu düşündürmüştür[33].

Moreno ve ark.'nın[34] çalışmalarında doğal yollardan enfekte olmuş 11 köpeğin tedavisinde AmpB uygulanmıştır. Tedaviden bir ay sonra klinik belirtilerin iyileştiği, antikor düzeylerinin düştüğü ve biyopsi materyallerinin kültüründe parazitin çoğalmadığı bildirilirken, tedaviden beş ay sonra bazı köpeklerde antikor düzeyleri tedavi öncesiyle benzer titrelerde görülmüş ve biyopsi materyallerinin kültüründe parazitlerin çoğaldığı bildirilmiştir[34].

Lamothe[35] seropozitif KanL hastası 19 köpekte AmpB tedavisi uygulamıştır. Tedavinin ardından klinik seyri iyileşen köpeklere uygulanan serolojik testler sonucunda sekiz köpek pozitif sonuç vermiştir.

Ikeda-Garcia ve ark.[36] çalışmalarında, yedi evcil köpeğe derialtı meglumin antimonat tedavisi uygulamıştır. Tedavi sonrasında dalak ve karaciğer materyalleri 30 gün boyunca kültürde tutulan yedi köpeğin materyallerinden beşinde promastigotların çoğaldığı gözlemlenmiştir.

Gramiccia ve ark.[37], dört köpekten tedavi öncesi ve meglumin antimonat tedavisi sonrası *L. infantum* izolatları izole etmiştir. *In vivo* meglumin antimonat duyarlılık testlerinde, tedavi öncesi elde edilen izolatlarda ED_{50} değeleri 0.1-0.2 mg/kg arasındayken, tedavi sonrası elde edilen izolatlarda ED_{50} değerlerinin 1.6-4.1 mg/kg aralığında olduğu bildirilmektedir. Tedavi alan köpeklerde etkili ilaç konsantrasyonunun yaklaşık 16-20 kat arttığı gözlemlenmektedir.

Carrio ve Portus[38], sekiz farklı izolatta *ex vivo* modellerde meglumin antimonat uygulamıştır. Araştırmacılar, izolatlar için sırasıyla 5.0, 4.9, 4.4, 6.7, 6.0, 9.7, 9.1 ve 6.9 mg/l IC_{50} değerleri saptamıştır. Carrio ve Portus'un[38] yapıkları çalışmada *ex vivo* ortamdaki amastigotlara etki eden ilaç konsantrasyonu, çalışmamızda elde ettiğimiz en düşük konsantrasyonda meglumin antimonat etkinliğinin bile yaklaşık 270'de 1'i olarak bulunmuştur.

Vouldoukis ve ark.[39], köpekten izole edilerek RPMI-1640 besiyerinde kültivasyonu yapılmış bir *L. infantum* izolatında ve doğal yollardan enfekte olmuş beş köpekten elde edilerek kültivasyonu yapılmış kanin makrofajlarına marbofloksasin, meglumin antimonat ve sodyum stiboglukonat duyarlılığını test etmişlerdir. Elli µg/ml konsantrasyonda meglumin antimonat 48. saatte parazit sayısını yarıya indirirken, aynı konsantrasyonda sodyum stiboglukonatın parazitleri yarıya indirmesinin 72. saatte gerçekleştiği gözlemlenmektedir. Vouldoikis ve ark.'nın[39] antimon bileşiklerinin etkinliğini test ettiği çalışmada, parazitlerin yarısını öldüren konsantrasyon (0.05 mg/ml), verilerimizdeki meglumin antimonat konsantrasyonlardan 52-351 kat, sodyum stiboglukonat konsantrasyonlarından ise 1.5-5 kat daha düşüktür.

Ordonez-Gutierrez ve ark.[40], bir köpekten izole edilen *L. infantum* promastigotlarda AmpB duyarlılığını test etmiş. Monomerik, dimerik ve polimerik sıvı AmpB çözeltileri ve kapsüllenmiş AmpB formüllerinin 0.2 µg/ml ve artan konsantrasyonlarında promastigotların önemli ölçüde elimine edildiği gözlemlenmiştir.

Aït-Oudhia ve ark.[41], 24 köpekten elde edilen izolatlarda AmpB etkinliği için IC_{50} değerlerini en yüksek 0.41±0.03 µg/ml, en düşük 0.1±0.01 µg/ml konsantrasyonlarında saptarken, meglumin antimonat için en yüksek 145±0.22 µg/ml, en düşük 18.9±0.06 µg/ml IC_{50} değerleri saptamıştır.

Maia ve ark.[42], köpeklerde izole edilen iki farklı *L. infatum* izolatında (IMT373 ve IMT352) *in vitro* meglumin antimonat ve AmpB ilaç duyarlılığını test

etmişlerdir. IMT373 izolatının promastigot formlarında IC_{50} değerleri, meglumin antimonat için 7.31 mg/ml ve AmpB için 0.04 µM/ml olarak belirlenmiştir. IMT352 izolatının promastigot formlarında ise IC_{50} değerleri, meglumin antimonat için 11.81 mg/ml ve AmpB için 0.04 µM/ml olarak belirlenmiştir. Maia ve ark.'nın[42] bildirdiği verilerde in vitro promastigot formlarda, IMT373 izolatında etkili olan meglumin antimonat konsantrasyonu, çalışmamızdaki izolatlar ile paralellik gösterirken, IMT352 izolatında etkili olan meglumin antimonat konsantrasyonu, çalışmamızdaki izolatlar yakın değerlerde bulunmuştur. Her iki izolatın da AmpB'de etkili konsantrasyonu, çalışmamızdaki izolatlar ile paralellik göstermektedir.

Eddaikra ve ark.'nın[43] 24 köpekten izole edilen suşlarda, *ex vivo* meglumin antimonat etkinliği çalışmasında ortalama IC_{50} değerini 48.77±7.98 µg/ml olarak saptanmıştır. Araştırmacıların elde ettiği ortalama IC_{50} değeri, çalışmamızdaki ortalama IC_{50} değeri olan 10.48 mg/ml'den yaklaşık 22 kat daha düşüktür.

Çalışmamızda, *L. tropica* türü KanL izolatlarında meglumin antimonata karşı olan IC_{50} değerleri diğer çalışmalardaki IC_{50} değerlerine göre oldukça yüksek bulunmuştur. Ancak, Maia ve ark.'nın yaptığı çalışmada bulunan IC_{50} değerleri ile birbirine benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Elde ettiğimiz XTT verileri doğrultusunda leishmaniasis tedavisinde kullanılan ilaçlardan AmpB ve sodyum stiboglukonat neredeyse tüm izolatlarda benzer konsantrasyonlarda IC_{50} değeri vermektedir. Meglumin antimonat etkinliği neredeyse tüm izolatlar arasında farklılık göstermektedir. MCBÜCAN8 izolatı bu ilaca 2.62 mg/ml IC_{50} değeriyle en duyarlı izolat durumundayken, MCBÜCAN6 izolatı yaklaşık 8 kat yüksek konsantrasyonda 17.55 mg/ml'de etki göstermektedir. Bu sonuçlar tüm izolatlar arasında meglumin antimonata değişen oranlarda direncin varlığına işaret etmektedir.

Bugüne kadar yapılan bütün KanL çalışmalarında etken tür olarak *L. infatum* kullanılmıştır. Çalışmamız, *L. tropica*'nın etken olduğu KanL'li köpeklerden izole edilen suşlar ile ilaç direnç testlerinin yapıldığı ilk çalışmadır. Köpeklerde bulunan KanL etkeni *L. infatum*'un *in vitro, in vivo, ex vivo* testlerde ve klinik denemelerde ilaca dirençli olduğu yukarıdaki literatür bilgilerinde de bildirilmiştir. Ayrıca tedavide kullanılan ilaçlara rağmen, köpeklerde KanL relapslarının görüldüğü de yine yukarıdaki literatürlerde bildirilmektedir. Bizim bulgularımızda da KanL etkeni *L. tropica*'ların AmpB ve sodyum stiboglukonata karşı duyarlı olduğu, meglumin antimonata karşı direnç geliştirdiği görülmüştür. Köpeklerden izole edilmiş *L. tropica* suşları ile yapılmış bir çalışma olmaması, köpek suşlarında *L. infantum* ile az sayıda *in vitro, in vivo* ve *ex vivo* direnç testi çalışması yapılması gibi nedenlerden dolayı sonuçlarımızın bu konudaki ilk veriler olduğu düşünülmüş ve bundan sonraki yapılacak çalışmalarda yol gösterici olacağı düşüncesine varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için 2019-097 No.lu projesi ile gerekli maddi desteği sağlayan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürü bir borç bilirim.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Leishmaniasis. 2020 [https://www.who.int/leishmaniasis/en/]. (Erişim tarihi: 16 Temmuz 2020)
2. Reithinger R, Dujardin J, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. Lancet Infect Dis. 2007;7(9):581-96. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70209-8
3. Reguera RM, Morán M, Pérez-Pertejo Y, García-Estrada C, Balaña-Fouce R. Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. Vet Parasitol. 2016;227:98-114. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.07.011
4. Croft SL, Yardley V. Chemotherapy of leishmaniasis. Curr Pharm Des. 2002;8(4):319-42. https://doi.org/10.2174/1381612023396258
5. Berenguer J, Moreno S, Cerenado E, Bernaldo de Quirós JC, García de la Fuente A, Bouza E. Visceral leishmaniasis in patients infected with human immunodeficiency virus (HIV). Ann Intern Med. 1989;111(2):129-32. https://doi.org/10.7326/0003-4819-111-2-129
6. Medrano FJ, Hernandez-Qure J, Jimenez E, et al.

Visceral leishmaniasis in HIV-1 infected individuals: A common opportunistic infection in Spain? AIDS. 1992;6(12):1499-503. https://doi.org/10.1097/00002030-199212000-00013
7. Toz SO, Culha G, Zeyrek FY, ve ark. 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
8. el Tai NO, Osman OF, el Fari M, Presber W, Schönian G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2000;94(5):575-9. https://doi.org/10.1016/S0035-9203(00)90093-2
9. Özbilgin A, Çavuş İ, Yıldırım A, Kaya T, Ertabaklar H. *Leishmania tropica* üzerinde in vitro ve in vivo ilaç etkinliğinin değerlendirilmesi: Pilot çalışma. Turkiye Parazitol Derg. 2018;42(1):11-9. https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5554
10. Williams C, Espinosa O, Montenegro H, et al. Hydrosoluble formazan XTT: its application to natural products drug discovery for *Leishmania*. J Microbiol Methods. 2003;55(3):813-6. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.08.013
11. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comp Immunol Microbiol. 2004;27(5):305-18. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004
12. Hadighi R, Mohebali M, Boucher P, Hajjaran H, Khamesipour A, Ouellette M. Unresponsiveness to glucantime treatment in Iranian cutaneous leishmaniasis due to drug-resistant *Leishmania tropica* parasites. PLoS Med. 2006;3(5):e162. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030162
13. Hadighi R, Boucher P, Khamesipour A, et al. Glucantime-resistant *Leishmania tropica* isolated from Iranian patients with cutaneous leishmaniasis are sensitive to alternative antileishmania drugs. Parasitol Res. 2007;101(5):1319-22. https://doi.org/10.1007/s00436-007-0638-0.
14. Carrio J, Riera C, Gallego M, Ribera E, Portes M. In vitro susceptibility of *Leishmania infantum* to meglumine antimoniate in isolates from repeated leishmaniasis episodes in HIV-coinfected patients. J Antimicrob Chemother. 2001;47(1):120-1. https://doi.org/10.1093/jac/47.1.120
15. Yardley V, Ortuno N, Llanos-Cuentas A, et al. American tegumentary leishmaniasis: is antimonial treatment outcome related to parasite drug susceptibility? J Infect Dis. 2006;194(8):1168-75. https://doi.org/10.1086/507710
16. Polat E, Kutlubay Z. Meglümin antimoniat tedavisine dirençli dört kutanöz leishmaniosis olgusu. Turkiye Parazitol Derg. 2014;38(3):177-80. https://doi.org/10.5152/tpd.2014.3410
17. Lemke A, Kiderlen AF, Kayser O. Amphotericin B. Appl Microbiol Biotechnol. 2005;68(2):151-62. https://doi.org/10.1007/s00253-005-1955-9
18. Mbongo N, Loiseau PM, Billion MA, Robert-Gero M. Mechanism of amphotericin B resistance in *Leishmania donovani* promastigotes. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42(2):352-7. https://doi.org/10.1128/AAC.42.2.352
19. Al-Mohammed HI, Chance ML, Bates PA. Production and characterization of stable amphotericin resistant amastigotes and promastigotes of *Leishmania mexicana*. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(8): 3274-80. https://doi.org/10.1128/AAC.49.8.3274-3280.2005
20. Purkait B, Kumar A, Nandi N, et al. Mechanism of amphotericin B resistance in clinical isolates of *Leishmania donovani*. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56(2):1031-41. https://doi.org/10.1128/AAC.00030-11
21. Srivastava P, Prajapati VK, Rai M, Sundar S. Unusual case of resistance to amphotericin B in visceral leishmaniasis in a region in India where leishmaniasis is not endemic. J Clin Microbiol. 2011;49(8):3088-91. https://doi.org/10.1128/JCM.00173-11.
22. Morizot G, Jouffroy R, Faye A, et al. Antimony to cure visceral leishmaniasis unresponsive to liposomal amphotericin B. PLoS Negl Trop Dis. 2016;10(1): e0004304. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004304
23. Eichenberger A, Buechi AE, Neumayr A, et al. A severe case of visceral leishmaniasis and liposomal amphotericin B treatment failure in an immuno suppressed patient 15 years after exposure. BMC Infect Dis. 2017;17(1):81. https://doi.org/10.1186/s12879-017-2192-4
24. Lanotte G, Rioux JA, Perieres J, Vollhardt Y. Ecology of leishmaniasis in the south of France. 10. Developmental stages and clinical characterization of canine leishmaniasis in relation to epidemiology. Ann Parasitol Hum Comp. 1979;54(3):277-95. https://doi.org/10.1051/parasite/1979543277
25. Mancianti F, Gramiccia M, Gradoni L, Pieri S. Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1988;82(4):566-7. https://doi.org/10.1016/0035-9203(88)90510-x
26. Nicoletti P, Fruin J. Treatment of canine cutaneous

leishmaniasis. Trop Anim Health Prod. 1974;6(2):85-8. https://doi.org/10.1007/BF02380543
27. Groulade P. Clinique canine. Médecine, biologie clinique, petite chirurgie. Paris: Maloine, Fransa, 1979.
28. Gradoni L, Gramiccia M, Di Martino L, Nocerino A. A new *Leishmania infantum* enzymatic variant, agent of an urban visceral case unresponsive to drugs. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1987;81(6):927-8. https://doi.org/10.1016/0035-9203(87)90354-3
29. Baneth G, Aroch I. Canine leishmaniasis: a diagnostic and clinical challenge. Vet J. 2008;175(1):14-5. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.11.011
30. Dereure J, Rioux JA, Gallego M, et al. *Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1991;85(5):595. https://doi.org/10.1016/0035-9203(91)90356-4
31. Bamorovat M, Sharifi I, Dabiri S, et al. *Leishmania tropica* in stray dogs in Southeast Iran. Iran J Public Health. 2015;44(10):1359-66.
32. Baneth G, Yasur-Landau D, Gilad M, Nachum-Biala Y. Canine leishmaniosis caused by *Leishmania major* and *Leishmania tropica*: comparative findings and serology. Parasit Vectors. 2017;10(1):113. https://doi.org/10.1186/s13071-017-2050-7
33. Riera C, Valladares JE, Gállego M, et al. Serological and parasitological follow-up in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum* and treated with meglumine antimoniate. Vet Parasitol. 1999;84(1-2):33-47. https://doi.org/ 10.1016/s0304-4017(99)00084-9
34. Moreno J, Nieto J, Chamizo C, et al. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis before, and after, chemotherapy. Vet Immunol Immunopathol. 1999; 30;71(3-4):181-95. https://doi.org/10.1016/s0165-2427(99)00096-3
35. Lamothe J. Activity of amphotericin B in lipid emulsion in the initial treatment of canine leishmaniasis. J Small Anim Pract. 2001;42(4):170-5. https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2001.tb01797.x
36. Ikeda-Garcia FA, Lopes RS, Marques FJ, et al. Clinical and parasitological evaluation of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* submitted to treatment with meglumine antimoniate. Vet Parasitol. 2007;143(3-4):254-9. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.019
37. Gramiccia M, Gradoni L, Orsini S. Decreased sensitivity to meglumine antimoniate (Glucantime) of *Leishmania infantum* isolated from dogs after several courses of drug treatment. Ann Trop Med Parasitol. 1992;86(6):613-20. https://doi.org/10.1080/00034983.1992.11812717
38. Carrió J, Portús M. In vitro susceptibility to pentavalent antimony in *Leishmania infantum* strains is not modified during in vitro or in vivo passages but is modified after host treatment with meglumine antimoniate. BMC Pharmacol. 2002;2:11. https://doi.org/10.1186/1471-2210-2-11
39. Vouldoukis I, Rougier S, Dugas B, Pine P, Mazier D, Woehrlé F. Canine visceral leishmaniasis: comparison of in vitro leishmanicidal activity of marbofloxacin, meglumine antimoniate and sodium stibogluconate. Vet Parasitol. 2006;135(2):137-46. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.09.003
40. Ordóñez-Gutiérrez L, Espada-Fernández R, Dea-Ayuela MA, Torrado JJ, Bolás-Fernandez F, Alunda JM. In vitro effect of new formulations of amphotericin B on amastigote and promastigote forms of *Leishmania infantum*. Int J Antimicrob Agents. 2007;30(4):325-9. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.05.013
41. Aït-Oudhia K, Gazanion E, Sereno D, et al. In vitro susceptibility to antimonials and amphotericin B of *Leishmania infantum* strains isolated from dogs in a region lacking drug selection pressure. Vet Parasitol. 2012; 6;187(3-4):386-93. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.01.034
42. Maia C, Nunes M, Marques M, Henriques S, Rolão N, Campino L. In vitro drug susceptibility of *Leishmania infantum* isolated from humans and dogs. Exp Parasitol. 2013;135(1):36-41. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.015
43. Eddaikra N, Ait-Oudhia K, Kherrachi I, et al. Antimony susceptibility of *Leishmania* isolates collected over a 30-year period in Algeria. PLoS Negl Trop Dis. 2018;12(3):e0006310. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006310

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020;50(4):244-9
doi:10.5222/TMCD.2020.244

Araştırma / *Research Article*

Dientamoeba fragilis Dost mu, Düşman mı? İstanbul'dan farklı Kohortlara Ait Hasta ve Sağlıklı Bireylerle Yürütülen Bir Çalışma

Is Dientamoeba fragilis a Friend or a Foe? A Study from Istanbul on Patients and Healthy Individuals from Different Cohorts

Özgür Kurt*,, Sinem Öktem Okullu*, Nesteren Mansur Özen***, Nihan Ünübol*, Selma Cat****
Şebnem Sürer Nurdağı**, Işın Akyar*, Tanıl Kocagöz***

*Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
**Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, Mikrobiyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye
***Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Medikal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
****Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Multidisipliner Laboratuvarları, İstanbul, Türkiye

Alındığı tarih / Received:
17.02.2020 / 17.February.2020
Kabul tarihi / Accepted:
27.07.2020 / 27.July.2020
Yayın tarihi / Publication date:
31.12.2020 / 31.December.2020

ORCİD Kayıtları

Ö. Kurt 0000-0001-5575-588X
S. Ö. Okullu 0000-0002-2255-0930
N. M. Özen 0000-0001-8861-7942
N. Ünübol 0000-0003-4644-112X
S. Cat 0000-0002-4772-735X
Ş. S. Nurdağı 0000-0002-1452-8901
I. Akyar 0000-0003-1115-0429
T. Kocagöz 0000-0001-7211-2026

✉ ozgur.kurt@acibadem.edu.tr

Atıf: Kurt Ö, Öktem Okullu S, Özen NM, Ünübol N, Cat S, Sürer Nurdağı Ş, Akyar I, Kocagöz T. *Dientamoeba fragilis* dost mu, düşman mı? İstanbul'dan farklı kohortlara ait hasta ve sağlıklı bireylerle yürütülen bir çalışma. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):244-9.

ÖZ

Amaç: *Dientamoeba fragilis kalın bağırsak lümeninde bulunan, gastrointestinal ve dermatolojik yakınmalara yol açtığı gösterilmiş bir bağırsak protozoonudur. Son yıllarda D. fragilis'in sağlıklı bireylerde de yüksek oranda bulunabildiği, normal bağırsak mikrobiyotasının bir üyesi olabileceği tartışılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, D. fragilis'in görülme sıklığını İstanbul'dan bir hasta ve sağlıklı kontrol grubu üzerinden karşılaştırmak, neden olduğu enfeksiyonun hasta grubundaki klinik etkilerini, hastalara ait özellikleri üzerinden irdelemektir.*
Yöntem: *Çalışmaya Acıbadem Sağlık Grubu hastanelerine 2016-2018 yılları arasında çeşitli gastrointestinal ve dermatolojik yakınmalarla başvurmuş, 184 hasta ile 156 sağlıklı kontrolün dışkı örnekleri dâhil edilmiştir. Örneklerin mikrobiyolojik ve parazitolojik değerlendirmeleri sonrası DNA izolasyonu ve sonrasında özgün primerlerle D. fragilis için konvansiyonel polimeraz zincirleme tepkimesi testi yapılmıştır.*
Bulgular: *İncelenen 184 hastanın 15'inde (%8.2) ve 156 kontrolün 42'sinde (%26.9) D. fragilis saptanmış olup, gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur (p<0.01). Çalışma grubundaki pozitif bireylerin 3'ünde ayrıca Salmonella spp., 1'inde ise Rotavirüs saptanmıştır. Çalışma grubundaki pozitif 15 kişiden 6'sının kadın olduğu ve yaş ortalamalarının diğer gruplardan yüksek olduğu (n=24.3) dikkati çekmiştir (p=0.25). Her iki grupta D. fragilis (+) bulunan toplam 57 bireyden 55'inin (%96.5) çocukluk yaş grubunda olduğu belirlenmiştir. Hasta grubunda en sık bildirilen yakınmalar ishal, iştahsızlık ve karın ağrısı olup, 15 hastadan 3'ünün kaşıntı ve ürtiker nedeniyle başvurduğu belirlenmiştir.*
Sonuç: *İstanbul'a ait bu ilk sonuçlar D. fragilis'in bazı olgular için patojen etkiler gösterebildiğini, ancak sağlıklı bireylerde daha yüksek oranda bulunabilen bir bağırsak protozoonu olduğunu destekler niteliktedir. Dünyanın farklı bölgelerinden benzer sonuçlar dikkate alındığında, ileri çalışmalarla D. fragilis'in hangi koşullarda sessiz (dost), hangi koşullarda patojen (düşman) olduğunun saptanması büyük önem taşımaktadır.*

Anahtar kelimeler: *Dientamoeba fragilis, prevalans, İstanbul, PZT*

ABSTRACT

Objective: *Dientamoeba fragilis is an intestinal protozoan found in colonic lumen and it has been demonstrated that it can lead to various gastrointestinal and dermatological complaints. It has been discussed lately that D. fragilis can be found also in high prevalence among healthy individuals and could be a member of healthy gut microbiota. The aim of this study was to compare the prevalence of D. fragilis between patient and healthy-control groups from Istanbul, and to study clinical outcomes of the infection it causes on the patient group ,and patient characteristics.*
Method: *Stool samples of 184 patients admitted to Acıbadem Health Group hospitals in Istanbul between 2016-2018, and 156 healthy controls were examined in the study. After microbiological and parasitological assessments of stool samples, DNA isolation was made followed by conventional PCR test using specific primers.*
Results: *D. fragilis was detected in 15 of 184 (8.2%) patients and 42 of 156 (26.9%) controls, and the intergroup difference was significant (p<0.05). In the study group Salmonella spp. was detected in 3, and Rotavirus in 1 of the D. fragilis positive individuals. Six out of 15 D. fragilis positive individuals in the study group were women and their average age (n=24.3) was higher than other groups (p=0.25). Fifty-five of 57 (96.5%) D. fragilis positive individuals were in the pediatric age group. The leading complaints were diarrhea, anorexia and abdominal pain, while 3 of the 15 patients reported itching and urticaria.*
Conclusion: *These preliminary results related to the metropolitan city of Istanbul tend to support the fact that D. fragilis may show pathogenic effects in some cases but it is more common among healthy individuals. Considering the similar results from different regions of the world, further studies are essential to unveil under which conditions D. fragilis is silent (friend) and acts as a pathogen (foe).*

Keywords: *Dientamoeba fragilis, prevalence, Istanbul, PCR*

© 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

Tarihte ilk olarak 1918'de Jepps and Dobell tarafından tanımlanan *Dientamoeba fragilis*, kamçılı protozoonlardan olup, uzun yıllar kalın bağırsak lümeninde patojen etkiler oluşturmadan yaşadığı düşünülen bir mikroorganizma olarak tanımlanmıştır[1-5]. 1980'li yıllardan sonra gerek laboratuvar testlerindeki gelişmeler gerekse dünyanın farklı bölgelerinden bildirilen klinik olgularda *D. fragilis*'in etken olarak tanımlanmaya başlanması sonrası, *D. fragilis*'in ihmal edilen bir patojen olabileceği tartışılmaya başlanmıştır[1,4,6-12]. *D. fragilis*'in neden olduğu enfeksiyon, klinikte çoğunlukla erişkin hastalarda sessiz bir profil gösterirken, çoğunluğu çocuk yaş grubundan birçok bireyde ise bağırsak hareketlerinde değişiklikler, karın ağrısı, bulantı-kusma, iştahsızlık ve ishal gibi klinik tablolara yol açabilir[10-12]. *D. fragilis*'in genelde diğer bağırsak protozoonlarıyla ilişkili olduğu, bağırsakta sıklıkla *Blastocystis* yanında *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* gibi apatojen protozoonlarla beraber bulunduğu bildirilmektedir[1,4,7,10]. Uzun yıllar yalnızca trofozoit formu olduğu düşünülen *D. fragilis*'in yeni birkaç çalışmada kist formu da gösterilmiş, insanlara fekal-oral yolun yanı sıra bir helmint olan *Enterobius vermicularis* ile de bulaşabildiği bildirilmiştir[1,2,9].

Dünyanın farklı bölgelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, *D. fragilis* prevalansının tanı için kullanılan yönteme göre büyük değişiklikler gösterdiği, bu nedenle de %0.2 ila %82 arasında olduğu görülmektedir[1]. Olgular sıklıkla ana okulu, akıl hastanesi gibi insanların bir arada yaşadığı ve hijyen koşulları kötü olabilen yerlerde saptanmakta, bağışıklık sistemi zayıf bireyler de riskli grupta sayılmaktadır[1,6,9]. *D. fragilis*'in dışkı örneklerinde saptanmasında, salin-Lugol ya da konsantrasyon yöntemi yetersiz olduğundan uzun yıllar trikrom gibi kalıcı boyalarla hazırlanan yaymaların mikroskobik incelemesi ya da kültür yöntemi kullanılmaktaydı[2,12-14]. Bu dönemde yapılan bir klinik çalışmada, 400 hastanın taze dışkı örneklerinden hazırlanan trikrom boyalı yaymaların mikroskobik incelemesiyle 35 (%8.8) hastada *D. fragilis* trofozoitlerine rastlandığı bildirilmiştir[3]. İki binli yılların başında mikrobiyolojik tanıda kullanımı yaygınlaşan, duyarlılığı ve özgünlüğü yüksek olduğundan özellikle rutin tanı için tercih edilen polimeraz zincirleme tepkimesi (PZT) yöntemi *D. fragilis* için de özgün olarak kullanılmaya başlanmıştır[2,13]. Bu amaçla, *D. fragilis*'e ait küçük alt birim ribozomal ribonükleik asit (SSU-rRNA) gen bölgesine, "internal transcribed spacer" (ITS) bölgesine ya da 5.8 rRNA bölgesine karşı geliştirilmiş primerler ile özgün PZT protokolleri oluşturularak, önce kültürde üretilmiş *D. fragilis* trofozoitleriyle, daha sonraları doğrudan dışkıdan PZT ile *D. fragilis*'in varlığı araştırılmaya başlanmıştır[2,13]. Bu şekilde Danimarka ve Hollanda'da yapılan iki epidemiyolojik bir çalışmada, *D. fragilis*'in prevalansının sırasıyla %43 ve %22 düzeylerinde bulunduğu belirlenmiş, Danimarka'daki prevalansın çocuklarda %70'lere ulaştığı bildirilmiştir[15-18]. *D. fragilis*'in özellikle hasta ya da sağlıklı çocukların dışkı örnekleriyle yapılan incelemelerde yüksek oranlarda bulunması, aynı dönemlerde ilgi görmeye başlayan bağırsak mikrobiyotasıyla ilgili araştırmalara paralel olarak bu protozoonun insan bağırsak mikrobiyotasının doğal bir üyesi olup olmadığı sorusunu gündeme getirmiştir[19]. Bağırsaklarda PZT uygulanmadan da yoğun olarak bulunduğu bilinen *Blastocystis* ile birlikte, *D. fragilis*'in insan sağlığı için yararlı mı zararlı mı olduğu araştırmacıların güncel ilgi alanlarındandır.

Bu çalışmanın amacı, İstanbul şehir merkezindeki bir laboratuvara gönderilen hastalara ait dışkı örnekleri ve bu hastalar ile yaş ve cinsiyet uyumu içindeki sağlıklı gönüllülerin bağışladığı dışkı örneklerinde, laboratuvarımızda geliştirdiğimiz 18S-rRNA bölgesine özgü primerler kullanılarak *D. fragilis* prevalansının konvansiyonel PZT yöntemiyle araştırılması ve sonuçların bireylere ait özellikler üzerinden karşılaştırmalı olarak irdelenmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

İstanbul'da yer alan Acıbadem Sağlık Grubu'na bağlı hastanelere çeşitli yakınmalar ile başvuran ve tanı amacıyla dışkı örnekleri aynı hastanelerin klinik labo-

ratuvarları üzerinden Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları Mikrobiyoloji Bölümü'ne sevk edilen 184 hastanın [91 erkek (%49.4), 93 kadın (%50.6)] dışkı örneği ile çalışmadaki hastalarla yaş ve cinsiyet uyumu bulunan 156 sağlıklı gönüllüden [75 erkek (%48.1), 81 kadın (%51.9)] toplanan dışkı örneği çalışmada kullanılmıştır. Dışkı örnekleri DNA izolasyonu öncesi -20°C'de saklanmış, çalışma günü çözünmeleri sonrası dışkıdan DNA izolasyonu yapan bir kit (QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Almanya)" kullanılarak, üretici firmanın önerildiği protokole göre DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıbbi Araştırma Etik Kurulu'nca incelenip onaylanmıştır (Karar No: 2016-3/34).

Primer Dizaynı ve Polimeraz Zincirleme Tepkimesi

Dientamoeba fragilis'in GenBank verileri kullanılarak, 18S ribosomal RNA gen bölgesine (JQ677149.1) uygun özgün primerler tasarlayabilmek amacıyla NCBI Primer - BLAST (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) programı kullanılmıştır (Tablo 1).

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun İçeriği

Dientamoeba fragilis için PZT optimizasyon çalışmaları pozitif kontrol örneği kullanılarak yapılmış ve PZT içeriği ve optimize edilen protokolün koşulları sırasıyla Tablo 2 ve 3'te gösterilmiştir.

SYBR Gold ile eklenen PZT ürünleri %1.5'luk agaroz jelde 120V'da 400 mA'de 40-45 dk. yürütümüş ve Bio-Rad Chemidoc MP (ABD) jel görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.

İstatistiksel Analiz: Sonuçların istatistiksel açıdan karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanılmış ve iki grup arasındaki farkın %5'ten küçük olması ($p<0.05$) anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışma grubundaki (ÇG) 184 kişinin 91'i erkek (%49.4), 93'ü kadın (%50.6) iken, sağlıklı gönüllülerden oluşan Kontrol Grubu'ndaki (KG) 156 kişinin 75'i erkek (%48.1), 81'i (%51.9) kadındı. Uygulanan konvansiyonel PZT sonucunda *D. fragilis*'e ÇG'de %8.2 (15/184), KG'de ise %26.9 (42/156) oranında rastlanmıştır ki iki grup arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). ÇG'deki 15 *D. fragilis*-pozitif kişiden 9'unun (%60), kontrol grubundaki 42 *D. fragilis*-pozitif kişinin ise 22'sinin (%52.4) erkek olduğu belirlenirken, ÇG'da *D. fragilis* saptanan kadınların yaş ortalamalarının erkeklerden ve KG'deki tüm bireylerden yüksek olduğu dikkat çekmiştir. Yaş ortalamaları bakımından *D. fragilis*-pozitif bireylerin genellikle çocuk ya da genç oldukları belirlenmiştir (Şekil 1).

Tablo 1. *Dientamoeba fragilis* 18S rRNA bölgesine özgü primer dizileri.

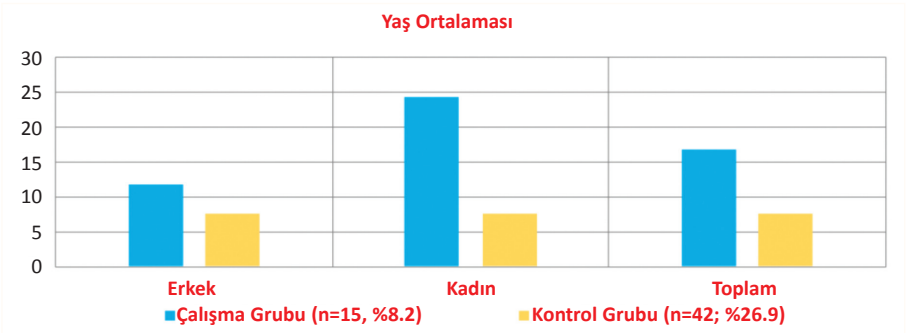
Çoğaltılan DNA Bölgesi	Primer	Sekans (5' 3')	Ürün Boyutu (baz çifti)	Referans
18S rRNA	İleri Geri	GAGACTATCGGAGGTGGTAATG CGCTGTTCGCCATGAAATAG	385	Bu çalışma için özel geliştirilmiştir.

Tablo 2. PZT için hazırlanan içerik.

İçerik	Miktar
10X Tampon Çözeltisi	2.5 µl
16 mM $MgCl_2$	2.5 µl
0.5 mM dNTP	2.5 µl
10 pmol ileri yönde primer	1 µl
10 pmol geri yönde primer	1 µl
5 u/µl Taq DNA polimeraz	1 µl
Genomik DNA	4 µl

Tablo 3. Uygulanan PZT koşulları.

Sıcaklık	Süre	Döngü
95˚C	3 dk	
95°C	30 sn	40
57°C	30 sn	
72°C	1 dk	
72°C	3 dk	-



Şekil 1. Çalışmada *Dientamoeba fragilis* yönünden pozitif bulunan bireylerin yaş ortalamaları.

Tablo 4. Çalışma grubunda yer alan *Dientamoeba fragilis*-pozitif 15 hastanın başvuru sırasındaki yakınmaları.

Yakınmalar	n	%
İshal	11	73.3
İştahsızlık	10	66.7
Karın ağrısı	9	60.0
Karında gaz ve şişkinlik	6	40.0
Bulantı ve/veya kusma	5	33.3
Kabızlık	4	26.7
Kaşıntı ve/veya deri döküntüsü	3	20.0
Yüksek ateş	1	0.7

Çalışma grubunda *D. fragilis* saptanmış bireylerin hastaneye başvurma yakınmaları incelendiğinde, yarıdan fazlasında ishal, iştahsızlık ve karın ağrısı bulunduğu, üçünün ise dermatolojik yakınmalarla hekime başvurduğu belirlenmiştir (Tablo 4). ÇG'deki üç hastanın rutin testlerinde *Salmonella* sp. ve birinde Rotavirüs bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, dışkının salin-Lugol ve konsantrasyon yöntemi (Feconomics®) ile yapılan rutin incelemelerinde hiçbir hastada başka herhangi bir protozoon ya da helminte rastlanılmadığı belirtilmiştir.

TARTIŞMA

İlk kez tanımlanıp bilim dünyasına sunulmasının üzerinden 100 yılı aşkın bir zaman geçen *D. fragilis*'in insanlarda patojen etkiler gösterip klinik olgulara yol açtığı ile ilgili tartışmalar 1980'li yıllarda başlamıştır[1,2,6-10]. Dünyanın farklı bölgelerinde yapılan ve dışkı yaymalarının trikrom gibi kalıcı boyalarla boyanıp incelendiği ya da kültür sonrası değerlendirildiği klinik çalışmalar sonrası *D. fragilis*'in insanlarda çeşitli gastrointestinal ve daha az sıklıkta dermatolojik yakınmalara yol açabilen patojen bir etken olduğu bildirilmeye başlanmıştır[1,6,8-12]. PZT yönteminin araştırma ve rutin mikrobiyolojik tanı için kullanıma girdiği 2000'lerle birlikte ise *D. fragilis*'in, insanlarda bilinenden çok daha yüksek oranlarda bulunduğu, klinik tabloya yol açsın ya da açmasın, örneğin, her üç çocuktan ikisinde bulunabildiği gösterilmiştir[15-18]. Bir yandan *D. fragilis* saptanan bireylerde herhangi bir klinik tablo oluşmadığını bildiren çalışmalar yayınlanırken[19], eski ve yeni birçok çalışmada ise *D. fragilis*'in in vivo koşullarda patojen etkiler gösterebildiği, klinik tablolara yol açabildiği, hastaların uygun antimikrobiyallerle tedavisi sonrasında klinik tablolarda düzelme görülebildiği bildirilmektedir[11,12,21,22].

Son yıllarda yoğun ilgi gören araştırma yöntemlerinden Yeni Nesil DNA Dizileme Analizi ile yapılan insan bağırsak mikrobiyotasına yönelik çalışmalar, bağırsakta sık bulunan iki ökaryot olan *Blastocystis* ile birlikte *D. fragilis*'in de bağırsak mikrobiyotasındaki rolleri konusunda yeni görüşler ortaya atılmasına yol açmıştır. Çoğunlukla *Blastocystis*'i saptamak için yürütülen çalışmalar, patojenitesi halen tartışmalı bir bağırsak protozoonu olan *Blastocystis*'in, hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre daha düşük oranlarda bulunduğunu, *Blastocystis* saptanan bireylerin bağırsak mikrobiyotalarında, sağlıklı kişilerdeki gibi yüksek mikrobiyal çeşitlilik olduğunu ve çeşitlilik azaldıkça *Blastocystis*'in de zamanla kaybolduğunu

göstermektedir[23-26]. Bu durumu açıklamak amacıyla ileri sürülen bir varsayıma göre, vücut büyüklüğü ve genom hacmi bakımından bağırsaktaki bakterilerin onlarca kat üstünde olan protozoonlar, bakteriler arası savaşı azaltarak bağırsak mikrobiyotasındaki çeşitliliği artırmakta protozoonlar olmadığında ise ortama egemen olan bakteri türü diğer türleri engellediği için mikrobiyal çeşitlilik azalmaktadır[27]. Ülseratif kolit hastası bireylerde yapılan bir izlem çalışmasında, *Blastocystis* ile birlikte *D. fragilis*'in hastalığın aktif dönemlerinde kaybolduğu, iyileşme dönemlerinde dışkıda saptandığı gösterilmektedir[28].

Çalışmamızın sonuçları *D. fragilis*'in herhangi bir yakınması olmayan sağlıklı bireylerde çok daha yüksek oranda bulunduğunu göstermektedir. Bu bulgular, yakın tarihli Avrupa'dan iki çalışmanın[17,29] bulgularıyla aynı yönde olup *D. fragilis*'in tanı için uygulanan rutin moleküler testlere dâhil olabilecek patojen bir protozoon olarak değerlendirilmemesi gerektiğini işaret etmektedir. Birçok çalışmada, *D. fragilis*'in çocukluk çağında yaygın olduğu, ileri yaşlarda görülme sıklığının azaldığı bildirilmiştir[15,17,29]. Çalışmamızın bulguları da bu yönde olup *D. fragilis*-pozitif olduğu saptanan her iki gruptaki toplam 57 kişinin 55'inin (%96.5) çocukluk yaş grubunda olduğu saptanmıştır.

Dientamoeba fragilis'in insanlarda patojen etkiler gösterip çeşitli klinik semptomlara yol açtığını gösteren çalışmalar çok sayıda çalışma mevcuttur[7,10,11,21,30]. Bu çalışmaların tamamında hastaların başlıca yakınmaları gastrointestinal sisteme ait olup, ishal, karın ağrısı, iştahsızlık, gaz ve şişkinlik en sık bildirilen yakınmalardır[1,7,8,11]. Çalışmamızda, hastaların başlıca yakınmaları ishal, iştahsızlık, karın ağrısı ve şişkinlik olarak belirlenmiş olup, diğer çalışmalarla uyumludur. Bunun yanında, 3 olgunun (%20) yalnızca dermatolojik yakınmalarla başvurması dikkat çekicidir; *D. fragilis*'in klinik tablo oluşturduğu bazı olgularda yalnızca (kaşıntı, döküntü, ürtiker gibi) dermatolojik yakınmalara yol açtığı önceden de bildirilmişti[1,11,30]. Bu tarz yakınmaları olan hastalarda dışkının parazitolojik incelemesi de önerilmelidir.

Dientamoeba fragilis'in birçok protozoonda bulunduğu gösterilmiş sistein proteazlar gibi patojen etkiler yaratan enzimlere sahip olup olmadığı henüz bilinmediğinden hangi koşullarda patojen etkiler gösterebildiği, kalprotektin düzeylerinde nasıl artış sağlayabildiği önemli araştırma konularındandır. Öte yandan, sağlıklı bireylerde sık bulunuyor olması *D. fragilis*'in sağlıklı bağırsak florasının doğal üyelerinden olabileceğini de düşündürmektedir. Çalışmanın İstanbul'dan bildirilen ilk çalışma olması ve laboratuvarımızda özgün tasarlanmış primerler ile yapılması önemli sayılabilir. Yeni çalışmalarla *D. fragilis*'in patojen etkilerinin oluştuğu koşulların ortaya çıkarılmasına katkıda bulunulması, bu amaçla hastaların saklanan DNA örnekleriyle yeni nesil sekans analizi yapılması ve sonucun disbiyoz yönünden değerlendirilmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. Emerging from obscurity: Biological, clinical and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. Clin Microbiol Rev. 2004;17(3):553-70. https://doi.org/10.1128/CMR.17.3.553-570.2004
2. Garcia LS. *Dientamoeba fragilis*, one of the neglected intestinal protozoa. J Clin Microbiol. 2016;54(9):2243-50. https://doi.org/10.1128/JCM.00400-16
3. Garcia LS, Bruckner DA. Intestinal Protozoa: Flagellates and Ciliates. In: "Diagnostic Medical Parasitology". American Society for Microbiology, Washington DC 2. Baskı, 1993:31-48.
4. Clark CG, Diamond LS. Methods for the cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. Clin Microbiol Rev. 2002;15(3):329-41. https://doi.org/10.1128/cmr.15.3.329-341.2002
5. Camp RR, Mattern CF, Honigberg BM. Study of *Dientamoeba fragilis* Jepps&Dobell. I. Electronmicroscopic observations of the binucleate stages. İİ. Taxonomic position and revision of the genus. J Protozool. 1974;21(1):69-82. https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1974.tb03619.x
6. Ockert G. Symptomatology, pathology, epidemiology, and diagnosis of *Dientamoeba fragilis*. In: Honinberg BM (eds) Trichomonads parasitic in humans. Springer Publications. New York, 1990:394- 410.
7. Girginkardeşler N, Coşkun Ş, Balcıoğlu İC, Ertan P, Ok ÜZ. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. Clin Microbiol Infect. 2003;9(2):110-3.

https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2003.00504.x
8. Cuffari C, Oligny L, Seidman EG. *Dientamoeba fragilis* masquerading as allergic colitis. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1998; 26(1):16-20. https://doi.org/10.1097/00005176-199801000-00003
9. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Detection of *Dientamoeba fragilis* in fresh stool specimens using PCR. Int J Parasitol. 2005;35(1):57-62. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.09.003
10. Preiss U, Ockert G, Broemme S, Otto A. On the clinical importance of *Dientamoeba fragilis* infections in childhood. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol. 1991;35(1):27-34.
11. Kurt O, Ok ÜZ. *Dientamoeba fragilis* ile enfekte hastaların genel özellikleri: Manisa ilinden yüz hastalık kohortun inceleme sonuçları. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2012:18:A145-9. https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.6080
12. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. A review of the clinical presentation of dientamoebiasis. Am J Trop Med Hyg. 2010;82(4): 614-9. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0478.
13. Yang J, Scholten TH. *Dientamoeba fragilis*: a review with notes on its epidemiology, pathogenicity, mode of transmission, and diagnosis. Am J Trop Med Hyg 1977;26(1):16-22. https://doi.org/10.4269/ajtmh.1977.26.16
14. Windsor JJ, Rafay AM, Srenoy AK, Johnson EH. The incidence of *Dientamoeba fragilis* in faecal samples submitted for routine microbiological analysis. Br J Biomed Sci. 1998;55(3):172-5.
15. Röser D, Simonsen J, Nielsen HV, Stensvold CR, Mølbak K. *Dientamoeba fragilis* in Denmark: epidemiological experience derived from four years of routine real-time PCR. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013;32(10):1303-10. https://doi.org/10.1007/s10096-013-1880-2
16. Enserink R, Scholts R, Bruijning-Verhagen P, et al. High detection rates of enteropathogens in asymptomatic children attending day care. PLoS One. 2014:24;9(2):e89496. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089496
17. Jokelainen P, Hebbelstrup Jensen B, et al. *Dientamoeba fragilis*, a commensal in children in Danish day care centers. J Clin Microbiol. 2017;55(6):1707-13. https://doi.org/10.1128/JCM.00037-17
18. Pietilä JP, Meri T, Siikamäki H, et al. *Dientamoeba fragilis* - the most common intestinal protozoan in the Helsinki Metropolitan Area, Finland, 2007 to 2017. Euro Surveill. 2019;24(29):1800546. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.29.1800546
19. Chabé M, Lokmer A, Ségurel L. Gut protozoa: Friends or foes of the human gut microbiota: Trends Parasitol. 2017;33(12);925-34. https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.08.005
20. Brands MR, Van de Vijver E, Haisma SM, et al. No association between abdominal pain and *Dientamoeba* in Dutch and Belgian children. Arch Dis Child. 2019;104(7):686-9. https://doi.org/10.1136/archdischild-2018-316383
21. Aykur M, Armagan G, Vardar R, Dagci H. Fecal calprotectin as a factor that supports the pathogenicity of *Dientamoeba fragilis*. Microb Pathog. 2019;139: 103868. https://doi.org/ 10.1016/j.micpath.2019.103868
22. El-Gayar EK, Mokhtar AB, Hassan WA. Study of the pathogenic potential of *Dientamoeba fragilis* in experimentally infected mice. Parasite Epidemiol Control. 2016;1(2):136-43. https://doi.org/ 10.1016/j.parepi.2016.05.002
23. Stensvold CR, van der Giezen M. Associations between gut microbiota and common luminal intestinal parasites. Trends Parasitol. 2018;34(5):369-77. https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.02.004
24. Nagel R, Traub RJ, Allcock RJ, Kwan MM, Bielefeldt-Ohmann H. Comparison of faecal microbiota in *Blastocystis*-positive and *Blastocystis*-negative irritable bowel syndrome patients. Microbiome. 2016;4(1):47. https://doi.org/10.1186/s40168-016-0191-0
25. Berrilli F, Di Cave D, Cavallero S, D'Amelio S. Interactions between parasites and microbial communities in the human gut. Front Cell Infect Microbiol. 2012;2:141. https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00141
26. Nourrisson C, Scanzi J, Pereira B, et al. *Blastocystis* is associated with decrease of fecal microbiota protective bacteria: comparative analysis between patients with irritable bowel syndrome and control subjects. PLoS One. 2014;9(11):e111868. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111868
27. Laforest-Lapointe I, Arrieta MC. Microbial eukaryotes: a missing link in gut microbiome studies. mSystems. 2018;3(2):e00201-17. https://doi.org/10.1128/mSystems.00201-17
28. Petersen AM, Stensvold CR, Mirsepasi H, et al. Active ulcerative colitis associated with low prevalence of *Blastocystis* and *Dientamoeba fragilis* infection. Scand J Gastroenterol. 2013;48(5):638-9. https://doi.org/10.3109/00365521.2013.780094
29. de Boer MD, Schuurs TA, Vermeer M, et al. Distribution and relevance of *Dientamoeba fragilis* and *Blastocystis* species in gastroenteritis: results from a case-control study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020;39(1):197-203. https://doi.org/10.1007/s10096-019-03710-z
30. Vezir S, Kaya F, Vezir E, Karaosmanoğlu N, Adiloğlu AK. Evaluation of intestinal parasites in patients with chronic spontaneous urticaria in a territory hospital in Turkey. J Infect Dev Ctries. 2019;31;13(10):927-32. https://doi.org/10.3855/jidc.11552

KONU DİZİNİ

Cilt/Volume 50, 2020

A
Akciğer, 112
Akılcı Laboratuvar Kullanımı Projesi, 78
Anti-HCV, 78
Antibiyotik direnci, 1,27,156,172,225
Antibiyotik duyarlılık testleri, 1
Antibiyotik duyarlılık, 148
Antikor yanıtı, 108
Antileishmanial, 141
Antimikrobiyal direnç, 44
Antiparaziter ilaç, 234

B
Bağışıklık, 183
Bakteriyel vajinoz, 218
Beden kütle indeksi, 218
Bibliyometrik analiz, 225
Bitki virüsleri, 192
Boncuklu saklama tüpü, 70

C
Candida albicans, 95
Candida, 70
Cat, 27
Covid-19, 183

Ç
Çoklu PCR, 21

D
Demodex, 63
Dientamoeba fragilis, 244
Direnç testleri, 141
Direnç, 134,234

E
E-test, 44
Elazığ, 100
Entamoeba gingivalis, 204
Enterobacteriaceae, 134
Epidemiyoloji, 21
Escherichia coli, 172
Eşeyli üreme, 95

G
Gebelik, 211
GeneXpert MTB/RIF, 10
Genom organizasyonu, 192
GZ-PZR, 56,86

H
HCV-RNA, 78
HIV/AIDS, 100

I
IgG avidite, 35
Itrakonazol, 178

İ
İmmünglobulin M, 108

K
Kanin Leishmaniasis, 234
Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae,* 164
Karbapenem, 134
Kızamık, 108
Kirby-Bauer, 44
Klebsiella aerogenes, 156
Klonlama vektörü, 27
Kloramfenikol, 27
Kolistik MİK düzeyi, 164
Kolistin direnci, 164
Kolistin, 225
Kronik süpüratif otitis media, 148
Kryoterapi, 178
Kutanöz Leishmaniasis, 49,141,178

L
Leishmania besiyerleri, 49
Leishmania spp., 56
Leishmania tropica, 234
Leishmania, 86

M
Maya, 70
Moleküler biyoloji, 192
Moleküler tanı, 10
MTL lokus, 95
Mutasyon biriktirme, 156
Mutasyon hızı, 156
Mutasyon spektrumu, 156
Mycobacterium tuberculosis kompleks, 10

O
Obezite, 218
Olea europaea, 141

P
Patogenez, 183
Periodontal hastalık, 204
Periodontitis, 204
Plasmodium spp., 56
Pnömoni, 112
Prevalans, 100,244
PZT, 244

R
Refleks testi, 78
Rothia, 112
Rubella, 35,211

S
Salgın, 117
SARS-CoV-2, 183
Selefon bant yöntemi, 63
Serolojik göstergeler, 211
Sitokrom B, 86
Sitomegalovirus enfeksiyonu, 35
Sitomegalovirüs, 211
Solunum yolu verüsleri, 21
Standart yüzeyel deri biyopsisi, 63
Staphylococcus aureus, 148
Stenotrophomonas maltophilia, 44
Streptomisin, 156

T
Tanısal algoritma, 78
Tarihçe, 1
Toksoplazma, 35,211
Toxoplasma gondii, 56
Tüberküloz, 10
Türkiye, 49,141,234

Ü
Üriner sistem enfeksiyonları, 172

V
Virulans, 95

Y
Yeni virüsler, 117
Yeniden önem kazanan virüsler, 117

SUBJECT INDEX

Cilt/Volume 50, 2020

A
Anti-HCV, 78
Antibiotic resistance, 1,27,156
Antibiotic susceptibility tests, 1
Antibiotic susceptibility, 148
Antibiotic, 172
Antibiotics resistance, 225
Antibody response, 108
Antileishmanial, 141
Antimicrobial resistance, 44
Antiparasitic drug, 234

B
Bacterial vaginosis, 218
Bibliometric analysis, 225
Body mass index, 218

C
Candida albicans, 95
Candida, 70
Canine Leishmaniasis, 234
Carbapenem-resistant
Klebsiella pneumoniae, 164
Carbapenem, 134
Cat, 27
Cellophane tape method, 63
Chloramphenicol, 27
Chronic suppurative otitis media, 148
Cloistin resistance, 164
Cloning vector, 27
Colistin MIC level, 164
Colistin, 225
Covid-19, 183
Cryobank vials with beads, 70
Cryotherapy, 178
Cutaneous Leishmaniasis, 49,141,178
Cytochrome B, 86
Cytomegalovirus infections, 35

D
Demodex, 63
Diagnostic algorithm, 78
Dientamoeba fragilis, 244

E
E-test, 44
Elazığ, 100
Emerging viruses, 117
Entaboeba gingivalis, 204
Enterobacteriaceae, 134
Epidemiology, 21
Escherichia coli, 172

G
GeneXpert MTB/RIF, 10
Genom organization, 192

H
HCV-RNA, 78
History, 1
HIV/AIDS, 100

I
IgG avidity, 35
Immunity, 183
Immunoglobulin M, 108
Istanbul, 244
Itraconazole, 178

K
Kirby-Bauer, 44
Klebsiella aerogenes, 156

L
Leishmania culture media, 49
Leishmania spp., 56
Leishmania, 86
Leismania tropica, 234
Lung, 112

M
MAT locus, 95
Measles, 108
Molecular diagnosis, 10
Moleculer biology, 192
Multiplex PCR, 21
Mutation accumulation, 156
Mutation rate, 156
Mutation spectrum, 156
Mycobacterium tuberculosis complex, 10

O
Obesity, 218
Olea europaea, 141
Outbreak, 117

P
Pathogenesis, 183
PCR, 244
Periodontal disease, 204
Periodontitis, 204
Plant viruses, 192
Plasmodium spp., 56
Pneumonia, 112
Pregnancy, 211
Prevalence, 100,244

R
Rational Laboratory Use Project, 78
Re-emerging viruses, 117
Reflex testing, 78
Resistance tests, 141
Resistance, 134,172,234
Respiratory system viruses, 21
Rothia, 112
RT-PCR, 56,86
Rubella, 35,211

S
SARS-CoV-2, 183
Serological indicators, 211
Sexual repdoduction, 95
Sitomegalovirus, 211
Standard superficial skin biopsy, 63
Staphylococcus aureus, 148
Stenotrophomonas maltophilia, 44
Streptomycin, 156

T
Toxoplasma gondii, 56
Toxoplasmosis, 35
Tuberculosis, 10
Turkey, 49,141,234

U
Urinary tract infection, 172

V
Virulence, 95

Y
Yeast, 70

YAZAR DİZİNİ / AUTHORS INDEX

Cilt/Volume 50, 2020

A
Akkuş S, 35
Aksakal A, 148
Aktaş D, 95
Akyar I, 244
Arıbal Çelik M, 95
Aşçı Toraman Z, 100
Avcıoğlu F, 172
Aygar İS, 164
Aytaç Ö, 100

B
Başara R, 178
Başkol D, 108
Başustaoğlu AC, 1
Baykan Z, 63
Behçet M, 172
Bektöre B, 70
Bıyık İ, 134
Birinci A, 134
Boran CC, 204
Bozdayı G, 117
Bozdoğan B, 27
Bulut Z, 218

C
Cat S, 244

Ç
Çavuş İ, 49,56,86,141, 178,234
Çelebi Ç, 141
Çelik C, 211
Çetinkaya Ü, 63
Çınar C, 134
Çubuk F, 211

D
Demir E, 35
Demir Y, 49
Demircan F, 78
Demirci M, 183
Dinç HÖ, 35
Döğen A, 95

E
Erdem HA, 108
Ergin S, 35
Esen N, 10
Esenkaya Taşbent F, 204

G
Gazel D, 218
Göker Bağca B, 86
Gümral R, 70
Gümüş M, 192
Gündüz C, 86,141
Güneş N, 192

H
Habip Z, 44
Haghi M, 141
Harman M, 86
Hasbek M, 211
Hilmioğlu Polat S, 95
Hoşbul T, 70

İ
İlkit M, 95
İnce G, 1

K
Kadı H, 112
Karabiber N, 112
Kaya T, 86
Kayalar H, 141
Kocagöz T, 244
Kocazeybek BS, 35
Koç E, 218
Koçoğlu ME, 44
Kurt Ö, 56,244
Kuşkucu MA, 21
Küçükyıldırım S, 156
Küpeli H, 78

M
Mete B, 21
Midilli K, 21

N
Nalça Erdin B, 112

O
Oğuzkaya Artan M, 63
Okalın ŞŞ, 148
Oryaşin E, 27
Oyur T, 56

Ö
Öktem Okullu S, 244
Öner P, 100
Özbey D, 35
Özbilgin A, 49,56,86,141, 178,234
Özçelik S, 178
Özekinci T, 44
Özel Y, 178
Özen NM, 244
Özgüler M, 100
Özkarataş E, 10
Özkarataş MH, 10
Özkütük AA, 10

P
Perk NE, 234
Pullukçu H, 108

S
Salih H, 27
Sarzhanova S, 117
Sirekbasan S, 225
Sürer Nurdağı Ş, 244
Süzük Yıldız S, 225

Ş
Şahiner F, 70
Şenol FF, 100

T
Tabak F, 21
Tanrıverdi Çaycı Y, 134
Taşbakan M, 108
Taşçılar MO, 44
Taşkın Kafa AH, 211
Tekin K, 70
Tosun S, 78

Ü
Ünlü M, 178
Ünlü Ö, 183
Ünübol N, 244

Y
Yıldırım A, 86
Yıldırım RV, 1
Yiğit A, 183
Yiş R, 78

Z
Zeyrek FD, 183
Zeytinoğlu A, 108

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.