

Cilt / Volume 51

Sayı / Number 3

Eylül / September 2021

ISSN 0258-2171

e-ISSN 2458-7516



Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✓ Anaerob Bakterilerde Metronidazole Direnç ve *nim* Genleri
- ✓ SARS-CoV-2: Bildiklerimiz, Bilmediklerimiz
- ✓ Pandemi Döneminde İhmal Edilen Enfeksiyonlar
- ✓ HIV Negatif İmmüno Kompromize Hastaların Bronkoalveolar Lavaj Örneklerinde *Pneumocystis jirovecii* ve Diğer Etkenler
- ✓ Aromaterapötik Gül Uçucu Yağının Bakteriyel Quorum Sensing ve Biyofilm Üretimine Karşı İnhibisyon Etkileri
- ✓ Klinik Örneklerden İzole Edilen *Streptococcus agalactiae* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY



Cilt / Volume 51

Sayı / Number 3

Eylül / September 2021



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 51 Sayı / Number 3 Eylül / September 2021

Editör / Editor in Chief

Çağrı Ergin

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli
0000-0001-7783-8723

Bölüm Editörleri / Section Editors

Sebahat Aksaray; Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul
0000-0002-0552-1337

Nilay Çöplü; Kastamonu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kastamonu
0000-0003-1956-1417

Ebru Evren; Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-7615-0521

Bedia Dinç; Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara
0000-0001-8318-2556

Ramazan Gümrâl; Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-2303-8234

Derya Dirim Erdoğan; Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0001-6927-9917

Özgür Kurt; Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-5584-517X

Gürhan Çiftçioğlu; İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Teknokent, 3. Kat No.324 Avcılar, İstanbul
0000-0001-6927-9917

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
Orcid no: 0000-0001-7783-8723
Tel: 0258 296 24 91
e-posta: tmcdditor@gmail.com
www.tmc-online.org

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

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

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

Yayın Türü: Yerel Süreli

Basım Yeri / Printed by

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



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

Danışmanlar Kurulu / Advisory Board

Ulaş Acaröz, Afyon Kocatepe Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Besin,
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyon
0000-0002-1533-4519

Ali Kudret Adiloğlu, Ankara Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara
0000-0001-9434-1049

Sinem Akçalı, Manisa Celâl Bayar Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa
0000-0001-7090-2673

Altan Aksoy, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara
0000-0001-7939-3481

Yaşar Andelib Aydın, Marmara Üniversitesi,
Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü,
İstanbul
0000-0002-6849-9106

Gülşay Merve Bayrakal, İstanbul Üniversitesi-
Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Besin
Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-2015-7182

Rukiye Berkem, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara
0000-0002-7035-4723

Ali Savaş Bülbül, Kahramanmaraş Sütçü İmam
Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji
Anabilim Dalı, Kahramanmaraş
0000-0002-2200-7348

Nural Cevahir, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-8764-7701

Ahmet Çalışkan, Pamukkale Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli
0000-0002-1156-3787

Cengiz Çavuşoğlu, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0001-7152-5216

Çiğdem Kekik Çınar, İstanbul Üniversitesi,
İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
İstanbul
0000-0003-2098-381X

Ahmet Yılmaz Çoban, Akdeniz Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Fakültesi, Toplum Beslenmesi
Anabilim Dalı, Antalya
0000-0002-8815-6063

Melek Demir, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli
0000-0002-1551-9265

Gülfem Ece, İzmir Ekonomi Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0003-4869-8199

Sevgi Ergin, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, İstanbul
0000-0003-2039-3078

Duygu Fındık, Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya
0000-0002-0342-0364

Selma Gökahmetoğlu, Erciyes Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Kayseri
0000-0002-7747-6045

Deniz Gür, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-7504-8450

Mustafa Necmi İlhan, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara
0000-0003-1367-6328

Macit İlkit, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana
0000-0002-1174-4182

Ayşe Kalkancı, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0003-0961-7325

Zeynep Ceren Karahan, Ankara Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-7727-3363

Onur Karatuna, Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0001-7061-2246

Selçuk Kaya, Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve
Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
İzmir
0000-0002-8637-6345

Sema Aşkın Keçeli, Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli
0000-0002-2014-6395

Erhan Keyhan, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı, Burdur
0000-0002-2981-437X

Bekir Kocazeybek, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0003-1072-3846

Hatice Güven Külekçi, İstanbul Üniversitesi, Dış Hekimliği
Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-7391-1310

Dilek Yeşim Metin, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0002-7282-5031

Fatma Savran Oğuz, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp
Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-6018-8936

Müşerref Tatman Otkun, Çanakkale Onsekiz Mart
Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Çanakkale
0000-0001-8977-1140

Meral Dilara Öğünç, Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya
0000-0001-6669-6811

Betigül Öngen, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0001-9320-590X

Nuri Özkütük, Manisa Celâl Bayar Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa
0000-0002-2848-5914

Ayça Arzu Sayiner, Dokuz Eylül Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0001-6750-2353

İmran Sağlık, Bursa Uludağ Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa
0000-0003-0864-4989

Aynur Eren Topkaya, Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0001-8781-1401

Hrisi Bahar Tokman, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, İstanbul
0000-0002-2205-5120

Nurver Ülger, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-9766-5978

Serap Süzük Yıldız, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu,
Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı,
Ankara
0000-0002-4820-6986

Yakut Akyön Yılmaz, Hacettepe Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-0919-5508

Nisel Yılmaz, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tepecik Eğitim
ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, İzmir
0000-0001-7435-2461

Fatma Elif Çepni Yüzbaşıoğlu, İstanbul Üniversitesi,
Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,
İstanbul
0000-0002-4293-9775



İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Başyazı / Editorial

Çev.: Çağrı ERGİN 189-196

DERLEMELER / REVIEWS

- **Anaerob Bakterilerde Metronidazole Direnç ve *nim* Genleri**
*Metronidazole Resistance and *nim* Genes in Anaerobic Bacteria*
Selahattin ATMACA 197-202
- **SARS-CoV-2: Bildiklerimiz, Bilmediklerimiz**
SARS-CoV-2, What We Know, What We Do Not Know
Hüseyin AKDOĞAN, Tekin KARSLIĞIL 203-213
- **Pandemi Döneminde İhmal Edilen Enfeksiyonlar**
Infectious Diseases Neglected During the Pandemic
Gönül ASLAN, Gamze YAPICI 214-224

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / CLINICAL INVESTIGATIONS

- **HIV Negatif İmmüno Kompromize Hastaların Bronkoalveolar Lavaj Örneklerinde *Pneumocystis jirovecii* ve Diğer Etkenler**
*Detection of *Pneumocystis jirovecii* and Other Agents in Bronchoalveolar Lavage Samples of HIV Negative Immunocompromised Patients*
Nazmiye Ülkü TÜZEMEN, Ezgi DEMİRDÖĞEN, Burcu DALYAN CİLO, Oktay ALVER, Esra KAZAK, Vildan ÖZKOCAMAN, Beyza ENER 225-232
- **Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranları**
*Antibiotic Resistance Rates of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Various Clinical Samples*
Hülya DURAN, Nihan ÇEKEN, Tuğba KULA ATİK 233-238
- **Klinik Örneklerden İzole Edilen *Streptococcus agalactiae* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları**
*Antibiotic Susceptibilities of *Streptococcus agalactiae* Strains Isolated from Clinical Samples*
Kübra EVREN, Hale Ahsen YARDİBİ DEMİR, Fatma Mutlu SARIGÜZEL, Bedia DİNÇ 239-244
- **Aromaterapötik Gül Uçucu Yağının Bakteriyel Quorum Sensing ve Biyofilm Üretimine Karşı İnhibisyon Etkileri**
Inhibitory Effects of Aromatherapeutic Rose Essential Oil Against Bacterial Quorum Sensing and Biofilm Formation
Elif Burcu BALI, Demet ERDÖNMEZ, Mustafa YAVUZ, Ufuk KOCA 245-253

<ul style="list-style-type: none"> • Üriner Sistem Enfeksiyonlarında Etken Bakteriler ve Antibiyotik Direnç Oranları <i>Bacteria That Cause Urinary System Infections and Antibiotic Resistance Rates</i> Banu Hümeýra KESKİN, Emel ÇALIŞKAN, Sare KAYA 	254-262
<ul style="list-style-type: none"> • Farklı Klinik Yakınmalı Hastalarda İzole Hepatit B Kor Antikoru (İzole Anti-Hbc) Pozitifliğinin Retrospektif Değerlendirilmesi <i>Retrospective Evaluation of Isolated Hepatitis B Core Antibody (Isolated Anti-Hbc) Positivity in Patients with Different Clinical Complaints</i> Seher AKKUŞ, Merve CİHAN, Rüyeyda AKÇİN, Doğukan ÖZBEY, Harika Öykü DİNÇ, Tevhide ZİVER, Nesrin GAREAYAGHI, Serhat SİREKBASAN, Suat SARIBAŞ, Mert Ahmet KUŞKUCU, Hrisi Bahar TOKMAN, Bekir S. KOCAZEYBEK 	263-270
<ul style="list-style-type: none"> • Latent Tüberküloz Enfeksiyonu Araştırılan Hastalarda QuantiFERON-TB GOLD Testi ile Tüberkülin Deri Testinin Karşılaştırılması <i>Comparison of QuantiFERON-TB GOLD Test and Tuberculin Skin Test in Patients Investigated for the Presence of Latent Tuberculosis Infection</i> İmge SAY, Burak KÜÇÜK, Filiz ORAK, Murat ARAL, Âdem DOĞANER 	271-275
<ul style="list-style-type: none"> • İstanbul'da, Restoranlarda Döner Kebaplarla Servis Edilen Taze Garnitürlerin Mikrobiyolojik Güvenliğinin Belirlenmesi Üzerine Çalışmalar <i>Assessments on Determining the Microbiological Safety of Fresh Garnishes Served with Doner Kebab in Istanbul Restaurants</i> Ayla ÜNVER ALÇAY 	276-287
<ul style="list-style-type: none"> • Kandidemilerin Hızlı Tanı ve İdentifikasyonunda Direkt Kan Kültür Şişesinden MALDI-TOF MS Yöntemi ve Germ Tüp Testinin Kıyaslanması <i>Comparison of MALDI-TOF MS Method Using Samples From Blood Culture Bottles and Germ Tube Test in Rapid Detection and Identification of Candidemia</i> Kerem YILMAZ, Nurten ALTANLAR 	288-294
<ul style="list-style-type: none"> • Sağlık Programları Öğrencilerinin Antibiyotik Kullanımına İlişkin Bilgi ve Tutumların Üzerine Bir Araştırma <i>A Study on the Knowledge and Attitudes Regarding Antibiotic Usage of Vocational College Students</i> Nazife AKMAN 	295-302
<ul style="list-style-type: none"> • Hepatit C Virüsü Genotiplerinin Retrospektif İncelenmesi <i>Retrospective Evaluation of Hepatitis C Virus Genotypes</i> Harun AĞCA, Beyza ENER, İmran SAĞLIK 	303-308
YAZARLARA BİLGİ	VII-VIII

Editorial

Primary doi:10.1136/bmj.n1734

Lukoye Atwoli, editor in chief, East African Medical Journal; Abdullah H. Baqui, editor in chief, Journal of Health, Population and Nutrition; Thomas Benfield, editor in chief, Danish Medical Journal; Raffaella Bosurgi, editor in chief, PLOS Medicine; Fiona Godlee, editor in chief, The BMJ; Stephen Hancocks, editor in chief, British Dental Journal; Richard Horton, editor in chief, The Lancet; Laurie Laybourn-Langton, senior adviser, UK Health Alliance on Climate Change; Carlos Augusto Monteiro, editor in chief, Revista de Saúde Pública; Ian Norman, editor in chief, International Journal of Nursing Studies; Kirsten Patrick, interim editor in chief, CMAJ; Nigel Praities, executive editor, Pharmaceutical Journal; Marcel GM Olde Rikkert, editor in chief, Dutch Journal of Medicine; Eric J. Rubin, editor in chief, NEJM; Peush Sahni, editor in chief, National Medical Journal of India; Richard Smith, chair, UK Health Alliance on Climate Change; Nick Talley, editor in chief, Medical Journal of Australia; Sue Turale, editor in chief, International Nursing Review; Damián Vázquez, editor in chief, Pan American Journal of Public Health.

Corresponding email: laurie.laybourn@ukhealthalliance.org

Başyazı

10.5222/TMCD.2021.001

Çeviri: Çağrı Ergin, Editör

Bu makale, yukarıda orijinal metni bulunan ve dünyanın farklı Sağlık Dergileri Editörleri tarafından hazırlanan editöryal metnin tercümesi olup, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yönetim Kurulu tarafından kabul edilerek, uluslararası ve eşzamanlı bir şekilde yayını yapılmıştır. Katılımlar için bağlantı aşağıda verilmiştir:

<https://www.bmj.com/content/full-list-authors-and-signatories-climate-emergency-editorial-september-2021>

Bu metin, "Sağlık Dergileri Editörleri Uluslararası Komitesi'nin <http://www.icmje.org/recommendations/browse/publishing-and-editorial-issues/overlapping-publications.html#three> kurallarına uygun olarak yayınlanmıştır.

Türk Mikrobiyol Cemiy Derg
tmcdeditor@gmail.com

Call for emergency action to limit global temperature increases, restore biodiversity, and protect health

Wealthy nations must do much more, much faster

The UN General Assembly in September 2021 will bring countries together at a critical time for marshalling collective action to tackle the global environmental crisis. They will meet again at the biodiversity summit in Kunming, China, and the climate conference (COP26) in Glasgow, UK. Ahead of these pivotal meetings, we—the editors of health journals worldwide—call for urgent action to keep average global temperature increases below 1.5°C, halt the destruction of nature, and protect health.

Küresel sıcaklık artışını sınırlamak, biyoçeşitliliği eski hâline getirmek ve insan sağlığını korumak için acil eylem çağrısı

Zengin uluslar çok daha fazlasını, çok daha hızlı yapmalıdırlar

Eylül 2021'de toplanacak olan BM Genel Kurulu, küresel çevre kriziyle başa çıkmaya yönelik toplu bir eylem yapmak için ülkeleri, tüm dünya için kritik olan şu günlerde bir araya getirecek. Bu ülkeler; Çin, Kunming'deki biyoçeşitlilik zirvesinde Glasgow, İngiltere'de düzenlenecek olan iklim konferansında (COP26) tekrar buluşacaklar. Bu önemli toplantıların öncesinde, dünya çapındaki Sağlık Dergilerinin Editörleri olarak, ortalama küresel sıcaklık artışlarını 1,5°C'nin altında tutmak, doğanın tahrip edilmesine engel olmak ve insan sağlığını korumak için acil bir eylem çağrısında bulunuyoruz.



Health is already being harmed by global temperature increases and the destruction of the natural world, a state of affairs health professionals have been bringing attention to for decades.¹ The science is unequivocal; a global increase of 1.5°C above the pre-industrial average and the continued loss of biodiversity risk catastrophic harm to health that will be impossible to reverse.^{2,3} Despite the world's necessary preoccupation with covid-19, we cannot wait for the pandemic to pass to rapidly reduce emissions.

Reflecting the severity of the moment, this editorial appears in health journals across the world. We are united in recognising that only fundamental and equitable changes to societies will reverse our current trajectory.

The risks to health of increases above 1.5°C are now well established.² Indeed, no temperature rise is "safe." In the past 20 years, heat related mortality among people aged over 65 has increased by more than 50%.⁴ Higher temperatures have brought increased dehydration and renal function loss, dermatological malignancies, tropical infections, adverse mental health outcomes, pregnancy complications, allergies, and cardiovascular and pulmonary morbidity and mortality.^{5,6} Harms disproportionately affect the most vulnerable, including among children, older populations, ethnic minorities, poorer communities, and those with underlying health problems.^{2,4}

Global heating is also contributing to the decline in global yield potential for major crops, falling by 1.8-5.6% since 1981; this, together with the effects of extreme weather and soil depletion, is hampering efforts to reduce undernutrition.⁴ Thriving ecosystems are essential to human health, and the widespread destruction of nature, including habitats and species, is eroding water and food security and increasing the chance of pandemics.^{3,7,8}

Küresel sıcaklık artışı ve dünyanın tahrip edilmesi nedeniyle insan sağlığının zaten zarar görüyor olması, sağlık profesyonellerinin yıllardır dikkat çektiği bir durumdur⁽¹⁾. Bilim kesindir; sanayi öncesi ortalamada hava sıcaklığında 1,5°C'nin üzerinde küresel bir artış olması ve biyoçeşitlilik kaybının devam etmesi, dünyanın sağlığına yeniden kavuşturulmasını imkânsız kılacak kadar kötü zarar verme riskini taşıyor^(2,3). Tüm dünya covid-19 ile mücadele etmesine rağmen, emisyonu hızla azaltmak için pandeminin sona ermesini bekliyoruz.

İçinde bulunduğumuz durumun ciddiyetini yansıtan bu başyazı, dünyanın dört bir yanındaki sağlık dergilerinde yer almaktadır. Sadece dünyamız için yapılacak temel ve adil değişikliklerin, mevcut gidişatımızı tersine çevireceği konusunda hepimiz hemfikiriz.

Artık, 1,5°C'nin üzerindeki sıcaklık artışlarının insan sağlığına yönelik riskleri iyice ortaya çıkmıştır⁽²⁾. Aslında hiçbir sıcaklık artışı "güvenli" değildir. Son 20 yılda, 65 yaş üstü kişilerde ısıya bağlı ölüm oranı %50'den fazla arttı⁽⁴⁾. Daha yüksek sıcaklıklar beraberinde artan dehidratasyon, böbrek fonksiyon kayıpları, dermatolojik maligniteler, tropikal enfeksiyonlar, ruh sağlığına olumsuz etkiler, gebelik komplikasyonları, alerjiler, kardiyovasküler ve pulmoner hastalıklarda morbidite ve mortalite artışı getirmiştir^(5,6). Bu sağlık sorunları, çocukları, yaşlı nüfusu, etnik azınlıkları, yoksul toplulukları ve altta yatan sağlık sorunları olanları başta olmak üzere, en savunmasız kişileri orantısız bir şekilde olumsuz etkiler^(2,4).

Küresel ısınma aynı zamanda büyük ekim alanları için küresel verim potansiyelindeki düşüşe de neden olmaktadır. Bu alanlar 1981'den bu yana %1.8-5.6 oranında azalmıştır. Bu durum, aşırı sıcak hava koşullarının ve toprak kaybının etkileriyle birlikte, yetersiz beslenme sorununu giderme çabalarını da engelliyor⁽⁴⁾. Gelişen ekosistemler insan sağlığı için hayati önem taşıyor. Habitatlar ve türler de dâhil olmak üzere doğanın büyük ölçüde tahribi, su ve gıda güvenliğini aşındırıyor ve pandemi olasılığını arttırıyor^(3,7,8).

The consequences of the environmental crisis fall disproportionately on those countries and communities that have contributed least to the problem and are least able to mitigate the harms. Yet no country, no matter how wealthy, can shield itself from these impacts. Allowing the consequences to fall disproportionately on the most vulnerable will breed more conflict, food insecurity, forced displacement, and zoonotic disease—with severe implications for all countries and communities. As with the covid-19 pandemic, we are globally as strong as our weakest member.

Rises above 1.5°C increase the chance of reaching tipping points in natural systems that could lock the world into an acutely unstable state. This would critically impair our ability to mitigate harms and to prevent catastrophic, runaway environmental change.^{9,10}

Global targets are not enough

Encouragingly, many governments, financial institutions, and businesses are setting targets to reach net-zero emissions, including targets for 2030. The cost of renewable energy is dropping rapidly. Many countries are aiming to protect at least 30% of the world's land and oceans by 2030.¹¹

These promises are not enough. Targets are easy to set and hard to achieve. They are yet to be matched with credible short and longer term plans to accelerate cleaner technologies and transform societies. Emissions reduction plans do not adequately incorporate health considerations.¹² Concern is growing that temperature rises above 1.5°C are beginning to be seen as inevitable, or even acceptable, to powerful members of the global community.¹³ Relatedly, current strategies for reducing emissions to net zero by the middle of the century implausibly assume that the world will acquire great capabilities to remove greenhouse gases from the atmosphere.^{14,15}

Çevresel krizin sonuçları, soruna en az katkıda bulunan ve zararları en az azaltabilen ülkeler ve topluluklara orantısız bir şekilde dağılıyor. Ancak hiçbir ülke, ne kadar zengin olursa olsun, kendisini bu zararlı etkilerden koruyamaz. Olumsuz sonuçların orantısız bir şekilde en savunmasız ülkeleri etkilemesine izin vermek, tüm ülkeler ve halklar için ciddi sonuçlar doğuracak şekilde daha fazla çatışmaya, gıda sorununa, insanların zorla topraklarını terk etmelerine neden olacak ve zoonotik hastalığı arttıracaktır. Covid-19 pandemisinde olduğu gibi, küresel olarak en zayıf üyemiz kadar güçlüyüz.

1,5°C'nin üzerindeki sıcaklık artışları, doğal sistemlerde dünyayı son derece istikrarsız bir duruma getirebilecek kadar kararsızlık noktasına varma ihtimalini artırır. Bu durum, zararları azaltma ve felakete yol açan, kontrolden çıkmış çevresel değişimi önleme yeteneğimizi ciddi biçimde zayıflatacaktır^{9,10}.

Küresel hedefler yeterli değil

Cesaret verici bir şekilde, birçok hükümet, finans kurumu ve işletme, 2030 hedefleri de dâhil olmak üzere sıfır emisyonu ulaşmak için hedefler belirliyor. Yenilenebilir enerjinin maliyeti hızla düşüyor. Birçok ülke, 2030 yılına kadar karaların ve okyanuslarının en az %30'unu korumayı hedefliyor¹¹.

Ancak, bu vaatler yeterli değil. Hedefleri belirlemek kolay ama ulaşmak zordur. Henüz daha gelişmiş teknolojileri hayata geçirmek ve toplumları dönüştürmek için güvenilir, kısa ve uzun vadeli planlarla eşleşecek durumda değiller. Emisyonu azaltma planları sağlıkla ilgili hususları yeterince içermiyor¹². Sıcaklığın 1,5°C'nin üzerine yükselmesinin küresel toplumun güçlü üyeleri tarafından kaçınılmaz ve hatta kabul edilebilir olarak görülmeye başlandığına dair endişeler artıyor¹³. Buna bağlı olarak, yüzyılın ortasına kadar emisyonu tamamen sıfıra indirmek için mevcut stratejiler, -mantıksız bir şekilde- dünyanın sera gazlarını atmosferden uzaklaştırmak için çok yol alacağını var sayıyor^{14,15}.

This insufficient action means that temperature increases are likely to be well in excess of 2°C,¹⁶ a catastrophic outcome for health and environmental stability. Critically, the destruction of nature does not have parity of esteem with the climate element of the crisis, and every single global target to restore biodiversity loss by 2020 was missed.¹⁷ This is an overall environmental crisis.¹⁸

Health professionals are united with environmental scientists, businesses, and many others in rejecting that this outcome is inevitable. More can and must be done now—in Glasgow and Kunming—and in the immediate years that follow. We join health professionals worldwide who have already supported calls for rapid action.^{1,19}

Equity must be at the centre of the global response. Contributing a fair share to the global effort means that reduction commitments must account for the cumulative, historical contribution each country has made to emissions, as well as its current emissions and capacity to respond. Wealthier countries will have to cut emissions more quickly, making reductions by 2030 beyond those currently proposed^{20,21} and reaching net-zero emissions before 2050. Similar targets and emergency action are needed for biodiversity loss and the wider destruction of the natural world.

To achieve these targets, governments must make fundamental changes to how our societies and economies are organised and how we live. The current strategy of encouraging markets to swap dirty for cleaner technologies is not enough. Governments must intervene to support the redesign of transport systems, cities, production and distribution of food, markets for financial investments, health systems, and much more. Global coordination is needed to ensure that the rush for cleaner technologies does not come at the cost of more environmental destruction and human exploitation.

Ancak, bu yetersiz girişimler, sıcaklık artışlarının muhtemelen 2°C'yi aştığı anlamına gelir⁽¹⁶⁾ ki bu da sağlık ve çevresel istikrar için feci bir sonuç olacaktır. Kritik bir durum olarak, doğanın tahribi, krizin iklim unsuruyla aynı itibara sahip değildir ve 2020 yılına kadar biyolojik çeşitlilik kaybını geri kazanmaya yönelik her bir küresel hedef ne yazık ki kaçırılmıştır⁽¹⁷⁾. Aslınsa bu genel bir çevresel krizdir⁽¹⁸⁾.

Sağlık uzmanları, bu sonucun kaçınılmaz olduğunu reddetmek için çevre bilimciler, işletmeler ve diğer birçok kişi ile birleştiler. Şimdi -Glasgow ve Kunming'de- ve onu takip eden önümüzdeki yıllarda daha fazlası yapılabilir ve yapılmalıdır da. Acil eylem çağrılarını destekleyen dünya genelindeki tüm sağlık profesyonellerine katılıyoruz^(1,19).

Eşitlik, küresel tepkinin merkezinde olmalıdır. Küresel çabalara adil bir şekilde katkıda bulunmak, azaltım taahhütlerinin her ülkenin emisyonu yaptığı kümülatif ve tarihsel katkının yanı sıra mevcut emisyonu ve yanıt verme kapasitesini hesaba katması gerektiği anlamına gelir. Daha zengin ülkelerin emisyonu daha hızlı bir şekilde sonlandırması, 2030 yılına değin şu ana kadar önerilenlerin ötesinde azalmanın sözü konusu olması^(20,21) ve 2050'den önce sıfır emisyonu ulaşması gerekecektir. Dünya'da doğanın yaygın bir şekilde yıkımının ve biyoçeşitliliğin kaybının önlenmesi için benzer hedefler ve acil eylemlere ihtiyaç vardır.

Bu hedeflere ulaşmak için hükümetler, toplumlarımızın ve ekonomilerimizin nasıl düzenlendiği ve nasıl yaşadığımız konusunda köklü değişiklikler yapmalıdırlar. Piyasaları kirli takaslara teşvik eden mevcut stratejiler daha temiz teknolojiler için yeterli değildir. Hükümetler, ulaşım sistemlerinin, şehirlerin, gıda üretimi ve dağıtımının, finansal yatırımlar için pazarların, sağlık sistemlerinin ve çok daha fazlasının yeniden tasarlanmasını desteklemek için müdahale etmelidirler. Daha temiz teknolojiler için acele etmenin daha fazla çevresel yıkım ve insanı sömürme pahasına gelmesini önlemede küresel koordinasyona ihtiyaç vardır.

Many governments met the threat of the covid-19 pandemic with unprecedented funding. The environmental crisis demands a similar emergency response. Huge investment will be needed, beyond what is being considered or delivered anywhere in the world. But such investments will produce huge positive health and economic outcomes. These include high quality jobs, reduced air pollution, increased physical activity, and improved housing and diet. Better air quality alone would realise health benefits that easily offset the global costs of emissions reductions.²²

These measures will also improve the social and economic determinants of health, the poor state of which may have made populations more vulnerable to the covid-19 pandemic.²³ But the changes cannot be achieved through a return to damaging austerity policies or the continuation of the large inequalities of wealth and power within and between countries.

Cooperation hinges on wealthy nations doing more

In particular, countries that have disproportionately created the environmental crisis must do more to support low and middle income countries to build cleaner, healthier, and more resilient societies. High income countries must meet and go beyond their outstanding commitment to provide \$100bn a year, making up for any shortfall in 2020 and increasing contributions to and beyond 2025. Funding must be equally split between mitigation and adaptation, including improving the resilience of health systems.

Financing should be through grants rather than loans, building local capabilities and truly empowering communities, and should come alongside forgiving large debts, which constrain the agency of so many low income countries. Additional funding must be marshalled to compensate for inevitable loss and damage caused by the consequences of the environmental crisis.

Birçok hükümet, covid-19 pandemisinin tehdidini benzeri görülmemiş fonlarla karşıladı. Çevresel kriz de benzer bir şekilde acil müdahale gerektiriyor. Dünyanın herhangi bir yerinde kabul edilenin veya yerine getirilenin ötesinde büyük bir yatırıma ihtiyaç duyulacaktır. Ancak bu tip yatırımlar, büyük ölçüde olumlu sağlık ve ekonomik sonuçlar üretecektir. Bunlar arasında, yüksek kaliteli işler, azaltılmış hava kirliliği, artan fiziksel aktivite ve iyileştirilmiş barınma ve beslenme sayılabilir. Tek başına hava kalitesinin iyileştirilmesi, emisyon düşmesinin küresel maliyetlerini kolayca dengeleyerek sağlık kazanımları sağlar⁽²²⁾.

Bu önlemler aynı zamanda sağlığın sosyal ve ekonomik belirleyicilerini de iyileştirecektir; bu durum, olumsuz yönde etkilenmiş olan insanları covid-19 pandemisine karşı daha savunmasız hâle getirmiş olabilir⁽²³⁾. Ancak değişiklikler, insanlara zarar veren kemer sıkma politikalarına geri dönülerek veya ülkelerdeki ve ülkeler arasındaki büyük zenginlik ve güç eşitsizliklerinin devam ettirilmesiyle elde edilemez.

İş Birliği zengin ulusların daha fazlasını yapmasına bağlıdır

Özellikle, orantısız bir şekilde çevre krizine neden olan ülkeler, daha temiz, daha sağlıklı ve daha dirençli toplumlar inşa etmek, düşük ve orta gelirli ülkeleri desteklemek için daha fazlasını yapmalıdırlar. Zengin ülkeler, 2020'de yaşanan sorunları gidererek, 2025'e ve sonrasında katkılarını artırarak, yılda 100 milyar dolar sağlama konusundaki çok önemli taahhütlerini yerine getirmeli ve bunun ötesine geçmelidirler. Finansman, sağlık sistemlerinin dayanıklılığının iyileştirilmesi de dâhil olmak üzere, azaltma ve uyum arasında eşit olarak bölünmelidir.

Finansman, krediler yerine hibeler yoluyla, yerel çözümler üreterek ve toplumları gerçekten güçlendirerek olmalı ve çok sayıda yoksul ülkenin acenteliğini kısıtlayan büyük borçların silinmesiyle birlikte söz konusu olmalıdır. Öte yandan çevresel krizin sonuçlarından kaynaklanan kaçınılmaz kayıp ve zararları telafi etmek için ek finansman sağlanmalıdır.

As health professionals, we must do all we can to aid the transition to a sustainable, fairer, resilient, and healthier world. Alongside acting to reduce the harm from the environmental crisis, we should proactively contribute to global prevention of further damage and action on the root causes of the crisis. We must hold global leaders to account and continue to educate others about the health risks of the crisis. We must join in the work to achieve environmentally sustainable health systems before 2040, recognising that this will mean changing clinical practice. Health institutions have already divested more than \$42bn of assets from fossil fuels; others should join them.⁴

The greatest threat to global public health is the continued failure of world leaders to keep the global temperature rise below 1.5°C and to restore nature. Urgent, society-wide changes must be made and will lead to a fairer and healthier world. We, as editors of health journals, call for governments and other leaders to act, marking 2021 as the year that the world finally changes course.

Competing interests: We have read and understood BMJ policy on declaration of interests and FG serves on the executive committee for the UK Health Alliance on Climate Change and is a Trustee of the Eden Project. RS is the chair of Patients Know Best, has stock in UnitedHealth Group, has done consultancy work for Oxford Pharmagenesis, and is chair of the Lancet Commission of the Value of Death. None further declared.

Provenance and peer review: Commissioned; not externally peer reviewed.

This editorial is being published simultaneously in many international journals. Please see the full list here: <https://www.bmj.com/content/full-list-authors-and-signatories-climate-emergency-editorial-september-2021>

This is an Open Access article distributed in accordance with the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt and build upon this work, for commercial use, provided the original work is properly cited. See: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Sağlık çalışanları olarak sürdürülebilir, daha adil, güçlü ve sağlıklı bir dünyaya geçişe yardımcı olmak için elimizden gelen her şeyi yapmalıyız. Çevresel krizin neden olduğu zararları azaltmak için harekete geçmenin yanı sıra daha fazla hasarın küresel olarak önlenmesine ve krizin temel nedenleri üzerinde harekete geçilmesine proaktif olarak katkıda bulunmalıyız. Küresel liderlerden hesap sormalı ve herkesi krizin neden olacağı sağlık riskleri konusunda eğitmeye devam etmeliyiz. Bunun klinik uygulamayı değiştirmek anlamına geleceğini kabul ederek, 2040'tan önce çevresel olarak sürdürülebilir sağlık sistemlerini kurmak için yapılan çalışmalara katılmalıyız. Sağlık kurumları şimdiden 42 milyar dolardan fazla varlığı fosil yakıtlardan elden çıkardı; diğerleri de onlara katılmalıdır⁽⁴⁾.

Küresel halk sağlığına yönelik en büyük tehdit, dünya liderlerinin küresel sıcaklık artışını 1,5°C'nin altında tutmada ve doğayı restore etmede günümüzde de süregelen başarısızlığıdır. Acil olarak tüm dünya genelinde değişiklikler yapılmalıdır. Bu değişiklikler, daha adil ve sağlıklı bir dünyada yaşamamızı sağlayacaktır. Biz Sağlık Dergilerinin Editörleri olarak, hükümetleri ve tüm ülkelerin liderlerini harekete geçmeye çağırıyor ve 2021'i sonunda dünyanın rotasını değiştirdiği bir yıl olarak belirliyoruz.

İngilizce orijinal bölüm British Medical Journal (BMJ) metin yazım kuralları, Türkçe bölüm Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi'nin yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmıştır.

Çıkar çatışması, kaynak ve akran değerlendirmeleri orijinal metin altında deklare edilmiştir.

Açık Erişim (CC BY4.0) lisansına sahiptir. Bilgi için; <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

REFERENCES (KAYNAKLAR)

1. In support of a health recovery. <https://healthyrecovery.net>
2. Intergovernmental Panel on Climate Change. Summary for policymakers. In: Global warming of 1.5°C. An IPCC special report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty. 2018. <https://www.ipcc.ch/sr15/>
3. Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. Summary for policymakers: the global assessment report on biodiversity and ecosystem services. 2019. https://ipbes.net/sites/default/files/2020-02/ipbes_global_assessment_report_summary_for_policymakers_en.pdf
4. Watts N, Amann M, Arnell N, et al. The 2020 report of the Lancet Countdown on health and climate change: responding to converging crises. *Lancet* 2021;397:129-70.
5. Rocque RJ, Beaudoin C, Ndjaboue R, et al. Health effects of climate change: an overview of systematic reviews. *BMJ Open* 2021;11:e046333. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-046333>
6. Haines A, Ebi K. The imperative for climate action to protect health. *N Engl J Med* 2019;380:263-73.
7. United Nations Environment Programme and International Livestock Research Institute. Preventing the next pandemic: zoonotic diseases and how to break the chain of transmission. 2020. https://72d37324-5089-459c-8f70-271d19427cf2.filesusr.com/ugd/056cf4_b5b2fc067f094dd3b2250cda15c47acd.pdf
8. IPCC. 2019: Summary for policymakers. In: Climate change and land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems. Forthcoming.
9. Lenton TM, Rockström J, Gaffney O, et al. Climate tipping points—too risky to bet against. *Nature* 2019;575:592-5.
10. Wunderling N, Donges JF, Kurths J, Winkelmann R. Interacting tipping elements increase risk of climate domino effects under global warming. *Earth System Dynamics Discussions*, 2020: 1-21.
11. High Ambition Coalition. <https://www.hacfornatureandpeople.org>
12. Global Climate and Health Alliance. Are national climate commitments enough to protect our health? <https://climateandhealthalliance.org/initiatives/healthy-ndcs/ndc-scorecards/>
13. Climate strikers: Open letter to EU leaders on why their new climate law is 'surrender.' Carbon Brief 2020. <https://www.carbonbrief.org/climate-strikers-open-letter-to-eu-leaders-on-why-their-new-climate-law-is-surrender>
14. Fajardy M, Köberle A, MacDowell N, Fantuzzi A. "BECCS deployment: a reality check." Grantham Institute briefing paper 28, 2019. <https://www.imperial.ac.uk/media/imperial-college/grantham-institute/public/publications/briefing-papers/BECCS-deployment---a-reality-check.pdf>
15. Anderson K, Peters G. The trouble with negative emissions. *Science* 2016;354:182-3.
16. Climate action tracker. <https://climateactiontracker.org>
17. Secretariat of the Convention on Biological Diversity. Global biodiversity outlook 5. 2020. <https://www.cbd.int/gbo5>
18. Steffen W, Richardson K, Rockström J, et al. Sustainability. Planetary boundaries: guiding human development on a changing planet. *Science* 2015;347:1259855. <https://doi.org/10.1126/science.1259855>
19. UK Health Alliance. Our calls for action. <http://www.ukhealthalliance.org/cop26/>

* Bu metin "Sağlık Dergileri Editörleri Uluslararası Komitesi'nin <http://www.icmje.org/recommendations/browse/publishing-and-editorial-issues/overlapping-publications.html#three> kurallarına uygun olarak yayınlanmaktadır.

20. Climate Action Tracker. Warming projections global update: May 2021. https://climateactiontracker.org/documents/853/CAT_2021-05-04_Briefing_Global-Update_Climate-Summit-Momentum.pdf
21. United Nations Environment Programme. Emissions gap report 2020. UNEP, 2020.
22. Markandya A, Sampredo J, Smith SJ, et al. Health co-benefits from air pollution and mitigation costs of the Paris Agreement: a modelling study. *Lancet Planet Health* 2018;2:e126-33. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(18\)30029-9](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(18)30029-9)
23. Paremoer L, Nandi S, Serag H, Baum F. Covid-19 pandemic and the social determinants of health. *BMJ* 2021;372:n129.

Anaerop Bakterilerde Metronidazole Direnç ve *nim* Genleri

Metronidazole Resistance and nim Genes in Anaerobic Bacteria

Selahattin Atmaca[®]

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Atf/Cite as: Atmaca S. Anaerop bakterilerde metronidazole direnç ve *nim* genleri. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):197-202.

Öz

Anaerop bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan 5-nitroimidazol türevi metronidazole karşı, bakterilerin geliştirdikleri direnç mekanizmaları çeşitli ve karmaşıktır. Anaerop bakterilerde bulunan nitroimidazol redüktaz enziminin metronidazole karşı dirençte önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Bu enzim bakterinin genomik yapısı içinde tanımlanan *nim* genleri kontrolündedir. *Nim* genleri şu ana kadar 11 farklı yapıda (*nimA-nimK*) tanımlanmıştır. En çok *Bacteroides fragilis* grupta tanımlanan *nim* genlerinin tek başlarına metronidazol direncinin oluşmasında yeterli olmadığı, farklı direnç mekanizmalarının da söz konusu olduğu bildirilmiştir. Bakterinin glukoz metabolizması sırasında aktifleşen piruvat ferrodoksin oksidoredüktaz enzim faaliyeti, *bmeRABC5* geni kontrolündeki effluks pompa sistemi, *RecA* geni kontrolündeki DNA onarım proteinlerinin aşırı salınımı gibi mekanizmaların anaerob bakterilerin metronidazol direncinde önemli rol aldığı belirlenmiştir. Bu makalede, anaerop bakterilerin 5-nitroimidazollere karşı oluşturdukları farklı direnç mekanizmaları ve bu direnç mekanizmalarında rol aldığı tartışılan *nim* genlerinden söz edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Anaerop bakteri, metronidazole direnç, *nim* genleri

ABSTRACT

Resistance mechanisms of anaerobic bacteria against the 5-nitroimidazole derivative widely used in the treatment of anaerobic bacterial infections, metronidazole are varied and complex. It has been suggested that the nitroimidazole reductase enzyme found in anaerobic bacteria plays an important role in resistance to metronidazole. This enzyme is under the control of *nim* genes defined within the genomic structure of the bacteria. The *nim* genes have been identified in 11 different structures (*nimA-nimK*) so far. It has been reported that the *nim* genes, which are mostly defined in the *Bacteroides fragilis* group, are not sufficient in the formation of metronidazole resistance alone, there are also different resistance mechanisms. Mechanisms such as pyruvate ferrodoxine oxidoreductase (PFOR) enzyme activated during glucose metabolism of bacteria, efflux pump system under the control of *bmeRABC5* gene, excessive release of DNA repair proteins controlled by the *RecA* gene were determined to play an important role in the resistance of anaerobic bacteria to metronidazole. In this article, different resistance mechanisms created by anaerobic bacteria against 5-nitroimidazoles and debatable role of the *nim* genes role in these resistance mechanisms were indicated.

Keywords: Anaerob bacteria, metronidazole resistance, *nim* genes

Alındığı tarih / Received:
26.02.2021 / 26. February.2021

Kabul tarihi / Accepted:
26.04.2021 / 26. April.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07. September.2021

ORCID Kayıtları

S. Atmaca 0000-0002-2730-5790

✉ satmaca@dicle.edu.tr

GİRİŞ

Metronidazol 1957 yılında bulunmuş, protozoonlara ve anaerop bakterilere karşı etkili sentetik bir nitroimidazol bileşiğidir. Kimyasal yapısı 1-(2-hidroksietil)-2-metil-5-nitroimidazol'dur⁽¹⁻³⁾.

Metronidazol'un en önemli antimikrobiyal etki mekanizması, hücre içine pasif difüzyonla girdikten sonra, bir dizi reaksiyon sonucu ortaya çıkan yarı ömürlü metabolitler sayesinde olur. Bu metabolitler bakterinin DNA'sına zarar vererek ölümüne yol açarlar. Bu sürecin işleyebilmesi için hücre içi oksidasyon-redüksiyon

potansiyelinin negatif olması gerekir ki, bu anlamda nitroimidazol türevleri aerop bakterilere karşı etkin değillerdir^(4,5).

Anaerob bakterilerde 5-nitroimidazollere karşı direnç sağlayan transfer edilebilir bazı determinantlar belirlenmiş, bunlar nim genleri olarak tanımlanmıştır. 1989'da *Bacteroides vulgatus* (BV17) türünde belirlenen dört plazmidten *p1P417*'nin düşük düzeyde metronidazol direncinden sorumlu olduğu ilk defa rapor edilmiştir. 1994 yılında, Paris Pastör Enstitüsü'nde önce nim A ve B, takiben *nim D*, *nim C* gibi metronidazol direncinden sorumlu farklı gen bölgeleri tanımlanmıştır. 1996 yılında ise, universal primerler olarak tanımlanan ve değişmeyen yapıda olan *nim 3* ve *nim 5* genlerinin sekans yapıları klonlanmıştır⁽⁶⁻¹⁰⁾.

Anaerob bakterilerde *Bacteroides*, *Prevotella* ve *Fusobacterium*'larda daha yüksek düzeyde, *Clostridium* türlerinde ise daha ender görülen bir seri metronidazol direnç mekanizmaları mevcuttur⁽⁴⁾.

Bu makalede, anaerob bakteri enfeksiyonlarında etkin bir antibakteriyel olan metronidazole karşı anaerob bakterilerin geliştirdiği direnç mekanizmaları ve bu direnç mekanizmalarından kısmi olarak sorumlu tanımlanan nim genlerinden söz edilmiştir.

5-nitroimidazol türevleri ve metronidazol

5-Nitroimidazoller'de temel yapı, doğada birçok bileşikte bulunan imidazol (1,3-diazol) halkasıdır. İmidazol halkasına sitotoksik etkili farklı fonksiyonel grupların eklenmesi ile 5-nitroimidazol türevleri sentezlenir⁽¹¹⁾.

Nitroimidazollere duyarlı olan hücrelerin ortak özelliği, anaerob olmaları ve düşük redoksyon potansiyelli, elektron taşıyıcı proteinler içermeleridir. Bu proteinler, hücre içinde nitroimidazollerin nitro gruplarını enzimatik olmayan bir kimyasal reaksiyonla indirgererek, onları etkin ara metabolitlere veya serbest radikallere dönüştürürler. Bu radikallerin duyarlı bakteri veya protozoon hücrelerinin DNA'sına bağlanarak kopyalanmayı durdurduğu, çift sarmallı yapıyı bozduğu ve bu şekilde DNA sentezini inhibe ederek hücrenin ölümüne neden olduğunu bildirilmiştir⁽¹¹⁻¹⁵⁾.

Metronidazol, hücre içerisine alındığında antibakteriyel etkisini gösterebilmesi için hücre içi oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin (Eh değeri, birim milivolt) düşük, yani negatif olması gerekmektedir. Kimyasal tanımlama ile indirgenmiş bir ortam sağlanması gerekir. Aerop bakterilerde yeterli negatif redoksa sahip elektron taşıma proteinlerinin yokluğu, bunların 5-nitroimidazollere (5-Ni)'ye karşı intrinsik dirençlerini açıklar^(1,2,4).

Anaerob bakterilerde metronidazole karşı direnç mekanizmaları farklı şekillerde tanımlanır. Bunlardan en önemlisi bakteriyel *nim* genleri tarafından kontrol edilen *nitroimidazol redüktaz* aktivitesi sonucu metronidazol çatısında bulunan nitro grupların, inaktif 5-amino-imidazole dönüştürülmesidir. Bu dönüşüm sonucu metronidazolun anaerob bakterilerde antibakteriyel etkisini gösteren ve DNA hasarına yol açacak olan radikal anyon oluşumu engellenmiş olur.

Bunun yanı sıra metronidazol gibi 5-nitroimidazollerin hücre içerisine girişleri pasif diffüzyonla olur. Metronidazolün bakteri hücresi içerisine girişi bakteri sitoplazmasındaki indirgen ortamla direkt ilişkilidir. Anaerob bakterilerde sitoplazmadaki redükten yani indirgenmiş ortamı bakterinin nitroimidazol redüktaz enzim aktivitesi belirler ki, bakterinin bu enzim aktivitesini azaltması sonucu, hücre içi yeterince indirgen bir ortamın oluşmamasına ve buna paralel olarak ilacın hücre içi alımının azalmasına neden olur^(2,4,15).

Metronidazole karşı anaerob bakterilerin farklı bir direnç mekanizması da bakterinin metabolik bir faaliyeti olan glukozdan, glukoz-6-fosfat daha sonra piruvat son aşamada da asetil Co-A ve asetat oluşturması ile ilişkilidir. Bakterinin bu metabolik faaliyeti içerisinde belirleyici enzim piruvat ferrodoksin oksidoredüktaz (PFOR)'dır. Bu reaksiyon sırasında içeri alınan metronidazol, reaksiyonda ortaya çıkan elektron zincirinden bir elektron alarak yukarıda söz edildiği gibi indirgenir ve antibakteriyel etkili (DNA hasarı gibi) radikal anyonlar oluşturur. Bakteri metronidazol varlığında bu reaksiyonu farklı yöne çevirerek piruvat oluştuktan sonra aşırı laktatdehidrogenaz (LDH) salgılayarak asetat yerine laktat oluşturur. Bu da bir ön

ilaç olan metronidazolün bir elektron alarak antibakteriyel etki göstereceği forma dönüşmesini engeller^(1,2,15).

Cutibacterium spp., *Propionibacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Eubacterium* spp. ve *Actinomyces* spp. gibi kısmi oksijene toleranslı veya fakültatif anaerob olarak tanımlanan türlerde piruvat ferredoksin oksidoredüktaz enziminin eksikliğine bağlı olarak bir ön ilaç olan metronidazolün hücre içine alındıktan sonra antibakteriyel etkisini göstermesinde etken olan radikal anyonların oluşmaması bu bakterilerin kısmi olarak metronidazole doğal direnci olarak tanımlanmıştır⁽⁴⁾.

Bakteri effluks pompa sistemini kodlayan *bmeRABC5* geni sayesinde aşırı RND salınımı sonucu antibiyotiklerin dışarı atılması, *recA* geni tarafından kontrol edilen DNA tamir proteinlerinin bakteri tarafından salınımının artırılması, SOD (Süperoksid dismutaz) aktivitesi sonucu antioksidanlara karşı defans sisteminin devreye girmesi metronidazol direncine yol açan farklı mekanizmalardır. Bunların yanı sıra anaerob bakterilerin metronidazolla karşılaştığında, bakterilerin hücre içine demir (Fe) alımını sınırlandırdığı, buna karşılık ramnoz metabolizmasını artırdığı, özellikle bu metabolizma hızının artışı sonucu oluşan proteinlerin bazı anaerob türlerinde (*Bacteroides thetaiotaomicron*) henüz bilinmeyen bir mekanizma ile metronidazol direncine yol açtığı ileri sürülmektedir^(1,2,15).

Nim genleri

Anaerob bakterilerde kısmi olarak metronidazol direncinin bakterinin nitroimidazol redüktaz enzimlerini kodlayan *nim* genleri kaynaklı olduğu ileri sürülmektedir. *Nim* genlerinin kodladığı proteinler *nimA-nimK* olarak 11 adet saptanmıştır. Filogenetik olarak *nim* genlerindeki aminoasit sekanslarının benzerliği incelendiğinde üç farklı grup olarak sınıflandırılmıştır. Birinci grup, *nimA-nimH*, ikinci grup, *nimK* ve üçüncü grup ise, *nimI-nimJ* olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar bu analizi 100 kopya ve %>70 benzerliği dikkate alarak yaptıklarını bildirmişlerdir.

nim genleri en sık *Bacteroides* türlerinde bildirilmiş,

ayrıca Gram negatif basillerden *Fusobacteriumlar*, *Prevotella*, Gram negatif anaerob koklardan *Veillonella*, Gram pozitif anaerob koklardan *Peptostreptococcus*'lar, *Parvimonas micra* türlerinde belirlenmiştir (Tablo 1). Buna karşılık özellikle *Clostridium tetani* ve diğer *Clostridium* türlerinde daha düşük oranda *nim* genlerine rastlanılmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalarda, *nim* genlerinin kromozom veya plazmidten yalnızca birinde bulunabileceği gibi eşzamanlı olarak hem kromozom hem de plazmid de aynı anda görüldüğü saptanmıştır (Tablo 1)^(4,16).

Yapılan çalışmalarda, *nim* genleri belirlenmiş bazı anaerob bakterilerin metronidazol MİK değerleri duyarlılık sınırları içersin de bulunmuştur. Bunun yanı sıra sağlıklı insanların dışkı kültürlerinden ve kirli sularardan izole edilen *Bacteroides fragilis* türlerinde de *nim* genlerinin saptanması sonucu bazı araştırmacılar, yalnızca *nim* genlerinin varlığı ile anaerob bakterilerdeki metronidazol direncinin açıklayamayacağını belirtmişlerdir^(4,10).

Anaerob bakterilerde metronidazol direnci ve *nim* genlerinin korelasyonu ile ilgili, Belçika'da 2011-2012 yılları arasında izole edilen 180 *Bacteroides* suşunun E-test yöntemi ile yapılan direnç testi sonucu suşların tümü metronidazola duyarlı bulunurken, izolatlarda %2.8 oranında *nim* geni saptanmıştır⁽¹⁷⁾. Yunanistan'da 2002-2004 ve 2003-2005 yılları arasında yapılan iki farklı çalışmada, birinci çalışmada 82 suşun %1.3'ünde, ikinci çalışmada ise 191 suşun %1'inde metronidazol direnci belirlenmiş olup, çalışmalarda sırayla %1, %0.5 *nim* genlerine rastlanmıştır. Her iki çalışmada da metronidazol direnci E-test yöntemi ile belirlenmiştir^(18,19).

Yunanistan'da 2003-2005 tarihleri arasında yine E-test yöntemi ile 57 *Prevotella* türünün 14'ünde metronidazol direncine karşılık suşların %5.3'ünde *nim* geni saptanmıştır⁽¹⁸⁾. *Fusobacterium*'larla ilgili diğer bir çalışmada ise, 17 suşun %11.7'si metronidazole dirençli iken, suşların %5.9'unda *nim* geni belirlenmiştir⁽¹⁸⁾.

Fenotipik olarak metronidazole dirençli (MİK değeri 6-256 µg/mL) anaerob bakteri türlerinde belirli bir

Tablo 1. *nim* genlerinin dağılımı ve genel özellikleri⁽⁴⁾.

Nim Geni	Yerleşim	Metronidazol direnci (MIK aralığı µg/mL)	İlişkili olduğu direnç genleri	İlişkili olduğu antibiyotik dirençleri	Saptandığı bildirilen bakteriler
<i>nimA</i>	P veya K	Değişken (0.75->128)	<i>cepA</i> , <i>blaOXA-37</i> , <i>cfiA</i> , <i>ermF</i> , <i>mefE</i> , <i>linAn2</i> , <i>tetQ</i> , <i>bexB</i>	AMC, AMX, CAR, CLI, ERY, FOX, PIP, TET, TZP	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Actinomyces odontolyticus</i> , <i>Cutibacterium acnes</i> , <i>Clostridium bifermentans</i> , <i>Prevotella bivia</i> , <i>Propionibacterium türleri</i>
<i>nimB</i>	K	Değişken (0.125->256)	<i>cfxA</i> , <i>cfiA</i> , <i>ermF</i> , <i>tetQ</i>	AMP, CAR, CLI, PIP, FOX, RIF, TET, TZP,	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Parabacteroides distasonis</i> , <i>Prevotella denticola</i> , <i>Prevotella dentalis</i> , <i>Fusobacterium magna</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Anaerococcus prevotii</i> , <i>Prevotella micra</i>
<i>nimC</i>	P veya K	Değişken (1->32)	<i>cfiA</i> , <i>tetQ</i>	TET	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Prevotella distasonis</i> , <i>Prevotella oralis</i> , <i>Porphyromonas türleri</i>
<i>nimD</i>	P veya K	Değişken (0.25->64)	<i>epA</i> , <i>cfxA</i> , <i>cfiA</i> , <i>ermF</i> , <i>linAn2</i> , <i>mefE</i> , <i>tetQ</i> , <i>cat</i> , <i>bexB-like</i>	CAR, CLI, MP, TET, TZP	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Bacteroides stercoris</i> , <i>Odoribacter splanchnicus</i> , <i>Fusobacterium türleri</i>
<i>nimE</i>	P veya K	Değişken (1.5->256)	<i>cepA</i> , <i>cfxA</i> , <i>blaTEM</i> , <i>blaCMY</i> , <i>blaOxA-1</i> , <i>cfiA</i> , <i>ermF</i> , <i>tetQ</i> , <i>aac(60)Ib-cr</i>	AMC, AMX, CAR, CAZ, CIP, CLI, CM, ERY, FOX, MP, PIP, TET, TGC, TZP	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Parabacteroides merdae</i> , <i>Prevotella buccalis</i> , <i>Prevotella oralis</i> , <i>Veillonella türleri</i>
<i>nimF</i>	B	Yok (1)	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>Bacteroides vulgatus</i>
<i>nimG</i>	B	Yok (2)	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>nimH</i>	K	Var (8)	<i>B</i>	AMX	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>nimI</i>	K	Yok (1-4)	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>Prevotella baroniae</i>
<i>nimJ</i>	K	Var (>32)	<i>cfiA</i> , <i>ermR</i> , <i>tetQ</i> , <i>bexB-like</i> , <i>bmeABC5</i> genlerinin aşırı ekspresyonu	AMC, AMX, AMP, CAR, CFP, CLI, FOX, ERY, TET, TZP	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>nimK</i>	K	Var (6-12)	efflux taşıyıcı	AMX, CLI	<i>Prevotella bivia</i>

P=plazmid; K=kromozomal; B=bilinmiyor; MTZ=metronidazol; MIK=minimal inhibitör konsantrasyon; AMP=ampisilin; AMX=amoksisilin; AMC=amoksisilin /klavunat; PIP=piperasilin; TZP=piperasilin/tazobaktam; FOX=sefoksitin; CAZ=seftazidim; CFP=sefoperazon; CAR=karbapenemler; ERY=eritromisin; CLI=klindamisin; TET=tetrasiklin; TGC=tigesiklin; RIF=rifampin; CM=kloramfenikol; CIP=siprofloksasin

oranda *nim* genlerinin varlığı belirlense de *nim* genlerinin varlığı ve metronidazol direnci korelasyonunun tam belirlenemediği çalışmalar da mevcuttur. Bazı çalışmalarda jel-elektroforez yöntemi ile *nim* genlerine ait proteinler bakteride saptanmış olmasına rağmen, metronidazol direncine karşı belirlenen MIK değerleri beklenen seviyede olmadığı görülmüştür. Bu da konu ile ilgili bazı araştırmacılar *nim* genlerinin tek başına metronidazol direncine neden olmayacağı düşüncesini oluşturmuştur⁽²⁰⁾.

Ülkemizde *nim* genlerinin saptanması ile ilgili iki farklı çalışma belirlenmiş olup, ilk çalışmada klinik olarak etken olan 66 *Bacteroides* türü incelenmiş, suşların tümü metronidazole duyarlı bulunurken, hiçbirinde *nim* geni saptanmamıştır⁽²¹⁾. Diğer bir çalışmada ise, araştırmacılar Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde izole edilen ilk metronidazole dirençli *B. thetaiotaomicron* izolatında, dizi analizi sonucu *nimE* geni ile %100 benzerlik gösteren bir bölge belirlediklerini bildirmişlerdir⁽²²⁾.

Son 10 yılda ülkemizde yapılan anaerop bakteri izolasyonu ve metronidazole direnç tespiti ile ilgili çalışmalarda farklı sonuçlar ile karşılaştığımız görülmektedir. Doğan ve Baysal⁽²³⁾, 100 klinik örnekten altısı *Bacteroides fragilis*, beşi *Peptostreptococcus* spp. olmak üzere toplam 22 anaerop bakteri izole ettiklerini, bu suşlardan yalnızca birer adet *Clostridium* spp. ve *Lactobacillus acidophilus/lensenii* suşlarını metronidazole dirençli bulduklarını yayımlamışlardır. Demir ve Keşli⁽²⁴⁾, 2018 yılında yayımladıkları ve 2014-2015 yıllarında çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri Gram negatif anaerop basillerin E-test yöntemi ile antibiyotik direnç profillerini sunmayı amaçlamışlardır. Çalışmalarında, izole ettikleri, 14'ü *B. fragilis*, dokuzu *Prevotella* spp, beşi *Fusobacterium* spp. olan suşlarının hiç birinde metronidazole direnç saptamadıklarını bildirmişlerdir. Tunçkanat ve ark.'nın⁽²⁵⁾ 2019 yılında yayımladıkları makalede ise, kronik periodontitli hastalardan izole edilen 34 anaerop bakterilerden bir *Veillonella parvula*, dört *Propionibacterium* spp., iki *Prevotella* spp. ve bir *Bifidobacterium* spp. suşlarının metronidazole dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Özcan ve ark.⁽²⁶⁾ 2020 yılında yayımladıkları, 2017-2018 yıllarında izole ettikleri 65 farklı anaerop bakteri suşlarının metronidazole direncini %66 gibi yüksek bir oran olarak bildirmişlerdir.

Anaerop bakterilerde duyarlılık testlerinin rutin olarak yapılması önerilmese de enfeksiyon etkeni olarak belirlenen anaerop bakterilere karşı direnç paternlerinin belirlenmesi ve coğrafi olarak periyodik aralıklarla sunulması ampirik tedavinin yönlendirilmesi açısından önemlidir. Bu anlamda konu ile ilgili ülkemizde yapılan veya planlanan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünerek konuyu tartışmayı amaçladık.

KAYNAKLAR

1. Edwards DI. Nitroimidazole drug-action and resistance mechanisms. I. Mechanisms of action. J Antimicrob Chemother. 1993;31:9-20.
<https://doi.org/10.1093/jac/31.1.9>
2. Edward DI. Nitroimidazole drug-action and resistance mechanisms. II. Mechanisms of resistance. J Antimicrob Chemother.1993;31:201-10.
<https://doi.org/10.1093/jac/31.2.201>
3. Hernández Ceruelos A, Romero-Quezada LC, Ruvalcaba Ledezma JC, López Contreras L. Therapeutic uses of metronidazole and its side effect:an update. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019;23(1):397-401.
4. Alauzet C, Lozniewski A, Marchandin H. Metronidazole resistance and *nim* genes in anaerobes: A review. Anaerobe. 2019; 55: 40-53.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.10.004>
5. Dingsdag SA, Hunter N. Metronidazole: an update on metabolism, tructure-cytotoxicity and resistance mechanisms. J Antimicrob Chemother. 2018;73(2): 265-79.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkx351>
6. Breuil J, Dublanchet A, Truffaut N. Transferable 5-nitroimidazole resistance in the *Bacteroides fragilis* group. Plasmid. 1989;21(2):151-4.
[https://doi.org/10.1016/0147-619X\(89\)90060-7](https://doi.org/10.1016/0147-619X(89)90060-7)
7. Haggoud A, Reysset G, Azeddoug H, Sebald M. Nucleotide sequence analysis of two 5-nitroimidazole resistance determinants from *Bacteroides* strains and of a new insertion sequence upstream of the two genes. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(5): 1047-51.
<https://doi.org/10.1128/AAC.38.5.1047>
8. Kangaba AA, Sağlam FY, Tokman HB, Torun M, Torun MM. The prevalence of enterotoxin and antibiotic resistance genes in clinical and intestinal *Bacteroides fragilis* group isolates in Turkey. Anaerobe. 2015;35(Pt B):72-6.
<https://doi.org/10.1016/anaerobe.2015.07.008>
9. Trinh S, Haggoud A, Reysset G, Sebald M. Plasmids pIP419 and pPI421 from *Bacteroides*: 5-nitroimidazole resistance genes and their upstream insertion sequence elements. Microbiology (Reading). 1995;141(Pt 4):927-35.
<https://doi.org/10.1099/13500872-141-4-927>
10. Trinh S, Reysset G. Detection by PCR of the *nim* genes encoding 5-nitroimidazole resistance in *Bacteroides* ssp. J Clin Microbiol. 1996;34(9):2078-84.
<https://doi.org/10.1128/JCM.34.9.2078-2084.1996>
11. Balcıoğlu Cİ, Kurt Ö, Özbilgin A. Antiparaziter ilaçlar. Ankem Derg.2004;18(4):237-44.
12. Lau AH, Lam ND, Piscitelli SC, Wilkes L, Dangizer LH. Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infectives. Clin Pharmacokinet. 1992;23(5):328-64.
<https://doi.org/10.2165/00003088-199223050-00002>
13. Özaras R, Tabak F, Öztürk R. Antibiyotik kullanımı antibiyotikler III. Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinlerde toplumdan edinilmiş enfeksiyonlar. Sempozyum Dizisi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikler-Kasım. 2002;31:55-82.
14. Samuelson J. Why metronidazole is active against both bacteria and parasites. Antimicrob Agents Chemother.

- 1999;43(7):1533-41.
<https://doi.org/10.1128/AAC.43.7.1533>
15. Tunçkanat F. Anaerob bakterilerde antibiyotik direnci. Mikrobiyol Bul. 2001;35(1):155-70.
16. Alauzet C, Mory F, Teyssier C, et al. Metronidazole resistance in *Prevotella* spp. and description of a new nim gene in *Prevotella baroniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(1):60-4.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01003-09>.
17. Wybo I, Bossche DV, Soetens O, et al. Fourth Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. J Antimicrob Chemother. 2014;69(1):155-61.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkt344>
18. Katsandri A. Dissemination of nim-class genes, encoding nitroimidazole resistance, among different species of Gram-negative anaerobic bacteria isolated in Athens, Greece. J Antimicrob Chemother. 2006;58(3):705-6.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkl285>
19. Papaparaskevas J, Pantazatou A, Katsandri A, et al. Multicenter survey of the in vitro activity of seven antimicrobial agents, including artemisinin, against recently isolated Gram-negative anaerobic bacteria in Greece. Clin Microbiol Infect. 2005;(11):820-4.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01233.x>
20. Pumbwe L, Weraham DW, Aduse-Opoku J, Brazier JS, Wexler HM. Genetic analysis of mechanisms of multidrug resistance in a clinical isolate of *Bacteroides fragilis*. Clin Microbiol Infect. 2007;13(2):183-9.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01620.x>
21. Toprak NU, Uzunkaya OD, Söki J, Soyletir G. Susceptibility profiles and resistance genes for carbapenems (*cfiA*) and metronidazole (*nim*) among *Bacteroides* species in a Turkish University Hospital. Anaerobe. 2012;18(1):169-71.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.10.004>
22. Toprak NU, Sayın E, Dane F, Söyletir G. Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde izole edilen ilk metronidazole dirençli *Bacteroides* kökeni: *Bacteroides thetaiotaomicron*. Mikrobiyol Bul. 2013;47(4):717-21.
<https://doi.org/10.5578/mb.5064>
23. Doğan M, Baysal B. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerob bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Mikrobiyoloji Bul. 2010;44(2): 211-9.
24. Demir C, Keşli R. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Gram negatif anaerob basillerin tiplendirilmesi ve antibiyotik direnç profillerinin E-test yöntemi ile belirlenmesi. Mikrobiyoloji Bul. 2018;52(1):72-9.
<https://doi.org/10.5578/mb.66175>
25. Tunçkanat F, Sancak B, Altun B, Dursun E, Akdoğan-Kittana FN. Kronik periodontitli hastalardan izole edilen anaerob bakterilerin antibiyotik duyarlılık durumlarının araştırılması. Klinik Derg. 2019;32(3):240-4.
<https://doi.org/10.5152/kd.2019.69>
26. Özcan N, Saat N, Atmaca S. Klinik örneklerden soyutlanan anaerob bakterilerin in vitro antibiyotik duyarlılıkları. Flora. 2020;25(2):245-55.
<https://doi.org/10.5578/flora.68705>

SARS-CoV-2: Bildiklerimiz, Bilmediklerimiz[§]

SARS-CoV-2, What We Know, What We Do Not Know

Hüseyin Akdoğan[®], Tekin Karsligil[®]

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

Atf/Cite as: Akdoğan H, Karsligil T. SARS-CoV-2: Bildiklerimiz, bilmediklerimiz. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):203-13.

Öz

SARS-CoV-2, 2019 yılı sonlarında Çin'de ortaya çıkan ve COVID-19 olarak adlandırılan ve pandemiye neden olan viral hastalığın etkenidir. Tüm dünyayı etkisi altına alan ve panik yaratan bu hastalığın etkileri ise hâlen gözle görülür biçimde devam etmektedir. Bu nedenle hakkında sağlık ve tıp alanında birçok güncel çalışma yapılmış ve yapılmaya devam ediyor olsa da hâlen virüsün tüm özellikleri netliğe kavuşmamıştır ve birçok yeni özelliği ortaya çıkmaktadır. Bu durum hâlâ farklı alanlarda yeni çalışmalara gereksinim duyulduğunu göstermektedir. Özellikle geçtiğimiz dönemlerde yapılan çalışmalarda bildirilen farklı mutasyonlar bu yeni özelliklere güncel örneklerdir. Gelişen mutasyonlar, enfeksiyonun yayılımını yeniden hızlandırmıştır. Bu mutasyonlar içerisinde, ülkemizde de olmak üzere farklı ülkelerde yeni olgularda saptanan, SARS-CoV-2 VOC-202012/1 olarak adlandırılan ve İngiltere'de belirlenen mutasyon dünya genelinde endişe uyandırmıştır. Yine, İngiltere, Brezilya ve Güney Afrika'da görülen E484K mutasyonu kendi başına yeni bir varyant değil farklı varyantlarda meydana gelen bir mutasyon olup, bir kaçış varyantı olarak endişe yaratmaktadır. Mutasyonların belirlenmesinde, enfekte kişilerin saptanmasında, salgının etkilerini araştırmada ve aşı çalışmalarında farklı tanılabilir metotlar kullanılmaktadır. Bu metotlar arasında standart tanı olarak kabul edilen ise viral genomun varlığını saptamaya yönelik moleküler temelli metotlardır. Bunun yanında, farklı serolojik uygulamalar, radyoloji ve biyokimyasal testler de tanıyı desteklemekte ve hastanın takibinde kullanılabilirlerdir.

Anahtar kelimeler: SARS-CoV-2, patogenezi, klinik ve tanı

ABSTRACT

SARS-CoV-2 is the causative agent of the viral disease termed as COVID-19 that emerged in China in late 2019, and caused the pandemic. The effects of this alarming disease which affect all the world apparently persist. Therefore, despite many studies are currently ongoing on COVID-19, in the field of health and medicine, all features of the virus are still not clarified and its many new characteristics are emerging, which indicates the need for conduction of new studies in different fields. The different mutations reported in recent studies have accelerated the spread of the infection and are current examples of these new features. Among these mutations, SARS-CoV-2 VOC-202012/1 mutation detected in the UK, and in different countries, including Turkey, aroused concern worldwide. Still, the E484K mutation seen in England, Brazil, and South Africa is not a new variant in itself, but a mutation that occurs in different variants is of concern as an escape variant. Different diagnostic methods are being used to identify these mutations, to detect infected people, to investigate the effects of the pandemic and to contribute to vaccine studies. Although the standard diagnostic methods accepted among them are molecular-based methods used for detecting the presence of the viral genome, different serological applications, radiological and biochemical tests also support the diagnosis and can be used in the follow-up of the patient.

Keywords: SARS-CoV-2, pathogenesis, diagnosis

Alındığı tarih / Received:
15.03.2021 / 15.March.2021

Kabul tarihi / Accepted:
05.06.2021 / 05.June.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kayıtları

H. Akdoğan 0000-0002-0536-4300
T. Karsligil 0000-0001-7672-3625

✉ akdogan@outlook.com

[§] Bu çalışma, danışmanlığını Prof. Dr. Tekin Karsligil'in, yazarlığını Hüseyin Akdoğan'ın yaptığı yüksek lisans tezinden türetilmiştir.

GİRİŞ

2019 yılının sonlarında Çin'in Wuhan şehrinde ortaya çıkan ve pandemi hâlini alan COVID-19, SARS-CoV-2'nin (Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu

Koronavirüs-2) neden olduğu solunum yollarını etkileyen bulaşıcı bir hastalıktır⁽¹⁾. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 11 Mart 2020 tarihinde COVID-19 pandemi olarak ilan edilmiştir⁽²⁾.

Koronavirüsler, insanlarda, diğer memelilerde ve kuşlar arasında dağılım gösteren ve solunum yolu hastalıklarına, enterik, hepatik ve nörolojik hastalıklara neden olan zarflı yapıya sahip, RNA virüsleridir^(3,4). Virüs, Çin'de 2002 yılının sonlarında ortaya çıkan ve yayılan SARS (Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu) ve 2012 yılında ortaya çıkan MERS (Orta Doğu Solunum Yolu Sendromu) hastalıklarının etkeni olarak adını dünyaya duyurmuştur⁽⁵⁾. İnsanlarda hastalığa neden olan dört koronavirus türü (HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-NL63 ve HCoV-229E) daha yaygın olarak görülür ve normal bağışıklığa sahip kişilerde genellikle soğuk algınlıklarına neden olur⁽⁶⁾.

DSÖ yayınladığı 9 Mart 2021 tarihli haftalık epidemiyoloji raporunda, dünya genelinde 116 milyondan fazla olgu görüldüğü ve 2.5 milyondan fazla COVID-19 kaynaklı ölüm yaşandığını bildirmiştir⁽⁷⁾. Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı tarafından açıklanan günlük verilerde 9 Mart 2021 itibarı ile salgının ülkemizde görüldüğü ilk tarihten beri toplam 34.403.108 test yapılmış, 2.807.387 toplam olgu belirlenmiş ve 29.160 kişi COVID-19 nedeniyle yaşamını yitirmiştir⁽⁸⁾.

Salgının başladığı ilk günden yaklaşık bir yıl sonra ise İngiltere'de ilk önce SARS-CoV-2 VUI-202012/01 olarak adlandırılan, ancak şu an SARS-CoV-2 VOC-202012/1 veya B.1.1.7 soyu olarak adlandırılan varyantın ortaya çıktığı bildirilmiştir^(9,10). Varyant, 14 uyumlu olmayan mutasyona, 6 uyumlu mutasyona ve 3 delesyona sahiptir⁽¹⁰⁾.

Bu varyantta oluşan kilit mutasyonlar, spike (S) proteinini kodlayan dizide meydana gelir. S proteini, anjiyotensin dönüştüren enzim 2 (ACE2) reseptörüne bağlanma ve virüsün hücreye girişinde rol alan önemli bir proteindir. Bununla beraber, bağışık yanıt için önemli bir hedef noktadır. Burada oluşacak mutasyonlar, virüsün enfeksiyonunu, replikasyonunu, patojenesini ve konakta bağışık yanıt tepkisini değiştirebilir.

Yeni ortaya çıkan varyantta oluşan önemli mutasyonlardan biri de N501Y mutasyonu olup, S proteininin reseptör bağlanma alanında (RBD) ortaya çıkar ve S proteininin ACE2 reseptörlerine bağlanma kabiliyeti-

ni arttırabilir⁽¹⁰⁾. S proteininin 69-70 pozisyonlarında ortaya çıkan delesyonların, insanda bağışıklık tepkisinin potansiyel kaçışında rol oynadığı ileri sürülmüştür⁽¹⁰⁾. P681H mutasyonu, biyolojik olarak önemli olduğu bilinen furin bölünme bölgesinin hemen bitişiğindedir⁽¹⁰⁾.

Salgın sürecinde ortaya çıkan değişimler ve çalışmalar sonucunda SARS-CoV-2 ile ilgili bilgilerin tamamıyla açıklığa kavuşmadığını ve yeni çalışmalara gereksinim duyulduğu görülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda, SARS-CoV-2'nin genel özelliklerine, patogenezi ve tanısına ait bilgileri genel olarak özetlemeyi amaçladık.

Koronavirüslerin Genel Özellikleri

Koronavirüsler, ilk olarak 1930'ların başlarında şu anda kuş bulaşıcı bronşit virüsü (IBV) olarak bilinen bir virüsün evcil tavuklarda akut solunum yolu enfeksiyonuna neden olduğu gösterildiğinde keşfedilmiştir. İlk insan koronavirusu (HCoV) ise 1960'lı yıllarda keşfedilmiştir. SARS'ın ortaya çıktığı 2003 yılına kadar yalnızca HCoV-229E ve HCoV-OC43 olarak isimlendirilen iki tür insanlar için patojen olarak kabul ediliyordu. Bu iki virüsün hafif soğuk algınlıklarına neden olduğu gösterilmiştir. SARS'tan sonra solunum yolu hastalıkları ile ilişkili olan iki yeni HCoV olan, HCoV-NL63 ile HCoV-HKU1 keşfedilmiştir⁽¹¹⁾.

Koronavirüsler, isimlerini elektron mikroskobu ile incelendiğinde görülen güneş-taç benzeri görüntüden almaktadır ve Rhinovirüslerden sonra soğuk algınlığının en sık ikinci etkenidirler⁽¹²⁾. Koronavirüsler; zarflı yapıda, 120-160 nm boyutlarında, küresel şekilde, lineer yapılı tek sarmallı segmente olmayan pozitif polariteye sahip RNA (27-32 kb) taşıyan ve RNA virüsleri içerisinde en büyük genoma sahip virüslerdir. Dokuz-on bir nm boyutlarında helikal yapılı nükleokapsid ve zarfın dış yüzeyinde 20 nm uzunluğunda geniş aralıklar ile yerleşmiş çıkıntılara sahiptir. İzole genomik RNA, enfeksiyözdür⁽¹³⁾.

Koronavirüslerin viral yapısal proteinleri; nükleokapsid (N) proteini, membran (M) proteini, spike (S) glikoproteini ve zarf (E) proteinleridir. HCoV-OC43'ün

de bulunduğu bazı virüsler ise hemagglütinasyona neden olan ve asetilesteraz aktivitesine sahip üçüncü bir glikoprotein olan hemagglütinin-asetilesteraz (HE) glikoproteinine sahiptir^(11,13).

SARS-CoV-2 Yapısı

SARS-CoV-2 genomu 10 açık okuma çerçevesinden (ORF) meydana gelmektedir⁽¹⁴⁾. Birinci ORF'de (ORF1a/b), poliprotein 1a, poliprotein 1b ve 1-16 yapısal olmayan proteini (nsp) kodlayan viral RNA'nın yaklaşık 2/3'si bulunmaktadır⁽¹⁵⁾. Diğer ORF'ler ise S, M, E ve N gibi yapısal proteinleri kodlamaktadır⁽¹⁶⁾.

Genomik RNA, her iki ucunda translasyona uğramış bölgeler (UTR) bulunan 5'-replikaz gen-S-E-M-N-3' şeklinde karakteristik bir dizide geni göstermektedir. *Rep* geni viral birleşme için gerekli olan nsp'leri, M proteinini, E proteinini ve RNA sentezinde önemli olan N proteinini kodlar⁽¹⁷⁾.

S glikoproteini, virüsün dış bölgesinde yer alan ve yaklaşık olarak 150 kDa molekül ağırlığındaki bir yapıdır. Bu yapı ile alt solunum yolu hücrelerinde anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) etkileşime girerek virüsün konak hücreye tutunmasını kolaylaştırır. S glikoproteini, konak hücrede furin benzeri proteaz tarafından S1 ve S2 olmak üzere iki alt birime ayrılır. S1 alt birimi hücresel tropizmin belirlenmesinde görevli iken, S2 alt birimi ise virüsün hücreye fuzyonunda rol alır^(15,18,19).

N proteini, yapısal olarak virüsün nükleik asit yapısına bağlanan ve endoplazmik retikulum-golgi bölgesinde lokalize olan koronavirüslerin yapısal bileşenidir. N proteini, RNA'ya bağlandığı için virüsün replikasyon döngüsünde ve konakçı hücrelerin viral enfeksiyonlara karşı verdiği hücresel tepki ile ilişkili süreçlerde rol oynar^(20,21). Ek olarak N proteinin viral genom için afiniteyi arttıran yapısal değişimlere yol açtığı da öne sürülmüştür⁽¹⁸⁾.

M proteini, virüse ait zarf yapısının şekil almasında rol alır ve diğer yapısal proteinlere bağlanabilir. M proteini ile bağlanma, N proteinlerini stabilize etmeye yardımcı olur ve virion içerisinde N proteini-RNA

kompleksini stabilize ederek viral birleşmenin tamamlanmasında rol oynar⁽²⁰⁾.

Virüsün yapısında yer alan en küçük protein olan E proteini ise virüsün yapımı ve olgunlaşmasında etkilidir⁽²⁰⁾.

Ayrıca yapısal proteinlerin haricinde farklı etkilere sahip yapısal olmayan ve farklı işlevlere sahip proteinler de (nsp) virüsün yapısında yer almaktadır.

SARS-CoV-2 Taksonomisi

Koronavirüsler; *Coronaviridae* ailesinin içerisinde bulunduğu *Nidovirales* takımının en büyük virüs grubudur. *Coronaviridae* ailesi, *Torovirinae* ve *Coronavirinae* olmak üzere iki alt aileden oluşmaktadır. *Coronavirinae* alt ailesi ise alfa, beta, gamma ve delta olmak üzere dört cinse bölünmüştür⁽¹⁸⁾. *Alfacoronavirus* üyesi olan HCoV-NL63 ve HCoV-229E ile *Betacoronavirus* üyesi olan SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 insanlarda hastalıklara neden olabilmektedir⁽¹³⁾. *Gammacoronavirus* ve *Deltacoronavirus* cinsleri ise hayvanlarda hastalıklara neden olan koronavirüsleridir.

SARS-CoV-2; *Riboviria* üst alemi, *Orthornavirae* alemi, *Pisuviricota* şubesi, *Pisoniviricetes* sınıfı, *Nidovirales* takımı, *Cornidovirineae* alt takımı, *Coronaviridae* ailesi, *Orthocoronavirinae* alt ailesi, *Betacoronavirus* cinsi, *Sarbecovirus* alt cinsi içerisinde yer alan şiddetli akut solunum yolu sendromu ilişkili *Coronavirus* türünün üyesidir⁽²²⁾.

SARS-CoV-2 Replikasyonu

SARS-CoV-2 virüsünün konak hücredeki replikasyon aşamaları; (i) bağlanma ve hücre içerisine girişi, (ii) viral replikazın transkripsiyonu, (iii) genomik transkripsiyon ve replikasyon, (iv) yapısal proteinlerin translasyonu, (v) virion birleşimi ve salınımindan meydana gelmektedir^(18,23).

S glikoproteini, hücresel reseptörlere bağlanır ve virüsün hücre içine geçişini sağlar^(24,25). S glikoproteini, virüsün hücre içerisine girişinden sorumlu olan

hücrel transmembran proteini ACE2 reseptörüne tutunur^(24,26). S glikoprotein ACE2'ye tutunması, füzyon peptidini ortaya çıkaran bir proteolitik bölünme reaksiyonu ortaya çıkartır. Bu bölünme, hücrel bir protein olan transmembran proteaz, serin 2 (TMPRSS-2) tarafından meydana getirilir^(27,28). Virüsün hücre içerisine geçişi endositoz veya füzyon yolu ile gerçekleşir⁽²⁹⁾. Endositoz sonrası virüse ait S glikoproteinini lizozomal proteazlar tarafından parçalanır ve bu durum viral zarfın endozomal membranlar ile füzyonuna ve viral genomun sitoplazmaya salınımına neden olur^(29,30).

Replikasyonda bir sonraki aşamada replikaz geninin genomik RNA'dan transkripsiyonu gerçekleşir. Replikaz geni iki büyük ORF olan rep1a ve rep1b'yi kodlar, bunlar pp1a ve pp1ab olmak üzere iki koterminallik polipeptidini ifade eder. Pp1a, nsp 1-11'i içerirken; pp1ab, nsp 1-16'yı içermektedir. Pp1ab'de, pp1a'dan gelen nsp 11, pp1a'nın pp1b'ye uzamasını takiben nsp 12'ye dönüşür. Ortaya çıkan bu nsp'ler, RNA sentezi için uygun bir ortam oluşturmak için replikaz-transkriptaz kompleksinde birleşir ve bu yapı alt genomik RNA'ların, RNA replikasyonu ve transkripsiyonundan sorumlu olarak rol alır. Ek olarak nsp'ler viral replikasyonda farklı işlevlere sahiptir⁽¹⁸⁾.

Viral RNA sentezi, viral replikaz komplekslerinin dönüştürülmesini ve birleştirilmesini takip eder. Viral RNA sentezi hem genomik hem de alt genomik RNA'lar üretir. Alt genomik RNA'lar, replikaz polipeptidlerinde yer alan yapısal ve yardımcı genler için mRNA olarak görev alır. Tüm pozitif polariteli alt genomik RNA'lar, tam uzunlukta viral genom ile 3' ucu koterminaldir. Bu nedenle, *Nidovirales* takımına ait ayırt edici bir özellik olan birkaç iç içe geçmiş RNA oluşturur. Hem genomik hem de alt genomik RNA'lar negatif polariteli yapı aracılığı ile meydana getirilir⁽¹⁸⁾.

Replikasyon ve alt genomik RNA sentezi sonrasında yapısal proteinler, S, E ve M transkripsiyona uğrar ve endoplazmik retikulum (ER) geçer. Bu proteinler sekretuar yolla ER-golgi ara bölmesine (ERGIC) doğru geçiş yapar^(31,32). Viral genomu içeren N proteini ve ERGIC membranında yer alan diğer yapısal proteinler

birleşerek olgun virionu meydana getirir⁽³³⁾. M proteini, koronavirüslerin birleşmesi için gerekli olan protein-protein etkileşimlerinin çoğunu yönlendirir. Birleşmeyi takiben, virionlar veziküller içerisinde hücre yüzeyine doğru taşınır ve ekzositoz ile dışarıya salınır⁽¹⁸⁾.

SARS-CoV-2 Patogenezi

Virüsün ortalama inkübasyon periyodu 5.2 gündür ve hastalar 11.5-15.5 gün içerisinde belirti geliştirmektedir⁽³⁴⁾. Buna rağmen herhangi bir belirti göstermeden gelişen asemptomatik olgular da vardır.

Virüs alt solunum yollarını enfekte ederek, SARS ya da MERS enfeksiyonuna kıyasla daha hafif semptomlar ile insanlarda pnömoneye neden olabilir fakat ölümle de sonuçlanabilen bir hiperinflamasyon ve solunum disfonksiyonu hastalığı hâline gelebilir⁽³⁵⁾. Enfeksiyon üç safhada görülebilir⁽³⁶⁾; (i) virüsün varlığının saptandığı veya edilemediği asemptomatik dönem, (ii) üst solunum yollarının tutulduğu şiddetli olmayan semptomatik dönem, (iii) şiddetli, hipoksi ile potansiyel olarak ölümcül olabilen, akciğerde buzlu cam infiltratları görülmesi ve aşırı viral yük ile akut solunum sıkıntısı sendromuna (ARDS) ilerleme⁽³⁶⁾.

ARDS, COVID-19 hastalığında ana ölüm nedenidir ve immünopatojenik açıdan SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonları ile benzerdir⁽³⁷⁾. ARDS'nin başlıca özelliklerinden biri, immün efektör hücreler tarafından salınan proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler nedeniyle meydana gelen kontrolsüz bir sistemik inflamatuvar yanıt olan sitokin fırtınasıdır⁽³⁸⁾. COVID-19 olarak tanı alan hastaların kanlarında; IL-1 β , IL-1RA, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, temel FGF2, GCSF, GMCSF, IFN- γ , IP10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGFB, TNF- α , ve VEGFA'yı kapsayan yüksek seviyede sitokin ve kemokin saptanmıştır⁽³⁹⁾. COVID-19 ile enfekte olmuş hastalar daha yüksek düzeyde lökosit sayısı, anormal solunum ve plazmada artmış sitokin düzeyleri göstermiştir⁽³⁷⁾.

Virüsün akciğer hücrelerine, miyositlere ve vasküler sistemin endotelial hücrelerine invazyonu, ödem,

dejenerasyon ve nekrotik değişikliklerin de bulunduğu inflamatuvar değişimlere neden olur. Bu değişimler temelde proinflamatuvar sitokinler ile ilişkilidir⁽⁴⁰⁾. İnvazyon sonucunda vücudun immün yanıtı ile; akciğer hasarı (hipoksemi), hipoksiye bağlı miyosit hasarı, miyokardiyal hücrelerde hasarlanma, bağırsak ve kardiyopulmoner değişiklikler ortaya çıkabilir. Ortaya çıkan bu değişimler; hücre içi pH değişimine, serbest oksijen radikallerinin birikimine, elektrolit değişimlerine, laktik asit birikimine ve artan hücresel hasara neden olmaktadır⁽³⁴⁾.

COVID-19'dan etkilenen birincil sistem solunum sistemidir ve her iki akciğerde birden fazla infiltrat gözlemlenebilir. Akciğerlerin patolojisinde, mikroskopik olarak iki tarafta yaygın alveoler hasarlar, hücresel fibromikroid infiltratlar ve lenfosit baskınlığı ile interstisyel mononükleer inflamatuvar infiltratlar saptanır⁽⁴¹⁾.

Kardiyovasküler sistemi etkilendiğinde yüksek düzeyde duyarlı troponin-T, natriüretik peptidler ve IL-6 gibi biyobelirteçlerin arttığı görülür. Bu biyobelirteçlerdeki artış kötü sonuçlar ile ilişkilidir. Vasküler sistem inflamasyonu, kardiyak aritmi, miyokardit, akut koroner sendrom ve kalp yetmezliği gibi ölümlü sonuçlanan değişimlere neden olabilir^(42,43).

Enfeksiyon sırasında görülen lenfositopeni, potansiyel olarak CD4+ ve bazı CD8+ T hücrelerini kapsar. Bu durum, doğal ve edinilmiş bağışık yanıt tepkisini bozarak, virüsün vücuttan atılmasının gecikmesine ve aşırı uyarılmış nötrofil ve makrofaj oluşumuna neden olur⁽³⁴⁾.

COVID-19, gastrointestinal (GI) belirtilere de neden olabilmektedir. ACE2, GI sistem epitel hücrelerinde de yer almaktadır. Bu durum virüsün reseptörler aracılığı ile hücreye girişini ve burada çoğalmasının inflamatuvar değişimlere ve belirtilere neden olabileceğini göstermektedir⁽³⁴⁾.

Serum ALT ve AST düzeylerinin artışı ile karaciğer hasarı meydana gelebilir. Ayrıca bazı hastalarda serum bilirubin ve γ -glutamil transferaz düzeylerinde hafif yükselmeler görülmüştür^(44,45). SARS-CoV-2 ile enfekte hastalarda karaciğerde mikroveziküler stea-

toz ve hafif lobüler hasar gözlenmiştir⁽⁴⁵⁾. Ek olarak gözlemlenen karaciğer hasarlarının direkt olarak viral etkenden mi kaynaklı yoksa farklı etkenlerden mi kaynaklı olup olmadığı kesin değildir⁽⁴⁶⁾.

SARS-CoV-2'nin potansiyel nöropatik özelliklere sahip olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Baş dönmesi, baş ağrısı, azalmış bilinç seviyesi, akut hemorajik nekrotizan ensefalopati ve nöbet gibi nöral belirtiler bildirilmiştir⁽⁴⁷⁾.

Klinik

İlk başta yalnızca ağır solunum yolu enfeksiyonuna neden olduğu düşünülen COVID-19'un bir süre sonra farklı klinik tablolara neden olduğu ve birçok organı etkilediği görülmüştür. Yapılan araştırmalar incelendiğinde, klinik bulguların, zamana ve coğrafi dağılıma göre bazı farklılıklar gösterdiği görülmüştür. Bu durumun nedenleri arasında; virüste ortaya çıkan değişimler, genetik farklılıklar veya bulguların daha kapsamlı olarak incelenmesi yer alabilir⁽⁴⁸⁾.

Yapılan çalışmalar, ortaya çıkan belirtiler arasında en sık olarak ateş görüldüğünü ve ateşi sırasıyla öksürük, dispne, kas ağrıları ve hâlsizlik, balgam çıkarma, boğaz ağrısı, baş ağrısı, titreme, iştahsızlık, ishal, bulantı-kusma ve burun akıntısının takip ettiğini göstermiştir⁽⁴⁹⁻⁵⁴⁾.

Gastrointestinal semptomlar ve dispne gibi bazı semptomların ilk başvuru sırasında görülmesi hastalığın ağır klinik tabloya ilerlemesi yönünden anlamlı olarak bulunmuştur. Ateş erişkin hastalarda çocuklara kıyasla daha fazla görülürken bulantı-kusma ise çocuklarda daha belirgindir. Hastalarda solunum sistemine ait semptom olmadan yalnızca GI semptomlar görülebilir. Ateş görülen hastaların yarıya yakınında ateşin ilk başvuru sırasında değil sonraki günlerde ortaya çıkabildiği görülmüştür. Hastalığın erken döneminde yalnızca koku alamama, bazen de baş ve kas ağrıları görülebilir. Bunlara ek olarak hastalık asemptomatik olarak da gelişebilmektedir⁽⁴⁸⁾.

Ender olarak görüle de cilt bulguları da oluşabilmektedir⁽⁵⁵⁾. Ayrıca enfeksiyonun farklı nöral

durumlara neden olabileceği de görülmüştür^(56,57).

Hasta kişilerde lökopeni ve lenfopeni gelişebilmektedir. Ayrıca olguların yaklaşık olarak ¼'inde karaciğer enzim seviyeleri yükselmektedir. Ağır seyreden hastalarda başta IL-6 olmak üzere sitokin fırtınasına ait laboratuvar bulguları saptanabilir⁽⁴⁸⁾. Enfeksiyondan özellikle solunum sistemi etkilendiği için akciğere ait radyolojik görüntülemeler önemlidir. Pnömonisi olan hastalarda erken dönemde en sık görülen bulgu genellikle bilateral görülen, periferik yerleşimli, çoklu buzlu cam alanlarıdır⁽⁴⁸⁾. Hastalığın erken döneminde de görülebilen hiperkoagülabilite ve ilerleyen dönemde oluşan sitokin fırtınası ağır tablolarda rol almaktadır. Hastalarda ARDS, aritmiler, tromboembolik olaylar, sepsis, akut kardiyak hasar ve çoklu organ yetmezliği gibi ölüme neden olabilen komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir⁽⁴⁸⁾. Ağır klinik tablonun genellikle belirtilerin başlangıcını takip eden 7-14 gün sonra, komplikasyonların ise belirtilerin başlangıcını takip eden 10-14 gün sonra geliştiği görülmektedir⁽⁴⁸⁾.

Tanı

COVID-19'un tanısında klinik belirtiler, hasta geçmişi, nükleik asit saptanması, serolojik testler ve radyolojik görüntülemeler gibi yöntemlerden yararlanılmaktadır⁽³⁸⁾. Ek olarak tanıya yardımcı olarak biyokimyasal testler de kullanılmaktadır. Gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) standart olarak kabul edilen tanı yöntemidir.

Tanıda üst solunum yollarından sürüntü örnekleri alınır. Kullanılan RT-PCR testinin duyarlılığı yönünden nazofarinks ve orofarinks örnekleri kıyaslandığında nazofarinks örneklerinin daha yüksek düzeyde duyarlılığı olduğu saptanmıştır⁽⁵⁸⁾.

Hasta geçmişi; şüpheli olgularda, olgu geçişinin taranması erken teşhis için önemli rol oynamaktadır. Klinik olarak şüpheli olan hastalar, ateş ve alt solunum yolu enfeksiyonu semptomlarına sahip, hastalığın yayılması açısından riskli bölgelerde yaşayan veya bu bölgelere seyahat etmiş olan, tanımlanmış veya şüpheli kişiler ile yakın temas varlığı bulunan kişilerdir⁽⁵⁹⁾.

Nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT), virüse ait olan genom yapısının özgül dizilerinin saptanması temeline dayanır ve dünya genelinde RT-PCR testleri SARS-CoV-2 belirlenmesi için standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Gerçek zamanlı RT-PCR testlerinde, genom amplifikasyonu ile analizi aynı kapalı sistem içerisinde yapıldığı için örnekte kontaminasyon nedeniyle ortaya çıkabilecek yanlış pozitif sonuçları en aza indirmektedir⁽⁶⁰⁾. RT-PCR testlerinde hedef bölge olarak yapısal olan viral proteinlerin kodlandığı genom bölgeleri ayrı olarak veya birlikte kullanılabilir. Bunlar dışında, viral replikasyonda görevli nsp'leri kodlayan genler de (RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (*RdRp*), *ORF1a* ve *ORF1b*) hedef bölge olarak kullanılabilir^(61,62).

Amerikan Hastalık Kontrol Merkezi (CDC), *N1* ve *N2* olarak isimlendirilen iki *N* proteini geninin hedef bölge olarak kullanılmasını önerirken, *DSÖ* ise *E* ve *RdRp* genlerinin beraber kullanılmasını önermektedir^(63,64). Çin'de *ORF1ab* ve *N* genleri, Almanya'da *RdRp*, *E* ve *N* genleri, Fransa'da *RdRp* üzerinde iki hedef bölge, Tayland'da ise *N* geni hedef gen bölgesi olarak kullanılmaktadır⁽⁶⁵⁾. Türkiye'de ise pandeminin ilk dönemlerinde *RdRp* genini hedef bölge olarak alan testler kullanılırken, mevcut durumda *ORF1ab* ve *N* geninin hedef bölge olarak alındığı testler kullanılmaktadır⁽⁶⁰⁾.

RT-PCR testleri, tanı için en ideal yöntem olarak görülsede bazı durumlar yanlış negatif sonuçları oluşturabilmektedir. Bu durumlar içerisinde, olgularda virüsün dalgalı yayılım göstermesi, örneğin uygun alınmaması veya yeterli hücre içermemesi, enfeksiyonunun erken veya geç döneminde alınması, antiviral ilaç kullanımı, örneğin transportu sırasında oluşabilecek sorunlar, örnekte PCR uygulamasını baskılayıcı inhibitör madde bulunması, hedef gen bölgesinde mutasyona bağlı değişimler yer alabilmektedir⁽⁶⁰⁾. Olası yanlış negatif sonuç şüphesinde yeniden örnek alınıp yine analiz edilmelidir.

Nükleik asit sekanslama yöntemi, daha önce tanımlanmamış bir mikroorganizmanın saptanmasını ve nükleotid baz diziliminin belirlenmesini sağlamada kullanılan avantajlı bir yöntemdir. SARS-CoV-2'nin ilk

tanımlanmasında nükleik asit sekanslama yöntemi önemli bir rol oynamasına rağmen, iş yükü ve yüksek maliyeti olması nedeniyle rutin tanıda yer almamaktadır⁽⁶⁰⁾. Buna karşın, virüs varlığının doğrulanmasında, viral genom mutasyonlarının takip edilmesinde ve moleküler epidemiyolojik çalışmalar için bilgi sağlayabilir⁽⁶⁶⁾.

COVID-19'un tanısı için viral kültür yöntemi önerilmemektedir. Viral kültür; virüse ait özelliklerin incelenmesi, virüsün izole edilmesi ve aşı geliştirme çalışmalarında araştırma amaçlı olarak kullanılabilir⁽⁶⁶⁾.

SARS-CoV-2; S, N, E ve M gibi birçok proteini içeren bir yapıya sahiptir. Bu proteinler arasında S glikoproteini ve N proteini, SARS-CoV-2'ye karşı oluşan antikorlar için ana antijenik hedeflerdir⁽⁶⁷⁾. S glikoproteini hücreye girişi sırasında proteolitik enzimler aracılığı ile S1 ve S2 olarak isimlendirilen iki alt birime ayrılır. Bunlardan S1 alt birimi SARS-CoV-2'nin serolojik olarak saptanmasında S ve S2'ye kıyasla daha spesifiktir. S1 proteinin RBD alanı S glikoproteinine göre daha fazla korunur ve diğer koronavirüslerle daha düşük düzeyde çapraz reaktiviteye sahiptir^(68,69). Bu antijenlerin belirlenmesinde kullanılan testler, hızlı sonuç vermeleri, düşük maliyeti ve uygulama kolaylığı nedeniyle dikkat çekmektedir⁽⁶⁰⁾. Ancak, bu testlerin duyarlılığı günümüzde düşüktür ve duyarlılığı artırma çabaları devam etmektedir. SARS-CoV-2 antijenlerinin varlığının belirlenmesi için en sık olarak kullanılan yöntem immünokromatografik yöntemdir^(70,71). Örnekte virüs konsantrasyonunun fazlalığı, test için monoklonal antikorların kullanılması ve testte kullanılan reaktiflerin kalitesi testin tanı değerini artırabilir. Kullanılan antikorların diğer koronavirüslerle çapraz reaksiyon oluşturması yanlış pozitif sonuçlara, antijen düzeyinin düşük oluşu ise yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Ek olarak SARS-CoV-2 ile enfekte kişilerde düşük viral yük ve örnek değişkenliği yanlış negatif sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir⁽⁶⁰⁾.

Günümüzde birçok hastalığın erken dönem tanısında, epidemiyolojisinin belirlenmesinde ve bağışıklık

durumlarının incelenmesinde güvenilir ve hızlı sonuç vermeleri nedeniyle antikor testleri aktif olarak kullanılmaktadır. COVID-19 için antikor testleri; klinik ve radyolojik olarak belirtilere sahip olan fakat viral genom saptanmayan kişilerin araştırılmasında, immün plazma tedavisi için uygun bağışçıların saptanmasında, sağlık personeli gibi özel risk gruplarında çalışan kişilerin analizinde, hastalığın toplumda görülme oranlarının saptanmasında ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir⁽⁶⁰⁾. SARS-CoV-2'ye spesifik reaktifler sayesinde IgM, IgA ve IgG gibi farklı antikor tipleri belirlenebilir. İnsan vücudu, SARS-CoV-2 ile enfekte olduktan sonraki 5-7 gün içinde IgM antikorları üretebilir. IgG antikorları genellikle IgM antikorlarıyla aynı zamanda saptanmakta ya da 10-15 gün içerisinde üretilmeye başlamaktadır⁽⁷²⁾. Mukozal bağışıklık yönünden IgA antikorları önemlidir ve 6-8 gün içerisinde saptanabilir⁽⁷³⁾. Bu antikorların varlığını saptamada ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), IFA (İmmunfluoresans Antikor), CLIA (Kemilüminesans İmmunoassay) ve immünokromatografik yöntem gibi çeşitli yöntemler kullanılabilir.

Bilgisayarlı tomografi (BT) taramaları, ultrason ve röntgen gibi görüntüleme yöntemleri COVID-19'un neden olduğu pnömoninin erken teşhisi için önemli rol oynamaktadır. Bu teknikler arasında röntgen hızlı uygulanması ve maliyeti düşük olmasına karşın yanlış negatif sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilir⁽⁷⁴⁾. Akciğere ait görüntülemelerde buzlu cam alanlarının görülmesi, lokal veya bilateral yamalı infiltrantlar, konsolidasyon, intersitisyel anormallikler, hava bronkogramı, kaldırım taşı görüntüsü ve halo görünümü saptanabilir. Radyolojik görüntüleme özellikle bilateral periferik yerleşimli, alt ve orta zonda başlayan posterior yerleşimli düzensiz konsolidasyon ve buzlu cam görünümü tanı için tipik bulgulardır⁽⁷⁵⁾.

COVID-19 patogenezinde yer alan biyokimyasal mekanizmalar ve ortaya çıkan metabolik hasarın bilinmesi tanı ve tedavi için kritik bir önem taşır. Bu nedenle enfeksiyonun prognozu, takibi, mortalitesi ve tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde önemlidir⁽⁷⁶⁾. Artış gösteren değerler arasında; nötrofil miktarı, nötrofil/lenfosit oranı, lökosit miktarı,

sedimentasyon, CRP, prokalsitonin, ferritin, sitokin düzeyleri, LDH, D-dimer, fibrinojen, ALT, AST, total bilirubin, kreatin kinaz, kreatinin, kardiyak troponin yer alır. Azalma gösteren değerler arasında ise; lenfosit miktarı, trombosit miktarı, potasyum, kalsiyum, sodyum ve albümin yer almaktadır^(76,77).

Güncel Varyantlar

Şu anda dünya genelinde beş önemli varyant vardır. Bunlar; B.1.1.7 varyantı ilk olarak Birleşik Krallık'ta, B.1.351 varyantı ise ilk olarak Aralık 2020'de Güney Afrika'da saptanmıştır. P.1 varyantı ilk olarak Ocak ayının başlarında Japonya'daki bir havaalanında rutin tarama sırasında test edilen Brezilya'dan gelen gezginlerde belirlenmiştir. B.1.427 ve B.1.429 varyantları ise ilk olarak Şubat 2021'de Kaliforniya'da tanımlanmıştır. Bu varyantlar, diğer varyantlardan daha kolay ve hızlı yayılıyor gibi görünmekte olup, daha fazla COVID-19 olgusuna yol açabilecek varyantlardır. Olgu sayısındaki artış, sağlık hizmetleri kaynaklarına daha fazla baskı uygulayacak, daha fazla hastaneye yatma ve potansiyel olarak daha fazla ölüme yol açabilecektir. Şimdiye kadar yapılan araştırmalar, mevcut aşuların dolaşımdaki varyantlar üzerinde etkili olduğunu göstermektedir⁽⁷⁸⁾.

KAYNAKLAR

- 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>
- WHO. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19-11 March 2020. World Health Organization. 2020. [<https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>] (Erişim tarihi: 02. Ekim.2020).
- Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res.* 2011; 81: 85-164. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385885-6.00009-2>
- Masters PS, Perlman S. Coronaviridae. In: Knipe DM, Howley PM (Eds.) *Fields Virology.* 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013:825-58.
- Ryan KJ, Ahmad N, Alspaugh JA, Drew WL, Reller M. *Sherris Medical Microbiology.* 7th ed. McGraw-Hill, 2018:181-2.
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016;24(6):490-502. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
- WHO. WHO Coronavirus disease (COVID-19) Weekly Epidemiological Update. World Health Organization. [<https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update---10-march-2021>] (Erişim tarihi: 10.Mart.2021).
- TC Sağlık Bakanlığı. Genel koronavirüs tablosu. [<https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66935/genel-koronavirus-tablosu.html>] (Erişim tarihi: 10.Mart.2021).
- Public Health England. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant: variant of concern 202012/01. [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/947048/Technical_Briefing_VOC_SH_NJL2_SH2.pdf] (Erişim tarihi: 09.Şubat.2021).
- Rambaut A, Loman N, Pybus O, et al. Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations. [<https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563>] (Erişim tarihi: 09.Şubat.2021).
- Peiris JSM. Coronaviruses. In: Greenwood D, Barer M, Slack R, Irving W (Eds.) *Medical Microbiology.* 18th ed. Churchill Livingstone, 2012:587-93.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology.* 9th ed. Elsevier; 2020.
- Riedel S, Morse SA, Mietzner TA, Miller S. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology.* 28th ed. McGraw-Hill, 2019:617-22.
- Wang N, Shang J, Jiang S, Du L. Subunit vaccines against emerging pathogenic human Coronaviruses. *Front Microbiol.* 2020; 11: 298. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00298>
- Guo YR, Cao QD, Hong ZS, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak-an update on the status. *Mil Med Res.* 2020;7(1):11. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>
- Han Y, Du J, Su H, et al. Identification of diverse bat alphacoronaviruses and betacoronaviruses in China provides new insights into the evolution and origin of Coronavirus-related diseases. *Front Microbiol.* 2019; 10: 1900. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01900>
- Song Z, Xu Y, Bao L, et al. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. *Viruses.* 2019;11(1):59. <https://doi.org/10.3390/v11010059>

18. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol.* 2015;1282:1-23.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
19. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell.* 2020;181(2):281-92.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
20. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol J.* 2019;16(1):69.
<https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>
21. Tai W, He L, Zhang X, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 Novel Coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol.* 2020;17(6):613-20.
<https://doi.org/10.1038/s41423-020-0400-4>
22. NCBI. Taxonomy Browser (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2). National Center for Biotechnology Information. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=2697049&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=f&log_op=lineage_toggle] (Erişim tarihi: 12. Ekim.2020).
23. 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](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
24. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* 2020;181(2):271-80.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
25. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science.* 2020;367(6483):1260-3.
<https://doi.org/10.1126/science.abb2507>
26. Zhang W, Du RH, Li B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):386-9.
<https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1729071>
27. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science.* 2020;367(6485):1444-8.
<https://doi.org/10.1126/science.abb2762>
28. Zhang L, Lin D, Sun X, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science.* 2020;368(6489):409-12.
<https://doi.org/10.1126/science.abb3405>
29. Huang IC, Bosch BJ, Li F, et al. SARS Coronavirus, but not human Coronavirus NL63, utilizes cathepsin L to infect ACE2-expressing cells. *J Biol Chem.* 2006;281(6):3198-203.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M508381200>
30. Huang IC, Bosch BJ, Li W, Farzan M, Rottier PM, Choe H. SARS-CoV, but not HCoV-NL63, utilizes cathepsins to infect cells: viral entry. *Adv Exp Med Biol.* 2006; 581: 335-8.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-33012-9_60
31. Krijnse-Locker J, Ericsson M, Rottier PJ, Griffiths G. Characterization of the budding compartment of mouse hepatitis virus: evidence that transport from the RER to the Golgi complex requires only one vesicular transport step. *J Cell Biol.* 1994;124(1-2):55-70.
<https://doi.org/10.1083/jcb.124.1.55>
32. Tooze J, Tooze S, Warren G. Replication of coronavirus MHV-A59 in sac- cells: determination of the first site of budding of progeny virions. *Eur J Cell Biol.* 1984;33(2):281-93.
33. de Haan CA, Rottier PJ. Molecular interactions in the assembly of coronaviruses. *Adv Virus Res.* 2005;64:165-230.
[https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(05\)64006-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(05)64006-7)
34. Azer SA. COVID-19: pathophysiology, diagnosis, complications and investigational therapeutics. *New Microbes New Infect.* 2020;37:100738.
<https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100738>
35. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* 2020;92(4):418-23.
<https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
36. Shi Y, Wang Y, Shao C, et al. COVID-19 infection: The perspectives on immune responses. *Cell Death Differ.* 2020;27(5):1451-4.
<https://doi.org/10.1038/s41418-020-0530-3>
37. 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](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
38. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal.* 2020;10(2):102-8.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>
39. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020;109:102433.
<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102433>
40. Chiappelli F, Khakshooy A, Greenberg G. COVID-19 immunopathology and immunotherapy. *Bioinformatics.* 2020;16(3):219-22.
<https://doi.org/10.6026/97320630016219>

41. Tian S, Hu W, Niu L, Liu H, Xu H, Xiao SY. Pulmonary pathology of early-phase 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2020;15(5):700-4. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.02.010>
42. Liu PP, Blet A, Smyth D, Li H. The science underlying COVID-19: Implications for the cardiovascular system. *Circulation.* 2020;142(1):68-78. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047549>
43. Bansal M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes Metab Syndr.* 2020;14(3):247-50. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.03.013>
44. Zhao D, Yao F, Wang L, et al. A comparative study on the clinical features of Coronavirus 2019 (COVID-19) pneumonia with other pneumonias. *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):756-61. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa247>
45. Xu L, Liu J, Lu M, Yang D, Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human Coronavirus infections. *Liver Int.* 2020;40(5):998-1004. <https://doi.org/10.1111/liv.14435>
46. Feng G, Zheng KI, Yan QQ, et al. COVID-19 and liver dysfunction: Current insights and emergent therapeutic strategies. *J Clin Transl Hepatol.* 2020;8(1):18-24. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2020.00018>
47. Poyiadji N, Shahin G, Noujaim D, Stone M, Patel S, Griffith B. COVID-19-associated acute hemorrhagic necrotizing encephalopathy: Imaging features. *Radiology.* 2020;296(2): E119-20. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201187>
48. Heper Y. COVID-19 genel bakış. İçinde: Heper C (Ed.) *Multidisipliner COVID-19 Bursa Tabip Odası Sürekli Tıp Eğitimi Pandemi Kitabı.* Bursa: Bursa Tabip Odası Yayınları, 2020:67-80.
49. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis.* 2020;34:101623. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101623>
50. Zhu J, Zhong Z, Ji P, et al. Clinicopathological characteristics of 8697 patients with COVID-19 in China: a meta-analysis. *Fam Med Community Health.* 2020;8(2): e000406. <https://doi.org/10.1136/fmch-2020-000406>
51. 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>
52. Kakodkar P, Kaka N, Baig MN. A comprehensive literature review on the clinical presentation, and management of the pandemic Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Cureus.* 2020;12(4):e7560. <https://doi.org/10.7759/cureus.7560>
53. Lovato A, de Filippis C. Clinical presentation of COVID-19: A systematic review focusing on upper airway symptoms. *Ear Nose Throat J.* 2020;99(9):569-76. <https://doi.org/10.1177/0145561320920762>
54. Cevik M, Bamford CGG, Ho A. COVID-19 pandemic-a focused review for clinicians. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(7):842-7. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.04.023>
55. Sachdeva M, Gianotti R, Shah M, et al. Cutaneous manifestations of COVID-19: Report of three cases and a review of literature. *J Dermatol Sci.* 2020;98(2):75-81. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2020.04.011>
56. Vonck K, Garrez I., De Herdt V, et al. Neurological manifestations and neuro-invasive mechanisms of the severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2. *Eur J Neurol.* 2020;27(8):1578-87. <https://doi.org/10.1111/ene.14329>
57. Whittaker A, Anson M, Harky A. Neurological manifestations of COVID-19: A systematic review and current update. *Acta Neurol Scand.* 2020;142(1):14-22. <https://doi.org/10.1111/ane.13266>
58. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020;323(18):1843-44. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>
59. Helmy YA, Fawzy M, Elasad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA. The COVID-19 Pandemic: A comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. *J Clin Med.* 2020;9(4):1225. <https://doi.org/10.3390/jcm9041225>
60. Sağlık İ. SARS-CoV-2 özellikleri ve laboratuvar tanısı. İçinde: Heper C (Ed.) *Multidisipliner COVID-19 Bursa Tabip Odası Sürekli Tıp Eğitimi Pandemi Kitabı.* Bursa: Bursa Tabip Odası Yayınları, 2020:29-62.
61. Hong KH, Lee SW, Kim TS, et al. Guidelines for laboratory diagnosis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Korea. *Ann Lab Med.* 2020;40(5):351-60. <https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.5.351>
62. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory diagnosis of COVID-19: Current issues and challenges. *J Clin Microbiol.* 2020;58(6):e00512-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00512-20>
63. Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, et al. First case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *N Engl J Med.* 2020;382(10):929-36. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001191>
64. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
65. Li C, Zhao C, Bao J, Tang B, Wang Y, Gu B. Laboratory

- diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Clin Chim Acta*. 2020;510:35-46.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.045>
66. Padhi A, Kumar S, Gupta E, Saxena SK. Laboratory diagnosis of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection. *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. 2020:95-107.
https://doi.org/10.1007/978-981-15-4814-7_9
67. Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. *Virus Res*. 2014;194:175-83.
<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.03.018>
68. Ward S, Lindsley A, Courter J, Assa'ad A. Clinical testing for COVID-19. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):23-34.
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.012>
69. Okba NMA, Müller MA, Li W, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-specific antibody responses in Coronavirus Disease patients. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(7):1478-88.
<https://doi.org/10.3201/eid2607.200841>
70. Diao B, Wen K, Chen J, et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 infection by detection of nucleocapsid protein. *medRxiv*. 2020.03.07.20032524.
<https://doi.org/10.1101/2020.03.07.20032524>
71. Weitzel T, Legarraga P, Iruretagoyena M, et al. Head-to-head comparison of four antigen-based rapid detection tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *bioRxiv*. 2020.05.27.119255.
<https://doi.org/10.1101/2020.05.27.119255>
72. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-3.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
73. Padoan A, Sciacovelli L, Basso D, et al. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A longitudinal study. *Clin Chim Acta*. 2020; 507: 164-6.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.04.026>
74. Zhao W, Zhong Z, Xie X, Yu Q, Liu J. Relation between chest CT findings and clinical conditions of Coronavirus Disease (COVID-19) pneumonia: A multicenter study. *AJR Am J Roentgenol*. 2020;214(5):1072-7.
<https://doi.org/10.2214/AJR.20.22976>
75. Ceylan N, Savaş R. COVID-19'un radyolojik bulguları. *Eurasian J Pulmonol*. 2020(Ek Sayı): E34-45.
76. Saruhan E. COVID-19 olgularında biyokimyasal testlerin değerlendirilmesi. *Ege Klin Tıp Derg*. 2020;58(Ek 1): E12-5.
77. Ciaccio M, Agnello L. Biochemical biomarkers alterations in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Diagnosis (Berl)*. 2020;7(4):365-72.
<https://doi.org/10.1515/dx-2020-0057>
78. CDC. About Variants of the Virus that Causes COVID-19. Center for Disease Control and Prevention, 2021. [<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant.html>] (Erişim tarihi: 28.Mayıs.2021)

Pandemi Döneminde İhmal Edilen Enfeksiyonlar

Infectious Diseases Neglected During the Pandemic

Gönül Aslan*[©], Gamze Yapıcı**[©]

* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

** Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

Atf/Cite as: Aslan G, Yapıcı G. Pandemi döneminde ihmal edilen enfeksiyonlar. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):214-24.

Öz

İnsanlık tarihinin başlangıcından bu yana çeşitli enfeksiyöz hastalıklar farklı zaman dilimlerinde sahneye çıkmışlardır. Her enfeksiyonun insanlar üzerindeki etkisi, yayılma hızı ve kontrol altına alınma süreçleri farklılık göstermiştir. 2019 Aralık ayında ortaya çıkan COVID-19 pandemisi hızla tüm dünyaya yayılmış ve günümüzde hâlâ varlığını sürdürmektedir. Bu çalışma kapsamında, COVID-19 pandemisinin sağlık sektörü üzerinde yapmış olduğu olumsuz etki sonucunda ihmal edilen önemli enfeksiyon hastalıklarına dikkat çekmek amaçlanmıştır. COVID-19 pandemisinin günümüze dünyada en çok görülen ve en çok ölüme neden olan hastalıklarının teşhis ve tedavi süreçleri üzerindeki etkilerini konu alan literatürlerden derlenmiştir. Sonuç olarak, COVID-19 pandemisinin söz konusu hastalıkların teşhis ve tedavi süreçleri üzerinde kısa vadede aksaklıklara, uzun vadede ise bu enfeksiyonların yükünün artmasına ve kontrol stratejilerinin aksamasına neden olacağından kaygı duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: COVID-19, enfeksiyon hastalıkları, pandemi

ABSTRACT

Since the dawn of human history, various infectious diseases have appeared in different time periods. The effects of each infection on humans, their rates of spread and the processes of containment have differed. The COVID-19 pandemic that emerged in December 2019 has spread rapidly all over the world and still exists today. Within the scope of this study, it is aimed to draw attention to important infectious diseases which are neglected as a result of the negative impact of the COVID-19 pandemic on the health sector. The information on the effects of the COVID-19 pandemic on the diagnosis and treatment processes of the most common and most fatal diseases in the world such as tuberculosis, hepatitis, HIV, influenza and malaria has been compiled from relevant literature. There is concern that the COVID-19 pandemic will cause short-term disruptions in the diagnosis and treatment processes of these diseases, an increase in the burden of these infections in the long term and disruption of control strategies.

Keywords: COVID-19, communicable diseases, pandemics

Alındığı tarih / Received:
08.04.2021 / 08.April.2021

Kabul tarihi / Accepted:
07.07.2021 / 07.July.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kayıtları

G. Aslan 0000-0002-4431-3629
G. Yapıcı 0000-0001-8263-5680

✉ drgaslan@gmail.com

GİRİŞ

Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinden bildirilen, SARS-Cov-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2/Şiddetli Akut Solunum Sendromu 2), atipik pnömoni salgını şeklinde küresel olarak yayılarak pandemiye neden olmuştur⁽¹⁾. Kısa bir süre içinde milyonlarca insanı enfekte etmiş, ilk altı ayda küresel olarak 500.000'den fazla insanın ölümüne yol açmıştır. Sonunda, bu yeni hastalığa coronavirus hastalığı

2019 (COVID-19) adı verilmiştir ve yeni virüs SARS-CoV-2 olarak tanımlanmıştır⁽²⁾.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 30 Ocak 2020'de dünya çapında halk sağlığı için acil durum ilan edilmiştir ve ardından 11 Mart'ta COVID-19 pandemi olarak tanımlanmıştır⁽³⁾. Ülkemizde ilk hasta 11 Mart 2020 tarihinde, ilk ölüm ise 18 Martta açıklanmıştır. 14 Haziran 2021 itibarıyla Türkiye'de coronavirus bulaşan hasta sayısı 5.330.447, şu ana kadar iyi-

leşen hasta sayısı 5.202.251, yaşamını kaybeden hasta sayısı ise 48.721 olmuş ve toplam 57.004.499 test yapılmıştır. 14 Haziran 2021 itibarıyla Türkiye hasta sayısı açısından 193 ülke arasında 5. sırada, ölüm sayılarında 19. sırada yer almıştır⁽⁴⁾.

COVID-19 dünya çapında büyük ölçüde korkuya, endişeye, belirsizliğe ve ekonomik felakete neden olarak hastanelerin rutin çalışma sistemini tamamen değiştirmiştir⁽²⁾. COVID-19 salgını için çeşitli ülkelerde yapılan araştırmalarda, etkilenen hastaların %10'unun sağlık çalışanı olduğu saptanmıştır. Eylül 2020'de yapılan analiz, dünya çapında en az 7.000 sağlık çalışanının COVID-19 nedeniyle öldüğünü ortaya koymuştur. Sağlık çalışanı ölümlerinin en yüksek olduğu ülkeler Meksika ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) olarak bildirilmektedir. Türkiye ise listede 16. sırada yer almıştır. Türkiye'de 165.000'i hekim, 200.000'i hemşire ve 175.000'i diğer sağlık çalışanı olmak üzere yaklaşık 540.000 sağlık çalışanı, COVID-19'la mücadele etmektedir⁽⁴⁾.

Enfeksiyon hastalıkları, göğüs hastalıkları ve yoğun bakım uzmanları ayaktan ve yatarak tedavi görmesi gereken çok sayıda hastaya bakmak için yeterli olmadığından diğer branşlardan pek çok hekim COVID-19 poliklinik ve servislerinde görevlendirilmiştir. Bunun sonucu olarak, diğer branşların poliklinik ve servis hizmetleri askıya alınmıştır. Bu süreçte COVID-19 dışında akut ve kronik hastalığa sahip binlerce hasta bulaş riskini göze alamadığı için hastanelere gitmekten vazgeçmiş hastanelere gelenlerde sağlık hizmetlerinden yararlanamamıştır. Bu nedenle, pandemi sırasında, COVID-19'dan farklı herhangi bir tıbbi durum için hastaneye kabul sayısında ciddi bir azalma meydana gelmiştir⁽⁵⁾.

Salgından en çok etkilenen Avrupa ülkelerinden biri olan İtalya'da yapılan bir çalışmada, karantina döneminde Mart/Nisan 2020 ile Aralık 2019–Şubat 2020 arasındaki acil servise yapılan başvurular karşılaştırılmıştır. Acil servise kabul edilen hasta sayısı ortalama 2361/ay iken, 2020 Mart ayında 1102 (-%53) ve Nisan ayında 861 (-%63) olmuştur. Acil servise, travmatoloji, dermatoloji, gastroenteroloji/hepatoloji ve kardiyoloji bölümlerine başvurular önemli bir düşüş

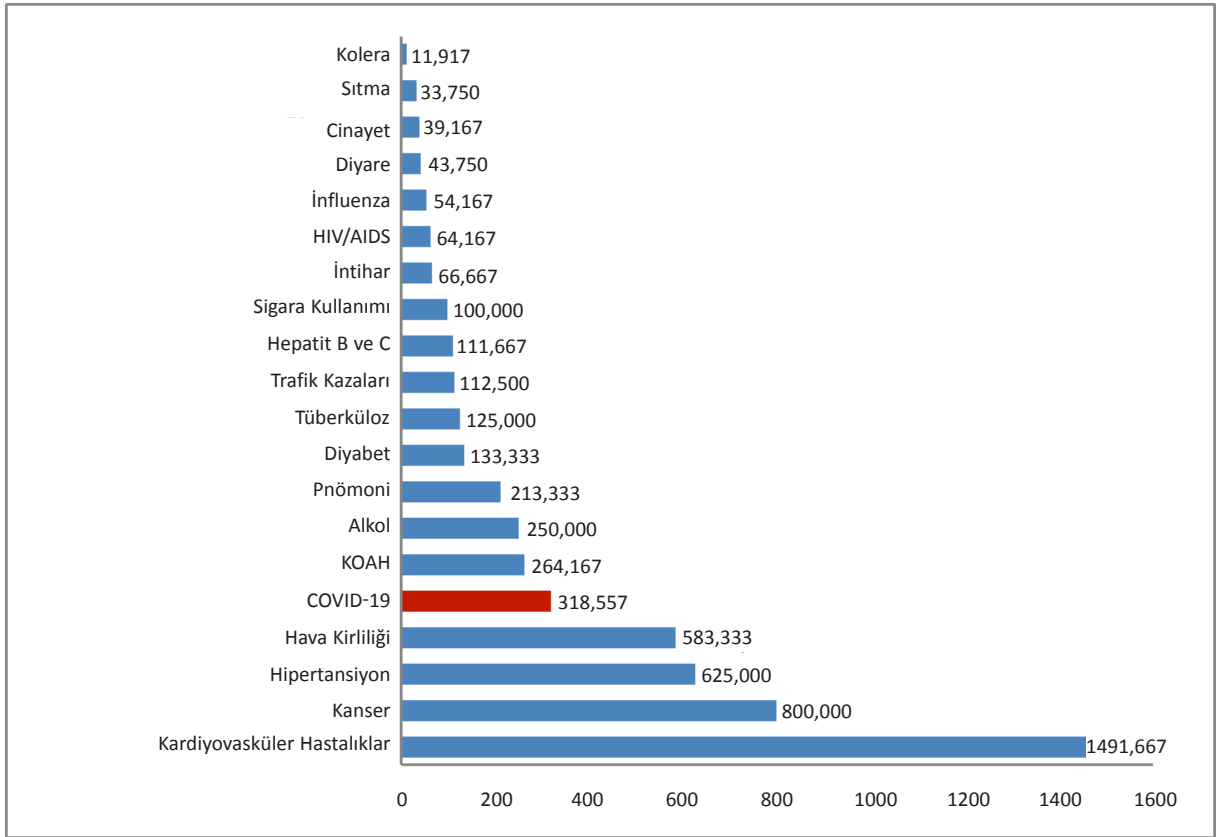
göstermişken, solunum yolu yakınmaları nedeniyle göğüs hastalıkları, enfeksiyon hastalıkları bölümlerine yapılan başvurularda artış olmuştur (Solunum yolu yakınmaları ile başvurular önceki aylarda ortalama %12 iken Mart ayında %36 ve Nisan ayında %29'a yükselmiştir.)⁽⁵⁾.

Bir yıldır gündemimizi işgal eden COVID-19 oldukça tehlikeli ve bulaşıcı bir hastalık olmasına rağmen, şu anda küresel olarak birçok farklı ölümcül hastalık göz ardı edilmekte ve bu hastalıklar her gün dünya çapında binlerce insanın ölümüne neden olmaktadır. Dünya genelinde her 24 saatte bir 49.041'den fazla kişinin kalp damar hastalıkları, 26.301 kişinin kanser, 20.822 kişinin hipertansiyon ve 19.178 kişinin de hava kirliliğinden dolayı yaşamını kaybettiği bilinmektedir. DSÖ'nün 2018 raporundan elde edilen verilere göre milyonlarca insan dünya genelinde 20 ana nedenden dolayı yaşamını kaybetmektedir. COVID-19 ise bu sıralamada şu anda 5. sırada yer almaktadır (Şekil 1). Birçok uzman ise bildirilenden çok daha fazla insanın COVID-19 nedeni ile öldüğünü düşünmektedir⁽³⁾.

Tüberküloz

İnsanlığı en az 70.000 yıldır etkilediği bilinen tüberküloz (TB) için 1993 yılında DSÖ tarafından küresel sağlık için acil bir durum olarak ilan edilmiştir. TB yılda 1.2 milyon insanın ölümüne neden olmaktadır⁽⁶⁾. Diğer enfeksiyöz hastalıklardan daha fazla ölüme neden olan tüberkülozun önlenmesi ve kontrolünde mevcut COVID-19 pandemisinin ciddi kesintiye uğrayabileceği düşünülmektedir. COVID-19 salgınının yarattığı ekonomik ve sağlık krizinin yanı sıra şu anda virüsün yayılmasını durdurmak için alınan halk sağlığı önlemleri, aile içi TB bulaşmasını artırıp, tedavi ve teşhis hizmetlerinin aksamasına neden olabileceğinden kaygı duyulmaktadır⁽⁷⁾.

Doğal afetler, savaş ve hastalık salgınları gibi büyük aksamlar TB programlarını tehlikeye atmış ve TB yükünün artmasına neden olmuştur. Örneğin, Birinci ve İkinci Dünya savaşları sırasında birçok Avrupa ülkesinde toplam ölümlerin yaklaşık ¼'i TB salgınlarında yaşanmıştır. Bununla birlikte, Human Immunodeficiency Virus/İnsan İmmün Yetmezlik



Şekil 1. Dünya genelinde 20 ana ölüm nedeni (2018)⁽³⁾.

Virüsü (HIV), 1980'lerde dünya çapında bir pandemik hastalık olarak ortaya çıktığında, TB, fırsatçı bir enfeksiyon olarak yeniden ortaya çıkmıştır ve milyonlarca insanın ölümüne neden olmuştur. TB önleme programlarının ve HIV için Anti-Retroviral Tedavi (ART)'nin uygulamaya konulmasıyla, TB'nin mortalitesi ve morbiditesi son on yılda kademeli olarak azalmıştır⁽⁸⁾.

Dünyanın çeşitli yerlerinde ortaya çıkan viral salgınlar küresel ve ulusal TB kontrol programlarını aksatmıştır. Örneğin, 2012 yılında MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus) salgını Suudi Arabistan'da ve 2013 yılında Ebola salgını Batı Afrika'da TB kontrol programlarını ciddi şekilde tehlikeye atmış, geç dönem etkileri etkilenen bölgelerde TB yükünün artmasıyla sonuçlanmıştır⁽⁸⁾.

Birleşmiş Milletler Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri (SKH'ler), TB salgınına 2030'a kadar sona erdirmeyi amaçlamaktadır. DSÖ, 2015'e kıyasla TB insidansında

%90, TB ölümlerinde %95 azalma ve TB'nin 2035'e kadar eradike edilmesi gibi hedefler belirlemiştir. Bu iddialı hedeflere ulaşmak için ilerleme kaydedilmeye devam edilse de, COVID-19 bu hedefleri olanaksız duruma getirmiştir⁽⁸⁾.

Mycobacterium tuberculosis ve SARS-CoV-2'nin benzer yönleri; akciğerlere afinite duymaları, kontakta immunsupresyona neden olmaları ve yakın temas yoluyla bulaşmalarıdır. Her iki hastalık da kuru öksürük, ateş ve nefes darlığı gibi semptomlar dâhil olmak üzere hastalığın hafif veya şiddetli seyrine neden olabilmektedir⁽⁶⁾. Bu benzerlikler her iki hastalığın semptomlarının birbirleri ile karıştırılmasına ve TB'nin geç teşhis edilmesine neden olabilir. COVID-19, TB'nin ev içi bulaşını artırıp, TB'nin tanı ve tedavisini geciktirmekle birlikte, tedavi devamlılığını engelleyerek ve ilaca dirençli TB gelişimine neden olarak TB kontrolünü olumsuz etkileyebilmektedir⁽⁸⁾. İki enfeksiyonun benzemeyen yönleri ise; TB'de pato-

jene maruz kaldıktan sonraki inkübasyon süresi daha uzundur ve genellikle yavaş başlayan bir enfeksiyondur. TB hastaları tarafından üretilen damlacık çekirdeği yoluyla uzun süre maruziyet ile bulaşırken, COVID-19 ise, birkaç günlük bir inkübasyon süresine sahip olup damlacıklar ve fomitler yolu ile bulaşmaktadır⁽⁷⁾.

Ülkeler tarafından COVID-19'un yayılmasını önlemek için alınan önlemlerden biri de durum kontrol altına alınana kadar insanların evde kalmalarını istemek olmuştur. Bu önlem, COVID-19'un toplum çapında bulaşmasını azaltma gibi bir avantaj oluştursa da aynı zamanda TB'nin aile içi geçişini arttırmıştır. Yakın zamanda yapılan bir modelleme çalışması, COVID-19 nedeniyle üç aylık bir sokağa çıkma kısıtlamasının önümüzdeki beş yıl içinde Hindistan'da 1.65 milyon TB olgusuna ve 438.000 TB ölümüne neden olabileceğini göstermiştir. Balgam örneğinde ARB pozitif yetişkinlerle uzun süre ev içi temas hâlinde olan ev halkının enfeksiyon riskinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir.

TB önleme ve kontrol stratejileri COVID-19 salgını nedeniyle kesintiye uğramış, 2020 yılında seminerler, çalıştaylar ve yıllık konferanslar gibi TB araştırmaları ve bilgi alışverişi için pek çok forum yapılamamıştır. Örneğin, her yıl 24 Mart'ta kutlanan "Dünya Tüberküloz Günü" 2020 yılında kutlanamamıştır. Çocukluk çağında TB'yi önlemek için uygulanan BCG (Bacillus Calmette-Guerin) aşısı dahil olmak üzere aşılama programları, COVID-19 tarafından olumsuz etkilenmiştir. Ayrıca, latent TB'nin aktif TB'ye ilerlemesini önlemek için sıklıkla yüksek risk gruplarına verilen anti-TB tedavi de COVID-19'dan etkilenmiştir⁽⁸⁾.

Özellikle TB hastalarının tanı/tedavi/izleminde görevli sağlık personelinin; COVID-19 pandemi ekibinde görevlendirilmesi zorunluluğundan dolayı ülkelerde COVID-19'un TB hizmetleri üzerindeki etkisinin dramatik olacağı tahmin edilmektedir. Yapılan bir çalışmada, 2020'de pandeminin ilk dört ayında verem savaş merkezlerine başvuran hastaların 2019'un aynı dönemine göre daha düşük olduğu beş kıtada 16 ülkede 33 merkezden alınan verilerce gösterilmiştir.

Global TB Ağı içinde yer alan 41 ülkenin Ulusal TB merkezinin sonuçları değerlendirilmiştir. Çalışmada, 16 ülkedeki TB merkezlerinde hasta katılımı incelenmiş ve Ocak-Nisan 2020 COVID-19 salgınının ilk dört ayında tüberkülozla ilgili sağlık faaliyetlerinin hacmi 2019'un aynı dönemiyle karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, 32 merkezin beşi (Sidney, San Fernando, Torino, Asturias ve Londra) dışında, 27 merkezde (Global TB Ağı içinde %84) yeni TB olguları azalmıştır. Mexico City, Porto Alegre, ve Nairobi gibi toplamda 14 ülkeden kayıtlı 29 tüberküloz merkezinden toplam 22'sinin (%75), karantina sırasında poliklinik ziyaretleri azalmıştır. İngiltere'de, 2019 ile karşılaştırıldığında TB bildirimleri Nisan ayında %16.5 ve Mayıs 2020'de %37.3 azalmıştır⁽⁹⁾.

Sonuç olarak, 2020'nin ilk dört ayında, yeni teşhis edilen aktif TB olgularında, toplam aktif TB poliklinik ziyaretlerinde ve ayaktan hasta ziyaretlerinde azalma olduğu bildirilmektedir⁽⁹⁾.

Küresel TB tanı ve tedavisindeki düşüşlerin 2020 yılı boyunca TB ölümleri üzerindeki etkisine ilişkin tahminler yapılmaktadır. Küresel TB olgusu tespitinde üç aylık bir süre içinde ortalama %25 azalmanın (pandemiden önceki tespit düzeyiyle karşılaştırıldığında), tahmini olarak ek %13 artış ile TB kaynaklı ölüme yol açacağı öngörülmektedir. Çin'de, Şubat 2020'de belirlenen TB olgu sayısı, Şubat 2019'a kıyasla %20 azalmıştır. Sıkı bir ulusal sokağa çıkma yasağı uygulamasının sonucunda Hindistan'da rapor edilen haftalık olguların sayısı 22 Martı izleyen üç hafta içinde %75 düşmüştür. Benzer şekilde, olgu bildirimleri Endonezya'da Ocak-Mart aylarında %68 oranında düşmüştür⁽¹⁰⁾. DSÖ verilerine göre COVID-19 salgınının doğrudan bir sonucu olarak 2020 ve 2025 yılları arasında, beklenen sayıya ek 1.4 milyon TB kaynaklı ölüm olacağı tahmin edilmektedir⁽¹¹⁾.

DSÖ COVID-19 salgını sırasında temel TB hizmetleri: TB tanı, tedavi ve izlemleri olabildiğince kesintisiz sürdürülmesi, TB ve COVID-19 ayırıcı tanısının kesinlikle yapılmasını önermektedir. Hastaların ilaca ulaşmakta zorluk çekmemesi için yeterli tüberküloz ilaç stokları sağlanmalıdır⁽¹¹⁾.

TB tanı ve tedavi gecikmesini önlemek için sanal bakım ve dijital sağlık teknolojilerinin kullanılması, TB tedavisinin toplumsal sağlığı çalışanlarına dağıtılması ve özel sağlık sektörlerinin ve akademik araştırma kurumlarının TB testi ve tedavisi sağlamaları için desteklenmesi sağlanabilir⁽⁸⁾.

Hepatit

COVID-19 pandemisi sırasında ihmal edilen hasta gruplarından biri de viral hepatitli hastalardır. Hepatit B virüsü (HBV) ve Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonu dünya genelinde önemli bir halk sağlığı sorunudur. HBV ve HCV siroz ve karaciğer kanserine neden olmaktadır. Dünya genelinde, 2015 yılına ait veriler 257 milyon insanın HBV ile enfekte olduğu, en az 71 milyon kişinin de kronik HCV enfeksiyonu olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye’de ise yaklaşık dört milyon kişinin kronik HBV taşıyıcısı olduğu düşünülmektedir. Türkiye’de HBV enfeksiyonunun görülme sıklığı %5 olup, bu oran HCV’de %0.17 ile %2.8 arasında değişmektedir. Centers for Disease Control and Prevention (CDC)/Hastalık Önleme Kontrol Merkezi’ne göre, karaciğer hastaları COVID-19 enfeksiyonu için yüksek riskli grupta bulunmaktadır. COVID-19 pandemisi nedeniyle, kronik viral hepatitli hastaların takip ve tedavisinde yaşanan sorunların hastalığın ilerlemesine ve şiddetlenmesine neden olabileceği düşünülmektedir⁽¹²⁾. Hepatitin teşhis ve tedavisinde önemli bir role sahip olan birinci basamak sağlık kurumları ve pratisyen hekimlerin COVID-19 pandemisine yoğunlaşmış olmalarından dolayı hepatit hastalarının hem tanı ve hem de tedavi oranlarının düşebileceği öngörülmektedir⁽¹³⁾. Bu hizmetlerin aksaması sonucunda yeni hasta sayısında azalma, tanı alan hastaların ileri tetkiklerinde ve tedavi sürecinde bulunan hastaların tedavilerinde aksamalar olması gibi sonuçlara neden olacağı düşünülmektedir. COVID-19 enfeksiyonu tedavisi için yaygın olarak önerilen ilaçların çoğunun karaciğerde metabolize olması mevcut karaciğer hastalığı olan hastalarda ilaç toksisite riski ortaya çıkarmaktadır⁽¹²⁾.

DSÖ, viral hepatitin 2030 yılına kadar ortadan kaldırılması için hedef belirlemiştir. Bu, yeni enfekte olanların sayısının ve buna bağlı ölümlerin sırasıyla %90 ve %65 azaltılması gerektiği anlamına gelmektedir.

İnsanlarda farkındalığı arttırmak, daha fazla olgu bulmayı sağlayacağı için viral hepatit eliminasyon programlarında önemli bir rol oynamaktadır⁽¹³⁾.

Hepatit teşhisinde ve tedavisinde bir yıllık bir gecikme olacağı varsayılırsa bu durumun, 2030’a kadar dünya genelinde ilave 44.800 karaciğer kanseri ve 72.300 HCV’den kaynaklı ölüm anlamına geleceği düşünülmektedir. 2030 yılına kadar “Küresel Sağlık Sektörü Stratejisi” hedeflerine ulaşmak için yalnızca 10 yıl kalmıştır⁽¹⁴⁾. Ne yazık ki kronik olarak viral hepatit ile enfekte olan kişilerin sayısı (320 milyon kişi), dünya çapında ki hastalık yükü (1.34 milyon yıllık ölüm) ve şu anda bu hastalığın üstesinden gelmek için harcanan çabaların düzeyi göz önünde bulundurulduğunda ulaşılabilecek bir hedef olmadığı düşünülmektedir⁽¹⁵⁾.

Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği bünyesinde hizmet veren Viral Hepatit Takip Polikliniği’nde istatistiksel bir çalışma yapılmıştır. Viral Hepatit Takip Polikliniği’ne başvuran hasta sayısı ve istenilen karaciğer biyopsi sayıları COVID-19 pandemisi sürecinde (1 Nisan-15 Ağustos 2020), pandemi öncesi benzer tarihlerdeki (1 Nisan-15 Ağustos 2019) sayılarla karşılaştırılmıştır. Pandemi döneminde 1 Nisan-15 Ağustos 2020 tarihleri arası kronik hepatit B ve C tanılılarıyla hepatit polikliniğe başvuran hasta sayısı sırayla 374 ve 12 hasta, aynı tarihlerde 2019 yılında ise sırayla 740 ve 27 hasta başvurmuştur. Hepatit B başvurularında %49.45, hepatit C başvurularında ise %55.5, yapılan karaciğer biyopsilerinde de %63.63 azalma yaşandığı saptanmıştır⁽¹²⁾.

Sahra altı Afrika bölgesinde bulunan ülkelerde yapılan bir çalışmada, doktorlar, hasta sayısındaki düşüşün birincil nedeni olarak hastanın SARS-CoV-2 kapma korkusunu nedeniyle kliniklere gelmemesi olduğunu düşünmektedir⁽¹⁶⁾.

The World Hepatitis Alliance (WHA)/Dünya Hepatit İttifakı (99 ülkede 300’den fazla üyesi ile küresel bir kuruluş) COVID-19 krizinin viral hepatit ile yaşayan insanlar üzerindeki etkilerini değerlendirmek için küresel bir anket çalışması yapmıştır. Katılan 32 ülke-

den 132 merkezin yalnızca 47'si (%36), insanların viral hepatit testine erişebildiğini ve ABD dışındaki 54 katılımcının 16'sı (%30) test yapılan sağlık merkezlerinin kapatıldığını bildirmiştir. Yüz bir merkezin 66'sı (%65), halkın COVID-19 nedeniyle sağlık merkezlerine gitmekten kaçındığı için test yaptıramadığını düşünmektedir. ABD dışında 68 merkezden 23'ü (%34) hepatit tedavisi gören kişilerin şu anda ilaçlarına erişemediklerini bildirmiştir. İlaçlara erişim eksikliği, Hindistan ve Nijerya gibi düşük ve orta gelirli ülkelerde daha yaygındır ve bu ülkelerde bulunan 29 merkezden 15'i (%52), insanların tedaviye erişemediğini bildirmiştir. ABD'den 64 merkezden yalnızca beşi (%8) viral hepatitle enfekte kişilerin pandemi sırasında tedaviye erişemediğini belirtmiştir. ABD dışında 40 merkezden 22'si (%55) ise, seyahat kısıtlamalarının insanların tedaviye erişememesinin ana nedeni olduğunu düşünmektedir. 64 merkezden 26'sı (%41) ise sağlık hizmetlerin COVID-19 ile mücadele için ayrılmasının da tedaviye erişimdeki azalmaya katkıda bulunan bir faktör olduğunu savunmaktadır⁽¹⁶⁾.

European Association for the Study of the Liver (EASL)/Avrupa Karaciğer Çalışmaları Derneği, kronik viral hepatitin COVID-19'un şiddetini arttırmadığını savunsa da kronik HBV hastalarında COVID-19 enfeksiyonunun ciddi karaciğer hasarına ve kötü prognoza neden olduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır⁽¹²⁾.

Hepatit eliminasyon programlarının kesintiye uğramasıyla hepatit yükü ve ölüm oranlarının artacağı düşünülmektedir⁽¹⁶⁾.

Human Immunodeficiency Virus (HIV)

2020 yılında elde edilen istatistiklere göre dünya çapında, 15 yaşın altındaki 1-7 milyon çocuk dâhil olmak üzere 38 milyon insan HIV ile enfektedir. Her yıl 1.7 milyon insana HIV bulaşmakta olup, her hafta 15-24 yaş arasındaki 6.000 kadın enfekte olmaktadır. Yaklaşık bir yıllık dönemde COVID-19 nedeniyle iki milyondan fazla kişi yaşamını kaybetmiştir. Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) nedeniyle her yıl yaklaşık 770.000 insan yaşamını kaybetmektedir⁽¹⁷⁾.

HIV ile enfekte yaklaşık 37.9 milyon kişi, SARS-CoV-2 ile enfeksiyon riski altındadır. Bazı uluslararası kurumlar, hükümetler ve topluluklar iş birliği içinde HIV ile enfekte insanlara izlem ve tedavi takibi hizmetini sürdürmek için çalışsalar da COVID-19 salgını, HIV bakım sürecinde çeşitli engellere ve zorluklara neden olmaktadır⁽¹⁸⁾.

Birleşmiş Milletler HIV/AIDS Programı (The Joint United Nations Programme on HIV and AIDS / UNAIDS), HIV'in kontrolü için 90-90-90 olarak adlandırılan küresel hedefler belirlemiştir. Bu hedefe göre HIV ile yaşayan insanların %90'ına teşhis konulacak, tanı konularının %90'ı tedaviye alınacak ve tedavi görenlerin %90'ı viral yükü baskılanmış olacaktır. Küresel bir ilerleme kaydedilmiş olsa da dünya henüz bu hedeflere yaklaşmaya çok uzaktadır. 90-90-90 hedefleri yalnızca %79-%62-%53 düzeyine getirilebilmiştir. Bu durum HIV salgınına kontrol edemediğimizi göstermektedir⁽¹⁷⁾.

COVID-19 pandemisinin HIV kontrolünü üç parametre üzerinden olumsuz etkileyeceği düşünülmektedir.

1. Sokağa çıkma yasakları ve sosyal mesafe önlemlerinin uygulanmasıyla HIV tanı testine ulaşımının azalacağı tahmin edilmektedir.
2. COVID-19 salgını nedeni ile ART ye zamanında başlamalarının gecikeceği düşünülmektedir.
3. Hastaneler COVID-19 hastalarını tedavi etmeye yoğunlaştığı için ART başlamış olsa bile HIV hastalarının izlemlerinin aksayabileceği düşünülmektedir⁽¹⁸⁾.

SARS-CoV-2 bulaşını kontrol etmek için uygulanan stratejiler nedeniyle cinsel ilişkilerin azalacağı HIV ve *Treponema pallidum*, *Chlamydia* spp. veya *N. gonorrhoea* gibi Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyon (CYBE) olgularının yanı sıra eğlence amaçlı uyuşturucu kullanımının azalması nedeniyle kan yoluyla bulaşan virüslerin görülme sıklığında bir düşüş gözleneceği öngörülmektedir. Örneğin, Avustralya'da 2020'nin ilk yarısında cinsel yolla bulaşan hastalık sayılarında bir azalma bildirilmiştir. Bununla birlikte, pandemi sonunda yapılan kısıtlamaların kalkmasıyla yine HIV/CYBE'lerin artacağı tahmin edilmektedir. COVID-19 sonrası CYBE/HIV bulaşında oluşacak artışı

yönetmek için gerekli halk sağlığı önlemleri önerilmektedir⁽¹⁹⁾.

Dünya Sağlık Örgütü'nün bir araştırmasında, COVID-19 ile ilgili hizmet aksaklıkları nedeniyle 36 ülkede (Bu da tedavi gören tüm HIV ile enfekte kişilerin %45'ini temsil etmektedir.) ART sağlanmasında ciddi boyutta sorunlar yaşandığı vurgulanmıştır. Ek olarak 73 ülke antiretroviral ilaç taleplerinin karşılanmaması nedeni ile riski altında olduklarını bildirmiştir⁽¹⁹⁾.

Wuhan'ın 23 Ocak 2020'de karantinasından bu yana, toplum temelli bir kuruluş olan Wuhan TongZhi Merkezi antiviral ilaçların tedarikini sağlamak için ekstra kaynaklar tahsis etmiş, hastalara destek sağlamak için bir yardım hattı açmış, 5.500'den fazla HIV hastasıyla bağlantıya geçerek 2.664'ten fazla kişiye antiviral ilaç temin etmiştir. Çin Ulusal AIDS/CYBE Kontrol ve Önleme Merkezi HIV hastalarının, antiviral ilaçları en yakın yerel sağlık merkezlerinden edinmelerini sağlamıştır. Tayland sağlık yetkilileri HIV hastalarının hastaneye gelişlerini azaltmak için 3-6 aylık dozlarda antiviral ilaçlar dağıtacağını bildirmiştir⁽¹⁸⁾.

Dünya Sağlık Örgütü ve UNAIDS'in bir araya geldiği bir modelleme grubu, Sahra altı Afrika'da HIV tedavisi ve önleme hizmetlerindeki aksaklıkların HIV ile ilişkili ölümler ve yeni enfeksiyonlar üzerindeki etkisini öngörebilmek için beş HIV salgın modeli kullanmıştır. Modellemeleri, antiretroviral ilaç tedarikinde 6 aylık bir kesintinin, bir yıllık bir süre içinde çocuklar arasında yeni HIV enfeksiyonlarının sayısının yaklaşık iki katına çıkaracağını ve bölgedeki AIDS ile ilişkili hastalıklardan 500.000'den fazla ek ölüme yol açabileceğini öngörmektedir. Bu, toplam ölüme yaklaşık iki kat artış anlamına gelmektedir⁽¹⁹⁾.

COVID-19 pandemisinin HIV tanı ve tedavi sürecini sağlık sisteminin zayıf olduğu ülkelerde daha kötü etkileyebileceği düşünülmektedir. Hükümetlerin ve toplum temelli kuruluşların COVID-19 salgını sırasında HIV bakım sürekliliğini sürdürmek için birlikte çalışmalarını, rutin HIV hizmetlerine zamanında erişimi sağlamak ve kesintilerini önlemek için özel çabalar göstermeleri tavsiye edilmektedir⁽¹⁸⁾.

Pandemi sırasında birçok enfeksiyon uzmanı ve kliniği COVID-19 hastalarına yoğunlaştığından HIV hastalarına ayrılan zaman ve kaynaklardan yoksun oldukları düşünülmektedir. Pandeminin HIV ile enfekte kişilerin sağlığı üzerindeki orta ve uzun vadeli etkilerini tahmin edebilmek için daha fazla araştırmaya gereksinim duyulmaktadır⁽²⁰⁾.

Influenza

Yirminci yüzyıl başından itibaren dünya üzerinde kaynağı solunum yolu virüsleri olan beş pandemi meydana gelmiştir. Bunların dördüne influenza A virüsleri, günümüzde hâlâ devam etmekte olan beşinci pandemiye ise SARS-CoV-2 neden olmuştur⁽²¹⁾. Geçtiğimiz yüzyılda 1918 büyük Grip Pandemisi ve rutin mevsimsel grip salgınları yaşanmıştır⁽²²⁾. Coronavirus'un, pandemi öncesi yıllarda da yetişkinlerdeki üst solunum yolu enfeksiyonlarının %7-18'inden sorumlu olduğu bilinmektedir. Grip, influenza A, B ve C serotiplerinin etken olduğu bir hastalık olup, *Adenovirus*, *Parainfluenza virus*, *Rinovirus*, *Respiratuvar Sinsityal Virus (RSV)*, *Enterovirus* ve Coronavirus'un neden olduğu solunum yolu hastalıkları ise "nezle," "soğuk algınlığı," ya da "grip benzeri hastalık" olarak adlandırılmaktadır⁽²³⁾.

Yıl boyunca mevsim geçişlerinde, grip benzeri hastalıkların yükselişi ve düşüşü de artmaktadır. COVID-19 dünyayı etkilemeye devam ederken bir sonraki grip dalgasının ortaya çıkması da beklenmektedir. Her iki virüs de ateş, öksürük, baş ağrısı, kas ağrıları ve yorgunluk gibi benzer semptomlara neden olmaktadır. Her iki virüs de benzer hasta popülasyonlarını etkilediklerinden, hekimlerin test yapmadan klinik influenza teşhisi koyma olasılıkları zorlaşmıştır⁽²²⁾.

Influenza A (H2N2) yani Asya gribi ve influenza A (H3N2) 1968 Hong Kong gribi pandemilerinin kuş kökenli olduğu bilinmektedir. Yakın bir tarih olan 2002-2004 yıllarında, yine Çin'de zoonotik coronavirus suçundan kaynaklanan SARS salgını yaşanmıştır. 2009 A (H1N1) "domuz gribi" pandemisi dışında 1950'lerden bu yana kaydedilmiş dört respiratuvar pandemi ve majör epidemi Çin'den dünyaya yayılmıştır. COVID-19 dâhil olmak üzere solunum sistemi etkileyen virüsler incelendiğinde zoonotik olmaları ve Çin'de (Güneydoğu Asya'da) başlayarak dünyaya

yayımları ile dikkat çekmektedir⁽²³⁾.

Dünya Sağlık Örgütü, H5N1 influenza virüsünün H1N1 genotipine dönüşümü ile yüzyılın en büyük pandemik influenza virüsü olduğunu bildirmiştir. Bu virüs ile başa çıkmak için kullanılan sosyal mesafe önlemleri ile kazanılan deneyim bugün yaşadığımız COVID-19 pandemisinin en önemli korunma araçlarından biri olmuştur⁽²⁴⁾.

SARS-CoV-2 salgını başladığından beri, Japonya'da maske ve el yıkama, evde çalışma ve büyük etkinliklerin iptali gibi hastalık bulaşmasını önlemeye yönelik tedbirleri yaygın bir şekilde desteklenmiştir. Bu önlemlerin mevsimsel grip gibi diğer bulaşıcı hastalıkların yayılmasını da azalttığı görülmektedir⁽²⁵⁾.

H1N1 2010'dan beri grip aşısına dâhil edilmesine rağmen, toplumda her yıl salgın yapmaya devam etmektedir ve 2019-2020 grip salgını sırasında baskın suş influenza A virüsü olmuştur. Influenza virüsleri ve SARS-CoV-2 ağırlıklı olarak insanlar arasında yakın temas ile bulaşır⁽²⁶⁾.

COVID-19 pandemisinin erken dönemlerinde solunum yolu rahatsızlığı ile başvuran SARS-CoV-2 pozitif hastaların %20'sinden fazlasında influenza da dâhil olmak üzere başka bir solunum patojeni ile birlikte enfeksiyon meydana geldiği gözlemlenmiştir⁽²⁶⁾.

ABD'de bir yıl içerisinde, (140.000 ila 810.000 hastaya yatış ve 12.000 ila 61.000 ölümlü sonuçlanan) 9 ila 45 milyon kişi grip enfeksiyonuna yakalanmaktadır⁽²²⁾. Japonya'da yapılan bir çalışmada, 2019/2020 sezonundaki haftalık grip aktivitesi önceki beş sezona karşılaştırılmıştır. Hastaneler ve klinikler de dâhil olmak üzere yaklaşık 5.000 merkezden klinik semptomlara veya laboratuvar bulgularına göre doktorlar tarafından teşhis edilen haftalık mevsimsel grip olgularının sayısı toplanmıştır. Bunun için Japonya Ulusal Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü'nde 2014 ile 2020 arasındaki veriler kullanılmıştır. Her mevsimde, ulusal düzeyde standartlaştırılmış olarak sunulan haftalık grip aktivitesi değerlendirilmiş influenza aktivitesi 2014-2019 sezonlarında 4. ve 6. haftalar arasında zirveye ulaşırken, yılın başında bir plato ile 2019/2020

sezonunda 5. haftadan itibaren düşüş yaşamıştır. Yapılan analize göre influenza aktivitesinin 2019/2020 sezonunda 3. haftadan 7. haftaya kadar 2014 ile 2019 sezonlarına kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Influenza aktivitesinin, sıcaklıktan veya virülanstan ve aynı zamanda SARS-CoV-2 salgınını sınırlamak için alınan önlemlerden etkilenmiş olabileceği düşünülmektedir⁽²⁵⁾.

Uzmanlara göre toplu influenza aşılması, mevsimsel salgının zirve yapmasından önce yapılmalıdır⁽²²⁾. SARS-CoV-2 aşı çalışmaları sürerken, solunum hastalıklarının genel yükünü hafifletme planları, özellikle hem influenza hem de COVID-19'a duyarlılığı fazla olan yaşlı ve yetişkinler arasında influenzaya karşı aşılanma oranlarını artırma çabalarını içermelidir⁽²⁶⁾. Aşılanmanın yanı sıra sosyal mesafe ve uygun hijyen kuralları da dâhil olmak üzere mevcut farmakolojik olmayan önlemlerin sürdürülmesi ve uygulanması, hem influenza hem de COVID-19'la mücadelede temel araçlardan biri olduğu düşünülmektedir⁽²²⁾.

Sıtma

Dünya çapında önemli bir sağlık sorunu olan Sıtma, dişi anofel sivrisinekler tarafından beslenmeleri sırasında insana inoküle edilen Plasmodium cinsi protozoan parazitlerin eritrositleri enfekte etmesiyle gelişen bir enfeksiyon hastalığıdır. *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* ve *Plasmodium ovale* (iki tür) olmak üzere beş *Plasmodium* türü bulunmaktadır⁽²⁷⁾. DSÖ raporlarına göre çok etkilenen bölgenin Sahra Altı Afrika olduğu ve 2018'de, dünya çapında 228 milyon sıtma olgusu ile 405.000 ölüm bildirilmiştir^(28,29). Sıtmanın endemik olduğu çoğu düşük ve orta gelirli ülkelerde zaten yetersiz sağlık kaynaklarının COVID-19 a ayrılmasıyla sıtma ile savaş gündem dışı kalmıştır⁽³⁰⁾.

Sıtma semptomları genellikle dişi anofellerin ısırmasından 10-15 gün sonra ortaya çıkmaktadır. COVID-19 ile benzer olarak ateş, solunum güçlüğü, başvücut ağrısı mevcuttur ve şiddetli sıtma enfeksiyonu genellikle yetişkinlerde çoklu organ yetmezliği ve çocuklarda solunum sıkıntısına neden olmaktadır. Endemik bölgelerde benzer bulgular nedeni ile iki hastalık için de ayırıcı tanı yapabilmek önemlidir.

Ateşi olan hastalar yalnızca COVID-19 testine tabi tutulabilirler ve bu durum yanlış teşhis nedeni ile tedavinin gecikmesine neden olabilir⁽³⁰⁾.

Tespit edilmemiş sıtma ve COVID-19 olguları, halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Bulaşıcı hastalıkların kesin tanısı mikrobiyolojik inceleme yöntemleriyle yapılmaktadır. Bu nedenle, sıtma ve COVID-19 arasındaki yanlış tanıyı ortadan kaldırmak için sıtma ya endemik bölgelerde COVID-19 için rutin tanıya sıtma hızlı tanı testinin dâhil edilmesi önerilmektedir. Düşük gelirli sıtma endemik bölgelerde COVID-19 taraması yapılırken hastaların seyahat öyküleri ve tıbbi geçmişi de dikkate alınmalıdır. Özellikle Sahra Altı Afrika bölgelerinde COVID-19 olgularının sayısının artması nedeniyle, sıtma gibi diğer hastalıkların takibi, tedavisi ve kontrolünün çok daha zor olacağı endişesi eski epidemilerden edinilen deneyimler doğrultusunda artmaktadır. Sıtma ölümlerinin %80'inden fazlasının gerçekleştiği Sahra Altı Afrika'yı, Güneydoğu Asya, Orta ve Güney Amerika takip etmektedir. Zimbabwe'nin Matabeleland South eyaleti de COVID-19 pandemisi sırasında sıtma olgularının sayısında önemli bir artış olduğunu bildirmiştir. Sıtma ile enfekte hasta sayısındaki bu artışın, yanlış tanıya mı yoksa sıtma kontrolü için gerekli kaynakların yetersizliği gibi diğer faktörlere mi bağlı olduğu henüz ortaya konamamıştır⁽³⁰⁾.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan yakın tarihli bir modelleme çalışmasında, rutin sıtma kontrol önlemlerinde %75'lik azalmanın bir sonucu olarak, COVID-19 salgını sırasında Sahra altı Afrika'da sıtma morbiditesinde >%20 artış ve >%50 mortalite öngörülmüştür. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, yalnızca Nijerya'da böcek ilacı ile muamele edilmiş cibinliklerin kullanımını altı ay ertelemek gibi bir sıtma kontrol yönetimini kesintiye uğratmanın 81.000 ek ölümlerle sonuçlanabileceğini öne sürmüştür. COVID-19 salgınının diğer dolaylı etkileri, özellikle artan yetersiz beslenme, yoksulluk ve sosyal istikrarsızlık gibi insanların yaşamlarını ve refahını etkileyenler, sıtma yükünü daha da arttırabilir. Bu nedenle, DSÖ, COVID-19'dan etkilenen bölgelerde sıtma kontrolü için kılavuzlar yayınlamıştır. Yönergeler, yetkililer tarafından belirlenen COVID-19 için kişisel ve fiziksel

mesafe önlemlerine bağlı kalarak tüm rutin sıtma kontrol önlemlerinin devamını içermektedir⁽³⁰⁾.

Zimbabwe'de SARS-CoV-2 karantina döneminde 131 ölümlerle sonuçlanan bir sıtma salgını olmuştur. Ayrıca Kamerun'da, COVID-19 salgını sırasında sıtma olgularında ve ölümlerde önemli bir artış olduğunu saptamıştır. Bildirildiğine göre, Zimbabwe ve Kamerun'daki sıtma ölümleri, sıtma ilaçlarının yetersizliğine ve tıbbi tesislere erişim eksikliğine bağlanmaktadır. Bu durumda, sıtma yükünün yüksek olduğu diğer Afrika ve Asya ülkelerinde de yaşanması beklenmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, Sahra Altı Afrika'daki sıtma ölümlerinin COVID-19 salgını nedeniyle sıtma kontrol çabalarının aksamasının ardından 2020'de iki katına (769.000) çıkabileceği konusunda uyarmıştır⁽²⁸⁾. Asya-Pasifik bölgesinde ise, sıtmaya karşı 2010-2018 yılları arasında doğrulanmış olgularda %42'lik bir azalma ile önemli bir ilerleme kaydetmiştir, ancak COVID-19'un ortaya çıkışı hastalığı elemine etme çabalarını aksatabileceği düşünülmektedir⁽³¹⁾.

Uzun yıllardır kullanılan, mevsimsel sıtma kemoprevansiyonu, böcek ilacı cibinlikler ve iç mekânda böcek ilacı uygulanmaları sıtma kontrolünde oldukça büyük yarar sağlamaktadır. Bu nedenle DSÖ, COVID-19 salgınıyla mücadele ederken tüm rutin sıtma önleme ve kontrol faaliyetlerinin olabildiğince sürdürülmesi gerektiğini vurgulamıştır. Ancak, mevcut sağlık ve ekonomik kriz sırasında bu önleyici faaliyetlerin uygulanması daha zorlaşmıştır⁽³⁰⁾.

Etkili mücadele ile sıtma, son on yılda dünya çapında kontrol altına alınmaya çalışılmıştır. Bununla birlikte, COVID-19 pandemisi gölgesinde kalan sıtma kontrol programlarını riske atamamak adına DSÖ'nün sıtmaya yönelik yönergelerinin takip edilmesi gerekmektedir⁽³⁰⁾.

SONUÇ

Bu derleme kapsamında, COVID-19 pandemisinin dünya genelinde hastanelerde olağanüstü bir yoğunluğa neden olması nedeni ile TB, HIV, Hepatit, influenza ve Sıtma hastalıklarının teşhis ve tedavi süreçlerinde aksaklıklar yaşandığı görülmüştür. COVID-19

pandemisi bildiğimiz birçok hastalıktan daha hızlı ortaya çıkmış ve yayılmaya başlamıştır. Bu durum sağlık kuruluşlarının hazırlıksız yakalanmasına neden olmuştur. Söz konusu enfeksiyöz hastalıklar ile ilgilenen bölümlerde çalışan sağlık personeli COVID-19 pandemisi üzerine yoğunlaşmış ve bu kapsamda görevlendirilmiştir. Bu durum ve neden olduğu ağır çalışma şartlarının diğer ölümcül hastalıkların göz ardı edilmesine ve/veya yeterince takip edilememesine neden olduğu görülmüştür. Çeşitli çalışmaların, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde sağlık kaynaklarının COVID-19'a yönlendirilmesi sonucunda diğer ölümcül hastalıklarla baş etmek için gereken olanakların sağlanamadığı ayrıca pandemi etkilerinin bu ülkelerde çok daha olumsuz etki bırakabileceği belirtilmiştir. Bu dönemde, hastaların COVID-19'a yakalanma korkusu ile hastanelere gitmekte çekingen davranmalarının hastalıkların teşhisinde ve tedavilerinde gecikmeye neden olduğu görülmüştür. Bu durumun aynı zamanda, özellikle bulaşıcı hastalıkların zamanında kontrol altına alınamayıp daha fazla insana bulaşmasına neden olduğu gözlemlenmiştir.

Konusu geçen TB, HIV, hepatit, influenza ve sıtma gibi enfeksiyon etkenleri açısından dikkat çekmeyi amaçlayan bu derleme ilerleyen yıllarda özellikle ölümcül seyredabilen bu hastalıklarla enfekte insan sayısında artış ve yığılmalar ile karşılaşılabilceğini gözler önüne sermektedir. Günümüz dünyasında COVID-19 pandemisinin insanlık üzerine etkileri küçümsenemeyecek boyuttadır ancak bu süreçte uzun zamandır aramızda olan ve her yıl binlerce can almaya devam eden söz konusu diğer hastalıkların da öneminin göz ardı edilmemesi gerektiği derlenen literatür ışığında açıkça görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Osman EEA, Toogood PL, Neamati N. COVID-19: Living through another pandemic. *ACS Infect Dis.* 2020;6(7):1548-52. <https://doi.org/10.1021/acscinfecdis.0c00224>
2. Pitlik SD. Covid-19 compared to other pandemic diseases. *Rambam Maimonides Med J.* 2020;11(3):1-17. <https://doi.org/10.5041/RMMJ.10418>
3. Poorolajal J. Neglected major causes of death much deadlier than COVID-19. *J Res Health Sci.* 2020;20(2):e00478. <https://doi.org/10.34172/jrhs.2020.13>
4. World Health Organisation. Tuberculosis. 2021 [https://www.who.int/health-topics/tuberculosis#tab=tab_1] (Erişim tarihi: 21/03/ 2021).
5. Akçakaya A. Problems of healthcare professionals in COVID-19 pandemic. *Bezmialem Science.* 2021;9(1):1-2. <https://doi.org/10.14235/bas.galenos.2021.5938>
6. Mauro V, Lorenzo M, Paolo C, Sergio H. Treat all COVID 19-positive patients, but do not forget those negative with chronic diseases. *Intern Emerg Med.* 2020;15(5):787-90. <https://doi.org/10.1007/s11739-020-02395-z>
7. Dara M, Sotgiu G, Reichler, Chiang CY, Chee CBE, Migliori GB. New diseases and old threats: Lessons from tuberculosis for the COVID-19 response. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2020;24(5):544-45. <https://doi.org/10.5588/IJTL.20.0151>
8. McQuaid CF, McCreesh N, Read JM, et al. The potential impact of COVID-19-related disruption on tuberculosis burden. *Eur Respir J.* 2020;56(2):2001718. <https://doi.org/10.1183/13993003.01718-2020>
9. Alene KA, Wangdi K, Clements ACA. Impact of the COVID-19 pandemic on tuberculosis control: An overview. *Trop Med Infect Dis.* 2020;5(3):123. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed5030123>
10. Migliori GB, Thong PM, Akkerman O, et al. Worldwide effects of coronavirus disease pandemic on tuberculosis services, January-April 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(11):2709-12. <https://doi.org/10.3201/eid2611.203163>
11. Glaziou P. Predicted impact of the COVID-19 pandemic on global tuberculosis deaths in 2020. *medRxiv.* 2020.04.28.20079582. <https://doi.org/10.1101/2020.04.28.20079582>
12. İskender G. COVID-19 pandemisinin kronik viral hepatit hizmetleri üzerindeki etkisi. *Kesit Akademi Dergisi.* 2020;6(25):685-93. <https://doi.org/10.29228/kesit.47391>
13. Karimi-Sari H, Rezaee-Zavareh MS. COVID-19 and viral hepatitis elimination programs: Are we stepping backward? *Liver Int.* 2020;40(8):2042. <https://doi.org/10.1111/liv.14486>
14. Blach S, Kondili LA, Aghemo A, et al. Impact of COVID-19 on global HCV elimination efforts. *J Hepatol.* 2021;74(1):31-6. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.07.042>
15. Cox AL, El-Sayed MH, Kao JH, et al. Progress towards elimination goals for viral hepatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020;17(9):533-42. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0332-6>

16. Wingrove C, Ferrier L, James C, Wang S. The impact of COVID-19 on hepatitis elimination. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020;5(9):792-4.
[https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30238-7](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30238-7)
17. Horton R. Offline: A dangerous virus, but not the one you think. *Lancet.* 2020;395(10227):854.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30602-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30602-4)
18. Jiang H, Zhou Y, Tang W. Maintaining HIV care during the COVID-19 pandemic. *Lancet HIV.* 2020;7(5):e308-9.
[https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(20\)30105-3](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(20)30105-3)
19. Ogunbodede OT, Zablotska-Manos I, Lewis DA. Potential and demonstrated impacts of the COVID-19 pandemic on sexually transmissible infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2021;34(1):56-61.
<https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000699>
20. Ridgway JP, Schmitt J, Friedman E, et al. HIV care continuum and COVID-19 outcomes among people living with HIV during the COVID-19 pandemic, Chicago, IL. *AIDS Behav.* 2020;24(10):2770-2.
<https://doi.org/10.1007/s10461-020-02905-2>
21. Ünal İ, Gereklioğlu Ç, Bozdemir N. Dünyada ve Türkiye’de COVID-19: Epidemiyolojik veriler COVID-19. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi.* 2020;29(Özel Sayı 1): Ö2-10.
<https://doi.org/10.17827/aktd.841091>
22. Ehrlich H, Boneva D, Elkbuli A. The intersection of viral illnesses: A seasonal influenza epidemic amidst the COVID-19 pandemic. *Ann Med Surg (Lond).* 2020;60:41-3.
<https://doi.org/10.1016/j.amsu.2020.10.021>
23. Temel MK, Ertin H. 1918 grip panmeisi kıssasından COVID-19 pandemisine hisseler. *Anadolu Klin Tıp Bilim Derg.* 2020;25(Özel Sayı 1): Ö63-78.
<https://doi.org/10.21673/anadoluklin.716868>
24. Özlü A, Öztaş D. Yeni corona pandemisi (COVID-19) ile mücadelede geçmişten ders çıkarmak. *Ankara Med J.* 2020;20(2):468-81.
<https://doi.org/10.5505/amj.2020.46547>
25. Sakamoto H, Ishikane M, Ueda P. Seasonal influenza activity during the SARS-CoV-2 outbreak in Japan. *JAMA.* 2020;323(19):1969-71.
<https://doi.org/10.1001/jama.2020.6173>
26. Singer BD. COVID-19 and the next influenza season. *Sci Adv.* 2020;6(31):4-6.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.abd0086>
27. TC. Sağlık Bakanlığı. Sıtma Olgu Yönetim Rehberi. 2019. İnternet adresi: [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-vektorel-hastaliklar-db/zoonotik-hastaliklar/4-Sıtma/6-Rehberler/Stma_Olgu_Ynetim_Rehberi_2019.pdf] (Erişim tarihi: 25/03/2021).
28. Nghochuzie NN, Olwal CO, Udoakang AJ, Amenga-Etego LNK, Amambua-Ngwa A. Pausing the fight against malaria to combat the COVID-19 pandemic in Africa: Is the future of malaria bleak? *Front Microbiol.* 2020;11:1476.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01476>
29. Tuteja R. Malaria - An overview. *FEBS J.* 2007;274(18):4670-9.
<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05997.x>
30. Zawawi A, Alghanmi M, Alsaady I, Gattan H, Zakai H, Couper K. The impact of COVID-19 pandemic on malaria elimination. *Parasite Epidemiol Control.* 2020;11:e00187.
<https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00187>
31. Dittrich S, Lamy M, Acharya S, et al. Diagnosing malaria and other febrile illnesses during the COVID-19 pandemic. *Lancet Glob Health.* 2020;8(7):e879-80.
[https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30210-2](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30210-2)

HIV Negatif İmmüno Kompromize Hastaların Bronkoalveolar Lavaj Örneklerinde *Pneumocystis jirovecii* ve Diğer Etkenler

Detection of Pneumocystis jirovecii and Other Agents in Bronchoalveolar Lavage Samples of HIV- Negative Immunocompromised Patients

Nazmiye Ülkü Tüzemen*[Ⓜ], Ezgi Demirdöğen*[Ⓜ], Burcu Dalyan Cilo***[Ⓜ], Oktay Alver*[Ⓜ], Esra Kazak****[Ⓜ], Vildan Özkocaman****[Ⓜ], Beyza Ener*[Ⓜ]

* Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

** Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

*** Sağlık Bakanlığı Üniversitesi, Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Bursa, Türkiye

**** Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

***** Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Bursa, Türkiye

Atıf/Cite as: Tüzemen NÜ, Demirdöğen E, Dalyan Cilo B, Alver O, Kazak E, Özkocaman V, Ener B. HIV negatif immüno kompromize hastaların bronkoalveolar lavaj örneklerinde *Pneumocystis jirovecii* ve diğer etkenler. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):225-32.

Öz

Amaç: *Pneumocystis jirovecii*, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde önemli pnömoni etkenleri arasındadır. Çalışmamızda, pnömoni etiolojisi açısından gönderilen bronkoalveolar lavaj örneklerinin *Pneumocystis pnömonisi* (PCP) açısından değerlendirilmesi ve altta yatan diğer etkenlerin tespiti amaçlanmıştır.

Yöntem: Gönderilen bronkoalveolar lavaj örneklerine, May Grünwald/Giemsa, modifiye toluidin mavisi, immüno floresan antikor boyama ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi uygulanarak bu yöntemlerin *Pneumocystis pnömonisi* tanısındaki yeri araştırıldı. Bakteri, mantar etkenleriyle *Mycobacterium tuberculosis* ve *Cytomegalovirus*'ün belirlenmesi için de uygun yöntemler kullanıldı.

Bulgular: Yaşları 18-90 (ortalama 53.02 yaş) arasında değişen 32'si kadın, 68'i erkek olmak üzere 100 hasta çalışmaya dâhil edildi. Hastaların 17'sine herhangi bir altta yatan hastalık saptanamamış olup, bu hastalara yalnızca pnömoni ön tanısı ile bronkoskopi yapıldı. Yalnızca bir hastada gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile *Pneumocystis pnömonisi* pozitifliği saptandı. Tüm hastalar değerlendirildiğinde %33'ünde bir enfeksiyon etkeni saptandığı görüldü.

Sonuç: Sonuç olarak bu çalışmada, boyama yöntemleri ve gerçek zamanlı PCR ile PCP oranı düşük bulunmuştur. Daha fazla hastalarla yapılacak çalışmalarda daha yüksek oranlar elde edilebilir. Bununla beraber, bronkoalveolar lavaj örnekleri genel durumu bozuk hastalarda etiyojolojiye ulaşma açısından önemlidir.

Anahtar kelimeler: *Pneumocystis jirovecii*, bronkoalveolar lavaj, *Pneumocystis pnömonisi*

ABSTRACT

Objective: *Pneumocystis jirovecii* is among the important causative agents of pneumonia especially in immunocompromised individuals. In our study, we aimed to evaluate the etiology of pneumonia using bronchoalveolar lavage samples in terms of *Pneumocystis pneumonia* (PCP) and to identify other underlying agents.

Method: We analyzed bronchoalveolar lavage samples by May Grünwald/Giemsa, modified toluidine blue, immunofluorescent antibody staining and real-time polymerase chain reaction method, and investigated their roles in the diagnosis of PCP. Appropriate methods were also used to identify bacteria, fungi, *Mycobacterium tuberculosis* and *Cytomegalovirus*.

Results: In this study, 100 patients (32 females and 68 males) aged between 18-90 (mean age 53.02) years were included in the study. In 17 patients any underlying disease was not detected, and bronchoscopy was performed only with a preliminary diagnosis of pneumonia, and in only one patient pneumocystitis pneumonia-positivity was detected by real-time polymerase chain reaction method. When all patients were evaluated, an infectious agent was found in 33% of them.

Conclusion: As a result, in this study PCP rate was found to be low with staining methods and real-time polymerase chain reaction. Higher rates can be obtained in studies with greater number of patients. However, bronchoalveolar lavage samples are important in identifying etiology in patients with poor general condition.

Keywords: *Pneumocystis jirovecii*, bronchoalveolar lavage, *Pneumocystis pneumonia*

Alındığı tarih / Received:
18.08.2020 / 18.August.2020

Kabul tarihi / Accepted:
28.01.2021 / 28.October.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kayıtları

N. Ü. Tüzemen 0000-0003-3544-3509
E. Demirdöğen 0000-0002-7400-9089
B. Dalyan Cilo 0000-0002-6158-9360
O. Alver 0000-0002-5559-3590
E. Kazak 0000-0002-7380-2501
V. Özkocaman 0000-0003-0014-7398
B. Ener 0000-0002-4803-8206

✉ ulku_kocman@hotmail.com

GİRİŞ

Pneumocystis jirovecii, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde *Pneumocystis* pnömonisine (PCP) neden olan fırsatçı bir enfeksiyon hastalığı etkenidir⁽¹⁾. İlk tanımlandığında protozoon olarak kabul edilen bu tek hücreli ökaryotik mikroorganizmanın, yapılan çalışmalar sonucu mantar olduğu kanıtlanmıştır^(2,3). Öncelikle 1980'li yıllarda kazanılmış bağışıklık yetmezlik sendromu (AIDS) salgını sırasında tanımlanmıştır⁽⁴⁾. İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte hastalar veya kanser, otoimmün, bağ dokusu hastalığı bulunanlar ile kemik iliği/organ nakli olan hastalar başlıca risk grubunu oluşturur⁽⁵⁾. İnsanlar *P. jirovecii*'nin asemptomatik taşıyıcısı olabilirler. Yapılan çalışmalar, birçok kişinin mantarı erken yaşlarda aldığını ancak bulguların bağışıklık sisteminin baskılanmasıyla ortaya çıktığını göstermiştir^(6,7). Bağışıklığı baskılanmış hastalarda kişiden kişiye bulaş da olabilir. İlk kişiden kişiye bulaş onkoloji ve transplantasyon ünitesinde bildirilmiştir. Hastaların bir metre yakınındaki ortam havasında *P. jirovecii*'nin DNA'sı belirlenmiştir⁽⁴⁾. Günümüzde genel durumu bozuk, hastanede uzun süre kalan hasta sayılarının artmasına paralel olarak PCP olgularında da artışlar olmuştur. İngiltere'de yapılan bir çalışmada, laboratuvar tarafından doğrulanan PCP sayılarının 2000-2010 yılları arasında yılda %10 artış gösterdiği ve mortalite oranının da %29-62 arasında değiştiği bildirilmiştir⁽⁸⁾.

Pneumocystis jirovecii kültürde üretilmediği için tanı, solunum yolu örneklerinde moleküler yöntemlerle *P. jirovecii* DNA'sının saptanması ve çeşitli sitolojik (May Grünwald/Giemsa, toluidin mavisi, metanamin gümüş, kalkoflour beyazı, gram-weigert, papanicolaou) ve immünfloresan boyama (IFA) yöntemleri ile hazırlanmış preparatlarda *P. jirovecii* kist ve trofozoitlerinin mikroskopik olarak gösterilmesi ile konur⁽⁹⁻¹¹⁾.

Çalışmamızda, Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi (SUAM) Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına pnömoni etiyojisi açısından gönderilen bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerine, May Grünwald/Giemsa, modifiye toluidin

mavisi, indirekt immünfloresan antikor (IFA) boyama ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi uygulanarak bu yöntemlerin PCP tanısındaki yeri araştırıldı. Ayrıca BAL'ın değerli bir örnek olması nedeniyle diğer etkenlerin varlığına da bakıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışılan örnekler ve hastalar: Bursa Uludağ Üniversitesi, SUAM Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2016-Haziran 2017 arasında 100 HIV negatif immünkompromize hastaya ait BAL örneği *P. jirovecii* ve diğer etkenler (bakteri, mantar, mikobakteri ve sitomegalovirüs) açısından değerlendirildi. Hastaların hepsinde klinik (ateş, öksürük, dispne, dinleme bulgusu gibi) ve radyolojik (akciğer tomografisinde enfeksiyonla uyumlu lezyonlar) olarak pulmoner bulgular vardı ve örnekler PCP'yi desteklemek veya dışlamak açısından incelendi.

Retrospektif olarak hastaların yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri ile altta yatan hastalıkları hastane bilgi yönetim sisteminden alındı. Çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 2014-12/1 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

Bronkoalveolar lavaj: Bronkoalveolar lavaj pnömoni ön tanısı ile solunum yolu örneği elde etmek üzere, refrakter hipoksemisi olmayan, trombosit değeri 20.000/mm³ ve üzeri olan hastalara uygulamıştır. İşlem, Amerikan Torasik Birliği (ATS) klinik pratik kılavuzuna göre yapılmıştır. Toraks tomografisine göre seçilmiş bronkopulmoner segmente kama pozisyonunda yerleştirilmiş bronkoskop aracılığı ile 20 ml porsiyonlar halinde hazırlanmış oda havasındaki steril salinin (maksimum 100-200 ml) verilmesi ve her porsiyonda ayrı şırınga ile negatif basınç uygulanarak aspire edilmesi ile BAL örneği elde olunmuştur. Örnekler mikrobiyolojik inceleme için hızla laboratuvara ulaştırılmıştır⁽¹²⁾.

Örneklerin ön hazırlığı: Mukus içermeyen örnekler direkt olarak, mukus içeren örnekler ise iki kat %0.1 dithiothreitol eklendikten sonra 1.500 g devirde beş dakika santrifüj edildi ve üst kısımları atıldı. Çökeltiler

tuzlu fosfat tampon (PBS) solüsyonu ile sulandırıldıktan sonra 500 µl'si DNA izolasyonu için -20°C'ye kaldırıldı. Kalan örnek 1.500 g devirde beş dakika daha santrifüj edildi ve çökelti lamlara yayılıp havada kurutuldu. Daha sonra May Grünwald/Giemsa, modifiye toluidin mavisi, IFA boyama işlemleri ile boyandı.

Boyama işlemleri: May-Günwald/Giemsa boyama işleminde preparat metanol ile (2-3 dakika) saptandı. Fazlası dökülerek ve tamamen kuruduktan sonra dikey şale içinde bulunan May-Grünwald/Giemsa solüsyonunda beş dakika bekletildi. Daha sonra distile su ile preparat yıkandı. Ayrı bir dikey şale içerisindeki Giemsa solüsyonunda (distile su ile 1/20 seyreltilmiş) 15 dakika bekletildikten sonra musluk suyu ile yıkandı. Preparat oda sıcaklığında kuruduktan sonra immersiyon objektifinde (x100) incelendi⁽¹³⁾.

Modifiye toluidin mavisi boyama yöntemi için preparatlar dikey şale içerisinde bulunan "sulfation reagent" (30 ml glasiyal asetik asit ve 10 ml sülfirik asit karıştırılarak hazırlandı) solüsyonu içine yerleştirildikten sonra 10 dakika bekletildi. Akar durumdaki musluk suyu altında yıkanan preparatlar dikey şaledeki Toluidine blue-O solüsyonu içerisinde üç dakika bekletildi. Ardından önce %95, sonra %100 etil alkolde 10'ar saniye tutuldu ve ksilen içine daldırılarak boyama tamamlandı. Preparat oda sıcaklığında kuruduktan sonra immersiyon objektifinde (x100) incelendi⁽¹⁴⁾.

İmmun floresan antikor boyama yöntemi için lama yayılan örnekler, kitin (MonoFluo TM *Pneumocystis jirovecii* IFA test kit R, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, Fransa) içinden çıkan enzimle ön işleme tutuldu. Daha sonra üzerine murin anti-*P. jirovecii* antikor ve daha sonra floresanla işaretli anti-fare antikor eklenerek boyama gerçekleştirildi⁽¹⁵⁾. Örnekler *P. jirovecii* kist ve trofozoit varlığı açısından floresan mikroskopta incelendi.

DNA izolasyonu: DNA izolasyonu amacıyla saklanan 500 µl BAL örnekleri -20°C'den oda sıcaklığına çıkarıldı. Örnekler üzerine 3 µl Zymolase (ZymoResearch, ABD) eklendi ve 37°C'de bir saat inkübe edildi. Sonrasında 3.000 g devirde 10 dakika santrifüj edildi

ve süpernatant kısım atıldıktan sonra "Purelink Genomik DNA" mini kiti (Invitrogen, Carlsbad, CA, ABD) kullanılarak izolasyon işlemlerine geçildi⁽¹⁶⁾. Çökelti üzerine 180 µl "Purelink Genomic Digestion Buffer" ve 20 µl proteinaz K eklenip örnekler vorteksleildi. Ardından 55°C'de 45 dakika inkübe edildi. Daha sonra kit içerisinde çıkan 20 µl RNase A eklenildikten sonra iki dakika daha inkübe edildi. Maksimum hızda oda ısısında beş dakika santrifüj edilen örneklerin süpernatant kısmı yeni bir mikrosantrifüj tüpüne transfer edildikten sonra üzerine 200 µl "PureLinkR Genomic Binding Buffer" eklenip vorteksleildi. Üzerine 200 µl %100 etanol eklendi ve beş saniye daha vorteksleildi. Spin kolon yerleştirilmiş koleksiyon tüplerine hazırlanan tüm karışım boşaltıldı ve 10.000 g devirde bir dakika oda ısısında santrifüj edildi. Koleksiyon tüpleri yenileri ile değiştirildikten sonra 500 µl "Wash Buffer 1" eklenip 10.000 g devirde bir dakika oda ısısında santrifüj edildi. Koleksiyon tüpleri tekrar yenileri ile değiştirildikten sonra 500 µl "Wash Buffer 2" eklenip en yüksek devirde üç dakika oda ısısında santrifüj edildi. Spin kolonlar steril 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpleri üzerine yerleştirildi ve 100 µl "PureLinkR Genomic Elution Buffer" eklendikten sonra oda ısısında bir dakika inkübe edildi. En yüksek devirde bir dakika oda ısısında santrifüjlendikten sonra saflaştırılmış DNA içeren örnekler üç ayrı mikrosantrifüj tüpüne yaklaşık 33 µl olarak dağıtıldı. Tüpler real time PCR yöntemi uygulanana kadar -20°C'de korundu.

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu: Gerçek zamanlı PCR yöntemi *P. jirovecii*'nin (Gen Bank erişim No. AF026546) 166 bp'lik *cdc2* gen bölgesi kullanılarak Arcenas ve ark.⁽¹⁷⁾ tanımladığı şekliyle uygulandı. Amplifikasyon için iki primer [(forward (5'-AGG TAG GAG AAG GTA AGA AA-3') reverse (5'-GCT GTG CTT GGA ACC C-3')) ve bir çift hibridizasyon probu [(5'-GAT CTT GAA AAT GGC ACA ATA GTA G-fluorescein-3') ve (5'-Red 640-TTA AAA AAA TCC GGC TAG AAG CAG AAG-phosphate-3')] seçildi. Tüm PCR reaksiyonları için "LightCycler "PCR cihazı (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) ve "LightCycler-FastStart DNA Master Hybridization Probes" kiti (Roche Diagnostics GmbH Roche Applied Science 68298 Mannheim Germany) kullanıldı. Her reaksiyon için son hacim 20

µl (15 µl master miks, 5 µl hasta DNA'sı) olacak şekilde ayarlandı. Master miks karışımı 9.0 µl PCR-grade su, 1.6 µl MgCl₂ solüsyonu, 1'er µl her bir primerler, 0.2'şer µl her bir prop ve 2 µl enzim karışımından oluşmaktaydı. Amplifikasyon, 95°C'de 10 dakika bekleme ardından 45 siklus (95°C'de 10 saniye, 55°C'de 15 saniye, 72°C'de 15 saniye) olarak yapıldı. Bazal seviyenin üzerinde bir floresan elde edildiği zaman sonuçlar pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak daha önceden pozitif olduğunu bildiğimiz bir DNA örneği, negatif kontrol olarak PCR-grade su kullanıldı.

Pneumocystis jirovecii dışında BAL örnekleri bakteri mikobakteri, mantar ve sitomegalovirus (CMV) varlığı açısından da değerlendirildi. Örneklerden bakteri ve mantar etkenlerini aramak için konvansiyonel ekim yapıldı⁽¹⁸⁻²⁰⁾. Invazif aspergilloz tanısına destek olmak için kan ve BAL galaktomannan testi Platelia *Aspergillus* Antijen kiti (Bio Rad Lab; Marnes, Fransa) ile kitin önerileri doğrultusunda çalışıldı. Arda arda gelen iki kan örneğinin optik indeksinin ≥ 0.5 ; BAL örneklerinde ise optik indeksin ≥ 1 olması invaziv aspergilloz lehine değerlendirildi⁽²¹⁾. Mikobakteri belirlenmesi için asite dirençli boyama ve Löwenstein-Jensen (LJ) besiyeri ile BD BACTEC™ MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) ekim yapıldı⁽¹⁹⁾. BAL CMV belirlenmesinde gerçek zamanlı PCR testleri (Abbott Molecular, Des Plaines, IL, ABD) kullanıldı ve değer (>500 IU/ml) olduğu zaman pozitif kabul edildi⁽²²⁾.

BULGULAR

Çalışmamıza Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na pnömoni etiyojisi amacıyla BAL örneği yollanan, yaşları 18-90 (ortalama 53.02 yaş) arasında değişen 32'si kadın, 68'i erkek olmak üzere 100 hasta dâhil edildi. Hastaların altta yatan hastalıkları Tablo 1'de özetlendi. Hastaların 17'sine herhangi bir altta yatan hastalık saptanamamış olup, bu hastalara yalnızca pnömoni ön tanısı ile bronkoskopi yapıldı. Diğer 83 hastada tabloda da görüldüğü gibi PCP açısından risk oluşturacak hastalıklar vardı.

Tablo 1. Hastaların altta yatan hastalıkları.

Altta Yatan Hastalık	Alt Tipi	Sayı
Hematolojik maligniteler (34)	AML	14
	ALL	7
	Lenfoma	7
	KLL	5
	MM	1
Solid tümörler (9)	AC Kanseri	5
	Diğerleri*	4
Organ nakilleri (9)	Böbrek Transplantasyonu	8
	Karaciğer Transplantasyonu	1
Kronik otoimmün veya inflamatuvar AC Hst (30)	İnterstisyel Akciğer Hastalığı	6
	Aktif veya Geçirilmiş Tüberküloz	5
	Astım	3
	Hipersensitivite Pnömonisi	3
	KOAH	2
	Kronik Eozinofilik Pnömoni	2
	Polimiyozit	2
	Wegener	2
	Sarkoidoz	1
	Nefrotik Sendrom	1
	Nörobeyhçet	1
	Parkinson	1
	Romotoid Artrit	1
Miks hastalık (1)	ALL ve AC Kanseri	1
Altta yatan hastalığı belirlenmemiş olanlar (17)		17
TOPLAM		100

AML: Akut myeloid lösemi; ALL: Akut lenfoid lösemi; KLL: Kronik lenfoid lösemi; MM: Multiple myeloma; KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı;

*Üçü beyin tümörü, biri mide kanseri

Yalnızca bir hastada gerçek zamanlı PCR yöntemi ile PCP pozitifliği saptandı. Akut myeloid lösemisi (AML) olan hematolojik maligniteli bir hastaydı. Hasta klinik olarak semptomlarının azalması ve akciğer tomografi bulgularının düzelmesiyle trimetoprim sülfometakzazol (TMP-SXT) tedavisinden yarar gördü. Bu hastanın diğer bütün etiyojolojiye yönelik tetkikleri (bakteri, mikobakteri, mantar üremesi ve BAL galaktomannan indeks değeri ile BAL CMV değeri) negatif kaldı. Ancak sitolojik ve immunflorasana boyama yöntemleriyle hiçbir hastada pozitiflik bulunamadı.

Tüm hastalar değerlendirildiğinde %33'ünde bir enfeksiyon etkeni saptandığı görüldü (Tablo 2). Tablo 2'de de görüldüğü gibi, en fazla etken hematolojik malignite grubunda belirlendi. Bakteriyal enfeksiyonu olan toplam 12 hastanın beşinde *Pseudomonas*

Tablo 2. Hastaların BAL örneklerinde saptanan *Pneumocystis jirovecii* dışı etkenlerin dağılımı.

Hastalık Grubu (n/etken pozitifliğinin yüzdesi)	Etkenler
Hematolojik malinite (34/38.2)	Bakteriyal enfeksiyon (5 hasta) İPA (4 hasta) CMV enfeksiyonu (3 hasta) PCP (1 hasta)
Solid tümörler (9/22.2)	İPA (1 hasta)
Organ nakilleri (9/22.2)	Tbc enfeksiyonu (1 hasta) Bakteriyal enfeksiyon (1 hasta)
Kronik otoimmün veya inflamatuvar AC Hst (30/30)	İPA (1 hasta) Bakteriyal enfeksiyon (4 hasta) İPA (3 hasta)
Altta yatan hastalığı belirlenememiş olanlar (17/ 23.5)	Tbc enfeksiyonu (1 hasta) CMV enfeksiyonu (1 hasta) Bakteriyal enfeksiyon (2 hasta)
Miks hastalığı olanlar (1)*	İPA (2 hasta) Tbc enfeksiyon (1 hasta) CMV enfeksiyonu (1 hasta) CMV enfeksiyon (1 hasta)
Toplam (100/33)	Toplam (33)

AML: Akut myeloid lösemi; ALL: Akut lenfoid lösemi; KLL: Kronik lenfoid lösemi; MM: Multiple myeloma; KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı;

*Üçü beyin tümörü, biri mide kanseri

aeruginosa, üçünde *Acinetobacter baumannii*, ikisinde *Escherichia coli*, birinde *Stenotrophomonas maltophilia* ve bir hastada da aynı anda *Enterobacter cloacae* ile *P. aeruginosa* üremesi olduğu görüldü. İnvazif pulmoner aspergilloz (İPA) tanısı 11 hastaya kondu. Bunlarda sekiz tanesi yalnızca BAL galaktomannan (GM) testi ile (optik indeks \geq 1), bir tanesi *Aspergillus fumigatus* üremesi ile iki tanesi ise hem *Aspergillus* üremesi hem de GM pozitifliği ile belirlendi. Üç hastada *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi saptanırken, altı hastada tedaviye gereksinim duyulan BAL CMV DNA pozitifliği (>500 IU/ml) olduğu belirlendi⁽²²⁾.

TARTIŞMA

Pneumocystis pnömonisi, 1980'li yıllardan önce oldukça ender bir hastalıkken, dünya çapındaki HIV epidemisi nedeniyle bu hasta grubunda sıklıkla görülmeye başlamıştır. Ancak antiretroviral tedavideki gelişmeler ve yoğun olarak kullanılan profilaksi bu hasta grubunda PCP sıklığını düşürmüştür⁽²³⁾. Günümüzde genel durumu bozuk immüno-kompromize hastaların artması ile PCP'nin önemi bu gruba

kaymıştır⁽²⁴⁾. Çalışmamızın esas hedefi, hastanede yatan HIV negatif hastalardan alınan BAL örneklerinde *P. jirovecii* aranmasıdır. Ancak BAL'ın değerli bir örnek olması nedeniyle diğer etkenlerin dağılımına da bakılmıştır.

Pneumocystis pnömonisi, HIV negatif genel durumu bozuk hastalarda mortalitesinin yüksek olması nedeniyle önemlidir. Yapılan çalışmalarda, HIV pozitif hastalarda mortalite %7-20'iken, HIV negatif genel durumu bozuk hastalarda mortalite %29-60 olarak bulunmuştur⁽²⁵⁾. Bu nedenle, üçüncü basamak hastanelerde solunum yolu örneklerinde, özellikle altın standart olan BAL örneklerinde *P. jirovecii*'nin aranması gerekir. Bronkoskopik örnek almada bir standardizasyon olmaması bu örneğin değerini düşürmekle beraber yine de BAL örneğinin PCR ile PCP açısından negatif kalması ampirik olarak başlanan spesifik tedavinin kesilmesini düşündürmektedir⁽²⁶⁻²⁷⁾. İlk olarak, 1990 yılında Wakefield et al⁽²⁸⁾ PCP tanısı için PCR tekniği geliştirilmiş olup, günümüzde gerçek zamanlı PCR en duyarlı yöntem olarak kabul edilmektedir⁽²⁹⁾.

Bu çalışmada, gerçek zamanlı PCR ile yapılan taramada yalnızca bir hastada (%1) pozitiflik saptanmıştır. Dünya ve ülkemizdeki diğer çalışmalar (%8-70) ile merkezimizde yapılan önceki çalışmaya (%21) göre çalışmamızda oldukça düşük bir oran elde edilmiştir^(3,6,7,30-32). Bu farkın birçok nedeni olabilir. Çalışmalarda, farklı PCR formatları ve farklı gen bölgeleri kullanılmaktadır. Örneğin, merkezimizde yapılan önceki çalışmada mitokondriyal ribozomal RNA'nın iki bölgesi nested PCR ile çoğaltılmıştır⁽⁷⁾. Bu çalışmada ise, *cdc 2* gen bölgesi daha duyarlı kabul edilen gerçek zamanlı PCR ile aranmıştır. Ayrıca çalışmaların birçoğunda ve bu çalışmada da internal kontrol bulunmamaktadır. Bu çalışmanın bir eksikliğidir. Bununla beraber, daha özgül ve duyarlı kabul edilen gerçek zamanlı PCR kullanılması ve her ne kadar duyarlılığı düşük olsa da boyama yöntemlerinin de negatif kalması çalıştığımız hasta grubunda *P. jirovecii* sıklığının belki de raslantısal olarak düşük olduğunu düşündürebilir. Çalışmamızda ayrıca, beta glukan testi de kullanılmamıştır. Bu testin PCP olgularında yüksek olduğu bilinmektedir⁽³³⁾. Ancak, çalışma grubumuz, genel durumu bozuk hastanede uzun süre yatan ve diğer mantar enfeksiyonları açısından yüksek riskli bir gruptur. Bu nedenle, panfungal bir test olan ve ülkemizde geri ödemesi bulunmayan beta glukanın tanıda çok yararlı olamayacağı düşünülmüştür.

Bronkoalveolar lavaj genel durumu bozuk hastalarda kolay yapılamadığı için değerli bir örnektir. Bu çalışmada da bu nedenle diğer etkenler de incelenmiştir. Hastaların ortalama %33'ünde bir etkene ulaşmak önemlidir. Genel durumu bozuk bu hastalar sıklıkla çok sayıda antimikrobiklerle tedavi edilmektedirler. En azında belli bir kısmında etiyolojiye ulaşmak özgün tedavi için iyi bir şanstır. Böylece ilaçlarla ilişkili yan etkiler azalacak ve maliyet de düşecektir.

Sonuç olarak, bu çalışmada boyama yöntemleri ve gerçek zamanlı PCR ile PCP oranı düşük bulunmuştur. Daha fazla hastalarla yapılacak çalışmalarda daha yüksek oranlar elde edilebilir. Bununla beraber, BAL örnekleri genel durumu bozuk hastalarda etiyolojiye ulaşma açısından önemlidir.

Etik kurul onayı: Çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 2014-12/1 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal destek: Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından KUAP(T)-2014/37 [İmmün Yetmezlikli Hastaların Bronş Lavajı (BL) ve Bronkoalveolar Lavaj (BAL Örneklerinden Real-Time Polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), İmmunofloresans (IF) ve Direkt Mikroskopi Yöntemleriyle *Pneumocystis jirovecii* saptanması] numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Bursa Uludag University, Medical Faculty, Clinical Research Ethics Committee (2014-12/1).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: Uludag University Scientific Research Projects Unit [Project No. KUAP(T)-2014/37].

KAYNAKLAR

1. Miguel Montanes R, Elkrief L, Hajage D, et al. An outbreak of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia among liver transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2018;20(5): e12956. <https://doi.org/10.1111/tid.12956>
2. Thomas CF, Limper AH. *Pneumocystis pneumonia*. *N Engl J Med*. 2004;350(24):2487-98. <https://doi.org/10.1056/NEJMr032588>
3. Töz S, Gündüz C, Tetik A ve ark. *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi tanısında mikroskopi ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemlerinin karşılaştırılması: Klinik bulgular ile yorumlanması. *Tuberk Toraks*. 2017;65(3):220-6. <https://doi.org/10.5578/tt.58625>
4. Morris A, Norris KA. Colonization by *Pneumocystis jirovecii* and its role in disease. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(2):297-317. <https://doi.org/10.1128/CMR.00013-12>
5. Ding CH, Yusoff H, Muttaqillah NAS, et al. The crucial role of molecular testing to facilitate the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* during pregnancy. *Malays J Pathol*. 2018;40(1):69-72.
6. Tekinşen FF, Koç AN. Klinik örneklerde çeşitli yöntemlerle *Pneumocystis jirovecii* araştırılması.

- Mikrobiyol Bul. 2013;47(4):658-67.
<https://doi.org/10.5578/mb.5884>
7. Özmen A, Mistik R, Alver O, Coşkun F, Ursavaş A, Uzaslan E. Bronkoalveolar lavaj (BAL) ve bronşiyal lavaj yapılan hastalardaki *Pneumocystis jirovecii* kolonizasyonu ve tanıda kullanılan yöntemlerin karşılaştırması. Tuberk Toraks. 2013;61(4):303-11.
<https://doi.org/10.5578/tt.2954>
 8. Fan LC, Lu HW, Cheng KB, Li HP, Xu JF. Evaluation of PCR in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a bivariate meta-analysis and systematic review. PLoS One. 2013;8(9):e73099.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073099>
 9. Tosun I, Buruk K, Dede R, Kaklıkaya N. İmmün yetmezliği olan hastaların solunum yolu örneklerinde PCR, IFA ve Giemsa boyama yöntemleriyle *Pneumocystis jirovecii*'nin araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2013;47(1):195-7.
<https://doi.org/10.5578/mb.4292>
 10. Cushion MT. *Pneumocystis*. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW (Eds.) Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 2015:2015-29.
 11. Ma L, Cissé OH, Kovacs JA. A molecular window into the biology and epidemiology of *Pneumocystis* spp. Clin Microbiol Rev. 2018;31(3):e00009-18.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00009-18>
 12. Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, et al. American Thoracic Society Committee on BAL in Interstitial Lung Disease. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. Am J Respir Crit Care Med. 2012;185(9):1004-14.
<https://doi.org/10.1164/rccm.201202-0320ST>
 13. Korkmaz M, Ok ÜZ. May Grünwald boyama yöntemi. Korkmaz M, Ok ÜZ (Eds). Parazitolojide Laboratuvar (kitabında). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:23, İzmir: META Basım, 2011;70.
 14. Gosey LL, Howard RM, Witebsky FG, et al. Advantages of a modified toluidine blue O stain and bronchoalveolar lavage for the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. J Clin Microbiol. 1985;22(5):803-7.
<https://doi.org/10.1128/JCM.22.5.803-807.1985>
 15. BioRad. MONOFLUO *Pneumocystis jirovecii* IFA Test Kit 2020. [<https://www.biorad.com>] (Erişim tarihi: 23. Ekim.2020).
 16. Thermo Fisher Scientific. PureLink™ Genomic DNA Mini Kit 2020. [<https://www.thermofisher.com>] (Erişim tarihi: 23.10.2020)
 17. Arcenas RC, Uhl JR, Buckwalter SP, et al. A real-time polymerase chain reaction assay for detection of *Pneumocystis* from bronchoalveolar lavage fluid. Diagn Microbiol Infect Dis. 2006;54(3):169-75.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.08.006>
 18. Garcia LS. Respiratory Tract Cultures. In: Garcia LS (Ed.) Clinical Microbiology Procedures Handbook Washington DC: ASM Press, 2007:320-42.
 19. Garcia LS. Mycobacteriology and Antimycobacterial Susceptibility Testing. In: Garcia LS (Ed.) Clinical Microbiology Procedures Handbook Washington DC: ASM Press, 2007:1071-4.
 20. Garcia LS. Viruses and chlamydiae. In: Garcia LS (Ed.) Clinical Microbiology Procedures Handbook Washington DC: ASM Press, 2007:1631-73.
 21. Ullmann AJ, Aguado JM, Arıkan-Akdağlı S et al. Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. Clin Microbiol Infect. 2018;24(Suppl 1):e1-38.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.002>
 22. Boeckh M, Stevens-Ayers T, Travi G, et al. Cytomegalovirus (CMV) DNA quantitation in bronchoalveolar lavage fluid from hematopoietic stem cell transplant recipients with CMV pneumonia. J Infect Dis. 2017;215(10):1514-22.
<https://doi.org/10.1093/infdis/jix048>
 23. Pulvirenti J, Herrera P, Venkataraman P, Ahmed N. *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-infected patients in the HAART era. AIDS Patient Care STDS. 2003;17(6):261-5.
<https://doi.org/10.1089/108729103322108139>
 24. Tasaka S. Recent Advances in the diagnosis and management of *Pneumocystis pneumonia*. Tuberc Respir Dis. 2020;83(2):132-40.
<https://doi.org/10.4046/trd.2020.0015>
 25. Bateman M, Oladele R, Kolls JK. Diagnosing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: A review of current methods and novel approaches. Med Mycol. 2020;58(8):1015-28.
<https://doi.org/10.1093/mmy/myaa024>
 26. Huang L, Hecht FM, Stansell JD, Montanti R, Hadley WK, Hopewell PC. Suspected *Pneumocystis carinii* pneumonia with a negative induced sputum examination. Is early bronchoscopy useful? Am J Respir Crit Care Med. 1995;151(6):1866-71.
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.151.6.7767533>
 27. Rohner P, Jacomo V, Studer R, Schrenzel J, Graf JD. Detection of *Pneumocystis jirovecii* by two staining methods and two quantitative PCR assays. Infection. 2009;37(3):261-5.
<https://doi.org/10.1007/s15010-008-8027-x>
 28. Wakefield AE, Pixley FJ, Banerji S, et al. Detection of *Pneumocystis carinii* with DNA amplification. Lancet. 1990;336(8713):451-3.
[https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)92008-6](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)92008-6)

29. Durgut EG, Kustimur S, Aydin M, Kalkanci A, Al FD. Comparison of real-time PCR, indirect immunofluorescence antibody assay, and different staining techniques for the diagnosis of *Pneumocystis*. Ann Med Res. 2020;27(1):244-51. <https://doi.org/10.5455/annalsmedres.2019.10.625>
30. Lamas LM, Rodríguez MTP, Alvarez IA, Soage MEB, Lamas MPF, Fernández MA. Role of *Pneumocystis jirovecii* in patients with different pulmonary underlying condition using a nested-PCR. Rev Esp Quimioter. 2018;31(4):336-43.
31. Santos CR, Assis AM, Luz EA, et al. Detection of *Pneumocystis jirovecii* by nested PCR in HIV-negative patients with pulmonary disease. Rev Iberoam Micol. 2017;34(2):83-8. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2015.12.002>
32. Mori H, Ohno Y, Ito F, et al. Polymerase chain reaction positivity of *Pneumocystis jirovecii* during primary lung cancer treatment. Jpn J Clin Oncol. 2010;40(7):658-62. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyq040>
33. Corpo O, Butler-Laporte G, Sheppard DC, Cheng MP, McDonald EG, Lee TC. Diagnostic accuracy of serum (1-3)- β -D-glucan for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2020;26(9):1137-43. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.05.024>

Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranları

Antibiotic Resistance Rates of Staphylococcus aureus Strains Isolated from Various Clinical Samples

Hülya Duran*¹, Nihan Çeken**², Tuğba Kula Atik***³

* Dr. İsmail Fehmi Cumalioğlu Şehir Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Tekirdağ, Türkiye

** Balıkesir Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Balıkesir, Türkiye

*** Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

Atf/Cite as: Duran H, Çeken N, Kula Atik T. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik direnç oranları. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):233-8.

Öz

Amaç: *Staphylococcus aureus* hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir patojendir. Metisilin dirençli izolatların varlığı tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır. Bu çalışmanın amacı, hastanemizde ayaktan ve yatan hastalardan izole edilen *S. aureus* suşlarında antibiyotik direnç oranlarını saptamaktır.

Yöntem: 2016-2019 yılları arasında çeşitli klinik örnekler retrospektif olarak değerlendirilmiş ve *S. aureus* suşları çalışmaya dâhil edilmiştir. Bakteri tanımlaması ve antibiyotik duyarlılık testleri konvansiyonel yöntemler ve otomatize sistemler kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Yaptığımız bu çalışmada, 595 *S. aureus* suşu değerlendirilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen suşlar en sık kan ve yara örneklerinden izole edilmiştir. Yüz yetmiş iki izolat (%28.9) metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) olarak tanımlanmıştır. Eritromisin, tetrasiklin, klindamisin, gentamisin, siprofloksasin ve trimetoprim-sülfametoksazole karşı %16.8 oranında veya altında direnç saptanmıştır. Bu antimikrobiyallere karşı MRSA'larda metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA) suşlarına kıyasla yüksek direnç oranları gözlenmiştir. Vankomisin, teikoplanin ve linezolid karşı direnç saptanmazken daptomisine %0.7 oranında direnç bulunmuştur.

Sonuç: Antibiyotik direnci günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biridir. Gerek metisilin gerekse diğer antibiyotiklere direnç *S. aureus* enfeksiyonlarında tedavi başarısını düşürmektedir. Bu nedenle antibiyotik direnç surveyanlarının düzenli olarak izlenmesi oldukça önemlidir.

Anahtar kelimeler: *Staphylococcus aureus*, MRSA, antibiyotik direnci

ABSTRACT

Objective: *Staphylococcus aureus* is an important pathogen that can cause both community and hospital-acquired infections. The presence of methicillin resistant isolates limits treatment options. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance rates in *S. aureus* strains isolated from outpatients and inpatients in our hospital.

Method: Various clinical specimens were evaluated retrospectively between 2016-2019 and *S. aureus* strains were included in the study. Bacterial identification and antibiotic susceptibility tests were performed using conventional methods and automated systems.

Results: In our study, 595 *S. aureus* strains were assessed. The strains included in the study were most frequently isolated from blood and wound samples. One hundred and seventy-two isolates (28.9%) were identified as methicillin resistant *S. aureus* (MRSA). The resistance rates to erythromycin, tetracycline, clindamycin, gentamicin, ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole were 16.8% or below. High resistance rates were observed in MRSA against these antimicrobials compared to methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) strains. Resistance was not found against vancomycin, teicoplanin and linezolid, whereas resistance to daptomycin was 0.7%.

Conclusion: Antibiotic resistance is one of the most important health problems of today. Resistance to both methicillin and other antibiotics decreases the success rates of treatment in *S. aureus* infections. Therefore, it is very important to regularly monitor antibiotic resistance surveillance.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, MRSA, antibiotic resistance

Alındığı tarih / Received:

05.01.2021 / 05.January.2020

Kabul tarihi / Accepted:

18.02.2021 / 18.February.2021

Yayın tarihi / Publication date:

07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kayıtları

H. Duran 0000-0002-4838-0730

N. Çeken 0000-0003-1877-7320

T. Kula Atik 0000-0002-2433-1977

✉ tkulaatik@gmail.com

GİRİŞ

Staphylococcus aureus hem toplum kaynaklı enfeksiyonlara hem de hastane enfeksiyonlarına sıklıkla neden olabilen, solunum yolu, idrar yolu, cilt-yumuşak doku ve kan yolu enfeksiyonları gibi çok çeşitli klinik tablolar ile seyredabilen önemli bir bakteriyel insan patojenidir⁽¹⁻⁴⁾. *S. aureus*'un çevrede yaygın olarak bulunması yanında çoğu sağlıklı bireyin deri ve mukoza zarları gibi normal florasında da bulunması potansiyel olarak ciddi enfeksiyon kaynağı olmasını kolaylaştırmaktadır^(1,2,4).

Staphylococcus aureus enfeksiyonlarının tedavisi, enfeksiyonun türüne ve enfeksiyona neden olan suşun antibiyotik duyarlılığına bağlı olarak değişiklikler göstermektedir⁽¹⁾. MRSA (metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*) suşları seftarolin ve seftobiprol gibi anti-MRSA etkili yeni sefalosporinler dışında diğer β -laktam grubu antibiyotiklere dirençli olmakla birlikte, makrolidler, linkozamidler, kinolonlar ve aminoglikozidlere de direnç gösterebilmektedir^(4,5). Bu direnç gelişimi nedeniyle MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde vankomisin, teikoplanin, linezolid, daptomisin gibi antimikrobiyallerin kullanımı zorunlu duruma gelmektedir^(4,6). MRSA gibi çoklu antibiyotiğe dirençli suşların ortaya çıkması tedavi yönetimini zorlaştıranın yanında, morbidite, mortalite ve hasta maliyeti yükünü de önemli derecede arttırmaktadır^(3,5,6). Akılcı antibiyotik kullanım politikalarının yerleştirilebilmesi için antibiyotik direnç süreyanslarının düzenli olarak izlenmesi ampirik tedaviye yol gösterilmesinde oldukça önemlidir⁽⁴⁻⁶⁾.

Çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarının antimikrobiyal direnç oranlarını saptamak ve ampirik tedavi kararına yol göstermek amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızın etik kurul onayı Balıkesir Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (19.08.2020 tarih, 2020/135 karar No.). Çalışmamızda, 2016-2019 yılları arasında hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen endotrakeal aspirat (ETA),

kan, idrar, yara, balgam ve kateter ucu örnekleri gibi çeşitli klinik örnekler retrospektif olarak incelenerek, *S. aureus* üremesi saptanan örnekler çalışmaya dâhil edilmiştir.

Tüm örnekler kanlı agar ve eosin methylene blue (EMB) agara ekim yapılarak 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İzole edilen suşlar konvansiyonel yöntemler (koloni morfolojisi, gram boyama, katalaz ve koagülaz testi) ve BD Phoenix 100 otomatize identifikasyon sistemi (BD Phoenix System, Beckton Dickinson, ABD) ile tanımlanmıştır. İzolatların in-vitro antibiyotik duyarlılıkları European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)⁽⁷⁾ kriterleri temel alınarak Phoenix TM 100 otomatize tanımlama ve antibiyotik duyarlılık test sistemi (Beckton, Dickinson and Company, ABD) kullanılarak saptanmıştır. Metisilin direncinin belirlenmesi için sefoksitin MİK değeri (>4 mg/L) kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda, 595 *S. aureus* suşu izole edilmiş ve değerlendirmeye alınmıştır. *S. aureus* suşlarının %52.9'u kan, %28.1'i yara, %10.3'ü ETA, % 3.4'ü idrar, %3'ü balgam ve %2.3'ü kateter ucu örneklerinden belirlenmiştir. Suşların izole edildiği ETA, kan ve kateter ucu örneklerinin tamamının yatan hastalara; yara, balgam ve idrar örneklerinin %55.1'inin ayakta, %44.9'unun ise yatan hastalara ait olduğu görülmüştür.

İzole edilen suşların %28.9'unda (172 izolat) metisilin direnci saptanmış ve MRSA olarak sınıflandırılmıştır. Metisilin direnci 2016 yılında %19, 2017 yılında %37.7, 2018 yılında %23.7 ve 2019 yılında %33 olarak saptanmıştır. MRSA izole edilen örneklerin %12.2'sinin ayaktan hastalara (tamamı yara örneği), %87.8'inin yatan hastalara ait olduğu izlenmiştir.

Değerlendirmeye dâhil edilen *S. aureus* suşlarında (n=595) en yüksek direnç oranı %92.6 ile penisilin için gözlenmiştir (Tablo 1). Vankomisin, teikoplanin ve linezolide karşı direnç saptanmazken, daptomisine %0.7 oranında direnç bulunmuştur. MRSA suşlarında MSSA (metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*) tür-

Tablo 1. İzole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik direnç oranları.

Antibiyotik	MRSA		MSSA		Toplam	
	(n=172)	%	(n=423)	%	(n=595)	%
Penisilin	172	100	379	89.6	551	92.6
Gentamisin	55	32	36	8.5	91	15.3
Klindamisin	60	34.9	28	6.6	88	14.8
Eritromisin	66	38.4	34	8	100	16.8
Tetrasiklin	58	33.7	0	0	58	9.7
TMP-SXT	18	10.5	12	2.8	30	5
Siprofloksasin	49	28.5	27	6.4	76	12.8
Vankomisin	0	0	0	0	0	0
Teikoplanin	0	0	0	0	0	0
Linezolid	0	0	0	0	0	0
Daptomisin	4	2.3	0	0	4	0.7

TMP-SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol

MRSA: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*; MSSA: Metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus*

Tablo 2. İzole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının klinik örneklerle göre antibiyotik direnç oranları.

Antibiyotik	Kan n=315	Yara n=167	ETA n=61	İdrar n=20	Balgam n=18	Kateter ucu n=14
Penisilin	98.4	85	82	85	100	100
Gentamisin	14.3	14.4	18	40	11.1	7.1
Klindamisin	16.5	12	13.1	10	11.1	28.6
Eritromisin	18.7	11.4	16.4	25	11.1	35.7
Tetrasiklin	11.4	3.6	16.4	10	11.1	14.3
TMP-SXT	5.1	4.8	3.3	0	5.6	21.4
Siprofloksasin	14	8.4	14.8	15	16.7	21.4
Vankomisin	0	0	0	0	0	0
Teikoplanin	0	0	0	0	0	0
Linezolid	0	0	0	0	0	0
Daptomisin	0	1.2	1.6	0	0	7.1
MRSA	34.6	19.2	32.8	20	16.7	28.6

TMP-SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol

MRSA: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*; ETA: Endotrakeal aspirat

lerine göre tüm antibiyotiklere karşı daha yüksek direnç saptanmıştır (Tablo 1). Klinik örnekler değerlendirildiğinde antibiyotik direnç oranlarının genel olarak birbirine yakın değerlerde seyrettiği ve tüm örneklerde en etkisiz antibiyotığın penisilin olduğu görülmüştür. Ayrıca MRSA oranının kan ve ETA örneklerinde daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 2).

TARTIŞMA

Staphylococcus aureus, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli etkenlerinden biridir. Başta deri ve yumuşak doku enfeksiyonları olmak üzere bakteriyemi de dâhil birçok lokal ve sistemik hastalığa neden olmaktadır^(8,9). Bakterinin sıklıkla izole edildiği klinik örnekler literatürde farklı yelpazede bildirilmektedir^(6,8,10). Tanrıverdi ve ark.⁽⁶⁾ en sık yara

örneklerinde, ikinci sıklıkta balgam örneklerinde; Arıcı ve ark.⁽⁸⁾ en sık ETA örneklerinde, ikinci sıklıkta yara örneklerinde, Barış ve ark.⁽¹⁰⁾ ise en sık solunum, ikinci sıklıkta kan örneklerinde izole etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada, *S. aureus* suşlarının yarısından fazlasının (%52.9) kan örneklerinden, yaklaşık %30'unun da yara örneklerinden izole edildiği görülmüştür.

Staphylococcus aureus enfeksiyonlarının tedavisinde ilk başlarda sülfonamid grubu ilaçlar ile penisilin G kullanılmış fakat penisilin G'ye kısa sürede direnç gelişmiştir⁽¹¹⁾. Çalışmamızda da penisilin direnci yüksek oranda (%92.6) saptanmıştır. Metisilin tedavide kullanımı ile *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde başarı sağlanmış fakat 1961 yılında metisilin dirençli suşlar ortaya çıkmıştır^(11,12). Dünyada ve ülkemizde

yapılan çeşitli çalışmalarda MRSA sıklığına baktığımızda; dünyada %0.9-74⁽¹³⁾, ülkemizde ise %12.2-71.7⁽¹⁴⁾ gibi çok geniş bir aralıkta bildirilmektedir. Çalışmamızda, metisilin direnci %28.9 oranında, çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak metisilin direnci için doğrulama testleri yapılamamış, otomatize identifikasyon sisteminin alınan sonuçlara göre olası oranlar bildirilmiştir. Klinik örnekler bazında bildirilen MRSA oranlarına baktığımızda, yara örneklerinde Turhanoğlu ve ark.⁽¹⁵⁾ %35.8, Savcı ve ark.⁽¹⁶⁾ %9; kan örneklerinde Kula Atik ve ark.⁽⁵⁾ %41, Nazik ve ark.⁽¹¹⁾ %48.1; idrar örneklerinde Arıcı ve ark.⁽⁸⁾ %15, Özel ve ark.⁽¹⁷⁾ %33.3; ETA örneklerinde Tartar ve ark.⁽¹⁸⁾ %100; balgam örneklerinde Orak⁽¹⁹⁾ %100, solunum yolu örneklerinde (ETA ve balgam) Koçak ve ark.⁽²⁰⁾ %28.6 olarak belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışma ile karşılaştırsak birbirine hem çok yakın hem de çok farklı oranların olduğunu görüyoruz. Bu durum bize antibiyotik direnç oranlarının merkezler arası değişiklik gösterebileceğini kanıtlamaktadır. Ayrıca çalışmamızda MRSA oranlarının yıllar içinde değişkenlik gösterdiği, 2016 yılına kıyasla 2019 yılında arttığı saptanmıştır. Bu nedenle her merkezin kendi verisini oluşturması kadar düzenli olarak takip etmesi ve güncellemesi de önemlidir.

MRSA suşları tedavide önemli olan β-laktam grubu antibiyotiklere direnç göstermesinin yanında makrolidler, linkozamidler, kinolonlar ve aminoglikozidler gibi birçok farklı grup antimikrobiyale de direnç geliştirebilmektedir⁽⁵⁾. Çalışmaya dâhil edilen *S. aureus* suşlarında (n=595) penisilin hariç diğer antibiyotiklere karşı %16.8 ve altında, düşük direnç oranları saptanmıştır. Fakat gentamisin, klindamisin, eritromisin, tetrasiklin, Trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SXT) ve siprofloksasine karşı MRSA suşlarında saptanan direnç oranları MSSA'larda saptanana göre çok daha yüksek bulunmuştur. Tanrıverdi ve ark.⁽⁶⁾ 2018-2019 yıllarında çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *S. aureus* suşlarını değerlendirdikleri çalışmada, MRSA ve MSSA'da sırasıyla eritromisine %45.1-%15, klindamisine %43.5-%10.6, tetrasikline %38.2-%6, gentamisine %33.3-%11.3, siprofloksasine %37.5-%8.2 ve TMP-SXT'e %14.6-%1.3 oranında direnç saptamışlardır. Ayrıca çalışmamıza benzer şekilde MRSA suşlarında %100'e yakın penisilin direnci saptarken MSSA'da

bu oranı %80'lerde bulmuşlardır. Şen ve ark.⁽²¹⁾ 2010-2015 yılları arasında ayakta ve yatan hastaları değerlendirdikleri çalışmada direnç oranlarını MRSA'da eritromisine %57.4, klindamisine %45.1, tetrasikline %54.3, gentamisine %50, siprofloksasine %44.4 ve TMP-SXT'ye %20.9; MSSA suşlarında ise eritromisine %10, klindamisine %1.4, tetrasikline %7.3, gentamisine %5.8, siprofloksasine %4.1 ve TMP-SXT'ye %1.5 olarak saptamışlardır. Gerek yaptığımız çalışma, gerekse diğer iki çalışma değerlendirildiğinde literatür ile uyumlu olarak MRSA suşlarında MSSA'lara göre direnç oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür.

MRSA suşlarında görülen çoklu ilaç direnci, *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif antibiyotiklerin kullanılmasına neden olmuştur⁽²²⁾. Vankomisin, teikoplanin, daptomisin, tigesiklin ve linezolid MRSA tedavisinde kullanılan önemli ajanlardır⁽²³⁻²⁵⁾. Amerika'da SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı'nda, kan örneklerinden izole edilen MRSA suşlarında teikoplanine %1.2, vankomisin, linezolid, daptomisin ve tigesikline ise %1'in altında direnç belirlenmiştir⁽²⁶⁾. Shariati ve ark.⁽²⁷⁾'nin yaptığı çok merkezli çalışmada ise, MRSA suşlarında daptomisin, linezolid ve tigesikline %0.1 oranında direnç bulunmuştur. Ülkemizden yapılan çalışmalara baktığımızda, birçok merkezin bu antimikrobiyallere karşı direnç bildirmediğini^(5,6,8,17,19,28) görüyoruz. Bununla beraber, Şen ve ark.⁽²¹⁾ daptomisine %0.2, linezolidde %0.4; Nazik ve ark.⁽¹¹⁾ daptomisine %2.6, tigesikline %2.6 ve teikoplanine %7.8; Davarcı ve ark.⁽²⁹⁾ yalnızca daptomisine %4.2 oranında direnç bildirmişlerdir. Çalışmamızda, tüm *S. aureus* suşlarında daptomisine %0.7 oranında direnç saptanmış, vankomisin, teikoplanin ve linezolid direnci gözlenmemiştir. Hastanemizde, MRSA kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde daptomisin kullanımının yaygın olmasının bu duruma neden olabileceğini düşünüyoruz.

Özetle *S. aureus*, gerek ayakta gerekse yatan hastalarda önemli bir enfeksiyon etkenidir ve metisilin direnci tedavi seçeneklerini oldukça kısıtlamaktadır. Çalışmamızdan hareketle, hastanemiz için *S. aureus* enfeksiyonlarında rutin tedavide sıklıkla

tercih edilen eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, TMP-SXT gibi antibiyotiklerin ampirik olarak başlanmasının uygun olacağı, antibiyogram sonucuyla da tedavi rejiminin yeniden düzenlenmesinin tedavi başarısını arttıracığı açıkltır.

Etik Kurul Onayı: Çalışma, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 19.08.2020 ve 2020-135 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Balıkesir University, Medical Faculty, Clinical Research Ethics Committee (08.19.2020-2020/135).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev. 2015;28(3):603-61. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
2. Fitzgerald JR. Evolution of *Staphylococcus aureus* during human colonization and infection. Infect Genet Evol. 2014; 21: 542-7. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.04.020>
3. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. Front Cell Infect Microbiol. 2020; 10: 107. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00107>
4. Şanlı K. Hastane kökenli ve toplum kaynaklı *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli antimikrobiyallere duyarlılıkları. İKSSTD. 2020;12(2): 188-93. <https://doi.org/10.5222/iksstd.2020.64326>
5. Kula Atik T, Uzun B. Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının metisiline ve diğer antimikrobiyal ajanlara direnç durumlarının değerlendirilmesi. Klimik Derg. 2020;33(2):132-6. <https://doi.org/10.5152/kd.2020.28>
6. Tanrıverdi ES, Duman Y, Tekerekoğlu MS. Bir üniversite hastanesi'nde 2018-2019 yıllarında izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarının incelenmesi. Fırat Tıp Derg. 2020;25(4):184-8.
7. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, Version 10.0.2020. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2020.
8. Arıcı N, Aksaray S. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının metisilin direncinin belirlenmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. ANKEM Derg. 2019;33(2):70-6. <https://doi.org/10.5222/ankem.2019.1922>
9. Okalın ŞŞ, Aksakal A. Kronik süpüratif otitis medialis hastalardan *Staphylococcus aureus* suşlarının izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):148-55. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2020.148>
10. Barış A, Bulut ME, Öncül A, Bayraktar B. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalara ait klinik izolatların tür dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. J Turk Soc Intensive Care. 2017;15(1):21-7. <https://doi.org/10.4274/tybdd.55707>
11. Nazik S, Cingöz E, Şahin AR, Güler S. Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direncinin yıllara göre değişimi. Kocaeli Med J. 2018;7(1):32-6. <https://doi.org/10.5505/ktd.2018.94824>
12. Orhan Z, Kayış A, Akyol İ, Aral M. Farklı klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında metisilin, yüksek düzey mupirosin ve fusidik asit direncinin fenotipik ve genotipik olarak araştırılması. Sakarya Tıp Dergisi. 2017;7(3):131-7. <https://doi.org/10.31832/smj.325570>
13. Hassoun A, Linden PK, Friedman B. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. Crit Care. 2017;21(1):211-21. <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1801-3>
14. Şay Coşkun US. Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2018;32(2):45-52. <https://doi.org/10.5222/ankem.2018.045>
15. Turhanoğlu NM, Koyuncu E, Bayındır Bilman F. Yara kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri, 2010-2015. Turk Hij Den Biyol Derg, 2018;75(2):183-94. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2018.56338>
16. Savcı Ü, Aliç T, Güreser AS, Özkan AT. Ortopedik cerrahi sonrası yara enfeksiyonları: mikroorganizmaların dağılımları ve direnç durumları. Ortadoğu Med J. 2018;10(4):492-97. <https://doi.org/10.21601/ortadogutipdergisi.399737>
17. Özel Y, Büyükgengin KB, Yavuz MT. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli ve duyarlı *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik direnç profilinin araştırılması. ANKEM Derg. 2017;31(2):41-7. <https://doi.org/10.5222/ankem.2017.041>

18. Sağmak Tartar A, Özer AB, Ulu R, Akbulut A. Endotrakeal aspirat örneklerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları: bir yıllık retrospektif analiz. *Klimik Derg.* 2018;31(1):56-60.
<https://doi.org/10.5152/kd.2018.14>
19. Orak F. Mardin Devlet Hastanesi'nde 2011-2013 yılları arasında metisiline dirençli stafilocoklarda direnç profilleri. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2015;72(3):191-8.
<https://doi.org/>
20. Koçak AA, Yayla B, Güçlü AÜ ve ark. Adana'da bir üniversite hastanesinde izole edilen solunum yolu patojenleri ve antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesi. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2019;49(4):226-32.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2019.226>
21. Şen P, Demirdal T, Özdemir R ve ark. Stafilocoklarda antimikrobiyal direnç: 6 yıllık değerlendirme. *Medeniyet Med J.* 2017;32(4):205-11.
<https://doi.org/10.5222/MMJ.2017.205>
22. Emre A, Seyman D, Türker M ve ark. Toplum kökenli metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* etkenli deri ve yumuşak doku enfeksiyonu olguları. *Klimik Derg.* 2020;33(2):180-4.
<https://doi.org/10.5152/kd.2020.38>
23. Küçükateş E, Gültekin N. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan elde edilen metisilin dirençli stafilocok suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması. *Med Bull Haseki.* 2017;55(1):52-5.
<https://doi.org/10.4274/haseki.3190>
24. Öcal Demir S, Atay G, Kangallı Ö. ve ark. Dirençli gram pozitif enfeksiyon tedavisinde vankomisin ve linezolid kombinasyonu: olgu sunumu. *Çocuk Dergisi.* 2018;18(2):93-6.
<https://doi.org/10.5222/j.child.2018.58224>
25. Taşbakan MI, Uysal S, Kömür S, ve ark. Osteomyeliti olmayan diyabetik ayak enfeksiyonlarında daptomisin tedavisi: çok merkezli çalışma. *Flora.* 2017;22(4):148-52.
<https://doi.org/10.5578/flora.66267>
26. Diekema DJ, Hsueh P, Mendes RE, et al. The microbiology of bloodstream infection: 20-year trends from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(7): e00355-19.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00355-19>
27. Shariati A, Dadashi M, Chegini Z, et al. The global prevalence of daptomycin, tigecycline, quinupristin/dalfopristin, and linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci strains: a systematic review and metaanalysis. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2020;56(9):56.
<https://doi.org/10.1186/s13756-020-00714-9>
28. Bayındır Bilman F, Çiçek B. Kan kültürlerinden izole edilmiş metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocok suşlarının seftarolin, linezolid ve vankomisin in vitro duyarlılığının değerlendirilmesi. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2019;49(1):35-40.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2019.035>
29. Davarcı İ, Koçoğlu ME, Barlas N, Samastı M. Yara kültürlerinden izole edilen bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıkları: üç yıllık değerlendirme. *ANKEM Derg.* 2018;32(2):53-61.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2018.053>

Klinik Örneklerden İzole Edilen *Streptococcus agalactiae* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

Antibiotic Susceptibilities of *Streptococcus agalactiae* Strains Isolated from Clinical Samples

Kübra Evren*[®], Hale Ahsen Yardibi Demir*[®], Fatma Mutlu Sarıgüzel**[®], Bedia Dinç*[®]

*Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

** Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Atf/Cite as: Evren K, Yardibi Demir HA, Mutlu Sarıgüzel F, Dinç B. Klinik örneklerden izole edilen *Streptococcus agalactiae* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):239-44.

Öz

Amaç: Sağlıklı yetişkinlerin bağırsak ve vajinal florasında kolonize olabilen Grup B streptokoklar (GBS), özellikle yenidoğanlarda menenjit ve sepsis, gebeler ve altta yatan hastalığı olan erişkinlerde yumuşak doku enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır. GBS enfeksiyonlarının tedavisinde ilk tercih penisilinlerdir. Ancak, son zamanlarda bildirilen azalmış penisilin duyarlılığı, alternatif ajanlara karşı artan direnç oranları ve penisilin allerjisi olan hastalar nedeniyle antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi tedaviye yön vermek açısından önemlidir. Bu çalışmada, laboratuvarımızda izole edilen GBS izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Ocak 2017-Haziran 2018 yılları arasında laboratuvarımıza gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 166 GBS izolatının antibiyotik duyarlılıkları değerlendirildi. Bakteri tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri konvansiyonel yöntemler ve VITEK® 2 (BioMérieux, Fransa) ile yapıldı. Antibiyotik duyarlılıkları European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi çalışıldı. Makrolidlere direnç saptanması durumunda çift disk sinerji yöntemi (D testi) ile direnç fenotipleri belirlendi.

Bulgular: Çalışmada, bütün GBS izolatları penisilin, vankomisin, tiğesiklin ve linezolid duyarlı bulundu. İzolatların nitrofurantoin, levofloksasin ve norfloksasine duyarlılıkları sırasıyla %94.5, %78.3 ve %77.7 olarak saptandı. Eritromisin ve klindamisin direnci sırasıyla %35.5 ve %30.7; iMLSB oranı %73 olarak saptandı.

Sonuç: Çalışmamızda, GBS izolatlarında penisilin direnci saptanmadı. Eritromisin, klindamisin ve levofloksasine karşı direnç oranları, bu ilaçların profilaksi ve tedavi için kullanıldığı durumlarda dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle klinikte kullanılacak ilaçların seçimine rehberlik etmek ve GBS direnç profilinin belirlenmesi için antibiyotik duyarlılık testleri önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: Grup B streptokok, antimikrobiyal duyarlılık, penisilin

ABSTRACT

Objective: Group B streptococci (GBS), which can colonize in the intestinal and vaginal flora of healthy adults, cause meningitis and sepsis in newborns, soft tissue infections and urinary tract infections in pregnant women and adults with underlying diseases. Penicillins are the first choice in the treatment of GBS infections. However, it is important to know the antibiotic sensitivities to manage the treatment due to recently reported decreased penicillin sensitivity, increased resistance to alternative agents and patients with penicillin allergy. In this study, we aimed to determine the antibiotic susceptibility profile of GBS strains isolated in our laboratory.

Method: Antibiotic susceptibilities of 166 GBS strains, isolated from various clinical samples sent to our laboratory between January 2017 and June 2018 were evaluated. Bacterial identification was performed using conventional methods and VITEK® 2 (BioMérieux, France) testing system. Antibiotic susceptibility was determined by disk diffusion method according to EUCAST criteria. In case of resistance to macrolides, double disc synergy method was used to determine resistance phenotypes.

Results: All GBS isolates were susceptible to penicillin, vancomycin, tigecycline and linezolid. The susceptibility levels to nitrofurantoin, levofloxacin and norfloxacin was 94.5%, 78.3% and 77.7%, respectively. Erythromycin and clindamycin resistance rates were 35.5% and 30.7%, respectively; iMLSB was detected as 73%.

Conclusion: In our study, penicillin resistance was not determined in GBS isolates. Resistance to erythromycin, clindamycin and levofloxacin suggests that caution should be exercised when using these drugs for prophylaxis and treatment. Thus, antibiotic susceptibility tests are recommended for the selection of drugs to be used in the clinic and to determine the resistance profile.

Keywords: Group B streptococcus, antimicrobial susceptibility, penicillin

Alındığı tarih / Received:

12.02.2021 / 12. February.2021

Kabul tarihi / Accepted:

25.02.2021 / 25. February.2021

Yayın tarihi / Publication date:

07.09.2021 / 07. September.2021

ORCID Kayıtları

K. Evren 0000-0002-2512-470X

H.A. Yardibi Demir 0000-0002-2451-7480

F. Mutlu Sarıgüzel 0000-0003-2747-0208

B. Dinç 0000-0001-8318-2556

✉ kubrademirevren@gmail.com

GİRİŞ

Grup B streptokoklar (*Streptococcus agalactiae*; GBS), sağlıklı yetişkinlerin %10-30'unun bağırsak ve vajinal florasında kolonize olabilen Gram pozitif kapsüllü bakterilerdir⁽¹⁾. *Streptococcus agalactiae*, yenidoğanlarda, gebe kadınlar ve altta yatan hastalığı olan erişkinlerde menenjit, sepsis, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve postpartum endometrit gibi önemli enfeksiyonlara neden olmaktadır⁽¹⁻³⁾. Diabetes mellitus, siroz ve immunsupresyon gibi durumlar invazif GBS enfeksiyonları için risk faktörüdür⁽²⁾. GBS'ler penisiline duyarlı olduğu için, GBS enfeksiyonlarının tedavisinde ilk tercih edilen ilaçlar penisilinlerdir^(1,4). Duyarlı olduğu diğer antibiyotikler ampisilin, vankomisin, teikoplanin, birinci, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinler, imipenem ve meropenemdir^(5,6). Penisilin alerjisi olan kişilerde klindamisin veya eritromisin ikinci seçenek ilaç olarak tercih edilir^(5,7). GBS'lerin, penisiline ve diğer betalaktamlara duyarlı olduğu bilinmekle birlikte, son yıllarda azalmış penisilin duyarlılığı da bildirilmiştir^(4,8,9). Bununla birlikte, penisilin alternatifi olarak tedavide kullanılan, özellikle makrolid, linkozamid ve florokinolonlara karşı direnç birçok ülkeden bildirilmiştir^(5,10). GBS'lerdeki klindamisin ve eritromisin direnci %15-32 oranında olup, bu oran giderek artmaktadır⁽¹¹⁾. Penisilin alerjisinin %0.7-10 oranında görülme sıklığının yanı sıra eritromisin ve klindamisine direnç göz önüne alındığında, kinolonlar GBS'lerin tedavisinde önemli alternatiflerdir⁽¹²⁾. *S. agalactiae*'da florokinolon direnci ilk defa 2003 yılında Japonya'dan bildirilmiştir⁽¹³⁾.

Bu nedenle GBSlerin neden olduğu enfeksiyonlarda ampirik antibiyotik tedavisi verilmeden önce antimikrobiyal duyarlılıkların bilinmesi tedaviye yön vermek açısından önemlidir^(12,14). Bu çalışmada, hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen GBS izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilinin belirlenmesi ve ampirik tedavi için seçeneklerin yine değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik

Kurulu tarafından 10.12.2020 tarih ve 12.2020/487 no'lu karar ile onaylanmıştır. Ocak 2017-Haziran 2018 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen farklı klinik örneklerden izole edilen 166 *S. agalactiae* izolatının antibiyotik duyarlılıkları değerlendirildi. Laboratuvarımıza gelen örneklerin %5 koyun kanlı agar ve Eosine Metilen Blue (EMB) agara (RTA, Türkiye) ekimleri yapıldı ve 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Morfolojik olarak şüpheli beta hemolitik, katalaz negatif koloniler basitrasin A (0.04 IU, BBL, Becton Dickinson, ABD), trimetoprim-sulfametoksazol (SXT, 23.75 µg/ml-1.25 µg/ml, BBL, Becton Dickinson, ABD) duyarlılıkları, CAMP testi pozitifliği, hippurat hidroliz testi ve Streptocard Enzyme latex (Becton Dickinson, ABD) aglütinasyon testi kullanılarak tanımlandı. *S. agalactiae* olarak tanımlanan izolatlar çalışma gününe kadar %15 gliserol içeren buyyonda -80°C'de dondurularak saklandı. Antibiyotik duyarlılığı ise European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi ile %5 at kanlı Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerinde çalışıldı. Makrolid grubu antibiyotiklere dirençli olduğu saptanan izolatların çift disk yöntemi (D testi) ile direnç fenotipleri belirlendi. Dirençli izolatlar, steril %0.9'luk NaCl içinde 0.5 McFarland standart bulanıklıkta süspansiyonu hazırlanarak, %5 at kanlı MHA besiyeri yüzeyine inoküle edildi ve üzerine merkezden merkeze 15 mm aralıklı olacak şekilde eritromisin (15 µg) (BBL, Becton Dickinson, ABD) ve klindamisin (2 µg) (BBL, Becton Dickinson, ABD) diskleri yerleştirildi. Eritromisin ve klindamisinin her ikisinde de inhibisyon zonu olmaması yapısal Makrolid-Linkozamid Streptogramin B (MLS_B) fenotipi; eritromisin diski etrafında inhibisyon zonu olmaması ve klindamisin inhibisyon zonunda iki disk arasında eritromisin diskine yakın olan kısımda düzleşme görülmesi indüklenebilir Makrolid-Linkozamid Streptogramin B (iMLS_B) fenotipi direnç; eritromisine direnç varken, klindamisine duyarlı saptanması ise Makrolid (M) fenotipi direnç olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamında, 123 idrar (%74), 38 vajen-serviks (%23), beş yara (%3) örneğinden olmak üzere

Tablo 1. Eritromisin dirençli izolatlarda direnç fenotipi.

Direnç fenotipi	izolat sayısı (%)
Yapısal MLSB direnci	8 (13.5)
M fenotipi direnç	8 (13.5)
iMLSB fenotipi direnç	43 (73)

Tablo 2. Eritromisin dirençli (EMR) izolatların örnek türüne göre dağılımı.

Örnek sayısı	EMR izolat sayısı n	D test pozitif izolat sayısı/ EMR izolat sayısı n (%)	D test negatif izolat sayısı/EMR izolat sayısı n (%)
Yara (n=5)	3	3/3 (100)	0/3 (0)
İdrar (n=123)	42	30/42 (71)	12/42 (29)
Vajen-serviks (n=38)	14	10/14 (71)	4/14 (29)
Toplam (N=166)	59	43/59 (73)	16/59 (27)

toplam 166 izolat değerlendirildi. Hastaların 156'sı (%94) kadın, 10'u (%6) erkekti. Örneklerin ikisi (%1.2) yoğun bakım ünitesinden, 9'u (%5.4) servislerden ve 155'i (%93.4) polikliniklerden laboratuvarımıza kabul edilen örneklerdi. Polikliniklere göre değerlendirme yapıldığında, örnekler en fazla kadın hastalıkları ve doğum polikliniğinden (n=87) olmak üzere sırasıyla üroloji (n=28) ve iç hastalıkları (n=19) polikliniklerinden geldi. İzolatların tümü penisilin, vankomisin, tigesiklin ve linezolid duyarlı bulundu. Nitrofurantoin, levofloksasin ve norfloksasin duyarlılığı sırasıyla 157 (%94.5), 130 (%78.3) ve 129 (%77.7) olarak saptandı. Çalışmaya alınan izolatların 59'u (%35.5) eritromisine dirençli bulunurken, bu izolatların sekizinde (%13.5) yapısal tipte MLSB fenotipi, sekizinde (%13.5) M fenotipi, 43'ünde (%73) iMLSB_B fenotipi belirlendi (Tablo 1, Tablo 2). D test pozitifliği saptanan izolatların üçü servislerden, biri anestezi yoğun bakımdan ve geri kalan 39'u poliklinik hastalarından alınan örnekler aitti. Levofloksasin dirençli izolatların 29'u (%80.5) idrar, altısı (%6) vajen-serviks, bir tanesi yara örneklerinden izole edildi.

TARTIŞMA

Grup B streptokoklar (GBS), kadınların %10-30'unda

normal vajinal ve alt gastrointestinal sistem florasında bulunur ve üriner sistemde asemptomatik bakteriüriden, piyelonefrit ve ürosepsis gibi ciddi tablolara kadar farklı sorunlara yol açabilir^(1,15). GBS'ler penisilinlere duyarlı kabul edilir ve penisilinler GBS enfeksiyonlarının hem profilaksisi hem de tedavisinde ilk basamak tedavi seçeneği olarak kullanılır. Ancak, son yıllarda penisilin toleransına bağlı tedavi başarısızlıklarının olduğu ve penisilin duyarlılığında azalma bildirilmekle birlikte^(4,8), bu çalışmada GBS penisiline dirençli izolat saptanmamıştır.

Makrolid grubu antibiyotikler, özellikle eritromisin, penisiline alerjisi olan hastalarda gelişen *S. agalactiae*'ya karşı tedavisi ve proflekside önemli bir terapötik ajanlardır^(3,7). Eritromisine karşı artan direnç özellikle GBS ile kolonize gebelerin profleksisi için ilaç seçiminde ve invazif GBS enfeksiyonlarının yönetiminde ikinci seçecek ilaçların yeniden gözden geçirilmesine ve alternatif ilaçların aranmasına yol açmıştır. Bu durum yalnızca M fenotipli suşların artması nedeniyle değil; klindamisin, transplasental bariyeri daha iyi geçerek fetüste daha yüksek seviyelere ulaşmasına da bağlıdır^(3,16). Çalışmamızda, ikinci basamak profilaksi ve tedavi seçeneği olan eritromisin ve klindamisin direnç oranları sırasıyla %35.5 ve %30.7; iMLSB_B oranı %73 olarak bulunmuştur. Dünyada makrolid grubu antibiyotiklere direnç oranları eritromisin için %7-45, klindamisin için %3-25; Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise sırasıyla %5-50 ve %5-23.7 olarak bildirilmiştir^(11,14,15,17-20). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, Atalay ve ark.⁽⁶⁾, 2011 yılında yaptıkları çalışmada klinik örneklerden izole edilen 131 GBS izolatını penisilin, seftriakson ve vankomisine karşı duyarlı saptamış; eritromisin ve klindamisine karşı sırasıyla %14.5 ve %13 oranında dirençli bulmuşlardır. Yenişehirli ve ark.⁽²⁰⁾, çalışmalarında, izolatların %24.5'ini eritromisine ve %19.4'ünü klindamisine dirençli olarak bildirmişlerdir⁽²⁰⁾. Çalışmamızdaki eritromisin direnci Savcı ve ark.nın⁽¹⁹⁾ bildirdiği (%50) orandan düşükken Türkiye'den bildirilen diğer oranlardan yüksektir. Kanada'da yapılan bir çalışmada, eritromisin ve klindamisin direnci çalışmamızla uyumlu olarak sırasıyla %36 ve %33 bildirilirken, Brezilya ve Latin Amerika'dan yapılan çalışmalarda, makrolid direnç oranları daha düşük bulunmuştur^(5,18,21,22). Bu

farklılıklar, çalışmamıza dahil edilen hastaların farklı polikliniklere başvuruda bulunmuş heterojen bir grupta yer almasına ve mikroorganizmanın izole edildiği vücut bölgesine bağlı olabilir.

Literatürde makrolid direncine yol açan gen bölgeleri *ermA*, *ermB* and *mefA* olarak bildirilmiştir^(5,7,14). Bu çalışmada, PCR yöntemi kullanılmadığından makrolid direnç genleri tanımlanamamış, ancak, direnç fenotiplerini tanımlamak için dirençli izolatlar üzerinde D testi yapılmıştır. İndüklenebilir direnç %73, yapısal direnç %13.5 ve M fenotipi %13.5 olarak bulunmuştur. Berg ve ark.nın prenatal tarama örneklerinden izole edilen 387 GBS izolatını inceledikleri çalışmalarında, eritromisin direnci %45.2 (n=175), indüklenebilir klindamisin direnci ise %17.7 (31/175) olarak bildirilmiştir. Bu oran saptadığımız iMLSB oranlarından çok daha düşüktür⁽¹⁴⁾. Çalışmamızdaki yüksek iMLS_B fenotipi rutin laboratuvar çalışmalarında, GBS'ler için D testi yapılmasının yararlı olabileceğini ve bu antibiyotiklerden herhangi birini kullanmadan önce her bir izolat için makrolid ve linkozamid duyarlılığını göz önünde bulundurmak gerektiğini göstermektedir.

Tüm dünya ve Türkiye'de yapılan çalışmalar göstermektedir ki penisilin alerjisi olan hastalarda GBS tedavisinde ikinci basamak tercih olan makrolidlere bildirilen artmış dirence ek olarak kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç de artan sıklıkla bildirilmektedir^(12,23). Çalışmamızda, levofloksasine karşı %21.7 ise oranında direnç saptanmıştır. Bu oran ABD ve genel olarak Avrupa'da bildirilen oranlardan daha yüksektir^(24,25). Çalışmamızdaki levofloksasin direnci Çin'de saptanan direnç oranından (%37.7) daha düşükken, Japonya'da (%18.4) bildirilen oranla benzerlik göstermektedir^(12,26). Avrupa ve Amerika kıtasında kinolonlara karşı düşük direnç oranları gözlemlenmesine rağmen^(10,24,27), hem klinik ve tarımsal amaçlarla hem de hayvan beslemelerinde yaygın olarak kinolonların sürekli ve geniş kullanımı GBS dahil olmak üzere birçok mikroorganizmada kinolonlara karşı direncin artmasına ve dirençli suşların seçilmesine katkıda bulunabilir^(10,23). Güney Kore ve Çin'de yapılan çalışmalarda idrar yolu örneklerinden izole edilen *S. agalactiae* izolatlarında siprofloksasin ve

levofloksasine direnç, hamile kadınlardan izole edilen kolonize suşlara göre daha yüksek oranda bildirilmiştir^(12,27). Benzer şekilde ülkemizde Baba ve ark.⁽¹⁵⁾ yakınması olan hastaların idrarlarından izole edilen GBS izolatlarında kinolon direncini kolonizasyonu olan gruptan daha yüksek saptamışlardır. Bu durum idrar yolu enfeksiyonu tedavisinde kinolon grubu antibiyotiklerin çok sık kullanılmasıyla ilişkilendirilmiştir⁽¹⁵⁾. Bizim çalışmamızda da levofloksasin direnç yüksekliği izolatların ağırlıklı olarak idrar yollarından izole edilmesine ve reçetesiz antibiyotik kullanımının yoğun olduğu dönemde idrar yolu yakınmalarında ilk seçenek olarak kinolon grubu antibiyotiklerin kullanılmış olmasına bağlı olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda, GBS'lerde penisilin direnci saptanmamıştır. Ancak, eritromisin, klindamisin ve levofloksasine karşı saptanmış direnç oranları, penisilin alerjisi olan hastalarda profilaksi ve tedavi için bu antimikrobiyal ajanların kullanılacağı durumlarda dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir. Klinikte kullanılacak ilaçların seçimine rehberlik etmek ve GBS kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde en çok kullanılan ilaçlara direnç profilini belirlemek ve değişiklikleri belirlemek için duyarlılık testlerinin yapılması önemlidir.

Etik Kurul Onayı: Araştırma, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından 10.12.2020 tarih ve 2020-12/487 no.lu karar ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Ankara Training and Research Hospital Ethics Committee (12.10.2020-2020-12/487).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Hays C, Louis M, Plainvert C, et al. Changing epidemiology of Group B *Streptococcus* susceptibility to fluoroquinolones and aminoglycosides in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(12):7424-30.

- <https://doi.org/10.1128/AAC.01374-16>
2. Wang YH, Chen HM, Yang YH, et al. Clinical and microbiological characteristics of recurrent group B streptococcal infection among non-pregnant adults. *Int J Infect Dis.* 2014;26:140-5.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.05.026>
 3. Aracil B, Minambres M, Oteo J, De La Rosa M, Gomez-Garcés JL, Alos AJ. Susceptibility of strains of *Streptococcus agalactiae* to macrolides and lincosamides, phenotype patterns and resistance genes. *Clin Microbiol Infect.* 2002;8(11):745-8.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2002.00450.x>
 4. Kimura K, Suzuki S, Wachino J, et al. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(8):2890-7.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00185-08>
 5. Nakamura PA, Schuab RB, Neves FP, Pereira CF, Paula GR, Barros RR. Antimicrobial resistance profiles and genetic characterisation of macrolide resistant isolates of *Streptococcus agalactiae*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011;106(2):119-22.
<https://doi.org/10.1590/s0074-02762011000200001>
 6. Atalay A, Olcu M, Perçin D. Antibiotic susceptibilities and serotyping of clinical *Streptococcus agalactiae* isolates. *Balkan Med J.* 2010;28:362-5.
<https://doi.org/10.5174/tutfd.2010.03979.2>
 7. Otaguiri ES, Morguette AEB, Morey AT, et al. Development of a melting-curve based multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of *Streptococcus agalactiae* and genes encoding resistance to macrolides and lincosamides. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2018;18(1):126.
<https://doi.org/10.1186/s12884-018-1774-5>
 8. Longtin J, Vermeiren C, Shahinas D, et al. Novel mutations in a patient isolate of *Streptococcus agalactiae* with reduced penicillin susceptibility emerging after long-term oral suppressive therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(6):2983-5.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01243-10>
 9. van der Linden M, Mamede R, Levina N, et al. Heterogeneity of penicillin-non-susceptible group B streptococci isolated from a single patient in Germany. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(2):296-9.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkz465>
 10. Barros RR, Kegele FC, Paula GR, Brito MA, Duarte RS. Molecular characterization of the first fluoroquinolone resistant strains of *Streptococcus agalactiae* isolated in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2012;16(5):476-8.
<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.05.003>
 11. Barros RR, de Souza AF, Luiz FBO. Polyclonal spread of *Streptococcus agalactiae* resistant to clindamycin among pregnant women in Brazil. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(7):2054-6.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkw085>
 12. Wang H, Zhao C, He W, et al. High prevalence of fluoroquinolone-resistant group B streptococci among clinical isolates in China and predominance of sequence type 19 with serotype III. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(3):1538-41.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02317-12>
 13. Kawamura Y, Fujiwara H, Mishima N, et al. First *Streptococcus agalactiae* isolates highly resistant to quinolones, with point mutations in *gyrA* and *parC*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(11):3605-9.
<https://doi.org/10.1128/aac.47.11.3605-3609.2003>
 14. Berg BR, Houseman JL, terSteege ZE, LeBar WD, Newton DW. Antimicrobial susceptibilities of group B streptococcus isolates from prenatal screening samples. *J Clin Microbiol.* 2014;52(9):3499-500.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01781-14>
 15. Baba S, Aydın MD. İdrar örneklerinden izole edilen Grup B streptokokların serotip dağılımı, biyofilm üretimi ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2016;50(3):353-60.
<https://doi.org/10.5578/mb.26466>
 16. Leszczynski P, Sokol-Leszczynska B, Pietrzak B, Sawicka-Grzelak A, Wielgos M. Erythromycin or clindamycin - is it still an empirical therapy against *Streptococcus agalactiae* in patients allergic to penicillin? *Pol J Microbiol.* 2017;66(2):265-8.
<https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.7878>
 17. de Azavedo JC, McGavin M, Duncan C, Low DE, McGeer A. Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in invasive and noninvasive group B streptococcus isolates from Ontario, Canada. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(12):3504-8.
<https://doi.org/10.1128/AAC.45.12.3504-3508.2001>
 18. Teatero S, Ferrieri P, Martin I, Demczuk W, McGeer A, Fittipaldi N. Serotype distribution, population structure, and antimicrobial resistance of Group B *Streptococcus strains* recovered from colonized pregnant women. *J Clin Microbiol.* 2017;55(2):412-22.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01615-16>
 19. Savcı Ü, Toprak S, Sungur M. *Streptococcus agalactiae* suşarının antimikrobiyal direnç paterni: beş yıllık tek merkez değerlendirmesi. *J Health Sci Med.* 2018;1(2):25-9.
<https://doi.org/10.32322/jhsm.425661>
 20. Yenisehirli G, Bulut Y, Demirturk F, Caliskan AC. Gebe kadınlardan izole edilen *Streptococcus agalactiae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları ve serotip dağılımı. *Mikrobiyol Bul.* 2006;40(3):155-60.
 21. Dutra VG, Alves VM, Olendzki AN, et al. *Streptococcus agalactiae* in Brazil: serotype distribution, virulence determinants and antimicrobial susceptibility. *BMC*

- Infect Dis. 2014;14:323.
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-323>
22. Melo SC, Santos NC, Oliveira M, et al. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2016;58:83.
<https://doi.org/10.1590/S1678-9946201658083>
23. Lee WT, Lai MC. High prevalence of *Streptococcus agalactiae* from vaginas of women in Taiwan and its mechanisms of macrolide and quinolone resistance. J Microbiol Immunol Infect. 2015;48(5):510-6.
<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.03.002>
24. Piccinelli G, Gargiulo F, Corbellini S, et al. Emergence of the first levofloxacin-resistant strains of *Streptococcus agalactiae* isolated in Italy. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(4):2466-9.
<https://doi.org/10.1128/AAC.05127-14>
25. Biedenbach DJ, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN. Characterization of fluoroquinolone-resistant beta-hemolytic *Streptococcus* spp. isolated in North America and Europe including the first report of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis*: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). Diagn Microbiol Infect Dis. 2006;55(2):119-27.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.12.006>
26. Ueno H, Yamamoto Y, Yamamichi A, Kikuchi K, Kobori S, Miyazaki M. Characterization of Group B *Streptococcus* isolated from women in Saitama city, Japan. Jpn J Infect Dis. 2012;65(6):516-21.
<https://doi.org/10.7883/yoken.65.516>
27. Ki M, Srinivasan U, Oh KY, et al. Emerging fluoroquinolone resistance in *Streptococcus agalactiae* in South Korea. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012;31(11):3199-205.
<https://doi.org/10.1007/s10096-012-1685-8>

Aromaterapötik Gül Uçucu Yağının Bakteriyel Quorum Sensing ve Biyofilm Üretimine Karşı İnhibisyon Etkileri[§]

Inhibitory Effects of Aromatherapeutic Rose Essential Oil Against Bacterial Quorum Sensing and Biofilm Formation

Elif Burcu Bali*[Ⓧ], Demet Erdönmez**[Ⓧ], Mustafa Yavuz***[Ⓧ], Ufuk Koca****[Ⓧ]

* Gazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Ankara, Türkiye

** Aksaray Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aksaray, Türkiye

*** İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, İstanbul, Türkiye

**** Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognози Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Atf/Cite as: Bali EB, Erdönmez D, Yavuz M, Koca U. Aromaterapötik gül uçucu yağının bakteriyel quorum sensing ve biyofilm üretimine karşı inhibisyon etkileri. Türk Mikrobiyol Cemiyet Derg. 2021;51(3):245-53.

Öz

Amaç: Quorum sensing (QS), bakterilerin belli bir yoğunlukta hücreler arası sinyal molekülleri üretip bu sinyalleri algılayarak haberleşmelerini sağlayan kimyasal bir iletişim mekanizmasıdır. Bu çalışmada, ülkemizde aromaterapötik *Rosa damascena* Mill. (gül) uçucu yağının (AGUY) QS mekanizmasına ve insan patojeni mikroorganizmaların biyofilm üretimine karşı inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırmada, AGUY'nin tüm mikroorganizmalara karşı minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. AGUY'nin QS inhibisyon etkileri *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 (CV12472) biyosensör suşunda agar kuyucuk difüzyon ve violasin pigment üretimi yöntemleriyle saptanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşunda ise bakterinin biyofilm üretimi, swarming (kayma) ve swimming (yüzme) hareket yetenekleri test edilmiştir.

Bulgular: AGUY'nin mikroorganizmalar üzerinde MİK değerleri %0.0125-0.1 v/v aralığında belirlenmiştir. Çalışmada, AGUY'nin (sub-MİK:%0.01 v/v), CV12472 suşunda violasin üretimini yüksek oranda (%98.04±1.40, p<0.05) azalttığı saptanmıştır. AGUY (sub-MİK: %0,2 v/v), PAO1 suşunda ise biyofilm oluşumunu güçlü oranda (%93.07±1.90, p<0.05) inhibe ederek, bakterinin swarming (%44.88±0.54-%88.05±0.67) ve swimming (%47.60±0.06-%85.48±0.10) hareket yeteneklerini doz artışına bağlı (%0.0125-0.2 v/v) engellediği bulunmuştur (p<0.05). Çalışmada ayrıca, AGUY çoğu Gram pozitif (%32.15±0.20-%52.40±1.30) ve Gram negatif (%32.01±1.65-%61.00±0.84) bakterilerinin biyofilm oluşumunu inhibe etmiştir (p<0.05).

Sonuç: Bu araştırma, AGUY'nin anti-mikrobiyal, anti-biyofilm ve anti-QS ajan olarak kullanımının gelecek için ümit verici potansiyelini göstermektedir. Araştırmada kullanılan AGUY'nin, insan patojeni mikroorganizmalarda biyofilm inhibisyon etkileri bildiğimiz kadarıyla bu çalışmada detaylı olarak ilk kez belirlenmiş olup, araştırma ülkemiz için AGUY üretimini ve kullanımının son derece gerekli ve önemli olduğunu ve ülkemizde yetiştirilen doğal ürünlere yönelik anti-QS ve anti-biyofilm gibi biyolojik aktivite çalışmalarının daha detaylı araştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Aromaterapötik gül uçucu yağı, quorum sensing, biyofilm

ABSTRACT

Objective: Quorum sensing (QS) is a chemical communication mechanism that allows bacteria to produce intercellular signal molecules in a certain density. In this study, it was aimed to detect the inhibition effects of aromatherapeutic *Rosa damascena* Mill. (Rose) essential oil (AREO) against QS mechanism and biofilm production of human pathogenic microorganisms.

Method: In the study, minimum inhibition concentration (MIC) values of AREO were determined by the microdilution method. The QS inhibition effects of the AREO were determined in *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 by agar well diffusion and violacein pigment production. The biofilm formation, swarm and swim motilities of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 strain were also tested.

Results: The MIC values of AREO were found to be in the range of 0.0125-0.1% v/v. AREO (sub-MIC: 0.01% v/v) significantly decreased (98.04±1.40, p<0.05) the violacein production. AREO (sub-MIC: 0.2% v/v) strongly inhibited biofilm formation in PAO1 (93.07±1.90, p<0.05), and significantly (p<0.05) hindered the swarm (44.88±0.54-88.05±0.67) and swim (47.60±0.06-85.48±0.10) motilities of PAO1 according to the concentration ranges (0.0125-0.2% v/v). Additionally, AREO significantly (p<0.05) inhibited the biofilm formation of gram-positive (32.15±0.20-52.40±1.30) and gram-negative (32.01±1.65-61.00±0.84) acteria.

Conclusion: This study reveals the promising potential of AREO used as anti-microbial, anti-biofilm and anti-QS agents in the future. To the best of our knowledge, the biofilm inhibition effects of AREO in human pathogenic microorganisms have been studied in detail for the first time, and this work clearly reveals that the production and use of AREO is extremely necessary and important for Turkey. Therefore, the anti-QS and anti-biofilm activity research about natural compounds should be worked in detail.

Keywords: Aromatherapeutic rose essential oil, quorum sensing, biofilm

Alındığı tarih / Received:
17.10.2020 / 17.October.2020

Kabul tarihi / Accepted:
11.03.2021 / 11.March.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kayıtları

E.B. Bali 0000-0002-5216-7588
D. Erdönmez 0000-0002-5331-2206
M. Yavuz 0000-0002-7797-8459
U. Koca 0000-0002-5216-7588

✉ ukoca@gazi.edu.tr

[§] Bu çalışmanın bir bölümü, III. Fitovizyon Doğal Yaşam ve Sağlık Ürünleri-Fitoterapi, Aromaterapi ve Kozmetikte Yenilikler Kongresi'nde (22-24 Kasım 2019, WOW Convention Center, İstanbul) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Gül (*Rosa species*) dünyada 200'den fazla türü ve 18.000 çeşidi ile *Rosaceae* familyasına ait tıbbi ve peyzaj bitkisidir. *Rosa damascena* Mill. (Şam gülü) koku, lezzet ve tıbbi özelliklerinden dolayı özellikle Türkiye ve Bulgaristan'da yüksek kalitede yetiştirilmektedir^(1,2). Tüm dünyada, gül uçucu yağının Bulgaristan'dan sonra ikinci üreticisi Türkiye olup, Isparta ekonomik olarak en önemli üretici merkezidir. Isparta'da 36'dan fazla farklı çeşidi bulunan gül ve farklı ürünleri gıda, kozmetik ve tıbbi alanlarda kullanılmaktadır⁽³⁾. Gül yağı geleneksel tıpta stres, ağrı, üzüntü, depresyon, gerginlik, menstrual bozukluklar, jinekolojik hastalıklar, cinsel işlev bozukluğu gibi durumlarda, yara iyileşmesinde, sindirim sistemi hastalıklarında ve aromaterapide kalp ve solunum hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca birçok modern parfüm ve kozmetik ürünlerinin temel bileşeni olarak parfüm ve kozmetik endüstrisinde yaygın kullanıma sahiptir⁽⁴⁻⁷⁾. Yapılan çalışmalarda, gül yağının temel bileşenlerini feniletik alkol, sitrenolol, nonadekan, geraniol, transgeraniol, etanol, nerol, heneikosan ve kaempferol türevlerinin oluşturduğu belirlenmiştir^(8,9). Ayrıca geleneksel ve modern tıpta yaygın olarak kullanılan gül uçucu yağı, yüksek frekansı ve biyoaktivitesinden sorumlu farklı monoterpenoidler ve seskiterpenoidlerin son derece zengin bir kaynağı oluşturmaktadır⁽¹⁰⁾.

Gül yağı ile ilgili yapılmış olan çalışmalarda, bu yağın antioksidan, laksatif, anksiyolitik, anti-spazmodik, anti-tussif, anti-depresan, anti-diyabetik, anti-kanser, anti-kolvülisan, anti-mikrobiyal, anti-septik, anti-HIV gibi birçok farmakolojik özelliği ve güncel bir *in vivo* araştırmada ise gül yağından hazırlanan gargara ve jelin analjezik ve anti-inflamatuvar özelliklere de sahip olduğu gösterilmiştir^(1,9,11,12). Bu çalışmalarla birlikte, son on yıldır yapılmış olan araştırmaların içinde gül yağının bakteriyel enfeksiyonları önlemede bakteriyel iletişim mekanizmasını engellediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Bakterilerde hücre-hücre iletişimi sinyal molekülleri aracılığıyla sağlanmaktadır. Bakteri sayısı arttıkça hücre dışına salınan sinyal moleküllerinin sayısı da

artmakta ve bu artış algılanabilmektedir. Bakterilerin, belli bir yoğunlukta bu sinyalleri algılayarak çeşitli davranışlar sergilemesi "çoğunluğu algılama" veya "Quorum-sensing (QS)" olarak adlandırılmaktadır. QS mekanizması ile bakteriler kendi çevresini izlemekte, popülasyon yoğunluğu hakkında bilgi almakta ve bu bilgileri yeri gelince gen ifadesini düzenlemede kullanılmaktadırlar. QS, global bir düzenleyici olarak bakterilere gen transfer yeteneğini arttırmakta ve bakterilerde biyofilm oluşumu, pilus biyogenez, çeşitli çoklu virülans faktörlerin üretimi veya konak hücreleri parçalayan enzimlerin sentezi, antibiyotik direnç gelişimi gibi kritik bazı fizyolojik fonksiyonların kontrolünü sağlamaktadır⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

Patojenik bakterilerin patojenite ve virülans faktörlerinin üretimini QS mekanizmasıyla düzenlediklerinin keşfi, bu mekanizmayı enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için cazip bir hedef durumuna getirmiştir. Bakterileri öldürmek yerine patogenezi hedef almak, sentetiklerin yanı sıra doğal bileşikler de içeren bakteriyel iletişim inhibitörleri kullanarak QS mekanizmasını bloke etmek, bakteriyel direnç sorunları ve bakteriyel enfeksiyonlarla savaşmada büyük bir umut kaynağı olarak görülmektedir⁽¹⁹⁾. QS mekanizmasını bloke eden doğal bir bileşik olarak rapor edilen gül uçucu yağının içeriğinde monoterpen alkoller (sitronellol, geraniol, nerol) ve parafinik hidrokarbonlar (nonadesan, 9-nonadesan) yüksek oranda bulunan aktif bileşenler olup, bu bileşenlerin QS mekanizmasının inhibisyonunda önemli bir rolü olabilir⁽¹⁴⁾.

Bu çalışmada, *Rosa damascena* Mill. (gül) yağının *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 ve *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biyosensör suşlarına karşı anti-QS ve 14 adet insan patojeni mikroorganizmaya karşı anti-biyofilm etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Literatürde gül yağının farmakolojik özelliklerini gösteren birçok çalışma olmasına rağmen, bildiğimiz kadarıyla bu çalışma bu yağın insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olan ve çoklu direnç gösteren mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisine ilaveten, QS ve QS ile ilişkili olan biyofilm inhibisyon etkilerini gösteren ilk detaylı araştırmadır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Aromaterapötik gül uçucu yağı ve saklama koşulları:

Bu araştırmada kullanılan aromaterapötik gül uçucu yağı (Rosense) ticari olarak satın alınmış olup, deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de korunmuştur.

Mikroorganizmalar ve kültür koşulları: Çalışmada, aromaterapötik gül uçucu yağının anti-mikrobiyal ve anti-biyofilm etkilerini belirlemek için sekiz adet Gam negatif bakteri; *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Klebsiella oxytoca* (ATCC 43165), *Proteus mirabilis* (ATCC 7002), *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14074), *Serratia marcescens* (ATCC 27117); 5 adet gram pozitif bakteri: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Micrococcus luteus* (ATCC 7468), *Bacillus cereus* (ATCC 6633), *Staphylococcus epidermidis* wt ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve bir adet maya; *Candida albicans* (ATCC10231) kullanılmıştır. Bakteri suşları 37°C'de 24-48 saat Brain Heart Infusion (BHI) broth ve agar (BHA) besiyerlerinde, *C. albicans* fungusu ise Sabouraud Dextrose Broth (SDB) ve agar (SDA) besiyerlerinde 30°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılarak üretilmiştir. Aromaterapötik gül uçucu yağının anti-QS etkisinin belirlenmesinde ise *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 (CV12472) ve *P. aeruginosa* PAO1 suşları kullanılmıştır. CV12472 suşu 30°C'de, *P. aeruginosa* PAO1 ise 37°C'de Luria Bertani (LB) broth veya LB agarda 24-48 saat üretilmiştir. Mikroorganizmaların kültür bulanıklıkları Mc Farland 0.5'e (10^8 cfu/ml) ayarlanarak tüm deneyler yapılmıştır.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) yöntemi:

Çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki aromaterapötik gül uçucu yağının minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi için mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır⁽²⁰⁾. Yağ, steril 96 kuyucuklu mikropalakalara 100 µl Brain Heart Infusion (BHI) Broth ile 1/2 seyreltilerek konulmuş ve mikroorganizmalar her bir kuyucuğa 5 µl mikroorganizma + 95 µl BHI olarak ilave edilmiştir. Kuyucuklardaki son hacim 200 µl olarak ayarlanarak 37°C'de 24 saat inkübasyona

birakılmıştır. İnkübasyon sonrası mikropalakalar mikropalate okuyucuda (Chromate 4300, ABD) kontrole göre 600 nm'de ölçülmüştür. Deneyde pozitif kontrol için gentamisin ve vankomisin antibiyotikleri, amfoterisin B antifungal ajanı kullanılmıştır.

Aromaterapötik Gül Yağının QS İnhibisyon Etkileri

Agar kuyucuk difüzyon testi: 10 mL Luria Bertani (LB) agar besiyerine, 100 µL CV12472 suşu eklenmiştir. Katılaştıran yumuşak Luria Bertani (LB) agar besiyerine steril delgeç yardımıyla 6 mm çapında açılan kuyucuklara DMSO ile 1/8 dilue edilerek hazırlanmış 20 µl gül yağı, %0.01 v/v sub-MİK konsantrasyonda bırakılmış ve bakteri 30°C etüvde 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda, kuyucukların etrafında oluşan opak zonlar QS inhibisyon etkisi olarak değerlendirilip zonlar milimetrik olarak ölçülmüştür^(21,22).

Viyolasin pigment üretiminin inhibisyon testi:

Sıvı kültürden viyolasin pigment üretiminin inhibisyon testi, viyolasin pigment ekstraksiyonu yöntemine göre yapılmıştır⁽²³⁾. On beş saatlik CV12472 suşu 20 ml Luria Bertani (LB) besiyerindeki taze kültürden 10 µL alınarak 1 mL LB besiyerine inoküle edilmiştir. Kontrol grubuna yalnızca bakteri, test grubuna ise %0.01 v/v sub-MİK konsantrasyon olacak şekilde 20 µl yağ eklenerek, tüpler 30°C'de 24-48 saat çalkalanmalı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında her bir tüpten 200 µl kültür alınıp, 1.5 ml endorf tüpe aktarılmıştır. Hücrenin parçalanması için üzerine 200 µl %10 SDS çözeltisi eklenip, tüpler 5 dakika boyunca vortekslenildikten sonra 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Viyolasin pigmenti izolasyonu için suyla doyurulmuş olan bütanol 900 µl (50 ml n-bütanol + 10 ml distile su) olarak tüpe eklenmiş ve 5 saniye vortekslenmiştir. Daha sonra 10 000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üstteki faz küvete aktarılarak 585 nanometrede Genesys™10S UV-Vis spektrofotometrede (Thermo Fisher Scientific) okunup % viyolasin inhibisyon miktarı hesaplanmıştır.

Swarming ve swimming (Kayma ve yüzme) hareketi

inhibisyon testi: Aromaterapötik gül uçucu yağının *P. aeruginosa* PAO1 suşunun swimming (yüzme) ve swarming (kayma) hareketlerine karşı inhibisyon

etkileri literatüre uygun olarak test edilmiştir⁽²⁴⁾. Swimming testi için, bir gecelik aktif PAO1 (10^8 cfu/ml) kültürden 3 µl alınarak %0.0125-%0.2 (v/v) sub-MİK konsantrasyonlarda gül yağı içeren swimming agar (% 1 tripton, % 0.5 NaCl ve % 0.3 agar) petrilere nokta ekim yapılmıştır. Swarming testi için ise, aynı koşullardaki bir gecelik aktif PAO1 kültüründen 5 µl alınarak aynı konsantrasyonlarda yağ içeren swarming agar (%1 pepton, %0.5 NaCl, % 0.5 D-glikoz ve % 0.5 agar) petrilere nokta ekim yapılmıştır. Petrilere ters çevrilmeden 37°C'de 16 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda koloni çapları milimetrik olarak ölçülmüştür.

Aromaterapötik gül uçucu yağının biyofilm inhibisyon etkileri: Aromaterapötik gül uçucu yağının patojen mikroorganizmalar için inhibisyon etkileri literatüre uygun olarak belirlenmiştir⁽²⁵⁾. Yirmi dört kuyucuklu polistren plaklara kontrol ve %0.2-%0.0125 (v/v) sub-MİK konsantrasyonlarda hazırlanmış gül yağı eklenmiştir. Uygun besiyerine (10^8 cfu/ml) ekilmiş mikroorganizmalar 200 rpm'de çalkalamalı etüvde 30°C veya 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından 24 kuyucuklu polistren plakların her bir kuyucuğuna 900 µl besiyeri +100 µl mikroorganizma eklenmiştir. 30°C veya 37°C'de kültürler yine 48 saat inkübe edilmiştir. Kültürler üretildikten sonra plaklardan besiyerleri alınarak her bir kuyucuk üç kez 1X PBS tamponu ile yıkanmıştır. Daha sonra bu plaklar 65°C'ye ayarlanan etüvde

kurutularak, plaklar %1 kristal viyole çözeltisi ile iki dakika süreyle boyanmıştır. Sonrasında kuyucuklar distile su ile üç kez yıkanmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Yüzde 30'luk asetik asit çözeltisi ile çözülen kuyucuklardaki kristal viyole çözeltisi 595 nm spektrofotometrede kontrole karşı ölçülmüştür.

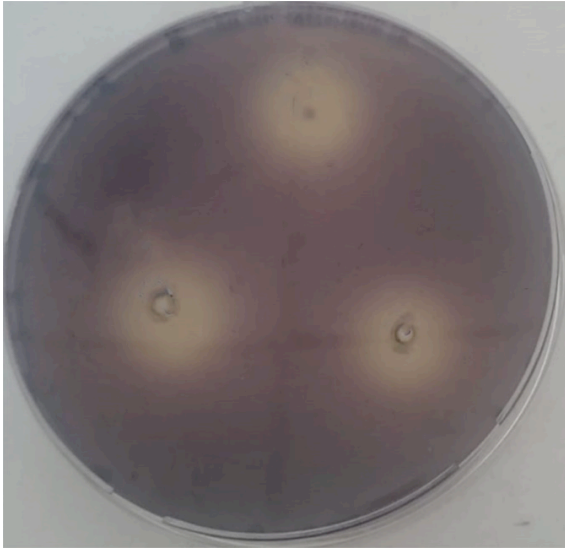
İstatistiksel analizler: Çalışmada uygulanan tüm testler en az üç yine yapılmış olup, deney sonuçları, üç tekrarın ortalama \pm standart sapması (SD) olarak belirtilmiştir. Analizler için SPSS (Program 11.0) paketi kullanılarak, veriler tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Kontrole göre * $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) sonuçları: Araştırmada, aromaterapötik gül uçucu yağının biyosensör suşlar ve patojen mikroorganizmalara karşı QS ve biyofilm inhibisyon etkilerini belirlemek için öncelikle yağın mikroorganizmalar üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri saptanmıştır (Tablo 1). Aromaterapötik yağın tüm mikroorganizmalar üzerinde MİK değerleri %0.0125-0.4 v/v aralığında olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, pozitif kontrol olarak Gram pozitif ve negatif bakteriler için gentamisin ve vankomisin antibiyotikleri,

Tablo 1. Aromaterapötik gül yağının patojen mikroorganizmalar ve biyosensör suşlara karşı MİK değerleri.

Patojen Mikroorganizmalar ve Biyosensör Suşlar/ MİK Değerleri	Gül Yağı (v/v)	Gentamisin (µg/ml)	Vankomisin (µg/ml)	Amfoterisin B (µg/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	0.1	8	-	-
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	0.1	0.25	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> (ATCC 19606)	0.05	16	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	0.0125	0.5	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i> (ATCC 43165)	0.025	0.5	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 7002)	0.0125	1	-	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium (ATCC 14074)	0.1	1	-	-
<i>Serratia marcescens</i> (ATCC 27117)	0.1	0.5	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	0.1	-	16	-
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 7468)	0.05	-	16	-
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 6633)	0.05	-	1	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> wt	0.05	-	4	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	0.1	-	1	-
<i>Candida albicans</i> (ATCC10231)	0.05	-	-	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	0.4	8	-	-
<i>Chromobacterium violaceum</i> (ATCC 12472)	0.025	16	-	-



Şekil 1. Aromaterapötik gül uçucu yağının *Chromobacterium violaceum* 12.472 suşunda oluşturduğu üç tekrarlı viyolasin inhibisyon zonları (mm).

C. albicans mayası için de antifungal olarak amfoterisin B kullanılmıştır. Aromaterapötik gül yağına en duyarlı patojenlerin %0.0125 ve %0.025 MİK değerleriyle *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *C. violaceum* ve *P. mirabilis*, türleri olduğu saptanmıştır (Tablo 1). Aromaterapötik gül yağına daha yüksek MİK değeri (%0.4 ve %0.1) saptanan türlerin ise *Pseudomonas*,

E. coli, *S. Typhimurium*, *S. marcescens*, *E. fecalis* ve *S. aureus* türleri olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Gül yağının QS ve biyofilm inhibisyon etkilerinin belirlenmesi için MİK altındaki (sub-MİK) dozları mikroorganizmalar üzerine uygulanmıştır.

Aromaterapötik Gül Uçucu Yağının *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Suşu Üzerine QS İnhibisyon Etkileri Swarming ve swimming hareketi İnhibisyonu: *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşunun swarming (kayma) ve swimming (yüzme) hareketleri QS mekanizmasıyla düzenlenmekte olup, aromaterapötik gül uçucu yağının swarming ve swimming hareketi inhibisyon sonuçları Tablo 2 ve Tablo 3'te gösterilmiştir. PAO1 için aromaterapötik gül yağının sub-MİK dozlarındaki (%0.0125-%0.2) swarming ve swimming hareketi inhibisyon etkileri bakılmış olup, doz artışına bağlı olarak gül yağının bakterinin swarming ve swimming hareketlerini engelleyerek, inhibisyon oranını anlamlı bir şekilde ($p<0.05$) %43.51±0.54'ten 88.050±0.67'ye yükselttiği ve aynı şekilde swimming hareketindeki inhibisyon oranının da %47.60±0.06'dan %85.48±0.10'a anlamlı olarak ($p<0.05$) arttığı saptanmıştır (Tablo 2 ve Tablo 3). Çalışmada, PAO1 suşunun swarming ve swimming hareketlerindeki inhibis-

Tablo 2. Aromaterapötik gül uçucu yağının *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biyosensör suşunun swarm (kayma) hareketi üzerinde inhibisyon etkisi.

Gül Yağı (v/v)	Swarming Hareketi Zon Çapı (mm)	Swarming Hareketi İnhibisyonu (%)	Hücre Canlılığı (Log CFU/ml)
Kontrol	62.25±1.75	0	8.26
0.0125	35.16±0.92*	43.51±0.54*	8.32
0.025	32.62±0.74*	47.60±0.58*	8.18
0.05	31.41±1.47*	50.54±0.16*	8.43
0.1	15.12±1.03*	75.71±0.41*	8.30
0.2	7.50±0.57*	88.05±0.67*	8.25

CFU: Koloni oluşturan unite (Colony Forming Unit), * $p<0.05$

Tablo 3. Aromaterapötik gül uçucu yağının *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biyosensör suşunun swim (yüzme) hareketi üzerinde inhibisyon etkisi.

Gül Yağı (v/v)	Swarming Hareketi Zon Çapı (mm)	Swarming Hareketi İnhibisyonu (%)	Hücre Canlılığı (Log CFU/ml)
Kontrol	69.06±0.02	0	8.42
0.0125	36.13±0.08*	47.60±0.06*	8.38
0.025	35.42±0.20*	48.63±0.07*	8.24
0.05	28.24±0.04*	59.04±0.02*	8.36
0.1	17.84±0.06*	74.12±0.03*	8.21
0.2	10.01±0.25*	85.48±0.10*	8.27

CFU: Koloni oluşturan unite (Colony Forming Unit), * $p<0.05$

Tablo 4. Aromaterapötik gül yağının patojen mikroorganizmalara karşı % biyofilm inhibisyon etkileri (*p<0.05).

İnsan Patojen Mikroorganizmalar	Biyofilm İnhibisyonu (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	93.07±1.90*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	60.89±0.84*
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	50.64±1.42*
<i>Acinetobacter baumannii</i> (ATCC 19606)	2.88±0.80
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	2.44±0.53
<i>Klebsiella oxytoca</i> (ATCC 43165)	3.01±0.21
<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 7002)	46.73±1.26*
<i>Salmonella Typhimurium</i> (ATCC 14074)	-
<i>Serratia marcescens</i> (ATCC 27117)	32.01±1.65*
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	5.85±0.55
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 7468)	52.40±1.30*
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 6633)	10.74±0.42
<i>Staphylococcus epidermidis</i> wt	50.36±0.52*
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	32.15±0.20*
<i>Candida albicans</i> (ATCC10231)	48.31±2.05*

yonlarının artışına bağlı olarak, hareket yetenekleri kısıtlandığından oluşan zon çapları da aromaterapötik gül yağının doz artışına bağlı olarak azalmıştır. Gül yağı sub-MİK dozlarda PAO1 suşunun hareket yeteneklerini inhibe etmiş (p<0.05), ama bakteri hücre canlılığını değiştirmemiştir (Tablo 2 ve Tablo 3).

Aromaterapötik gül uçucu yağının patojen mikroorganizmalara karşı biyofilm inhibisyon etkileri: Çalışmada, sub-MİK dozlardaki aromaterapötik gül uçucu yağının *K. oxytoca*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *S. Typhimurium* ve *B. cereus* bakterilerine karşı anlamlı bir etkisi saptanamamıştır (p>0.05) (Tablo 3). Buna karşı, gül yağının *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. Typhimurium*, *S. marcescens*, *M. luteus*, *S. epidermidis* wt ve *S. aureus* bakterilerinde biyofilm üretimini anlamlı oranda (p<0.05) inhibe ettiği (%32.15±0.20-%60.89±0.84) saptanmıştır (Tablo 3). Gül yağının Gram pozitif bakterilerde %32.15±0.20-%52.40±1.30, Gram negatif bakterilerde ve *C. albicans* (ATCC10231) mayasında ise %32.01±1.65-%60.89±0.84 aralığında anlamlı olarak (p<0.05) biyofilm inhibisyon etkisi belirlenmiştir (Tablo 4). Biyofilm üretimi QS mekanizması ile gerçekleşen *P. aeruginosa* PAO1 suşunda ise gül yağının en yüksek biyofilm inhibisyon etkisi (%93.07±1.90; p<0.05) sahip olduğu saptanmıştır.

TARTIŞMA

Aromaterapide çoğunlukla kaygı, menstrual ve ame-

liyat sonrası ağrı giderimi, hastalarda rahatlık ve memnuniyet duygularının artışının sağlanması için uygulanan gül uçucu yağı, içeriğindeki ana komponentler olan geraniol ve sitronellol bileşikleri sayesinde çoklu biyo-farmakolojik aktivite gösteren yüksek frekanslı bir yağdır^(2,11). Bu yağ geniş spektrumlu antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahiptir⁽²⁶⁻²⁸⁾. Ulusoy ve ark.⁽²⁹⁾ gülün absolut ve uçucu yağının yüksek oranda fenolik madde içerdiğini ve uçucu yağın absolut yağdan daha güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiğini MİK yönteminde saptamışlardır. Gül yağının %4 (v/v)'ten %0.03 (v/v) kadar yarı yarıya dilue etmişler ve uçucu yağın *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. violaceum* ATCC 12472 için MİK değerlerinin %0.25 v/v ile >%4 v/v arasında olduğunu belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise, aynı bakteri suşlarına karşı gül yağının MİK değerleri %0.025 v/v ile %0.1 v/v arasında belirlenmiş olup, bu çalışmaya kıyasla gül yağının bakterilere karşı daha yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bunun nedeni çalışmada kullanılan gül yağının içeriğindeki etken bileşikler olabilir.

Gül (*R. damascena* Mill.) yağının en önemli bileşenlerini sitronellol, geraniol, nerol ve linalool gibi mono-terpenik alkoller, nonadesan, heneikosan, 9-nonadesan ve eikosan gibi uzun zincirli hidrokarbonlar, öjenol gibi fenoller, geraniol asetat ve sitronellol asetat gibi ester ve aldehitler ile metil öjenol gibi oksit ve eterler oluşturmaktadır^(14,29,30). Çalışmamızda, yağın gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerine antibakteriyel etkilerinin içeriğindeki sitronellol, geraniol ve nerol gibi ana bileşenlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir⁽²⁹⁾. Yi ve ark.⁽³¹⁾ kimyasal kompozisyonları değişiklik gösteren ve çeşitli türlerden elde edilen gül uçucu yağlarının antimikrobiyal etkinliklerini araştırmış ve bu etkinlikleri çalışmamızdan farklı konsantrasyonlarda (mg/ml) saptamışlardır. Gül uçucu yağlarının antimikrobiyal etkilerine neden olan ana bileşikleri linalool, fenetil alkol, β-sitronellol, geraniol, öjenol ve metil öjenol olarak belirlemişlerdir. Araştırmada kullanılan gül uçucu yağlarının elde edilme yöntemleri ve içerik farklılıklarından dolayı, yağların antimikrobiyal aktivitelerinden sorumlu ana bileşenleri değişkenlik göstermektedir.

Quorum sensing (QS), kronik bakteriyel hastalıklar gibi çeşitli insan hastalıklarında mikrobiyal patojenite ve antibiyotik direncinde önemli rol oynar. QS inhibisyonu, sistemik ve lokal enfeksiyonlarda patojeniteyi, antibiyotik direncini ve biyofilm oluşumunu azaltabilir⁽¹³⁾. Zhang ve ark.'nın⁽¹⁵⁾ bu konuyla ilgili araştırmasında, *Rosa rugosa* çayının polifenol ekstraktının anti-biyofilm ve QS inhibitör potansiyeli belirlenmiş, ekstraktın konsantrasyon artışına bağlı olarak *C. violaceum* 026 suşunun viyolasin pigment üretimini %87.56 azalttığı, *P. aeruginosa* PAO1 suşunda ise swarming (kayma) hareketini (%78.03) ve biyofilm oluşumunu (%72.90) inhibe ettiği belirlenmiştir. Daha önceden yapılmış diğer bir çalışmada ise aralarında gül yağını da içeren çeşitli uçucu yağların, bakteri büyümesi ve QS üzerine etkileri araştırılmış ve test edilen yağlar arasında gül yağının da en güçlü QS inhibitörlerinden biri olduğu saptanmıştır⁽¹³⁾. Mevcut çalışma sonuçlarımız, gül yağının QS ve biyofilm etki potansiyelleri açısından bu çalışmalarla uyumluluk göstermekte olup, çalışmamızda kullanılan aromaterapötik gül yağı doza bağlı olarak CV12472 ve PAO1 suşlarının QS mekanizmasını ve PAO1 suşunun biyofilm oluşumunu mevcut çalışmalarda gibi güçlü oranda inhibe ettiği belirlenmiştir.

Gül uçucu yağının QS mekanizmasını inhibe etme potansiyeli farklı biyosensör ve klinik suşlarda da çalışılmıştır⁽¹⁴⁾. Çalışmada, %0.0025 (v/v) konsantrasyondaki gül yağının *P. aeruginosa* klinik izolatlarının biyofilm oluşumunu istatistiksel olarak önemli oranda (%53) azalttığı fakat PAO1 suşunun biyofilm oluşumunda anlamlı bir azalma (%12) olmadığı rapor edilmiştir. Buna ek olarak, bu dozdaki yağın *C. violaceum* 026, *C. violaceum* VIR07 ve *C. violaceum* 12472 (CV12472) suşlarında sırasıyla %80, %70 ve %43 oranlarında viyolasin pigment üretimini azalttığı saptanmıştır. Bu sonuçlardan farklı olarak bizim çalışmamızda ise %0.01 v/v dozdaki aromaterapötik olarak kullanılan gül uçucu yağı CV12472 suşunun viyolasin üretimini çok güçlü oranda (%98.04±1.40) inhibe etmiştir. Yüzde 0.2 v/v dozdaki aromaterapötik gül uçucu yağı ise PAO1 biyofilm üretimini istatistiksel olarak anlamlı olarak ($p<0.05$) ve çok yüksek oranda (%93.07±1.90) azaltmıştır. Çalışmamızda kullanılan aromaterapötik gül uçucu yağının suşlar üzerindeki

sub-MİK dozları mevcut çalışmadan daha yüksektir. Buna bağlı olarak da aromaterapötik gül yağının anti-QS ve anti-biyofilm potansiyelleri diğer çalışmalardan farklılık göstermiştir.

Sonuç olarak, çalışma sonuçlarımız aromaterapötik gül uçucu yağının güçlü QS ve biyofilm inhibisyon potansiyelini göstermektedir. Çalışmamızda kullanılan aromaterapötik yağın insan patojeni mikroorganizmalardaki biyofilm inhibisyon etkileri bildiğimiz kadarıyla detaylı olarak ilk kez belirlenmiştir. Gül uçucu yağının çeşitli farmakolojik özellikleri ve antibiyotiklere alternatif olarak direnç gelişimine neden olmadan enfeksiyonları durdurma potansiyelleri, çalışmadan elde edilen bu sonuçlarla daha güçlü ortaya çıkarılmıştır. Enfeksiyonlara karşı oluşan direncin önlenmesi için alternatif doğal bileşiklere karşı olan arayış her zaman devam etmektedir. Aromaterapötik gül uçucu yağı gibi etkili ve doğal bileşenlerin yan etkilerinin sentetik ilaçlara göre daha az oluşu, çoklu biyolojik aktivitelere sahip olmaları gibi nedenler bu arayışı sürdürmemizin nedeni gerekli ve önemli olduğunu net olarak ortaya koymaktadır. Yağın farmakolojik özelliklerinde içeriğindeki sitronellol, geraniol ve nerol gibi etken bileşikler önemli olup, konuyla ilgili olarak bu bileşiklerin bakteriyel QS ve biyofilm mekanizmalarını nasıl bloke ettiğini gösteren ileri moleküler çalışmalar yapılması önerilmektedir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Nayebi N, Khalili N, Kamalinejad M, Emtiaz M. A systematic review of the efficacy and safety of *Rosa damascena* Mill. with an overview on its phytopharmacological properties. *Complement Ther Med*. 2017;34:129-40. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2017.08.014>
2. Akram M, Riaz M, Munir N, et al. Chemical constituents, experimental and clinical pharmacology of *Rosa damascena*: a literature review. *J Pharm Pharmacol*.

- 2020;72(2):161-74.
<https://doi.org/10.1111/jphp.13185>
3. Tarbiat S, Türütoğlu AS, Ekingen M. Acetylcholinesterase inhibitory potential and antioxidant activities of five cultivars of *Rosa damascena* Mill. from Isparta, Turkey. *Curr Top Nutraceutical Res.* 2020;18(4):354-359.
<https://doi.org/10.37290/ctnr2641-452X.18:354-359>
 4. Toluei Z, Hosseini Tafreshi SA, Arefi Torkabadi M. Comparative chemical composition analysis of essential oils in different populations of Damask Rose from Iran. *J Agr Sci Tech.* 2019;21(2):423-37.
 5. Dagli R, Avcu M, Metin M, Kıymaz S, Ciftci H. The effects of aromatherapy using rose oil (*Rosa damascena* Mill.) on preoperative anxiety: A prospective randomized clinical trial. *Eur J Integr Med.* 2019; 26: 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2019.01.006>
 6. Heydari N, Abootalebi M, Jamalimoghadam N, Kasraeian M, Emamghoreishi M, Akbarzaded M. Evaluation of aromatherapy with essential oils of *Rosa damascena* for the management of premenstrual syndrome. *Int J Gynaecol Obstet.* 2018;142(2):156-61.
<https://doi.org/10.1002/ijgo.12534>
 7. Niazi M, Hashempur MH, Taghizadeh M, Heydari M, Shariat A. Efficacy of topical rose (*Rosa damascena* Mill.) oil for migraine headache: A randomized double-blinded placebo-controlled cross-over trial. *Complement Ther Med.* 2017;34:35-41.
<https://doi.org/10.1016/j.ctim.2017.07.009>
 8. Hamdamian S, Nazarpour S, Simbar M, Hajian S, Mojab F, Talebi A. Effects of aromatherapy with *Rosa damascena* on nulliparous women's pain and anxiety of labor during first stage of labor. *J Integr Med.* 2018;16(2):120-5.
<https://doi.org/10.1016/j.joim.2018.02.005>
 9. Fatemi F, Golbodagh A, Hojihosseini R, et al. Anti-inflammatory effects of deuterium-depleted water plus *Rosa damascena* Mill. essential oil via cyclooxygenase-2 pathway in rats. *Turk J Pharm Sci.* 2020;17(1):99-107.
<https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2018.24381>
 10. Yi F, Sun J, Bao X, Ma B, Sun M. Influence of molecular distillation on antioxidant and antimicrobial activities of rose essential oils. *LWT.* 2019;102:310-6.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.051>
 11. Mohebitabar S, Shirazi M, Bioos S, Rahimi R, Malekshahi F, Nejatbakhsh F. Therapeutic efficacy of rose oil: A comprehensive review of clinical evidence. *Avicenna J Phytomed.* 2017;7(3):206-13.
 12. Mahabob N, Mohan J. Preparation of mouthwash and gel from *Rosa damascena* Mill and evaluating its effectiveness-An in vivo analysis. *J Pharm Bioall Sci.* 2019;11(Suppl 2):S198-202.
https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_294_18
 13. Szabó MA, Varga GZ, Hohmann J, et al. Inhibition of quorum-sensing signals by essential oils. *Phytother Res.* 2010;24(5):782-6.
<https://doi.org/10.1002/ptr.3010>
 14. Eris R, Ulusoy S. Rose, clove, chamomile essential oils and pine turpentine inhibit quorum sensing in *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Essent Oil Bearing Plants.* 2013;16:126-35.
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.794026>
 15. Zhang J, Rui X, Wang L, Guan Y, Sun X, Dong M. Polyphenolic extract from *Rosa rugosa* tea inhibits bacterial quorum sensing and biofilm formation. *Food Control.* 2014;42:125-31.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.02.001>
 16. Bali EB, Türkmen KE, Erdönmez D, Sağlam N. Comparative study of inhibitory potential of dietary phytochemicals against quorum sensing activity of and biofilm formation by *Chromobacterium violaceum* 12472, and swimming and swarming behaviour of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Food Technol Biotechnol.* 2019;57(2):212-21.
<https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.5823>
 17. Çepni E, Gürel F. Bitkilerden elde edilen anti quorum sensing bileşikleri ve yeni ilaç geliştirmedeki potansiyelleri. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2011;41(4):131-8.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2011.131>
 18. Yeniçeri M. Bakterilerde quorum sensing ve antimikrobiyal dirence olan etkisi. *Cumhuriyet Üniv. Sağ. Bil. Enst. Derg.* 2018;(3)1:41-5.
 19. Bosgelmez-Tinaz G. Disruption of bacterial cell-to-cell communication (Quorum sensing): A promising novel way to combat bacteria-mediated diseases. *MUSBED.* 2013;3(3):159-63.
<https://doi.org/10.5455/musbed.20130910085643>
 20. Zgoda JR, Porter JR. A convenient microdilution method for screening natural products against bacteria and fungi. *Pharm Biol.* 2001;39(3):221-5.
<https://doi.org/10.1076/phbi.39.3.221.5934>
 21. McClean KH, Winson MK, Fish L, et al. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones. *Microbiology (Reading).* 1997;143(Pt 12):3703-11.
<https://doi.org/10.1099/00221287-143-12-3703>
 22. Morohoshi T, Kato M, Fukamachi K, Kato N, Ikeda T. N-Acylhomoserine lactone regulates violacein production in *Chromobacterium violaceum* type strain ATCC 12472. *FEMS Microbiol Lett.* 2008;279(1):124-30.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.01016.x>
 23. Blosser RS, Gray KM. Extraction of violacein from

- Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers. *J Microbiol Methods*. 2000;40(1):47-55. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(99\)00136-0](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(99)00136-0)
24. Packiavathy IASV, Agilandeswari P, Musthafa KS, Pandian SK, Ravi AV. Antibiofilm and quorum sensing inhibitory potential of *Cuminum cyminum* and its secondary metabolite methyl eugenol against Gram negative bacterial pathogens. *Food Res Int*. 2012;45(1):85-92. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.022>
25. O'Toole GA, Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: A genetic analysis. *Mol Microbiol*. 1998;28(3):449-61. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>
26. Tofighi Z, Molazem M, Doostdar B, et al. Antimicrobial activities of three medicinal plants and investigation of flavonoids of *Tripleurospermum disciforme*. *Iran J Pharm Res*. 2015;14(1):225-31.
27. Shohayeb M, Abdel-Hameed ESS, Bazaid SA, Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. *Glob J Pharm*. 2014;8(1):1-7. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjp.2014.8.1.81275>
28. Mahboubi M. *Rosa damascena* as holy ancient herb with novel applications. *J Tradit Complement Med*. 2015;6(1):10-6. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2015.09.005>
29. Ulusoy S, Boşgelmez-Tinaz G, Seçilmiş-Canbay H. Tocopherol, carotene, phenolic contents and antibacterial properties of rose essential oil, hydrosol and absolute. *Curr Microbiol*. 2009;59(5):554-8. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9475-y>
30. Baydar H, Göktürk Baydar N. Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.)'nde distilasyon ürünlerinin uçucu yağ ve fenolik madde içerikleri ile antiradikal ve antioksidan aktiviteleri. *Tar Bil Der*. 2017;23:1-9.
31. Yi F, Sun J, Bao X, Ma B, Sun M. Influence of molecular distillation on antioxidant and antimicrobial activities of rose essential oils *LWT*. 2019;102:310-31.

Üriner Sistem Enfeksiyonlarında Etken Bakteriler ve Antibiyotik Direnç Oranları[§]

Bacteria That Cause Urinary System Infections and Antibiotic Resistance Rates

Banu Hümeysra Keskin[®], Emel Çalışkan[®], Sare Kaya[®], Ezgi Köse[®], İdris Şahin[®]

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye

Atf/Cite as: Keskin BH, Çalışkan E, Kaya S, Köse E, Şahin İ. Üriner sistem enfeksiyonlarında etken bakteriler ve antibiyotik direnç oranları. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):254-62.

Öz

Amaç: Üriner sistem enfeksiyonları, günümüzde tüm yaş gruplarında, hastane ortamında ve hastane dışında en sık karşılaşılan bakteriyel enfeksiyonlardır. Ampirik tedavide kullanılacak uygun antibiyotiğin seçilebilmesi için bölgemizdeki en sık etken bakterilerin ve antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Kasım 2019-Kasım 2020 tarihleri arasındaki idrar kültürü sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. Antibiyotik direnç oranları ve bakteriler, toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara göre gruplandırılmıştır. Konvansiyonel yöntemler ya da VITEK 2 Compact (bioMérieux- Fransa) sistemi kullanılarak bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılmış ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) önerilerine göre değerlendirilmiştir.

Bulgular: Örneklerin 1912'sinde (%69) Enterobacterales türleri saptanmış olup, nitrofurantoin ve fosfomisin dışındaki tüm antibiyotiklere hastane kaynaklı enfeksiyonlarda (HKE) toplum kaynaklı enfeksiyonlara (TKE) oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek direnç oranları görülmüştür. Gram pozitif bakterilerde HKE'lerde siprofloksasin direnci TKE'lerden daha yüksek oranda saptanmış olup, vankomisin, teikoplanin, linezolid direnci belirlenmemiştir. Nonfermenter Gram negatif bakterilerde piperasilin (%47), siprofloksasin (%43) ve levofloksasin (%42) direncinin en yüksek, amikasin (%12) direncinin ise en düşük olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda, oral kullanımı olan, ampirik tedavide sıklıkla tercih edilen antibiyotiklere karşı görülen artmış direnç yanında, yatan hastalarda sıklıkla tercih edilen piperasilin-tazobaktam, karbapenem ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı da önemsenmesi gereken direnç oranları görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik direnci, hastane enfeksiyonu, üriner sistem enfeksiyonu

ABSTRACT

Objective: Urinary system infections are the most common bacterial infections encountered in all age groups, in and outside the hospital. In order to select the appropriate antibiotic to be used in empirical treatment, it was aimed to determine the most common causative bacteria and antibiotic resistance rates in our region.

Method: Urine culture results were analyzed between November 2019 and November 2020 retrospectively. Antibiotic resistance rates and bacteria were grouped according to community-acquired and hospital-acquired infections. Identification of bacteria and antibiotic susceptibility tests were performed using conventional methods or the VITEK 2 Compact (bioMérieux-France) system and evaluated according to the recommendations of the European Antimicrobial Susceptibility Testing Committee (EUCAST).

Results: Enterobacterales species were detected in 1912 (69%) samples, and it was observed that there was a statistically significantly higher resistance to all antibiotics except nitrofurantoin and fosfomycin in hospital acquired infections (HCI) compared to community acquired infections (TCI). In gram-positive bacteria, ciprofloxacin resistance was found at a higher rate in HSCs than in TCIs, and resistance to vancomycin, teicoplanin, linezolid was not detected. It was determined that the resistance to piperacillin (47%), ciprofloxacin (43%) and levofloxacin (42%) was the highest in non-fermenting gram-negative bacteria, and the resistance to amikacin was the lowest (12%).

Conclusion: In our study, in addition to the increased resistance against antibiotics, which are used orally and frequently preferred in empirical treatment, resistance rates against piperacillin-tazobactam, carbapenem and aminoglycoside antibiotics, which are frequently preferred in hospitalized patients should be also considered.

Keywords: Antibiotic resistance, hospital infection, urinary tract infections

Alındığı tarih / Received:
20.01.2021 / 20.January.2021

Kabul tarihi / Accepted:
13.03.2021 / 13.March.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kayıtları

B.H. Keskin 0000-0002-2102-3952
E. Çalışkan 0000-0002-9451-7865
S. Kaya 0000-0002-4674-4297
E. Köse 0000-0001-5602-0551
İ. Şahin 0000-0001-6203-5039

✉ keskinbanu21@gmail.com

[§] Bu çalışma, 25-27 Aralık 2020 tarihleri arasında Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin düzenlediği Çevrim İçi Mikrobiyoloji Sempozyumu'nda poster bildirisi olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), günümüzde tüm yaş gruplarında, hastane ortamında ve hastane dışında en sık karşılaşılan bakteriyel enfeksiyonlardır⁽¹⁾. Her yıl dünyada 150 milyondan fazla kişinin bu hastalığa yakalandığı öngörülmektedir⁽²⁾. Yaşamın ilk üç ayı dışındaki tüm dönemlerde ÜSE, kadınlarda daha sık görülmektedir. ÜSE'nin %95'inden fazlası monobakteriyeldir⁽³⁾. Birçok bakteri türü ve mantar, üriner sistem enfeksiyonlarına neden olmakla birlikte, *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.*'nin bu enfeksiyonların yaklaşık %90'ına yol açtığı bildirilmektedir⁽²⁾.

Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Derneği, bir yöredeki üriner enfeksiyonlarda etkenlerin ve bunların antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesinin gerektiğini bildirmiştir⁽⁴⁾. ÜSE tedavisinde, sıklıkla ampirik olarak başlanan antibiyotiklere karşı giderek artan oranda direnç bildirilmektedir⁽⁵⁾. Özellikle uzun süre hastane ve yoğun bakım ünitesi yatışı olan hastalarda çoklu ilaca dirençli bakteriler ve fırsatçı mikroorganizmaların izole edilme olasılığı artmaktadır⁽⁶⁾.

Avrupa üroloji kılavuzunda, belli oranların üzerinde direnç saptanan antibiyotiklerin ampirik tedavide kullanılmalarının uygun olmadığı bildirilmektedir⁽⁷⁾. Bu nedenlerle, ampirik tedavide kullanılacak uygun antibiyotik seçilebilmesi için bölgemizdeki en sık ÜSE nedeni olan etkenlerin ve antibiyotik direnç oranlarının iyi bilinmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, hastanemize başvuran hastaların idrar kültürü sonuçları retrospektif olarak incelenerek, etken bakterilerin ve antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızın etik kurul onayı Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (07.12.2020 tarih, 2020/252 karar No.). Kasım 2019-Kasım 2020 tarihleri arasında çeşitli servis, poliklinik ve yoğun bakım ünitelerinden laboratuvarımıza gönderilen, patojen bakteri üremesi olan idrar örnekleri çalışmaya dâhil edilmiştir. Kültür sonuçları hastane otomasyon sisteminden retrospektif olarak incelenmiştir. Hastaların yaşı, cin-

siyeti, servis/poliklinik/yoğun bakım bilgileri, üreyen bakteriler ve antibiyotik (amikasin, ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, sefepim, sefiksime, sefotaksim, seftazidim, sefuroksim, siprofloksasin, levofloksasin, fosfomisin, gentamisin, imipenem, meropenem, ertapenem, nitrofurantoin, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, tobramisin, trimetoprim-sülfametoksazol, linezolid, vankomisin, teikoplanin, penisilin, sefoksitin) (Bioanalize, Türkiye) duyarlılık oranları kaydedilmiştir. Toplumda gelişen veya hastaneye yatışın ilk 48 saatinde ortaya çıkan ÜSE'ler toplum kökenli ÜSE olarak tanımlanmıştır⁽⁸⁾.

İdrar örnekleri, kanlı agar ve eosin metilen blue (EMB) agar (Oxoid, Basingstoke, Birleşik Krallık) besiyerlerine 0.01 ml idrar alabilen özeler kullanılarak kantitatif yöntemle ekilmiş, 37°C'de 18-24 saat aerobik ortamda inkübe edilmiştir. Yüz bin cfu/ml ve üzerinde bakteri üremesi olan örnekler ile; üreyen koloni sayısı, tür sayısı, idrar örneğinde lökosit varlığı, hastanın klinik durumu gibi özellikler dikkate alınarak etken olduğu düşünülen daha düşük sayılardaki mikroorganizmaların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılmıştır⁽⁹⁾.

İzole edilen bakteriler Gram boyama, katalaz testi, oksidaz testi, karbonhidrat ve sitrat kullanımı, triptofanaz aktivitesi, üreaz üretimi gibi konvansiyonel yöntemler ile tanımlanmıştır. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testleri yapılmıştır. Bazı mikroorganizmaların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri ise VITEK 2 Compact (bioMérieux- Fransa) sistemi kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) önerilerine göre değerlendirilmiştir⁽¹⁰⁾.

Verilerin istatistiksel analizi "IBM SPSS Statistics 22" programı kullanılarak yapılmıştır. Veriler sayı ve yüzde olarak belirtilmiştir. Sonuçların analizinde "Fisher exact testi" ve "ki-kare" testleri kullanılmış ve p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya laboratuvarımıza çeşitli poliklinik ve ser-

Tablo 1. Toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonu ve hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonu etkenlerinin dağılımı.

	Toplum kaynaklı ÜSE (N=2523)		Hastane kaynaklı ÜSE (N=257)	
	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	1315	51.9	80	31.1
<i>Klebsiella</i> spp.	325	12.8	44	17.1
<i>Enterococcus</i> spp.	272	10.7	62	24.1
KNS	252	9.9	20	9.9
<i>Pseudomonas</i> spp.	91	3.6	27	10.5
<i>Streptococcus agalactia</i>	70	2.8	2	0.8
<i>Enterobacter</i> spp.	63	2.5	9	3.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	55	2.2	2	0.8
<i>Proteus</i> spp	46	1.8	1	0.4
<i>Morganella morganii</i> ,	20	0.8	1	0.4
<i>Acinetobacter baumannii</i>	9	0.3	6	2.3
<i>Serratia marcescens</i>	5	0.2	3	1.2
Diğer beta hemolitik streptokok	5	0.2	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3	0.1	-	-
D grubu Streptokok	2	0.1	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0.1	-	-

ÜSE: Üriner Sistem Enfeksiyonu; KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok

Tablo 2. *Enterobacterales* türlerinin antibiyotik direnç oranları.

Antibiyotik	Toplum kaynaklı enfeksiyon (N=1774)		Hastane kaynaklı enfeksiyon (N=138)		p	Toplam (N=1912)	
	n	%	n	%		n	%
Ampisilin	1204/1743	69	115/136	85	<0.001	1319/1879	70
AMC	579/1760	33	78/138	57	<0.001	657/1898	35
Sefuroksim	670/1769	38	95/138	69	<0.001	765/1907	40
Sefotaksim	555/1718	32	89/135	66	<0.001	644/1853	35
Sefiksım	622/1744	36	-	-	-	622/1744	36
Sefepim	395/1696	23	77/136	57	<0.001	472/1832	26
Nitrofurantoin (<i>Escherichia coli</i> için)	27/1241	2	3/79	4	0.348	30/1320	2
TMP-SXT	598/1758	34	72/137	53	<0.001	670/1895	35
Siprofloksasin	411/1762	23	59/138	43	<0.001	470/1900	25
Levofloksasin	385/1721	22	57/136	42	<0.001	442/1857	24
Tobramisin	283/1692	17	57/134	43	<0.001	340/1826	19
Gentamisin	249/1708	15	48/131	37	<0.001	297/1839	16
Amikasin	58/1758	3	24/138	17	<0.001	82/1896	4
Piperasilin	1012/1640	62	110/135	82	<0.001	1122/1775	63
TZP	294/1763	17	51/138	37	<0.001	345/1901	18
İmipenem	24/1732	1	25/136	18	<0.001	49/1868	3
Meropenem	30/1767	2	29/137	21	<0.001	59/1904	3
Ertapenem	80/1764	5	36/136	27	<0.001	116/1900	6
Fosfomisin (<i>Escherichia coli</i> için)	17/1299	1	2/80	3	0.622	19/1379	1

AMC: Amoksisilin-klavulanat; TZP: Piperasilin-tazobaktam; TMP-SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol

vislerden gönderilen 2.791 hastaya ait idrar örneği dâhil edilmiştir. Hastaların 1.700'ü (%61) kadın, 1.091'i (%39) erkek olup, yaş ortalamaları 33.45±30.53 (0-95) idi. Üriner sistem enfeksiyonlarının 2.523'ü (%90) toplum kaynaklı (TK), 257'si (%10) hastane kaynaklı (HK) olarak belirlenmiştir. Örneklerin tümünde tek bakteri izole edilmiştir. Etkenlerin dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Örneklerin 1912'sinde (%69) *Enterobacterales* türle-

ri saptanmış olup, bunlardan 1.395'i (%73) *E. coli*, 369'u (%19) *Klebsiella* spp., 72'si (%4) *Enterobacter* spp., 47'si (%3) *Proteus* spp., 21'i (%1) *Morganella morganii*, 8'i *Serratia marcescens* olarak tanımlanmıştır. Nitrofurantoin ve fosfomisin dışındaki tüm antibiyotiklere hastane kaynaklı enfeksiyonlarda (HKE) toplum kaynaklı enfeksiyonlara (TKE) oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek direnç olduğu görülmüştür (p<0.001). *Enterobacterales* türlerinin toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı enfek-

siyonlardaki antibiyotik direnç oranları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Escherichia coli için antibiyotik direnç oranları [toplam direnç (TK-HK)] fosfomisin, imipenem, meropenem, ertapenem, amikasin, gentamisin, tobramisin, nitrofurantoin, TZP, siprofloksasin, levofloksasin, AMC, sefotaksim, sefiksim, sefuroksim, SXT, piperasilin, ampisilin için sırasıyla; %1.4 (1.3-2.5), %0.1 (0.1-1.3), %0.3 (0.2-2.5), %2.7 (2.5-6.3), %2.2 (1.9-6.3), %13.1 (12.4-25), %15.4 (14.6-27.6), %2.3 (2.2-3.8), %13.6 (13.3-18.8), %26.3 (25.3-42.5), %25.8 (24.6-44.9), %29.4 (28.8-40), %33.3 (31.7-59.7), %34.7, %37.2 (35.7-62.5), %34.8 (33.9-49.4), %55.8 (54.8-72.7), %61.7 (60.9-74.4) olarak saptanmıştır. Bu oranlar *Klebsiella* spp. suşları için fosfomisin, nitrofurantoin, ampisilin ve piperasilin çıkarılarak sırasıyla; %10.3 (5.8-43.2), %12.3 (7.4-48.8), %16.7 (11.5-55.8), %10.6 (8-29.5), %27.9 (24.9-50), %31.3 (27.2-61.4), %34.7 (31.4-59.1), %25.3 (22.3-47.7), %22.8 (20.4-40.9), %40.1 (35.6-72.7), %44.4 (40.2-75), %40.8, %46.6 (42.8-75), %41.6 (38.2-65.9) olarak bulunmuştur. Siprofloksasin ve levofloksasin direnci her iki bakteride de benzer oranlarda saptanmış olup ($p=0.711$; $p=0.244$), diğer antibiyotiklere direncin *Klebsiella* spp. suşlarında *E. coli* suşlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Örneklerin 745'inde (%26) Gram pozitif bakteri üremesi saptanmış olup, 334'ü (%45) *Enterococcus* spp., 272'si (%37) Koagülaz Negatif Stafilokok (KNS), 72'si (%10) *Streptococcus agalactiae*, 57'si (%8) *Staphylococcus aureus*, üçü *Streptococcus pyogenes*, ikisi D grubu streptokok, beşi diğer beta hemolitik streptokok olarak tanımlandı. KNS suşları içinde *S. saprophyticus* saptanmamıştır. Streptokok suşlarının %3'ü, *S. aureus* suşlarının %4'ü, KNS suşlarının %7'si, enterokok suşlarının ise %19'u HKE etkeni olarak belirlenmiştir. HKE'lerde siprofloksasin direncinin TKE'lerden daha fazla olduğu saptanmıştır. Enterokok suşlarındaki yüksek düzey gentamisin direncinin ise TKE'lerde HKE'lerden yüksek olduğu bulunmuştur. Suşlarda vankomisin, teikoplanin, linezolid direnci saptanmamıştır. Bu antibiyotikler dışında stafilokok suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotik TMP-SXT (%12), en dirençli olduğu antibiyotik metisilin; enterokok suşlarının ise en duyarlı olduğu antibiyotik ampisilin (%28), en dirençli olduğu antibiyotik siprofloksasin (%42) olarak bulunmuştur ($p<0.001$). Streptokoklar dışındaki Gram pozitif bakterilerin toplam kaynaklı ve hastane kaynaklı enfeksiyonlardaki antibiyotik direnç oranları Tablo 3'te gösterilmiştir.

Staphylococcus aureus suşlarında direnç oranları metisilin, SXT, levofloksasin, siprofloksasin için sırasıyla %23, %9, %9, %11 iken, KNS suşlarında aynı

Tablo 3. Stafilokok ve enterokok suşlarının antibiyotik direnç oranları.

Bakteri	Antibiyotik	Toplum kaynaklı enfeksiyon (N=307)		Hastane kaynaklı enfeksiyon (N=22)		p	Toplam (N=327)	
		n	%	n	%		n	%
<i>Staphylococcus</i> spp.	Metisilin	131/306	43	13/21	62	0.088	144/327	44
	TMP-SXT	33/305	11	5/22	23	0.092	38/327	12
	Siprofloksasin	56/304	18	13/22	59	<0.001	69/326	21
	Levofloksasin	47/305	15	13/22	59	<0.001	60/327	18
	Vankomisin	0/307	0	0/22	0	-	0/327	0
	Teikoplanin	0/307	0	0/22	0	-	0/327	0
	Linezolid	0/307	0	0/22	0	-	0/327	0
<i>Enterococcus</i> spp.	Ampisilin	50/269	19	41/61	67	<0.001	91/330	28
	Gentamisin YD	41/130	32	5/59	9	0.001	46/189	24
	Siprofloksasin	87/269	32	50/61	82	<0.001	137/330	42
	Vankomisin	0/272	0	0/62	0	-	0/334	0
	Teikoplanin	0/272	0	0/62	0	-	0/334	0
	Linezolid	0/272	0	0/62	0	-	0/334	0

TMP-SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, Gentamisin YD: Gentamisin yüksek düzey

Tablo 4. Nonfermenter Gram negatif bakterilerin antibiyotik direnç oranları.

Antibiyotik	Toplum kaynaklı enfeksiyon (N=101)		Hastane kaynaklı enfeksiyon (N=33)		p	Toplam (N=1912)	
	n	%	n	%		n	%
Piperasilin*	35/85	41	16/24	67	0.027	51/109	47
Siprofloksasin	36/99	36	21/33	64	0.006	57/132	43
Levofloksasin	34/97	35	19/30	63	0.006	53/127	42
TMP-SXT**	1/10	10	5/6	83	0.008	6/16	38
TZP*	28/90	31	12/27	44	0.200	40/117	34
Seftazidim*	22/82	27	8/21	38	0.311	30/103	29
Tobramisin	14/80	18	8/22	36	0.057	22/102	22
Gentamisin	17/98	17	13/33	39	0.009	30/131	23
Meropenem	16/98	16	14/33	42	0.002	30/131	23
İmipenem	14/98	14	13/33	39	0.002	27/131	21
Sefepim*	16/89	18	8/26	31	0.158	24/115	21
Amikasin	8/98	8	7/33	21	0.042	15/131	12

TZP: Piperasilin-tazobaktam, TMP-SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol

*Yalnızca *Pseudomonas* spp. suşlarında duyarlılık testi yapılmıştır.

** *Acinetobacter baumannii* ve *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarında duyarlılık testi yapılmıştır.

sırayla %49, %12, %20, %23 olarak bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.001$, $p = 0.460$, $p = 0.045$, $p = 0.030$). Enterokoklarda toplum kaynaklı enfeksiyonlarda yüksek düzey gentamisin direnci, hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ampisilin ve siprofloksasin direnci daha yüksek saptanmıştır.

Örneklerin 134'ünde (%5) nonfermenter Gram negatif bakteri üremesi saptanmış olup, 118'i (%88) *Pseudomonas* spp., 15'i (%11) *Acinetobacter baumannii*, biri (%1) *Stenotrophomonas maltophilia* olarak tanımlandı. Piperasilin (%47), siprofloksasin (%43) ve levofloksasin (%42) direncinin en yüksek, amikasin (%12) direncinin ise en düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). *Pseudomonas* spp. ve *A. baumannii* suşlarının toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı enfeksiyonlardaki antibiyotik direnç oranları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Pseudomonas suşlarında amikasin, tobramisin, gentamisin, imipenem, meropenem, siprofloksasin, levofloksasin, sefepim, seftazidim, piperasilin ve TZP direnci sırasıyla [toplam direnç (TK-HK)] %7.8 (7.9-7.4), %20.2 (18.3-27.8), %20.7 (18-29.6), %18 (17.9-14.4), %20.5 (16.7-33.3), %43.6 (38.9-59.3), %42.5 (37.5-60), %20.9 (18-30.8), %29.1 (26.8-38.1), %46.8 (41.2-66.7), %34.2 (31.1-44.4) iken *Acinetobacter* suşlarında amikasin, tobramisin, gentamisin, imipenem, meropenem, siprofloksasin, levofloksasin, SXT direnci sırasıyla %40 (11.1-83.3), %30.8 (11.1-75.0),

%40 (11.1-83.3), %42.9 (12.5-83.3), %42.9 (12.5-83.3), %40 (11.1-83.3), %38.5 (12.5-80), %40 (11.1-83.3) olarak bulunmuştur. Tüm antibiyotikler için *Acinetobacter* suşlarında direnç oranı yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak amikasin ($p < 0.001$) ve imipenem ($p = 0.029$) direnci yüksek bulunmuştur.

TARTIŞMA

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), hem hastanede gelişen hem de toplumda gelişen enfeksiyonlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır⁽¹¹⁾. Yüksek nüks oranları ve izole edilen bakterilerdeki artan antibiyotik direnci nedeniyle bu enfeksiyonların önemi artmaktadır⁽¹²⁾. İdrar yolu enfeksiyonu tanısında altın standart yöntem kültürdür⁽¹³⁾. Kültür ve antibiyogram işlemlerinin sonuçlanması en az iki gün sürmekte ve bu durum ampirik tedavinin uygulanmasına neden olmaktadır. Ampirik tedavide kullanılacak antibiyotiklerin doğru bir şekilde seçilebilmesi için her bölgenin, her merkezin etken dağılımı ve antibiyotik direnç durumunu düzenli olarak izlemesi gerekmektedir⁽¹⁴⁾. Tüm yaş gruplarında toplum kökenli ve hastane kökenli ÜSE'lerin en sık nedeni Gram negatif bakteriler olup, en sık izole edilen etken *E. coli* (%50-90) iken *Klebsiella pneumoniae* onu izlemektedir. 2016-2019 tarihleri arasında Balıkesir Devlet Hastanesi'nde yapılan dört yıllık analiz çalışmasında, bakteri üremesi olan idrar kültürlerinin %73.7'sinde *Enterobacterales* türleri saptanmıştır. En sık izole edilen etken *E. coli*

(%55.6) iken ikinci sıklıkta izole edilen etken *K. pneumoniae* (%14.2) olarak tanımlanmıştır⁽¹⁵⁾. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde örneklerin %69'unda *Enterobacterales* türleri bulunmuş olup, bunlardan %73'ü *E. coli*, %19'u *Klebsiella* spp. olarak daha yüksek oranlarda saptanmıştır.

Çalışmamızda, TKE'lerde etken sıralaması *E. coli* (%51.9), *Klebsiella* spp. (%12.8), *Enterococcus* spp. (%10.7) iken, HKE'lerde *E. coli* (%31.1), *Enterococcus* spp. (%24.1), *Klebsiella* spp. (%17.1) idi. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda toplum kaynaklılara göre *E. coli* oranı azalmış olup, *Enterococcus* spp. ve *Klebsiella* spp. oranı artmıştır. Ayrıca *Enterococcus* spp. suşlarının *Klebsiella* spp. suşlarından daha fazla HKE etkeni olduğu belirlenmiştir. Mancini ve ark.⁽¹⁶⁾ 2018 yılında İtalya'da yaptıkları çalışmada, bu oranları TKE'lerde *E. coli* (%58.2), *Klebsiella* spp. (%10.8), *Enterococcus faecalis* (%6.7); HKE'lerde ise *E. coli* (%47), *E. faecalis* (%9.4), *Pseudomonas aeruginosa* (%6.6) olarak saptamışlardır. 2009 ve 2011 yıllarında hastane enfeksiyonu sıklığını konu alan bazı çalışmalarda da ÜSE ikinci sırada olup, izole edilen bakterilerin dağılımı incelendiğinde ilk sırada; *E. coli* ve *Enterococcus faecium* yer almaktadır^(17,18). Çalışmamızda da HKE etken sıralaması benzer şekilde bulunmuştur. Bu durum yıllar içerisinde direnç oranları değişebilmekle birlikte, HKE etkeni bakteri türlerinde önemli bir değişiklik olmadığını göstermektedir.

Ampirik tedavide ilk olarak seçilen antibiyotikler genellikle oral olarak kullanılabilen trimetoprim/sulfametoksazol (TMP-SXT), siprofloksasin, nitrofurantoin, fosfomisin ve beta laktam gurubu antibiyotiklerdir⁽¹⁹⁾. Bu antibiyotiklerin sık kullanımı nedeni ile direnç oranları artmaktadır. Çalışmamızda da *Enterobacterales* türlerinde toplum kaynaklı enfeksiyonlarda direnç oranları ampisilin (%69), sefuroksim (%38), sefiksım (%36), AMC (%33), TMP-SXT (%34) ve siprofloksasin (%23) için %20'nin üzerinde saptanmıştır. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ise bu dirençler çok daha yüksek bulunmuştur. 2015 yılında üroloji polikliniğine başvuran hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, *E. coli* suşlarında direnç oranları ampisilin için %40.1, sefuroksim için %20.3, TMP-SXT için %31.4 ve siprofloksasin için %36.5;

2020 yılında yine *E. coli* suşları üzerinde yapılan bir çalışmada direnç oranları ise ampisilin için %64, seftriakson için %38.5, AMC için %42.3, TMP-SXT için %42.6 ve siprofloksasin için %42.9 olarak saptanmıştır^(14,15). Sık kullanılan bu antibiyotiklere karşı direncin giderek artması nedeni ile ampirik tedavide kullanımlarından uzaklaşılmalıdır.

Çalışmamızda, ÜSE'lerin en sık etkeni olan *E. coli* suşlarındaki genel olarak antibiyotik direnç oranları fosfomisin için %1, nitrofurantoin için %2'dir. Avcioglu ve ark.⁽²⁰⁾ 2018-2019 yıllarında idrar kültüründe üreyen *E. coli* izolatlarını değerlendirdiği çalışmada, bu oranları fosfomisin için %4, nitrofurantoin için %4 şeklinde bulmuş olup, çalışmamızla uyumludur. Ayrıca çalışmamızda, *Enterobacterales* türlerinde nitrofurantoin ve fosfomisin dışındaki tüm antibiyotiklere HKE'lerde TKE'lere oranla daha yüksek direnç olduğu görülmüştür. Mancini ve ark.'nın⁽¹⁶⁾ toplum ve hastane kökenli enfeksiyonları karşılaştırdığı çalışmada, HKE'lerde nitrofurantoin dışındaki tüm antibiyotiklere karşı daha yüksek oranda direnç görülmüştür. Bu durum oral olarak kullanılabilen fosfomisin ve nitrofurantoinin önemini artırmaktadır⁽⁴⁾. Ancak, fosfomisinin gebelerde güvenli ve tek doz kullanım kolaylığının olması ve bugünlerde yalnızca *E. coli* için duyarlılık testlerinin onaylanabiliyor olması ampirik tedavide özellikle fosfomisinin sık kullanılmaması konusunda uyarıcı olmalıdır.

Enterobacterales türlerinde en düşük direnç oranlarının görüldüğü antibiyotikler imipenem (%3), meropenem (%3), ertapenem (%6), amikasin (%4), gentamisin (%16) olarak saptanmıştır. Doğan ve ark.'nın⁽²¹⁾ çocuk poliklinik hastalarında yaptıkları çalışmada, idrar kültürlerinde üreyen enterik bakterilerde amikasin, gentamisin, imipenem direnci bulunmamıştır. GSBL pozitif Enterobacteriaceae izolatlarında antibiyotik direnç oranlarının ortaya konduğu bir çalışmada ise, direnç oranı imipenem için %0.3 ve amikasin için %3.5 şeklinde bulunmuştur⁽⁹⁾. Parenteral kullanıma uygun olmaları bu antibiyotiklere karşı görülen düşük direnç oranlarının nedenlerinden biridir.

Örneklerin %26'sında Gram pozitif bakteri üremesi saptanmış olup, en sık etken *Enterococcus* spp.'dir.

Literatürde yer alan bir çok çalışmada da bu şekilde bulunmuştur^(1,6,21). Daha sonra sırasıyla KNS, *Streptococcus agalactiae* ve *Staphylococcus aureus* etken olarak bulunmaktadır. Çalışmamızda, Gram pozitif bakterilerde vankomisin, teikoplanin, linezolid direnci saptanmamıştır. Bu durum hastanemiz açısından sevindiricidir. Bu antibiyotikler Gram pozitiflerin neden olduğu hastane kaynaklı ÜSE'lerde ampirik olarak kullanılabilirler.

Staphylococcus aureus'daki antibiyotik direnç oranları KNS'ye göre daha düşük olmakta birlikte genel olarak bakıldığında glikopeptidler dışında stafilocok suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotik TMP-SXT (%12), en dirençli olduğu antibiyotik metisilin (%44)'dir. Çalgın ve ark.⁽¹³⁾ çocuklar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, idrar kültüründe üreyen stafilocok suşlarındaki en yüksek direnç oranını penisilin (%90), glikopeptidler dışında en düşük direnç oranını TMP-SXT (%8.6) olarak bulmuşlardır.

Enterokoklardaki giderek artan antibiyotik direnci nedeniyle, bu bakterilerin önemi daha da artmıştır. 2013 ve 2019 yıllarında enterokoklarda glikopeptid direncinin saptandığı çalışmalar yapılmıştır^(22,23). Çalışmamızla uyumlu olarak Terek ve ark.⁽²⁴⁾ da enterokoklarda glikopeptid direnci saptamamış ve enterokoklara karşı en etkili antibiyotikleri; glikopeptidler olarak bulmuşlardır.

Enterokoklarda direnç oranlarının yüksek olduğu antibiyotikler; yüksek düzey gentamisin (%24), ampicilin (%28) ve siprofloksasin (%42) olarak bulunmuştur. Ergin ve ark.⁽²³⁾ 2013'te bu oranları sırası ile %32, %45, %87 olarak; Şimşek⁽²²⁾ ise 2019'da %21.3, %31.9, %46.6 olarak bulmuşlardır. Toplum kaynaklı enfeksiyonlarda yüksek düzey gentamisin direnci, hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ampicilin ve siprofloksasin direnci daha yüksek saptanmıştır. İntramuskuler olarak uygulanabilen gentamisinin ayaktan hastalara sık reçete edilmesi nedeni ile bu antibiyotiğe karşı direnç oranlarının TKE'lerde daha yüksek olduğu düşünülmüştür. Artan direnç oranları nedeni ile bu antibiyotiğin gereksiz kullanımından uzak durulmalıdır.

Çalışmamızda, toplum kaynaklı enfeksiyonlarda sip-

rofloksasin direnci; stafilocoklarda %18, enterokoklarda %32 olarak bulunmuştur. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ise siprofloksasin direnci stafilocoklarda %59, enterokoklarda %82'dir. İlimizde 8 yıl önce yapılan bir çalışmada, üroloji polikliniğine başvuran hastalarda bu oranlar *S. aureus*'da %33, enterokoklarda %60 olarak bulunmuş olup, hastane kaynaklı enfeksiyonların aksine toplum kaynaklı enfeksiyonlarda bu oranların düşmüş olması sevindiricidir⁽²⁵⁾. Hastane kaynaklı enfeksiyonlardaki yüksek oranlar ise hastanemizde yatan hastalara sık kinolon kullanımından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Dirençli HKE'lere yol açmaları nedeni ile nonfermentatif bakteriler önem kazanmıştır⁽²⁶⁾. Çuha ve ark.⁽²⁷⁾, Gülcan ve ark.⁽¹⁾, Mert ve ark.⁽⁵⁾ çalışmaları ile uyumlu olarak çalışmamızda da örneklerin %5'inde nonfermenter Gram negatif bakteri üremesi saptanmış olup, en sık etkenler *Pseudomonas* spp. ve *A. baumannii* idi. *Pseudomonas* spp. daha yüksek oranda izole edilirken, antibiyotik direnç oranları *A. baumannii* suşlarında daha yüksek olarak bulunmuştur.

Çuha ve ark.'nın⁽²⁷⁾ yaptığı çalışmada, *A. baumannii* suşlarında test edilen tüm antibiyotiklerde %60'ın üzerinde direnç görülmüş olup, direnç oranları karbapenemlere %77.2, piperasilin/tazobaktam %78.1, siprofloksasine %78.6 olarak saptanmıştır. *P. aeruginosa* suşlarında ise aminoglikozid, karbapenem, piperasilin/tazobaktam ve antipsödomonal sefalosporinlere karşı direnç oranları %20'nin altında olup, siprofloksasin direnci %25.8 oranında saptanmıştır. Çuha ve ark.'nın⁽²⁷⁾ yaptığı çalışmadaki *P. aeruginosa* suşları ile çalışmamızdaki *Pseudomonas* suşları karşılaştırıldığında direnç oranları çalışmamızda daha yüksek, çalışmamızdaki *Acinetobacter* suşlarının direnç oranları Çuha ve ark.'nın⁽²⁷⁾ çalışmasındaki *A. baumannii* suşları ile karşılaştırıldığında daha düşük olarak bulunmuştur. Bu durum her merkezin kendi antibiyotik direnç oranlarını düzenli aralıklarla değerlendirmesinin önemini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda oral kullanımı olan, ampirik tedavide sıklıkla tercih edilen antibiyotiklere

karşı görülen artmış direncin yanında, yatan hastalarda sıklıkla tercih edilen piperasilin-tazobaktam, karbapenem ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı da önemsenmesi gereken direnç oranları görülmüştür. Bu durum tedavi seyrini kültür sonucuna göre şekillendirmenin önemini göstermektedir. Ayrıca hem enterik hem Gram pozitif bakterilerde hem de nonfermenterlerde hastane enfeksiyonu etkenlerinde kinolon direnci toplum kaynaklı etkenlerle karşılaştırıldığında oldukça yüksek bulunmuştur. Bu durum kinolonların pnömoni, gastroenterit, üriner sistem enfeksiyonları gibi birçok nedenle kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Antibiyotik direncinde zamanla meydana gelen değişimi ortaya koymak, özellikle ampirik tedavi başlarken çok önemlidir. Hastanemizde bu konuyla ilgili yakın zamanda çalışma yapılmamış olmasından dolayı çalışmamız merkezimizde başlanacak tedaviler açısından da önemlidir.

Etik Kurul Onayı: Çalışma için Düzce Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 07.12.2020 tarih ve 2020/252 numarası ile onay alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Duzce University, Medical Faculty, Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee (12.07.2020-2020/252).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Gülcan A, Aslantürk A, Gülcan E. İdrar kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve in vitro antibiyotik duyarlılık durumları. *Abant Tıp Dergisi*. 2012;1(3):129-35. <https://doi.org/10.5505/abantmedj.2012.36035>
2. Şenol A, Yakupoğulları Y, Şenol FF. Toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarında genişlemiş spektrumlu β-laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. ve antimikrobiyal dirençleri. *Klimik Derg*. 2020;33(2):163-8. <https://doi.org/10.5152/kd.2020.34>
3. Temoçin F, Köse H. Poliklinik hastalarının idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretim oranları ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Ankem Derg*. 2018;32(3):79-86. <https://doi.org/10.5222/ankem.2018.1811>
4. Kuru C, Kal Çakmaklıoğulları E. Karabük ili ve çevresinde idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2020;5(1):17-24. <https://doi.org/10.26453/otjhs.530372>
5. Mert D, Çeken S, Ertek M. İdrar yolu enfeksiyonlarında kültürden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg*. 2020;77(1):25-32. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2019.57984>
6. Karamanlıoğlu D, Aysert-Yıldız P, Kaya M, Sarı N. İdrar kültürlerinden izole edilen enterik bakterilerde genişlemiş spektrumlu β-laktamaz oluşturma sıklığı ve antibiyotik duyarlılıkları. *Klimik Derg*. 2019;32(3):233-9. <https://doi.org/10.5152/kd.2019.68>
7. Guidelines on Urological infections. European Association of Urology 2020 [<https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Urological-infections-2020.pdf>]. (Erişim tarihi: 25/01/2021).
8. T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Rehberi. Ankara 2017. [<https://denizliism.saglik.gov.tr/Eklenti/15719/0/ulusal-saglik-hizmeti-iliskili-enf-surveyansi-rehberipdf.pdf>] (Erişim tarihi: 27/12/2020).
9. Çelikkbilek N, Gözalan A, Özdem B, Kırca F, Açıköz ZC. Ayaktan başvuran hastaların idrar kültürlerinde üretilen *Enterobacteriaceae* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi: Yedi yıllık izlem sonuçları. *Mikrobiyol Bul*. 2015;49(2):259-65. <https://doi.org/10.5578/mb.9031>
10. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf]. (Erişim tarihi: 10/10/2020).
11. Çağan SA, Genç S, Batirel A, Haciseyitoğlu D, Özer S. CLSI ve EUCAST önerilerine göre genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* idrar izolatlarında fosfomisin duyarlılığı. *Mikrobiyol Bul*. 2014;48(4):545-55. <https://doi.org/10.5578/mb.8327>
12. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*. 2015;13(5):269-84. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3432>

13. Çalgın M, Çetinkol Y, Erdil A. Ordu ilinde çocukların idrar örneklerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik direnç oranları. *Bozok Tıp Derg.* 2017;7(1):64-9.
14. Budak S, Sarı U, Aksoy E, ve ark. Üriner sistem enfeksiyonlarına yol açan bakterilerin dağılımı ve *E. coli* için antibiyotik direnç oranlarının incelenmesi. *Yeni Üroloji Dergisi.* 2015;10(1):23-6.
15. Duran H, Çeken N, Kula Atik T. İdrar kültüründen izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç oranları: Dört yıllık analiz. *Ankem Derg.* 2020;34(2):41-7.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2020.041>
16. Mancini A, Pucciarelli S, Lombardi FE, Barocci S, Pauri P, Lodolini S. Differences between community-and hospital-acquired urinary tract infections in a tertiary care hospital. *New Microbiol.* 2020;43(1):17-21.
17. Özçetin M, Saz EU, Karapınar B, Özen S, Aydemir Ş, Vardar F. Hastane enfeksiyonları; sıklığı ve risk faktörleri. *Çocuk Enf Derg.* 2009;3(2):49-53.
18. Karahocagil MK, Yaman G, Gökteş U. ve ark. Hastane enfeksiyon etkenlerinin ve direnç profillerinin belirlenmesi. *Van Tıp Derg* 2011;18(1):27-32.
19. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: A 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis.* 2011;52(5):e103-20.
<https://doi.org/10.1093/cid/ciq257>
20. Avcıoğlu F, Behçet M. Üriner sistem enfeksiyonu etkeni *Escherichia coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2020;50(3):172-7.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2020.172>
21. Doğan M, Aydemir Ö, Feyzioğlu B, Baykan M. Çocukların idrar örneklerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Derg.* 2013;27(4):206-12.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2013.206>
22. Şimşek M. İdrar kültürlerinden izole edilen enterokok suşlarının tür dağılımları ve antibiyotik duyarlılıkları. *Kocatepe Tıp Dergisi.* 2019;20(1):177-82.
<https://doi.org/10.18229/kocatepetip.529275>
23. Ergin ÖY, Bayram ED, Uzun B, Güngör S, Demirdal T. İdrar kültürlerinden izole edilen *Enterococcus* türleri ve antibiyotik dirençleri. *Ankem Derg.* 2013;27(4):173-8.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2013.173>
24. Ece Terek G, Tuncel Başoğlu M. Bir üniversite hastanesine gönderilen idrar kültürlerinde üreyen izolatların dağılımı ve antimikrobiyal duyarlılık profilinin incelenmesi. *Ege Tıp Dergisi.* 2013;52(3):136-40.
25. Geçit İ, Yücel M, Kebeci F, Özyaydın Ç, Öksüz Ş, Yavuz T. Düzce Atatürk Devlet Hastanesi Üroloji Polikliniği'ne başvuran hastaların idrar kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik dirençleri. *Konuralp Med J.* 2013;5(3):34-7.
26. Gajdacs M, Burian K, Terhes G. Resistance levels and epidemiology of non-fermenting gram-negative bacteria in urinary tract infections of inpatients and outpatients (RENFUTI): A 10-Year Epidemiological Snapshot. *Antibiotics (Basel).* 2019;8(3):143-55.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics8030143>
27. Demir Çuha M, Hazırolan G. İdrar kültürlerinden izole edilen nonfermentatif bakterilerin dağılım özelliklerinin ve antibiyotik direncinin analizi. *Ankem Derg.* 2020;34(2):48-56.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2020.048>

Farklı Klinik Yakınmalı Hastalarda İzole Hepatit B Kor Antikoru (İzole Anti-Hbc) Pozitifliğinin Retrospektif Değerlendirilmesi

Retrospective Evaluation of Isolated Hepatitis B Core Antibody (Isolated Anti-Hbc) Positivity in Patients with Different Clinical Complaints

Seher Akkuş*¹, Merve Cihan*¹, Rüyeyda Akçin*¹, Doğukan Özbey*¹, Harika Öykü Dinç**¹
Tevhide Ziver***¹, Nesrin Gareayaghi****¹, Serhat Sirekbasan****¹, Suat Sarıbaş*¹,
Mert Ahmet Kuşkuç*¹, Hrisi Bahar Tokman*¹, Bekir S. Kocazeybek*¹

* İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

** Bezmîlem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

*** Doğu Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Gazimağusa, Kıbrıs

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

***** Çankırı Karatekin Üniversitesi, Eldivan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Çankırı, Türkiye

Atıf/Cite as: Akkuş S, Cihan M, Akçin R, Özbey D, Dinç HÖ, Ziver T, Gareayaghi N, Sirekbasan S, Sarıbaş S, Kuşkuç MA, Tokman HB, Kocazeybek BS. Farklı klinik yakınmalı hastalarda izole hepatit B kor antikoru (izole Anti-Hbc) pozitifliğinin retrospektif değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):263-70.

Öz

Amaç: Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Seroloji/ELISA Laboratuvarı'nda hepatit B serolojisi testleri çalışılmış olan olgu örneklerinde görülen hepatit B kor antikoru (anti-Hbc) pozitifliği prevalansının belirlenmesi ve HBV DNA varlığı yönünden değerlendirilmesi ile birlikte bu atipik paternin farklı klinik durumlar ile ilişkisinin irdelemesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya, Ocak 2014-Ekim 2019 tarih aralığında, hepatit belirteçlerinden HBsAg, anti-HBs ve anti-Hbc tetkikleri aynı tarihte çalışılan 31.939 olgu dâhil edildi. Olguların seroloji parametreleri retrospektif olarak incelendi. Olguların serum örneklerinden HBV parametreleri kemilüminesan mikropartikül immünoassay (CMIA) ve/veya enzim bağlı immün Assay (ELISA) prensipli ticari kitler ile açık ve kapalı sistemlerde çalışıldı. HBV DNA kantitatif düzeyleri Real Time PCR ile çalışıldı. Verilerin toplanması ISHOP hastane otomasyon sistemi üzerinden yapıldı.

Bulgular: Toplam 31.939 örneğin, 1.356'sında (%4.24) izole anti-Hbc pozitifliği saptandı. Bu 1.356 olgunun 65 (%4.8)'inde HBV-DNA pozitif bulundu. Bu profilin en sık saptandığı klinik %28.09 oranı ile genel dâhiliye olup, bunu %10.69 ile romatoloji, %10.54 ile onkoloji, %10.17 ile hematoloji ve %8.84 ile gastroenteroloji izlemiştir.

Sonuç: Çalışmamızdaki izole anti-Hbc seropozitiflik oranı ülkemizde yapılan çalışmalara benzer bulunurken, genel dâhiliye ile birlikte özellikle romatoloji, onkoloji, hematoloji ve gastroenterolojide karşılaştığımız oranlar dikkat çekicidir. İzole anti-Hbc pozitifliği kronik HBV enfeksiyonundan, yalnızca reaktiviteye kadar farklı klinik tabloların göstergesi olarak karşımıza çıkabilir, bu nedenle ileri tetkik ve izlem önemlidir.

Anahtar kelimeler: Hepatit B, izole anti-Hbc pozitifliği, atipik seroloji

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to determine the prevalence of B core antibody (anti-Hbc) positivity which is seen in hepatitis B serology of the studied serum samples in Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty hospital serology/ELISA laboratory. We also aimed to identify the association of this atypical pattern with various clinical presentations.

Method: This study included 31.939 patients whose HBsAg, anti-Hbc and anti-HBs hepatitis markers were analyzed between January 2014 and October 2019. The serological parameters of the cases were assessed retrospectively. HBV parameters from serum samples of the cases were analyzed in open and closed systems using commercial kits based on chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) and/or enzyme-linked Immune Assay (ELISA). HBV DNA quantitative levels were analyzed by Real Time PCR. Data collection was done through the ISHOP hospital automation system.

Results: Isolated anti-Hbc positivity was detected in 1356 (4.24%) of a total of 31.939 samples. HBV-DNA- positivity was found in 65 (4.8%) of these 1356 cases. This profile was most frequently detected in general internal medicine clinic with a rate of 28.09%, followed by clinics of rheumatology (10.69%), oncology (10.54%), hematology (10.17%) and gastroenterology (8.84%).

Conclusion: While the rate of isolated anti-Hbc seropositivity in our study was found similar to the studies conducted in our country, the rates we encountered especially in rheumatology, oncology, hematology and gastroenterology together with general internal medicine clinics were remarkable. It may be confronted with isolated anti-Hbc positivity may confront us as indicators of different clinical presentations from false reactivity to chronic HBV infection. Therefore, further examination and follow-up is important.

Keywords: Hepatitis B, isolated anti-HBV positivity, atypical serology

Alındığı tarih / Received:

30.09.2020 / 30.September.2020

Kabul tarihi / Accepted:

23.03.2021 / 23.March.2021

Yayın tarihi / Publication date:

07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kayıtları

S. Akkuş 0000-0002-9236-2062

M. Cihan 0000-0002-0075-051X

R. Akçin 0000-0002-6993-0383

D. Özbey 0000-0002-0596-1551

H.Ö. Dinç 0000-0003-3628-7392

T. Ziver 0000-0002-7338-1292

N. Gareayaghi 0000-0002-0812-1128

S. Sirekbasan 0000-0001-7967-3539

S. Sarıbaş 0000-0002-4549-3887

M.A. Kuşkuç 0000-0001-8735-5725

H.B. Tokman 0000-0002-2205-5120

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

✉ bzeybek@istanbul.edu.tr

GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu tüm dünyada oldukça yaygın görülen ciddi bir halk sağlığı sorunudur ve küresel sağlık için önemli bir tehdittir. Dünya çapında yaklaşık 257 milyon insanın kronik HBV enfeksiyonu vardır ve kabaca 2 milyar kişi (3 kişiden 1'i) mevcut veya geçirilmiş HBV enfeksiyonunun bulgularını göstermektedir⁽¹⁾. Her yıl yaklaşık olarak 600.000 kişinin HBV enfeksiyonunun neden olduğu siroz ve hepatosellüler karsinom nedeni ile yaşamını kaybettiği bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verileri dikkate alındığında dünyada her yıl tahmini 450 milyon yeni HBV enfeksiyonunun ortaya çıkması ve bunların yaklaşık ¼'ünün kronikleşmesi, bu sürecin önümüzdeki dekadlarda da devam edeceğinin bir göstergesidir⁽²⁾. HBV enfeksiyon görülme sıklığı endemik özelliklere göre %2-%8 aralığında farklı ülkeler arasında değişkenlik göstermektedir. Buna göre görülme sıklığı %8 ve üzeri olan ülkeler yüksek, %2-7 aralığında olanlar orta ve %2 altında olanlar düşük endemisiteli olarak üç gruba ayrılmaktadır. Ülkemizin, HBV prevalansının %4.7 olması ile orta endemisite kuşağında olduğu kabul edilmektedir^(3,4).

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu sırasında HBsAg ve anti-HBs; preS antijeni ve anti-preS antikor; HBcAg ve anti-HBc, HBeAg ve anti-HBe olmak üzere en az dört antijen-antikor sistemi gözlenmektedir. Bu antijen-antikor sistemlerinin test edilmesi ile hepatit B enfeksiyonu tanısı konulur ve hastalığın gidişatı gözlenebilir⁽⁵⁾. Günümüzde HBV enfeksiyonunun tanısında veya prognozunun değerlendirilmesi sürecinde viral antijenlerin ve antijenlere karşı oluşmuş olan antikorların saptanmasına dayanan serolojik yöntemler yetersiz kalabilmektedir⁽⁶⁾. Bu durumlarda moleküler yöntemler kullanılarak yapılan HBV DNA saptanması önem kazanmaktadır⁽⁷⁾. Hem HBV enfeksiyonunun tanısında hem de klinik seyrinin değerlendirilmesine izin veren serolojik bulgular, viral protein ekspresyonunun ve antikor üretiminin dinamikleri, enfeksiyonun doğal seyri sırasında değişebilir. Bu durum, HBV enfeksiyonunun atipik serolojik profillerinin oluşmasına neden olurlar⁽⁵⁾.

Atipik serolojik profiller içinde en çok karşımıza çıkan

izole anti-HBc pozitifliği ve farklı toplumlarda incelendiğinde sıklığının %0.1-20 arasında değiştiği görülmektedir^(8,9). Ülkemizde bu oran ortalama %3-5 olarak bilinmektedir. Atipik serolojik profiller ile karşılaşıldığında tanı ve izlem aşamasında yorumlama zorlukları nedeni ile ileri inceleme ve değerlendirme yapılması gerekmektedir. Bununla birlikte, HBV enfeksiyonları sırasında atipik serolojik profile sahip test sonuçları ile göz ardı edilemeyecek oranda karşılaşılmaktadır⁽¹¹⁾. Bu atipik paternin genel dahiliye başta olmak üzere özellikle romatoloji, onkoloji, hematoloji ve gastroenteroloji hastalarında daha sık görülmesi bu atipik paternin önemini artırmaktadır. Bu kliniklerle ilişkili özellikli hasta gruplarında (organ nakil hastalarında, hemodiyaliz hastalarında, romatolojik hastalığı olanlarda, immünsupresif tedavi alan hastalarda) bu atipik profil daha fazla risk oluşturmaktadır⁽¹⁰⁾. Ülkemizde ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak kabul gören HBV enfeksiyonunu doğru değerlendirmek ve izole anti-HBc bireylerin HBV enfeksiyonu için rolünü ve klinik yansımalarını tam olarak anlamak önemli bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu atipik profil ile ilgili yapılan tüm çalışmalar, retrospektif değerlendirme sonuçları bu sürecin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacaktır. Bu çalışmada, retrospektif olarak hepatit B serolojisi testleri çalışılmış olan hasta örneklerinde, izole anti-HBc pozitifliği prevalansının belirlenmesi ve HBV DNA varlığı yönünden değerlendirilmesi ile birlikte bu atipik paternin farklı klinikler ile ilişkisinin irdelenmesini ve bu oranların ülkemiz verilerine katkı sağlanmasını amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 04.11.2020 tarih ve 145303 numarası ile onay alınmıştır. Çalışmamız için, Ocak 2014 - Ekim 2019 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Hastanesi Mikrobiyoloji Seroloji/ELISA laboratuvarına başvuran ve hepatit belirteçleri çeşitli nedenlerle araştırılan 31.939 olgunun, HBsAg, anti-HBs, anti-HBc IgM, anti-HBc IgG, HBeAg, anti-HBe test sonuçları ve olgulara ait demografik veriler (cinsiyet ve yaş), hastanenin İSHOP otomasyon sisteminde bulunan

kayıtlarda retrospektif olarak incelenmiş olup, HBsAg negatif, anti-HBs negatif, anti-HBc IgM negatif ve anti-HBc IgG pozitif serolojik durum "izole hepatit B kor antikoru (izole anti-HBc) pozitifliği" olarak tanımlanmıştır. Yapılan araştırma sonucunda, ilk başvurduklarında ve en az 30 gün sonraki tekrarlarında da ikinci kez, HBsAg negatif, anti-HBs negatif, anti-HBc IgM negatif ve anti-HBc IgG pozitif olup, izole anti-HBc pozitifliği profiline sahip olan 1356 olgu retrospektif olarak değerlendirmeye dâhil edilmiştir. Çalışmamızda, bu olgulardaki, HBV belirteçlerine ek olarak, HBV-DNA varlığı yine aynı sistemdeki kayıtlardan retrospektif olarak araştırılmıştır.

Serolojik Testler: HBV belirteçlerinin saptanması, aşağıdaki metotları kullanan ticari kitler ile açık ve kapalı sistemlerde çalışılmıştır.

1. Kemilüminesan mikropartikül immünoassay (CMIA)

Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) analizörü ve bu analizörle uyumlu Roche Cobas Elecsys kitleri ve Architect i1000 cihazında, Abbott (ABD) kitleriyle çalışmalar gerçekleştirilmiş ve yorumlanmıştır.

2. Enzim bağlı İmmün Assay (ELISA)

Açık sistem ile Triturus Grifols ELISA cihazında (İspanya), HBs Ag ve anti-HBs, anti-HBc IgM ve anti-HBc IgG, HBe-ag ve anti-HBe (sırasıyla, surase B-96, anti-corase ve EASE BN-96, General Biologicals, Tayvan) kitleriyle çalışılmış ve kit yönergelerine uyularak testler sonuçlandırılıp yorumlanmıştır.

Moleküler Testler: HBV DNA moleküler testi, Real Time PCR (Cobas AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV test v.2 Roche Molecular Systems, ABD) ile çalışılmıştır. Analitik duyarlılık HBV DNA moleküler testi için 20 IU/ml'dir.

BULGULAR

Retrospektif olarak, 2014 Ocak-2019 Ekim tarihleri arasında anti-HBc test istemi yapılmış olan olgu sayıları belirlenmiş ve toplamda 31.939 olgu için anti-HBc test istemi yapıldığı ve bunların 24.942 (%78.09)'sinin negatif, 6.997 (%21.91)'sinin pozitif

sonuçlandığı belirlenmiştir. Anti-HBc test sonucu pozitif olan 6.997 olgunun, HBsAg ve anti-HBs belirteçleri de değerlendirilerek, HBsAg negatif, anti-HBs negatif, anti-HBc IgM negatif ve anti-HBc IgG pozitif olarak saptanan 1.356 (%4.24) olgu, izole anti-HBc'li olgu olarak tanımlanmıştır ve bu olgulara ait serolojik bulgular Tablo 1'de gösterilmiştir. Ayrıca, bu olgular arasında, HBV DNA test istemi yapılmış olan 325 olgunun, 260 (19.17)'inin negatif, 65 (4.79)'inin ise pozitif olarak sonuçlandığı da saptanmıştır (Tablo 2). Klinik branşlar tarafından izole anti-HBc pozitif 1.356 olgu için, HBV DNA moleküler test istemi %24.52 oranında saptanmıştır.

Tablo 1. Anti-HBc testi istenen 31.939 olgunun serolojik test sayı ve yüzdeleri.

Serolojik Testler	Sayı	Yüzde
Total anti-HBc	31.939	100
Total anti-HBc (-)	24.942	78.09
Total anti-HBc (+)	6.997	21.91
İzole anti-HBc (+)	1.356	4.24

Tablo 2. İzole anti-HBc (+) olgulardaki Real Time PCR (HBV-DNA) test sayısı ve yüzdeleri.

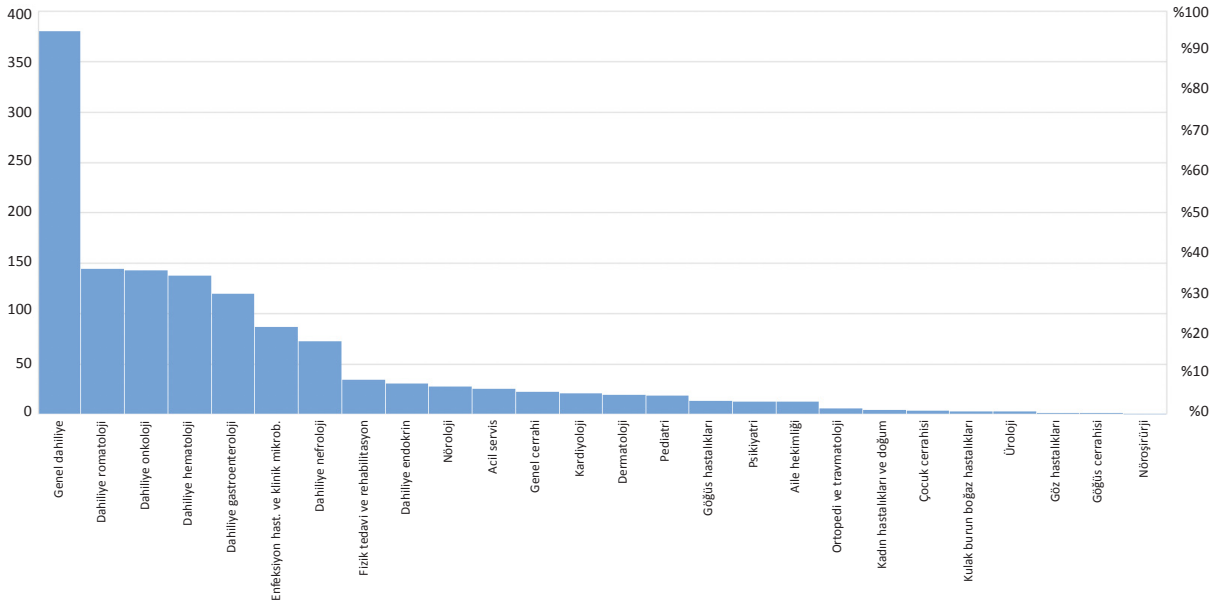
NAT	Sayı	Yüzde
HBV-DNA	325	100
İzole anti-HBc (+) HBV-DNA (-)	260	19.17
İzole anti-HBc (+) HBV-DNA (+)	65	4.79

izole anti-HBc pozitif olguların, 703 (%51.93)'ü erkek, 651 (%48.07)'i kadın olarak saptanmış ve bu olguların yaş ortalamaları 55.14±16.6 (yaş aralığı: 0-93) olarak bulunmuştur. İzole anti-HBc pozitif olguların, 22 (%1.62)'si ≤17 yaş, 216 (%15.95)'si 18-39 yaş aralığında, 1.116 (%82.42)'si ise ≥ 40 yaş olarak saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. İzole Anti-Hbc Pozitif olguların demografik özellikleri.

	Sayı	Yüzde
Cinsiyet		
Kadın	651	48.07
Erkek	703	51.93
Yaş		
≤ 17	22	1.62
18-39	216	15.95
≥ 40	1116	82.42

izole anti-HBc pozitifliğinin istem yapan kliniklere göre dağılımını irdelediğimizde, bu atipik profilin en



Şekil 1. İzole anti-HBc pozitifliğinin klinik branşlara göre görülme sıklığı.

sık olarak saptandığı kliniklerin, dâhiliye ve dâhiliye ilişki branşlar olduğu görülmüştür. İzole anti-HBc pozitifliği saptanan 1356 olgunun 1031 (%76.03)'inin bu kliniklere başvuran olgulardan saptandığı gözlenmiştir (Şekil 1).

TARTIŞMA

Hepatit B virüsü, tüm dünyada ve ülkemizde hâlen sorun olan ve yaygın olarak görülen enfeksiyon etkenlerinden birisidir. HBV enfeksiyonunun tanı ve tedavi sürecinde ve prognozunu değerlendirilmesinde serolojik belirteçlerin yanı sıra viral replikasyon varlığı HBV-DNA moleküler yöntemlerle saptanmaktadır^(7,12,13). İzole anti-HBc pozitifliğinin yalancı pozitiflik oranı azımsanmayacak oranda yüksektir^(14,15).

Tek başına anti-HBc pozitifliği varlığı, immün baskılanmış bireylerde HBV reaktivasyonuna yol açabilir⁽¹⁶⁾. Çalışmamızda, bu atipik profili %76.03 gibi yüksek bir oranla dâhiliye ve dâhiliye ilişkili branşlarda (romatoloji, onkoloji, hematoloji, gastroenteroloji) saptadık. Organ nakil ve immün sistemi baskılayan bir tedavi alan hastalarda ve kan donörlerinde izole anti-HBc pozitifliğinin varlığının önemli olduğunu düşünüyoruz. Ayrıca kan bankacılığında da dikkate alınması gereken önemli bir durumdur⁽¹⁰⁾. Bazı hastalarda, Hepatit

B virus enfeksiyonunun iyileşmesini takiben anti-HBs antikorunun saptanamayacak düzeylere düşmekte, bazı hastalarda uzamış pencere dönemi bu duruma neden olmaktadır. Ancak, bu olgularda anti-HBc IgM genellikle pozitifdir. Başka bir olası durum olan geç immünite döneminde ise, HBV enfeksiyonunun rezolüsyona uğramasından seneler sonra anti-HBs belirtecinin kaybolması ile birlikte yalnızca anti-HBc pozitifliğinin görülmesidir. Ayrıca kronik HBV enfeksiyonlarında da HBsAg'nin baskılanmış olması ya da düşük seviyelerde HBsAg yapımı olması nedeniyle izole anti-HBc pozitifliğinin görülebilmesidir. Kan transfüzyonunu sonrasında ya da anneden bebeğe geçen antikorlar da izole anti-HBc pozitifliği nedenleri arasında sayılabilir. Yalancı HBsAg negatifliği de nedenler arasında yer almaktadır. HBsAg belirtecinin seviyesinin, saptama değerinin altında olması veya HBsAg belirtecinin majör antijenik determinantının mutasyonu nedeni ile de negatiflik saptanabilir. Anti-HBc belirtecinin yalancı pozitifliği de (%50-60 oranında görülmektedir) nedenler arasında sayılmaktadır^(15,17-19).

Testlerdeki HBcAg belirtece benzer epitoplara sahip olan antijenik yapılara karşı oluşan antikorların çapraz reaksiyona girmesi ile de yalancı izole anti-HBc pozitifliği görülebileceği gibi aşı ya da immünglobulin uygulamaları veya gerçek bir HBV enfeksiyonu

sonucu da ortaya çıkmış olabilir. HBV enfeksiyonu ile diğer hepatotrop virüs (HCV, HIV vb.) enfeksiyonlarının bir arada görülmesi de HBV replikasyonunda azalmaya neden olarak, izole anti-HBc pozitifliğine neden olabilir^(20,21).

İzole anti-HBc pozitifliğinin dünyada görülme sıklığı, %0.1-20 aralığında farklılıklar göstermektedir⁽¹⁰⁾. Avrupa'da ve Amerika Birleşik Devletleri'nde, izole anti-HBc pozitifliği, nüfusun %1-4'ünde saptanmaktadır⁽¹⁵⁾. Kore'den yapılmış bir çalışmada, 14.253 olguda izole anti-HBc pozitifliğinin saptanma oranı %5.9, İspanya'dan ise %10 olarak bildirilmiştir^(22,23). İzole anti-HBc pozitifliği, organ nakli, homoseksüellik, hemodiyaliz ve uyuşturucu kullanımı olan özel hasta popülasyonlarında ise %40 gibi yüksek bir orana sahiptir⁽¹⁰⁾. İran'da yapılan bir çalışmada, 289 hemodiyaliz hastasında %6.2 ve uyuşturucu kullanan mahkumlarda yapılmış bir çalışmada ise %4.5 olarak bulunmuştur⁽²⁴⁻²⁶⁾. Ayrıca başka bir çalışmada ise, uyuşturucu kullanan olgularda %31-46 ve homoseksüellerde %40 gibi oldukça yüksek oranlar bildirilmiştir. Türkiye'de izole Anti-HBc pozitifliğinin sıklığı, 1994-2000 yılları arasında yapılan çalışmalarda, %3-5 oranında bildirilmiştir⁽¹⁰⁾. Yine Türkiye'den izole anti-HBc pozitifliğini %4.7 ve %3.82 olarak bildiren çalışmalar vardır^(11,27). Sonuçlarımız olan 1.356 (%4.24) ile diğer Türkiye verileri uyumlu olup, diğer ülkelere göre daha düşüktür.

İzole anti-HBc pozitifliği transfüzyonlardaki HBV bulaşının önemli nedenlerinden birisi olarak karşımıza çıkarmaktadır⁽²⁸⁾. Türkiye'de Altunay ve ark.⁽²⁹⁾ 12858 kan donörünün, %5.1'inde anti-HBc pozitifliği ve %0.91'inde HBV-DNA pozitifliği saptarlarken, başka bir kan donörlü çalışmada ise %2.5 izole anti-HBc pozitifliği saptanmış olup, yalnızca 1 (%0.011) donörde HBV DNA pozitifliği bulunmuştur⁽³⁰⁾. Türkiye'den bildirilmiş başka çalışmada ise, kan donörlerinde %1.8 pozitiflik saptanırken, yalnızca 3 (%6.6)'ünde HBV DNA pozitifliği bulunmuştur⁽³¹⁾. Almanya'dan bildirilen bir çalışmada ise, 15.000 kan donöründe, %0.2 izole anti-HBc pozitifliği saptanırken⁽¹⁵⁾, Suudi Arabistan'dan bildirilen bir çalışmada ise %1.25 oranında izole anti-HBc pozitifliği saptanmış olup, bunlardan yalnızca 1 (%1.25)'inde HBV DNA pozitifliği

belirlenmiştir⁽³²⁾. Bizim çalışmamızda ise, kan donörleri bulunmamaktadır.

İzole anti-HBc pozitifliği saptanan olgularda saptanan HBV DNA oranları çeşitli çalışmalarda %0-30.5 arasında değişmektedir⁽¹⁹⁾. Weber ve ark.⁽³³⁾ bu olguların %14.4'ünde HBV-DNA pozitifliğini bildirirlerken, Knöll ve ark.⁽³⁴⁾ ise bu olguların %8.1'inde HBV DNA pozitifliği bulmuşlardır. Bayram ve ark.⁽³⁵⁾ bu olguların %30.5'inde HBV DNA pozitifliği saptarlarken, Keyvani ve ark.⁽³⁶⁾ hemodiyalizli bu profile sahip hastaların %4.9'unda HBV DNA pozitifliği saptamışlardır. Tekay'ın çalışmasında ise, 124 izole anti-HBc olgunun hiçbirinde HBV-DNA saptanmamıştır⁽³⁷⁾. Aynı şekilde Yunanistan'dan bildirilen bir çalışmada da izole anti-HBc'li kan donörlerinin hiç birinde HBV DNA pozitifliği saptanmamıştır⁽³⁸⁾. Sonucumuz %4.8, Keyvani ve ark.⁽³⁶⁾ ile uyumlu gözükürken diğer çalışmalardan daha düşük oranda saptanmıştır.

Çalışmamızda, izole anti-HBc pozitif saptanan olguların 65 (%4.8)'inde HBV DNA pozitifliği saptanmış olup, 56 olguda HBV DNA kantitatif düzeyi <2000 IU/ml (104 kopya/ml) ve 9 olguda ise HBV DNA kantitatif düzeyi >2000 IU/ml (104 kopya/ml) olarak bulunmuştur. Bu profilin en sık saptandığı kliniğin %28.09 ile genel dâhiliye olduğunu görmekteyiz. Genel dâhiliye çok sayıda hastanın başvurduğu bir klinik olması dolayısı ile bu atipik paternin daha sık görülmesi, beklenen bir durumdur. Bununla birlikte, genel dâhiliyeyi %10.69 ile romatoloji, %10.54 ile onkoloji, %10.17 ile hematoloji ve %8.84 ile gastroenteroloji klinikleri izlemiştir. Hepatit B virüs enfeksiyonlarının otoimmün hastalık etiopatogenezinde önemli bir rol oynayabileceği hatta çeşitli romatolojik semptomlar ile ortaya çıkabileceği uzun zamandır bilinmektedir⁽³⁹⁾. Özellikle onkolojik hastalıklarda (meme kanseri, hematolojik maligniteler vb.), kemoterapi ve kemoterapötiklerin immün baskılama potansiyelleri ve virüse ait özellikler (HBV DNA >3x10⁵ kopya/mL olması, HBeAg pozitifliği, HBsAg pozitifliği, okkült HBV enfeksiyonu, izole anti-HBc pozitifliği) HBV reaktivasyonu için önemli risk faktörleri olarak karşımıza çıkmaktadır⁽⁴⁰⁾. İmmün baskılayıcı ilaçlar, romatolojik hastalıklarda hastanın inaktif HBV taşıyıcısı olması durumunda genellikle asempto-

matik HBV reaktivasyonlara neden olmaktadır⁽⁴¹⁾. Kemoterapi verilen hematolojik veya solid tümörü olan hastalarda da HBV reaktivasyonu ortaya çıkabilir, literatürde özellikle hematolojik kanseri olan hasta gruplarında daha sıklıkla reaktivasyonun (%14-67 sıklıkla) görüldüğü bildirilmektedir^(40,42).

Giderek artan biyolojik ve immünmodülatör tedaviler (anti-TNF, antimetabolit, pürin analogları, steroidler ve rituksimab, siklosporin gibi diğer ilaçlar), romatolojik (sistemik lupus eritematoz, romatoid artrit, vaskülit gibi) ve gastroenterolojik (irritable bağırsak sendromu, otoimmün hepatit gibi) hastalarında sıklıkla kullanılmakta ve HBV reaktivasyonuna neden olabilmektedirler⁽⁴³⁾. Kemoterapötikler ve immünsüpresif ajanlar, biyolojik ve immünmodülatör tedaviler farklı mekanizmalar aracılığı ile immünsüpresif durum oluşturup HBV reaktivasyonuna neden olabilirler⁽⁴⁰⁾. Örneğin, TNF- α , virüsün karaciğerden eradikasyonuna yardımcı olan önemli bir sitokindir. Anti-TNF tedavilerin kullanımı ile ortaya çıkan düşük TNF- α seviyeleri veya TNF- α nötralizasyonu sonucu HBV'ye karşı sitotoksik CD8 + tepkilerinin azalması ile reaktivasyon oluşabilmektedir⁽⁴⁴⁾. Glukokortikoidler (GC) T hücresi sitotoksik fonksiyonunu baskılar, böylece konakçının virüs üzerindeki bağışıklık kontrolünü azaltır, ancak aynı zamanda HBV genomunda GC'e duyarlı transkripsiyonel bir düzenleyici elemanı aktive ederek doğrudan HBV-DNA replikasyonunu uyarabilirler^(45,46). Bir meta-analizde anti-TNF ile tedavi edilen 468 HBsAg negatif/anti-HBc pozitif romatizmal hastada % 1.7'lik bir HBV insidansı bildirilmiştir⁽⁴⁷⁾. HBV reaktivasyonu süreci 2 fazdan oluşmaktadır. İlk fazda kemoterapötiklerin veya immünsüpresif ajanların etkisine bağlı oluşan immün baskılanma durumu nedeni ile viral replikasyonun artışı olmakta, hepatositlerde viral protein ekspresyonu artmakta ve sonuçta HBV DNA artmaktadır. İkinci fazda ise, kemoterapötik ya da immün baskılayıcı ajanlar ile tedavinin sonlandırılması ile immünitinin düzelmesi ile oluşmaktadır ve bu aşamada immün yanıtın artması sonucunda viral protein ekspresyonu devam eden hepatositler hasara uğramakta ve bu olguların olguların %4-41'inde ölüm meydana gelebilmektedir^(48,49). HBsAg belirtecinin negatif, HBV DNA testinin pozitif olması ve/veya anti-HBc belirtecinin pozitif

olması durumlarında, monoklonal antikor tedavisi, sitotoksik kemoterapi ya da immünsüpresif ilaç tedavisi verilen hasta gruplarında başka koşul aranmaksızın profilaksi başlanması gerektiği önerilmektedir⁽⁵⁰⁾.

Sonuç olarak, izole anti-HBc pozitifliği sık olarak görülmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz %4.24'lük oran ihmal edilemeyecek düzeydedir. Atipik serolojik profillerin saptandığı hasta grupları "potansiyel enfeksiyöz" kabul edilmelidir. Bu olguların diğer olası nedenlerden ayrımının yapılması oldukça önemlidir, çünkü kronik enfeksiyon döneminde hastalar potansiyel enfeksiyöz olabilmektedir. Ayrıca hastaların prognozu ve hastalığın enfektivitesini anlamak için ilk çalışılan kitten farklı bir kit ile hepatit belirteçlerinin yeniden çalışılması, pencere dönemini dışlamak için anti-HBc IgM belirtecinin test edilmesi ile birlikte 1-3 ay aralığında anti-HBc belirteci ile anti-HBs belirtecinin yine test edilmesi önerilmektedir. Bu tür sonuçlar ile karşılaşıldığında, mutasyon analizi düşünülmeli, hastalar dikkatli ve sık aralıklarla takip edilmelidir. Atipik serolojik profile sahip hasta gruplarında yeni bir kan örneğinde ek olarak, HBV DNA'nın da test edilmesi oldukça önemlidir.

İzole anti-HBc pozitifliği özellikli (kemoterapi adayları gibi) hasta gruplarında da dikkat edilmesi sorgulanması gereken bir durumdur. Tedavi süreci başlamadan bütün HBV belirteçlerine ait serolojik panel istenmelidir. HBsAg belirteci negatif, anti-HBs belirteci negatif ve anti-HBc belirteci pozitif bireylere aşı kesinlikle uygulanmalı ve aşı uygulamasından 2-4 hafta sonra da antikor titrelerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bir doz aşı uygulaması sonrasında anti-HBs oluşumu belirlenemeyen hastalarda HBV DNA düzeyleri kantitatif olarak duyarlı bir yöntem ile araştırılmalı, viremi saptanan hastalara profilaksisi önerilmelidir.

Etik Kurul Onayı: Çalışma için İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 04.11.2020 tarih ve 145303 numarası ile onay alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Istanbul University-Cerrahpasa Ethics Committee (11.04.2020-145303).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. <http://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/hepatitis-b> (Erişim tarihi: 15 Nisan 2018)
2. Teo EK, Lok ASF. Epidemiology, transmission, and prevention of hepatitis B virus infection [Internet]. Waltham, MA: UpToDate Inc. <https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-transmission-and-prevention-of-hepatitis-b-virus-infection> (Erişim tarihi: 10 Kasım 2018).
3. Kayabaş Ü, Bayındır Y, Yoloğlu S, Akdoğan D. Kronik hepatit B hastalarının aile bireylerinde HBsAg taraması. *Viral Hepa Derg.* 2007;12(3):128-32.
4. Toy M, Önder FO, Wörmann T, et al. Age- and region-specific hepatitis B prevalence in Turkey estimated using generalized linear mixed models: a systematic review. *BMC Infect Dis.* 2011;11:337. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-11-337>
5. Pondé RA. Atypical serological profiles in hepatitis B virus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013;32(4):461-76. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1781-9>
6. Zaaijer HL, ter Borg F, Cuypers HT, Hermus MC, Lelie PN. Comparison of methods for detection of hepatitis B virus DNA. *J Clin Microbiol.* 1994;32(9):2088-91. <https://doi.org/10.1128/JCM.32.9.2088-2091.19947>
7. Çaylan R, Keske Ş. Hepatit B epidemiyolojisi ve tanımlar. In: Arman D, Leblebicioğlu H (eds). *İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Dizisi-13, Kronik Hepatit B.* Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. 2009;9-17.
8. Kazak E, Yılmaz E, Mıstık R, Akalın H, Akgöz S, Görül G. İzole anti-HBc Ig G pozitif olan olgularda hepatit B aşılmasına karşı gelişen antikor yanıtı. *Viral Hep Derg.* 2012;18(2):71-5.
9. Sünbül M, Leblebicioğlu H, Esen S, Eroğlu C, Barut S. Response to hepatitis B vaccine in HBsAg/anti-HBs negative and anti-HBc positive subjects. *Scand J Infect Dis.* 2000;32(3):315-6. <https://doi.org/10.1080/00365540050165983>
10. Altunay H, Kenar S, Koçak N, Çavuşlu Ş. İzole Anti-HBc pozitifliğinde hepatit B virüs enfeksiyözitesinin araştırılması. *Viral Hep Derg.* 2003;8(1):10-5
11. Meşe S, Özekinci T, Yılmaz Ş, Atmaca S, Arıkan E. Salt anti-HBc pozitif örneklerde otoantikör, anti-HCV ve anti-HIV seropozitifliğinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2006;40(3):269-74.
12. Birengel E, Tekeli E. Kronik hepatitlerin epidemiyolojisi. Köksal İ, Leblebicioğlu H, (Eds) *Kronik Hepatitlerin Tanı ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar* (kitabında). 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2009;11-25.
13. Izmirlir S, Celik DG, Yuksel P, et al. The detection of occult HBV infection in patients with HBsAg negative pattern by real-time PCR method. *Transfus Apher Sci.* 2012;47(3):283-87. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2012.07.009>
14. Schmidt M, Nübling CM, Scheiblaue H, et al. Anti-HBc screening of blood donors: a comparison of nine anti-HBc tests. *Vox Sang.* 2006;91(3):237-43. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2006.00818.x>
15. Grob P, Jilg W, Bornhak H, et al. Serological pattern "anti-HBc alone": Report on a workshop. *J Med Virol.* 2000;62(4):450-5. [https://doi.org/10.1002/1096-9071\(200012\)62:4<450::aid-jmv9>3.0.co;2-y](https://doi.org/10.1002/1096-9071(200012)62:4<450::aid-jmv9>3.0.co;2-y)
16. Lau GK, Lee CK, Liang R. Hepatitis B virus infection and bone marrow transplantation. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1999;31(1):71-6. [https://doi.org/10.1016/s1040-8428\(98\)00042-0](https://doi.org/10.1016/s1040-8428(98)00042-0)
17. Robinson WS. Hepatitis B virus and Hepatitis D virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds) *Principles and Practice of infectious Diseases.* 5th Ed. New York: Churchill Livingstone, 2000;1652-85.
18. Horvat RT, Tegtmeier GE. Hepatitis B and D viruses. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC (Eds) *Manuel of Clinical Microbiology.* 8th Ed. Washington, DC: ASM Press, 2003;1464-79.
19. Marusawa H, Uemoto S, Hijikata M, et al. Latent hepatitis B virus infection in healthy individuals with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology.* 2000;31(2):488-95. <https://doi.org/10.1002/hep.510310232>
20. Çetinkol Y, Altunçekiç Yıldırım A, Çalgın M, Altındış M. Atipik hepatit B serolojileri; Retrospektif bir değerlendirme. *Turk J Clin Lab.* 2015;6(4):112-5.
21. Mert A, Şentürk H, Süve İ, ve ark. HBsAg, anti-HBs negatif, anti-HBc pozitif olguların çeşitli yönlerden incelenmesi. *Viral Hep Derg.* 1996;2:92-5.
22. Kang SY, Kim MH, Lee WI. Occult hepatitis B virus infection in Korean patients with isolated anti-HBc. *Arch Virol.* 2014;159(2):227-33. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1810-8>
23. Bárcena R. Hepatitis B infection transmission by anti-HBc-positive grafts. *Gastroenterol Hepatol.* 2014;37(Suppl 2):43-50. [https://doi.org/10.1016/S0210-5705\(14\)70068-8](https://doi.org/10.1016/S0210-5705(14)70068-8)
24. Aghakhani A, Banifazl M, Kalantar E, et al. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients with isolated hepatitis B core antibody: a multicenter study. *Ther Apher Dial.* 2010;14(3):349-53. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2009.00798.x>
25. Shirani K, Nokhodian Z, Kassaian N, Adibi P, Naeini AE, Atefi B. The prevalence of isolated hepatitis B core antibody and its related risk factors among male injected drug users in Isfahan prisons. *Adv Biomed Res.* 2015;4:17. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.148675>
26. Joller-Jemelka HI, Wicki AN, Grob PJ. Detection of HBs

- antigen in "anti-HBc alone" positive sera. *J Hepatol.* 1994;21(2):269-72.
[https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(05\)80407-6](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(05)80407-6)
27. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi EA Hastanesi verileri: Temmuz 2013-Haziran 2014 <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2014/09/izole-antiHBc.pdf> (Erişim tarihi: Kasım 2018).
 28. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The retrovirus epidemiology donor study. *N Engl J Med.* 1996;334(26):1685-90.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199606273342601>
 29. Altunay H, Kosan E, Birinci I, et al. Are isolated anti-HBc blood donors in high risk group? The detection of HBV DNA in isolated anti-HBc cases with nucleic acid amplification test (NAT) based on transcription-mediated amplification (TMA) and HBV discrimination. *Transfus Apher Sci.* 2010;43(3):265-68.
<https://doi.org/10.1016/j.transci.2010.09.012>
 30. Bal SH, Heper Y, Kumaş L T, Mistik R, Töre O. İzole anti-HBc pozitif olgularda HBV-DNA varlığının araştırılması ve bu olguların kan bankacılığı açısından önemi. *Mikrobiyol Bul.* 2009;43(2):243-50.
 31. Tas T, Kaya S, Onal S, Kucukbayrak A. The detection of HBV DNA with polymerase chain reaction in blood donors with isolated hepatitis B core antibody. *Med Glas (Zenica).* 2012;9(2):227-30.
 32. Zekri AR, Awlia AA, El Mahalawi H, Ismail EF, Mabrouk GM. Evaluation of blood units with isolated anti HBC for the presence of HBV DNA. *Dis Markers.* 2002;18(3):107-10.
<https://doi.org/10.1155/2002/156359>
 33. Weber B, Melchior W, Gehrke R, Doerr HW, Berger A, Rabenau H. Hepatitis B virus markers in anti-HBc only positive individuals. *J Med Virol.* 2001;64(3):312-9.
<https://doi.org/10.1002/jmv.1052>
 34. Knöll A, Hartmann A, Hamoshi H, Weislaier K, Jilg W. Serological pattern "anti-HBc alone": characterization of 552 individuals and clinical significance. *World J Gastroenterol.* 2006;12(8):1255-60.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i8.1255>
 35. Bayram A, Balcı İ. Seropozitif ve seronegatif kişilerde hepatit B virus DNA'sının polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılması. *Viral Hep Derg.* 2000;5:206-8.
 36. Keyvani H, Agah S, Kabir A, Alavian SM. Prevalence and risk factors of isolated anti-HBc antibody and occult hepatitis B infection in hemodialysis patients: a nationwide study. *Ann Hepatol.* 2013;12(2):213-9.
 37. Tekay F. Hepatit B virusunun serolojik göstergeleri ile serum hepatit B virus DNA düzeyleri arasındaki ilişki. [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Diyarbakır: Dicle Üniversitesi, 2005.
 38. Zervou EK, Dalekos GN, Boumba DS, Tsianos EV. Value of anti-HBc screening of blood donors for prevention of HBV infection: results of a 3-year prospective study in Northwestern Greece. *Transfusion.* 2001;41(5):652-8.
<https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.2001.41050652.x>
 39. Calabrese LH, Zein NN, Vassilopoulos D. Hepatitis B virus (HBV) reactivation with immunosuppressive therapy in rheumatic diseases: assessment and preventive strategies. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(8):983-9.
<https://doi.org/10.1136/ard.2005.043257>
 40. Yeo W, Zee B, Zhong S, et al. Comprehensive analysis of risk factors associating with Hepatitis B virus (HBV) reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Br J Cancer.* 2004;90(7):1306-11.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601699>
 41. Saag KG, Teng GG, Patkar NM, et al. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;59(6):762-84.
<https://doi.org/10.1002/art.23721>
 42. Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology.* 2006;43(2 Suppl 1): S173-81.
<https://doi.org/10.1002/hep.20956>
 43. Roche B, Samuel D. The difficulties of managing severe hepatitis B virus reactivation. *Liver Int.* 2011;31 (Suppl 1):104-10.
<https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2010.02396.x>
 44. Carroll MB, Forgione MA. Use of tumor necrosis factor alpha inhibitors in hepatitis B surface antigen-positive patients: a literature review and potential mechanisms of action. *Clin Rheumatol.* 2010;29(9):1021-9.
<https://doi.org/10.1007/s10067-010-1523-2>
 45. Perrillo RP, Gish R, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute technical review on prevention and treatment of hepatitis B virus reactivation during immunosuppressive drug therapy. *Gastroenterology.* 2015;148(1):221-244.e3.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.10.038>
 46. Tur-Kaspa R, Shaul Y, Moore DD, et al. The glucocorticoid receptor recognizes a specific nucleotide sequence in hepatitis B virus DNA causing increased activity of the HBV enhancer. *Virology.* 1988;167(2):630-3.
 47. Lee YH, Bae SC, Song GG. Hepatitis B virus (HBV) reactivation in rheumatic patients with hepatitis core antigen (HBV occult carriers) undergoing anti-tumor necrosis factor therapy. *Clin Exp Rheumatol.* 2013;31(1):118-21.
 48. Lau GK. Hepatitis B reactivation after chemotherapy: two decades of clinical research. *Hepatol Int.* 2008;2(2):152-62.
<https://doi.org/10.1007/s12072-008-9056-3>
 49. Ozkurt Z, Ertek M, Kadanalı A, Erol S, Parlak M. Fatal liver failure secondary to chemotherapy induced Hepatitis-B virus reactivation in a patient with acute myeloid leukemia. *Turk J Med Sci* 2005; 35:185-7.
 50. Manzano-Alonso ML, Castellano-Tortajada G. Reactivation of hepatitis B virus infection after cytotoxic chemotherapy or immunosuppressive therapy. *World J Gastroenterol.* 2011;17(12):1531-7.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i12.1531>

Latent Tüberküloz Enfeksiyonu Araştırılan Hastalarda QuantiFERON-TB GOLD Testi ile Tüberkülin Deri Testinin Karşılaştırılması

Comparison of QuantiFERON-TB GOLD Test and Tuberculin Skin Test in Patients Investigated for the Presence of Latent Tuberculosis Infection

İmge Say*¹, Burak Küçük*¹, Filiz Orak*¹, Murat Aral*¹, Adem Doğaner**¹

* Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

** Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

Atıf/Cite as: Say İ, Küçük B, Orak F, Aral M, Doğaner A. Latent tüberküloz enfeksiyonu araştırılan hastalarda QuantiFERON-TB GOLD testi ile tüberkülin deri testinin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):271-5.

Öz

Amaç: Çalışmamızda, latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında tüberkülin deri testi ile QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) testinin tanisal değerinin belirlenmesi ve bu iki testin etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamıza Ocak 2018-Şubat 2019 tarihleri arasında tüberküloz şüpheli QuantiFERON-TB GOLD Plus testi ile tüberkülin deri testi sonuçları bulunan 134 hasta dâhil edilmiştir.

Bulgular: Çalışmamıza yaşları 5-80 arasında değişen 134 hasta alınmıştır. QFT-Plus pozitif olguların 26'sında TDT pozitif, 17'sinde TDT negatif bulunmuştur. Altmış dört hastada TDT pozitif olarak bulunmuştur. TDT pozitif hastaların 26'sında QFT-Plus pozitif, 38'inde QFT-Plus negatif bulunmuştur. Dağılımsal farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. QFT-Plus ve TDT testleri arasında ise uyum saptanmamıştır.

Sonuç: Sonuç olarak, LTBE araştırılmasında günümüzde hâlen rutinde kullanılmakta olan TDT'nin bazı dezavantajlarının olduğu göz önünde bulundurulduğunda, QFT-Plus testinin maliyeti yüksek olmasına karşın alternatif olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Latent tüberküloz, tüberkülin deri testi, quantiferon

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to determine the diagnostic value of the tuberculin skin test (TST) and the QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) test in the diagnosis of latent tuberculosis infection and to compare the effectiveness of these two tests.

Method: One hundred and thirty-four patients aged between 5 and 80 with suspect tuberculosis having QuantiFERON-TB GOLD Plus test and Tuberculin skin test results were included in our study between January 2018 and February 2019.

Results: A total of 134 patients aged between 5-80 years were included in the study. In 26 of the QFT-Plus positive cases, TST was positive and in 17 of them TST were negative. TST was positive in 64 patients. Twenty six of TST positive patients were found to be QFT-Plus positive and 38 of them were QFT-Plus negative. The distributional difference was found to be statistically significant. There was no agreement between the QFT-Plus and TDT tests.

Conclusion: As a result, considering that TST, which is still used routinely today, has some disadvantages in LTBI research, it is thought that QFT-Plus test can be used as an alternative despite its high cost.

Keywords: Latent tuberculosis, tuberculin skin test, quantiferon

Alındığı tarih / Received:
22.01.2021 / 22.January.2021

Kabul tarihi / Accepted:
24.03.2021 / 24.March.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kayıtları

İ. Say 0000-0001-7241-1202
B. Küçük 0000-0001-5596-3347
F. Orak 0000-0001-5153-7391
M. Aral 0000-0002-3576-4380
A. Doğaner 0000-0002-0270-9350

✉ dr.burakkucuk@gmail.com

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* basili- nin neden olduğu bir hastalıktır⁽¹⁾. TB basillerinin vücuda farklı bulaş yolları (sindirim, solunum, kon- jonktiva, deri vb.) olmakla birlikte, ilk akla gelen bulaş yolu inhalasyondur⁽²⁾. Vücuda alınan TB basili başlangıçta çoğalmaya başlar. Ancak enfeksiyon, geli- şen immünite ile kontrol edilir. Bu duruma Primer enfeksiyon adı verilir. Primer enfeksiyonda klinik bulgu oluşmasa bile tüberkülin deri testi (TDT) pozitif sonuç verebilir. Bu sırada az miktarda basil, metabolizma hız- larını yavaşlatarak canlılıklarını sürdürebilir ve bu duru- ma latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBE) adı verilir⁽³⁾.

Son yıllarda kanser tedavileri, alerjik ve otoimmün hastalık tedavileri, transplant reddinin önlenmesi için yapılan tedaviler gibi immünsüpresif tedaviler yaygınlaşmaktadır. Bu yeni tedaviler terapotik etkile- rinin yanı sıra toksisite, malignite ve enfeksiyon riski gibi istenmeyen durumlara da yol açabilmektedir. İmmünsüpressif ilaçlar, kronik kullanımları sırasında latent enfeksiyonun aktifleşmesine neden olabilir. Bu nedenle bu ilaçları kullanacak hastaların latent enfeksi- yon yönünden değerlendirilmesi oldukça önemlidir⁽⁴⁾.

Tüberkülin deri testi latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında kullanılan bir test olmasına karşın yanlış sonuçlar verebilmektedir. Örneğin, TDT’de pozitif sonuçlar, kişide *M. tuberculosis* dışında diğer atipik mikobakterilere maruz kalındığında da görülebilmek- tedir. Ayrıca, kronik hastalıklarda ve özellikle HIV has- talığı süresince immün sistem çok zayıflamakta, TDT’de yalancı negatif sonuçlara neden olabilmektedir⁽⁵⁾. Bu nedenlerle TDT’nin duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça düşüktür. BCG aşılmasının yaygın şekilde uygulandığı ülkelerde TDT aşılama etkilenebileceği bilinmekte- dir. Bununla birlikte, uygulayan ve değerlendiren kişi- lerin farklı olabilmesi, tutulan kayıtlarla ilgili sorunlar ve tüberküline ait faktörler de TDT’nin yanlış sonuç- lanmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle aşılama ve atipik mikobakterileri *M. tuberculosis*’ten ayırt ede- cek, hatta aktif hastalık ile LTBE arasında ayırım yapabi- lecek bir test gereksinimi vardır. Quantiferon testi kanda oluşan interferon gama (IFN- γ) seviyesini belir- lemektedir. LTBE’nin saptanması immünsüpresif teda-

vi alan hastalar için çok önemlidir. LTBE pozitif saptan- nan kişilere profilaktik INH tedavisi verilmektedir⁽⁶⁾. Uzun süreli ilaç kullanımına bağlı yan etkiler ve mali- yet, tedavi sürecindeki zorluklar, ilaç yükü düşünüldü- ğünde LTBE’nin doğru saptanmasının ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamızda, latent tüberküloz enfeksiyonu tanısın- da tüberkülin deri testi ile QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) testlerinin uyumu araştırılarak karşı- laştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (20.02.2019 tarih ve 35 No.) onaylanmıştır. Çalışmamıza Ocak 2018-Şubat 2019 tarihleri arasında QuantiFERON-TB GOLD Plus testi ile tüberkülin deri testi sonuçları bulunan latent tüberküloz şüpheli 134 hasta dâhil edilmiştir. Çalışmamız retrospektif türde bir çalışma olup, laboratuvar verileri taranarak yapılmıştır.

Tüberkülin deri testi uygulanması: Tüberkülin deri testi sol ön kolun 2/3 üst kısmı iç ya da dış yüzüne 0.1 ml 5 Tüberkülin Ünitesi (TU) PPD (saflaştırılmış prote- in türevi=purified protein derivative), intradermal olarak uygulanmıştır. Endürasyon çapı 72 saat sonra aynı kişi tarafından okunmuş ve TDT değerlendiril- mesi Şekil 1’de yer alan tablodaki kriterlere göre yapılmıştır.

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) uygulanması: QFT-Plus, *M. tuberculosis*’e özgül antijenlere (ESAT-6 ve CFP-10) karşı hücreye bağımlı immün yanıtları sap- tamayayönelik bir testtir. Çalışmamızda, QuantiFERON- TB Gold Plus (QFT-Plus) kiti kullanılmıştır. Test için özel heparinli, vakumlu 4 ayrı test tüpüne (Nil tüpü, TB1 tüpü, TB2 tüpü ve bir Mitojen tüpü) 1’er ml periferik kan alınmıştır. Tüplerin iç kısımlarının yıkanması için tüpler 5 saniye çalkalanmıştır. 37°C’lik etüde 16-24 saat bekletilip, inkübasyondan sonra tüpler 15 dakika santrifuj edilerek plazma kısmı ayrılmıştır. Peptid anti- jenlerine yanıt olarak üretilen IFN- γ varlığı Enzyme- Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile test edilmiştir.

Tablo 1. TDT değerlendirilmesinde kabul edilen kriterler⁽⁷⁾.

BCG aşısı yapılmış kişilerde	0-5 mm 6-14 mm 15 mm ve üzeri	Negatif BCG aşısına bağlı Pozitif
BCG aşısı olmayan kişilerde	0-5 mm 6-9 mm 10 mm ve üzeri	Negatif Şüphelidir, test tekrarı yapılır; 6-9 mm; negatif (immün baskılanmada >5 mm pozitif) 10 mm ve üzeri pozitif Pozitif

İstatiksel analiz: Verilerin değerlendirmesinde kategorik değişkenler arasındaki dağılım ilişkisi ki-kare testi ile incelenmiştir. Testler arasındaki uyumluluk kappa katsayısı ile incelenmiştir. Veriler oran ve frekans olarak verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ değeri kabul edilmiş ve veriler IBM SPSS 22 programında değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamıza yaşları 5-80 arasında değişen 134 hasta alınmıştır. Hastaların 58'i (%43) kadın, 76'sı (%57) erkek hastadan oluşmaktadır. Hastaların klinik dağılımına bakıldığında, 55 Enfeksiyon Hastalıkları, 45 Göğüs Hastalıkları, 16 Nöroloji, altı Dermatoloji, beş Çocuk Hastalıkları, dört Dâhiliye ve üç Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı hastası olduğu belirlenmiştir. Olguların 43'ünde QFT-Plus testi pozitif bulunmuştur. QFT-Plus pozitif olguların 26'sında TDT pozitif, 17'sinde TDT negatif bulunmuştur. Altmış dört hastada TDT pozitif olarak bulunmuştur. TDT pozitif hastaların 26'sında QFT-Plus pozitif, 38'inde QFT-Plus negatif bulunmuştur (Tablo 1). Dağılımsal farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($\chi^2=4.096$; $p=0.043$). QFT-Plus ve TDT testleri arasında ise uyum saptanmamıştır ($\kappa=0.166$).

LTBE araştırılan olguların 25'inde eşzamanlı tüberküloz kültürü istenmiş olup, hepsinin kültür sonuçları negatif sonuçlanmıştır. Bu 25 hastanın 12'sinde QFT ve PPD testlerinin her ikisi de negatif, ikisinde her ikisi de pozitif, sekizinde QFT negatif PPD pozitif, üçünde ise QFT pozitif PPD negatif olarak saptanmıştır.

Olguların sekizi HIV pozitif olup altısında QFT ve PPD testlerinin her ikisi de negatif, birinde her ikisi de pozitif, birinde ise QFT pozitif PPD negatif olarak saptanmıştır.

TARTIŞMA

Tüberkülin deri testi uzun zamandır aktif ve latent tüberküloz teşhisi için kullanılmaktadır. TDT'nin maliyeti düşüktür ve uygulanması için ek bir altyapıya gereksinim yoktur. Bu avantajlarının yanı sıra bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Tüberkülinde bulunan *M. tuberculosis*'e spesifik olmayan mikobakteriyel antijenler testin yanlış pozitif sonuçlanmasına neden olabilmektedir⁽⁵⁾. Aynı şekilde immünsüpressif hastalarda çıkan negatif sonuçlar, hastaların gerekli uyumu göstermemesi, sonucu okuyan kişilerin farklı değerlendirmeleri yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. LTBE tanısında geçmişte kullanılan ve günü-

Tablo 2. Olguların pozitiflik negatiflik dağılımı.

	Negatif		Pozitif		Toplam		χ^2	p	κ
	n	%	n	%	n	%			
QFT									
Negatif	53	58.2	38	41.8	91	100.0	4.096	0.043*	0.166 ^a
Pozitif	17	39.5	26	60.5	43	100.0			
Toplam	70	52.2	64	47.8	134	100.0			

*Dağılımsal farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır.

^a İki test arasında uyum saptanmamıştır.

müzde kullanılmaya devam edilen bu testin yalancı pozitif ve negatif sonuçlar verebilmesi, duyarlılığı ve özgüllüğü daha yüksek tanı araçlarının geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Yakın zamanda TDT'ye eş değer fakat daha özgül olarak üretilen testlerin çalışma ilkesi, kişilerin tüberküloz antijenleri ile karşılaştıklarında salınan IFN- γ miktarının ölçülmesi esasına dayanmaktadır⁽⁸⁾. Hücrel IFN- γ seviyesini ölçen metotlardan birisi olan QuantiFERON-TB Gold ELISA testinin kan alınarak yapılması, uygulamasının basit olması, daha spesifik antijenlere sahip olması TDT'ye göre daha avantajlı olmasını sağlamıştır.

BCG aşısının yanlış pozitif TDT sonuçlarına yol açabilmesi nedeniyle IFN-gama testlerinin daha kullanışlı olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir^(9,10). Aşı anında uygulanan aşı miktarı, çocuğun yaşı ve uygulama aralığı BCG aşısı sonrası meydana gelen TDT değerini etkilemektedir^(11,12). Gelişmiş ülkelerde BCG aşısı yapılmadığı ya da tek doz olarak uygulandığı için BCG aşısından TDT'nin etkilenmediği, az ve orta gelişmiş ülkelerde ise TDT duyarlılığının etkilendiği yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir^(13,14). Yapılan çalışmalara bakıldığında, Pai ve ark.^(15,16) yaptıkları iki farklı derlemede geçmişte yapılan BCG aşısının interferon gama salınım testlerinin (İGST) sonuçlarını etkilemediğini bildirmişlerdir. Diel ve ark.⁽¹⁷⁾ 309 temaslı hastayı içeren bir çalışmada, QFT-G test sonuçlarının BCG aşılamaından etkilenmediği sonucuna varmışlardır. Okada ve ark.⁽¹⁸⁾ temaslı beş yaş altı 195 çocuk içeren çalışmada; BCG aşısı ve QFT-G testi sonuçlarının istatistiksel bir fark içermediğini bildirmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada, BCG aşısı bulunan hastalarda TDT ve QFT-G testleri arasındaki uyum %41.5 bulunup, aşısız hastalarda ise bu oran %80.3 olarak bildirilmiştir. Aradaki fark BCG aşısının TDT'ye etkisi olarak yorumlanmıştır⁽¹⁹⁾. BCG aşı sayısı ve TDT endürasyon çapı karşılaştırması üzerine Bozkanat ve ark.'nın⁽²⁰⁾ askeri okulda yaptıkları bir çalışmada, iki test arasında istatistiksel olarak uyum saptanmıştır.

QFT-G testi ile TDT karşılaştırılan çalışmalara bakıldığında, Çavuşoğlu ve ark.⁽²¹⁾ yaptıkları çalışmada, QFT testinin duyarlılığının TDT'den daha yüksek olduğunu, QFT'nin LTBE tanısında altın standart olmadığını, QFT testinin sonuçlarının aktif TB gelişme riskini daha

doğru olarak gösterdiğini bildirmişlerdir. Çağlayan'ın⁽²²⁾, hastane çalışanlarında LTBE tanısında QFT-G ile TDT testinin kıyaslanması üzerine yaptığı çalışmasında, iki test arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. QFT-G pozitifliğinin TDT endürasyon çapı >10 mm olan kişilerde arttığı belirtilmiştir. Kanada Tüberküloz Komitesi'nin rehberinde ise bağışıklığı baskılanmış grupta İGST performansının değişkenlik göstermesi nedeniyle LTBE tanısı için ilk olarak TDT yapılması, TDT negatif olduğunda veya klinisyenin TDT negatif olduğu halde, TB şüphesi olduğu durumda İGST yapılması önerilmektedir⁽²³⁾. Ülkemiz için LTBE tanısında test seçimi önerilerine bakıldığında öncelikle TDT tercih edilmekle birlikte, immünsüpresif ya da immünsüpresif tedavi adayı olan hastalara İGST yapılması önerilmektedir⁽²⁴⁾. Tüm bunların yanında QFT-G testinin bağışıklığı baskılanmış hastalarda yanlış negatif sonuç verebilmesi, tedavi takibinde kullanılamaması ve pahalı olması gibi olumsuz yönleri de vardır⁽²⁵⁾.

Bizim çalışmamızda da dağılımsal farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve bu iki test arasında uyum saptanmamıştır. Yani TDT uygulaması yapan personelin hastanın BCG aşısını dikkate alarak okuma yapması, immünsüpresif bir durumu olup olmadığının sorgulanması, hastaya 72 saat içerisinde dikkat edeceği hususlar hakkında yeterince bilgi verilmesi gibi durumları gözden geçirmemiz gerekliliğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak, LTBE araştırılmasında günümüzde hâlen rutinde kullanılmakta olan TDT'nin bazı dezavantajlarının olduğu göz önünde bulundurulduğunda QFT-Plus testinin maliyeti yüksek olmasına karşın alternatif olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (20.02.2019 tarih ve 35 No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Kahramanmaraş Sutcu Imam University Ethics Committee (02.20.2019-35).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. WHO. Tuberculosis Fact sheet Number 104. Geneva: World Health Organization. 2010. [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis] (Erişim tarihi: 24.Mart.2021)
2. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 1999;282(7):677-86. https://doi.org/10.1001/jama.282.7.677
3. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı Türkiye’de tüberküloz kontrolü için başvuru kitabı. Ankara, 2003:7-62.
4. Oral HB. İmmünmodülatörler, immünsüpresifler ve enfeksiyon riski. Ankem Derg. 2007;21(Ek 2):E106-8.
5. Chaparas SD, Vandiviere HM, Melvin I, Koch G, Becker C. Tuberculin test: variability with the Mantoux procedure. Am Rev Respir Dis. 1985;132(1):175-7. https://doi.org/10.1164/arrd.1985.132.1.175
6. Iseman MD. Klinisyenler için Tüberküloz Kılavuzu. Çeviren: Ş. Özkara. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2002: 21-402.
7. TC. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı. Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. Ankara, 2003:55-7.
8. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med. 2004;170(1):59-64. https://doi.org/10.1164/rccm.200402-179OC
9. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med. 2004;170(1):65-9. https://doi.org/10.1164/rccm.200402-232OC
10. Rieder HL. Epidemiological basis of tuberculosis control. Paris: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union). 1999:26-43.
11. Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM. A meta-analysis of the effect of Bacille Calmette Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. Thorax. 2002;57(9):804-9. https://doi.org/10.1136/thorax.57.9.804
12. Lockman S, Tappero JW, Kenyon TA, Rumisha D, Huebner RE, Binkin NJ. Tuberculin reactivity in a pediatric population with high BCG vaccination coverage. Int J Tuberc Lung Dis. 1999;3(1):23-30.
13. Chadha VK, Jagannatha PS, Kumar P. Can BCG vaccinated children be included in tuberculin surveys to estimate the annual risk of tuberculosis infection in India. Int J Tuberc Lung Dis. 2004; 8: 1437-42.
14. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al. Comparison of T-cell based assay with tuberculin skin test for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet. 2003;361(9364):1168-73. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12950-9
15. Pai M, Riley LW, Colford Jr JM. Interferon gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2004;4(12):761-76. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(04)01206-X
16. Pai M, Kalantri S, Dheada K. New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: part I. Latent tuberculosis. Expert Rev Mol Diagn. 2006;6(3):413-22. https://doi.org/10.1586/14737159.6.3.413
17. Diel R, Nienhaus A, Lange C, Meywald-Walter K, Forssbohm M, Schaberg T. Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. Respir Res. 2006;7(1):1-9. https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-77
18. Okada K, Mao TE, Mori T, et al. Performance of an interferon-gamma release assay for diagnosing latent tuberculosis infection in children. Epidemiol Infect. 2008;136(9):1179-87. https://doi.org/10.1017/S0950268807009831
19. Ferrara G, Losi M, Meacci M, et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med. 2005;172(5):631-5. https://doi.org/10.1164/rccm.200502-196OC
20. Bozkanat E, Çiftçi F, Apaydın M, et al. İstanbul il merkezinde bir askeri okulda tüberkülin cilt testi taraması. Tuberk Toraks. 2005;53(1):39-49.
21. Çavuşoğlu C, Durusoy R, Yaşar M, Kayın M. Mycobacterium tuberculosis enfeksiyonu tanısında QuantiFERON®-TB Gold in Tube testi ve tüberkülin deri testinin değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2017;51(2):115-26. https://doi.org/10.5578/mb.53842
22. Çağlayan V. Hastane çalışanlarında latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında tüberkülin cilt testi ile Quantiferon-TB Gold testinin karşılaştırılması. [Tıpta Uzmanlık Tezi]. İstanbul: Sağlık Bakanlığı Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp- Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2004:59.
23. Kunimoto D, Gardam DM, Kitai I, et al. Recommendations on interferon gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection-2010 Update. Can Commun Dis Rep. 2010;36(ACS-5):1-22. https://doi.org/10.14745/ccdr.v36i00a05
24. Kara F. Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1129. Ankara, 2019:1-33.
25. Ndzi EN, Nkenfou CN, Gwom LC, Fainguem N, Fokam J, Pefura Y. The pros and cons of the QuantiFERON test for the diagnosis of tuberculosis, prediction of disease progression, and treatment monitoring. Int J Mycobacteriol. 2016;5(2):177-84. https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.02.005

İstanbul'da, Restoranlarda Döner Kebaplarla Servis Edilen Taze Garnitürlerin Mikrobiyolojik Güvenliğinin Belirlenmesi Üzerine Çalışmalar

Assessments on Determining the Microbiological Safety of Fresh Garnishes Served with Doner Kebab in Istanbul Restaurants

Ayla Ünver Alçay¹

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

Atıf/Cite as: Ünver Alçay A. İstanbul'da, restoranlarda döner kebablarla servis edilen taze garnitürlerin mikrobiyolojik güvenliğinin belirlenmesi üzerine çalışmalar. Türk Mikrobiyol Cemiyet Derg. 2021;51(3):276-87.

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, döner kebab restoranlarında servis edilen bazı çiğ sebzelerin (havuç, marul ve maydanoz vb.) mikrobiyolojik güvenliğini belirlemektir. Ayrıca bu ürünlerin dekontaminasyonunda yaygın olarak kullanılan üzüm sirkesinin antibakteriyel aktivitesi de değerlendirilmiştir.

Yöntem: Örnek olarak, İstanbul'da dönerle servis edilen 30 adet garnitür aseptik şartlarda, rastgele seçilmiş 30 restorandan alınmış ve toplam mezofilik aerob bakteri sayısı, Enterobacteriaceae spp. sayısı, Escherichia coli, Salmonella spp. ve Staphylococcus aureus mikrobiyal kalite göstergesi olarak araştırılmıştır. İkinci aşamada, üç farklı sirke örneğinin, garnitürlerden izole edilen bazı Gram negatif bakteriler ve Staphylococcus aureus suşları üzerine antimikrobiyal etkisi minimum inhibe edici konsantrasyon ile incelenmiştir.

Bulgular: Toplam aerobik mezofilik bakteri 1.5×10^4 - 5.6×10^7 cfu/g [4.17 - $7.24 \log_{10}$]; Enterobacteriaceae spp. <10 - 1.2×10^7 cfu/g (<1 - $7.07 \log_{10}$), koagülaz pozitif Staphylococcus <10 - 3.4×10^2 cfu/g (<1 - $2.53 \log_{10}$), Escherichia coli sayısı ise <10 - 2×10^2 cfu/g (<1 - $1.30 \log_{10}$) miktarında bulunmuştur. İncelenen örneklerin %20'sinde toplam aerobik koloni sayısının $\geq 10^7$, %60'ında Enterobacteriaceae spp. sayısının $\geq 10^4$, koagülaz pozitif Staphylococcus sayısının %50'sinde $\geq 10^2$ cfu/g düzeyinde belirlenmesi ve bir örnekte de Salmonella spp. saptanmış olması yetersiz mikrobiyolojik kaliteyi ortaya koymuştur. Garnitürlerden Klebsiella pneumoniae, Klebsiella ozaenae, Klebsiella oxytoca, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Escherichia hermannii, Enterobacter cloacae, Hafnia alvei, Aeromonas hydrophila, Citrobacter freundii, Burkholderia pseudomallei, Serratia odorifera biogp 1 ve Staphylococcus aureus identifiye edilmiştir. Üzüm sirkelerinin %1.5-6.25 arasında değişen konsantrasyonlarda incelenen mikroorganizmalara antimikrobiyal etkinliği olduğu saptanmıştır.

Sonuç: İncelenen garnitür örneklerinin gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği sonucuna varılmıştır ve bu sonuçlar restoranlarda ısıtma işlemi uygulanmamış taze gıdalarda iyi hijyen uygulamalarına duyulan gereksinimi göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Döner garnitürleri, mikrobiyolojik kalite, üzüm sirkesinin antibakteriyel etkisi

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to determine the microbiological safety of some raw vegetables (carrot, lettuce, parsley, etc.) served with döner kebab in restaurants. In addition, the antibacterial activity of grape vinegar, which is widely used in restaurants and homes, was evaluated in the decontamination of these products.

Method: Samples of 30 garnishes served with döner kebab in Istanbul were taken from randomly selected 30 restaurants and the total number of mesophilic aerob bacteria (TAMB), Enterobacteriaceae spp. number, Escherichia coli, Salmonella spp. and Staphylococcus aureus were taken as an indicator of microbial quality. Identification study was performed from isolated gram negative bacteria and coagulase positive staphylococci. In the second step, the antimicrobial effects of three different vinegar samples on some gram-negative bacteria and Staphylococcus aureus strains isolated from the garnishes were investigated with the minimum inhibitory concentration.

Results: Total aerobic mesophilic bacteria were found as 1.5×10^4 - 5.6×10^7 cfu/g [4.17 - $7.24 \log_{10}$]; (Enterobacteriaceae spp. <10 - 1.2×10^7 cfu/g (<1 - $7.07 \log_{10}$), coagulase positive Staphylococcus <10 - 3.4×10^2 cfu/g (<1 - $2.53 \log_{10}$), Escherichia coli <10 - 2×10^2 cfu/g (<1 - $1.30 \log_{10}$)). The samples were found insufficient for microbiological quality, due to the total number of aerobic colony (TAMB) levels at 10^7 in 20%, Enterobacteriaceae spp. levels at 10^4 in 60%, Staphylococcus aureus levels at $\geq 10^2$ cfu/g in 50% and Salmonella spp. was found in one sample. Klebsiella pneumoniae, Klebsiella ozaenae, Klebsiella oxytoca, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Escherichia hermannii, Enterobacter cloacae, Hafnia alvei, Aeromonas hydrophila, Citrobacter freundii, Burkholderia pseudomallei, Serratia odorifera biogp 1 and Staphylococcus aureus were identified from the garnishes. The vinegars were effective on microorganisms at concentrations varying between 1.5% and 6.25%.

Conclusion: It was concluded that the examined garnish samples may pose a risk for food safety and public health, and these results show the need for good hygiene practices in fresh foods that are not heat-treated in restaurants.

Keywords: Doner garnishes, microbiological quality, antibacterial effect of grape vinegar

Alındığı tarih / Received:
15.03.2021 / 15.March.2021

Kabul tarihi / Accepted:
17.04.2021 / 17.April.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07.September.2021

ORCID Kaydı

A. Ünver Alçay 0000-0003-3254-155X

✉ aylaalcay@aydin.edu.tr

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

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

GİRİŞ

Gıda kaynaklı hastalıklar nedeniyle dünyada milyonlarca insan her yıl tedavi görmekte ve hatta bazıları ölmektedir. Gıda kaynaklı hastalıklar genellikle hayvansal gıdalardan kaynaklanır, ancak çiğ yenen sebze ve meyveler de önemli bir yere sahiptir. Bitkiler; toprak, su, hava, gübre, insan ve hayvan gibi farklı kaynaklardan gelen mikroorganizmalarla kirlenir. Kullanıma hazır sebzeler genellikle 10^5 - 10^7 cfu/g düzeyinde çeşitli mikroorganizma popülasyonları içerir. Bitkilerin doğal florası birbirinden farklı olsa da, genellikle floradaki bakterilerin % 80 ila % 90'ını Gram negatif basiller oluşturmaktadır⁽¹⁾. *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Corynebacterium* ve *Micrococcus*, fekal streptokoklar, koliform ve laktik asit bakterilerine ait bakterilere sıklıkla rastlanır. Patojen bakteriler, parazitler ve virüsler gibi mikroorganizmaların varlığı da olasıdır⁽²⁾. Tarladan çatala kadar çiğ tüketilen sebzeler her aşamada kontamine olabilir. Olası hasat sonrası kaynaklar arasında insanlar, zararlılar (böcekler ve kuşlar dâhil), hasat ve işleme ekipmanları, personel, nakliye ve depolama bulunur. Kullanıma hazır sebzeler, suyla yıkadıktan sonra yerel mikrofloralarının çoğunu korur ve patojenler de içerebilir. Isıl işlem yapılmadan sebze tüketimi ile ilişkili gıda kaynaklı hastalıkları önlemek için etkili ve uygulanabilir sanitasyon yöntemleri gereklidir. Bugün Türkiye'de birçok ev ve işletmede limon suyu ve sirke gibi doğal ürünler yaygın olarak antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır⁽³⁾. Bununla birlikte, kullanım oranları genellikle rastgeledir ve yıkanan sebze üzerine göz kararı eklenir.

Döner kebabları genellikle garnitür olarak adlandırılan domates, marul, havuç ve kırmızı lahana, yeşil biber ve soğan gibi sebzelerle servis edilir. İngiltere'deki kebab paket servis restoranlarında salata sebze ve soslarının mikrobiyolojik güvenliğini belirlemek için yapılan bir araştırmada, sebze salatası örneğinin yetersiz mikrobiyolojik kalitede olduğu ortaya konmuştur⁽⁴⁾. Ülkemizde döner kebabının mikrobiyolojik kalitesi ile ilgili birçok çalışma bulunmakla birlikte, döner kebabı ile servis edilen garnitürler için yapılan bir araştırma yoktur. Garnitürler genellikle büyük miktarlarda hazırlanır ve oda sıcaklığında ve

kontaminasyona uygun olarak açık bir şekilde gün boyu servis edilir. Hatta birçok işletmede İstanbul'da garnitürlerin döner ile birlikte sokağa açılmış bir pencere önünde toz, insan ve pestlele temas durumunda, tezgâh üzerinde bulundurulduğu sıklıkla gözlemlenir.

Bu çalışmanın amacı, İstanbul'da döner ile servis edilen bazı çiğ sebzelerin (domates, havuç, marul, soğan, marul ve maydanoz) mikrobiyal kontaminasyon seviyesini ve mikrobiyal kalitesini belirlemektir. Ayrıca bu ürünlerin dekontaminasyonunda evlerde ve işletmelerde yaygın olarak kullanılan sirke antibakteriyel aktivitesi de değerlendirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örnek alımı: İstanbul merkez ilçelerden, Nisan 2019-Temmuz 2020 tarihleri arasında, rastgele örnekleme ile lokanta ve döner servisi yapılan büfelerden toplam 30 ayrı yerden, 30'ar adet garnitür örneği (marul, maydanoz, soğan, havuç ve domatesten oluşan) usulüne uygun olarak, steril kaplara alınmış ve bekletmeden, soğuk şartlarda laboratuvara getirilerek analize başlanmıştır. İki adet ticari üzüm sirkesi, İstanbul'da yerel marketlerden kapalı ambalajlarında ve bir adet geleneksel yöntemle üretilmiş üzüm sirkesi, halk elinden steril bir kaba alınmıştır.

Örneklerin analize hazırlanması: Garnitürler, aseptik şartlarda 25 g miktarında tartılarak steril bir poşete koyulmuştur. Poşetlere steril ¼ Ringer (Merck, 115525-Almanya) çözeltilisinden 225 ml eklendikten sonra Stomacher (Easy Mix Stomacher, AES Chemunex, Fransa) cihazında homojenize edilmiş ve on katlı dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Sirke örneklerinin pH ve asitlik derecelerinin belirlenmesi: Sirke örnekleri temiz ve kuru bir behere 10 ml miktarında koyularak dijital pH metre (Mettler Toledo, Seven Compact S220, İsviçre) ile ölçüm yapılmıştır. Temin edilen sirkelerin asitlik yüzdeleri titrimetrik yöntemle belirlenmiştir⁽⁵⁾.

Mikrobiyolojik analizler: *Escherichia coli* ATCC 25922 (BD Cat. No. 254986), *Staphylococcus aureus* ATCC

25923 (BD, Cat. No. 254995) ve *Salmonella* Typhimurium ATCC (BD Cat. No. 254993) pozitif kontrol suşları olarak kullanılmıştır.

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı: Her dilüsyondan dökme plak yöntemiyle besiyerlerine Plate Count Agar (PCA) (Merck, 1.05463, Almanya) ekimler yapılmış ve 30±1°C'de 3 gün inkübe edilmiştir⁽⁶⁾. Koloni görülen petri kapları değerlendirmeye alınarak toplam aerob mezofilik bakteri (TAMB) sayısı hesaplanmıştır.

Enterobacteriaceae spp. sayımı: Tüm dilüsyonlardan, Violet Red Bile Glucose (VRB) Agar (Merck 1.10275, Almanya) besiyerine ekim yapılmış ve 30±1°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda, 1-2 mm çaplı, kırmızı ve etrafında halka şeklinde hale oluşan kolonilere oksidaz testi (Merck 1.13300, Almanya) uygulanmıştır. Oksidaz negatif sonuç veren tipik koloniler sayılmıştır⁽⁷⁾.

Escherichia coli sayımı: ISO 16649-1:2018'e uygun olarak Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX) Agar (LAB-M HAL003) besiyeri kullanılmıştır⁽⁸⁾. Ekim yapılan besiyerleri 44°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiş; opak mavimsi yeşil renkteki koloniler sayılarak değerlendirilmiştir.

Koagulaz pozitif stafilokok saptanması ve sayımı: Hazırlanan tüm dilüsyonlardan, Baird Parker Agar (BPA) (Oxoid CM 275) besiyerine 50 ml/l miktarında Egg Yolk Tellurite Emulsion (Oxoid SR 54) eklenmiş ve oda sıcaklığında besiyeri donması beklendikten sonra her bir seyreltmeden ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bu besiyerinde üreyen, şeffaf zonla çevrili, siyah renkli tipik koloniler ile atipik kolonilerden 5'er adet seçilerek koagulaz testi uygulanmıştır. Koagulaz pozitif stafilokok sayısı belirlenmiş⁽⁹⁾ ve API® Staph Test Kiti (bioMérieux, Fransa) ile identifikasyon yapılmıştır.

Salmonella spp. sayımı: ISO 6579-1 yöntemiyle gerçekleştirilmiştir⁽¹⁰⁾. Örnekler aseptik koşullarda 25'er g steril Stomacher torbalarına tartılmış ve üzerine steril mezür yardımıyla 225 ml Buffered Peptone Water (BPW, Merck 107228) ilave edilmiştir.

Homojenizasyon işleminden sonra süspansiyon, ön zenginleşme için 37°C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübe edilip, bu örneklerden 0.1 ml alınarak 10 ml Rappaport Vassiliadis Soya (RVS) Broth'a, (LABM, LAB086) bir ml de, 10 ml Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin (MKTTn) Broth'a (LAB202-LABM) inoküle edilmiş ve MKTTn Broth'da 37°C'de 24 saat, RVS Broth'da 41.5°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Üreme olan, RVS Broth ve MKTTn Broth besiyerlerinden (Xylose Lysine Desoksikolat (XLD) Agar (LABM-LAB032) ve Salmonella ABC Agar (ABC Agar, LabM, HAL001) selektif besiyerlerine pasaj yapılmış ve 37°C 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. XLD Agar'da siyah, Salmonella ABC Agar besiyerinde ise açık yeşil tonlarında şüpheli kolonilerden saflaştırma için Nutrient Agara (NA, Merck 1.05450) geçilip 37°C de 24 saat inkübe edilmiştir. Nutrient agardaki şüpheli kolonilere katalaz ve oksidaz testleri yapılmıştır. Gelişen koloniler öze yardımıyla alınarak oksidaz test stripine (Bactident Oxidase, Merck 113300) sürülmüş ve mor rengin oluşumu oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Katalaz pozitif, oksidaz negatif kolonilerin Api 20 E test stripine (bioMérieux, Fransa) inokulasyonu yapılmıştır. Strip 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnternet web tabanından sonuçlar değerlendirilmiştir.

Gram negatif bakterilerin identifikasyonu: İdentifikasyon için API 20E (bioMérieux, Fransa) kiti kullanılmıştır ve yöntem üretici kit talimatına göre uygulanmıştır. Garnitürlerden izole ve identifiye edilen, incelenecek bazı Gram negatif bakteri suşları ve yedi farklı *S. aureus* suşu (Tablo 1), -25°C'de minimum inhibe edici konsantrasyon tayini yapılan kadar korunmuştur.

Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (MIK) Belirlenmesi: Bütün bakteri suşları çözüldükten sonra, 24 saat 37°C'de inkübe edilmiş, %0.9 steril fizyolojik tuzlu su solüsyonuna aktarılmış ve inokulumun yaklaşık 10⁸ cfu/ml olarak standardize edilmesi için 0.5 McFarland standardına ayarlanmıştır. Minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) tayini için mikropate ile broth dilüsyon metodu kullanılmıştır. Analiz için Muller Hinton Broth (MHB, Merck, 110293) çift kuvvet olarak hazırlanmıştır. Mikropatelerde,

Tablo 1. Minimal inhibitör konsantrasyon tayini yapılan suşlar.

No.	Minimal inhibitör konsantrasyon tayini yapılan suşlar
1	<i>Enterobacter cloacae</i>
2	<i>Enterobacter aerogenes</i>
3	<i>Enterobacter</i> spp.
4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
5	<i>Escherichia coli</i>
6	<i>Escherichia coli</i>
7	<i>Escherichia hermannii</i>
8	<i>Staphylococcus aureus</i>
9	<i>Staphylococcus aureus</i>
10	<i>Staphylococcus aureus</i>
11	<i>Staphylococcus aureus</i>
12	<i>Staphylococcus aureus</i>
13	<i>Staphylococcus aureus</i>
14	<i>Staphylococcus aureus</i>

her kuyucuğa 50 µl MHB, 50 µl sirke örneği ve 5 µl bakteri süspansiyonu ilave edilmiştir. Pozitif kontrol olarak sirke çözeltisi yerine steril serum fizyolojik (%.085 NaCl çözeltisi) koyulmuştur. Her kuyucukta, sirke konsantrasyonu %0.78, %1.5, %3.12, %6.25, %12.5, %25 ve %50 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra 37°C'de 24 saat inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Herhangi bir bakteri büyümesini engelleyen en düşük konsantrasyon (üremenin olmadığı kuyucuklar minimal inhibisyon konsantrasyonu) MIK olarak tanımlanmıştır. Bütün testler yeniden üç kere yapılmıştır⁽¹¹⁾.

İstatistik analiz: Garnitür örneklerine ait mikroorganizma sayıları ortalama logaritmik değerlere çevrilmiş ve SPSS 19 programı ile istatistiki değerlendirme yapılmıştır. Sirke örneklerinin, MIK değerleri açısından anlamlı bir farkı olup olmadığının belirlenmesi için Kruskal-Wallis One Way Anova testi kullanılmıştır.

BULGULAR

İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmaları ve İstatistik

Tablo 2. Mikrobiyolojik sayım sonuçlarına göre garnitür örneklerinin frekans dağılımları.

Ölçütü	N	Frekans (f) ve görel frekans dağılımı (%) p _i								$\bar{x} \pm \text{in}\bar{x}$								
		0-<10		≥10- <10 ²		≥10 ² - <10 ³		≥10 ³ - <10 ⁴			≥10 ⁴ - <10 ⁵		≥10 ⁵ - <10 ⁶		≥10 ⁶ - <10 ⁷		≥10 ⁷	
		f	p _i	f	p _i	f	p _i	f	p _i		f	p _i	f	p _i	f	p _i	f	p _i
TAMB	30	0	0	0	0	0	0	18	60	3	10	3	10	6	20	5.38±0.239		
<i>Enterobacteriaceae</i> spp.	30	12	40	0	0	0	0	3	10	12	40	0	0	3	10	3.293±0.513		
<i>Escherichia coli</i>	30	27	90	3	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.13±0.072		
Koagülaz pozitif <i>Staphylococcus</i>	30	9	30	6	20	12	40	3	10	0	0	0	0	0	0	1.546±0.22		
<i>Salmonella</i> spp.	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0±0.0		

Değerlendirme Sonuçları: Garnitürlerde ortalama olarak; toplam aerobik mezofilik bakteri 1.5×10^4 – 5.6×10^7 cfu/g [4.17 – $7.24 \log_{10}$; *Enterobacteriaceae* spp. <10 – 1.2×10^7 cfu/g (<1 – $7.07 \log_{10}$), koagülaz pozitif *Staphylococcus* <10 – 3.4×10^2 cfu/g (<1 – $2.53 \log_{10}$), *E. coli* sayısı ise <10 – 2×10^1 cfu/g (<1 – $1.30 \log_{10}$) miktarında bulunmuştur (Tablo 2). Garnitürlerden izole edilen, Gram negatif bakterilerden rastgele seçilen kolonilerden *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella oxytoca*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia hermannii*, *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*, *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Burkholderia pseudomallei*, *Salmonella* spp., *Serratia odorifera* biogp 1 ve ayrıca Baird Parker Agar besiyerinden *S. aureus* identifiye edilmiştir. Garnitür örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçlarına göre frekans dağılımları Tablo 2 ve betimsel istatistik sonuçları Tablo 3'te görülmektedir.

Mikrobiyolojik analiz sonuçları, Gilbert ve ark.'nın⁽¹²⁾ belirttiği "hazır salata sebzeler ve soslar için mikrobiyolojik kriterler"e göre değerlendirilmiştir. Tablo 4 değerlendirme ölçütlerini göstermektedir⁽¹²⁾. İncelenen örneklerin altısında toplam aerobik koloni sayısının (TAMB) $\geq 10^7$ olduğu belirlendiği için (%20) tatmin edici olmayan kategoride belirlenmiştir. İncelenen örneklerin 18 tanesi *Enterobacteriaceae* spp. sayısı $\geq 10^4$ şeklinde belirlenmiş olup, tatmin edici değil kategorisindedir. *E. coli* açısından değerlendirildiğinde, incelenen 30 örnekten 27'si <20 tatmin edici, üç tanesi 20– <100 aralığında yani kabul edilebilir olarak belirlenmiştir. *Salmonella* spp. ISO 6579-1 yöntemiyle 25 g'de saptanmamıştır. *S. aureus* <10 – 3.4×10^2 cfu/g (<1 – $2.53 \log_{10}$) miktarında belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 3. Mikrobiyolojik sayım sonuçlarına (\log_{10}) göre garnitür örneklerinin tanımlayıcı istatistiksel sonuçları.

Ölçütü	S	\bar{x}	S	S2	S \bar{x}	dk.	Max	Ranj
TAMB	161.4	5.38	1.29	1.725	0.239	4.17	7.74	3.57
<i>Enterobacteriaceae</i> spp.	98.81	3.293	2.81	7.896	0.513	0	7.07	7.07
<i>Escherichia coli</i>	3.9	0.13	0.396	0.157	0.072	0	1.3	1.3
Koagülaz pozitif <i>Staphylococcus</i>	44.85	1.546	1.188	1.412	0.22	0.3	3.34	3.34
<i>Salmonella</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0

Tablo 4. Hazırlanan salata sebzeleri ve sosları için mikrobiyolojik kriterler⁽¹²⁾.

Ölçütü	Tatmin edici	Kabul edilebilir	Yetersiz	Kabul edilemez/Potansiyel olarak tehlikeli
Toplam Aerobik koloni sayısı	<10 ⁶	10 ⁶ -<10 ⁷	≥10 ⁷	Na
<i>Enterobacteriaceae</i> spp. *	<100	100-<10 ⁴	≥10 ⁴	Na
<i>Escherichia coli</i>	<20	20-<100	≥100	Na
<i>Staphylococcus aureus</i>	<20	20-<100	100-<10 ⁴	>104
<i>Salmonella</i> spp.	25 g'de algılanmadı			25 g'de saptanması

Na: Uygulanamaz; *: Taze meyve, sebze ve salata sebzeleri için geçerli değildir.

Tablo 5. Sirkelerin pH'sı ve asitliği.

Sirke No	pH	Asitlik (%)
1 (Ticari)	2.66	4.46
2 (Ticari)	2.83	4.48
3 (Ticari)	2.86	4.12
4 (Geleneksel)	2.04	5.95

Tablo 7. MİK sonuçlarına göre frekans dağılımları, Frekans (f) ve Bağlı frekans (Pi) (%).

Sirke MİK Değeri (%)	f	Pi (%)	Kümülatif %
0.78	3	5.4	5.4
1.50	8	14.3	19.6
3.12	33	58.9	78.6
6.25	12	21.4	100.0
Toplam	56	100.0	

Denemede Kullanılan Sirkelerin pH ve Asitlik Dereceleri: MİK tayini amacıyla kullanılan sirke örneklerinin pH ve asitlik değerleri ölçülmüştür. pH 2.66–3.04 ve asitlik 4.12–5.95 arasında bulunmuştur. İlgili sonuçlar Tablo 5'te gösterilmiştir. Buna göre, incelenen sirkelerin asitliğinin standarda uygun olduğu belirlenmiştir⁽¹³⁾.

Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) ve İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları: Sirke örnekleri

göre betimleyici istatistikler Tablo 6'da, sirkelerin MİK sonuçlarına göre frekans dağılımları Tablo 7'de; sirkelerin tüm MİK verilerine göre betimleyici istatistik sonuçları Tablo 8'de, incelenen bakteri suşlarının MİK değerlerine göre tanımlayıcı istatistikleri Tablo 9'da, gösterilmiştir. Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre sirke örneklerinin MİK değerlerinin önemli bir fark gösterdiği saptanmıştır ($p<0.005$).

Tablo 6. Sirke örneklerine göre betimleyici istatistikler.

Sirke No	N	\bar{x}	S	S \bar{x}	Ortalama için %95 Güven Aralığı		Minimum	Maksimum
					Alt sınır	Üst sınır		
1	14	3.4436	1.65943	.44350	2.4854	4.4017	1.50	6.25
2	14	3.8986	1.60110	.42791	2.9741	4.8230	1.50	6.25
3	14	4.1221	1.69952	.45422	3.1409	5.1034	1.50	6.25
4	14	2.2714	1.04583	.27951	1.6676	2.8753	0.78	3.12
Toplam	56	3.4339	1.64850	.22029	2.9925	3.8754	0.78	6.25

Na: Uygulanamaz; *: Taze meyve, sebze ve salata sebzeleri için geçerli değildir.

Tablo 8. Sirkelerin tüm MIK verilerine göre betimleyici istatistik sonuçları.

N	Aralığı	Minimum	Maksimum	Ortalama		S	S2
				\bar{x}	S \bar{x}		
56	5.47	0.78	6.25	3.4339	.22029	1.64850	2.718

N=Örnek sayısı

Tablo 9. İncelenen bakteri suşlarının MIK değerlerine göre tanımlayıcı istatistikleri.

Suş	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	2.7150	.81000	1.50	3.12
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	2.7150	.81000	1.50	3.12
<i>Enterobacter spp.</i>	3	2.7150	.81000	1.50	3.12
<i>Escherichia coli</i>	3	2.3100	.93531	1.50	3.12
<i>Escherichia coli</i>	3	2.5350	1.17000	.78	3.12
<i>Escherichia hermannii</i>	3	1.3200	.36000	.78	1.50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	3.3175	2.24473	.78	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	5.4675	1.56500	3.12	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3.9025	1.56500	3.12	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	5.4675	1.56500	3.12	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	5.4675	1.56500	3.12	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3.9025	1.56500	3.12	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3.1200	.00000	3.12	3.12
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3.1200	.00000	3.12	3.12

N=MIK belirlenen sirke sayısı

TARTIŞMA

Bu araştırmada izole edilen Gram negatif bakterilerden yapılan identifikasyon çalışmalarında *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *E. hermannii*, *E. cloacae*, *H. alvei*, *A. hydrophila*, *C. freundii*, *B. pseudomallei*, *S. odorifera* biogp 1, *Salmonella* spp. identifiye edilmiştir. Koagülaz pozitif stafilokoklardan da yedi farklı *S. aureus* belirlenmiştir. Bu sonuçlar yemeye hazır sebzelerin halk sağlığı açısından endişe duyulacak farklı bakteri türleri ile kontamine olabileceğini göstermiştir. Ajayi ve ark.⁽¹⁴⁾, araştırmasında musluk suyu ile yıkanmamış sebzelerde *S. aureus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* spp., *Proteus* spp., *Streptococcus*, *E. aerogenes*, *Micrococcus* spp., *Lactobacillus* ve *E. coli*, sirke ile yıkamış olanlarda ise *E. aerogenes*, *Proteus* ve *S. aureus* saptayabilmiştir. *S. aureus* tüm sebze örneklerinde belirlenmiştir. Halkman ve Halkman⁽¹⁵⁾, yaptıkları araştırmada, salata, şarküteri ürünleri ve taze meyve ve sebzelerden oluşan 500 adet örnekte *E. aerogenes*'i, *E. coli* olmayan fekal koliformlar arasında en yaygın tür olarak belirlemişlerdir. Bu araştırmaların sonuçları mevcut bulgularla yapılan araştır-

ma sonuçları benzerdir.

Garnitürlerde ortalama olarak; toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) 1.5×10^4 - 5.6×10^7 cfu/g (4.17 - $7.24 \log_{10}$) aralığında bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde⁽¹⁶⁾ bu ürünler için belirlenmiş bir TAMB spesifikasyonu yoktur. İncelenen örnekler, PHLS (Public Health Laboratory Service) standartlarına göre (Tablo 4), 30 örneğin altı adedinde (%20) TAMB sayısı "tatmin edici değil" şeklinde bulunmuştur. Türkiye'de dönerle servis edilen garnitürlerin TAMB sayısı ile ilgili yapılmış bir araştırma yoktur. Salatalar için yapılan araştırmalarda ise, genellikle hijyenik kalitelerinin yeterli olmadığı, hatta zaman zaman patojenlerle kontamine oldukları, pişirilmiş gıdalardan daha riskli olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın bulguları yemeye hazır sebzelerin $3-9 \log_{10}$ cfu/g arasında değişen aerobik mikrobiyal sayılarını bulan çeşitli çalışmalarla uyumludur.

Hampikyan ve ark.⁽¹⁷⁾, İstanbul'da, salatalarda TAMB sayısı 3.8×10^3 - 4.8×10^6 cfu/g; Ongan⁽¹⁸⁾, huzurevlerinde çalışmasında salata örneklerinde ortalama 8.4×10^5 cfu/g TAMB bildirmiştir. Younus ve ark.⁽¹⁹⁾ tarafından

üniversite kampüsündeki restoranlardan 60 adet hazır karışık sebze salatası örneği toplanmış, aerobik plaka sayısı 7.73 ± 0.61 ile $9.04 \pm 0.26 \log_{10}$ cfu/g olarak belirlenmiştir. Ajayi ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ çalışmasında, yıkanmamış sebzelerde toplam canlı bakteri 3.8×10^5 - 1.2×10^7 cfu/g, yıkanmış sebzelerde $5.0 \pm 0.7 \times 10^4$ seviyesinde bulunmuştur. İncelenen garnitürlerin %20'sinin TAMB sayısının "tatmin edici değil" olarak belirlenmesi, ürünün tarladan çatala bulaşma olasılığını ve mikroorganizma üremesi için uygun koşulların varlığına işaret etmektedir. Bununla birlikte, tek başına yüksek TAMB sayıları ($> 6 \log_{10}$ cfu/g), zararsız mikroorganizmalardan da kaynaklanabileceğinden, yiyeceklerin düşük mikrobiyolojik güvenliğini kesin olarak göstermez⁽²⁰⁾.

Bu çalışmada incelenen garnitürlerde *Enterobacteriaceae* spp. sayısı <10 - 1.2×10^7 cfu/g (<1 - $7.07 \log_{10}$) olarak belirlenmiştir. *E. coli* sayısı ise <10 - 2×10^1 cfu/g (<1 - $1.30 \log_{10}$) miktarında bulunmuştur. *Enterobacteriaceae* spp., otuz örneğin 18'inde (%60), *E. coli* ise 3 adedinde (%10) belirlenmiştir. PHLS standardına göre (Tablo 4), incelenen örneklerin 18 tanesi *Enterobacteriaceae* spp. sayısı $\geq 10^4$ şeklinde belirlenmiş olup tatmin edici değil kategorisindedir. *E. coli* açısından, incelenen 30 örnekten 27'si <20 tatmin edici, üç tanesi 20 - <100 aralığında yani kabul edilebilir olarak belirlenmiştir. Koliform grubu bakterilerin varlığı gıdanın genel kalitesi hakkında bilgi verirken, *E. coli* ve fekal koliformlar gıdanın fekal kontaminasyon seviyesine işaret ederler. *Enterobacteriaceae* sayımı, geleneksel olarak işlemden sonra hijyen ve kontaminasyon göstergesi olarak kullanılan koliform testlerinin yerini almıştır⁽²⁰⁾.

Özkan⁽²¹⁾, Tekirdağ ve Kırklareli illerinde 95 adet salatanın 40 adedinde koliform bakteri, 46 adedinde ise *E. coli* saptamıştır. Analiz edilen 95 salatada *E. coli*; 49 (%51.4) örnekte belirlenememiş, yedi (%7.4) örnekte 10^0 - 10^1 adet/g aralığında, 18 (%18.9) örnekte 10^1 - 10^2 adet/g aralığında, 12 (%12.6) örnekte 10^2 - 10^3 adet/g aralığında, dokuz (%9.4) örnekte $>10^3$ adet/g saptamıştır. Koliform 26 (%27.3) örnekte belirlenememiş 10 (%10.5) örnekte 10^0 - 10^1 adet/g aralığında, 19 (%20.0) örnekte 10^1 - 10^2 adet/g aralığında, 16 (%16.8)

örnekte 10^2 - 10^3 adet/g aralığında, 24 (%25.2) örnekte $>10^3$ adet/g saptanmıştır. Ongan⁽¹⁸⁾, huzurevlerinde 25 salata örneğinin %88.0'inde koliform (ortalama 1.7×10^4 cfu/g) ve %12.0'sinde *E. coli* (>100 cfu/g) saptamıştır. Koliform grubu mikroorganizmaların 1.5×10^2 ile 1.4×10^5 cfu/g değerleri arasında değişen düzeylerde bulunduğu belirlenmiştir. Meldrum ve ark.⁽⁴⁾ tarafından, İngiltere'de kebab paket servis restoranlarında, döner salata sebze ve soslarının mikrobiyolojik güvenliğini belirlemek amaçlı olarak yapılan bir çalışmada, 1.213 sebze salatası örneğinin %4.7'sinin *E. coli* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Bangladeş'te farklı restoranlardan 60 adet yemeye hazır karışık sebze salatası örneği toplanmış, *E. coli* 4.98 ± 0.20 ila $6.66 \pm 0.80 \log$ cfu/g miktarında bulunmuştur⁽¹⁹⁾. Ajayi ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ çalışmasında, *Enterobacteriaceae* spp. yıkanmamış sebzelerde 1.2×10^6 - 2.1×10^7 cfu/g; yıkanmışlarda $2.8 \pm 0.7 \times 10^5$ - $1.9 \pm 0.0 \times 10^7$ cfu/g miktarında saptanmıştır.

İncelenen örneklerin 18 tanesi *Enterobacteriaceae* spp. sayısı $\geq 10^4$ şeklinde belirlenmiş olup, tatmin edici değil kategorisindedir. Ancak *Enterobacteriaceae* için listelenen PHLS tarafından önerilen bu kriterler, taze meyve ve sebzeler veya salata sebzeleri içeren sandviçler için geçerli değildir; çünkü taze meyve ve sebzeler genellikle normal florasının bir parçası olarak bu organizmaları yüksek seviyelerde taşırlar⁽¹²⁾.

Salmonella Enterobacteriaceae ailesinde bulunan, Gram negatif, fakültatif anaerobik, kapsülsüz, sporsuz bir basil olup, doğada yaygındır ve hem evcil hem de vahşi tüm hayvan türlerinin bağırsak yolunda bulunabilir ve dünya çapında gıda kaynaklı hastalıkların önde gelen nedenlerinden biridir. Geçmişte birçok çalışmada, *Salmonella* türleri taze sebzelerden izole edilmiştir ve sebzelerle ilişkili bir dizi salmonelloz salgını bildirilmiştir⁽²²⁾. Bitkisel ürünlere genellikle çapraz kontaminasyon yoluyla, kanalizasyon suları ile sulama veya gıdaları yıkama ile salmonella bulaşı olmaktadır. Türkiye'de döner vb. gıdaların yanında verilen garnitür yeşil salata bu açıdan risk taşımaktadır.

Taze kesilmiş meyve ve sebzelerde, *Salmonella* spp için mikrobiyolojik kriter 25 g gıdada sıfırdır⁽¹²⁾. Çiğ yenen yapraklı sebzeler, üretime bağlı salmonelloz

salgınlarının en yaygın nedeni olarak tanımlanmıştır⁽²³⁾. Bu çalışmada, ISO 6579-1 yöntemi kullanılarak yapılan garnitürlerin bir adedinde *Salmonella* spp. saptanmamıştır. Bununla birlikte, Violet Red Bile Glucose Agar ortamından tanımlama için rastgele seçilen bir koloni *Salmonella* spp. olarak tanımlanmıştır.

Hampikyan ve ark.⁽¹⁷⁾ tarafından İstanbul'da tüketilmek üzere salatalar üzerinde yapılan bir çalışmada, *Salmonella*'ya herhangi bir örnekte rastlanmamıştır. Özkan⁽²¹⁾ 95 salatada *Salmonella* spp. belirleyememiştir. Ongan'ın⁽¹⁸⁾ huzurevlerinde yaşlılara sunulan salata örneklerini incelediği çalışmada, *Salmonella* spp. izole edilememiştir. Gökmen ve ark.⁽²⁴⁾ tarafından bazı hazır gıdalarda (20 Rus salatası, 40 sebze salatası) yapılan mikrobiyolojik analiz sonucunda, salata örneklerinde *Salmonella* spp. saptanmamıştır. Bununla birlikte, Bangladeş Üniversitesi Kampüsü'ndeki farklı restoranlardan yemeye hazır çiğ sebze ve karışık sebze salatası örneklerinde⁽¹⁹⁾ ve Çin'deki çoğu eyalet başkentini kapsayan bir çalışmada, çiğ sebze örneklerinde *Salmonella* belirlenmesi⁽²⁵⁾ gibi çalışmalar, birçok ülkede tüketime hazır çiğ sebzelerde *Salmonella* salgını riskinin devam ettiğini göstermektedir.

Bu çalışmada, *S. aureus* $<10\text{-}3.4\times 10^2$ cfu/g ($<1\text{-}2.53$ log₁₀) miktarında belirlenmiştir. Koagülaz pozitif *Staphylococcus* sayısının örneklerin %50'sinde $\geq 10^2$ cfu/g düzeyinde belirlenmesi yetersiz mikrobiyolojik kaliteyi göstermektedir. Meldrum ve ark.⁽⁴⁾ tarafından İngiltere'de, kebab paket servis restoranlarında servis edilen salata sebzelerinde %3.7 *S. aureus* ($\geq 10^2\text{-}<10^4$ cfu/g) belirlenmesi nedeniyle yetersiz mikrobiyolojik kaliteye sahip olduğu saptanmıştır. Ajayi ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ araştırmasında, stafilokoklar yıkanmamış sebzelerde $1.3\times 10^7\text{-}2.6\times 10^7$ cfu/g, yıkanmış olanlarda $3.8\pm 0.7\times 10^5\text{-}9.8\pm 0.7\times 10^6$ cfu/g olarak belirlenmiştir. Hampikyan ve ark.⁽¹⁷⁾ İstanbul'da tüketime sunulan salatalarda, %20 koagülaz (+) *S. aureus* ($10^2\text{-}10^4$ cfu/g) belirlemişlerdir. Özkan'ın⁽²¹⁾ araştırmasında, Tekirdağ ve Kırklareli illerinde çeşitli yemek üretim tesisleri ve lokantalarda tüketime sunulan 95 adet salata örneğinin %3.9'unun $>10^2$ cfu/g seviyelerinde koagülaz pozitif *S. aureus* taşımaları nedeniyle

ilgili yönetmeliğe uymadıkları saptanmış ve halk sağlığı açısından riskli olarak değerlendirilmiştir. Bangladeş'te farklı restoranlardan toplanan 60 adet yemeye hazır karışık sebze salatası örneğinde, *Staphylococcus* spp. $4.64\pm 0.61\text{-}6.42\pm 0.53$ log₁₀ cfu/g olarak belirlenmiştir⁽¹⁹⁾. Ongan⁽¹⁸⁾ huzurevlerinde yaşlılara sunulan beslenme hizmetlerinin değerlendirilmesi amacıyla yaptığı çalışmada, incelenen salata örneklerinin %44.0'ünde *S. aureus* saptanmış, ortalama 7.7×10^2 cfu/g düzeyinde belirlenmiştir. *S. aureus*, Gram pozitif, kok şeklinde, sporsuz, hareketsiz aerobik *Micrococaceae* familyası genel özelliklerini taşıyan mezofilik bir organizmadır. Bu mikroorganizma, insanların deri ve mukozal (boğaz ve burun) florasında yaygın olarak bulunduğu en önemli kaynağı insandır ve personel hijyeni çok önemlidir. Özellikle üretim esnasında, çok fazla el teması olan ve hazırlanarak oda sıcaklığında uzun süre bekletilen gıdalar risklidir. İntoksikasyon tipte gıda zehirlenmesine yol açan enterotoksin oluşturur. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne (2002)⁽¹⁶⁾ göre hazır yiyeceklerde bu etken sayısının 1.0×10^2 cfu/g(mL) değerini aşmaması gerektiği bildirilmiştir. Bu çalışmada, örneklerin bazılarının $>10^2$ cfu/g seviyelerinde koagülaz pozitif *S. aureus* taşımaları nedeniyle ilgili yönetmeliğe uymadıkları saptanmış ve halk sağlığı açısından riskli olarak değerlendirilmiştir.

Döner kebab eşliğinde servis edilen garnitürlerle ilgili olarak yapılan bu araştırma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, incelenen örneklerin %20'sinde toplam aerobik koloni sayısının (TAMB) $\geq 10^7$, %60'ında *Enterobacteriaceae* spp. sayısının $\geq 10^4$, koagülaz pozitif *Staphylococcus* sayısının örneklerin %50'sinde $\geq 10^2$ cfu/g düzeyinde belirlenmesi ve bir örnekte de *Salmonella* spp. saptanmış olması yetersiz mikrobiyolojik kaliteyi ortaya koymuştur. Kebablarla servis edilen açık yiyecekler tarladan çatala tüm aşamalarda kontamine olabilir. Özellikle *E. coli* ve koagülaz pozitif *S. aureus* içeren örneklerin halk sağlığı için potansiyel risk taşıdığı söylenebilir. Yemeye hazır sebzelerin bakteriyel kontaminasyona maruz kalma sebebi sebzelerin etkin yıkanmaması, yıkama suyunun içme suyu niteliklerinin taşımaması, çapraz bulaşma veya ürünün hazırlanması sonrası olan kontaminasyonlardır.

Göktaş'ın⁽²⁶⁾ İstanbul'da kebab servisi yapan restoranları da içeren araştırmasında, 50 gıda işletmesinde 2.350 adet kritik nokta görsel olarak incelenmiş ve bunlardan %34.3'ünün (805 adet) hijyen açısından uygun olmadığı saptanmıştır. Yapılan mikrobiyolojik çalışmalar sonucunda ise, incelenen 100 personel eli örneğinin %39'unun, 100 adet alet ekipman yüzey örneğinin %42'sinin (42 adet) uygun olmadığı belirlenmiştir. Gıda güvenliği sisteminde %52.7, alet-malzeme hijyeninde %46.3 ve personel hijyeninde %36.3 oranında uygunsuzluk saptanmıştır. Isıl işlem görmeden hazırlanan ve tüketime sunulan garnitürlerin mikrobiyolojik analiz sonuçlarının İstanbul'da restoranların hijyen açısından uygunluğunu da yansıttığı düşünüldüğünde, bu araştırmanın sonuçları Göktaş'ın⁽²⁶⁾ araştırması ile de uyumludur ve bu işletmelerde gıda güvenliği yönetimine yönelik uygulamalara daha sıkı uyulması gerekliliğine işaret etmektedir.

Yemeye hazır, tüketime sunulan taze sebzelerin yıkanmasında insan sağlığına zararı olmayan dezenfektan maddelerin kullanımının önemi bu sonuçlardan da anlaşılmaktadır. Klor bazlı ürünler, kullanımla ilgili bazı güvenlik endişelerine rağmen (Örneğin, trihalomethane oluşumu), gıda işletmelerinde ve evlerde kullanılmak üzere uygun ve ucuz bir dezenfektan olarak kabul edilmiştir. Temiz ve ark.⁽²⁷⁾ çalışmalarında, Ankara'daki marketlerden temin ettikleri yapraklı sebzelerin tek başına musluk suyuna batırılma süreci mikrobiyal popülasyonun azaltılmasında etkili bulunmamıştır. Klor (200 mg/l) ve asetik asit (%0.25, v/v) ile yıkandıktan sonra toplam mezofilik bakterilerin azalması ve toplam koliform sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Nascimento ve ark.⁽²⁸⁾, su ve sekiz dezenfektan çözeltileri (%6.25 ve %50 sirke; %2 ve %4 asetik asit; 80 ppm perasetik asit, 200 ppm sodyum hipoklorit ve 200 ppm sodyum dikosocyanurate) marul etkinliğinin doğal mikrobiyotasına karşı karşılaştırılmıştır. Sonuçların istatistiksel analizi, test edilen tüm dezenfektan ajanlarının etkinlik seviyelerinin 200 ppm sodyum hipoklorit seviyesine eşit veya daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlara göre, asetik asidin gıda işletmelerinde ve yapraklı sebzelerin ev seviyesinde yüzey dekontaminasyon uygulamalarında klora alternatif olabileceği görülmektedir.

Bu çalışmada, piyasadan alınan üç farklı marka ticari üzüm sirkesi ve bir de üreticiden alınan geleneksel doğal sirkenin garnitürlerden izole edilen bazı Gram negatif bakteriler ve yedi farklı *S. aureus* suşu üzerine antimikrobiyal etkisi incelenmiş ve kullanılan sirkeye ve incelenen bakteriye bağlı olarak %1.5–6.25 arasında değişen oranda sirkenin mikroorganizmalar üzerine etkin olduğu saptanmıştır. Genel olarak *S. aureus* suşları için Gram negatiflerden daha yüksek oranda sirkeye (%6.25) gereksinim duyulduğu belirlenmiştir. Erzurum'da Elhan⁽²⁹⁾ tarafından sirkenin salata dezenfeksiyonu için etkinliğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, salata dezenfeksiyonunda sirke %3 konsantrasyonunun kullanılabilirliği saptanmıştır. Jayamma ve ark.⁽³⁰⁾ araştırmasında, sebzelerin yüzey kirlenmesinin yüzey mikroflorasını azaltmak için en etkili yöntemin 10 dakika boyunca %3 sirke ile muamele olduğu belirlenmiştir. Srinivasan ve ark.'nın⁽³¹⁾ araştırmasında, sirkenin %2.5 ile en etkili olduğu bulunmuştur. Bahsedilen çalışmaların sonuçları bu araştırmanın sonuçları ile uyumludur. Aliasghari ve ark.⁽³²⁾ tarafından farklı konsantrasyonlarda olan geleneksel üzüm sirkelerinin *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguis* ve *Streptococcus salivarius* üzerinde antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. En yüksek inhibisyon zonu 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan sirke ile *S. salivarius* üzerinde belirlenmiştir.

Karapinar ve Gönül⁽³³⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, %1, 2 ve 5 asetik asit içeren, ayrıca, %30, 40 ve 50 sirke içeren çözeltiler ile çiğ maydonozda dekontaminasyon çalışmaları yapılmış, çalışma sonuçlarına göre %2 ve 5'lik asetik asit çözeltileri *Yersinia enterocolitica*'yı inhibe etmiştir. Wu ve ark.⁽³⁴⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, %5.2 ve daha yüksek asetik asit konsantrasyonuna sahip sirke ile muamele etmenin maydonoz yapraklarındaki *Shigella sonnei* üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu belirtilmiştir. Choi ve ark.'nın⁽³⁵⁾ geleneksel kahverengi pirinç sirkelerinin antimikrobiyal etkinliğinin belirlendi çalışmada *S. aureus*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica* üzerinde yüksek düzeyde antimikrobiyal etki belirlenmiştir.

Üzüm sirkesi dışında farklı sirkelerle yapılan dekontaminasyon çalışmaları da vardır. Ev yapımı ve ticari dut sirkesinin mikrobiyolojik özelliklerini inceleyen Şengün ve Kılıç'ın⁽³⁶⁾ çalışmasında, ev yapımı geleneksel sirke *E. coli* O157H7, *S. Typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus acidilactici* üzerinde etkili olmuştur.

Geleneksel yöntemle üretilen ve üretim sırasında içeriğine bal katılan yaban mersini sirkesi ve bal sirkesinin antimikrobiyal etkisi, *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 0028, *B. subtilis* ATCC 19659, *S. aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 118804 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 suşları ile araştırılmıştır⁽³⁷⁾. Sonuç olarak, geleneksel yaban mersini sirkesinin *S. Typhimurium* ATCC 0028 ve *B. subtilis* ATCC 19659 üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğu belirlenmiştir. Yang ve ark.⁽³⁸⁾, *Litchi chinensis* kullanılarak elde edilen odun sirkesinin *E. coli* 25257, *Acinetobacter baumannii* 814, *S. aureus* 985, *P. aeruginosa* 717 ve ornithine dirençli *S. aureus* ile araştırılmış ve ağaç sirkesinin *S. aureus* 985 ve *P. aeruginosa* 717 (0.95–1.90 µl/100µl) üzerinde önemli antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. Bakır ve ark.⁽³⁹⁾, *S. Typhimurium*, *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde 18 farklı sirke örneğinin (Elma, üzüm, nar, balzamik, yaban mersini, kuşburnu, kobay, limon, böğürtlen, enginar, kayısı, alıç, narenciye, dut, pirinç sirkesi) antimikrobiyal faaliyetleri incelemiştir ve balzamik sirkenin en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, genel olarak incelenen sirkelerin çoğunun söz edilen mikroorganizmalara karşı orta derecede antimikrobiyal aktivitesi bulunduğu belirlenmiştir. Yagnik ve ark.⁽⁴⁰⁾ tarafından yapılan çalışmada, ticari elma sirkesinin inhibisyon etkisi gösterebilmesi için gerekli olan minimum inhibisyon konsantrasyonları, *C. albicans* için 250 µg/ml, *E. coli* için 62 µg/ml ve *S. aureus* için 125 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Farklı mikroorganizma türleri ve farklı suşlarla yapılan bazı çalışmaların sonuçları bu araştırma ile tutarlıyken, diğerleri biraz farklılık göstermektedir. Bunun nedeni, sirke türü, kalitesi, mikroorganizma türü ve suşlarındaki farklılıklar dışında doğrudan örnekler üzerinde yapılan çalışmalarda, toplam mikroorganizma yükü ve diğer safsızlıklardır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, İstanbul'da döner kebab restoranlarında tüketicilere servis edilen garnitürlerinin yeterli mikrobiyolojik kalitede olmadığını, zaten önemli bazı riskler içeren döner kebapların yanı sıra servis edilen kontamine taze sebzelerin tüketilmesinin de sağlık sorunlarına yol açabileceğini göstermiştir. Salata olarak çiğ yenen yapraklı sebzeler, taze ürün güvenliği açısından birinci öncelik grubu olarak kabul edilmiştir. Bir ürün ne kadar çok işlenirse, florası üretildiği ortamın florasını o kadar yansıtır. İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Hijyen Uygulamalarına (GHP) uyulmaması, taze kesim sebzeleri işleme için önemli risk faktörüdür. İyi gıda hijyeni uygulamaları, çapraz kontaminasyon yoluyla yemeye hazır taze gıdalardan gıda kaynaklı hastalık bulaşma riskini büyük ölçüde azaltır. Garnitürlerin gün boyu oda koşullarında saklanması için modifiye atmosfer ambalajı da önerilebilir. Bu yöntem, soğutma ile birlikte mikrobiyal üremeyi yavaşlatır, fizyolojik yaşlanmayı geciktirir ve böylece raf ömrünü uzatır. Sonuç olarak, kebabla servis edilen taze sebzelerin hazırlanması ve servislerinde gıda güvenliği yönetimine yönelik kurallara sıkı bir şekilde uyulmalı ve restoranlarda kamu denetimlerinde çiğ tüketime hazır sebzelerin sağlık riski de göz önünde bulundurulmalıdır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Marchetti R, Casadei MA, Guerzoni ME. Microbial population dynamics in ready-to-use vegetable salads. *Ital J Food Saf.*1992;4(2):97-108.
2. Beuchat LR. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J Food Prot.* 1996;59(2):204-16. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-59.2.204>
3. Altunbag E, Zencir E. Türk ve Akdeniz yemeklerinde sirke kullanımı. *J Gastronom Hospitality Travel.* 2018;1(2):45-54. <https://doi.org/10.33083/joghat.2018.9>
4. Meldrum RJ, Little CL, Sagoo S, Mithani V, McLauchlin J, De Pinna E. Assessment of the microbiological safety

- of salad vegetables and sauces from kebab take-away restaurants in the United Kingdom. *Food Microbiol.* 2009;26(6):573-7.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.03.013>
5. Cunniff P. *Official Methods of Analysis*. 16th edition. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists, 1995:930-35.
 6. ISO 4833:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs horizontal method for the enumeration of microorganisms colony count technique at 30°C. 9s, The International Organization for Standardization, İsviçre, 2003.
 7. Harrigan WF, McCance ME. *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. London: Academic Press, 1976.
 8. ISO 16649-1:2018. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of betaglucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-Dglucuronide. The International Organization for Standardization, İsviçre, 2018.
 9. ISO 6888-2:2003. Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci Part-2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium, Microbiology of food and animal feeding stuffs. The International Organization for Standardization, İsviçre, 2003.
 10. ISO 6579:2017. Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* Part 1: Detection of *Salmonella* spp. Microbiology of the food chain. The International Organization for Standardization, İsviçre, 2017.
 11. Baldas B, Altuner EM. The antimicrobial activity of apple cider vinegar and grape vinegar, which are used as a traditional surface disinfectant for fruits and vegetables. *Commun Fac Sci Univ Ank Series C*. 2018;27(1):1-10.
https://doi.org/10.1501/commuc_0000000187
 12. Gilbert RJ, De Louvois J, Donovan T, et al. Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. *Commun Dis Public Health*.2000;3(3):163-7.
 13. TS 1880 EN 13188. Sirke-Tarım kökenli sıvılardan elde edilen ürün-Tarifler, özellikler, işaretleme. Ankara: Türk Standartları Enstitüsü, Türkiye, 2003.
 14. Ajayi OA, Amokeodo MI, Akinwunmi OO. Microbial quality of selected ready to eat vegetables from Iwo, Nigeria and effectiveness of rinsing agents. *Appl Trop Agric*. 2017;22(2):131-7.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.35068.90249>
 15. Halkman HBD, Halkman AK. Gıdalarda *Escherichia coli* olmayan fekal koliformlar üzerine bir araştırma. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*. 2004;02(02):1-5. <http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702040201.pdf> (Erişim Tarihi: 08.03.2021)
 16. Resmî Gazete. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. (29 Aralık 2011) Resmî Gazete. 2011:28157.
 17. Hampikyan H, Ulusoy B, Bingöl EB, Çolak H, Akhan M. İstanbul'da tüketime sunulan bazı ızgara tipi gıdalar ile salata ve mezelerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2008;38(2):87-94.
 18. Ongan D. Huzurelerinde yaşlılara sunulan beslenme hizmetlerinin değerlendirilmesi ve yaşlıların beslenme durumlarının saptanması. [Doktora tezi] Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Programı, 2012.
 19. Younus MI, Sabuj AAM, Haque ZF, et al. Microbial risk assessment of ready-to-eat mixed vegetable salads from different restaurants of Bangladesh Agricultural University campus. *J Adv Vet Anim Res*. 2020;7(1):34-41.
<https://doi.org/10.5455/javar.2020.g390>
 20. Faour-Klingbeil D, Todd EC, Kuri V. Microbiological quality of ready-to-eat fresh vegetables and their link to food safety environment and handling practices in restaurants. *LWT*. 2016; 74: 224-33.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.051>
 21. Ozkan, M. Tüketime sunulan günlük hazır yemekler ve salataların mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. [Yüksek lisans tezi] Tekirdağ: Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 2009.
 22. Angelo KM, Chu A, Anand M, et al. Outbreak of *Salmonella* Newport infections linked to cucumbers--United States, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015;64(6):144-47.
 23. Castro-Ibáñez I, Gil MI, Allende A. Ready-to-eat vegetables: Current problems and potential solutions to reduce microbial risk in the production chain. *LWT Food Sci Technol*. 2017;85(Part B):284-92.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.073>
 24. Gökmen M, Akkaya L, Kara R, Onen A. Balıkesir'de satışa sunulan bazı tüketime hazır gıdalarda *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*'in yaygınlığı. *Van Vet J*. 2016;27(1):31-6.
 25. Yang X, Wu Q, Huang J, et al. Prevalence and characterization of *Salmonella* isolated from raw vegetables in China. *Food Control*. 2020; 109: 106915.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106915>
 26. Göktaş MA. İstanbul'da bazı gıda işletmelerinde hijyenik kalitenin saptanması. [Yüksek lisans tezi] İstanbul: İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Fen

- Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 2019.
27. Temiz A, Bağcı U, Özmen Toğay S. Efficacy of different decontamination treatments on microbial population of leafy vegetables. *Gıda*. 2011;36(1):9-15.
 28. Nascimento MS, Silva N, Catanozi M, Silva KC. Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. *J Food Protect*. 2003;66(9):1697-700.
<https://doi.org/10.4315/0362-028x-66.9.1697>
 29. Elhan S. Farklı sirke çeşitleri ve konsantrasyonlarının salata bileşenlerinin dezenfeksiyonunda kullanım imkanlarının araştırılması. [Yüksek lisans tezi] Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 2014.
 30. Jayamma P, Reddy RR, Kumar RN, Srineetha U. Effect of vinegar on surface microflora of fruits and vegetables. *Trend Biosci*. 2017;10(33):7172 -6.
 31. Srinivasan K, Karuppan P. Effect of antibacterial activity of vinegar on microorganisms analysed from fresh vegetables and fruits. *J Biol Chem Res*. 2016;33(1):95-103.
 32. Aliasghari A, Khorasgani MR, Khoroushi M. The effect of vinegar, rose water and ethanolic extract green tea against oral Streptococci, an in vitro study. *J Prob Health*, 2017;5(4):186.
<https://doi.org/10.4172/2329-8901.1000186>
 33. Karapinar M, Gonul SA. Removal of *Yersinia enterocolitica* from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. *Int J Food Microbiol*. 1992;16(3):261-4.
[https://doi.org/10.1016/0168-1605\(92\)90086-I](https://doi.org/10.1016/0168-1605(92)90086-I)
 34. Wu F, Doyle M, Beuchat L, Wells J, Mintz E, Swaminathan B. Fate of *Shigella sonnei* on parsley and methods of disinfection. *J Food Prot*. 2000;63(5): 568-72.
<https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.5.568>
 35. Choi HJ, Gwak KJ, Choi DB, Park JY, Cheong HS. Antimicrobial efficacy of fermented dark vinegar from unpolished rice. *Microbiol Biotechnol Lett*. 2015;43(2):97-104.
<https://doi.org/10.4014/mbl.1504.04005>
 36. Şengün İY, Kılıç G. Dut sirkesinin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal, antiradikal ve antimikrobiyal özellikleri. *Akademik Gıda*. 2018;16(2):168-75.
<https://doi.org/10.24323/akademik-gida.449860>
 37. Fonseca MS, Santos VAQ, Calegari GC, Dekker RFH, Barbosa-Dekker AM, Cunha MAA. Blueberry and honey vinegar: Successive batch production, antioxidant potential and antimicrobial ability. *Braz J Food Technol*. 2018;21:e2017101.
<https://doi.org/10.1590/1981-6723.10117>
 38. Yang JF, Yang CH, Liang MT, Gao ZJ, Wu YW, Chuang LY. Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of wood vinegar from *Litchi chinensis*. *Molecules*. 2015;21(9):1150.
<https://doi.org/10.3390/molecules21091150>
 39. Bakır S, Devencioglu D, Kayacan S, Toydemir G, Karbancioglu Guler F, Capanoglu E. Investigating the antioxidant and antimicrobial activities of different vinegars. *Eur Food Res Technol*. 2017;243(12):2083-94.
<https://doi.org/10.1007/s00217-017-2908-0>
 40. Yagnik D, Serafin VJ, Shah A. Antimicrobial activity of apple cider vinegar against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*; downregulating cytokine and microbial protein expression. *Sci Rep*. 2018;8(1):1732.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-18618-x>

Kandidemilerin Hızlı Tanı ve İdentifikasyonunda Direkt Kan Kültür Şişesinden MALDI-TOF MS Yöntemi ve Germ Tüp Testinin Kıyaslanması

Comparison of MALDI-TOF MS Method Using Samples From Blood Culture Bottles and Germ Tube Test in Rapid Detection and Identification of Candidemia

Kerem Yılmaz*¹, Nurten Altanlar**²

*Soma Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Manisa, Türkiye

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

Atf/Cite as: Yılmaz K, Altanlar N. Kandidemilerin hızlı tanı ve identifikasyonunda direkt kan kültür şişesinden MALDI-TOF MS yöntemi ve germ tüp testinin kıyaslanması. Turk Mikrobiyol Cemiyet Derg. 2021;51(3):288-94.

Öz

Amaç: Kandidemi, insidansı gün geçtikçe yükselen, mortalitesi oldukça yüksek bir enfeksiyondür. Kandidemi kliniğinden en sık sorumlu mikroorganizma sıklıkla *Candida albicans*'tır fakat diğer türler de önem taşımaktadır. Bu nedenle mantar enfeksiyonlarında erken tanıyı sağlamak ve mortalite oranını düşürmek için kısa sürede ve güvenilir sonuç veren yöntemlere gereksinim duyulmaktadır. Bu çalışmamızın amacı, çok daha kısa sürede etkenin identifikasyonunda otomatize/manuel birkaç yöntemin değerlendirilmesi ve karşılaştırılmasıdır.

Yöntem: Araştırmada, pozitif kan kültürlerinden izole edilen 50 *Candida* suşunun kan kültür sisteminde pozitifleşme süre (KKP) ortalamaları türlere göre saptanmıştır. Tüm örnekler direkt kan kültür şişesinden germ tüp testi ve MALDI-TOF MS ile identifikasyon, saf kültür eldesi sonrası kültürden germ tüp testi ve MALDI-TOF MS ile identifikasyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen veriler karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Kan kültür sisteminde pozitifleşme süre ortalamaları olarak türlere göre; *C. albicans* için 36.1, *Candida parapsilosis* için 39.4, *Candida tropicalis* için 17.7 s, *Candida glabrata* için 50.5 saat olarak belirlenmiştir. Germ tüp testi ile direkt kan kültür şişesinden ve saf kültür eldesi sonrası yapılan işlemlerde 49 kökende (%98) uyum bulunmuştur. Elli adet *Candida* türünün MALDI-TOF yöntemi ile direkt kan kültür şişesinden ve saf kültür eldesi sonrası yapılan identifikasyon işlemlerinde 37 kökende (%74) uyum bulunmuştur.

Sonuç: KKP süreleri, kandidemili hastalar arasında nihai tür tanımlanmasından önce tür tahminine yönelik bir ipucu olabilir. Direkt GTT, *albicans/non-albicans Candida* türleri ayrımında kültürden bir gün önce tespitine yüksek doğruluk oranıyla olanak sağlamaktadır. Otuz yedi *Candida* türünde standart yöntemlerle %100 uyumlu olacak şekilde tanımlama yapılmış ve bu yöntemin saf kültür eldesi gerektiren MALDI-TOF MS yöntemine göre en az 48 saat avantaj sağladığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Candida spp*, germ tüp, kandidemi, matrix-yardımlı laser desorpsiyon-ionizasyon kütle spektrometrisi

ABSTRACT

Objective: Candidemia is an infection with a high mortality and increasing incidence day by day. *Candida albicans* is the most common microorganism responsible for clinical picture of candidemia but other species are also important. Therefore, in order to establish early diagnosis in fungal infections and decrease the mortality rate, methods which provide reliable results in a short time are needed. The objective of this study is to evaluate and compare several automated/manual methods in identification of the causative agent in a much shorter time.

Method: In the study, average time to become positive in blood culture system for 50 *Candida* strains which were isolated from positive blood culture samples sent to Sakarya University Training and Research Hospital Medical Microbiology Laboratory between March 2018 and March 2019 was determined according to the species. All samples were subjected to germ tube test and identification with MALDI-TOF MS directly from blood culture bottles, and after obtaining pure culture, germ tube test and MALDI-TOF MS method were used for identification. The data obtained were comparatively evaluated.

Results: In the study, average time intervals elapsed to become positive in blood culture system in terms of species were determined to be 36.1 h for *C. albicans*, 39.4 h for *Candida parapsilosis*, 17.7 h for *Candida tropicalis* and 50.5 h for *Candida glabrata*. In the processes performed after germ tube test from direct blood culture bottle and obtaining pure culture, compatibility was found in 49 (98%) strains. Identification results according to MALDI TOF MS method from direct blood culture. In the identification processes performed after MALDI-TOF method from direct blood culture bottle and obtaining pure culture, compatibility was found in 37 (74%) strains.

Conclusion: Time to get positive in blood culture may be a clue for prediction of species before final species identification among patients with candidemia. Direct GTT enables the detection of *albicans/non-albicans Candida* species the day before the culture with high accuracy. Thirty-seven *Candida* species were identified to be 100% compatible with standard methods, and this method was shown to provide at least 48 hours advantage over the MALDI-TOF MS method, that requires pure culture yield.

Keywords: *Candida spp*, Candidemia, germ tube, matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry

Alındığı tarih / Received:

05.02.2021 / 05. February.2021

Kabul tarihi / Accepted:

28.04.2021 / 28. April.2021

Yayın tarihi / Publication date:

07.09.2021 / 07. September.2021

ORCID Kaydı

K. Yılmaz 0000-0002-1626-5172

N. Altanlar 0000-0003-2977-2269

✉ keremyilmaz1@hotmail.com

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

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

GİRİŞ

Kandidemi, bir veya birden fazla kan kültüründen *Candida* türlerinin üretilmesi ile tanı konulan klinik bir tablodur. Kandidemi, organ tutulumlarıyla ilerleyen invaziv kandidoza neden olması ve ciddi mortalite ile seyretmesi nedeniyle önemlidir. Tanıdaki her bir saatlik gecikme kandidemi ilişkili mortaliteyi %1.6 oranında arttırmaktadır. Ayrıca antifungal tedavi almayan ya da geç başlanan hastalarda, tedavi alanlara kıyasla ölüm oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır^(1,2).

Candida albicans kandidemi etkenleri arasında günümüzde hâlâ birinci sıradadır. Fakat yüzdesel olarak non-*albicans Candida*'ların görülme sıklığı tüm dünyada artış eğilimindedir⁽³⁾. Kandidemi etkenlerinin dağılımında *C. albicans*'tan sonra, Amerika'da *Candida glabrata*, Avrupa ve Türkiye'de *Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis*, izole edilme sıklığı artan non-*albicans Candida* türleridir⁽⁴⁾.

Non-*albicans Candida* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların artışı ve antifungal ilaçlara direncin ortaya çıkması, kandidemi tedavisinde de zorluklar getirmektedir⁽⁵⁾. Non-*albicans Candida* türleri arasında *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis*'in, flukonazole ve azollere daha az duyarlı olduğu görülmektedir. *C. glabrata*'nın özellikle flukonazol olmak üzere antifungal ilaçlara karşı daha dirençli olduğu bildirilmektedir. *Candida krusei*, flukonazole karşı intrinsek dirençli olup, bu etkenlerin oluşturduğu klinik tablolar, eski antifungal tedavi ve hastanın nötropenik oluşu ile ilişkilendirilmektedir. Tüm kandidemi olgularının %1-2'sinden sorumlu tutulan *Candida lusitanae*'nin azollere duyarlı fakat amfoterisin B'ye karşı yüksek bir dirence sahip olduğu bildirilmektedir⁽⁶⁾.

Bu nedenle kandidemi enfeksiyonlarında erken tanıyı sağlamak ve mortalite oranını düşürmek için kısa sürede ve güvenilir sonuç veren yöntemlere gereksinim duyulmaktadır. Bu araştırmanın amacı, maya mantarlarının hızlı tanısında, direkt kan kültürü şişesinden ve pasaj kültüründen, germ tüp ile MALDI-

TOF MS yöntemlerinin performanslarının değerlendirilerek karşılaştırılmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örnekler: Mart 2018-Mart 2019 tarihleri arasında Sakarya Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen örnekler araştırmada kullanılmıştır. Kan kültüründe pozitif üreme sinyali olan şişelerden hazırlanan Gram boyalı preparatlarda maya hücresi saptanan, randomize, farklı servis, yaş ve cinsiyetteki hastalara ait 50 örnek çalışmaya alınmıştır. Sonraki işlemler için maya hücresi görülen şişlerden Sabouraud'un dekstrozu agar (SDA) besiyerine pasaj yapılmıştır. Ayrıca *Candida* türlerine ait 4 farklı standart suş (*C. albicans* 90028, *C. parapsilosis* 90018, *C. glabrata* 2001, *C. tropicalis* 750) germ tüp ve identifikasyon basamaklarını doğrulama amacıyla kullanılmıştır. Çalışmamızın etik kurul onayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih:28.02.2019 ve Karar No: 02-135-19).

Kan Kültür Sistemi: Çalışmamızda incelenen hastalardan elde edilen kan kültürü örnekleri Bact-Alert 3D (bioMérieux, Fransa) cihazında inkübe edilmiştir.

Candida Türlerinin Kan Kültür Sisteminde Pozitifleşme Sürelerinin Saptanması: Kan kültür cihazında pozitif sinyal verme süreleri otomatik olarak kaydedilmektedir. Bu süreler daha sonra kullanılmak üzere not edilmiştir.

Germ Tüp Testi: SDA besiyerinden üretilmiş kolonilerden germ tüp testi yapılmıştır⁽⁷⁾. Pozitif olan suşlar *C. albicans* olabileceği düşünülerek not edilmiştir (*Candida dubliniensis*, *Candida africana* türleri de germ tüp oluşturabileceği için identifikasyon işlemi sonrasında değerlendirilmiştir.).

Direkt Kan Kültür Şişesinden Germ Tüp Testi: Kan kültür şişesinden alınan 10 ml aspirat steril 15 ml'lik bir polipropilen tüpe aktarılmıştır. Santrifüj edildikten (4.000 g'de 10 dakika) sonra süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır. Tüpün dibindeki çökeltiden 0.5 ml numune alınarak ve 0.5 ml insan plazması içeren bir

tüpe inoküle edilerek maya süspansiyonu hazırlanmıştır. Süspansiyon 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, bir damla süspansiyon germ tüp oluşumunun varlığı açısından X40 büyütme ile ışık mikroskopunda incelenmiştir.

MALDI TOF MS Yöntemi: MALDI-TOF MS yönteminde VITEK MS (bioMérieux, Fransa) sistemi kullanılmıştır. Önceden SDA'ya taze pasajı hazırlanan kolonilerden örnek tablasına çok az miktarda aktarılmıştır ve hücre duvar yapısını parçalamak ve protein ekstraksiyonunu elde etmek için tablaya 1 µl VITEK- MS-FA (Formik asit) eklenmiş ve çok az beklenilmiştir. Sonrasında yine tablaya matriks çözeltisi 1µl VITEK MS-CHCA (α-cyano-4-hydroxycinnamic acid) eklenerek fiksasyonu ve kristalizasyonu sağlandıktan sonra oda sıcaklığında kurutulmuştur. Plak cihaza yerleştirilerek identifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Analizler üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Analiz sonucu alınan spektrum sonuçları güncel IVD (*in vitro* diagnostik) VITEK MS V2.0 yazılımı kullanılarak sonuçlandırılmıştır.

Tanımlama analizinden önce MALDI-TOF kütle spektrumlarında gösterdiği karakteristik protein yapısı iyi bilinen, yeni pasaj alınmış *Escherichia coli* ATCC 8739 standart kökeniyle cihazda otomatize bir şekilde kalibrasyon, kontrol işlemleri yapılmıştır.

Direkt Kan Kültür Şişesinden MALDI TOF MS Yöntemi: Pozitif kan kültür şişelerinden, üretici firma yönergelerince uygun yöntemlerle hazırlanmış solüsyonlar ve kimyasallar ile hazırlık işlemi uygulandıktan sonra MALDI-TOF MS (Vitek-MS, BioMérieux, Fransa) ile tür düzeyinde tanımlama işlemi yapılmıştır.

Direkt kan kültür şişesinden identifikasyon işleminde, pozitif kan kültür şişesinden 8 ml örnek alınarak 10.000 rpm'de 2 dakika oda sıcaklığında santrifüj işlemi yapılmıştır. İşlem sonrası süpernatant kısmı dökülerek dipteki pellet 2 defa 1 ml saf su ile yıkanmıştır. İkinci kez santrifüj işlemi yinelenerek pellet, %0.1 Tween 80 (1 ml) içinde süspanse edilmiş ve 2 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Üçüncü bir santrifüjden sonra, pellet 2 defa 1

ml saf su ile yıkanmış tekrar santrifüjlenmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Elde edilen pellet 300 µl saf su ve 900 µl kesin etanol içinde süspanse edilmiştir. Bu süspansiyon yine santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet içine 30 µl %70 formik asit ve 30 µl saf asetronitril eklenerek karışım iyice vortekslenmiştir. Hazırlık aşamasının son safhasında karışıma 14.000 rpm, 2 dakika, oda sıcaklığında santrifüj işlemi yapılmıştır. Her örnek için elde edilen süpernatantlar ayrılıp çalışılınca kadar -20°C 'de saklanmıştır⁽⁸⁾.

Elde edilen her örnekten 1 µl, MALDI-TOF MS tanımlama tablasına aktarılmıştır. Konulan yaklaşık 1 damla örnek kuruduktan sonra üzerine 1 µl VITEK MS-CHCA (α-cyano-4-hydroxycinnamic acid) eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında kurumaya sağlanmıştır. Daha sonra plak cihaz içine yerleştirilerek identifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Tüm *Candida* izolatları için kan kültür sisteminde ortalama pozitifleşme süresi 25.9 saat olarak belirlenmiştir. *C. albicans* için 36.1 saat, *C. parapsilosis* tür kompleksi için 39.4 saat, *C. tropicalis* için 17.7 saat ve *C. glabrata* için 50.5 saat kan kültür sisteminde ortalama pozitifleşme süreleri belirlenmiştir. *C. glabrata* için kan kültür sisteminde pozitifleşme süresi diğer üç türe göre daha uzun olarak saptanmıştır. Bunun aksine, *C. tropicalis*'in kan kültür sisteminde pozitifleşme süresi ise diğer üç türden daha kısa olarak saptanmıştır.

Direkt kan kültür şişesinden 50 *Candida* türü için yapılan germ tüp testi sonuçları SDA kültürü sonrası yapılan germ tüp testi ile 49/50 (%98) oranında tutarlı olarak saptanmıştır. Sadece 1 *C. albicans* kökeninde direkt kan kültür şişesinden yapılan germ tüp testi hatalı negatif olarak saptanmıştır.

Direkt kan kültür şişesinden MALDI-TOF MS ile 50 *Candida* türünün 37'si (%74) kültürden yapılan MALDI-TOF MS ile tutarlı olarak tanımlanmıştır. Bu 37 tür, kültür sonrası identifiye edilen 50 tür ile kendi arasında tür bazında kıyaslandığında, bunların 20'si

Tablo 1. Direkt kan kültür şişesinden MALDI-TOF MS ile identifikasyon ve klasik kültür sonrası MALDI-TOF MS ile identifikasyon sonuçları.

	Örnek Sayısı	Direkt kan kültüründen MS ile identifikasyon	Klasik kültür bazlı MS ile identifikasyon
<i>Candida albicans</i>	25	20	25
<i>Candida parapsilosis</i>	12	8	12
<i>Candida tropicalis</i>	10	7	10
<i>Candida glabrata</i>	3	2	3
Toplam	50	37	50

(20/25; %80) *C. albicans*, 8'i (8/12; %66.6) *C. parapsilosis* tür kompleksi, 7'si (7/10; %70) *C. tropicalis*, 2'si (2/3; %66.6) *C. glabrata*, olarak tanımlanmıştır. İdentifiye edilemeyen 13 *Candida* türü spektrum yetersizliği nedeni ile tanımlanamamıştır. Bu şişelerden ikinci kez çalışıldığında da benzer sonuçlar alınmıştır. Kültürden ve direkt kan kültür şişesinden MALDI-TOF MS ile identifikasyon sonuçları Tablo 1'de karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Spektrum yetersizliği nedeni ile identifiye edilemeyen türler; *C. albicans* (5/25; %20.0), *C. parapsilosis* tür kompleksi (4/12; %33.3), *C. tropicalis* (3/10; %30.0) ve *C. glabrata* (1/3; %33.3) şeklindedir.

Spektrum yetersizliği gözlenen 13 suşun üretildiği kan kültür şişelerinde, Gram boyamada maya hücreleri yoğunluğunun diğer şişelere oranla göreceli olarak düşük olduğu gözlenmiştir.

TARTIŞMA

Son yıllarda mantar enfeksiyonlarının özellikle yatan hastalarda ciddi oranda artış göstermekte olduğu bildirilmektedir⁽⁹⁾. Kandidemiye bağlı mortalite oranı diğer mikrobiyal etkenlerin neden olduğu sepsise bağlı mortaliteden çok daha yüksek olup, bu hastalarda mortalite oranları %5 ile %71 arasında değişebilmektedir⁽¹⁰⁻¹²⁾. Bu ciddi oranlar 24 saat içinde uygun tedavi başlanmadığında daha da artarak %97.6'lara kadar çıkmaktadır^(8,13).

Küresel boyutta invaziv kandidoz ve kandidemilerin hemen hemen tamamından sorumlu olan türler bizim çalışmamızda da üzerinde durduğumuz; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* şeklindedir. *C. albicans*, kandidemilerde izole edilen *Candida* türleri arasında günümüzde hala en yaygın saptanan etkidir. Fakat non-*albicans*

Candida türlerinin izolasyon sıklığı da giderek artmaktadır⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Kan kültür cihazında pozitiflik (KKP) süresi klinik alanda daha az tartışılmıştır, ancak *Candida* türlerinin saptanması için ortalama sürenin türler arasında değiştiği genel olarak kabul edilmektedir⁽¹⁷⁾.

2012'de yapılan 171 kandidemi olgusu ile ortalama KKP süreleri incelenmiş ve *C. albicans* için 34.2 saat, *C. parapsilosis* için 38.9 saat, *C. tropicalis* için 16.9 saat ve *C. glabrata* için 56.5 saat olarak saptanmıştır. Ayrıca *C. glabrata* için KKP süresi anlamlı olarak diğerlerinden daha yüksek bulunmuştur⁽¹⁸⁾.

2015 yılında Taiwan'da 410 kandidemi tanılı hastanın ortalama KKP sürelerinin incelendiği bir çalışmada, *C. albicans* için 58.4 saat, *C. parapsilosis* için 71.3 saat, *C. tropicalis* için 50.6 saat ve *C. glabrata* için 90.7 saat olarak saptanmıştır⁽¹⁷⁾.

Bizim çalışmamızda da literatürlerdeki çalışmalar ile benzer olarak ve *C. tropicalis* için en düşük KKP, *C. glabrata* için en yüksek KKP süreleri saptanmıştır.

Birçok konvansiyonel yöntem arasında *C. albicans*'ın diğer türlerden ayrımında laboratuvarlarda en sıklıkla tercih edilen yöntem germ tüp testidir (GTT)⁽¹⁹⁾. GTT oldukça güvenilir bir testtir. Fakat aynı zamanda GTT için kan kültürlerinde üreme saptandıktan sonra katı besiyerine yapılan pasaj sonrası üretilen kolonilerden test gerçekleştirilebilmektedir. Bu yüzden, sonuçlandırma için ekstradan 24 saat daha süreye gereksinim duyulmaktadır. Bu zaman kaybının ekarte edilebilmesi ve *C. albicans*'ın hızlı tanımlanabilmesi için, maya olduğu saptanan kan kültür şişelerinden direkt GTT uygulanması üzerine çalışmalar yapılmıştır⁽¹⁹⁻²¹⁾.

2013 yılında yapılan bir araştırmada, direkt GTT ile SDA'dan pasaj sonrasında gerçekleştirilen GTT arasında %100 uyum saptanmıştır. Ayrıca her izolat API 20 C AUX kullanımı ile identifiye edilerek araştırma kontrol edilmiştir⁽²²⁾.

2016 yılında ülkemizde maya pozitif olduğu saptanan kan kültür şişelerinden yapılan bir araştırmada, direkt şişeden GTT pozitif bulunan 80 kan örneğinin tamamında *C. albicans/C. dubliniensis* varlığı belirlenmiş, yanlış pozitiflik saptanmamıştır. Direkt şişeden GTT negatif bulunan 92 örnekten 11'inde (%12) yanlış negatiflik saptanarak *C. albicans/C. dubliniensis* saptanmıştır⁽¹⁹⁾.

Çalışmamızda da *C. albicans* olduğunu sonrasında saptamış olduğumuz 25 örnekten 24'ü direkt GTT pozitif olarak saptanmıştır. Bir adet *C. albicans* örneği yanlış negatif olarak değerlendirilmiştir. Klasik GTT ile 25 *C. albicans* türünün hepsi pozitif olarak saptanmıştır. Non-*albicans Candida* türlerinin ise tamamı her iki GTT ile de negatif olarak, doğru ve %100 uyumlu olarak saptanmıştır. Tüm izolatlar değerlendirildiğinde 49/50 %98 gibi yüksek bir doğruluk oranıyla her iki test irdelenmiştir.

Direkt GTT, *albicans/non-albicans Candida* türleri ayrımının kültürden bir gün önce tespitine olanak sağlayan, ucuz, özel ekipman gerektirmeyen ve en önemlisi konvansiyonel tanı testleri ile yüksek uyum oranı gösteren bir testtir. Çok düşük oranda da olsa yanlış negatif sonuçlar alınabileceği unutulmamalıdır.

Konvansiyonel yöntemlerle identifikasyona göre çok daha avantajlı olan MALDI-TOF MS ile identifikasyon özellikle sepsis/fungemi gibi dakikaların bile önemi olduğu durumlar için kullanılmak üzere geliştirilmiş ve kültürde üretme basamağı atlanarak direkt kan kültür şişesinden patojenlerin identifikasyonunu sağlayan adaptasyonlar yapılmıştır⁽²³⁾.

2012 yılında yalnızca *Candida* türlerinin direkt kan kültür şişesinden MALDI-TOF MS ile identifikasyonunun hedeflendiği, özel yıkama ve santrifüj protokollerinin ilave edildiği bir araştırmada tanımlama sonuçları *C. albicans*'ın %95.9'u (187/195) ve non-

albicans Candida türlerinin %86.5'i (128/148) için geleneksel kültüre dayalı yöntemin sonuçlarıyla uyumlu olarak saptanmıştır⁽⁸⁾.

2016 yılında 405 adet pozitif kan kültür şişesinden direkt MALDI-TOF MS ile bakteri ve mantarları başarıyla tanımlamışlardır. Tür veya cins düzeyinde 365 patojen doğru olarak tanımlanmıştır⁽²⁴⁾.

Bizim çalışmamızda da direkt kan kültür şişesinden MALDI TOF MS ile 50 *Candida* türünün 37'si (%74) kültürden yapılan MALDI TOF MS ile tutarlı ve literatürlerle paralel olarak tanımlanmıştır. Bu 37 tür, kültür sonrası identifiye edilen 50 tür ile kendi arasında tür bazında kıyaslandığında; bunların 20'si (20/25; %80) *C. albicans*, 8'i (8/12; %66.6) *C. parapsilosis*, 7'si (7/10; %70) *C. tropicalis*, 2'si (2/3; %66,6) *C. glabrata* olarak saptanmıştır. Direkt klinik örnekten MALDI-TOF MS ile identifikasyon için farklı protokoller ve farklı doğru identifikasyon oranları mevcuttur. Saptanan bu oranlar ön işlemler ile daha saf ve daha konsantre patojenin elde edilmesine ve kandaki mantar yüküne bağlanmaktadır⁽⁸⁾. Çalışmamızda identifiye edilemeyen 13 *Candida* türü spektrum yetersizliği nedeni ile tanımlanamamıştır. Bu 13 hastanın kanındaki fungal yükün daha düşük olduğu bu nedenle saflaştırma ve konsantre etme aşamasında yeterli maya komponenti eldesi sağlanamadığı düşünülmektedir. Ayrıca klasik kültür bazlı MALDI-TOF MS ile identifikasyona göre yaklaşık 48 saat süre avantajı sağladığı belirlenmiştir.

Uygun ampirik antifungal tedavinin başlanamaması veya tedavide uygun dozun kullanılmaması nozokomiyal kaynaklı invaziv mantar enfeksiyonlarında mortalite oranlarında artışa neden olan etkenlerdir⁽²⁵⁾. Doğru antifungal seçimi için tanıda kullanılan konvansiyonel yöntemler gerek hız gerekse duyarlılık ve özgüllük açısından kısıtlılıklara sahiptir. Konvansiyonel yöntemlerde karşılaşılan bu güçlüklerin giderilmesi için daha hassas, daha spesifik olan ve en önemlisi daha kısa inkübasyon süresi sağlayan alternatif testlere gereksinim doğmuştur. Bu doğrultuda MALDI-TOF MS klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında referans aracı olarak ortaya çıkmış, hem hız hem de doğruluk açısından eski tanımlama yöntemlerini aşmıştır⁽²⁶⁾.

Tür çeşitliliğinin az olması, çalışmaya dâhil edilen örnek sayısının az olması araştırmamızın kısıtlamalarındandı.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 28.01.2019 ve Karar No. 02-135-19).

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Ankara University Ethics Committee (01.28.2019-02-135-19).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004;23(1):317-22. <https://doi.org/10.1007/s10096-004-1103-y>
2. Seyedmousavi S, İlikit M, Durdu M, et al. *Candida* ve Kandidoz: Epidemiyoloji, tanı, tedavi, antifungal ilaç direnci ve konağın genetik yatkınlığında güncel durum. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2015;45(1):1-11. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2015.001>
3. Tümbay T. *Candida* türleri, In: Temel ve klinik mikrobiyoloji. Ustaçelebi Ş, Günel M, İmir T, Cengiz T, Tümbay E, Mete Ö. (eds.). Güneş kitabevi, Ankara. 1999:1081-6.
4. Yapar N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Ther Clin Risk Manag.* 2014;13(10):95-105. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S40160>
5. Pereira GH, Müller PR, Szeszs MW, Levin AS, Melhem MS. Five-year evaluation of bloodstream yeast infections in a tertiary hospital: the predominance of non-*C. albicans Candida* species. *Med Mycol.* 2010;48(6): 839-42. <https://doi.org/10.3109/1369378090358012>
6. Cruciani M, Serpelloni G. Management of *Candida* infections in the adult intensive care unit. *Expert Opin Pharmacother.* 2008;9(2):175-91. <https://doi.org/10.1517/14656566.9.2.175>
7. Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus*, and Other Yeasts of Medical Importance. In: Manual of Clinical Microbiology. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). 9th ed. ASM Press, Washington. 2010:1762-88.
8. Spanu T, Posteraro B, Fiori B, et al. Direct MALDI-TOF mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *J Clin Microbiol.* 2012;50(1):176-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.05742-11>
9. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive mycoses in North America. *Crit rev Microbiol.* 2010; 36(1):1-53. <https://doi.org/10.3109/10408410903241444>
10. Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ. *Candida*. In: Clinical Mycology. Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. (eds). Elsevier Health Sciences. 2009:197-229
11. Sofair AN, Lyon GM, Huie-White S, et al. Epidemiology of community-onset candidemia in Connecticut and Maryland. *Clin Infect Dis.* 2006;43(1):32-9. <https://doi.org/10.1086/504807>
12. Zaoutis TE, Argon J, Chu J, Berlin JA, Walsh TJ, Feudtner C. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clin Infect Dis.* 2005;41(9):1232-9. <https://doi.org/10.1086/496922>
13. Idelevich EA, Grunewald CM, Wüllenweber J, Becker K. Rapid identification and susceptibility testing of *Candida* spp. from positive blood cultures by combination of direct MALDI-TOF mass spectrometry and direct inoculation of Vitek 2. *PLoS One.* 2014;9(12):e114834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114834>
14. Giri S, Kindo AJ. A review of *Candida* species causing blood stream infection. *Indian J Med Microbiol.* 2012;30(3):270-8. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.99484>
15. Richardson M, Lass-Flörl C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl 4):5-24. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.01978.x>
16. Rodloff C, Koch D, Schaumann R. Epidemiology and antifungal resistance in invasive candidiasis. *Eur J Med Res.* 2011;16(4):187-95. <https://doi.org/10.1186/2047-783x-16-4-187>
17. Chen LY, Yang SP, Chen TL, et al. Clinical significance of time to positivity for yeast in candidemia. *J Microbiol Immunol Infect.* 2015;48(4):425-30. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.11.002>
18. Lai CC, Wang CY, Liu WL, Huang YT, Hsueh PR. Time to positivity of blood cultures of different *Candida* species causing fungaemia. *J Med Microbiol.* 2012;61(Pt

- 5):701-4.
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.038166-0>
19. Doğan Ö, Gülmez D, Arıkan Akdağlı S. Fungemi olgularında hızlı bir ön tanımlama testi: Pozitif kan kültürü şişesinden yapılan doğrudan germ tüp (çimlenme borusu) testinin değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2016;30(3):102-8.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2016.102>
20. Sheppard DC, Locas MC, Restieri C, Laverdiere M. Utility of the germ tube test for direct identification of *Candida albicans* from positive blood culture bottles. J Clin Microbiol. 2008;46(10):3508-9.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01113-08>
21. Terlecka JA, Du Cros PA, Orla Morrissey C, Spelman D. Rapid differentiation of *Candida albicans* from non-albicans species by germ tube test directly from BacTAlert blood culture bottles. Mycoses. 2007;50(1):48-51.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01307.x>
22. Saad U, Siddiqui S, Jamil N, Jamil S, Hafiz S. Detection of *Candida albicans* from positive blood culture bottles. Int J Pathol. 2013;11(2):54-7.
23. Hou TY, Chiang-Ni C, Teng SH. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. J Food Drug Anal. 2019;27(2):404-14.
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.01.001>
24. Chien JY, Lee TF, Du SH, et al. Applicability of an in-house saponin-based extraction method in Bruker biotyper matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry system for identification of bacterial and fungal species in positively flagged blood cultures. Front Microbiol. 2016; 7: 1432.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01432>
25. Milkulska M, Del Bono V, Rotto S, Viscoli C. Occurrence presentation and treatment of candidemia. Expert Rev Clin Immunol. 2012;8(8):755-65.
<https://doi.org/10.1586/eci.12.52>
26. Arca-Suárez J, Galán-Sánchez F, Marin-Casanova P, Rodríguez-Iglesias MA. Direct identification of microorganisms from thioglycolate broth by MALDI-TOF MS. PLoS One. 2017;12(9): e0185229.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185229>

Sağlık Programları Öğrencilerinin Antibiyotik Kullanımına İlişkin Bilgi ve Tutumların Üzerine Bir Araştırma[§]

A Study on the Knowledge and Attitudes Regarding Antibiotic Usage of Health Program

Nazife Akman[®]

Kapadokya Üniversitesi, Kapadokya Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Ürgüp, Nevşehir, Türkiye

Atf/Cite as: Akman N. Sağlık programları öğrencilerinin antibiyotik kullanımına ilişkin bilgi ve tutumların üzerine bir araştırma. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):295-302.

Öz

Amaç: Bu çalışmada, Kapadokya Meslek Yüksek Okulu'nda öğrenim gören sağlık programı öğrencilerinin antibiyotik kullanımı ve bakteri direnci hakkındaki bilgi ve tutumlarını belirlemek amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamız tanımlayıcı ve kesitsel tipte bir çalışmadır. Araştırmanın evrenini 2019-2020 akademik yılında sağlık programlarında öğrenim gören öğrenciler oluşturmuştur. Çalışmaya katılmayı kabul eden ve anket formunu dolduran (n=350) öğrenci örnekleme alınmıştır. Katılımcılara formlar elektronik ortamda gönderilmiştir.

Bulgular: Ankete katılanların %53.1'i (n=186) antibiyotiklerin soğuk algınlığından kurtulmayı hızlandırıldığını kabul etti. Katılımcıların %75.7'si (n=265) bakteriyel dirençle mücadelede rol oynayabileceğinin farkındaydı. Antibiyotiklerle ilgili bilgi almak için başvuru alan en önemli kaynak %68 (n=238) ile doktorlar/hemşirelerdi. Katılımcıların %91.7'si (n=321) ülke nüfusunun antibiyotiği gereksiz kullandığını bildirdi ve %83.4'ü (n=292) tedavinin tamamlanması gerektiğini savundu. Katılımcıların bilgi düzeyleri ile cinsiyetleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken, eğitim basamakları ile bilgi düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulundu.

Sonuç: Bu çalışma sonucunda, öğrencilerin antibiyotik kullanımı ve bakteri direnci hakkında orta seviyede bilgiye sahibi olduğu saptanmıştır. Öğrencilerin antibiyotik kullanımı ve bakteri direnci hakkında yeterli bilgi sahibi olabilmeleri için farkındalık kampanyalarının düzenlenmesi, konu ile ilgili eğitimlerin verilmesi ve konuyla ilişkili daha fazla çalışma yapılması önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik direnci, tutum, farkındalık

ABSTRACT

Objective: It was aimed to determine the knowledge and attitudes of health program students studying at Cappadocia Vocational School about antibiotic use and bacterial resistance.

Methods: This is a descriptive and cross-sectional study. The population of the research was formed by the students studying in health programs in the 2019-2020 academic year. The students who accepted to participate in the study and completed the questionnaire fully (n=350) was included in the sample. The forms were sent to the participants electronically.

Results: Hundred and eighty-six (53.1%) participants agreed that antibiotics accelerated recovery from the common cold, and 75.7% (n=265) of the participants were aware that the antibiotics could play a role in combating bacterial resistance. The most important source of information on antibiotics was doctors/nurses in 68% (n=238) of the participants. Most (91.7%) of the participants (n=321) reported that the population of Turkey used antibiotics unnecessarily and 83.4% (n=292) of them advocated that the treatment should be complete. While there is no significant relationship between the knowledge level of the participants and their gender; a statistically significant relationship was found between education and knowledge levels of the participants.

Conclusion: As a result of this study, it was determined that the students have a moderate knowledge about antibiotic use and bacterial resistance. In order for students to have sufficient information about antibiotic use and bacterial resistance organization of awareness campaigns, provision training on the subject and carrying out further studies on the this subject may be suggested.

Keywords: Antibiotic resistance, attitude, awareness

Alındığı tarih / Received:
23.02.2021 / 23. February.2021

Kabul tarihi / Accepted:
08.05.2021 / 08. May.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07. September.2021

ORCID Kayıtları

N. Akman 0000-0001-7726-0968

✉ nazife.akman@kapadokya.edu.tr

[§] Bu çalışma, TMC 2020 Çevrim İçi Mikrobiyoloji Sempozyumu'nda; (25-27 Aralık 2020, PS-82, sf:361, İstanbul, Türkiye) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Enfeksiyonlara veya mikroplara karşı savaşmak için antibiyotikler, şüphesiz insan uygarlığı için bir nimettir⁽¹⁾. Antibiyotikler, 20. yüzyılın ortalarında “harika ilaç” olarak görülüyordu. O zamanlar bulaşıcı hastalıkların neredeyse tamamen durduğuna dair bir inanç vardı ve antibiyotikler, hastalığa neden olan mikropları seçici olarak hedef alan ancak aynı zamanda konağı etkilemeyen sihirli bir mermi olarak kabul edilmiştir⁽²⁾. Ne yazık ki bu durum bakteriyel direncin ortaya çıkması ile tehlikeye girmiştir⁽³⁾.

Esasında bakteriyel direnç doğal bir olgudur⁽⁴⁾. Hem tıpta hem de veteriner hekimlikte antibiyotiklerin aşırı kullanımı⁽⁵⁾, gelişmekte olan ülkelerde, insanların yalnızca reçeteyle değil, aynı zamanda kendi kendilerine de ilaç alabilmesi⁽⁶⁾, birçok hastanın reçete edilen tedaviyi tamamlamaması⁽⁷⁾ antibiyotik direncinin oluşumunu hızlandırmıştır. Etkili antibiyotik tedavilerinin kaybı, en yaygın bakteriyel hastalıkların tedavisini tehlikeye atmaktadır⁽⁸⁾. Aynı şekilde Dünya Bankası’na göre, antibiyotiğe dirençli enfeksiyonlar sürdürülebilir kalkınma hedeflerine ulaşmayı engelleyebilmektedir⁽⁹⁾.

Ülkemizde de bu endişe verici durumun farkında olan Sağlık Bakanlığı başta olmak üzere ilgili tüm kurum ve kuruluşlarda antibiyotik tüketiminin azaltılmasına yönelik önemli programlar yürütülmekte, yeni politikalar uygulamaya konmaktadır. Bunun yanı sıra ilgili kurumların öncülüğünde direnç verilerinin oluşturulmasına yönelik sörveyans çalışmaları yapılmaktadır. Fakat Ekonomik Kalkınma ve İş Birliği Örgütü (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD)) sağlık politikası çalışmalarının son raporu, 2015 yılında en yüksek antimikrobiyal direnç oranlarının (Türkiye, Kore ve Yunanistan’da yaklaşık %35) üye ülkeler arasındaki en düşük oranlardan yedi kat daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Son 15 yıldır hastanelerde antibiyotik kısıtlama programlarının uygulanmasına rağmen, OECD ülkeleri arasında %38.8 oranla en yüksek direnç oranına sahip olan ülkemizde antibiyotik direnci ve tüketimine yönelik acil bir eylem planına gereksinim duyulmaktadır⁽¹⁰⁾.

Bu nedenlerle çalışmamızda, Kapadokya Üniversitesi sağlık programları öğrencilerinin antibiyotik kullanımı ve bakteriyel direnç hakkındaki bilgi ve tutumlarını belirleyerek, elde edilen veriler ışığında sağlık yetkililerinin karar almasına ve bilinçlendirme politikalarının uygulanmasına katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırma türü: Araştırma, öğrencilerin antibiyotik kullanımı ve bakteri direnci ile ilgili bilgi ve görüşlerini belirlemeye yönelik kesitsel bir çalışma olarak planlanmıştır. Çalışmanın etik kurul onayı Kapadokya Üniversitesi Araştırma Etik Kurulu’ndan (24.09.2019 tarih ve 2019.08 No.lu karar) alınmıştır.

Araştırma evreni ve örneklem: Araştırma Nevşehir ilindeki Kapadokya Üniversitesi’nin Sağlık Programları Kampüsü’nde öğrenim görmekte olan öğrencilerle gerçekleştirilmiştir. Çalışma, keşfedici korelasyonel araştırma deseninde olup çalışmanın hedef evrenini, Kapadokya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu ve Kapadokya Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu sağlık programlarında öğrenim gören öğrenciler oluşturmuştur. Öğrenciler beslenme ve diyetetik, fizyoterapi ve rehabilitasyon, dil ve konuşma terapisi lisans programları ile ameliyat odası hizmetleri, anestezi, diyaliz, laboratuvar teknikleri, fizyoterapi önlisans programlarında eğitim görmektedir.

Örnek boyutunu tahmin etmek için Raosoft örneklem büyüklüğü hesaplayıcısı⁽¹¹⁾ kullanılmıştır. Hipotezler; yanıt dağılımı: %50; kaynak popülasyon büyüklüğü: 2.500; istenen güven seviyesi: %95; hata payı: %5 şeklindedir. Buna göre, Raosoft örneklem büyüklüğü hesaplayıcısında, kaynak popülasyon büyüklüğü (evren) 2.500 olarak varsayılmıştır ve hesaplayıcıda örneklem büyüklüğü 334 olarak saptanmıştır. Temsiliyetin optimize edilmesi için büyük- küçük 350 katılımcıya yuvarlanmıştır.

Veri toplama aracı: Çalışmanın potansiyel öğelerini belirlemek için önceki benzer çalışmaların literatür taraması yapılmıştır. Literatür taramasına dayanarak, çalışma anketi daha önce Birleşik Krallık, Senegal ve İsveç’te kullanılan doğrulanmış anketlerden

uyarlanmıştır⁽¹²⁻¹⁴⁾. Çalışma verileri anket formları ile nicel olarak toplanmış ve analizler nicel veriler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Anket dört bölümden oluşmaktadır. Bunlardan ilki, sosyodemografik özelliklerle ilgili olup, üç madde içermektedir. İkinci bölümde, bilgi kaynakları ve kullanılan bir antibiyotik ismi toplanmıştır. Üçüncü bölümde, on iki soru ile katılımcıların bilgi düzeyi değerlendirilmiştir. Bilgiye verilen yanıtların üç seçeneği vardır bunlar: ‘doğru’, ‘yanlış’ veya ‘bilmiyorum’ şeklindedir. Doğru seçenek soru 1 - soru 7 için “yanlış”; soru 8 - soru 12 için “doğru”; yanlış seçenek soru 1 - soru 7 için “doğru” ya da “bilmiyorum” ve soru 8 - soru 12 için “yanlış” ya da “bilmiyorum” şeklindedir.

Bilgi düzeyi şu şekilde değerlendirilmiştir: Her doğru yanıt için bir puan, her yanlış yanıt için sıfır puan verilmiştir. Bilginin genel puanı, yanıtların puanları toplanarak elde edilecek olup, minimum ve maksimum puanlar sırasıyla 0 ve 12 puan olacaktır. Bilgi düzeyi José ve Oudou O.⁽¹⁵⁾ tarafından açıklanan usule göre sınıflandırılacaktır. Son olarak, dördüncü bölümde antibiyotik kullanımı ve bakteriyel direnç ile ilgili görüşler toplanacaktır. Bu bölüm dört sorudan oluşmuş olup, yanıt seçenekleri “evet”, “hayır” veya “fikrim yok” şeklindedir.

Veri toplama yöntemi: Katılım gönüllük esasına dayalı olarak sağlanmıştır. Anket formu, öğrencilere elektronik ortam üzerinden ulaştırılmış olup, öğrenciler tarafından elektronik ortamda doldurulmuştur. Anket formuna öğrenciler, 2020 Haziran ayı içerisinde internet üzerinden ulaşmışlardır. Anketin tamamlanması yaklaşık 10 dakika sürmüştür. Veriler anonim ve gizli olarak toplanmış olup, 350 yanıt ulaşıldıktan sonra ankete yanıt girişi kapatılmıştır.

Veri analizi: Veriler e-tablolara kaydedilmiş ve sonrasında SPSS 21’e aktarılmıştır. İstatistiksel analiz olarak kalitatif değişkenler frekans ve yüzde olarak belirtilirken, bilgi puanı ortalamaya±standart sapma olarak verilmiştir. İkinci bölüm analittir. Normallik dağılımı testi sonucunda Skewnes ve Kurtosis değerleri +1.5 ve 1.5 değerleri arasında bulunduğundan normal dağılım gösterdiği saptanmış olup, parametrik testlerden, bilgi ve sosyodemografik değişkenler olan

cinsiyet ve eğitim durumu arasındaki ilişki χ^2 testi ile incelenmiştir.

Etik konular tüm katılımcılardan, çalışmaya katılmadan önce çalışmanın kapsamını, gerekçesini ve amaçlarını anketin başlangıcındaki bilgilendirme kısmında okuduktan sonra kendileri için uygunsa bilgilendirilmiş olur vermeleri istenmiştir. Katılım isteğe bağlıydı ve bu yüzden gönüllülük esasına göre çalışmayı kabul edenlerin yanıtları kaydedilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamıza toplam 350 katılımcı dâhil edildi ve anket, çalışmaya katılmayı kabul eden 350 kişiye uygulandı.

Sosyodemografik özellikler: Katılımcıların %70.9’u (n=248) 20-22 yaş grubu ile temsil edilen gruptu. Katılımcıların %75.1’i (n=263) kız öğrenciydi ve 2. sınıf öğrencilerinde katılım %55.7 (n=195) olarak saptandı (Tablo 1). Üniversitede çalışma yapıldığı dönemde lisans programları da dahil öğrenciler en üst sınıf olarak 2. sınıfı tamamlamışlardı.

Tablo 1. Katılımcıların sosyodemografik özellikleri (n=350).

Sosyodemografik özellikler	n	%	
Yaş	18-19	58	16.6
	20-22	248	70.9
	>22	47	13.4
Cinsiyet	Kız	87	24.9
	Erkek	263	75.1
Eğitim basamağı	1. sınıf	155	44.3
	2. sınıf	195	55.7

Tablo 2. Antibiyotikler hakkında bilgi almak için kullanılan bilgi kaynakları (n=350).

Bilgi kaynağı	n	%
Aile veya arkadaşlar	165	47.1
Eczane çalışanları	108	30.9
Doktor/hemşire	238	68
Televizyon	106	30.3
Radyo	8	2.3
Prospektüs	163	46.6
Diş hekimi	32	9.1
Farkındalık kampanyaları-kamu spotları	45	2.9
İnternet	159	45.4

*Katılımcılar birden fazla seçeneği seçebilmişlerdir.

Bilgi kaynakları: Ankete katılanların belirttiği ilk üç bilgi kaynağı doktor/hemşire %68 (n=238), aile veya arkadaşlar %47.1 (n=165) ve prospektüs %46.6 (n=163) olarak bildirildi. En az tercih edilen kaynak ise %2.3 (n=8) ile radyo oldu (Tablo 2).

Çalışmaya katılan 187 öğrenci “Kullandığınız bir antibiyotığın adını yazabilir misiniz?” sorusuna yanıt verdi. Bunlar arasında en çok söz edilen antibiyotikler olarak Augmentin® %34.7 (n=65), Amoklavın® %13.3 (n=25), Klamoks® %10.62 (n=20) belirlendi. Katılımcıların %5.3’ü (n=10) hiç antibiyotik kullanmadığını söyledi.

Bilgi soruları: Ankete katılanların %53.1’i (n=186) antibiyotiklerin soğuk algınlığı/grip; %65.1’i (n=228) boğaz ağrısı; %47.4’ü (n=166) ateşe karşı etkili olduğunu düşündü. Katılımcıların %5.4’ü (n=19) kişinin

kendini daha iyi hissettiği anda antibiyotik tedavisi almayı bırakması gerektiğini söylerken, %69.4’ü (n=243) sık antibiyotik tüketiminin bakteriyel direnç yolu açabileceğini biliyordu. Katılımcıların %69.4’ü (n=243) antibiyotik tedavisine zayıf hasta uyumunun insanlar için zararlı olabileceğinin farkındaydı. Ayrıca katılımcıların %71.1’i (n=249) el yıkamanın bakteriyel direnç önleyebileceğini kabul etti. Hayvanlarda aşırı antibiyotik kullanımına gelince, katılımcıların %58.3’ü (n=204) bunun insan sağlığı üzerinde olumsuz bir etkisi olduğunu düşünüyordu (Tablo 3).

Bilgi seviyesinin belirlenmesi: Ortalama puan 6.86 idi. En yüksek puan 12, en düşük puan 0, mod 6 ve medyan 7 idi. Katılımcıların bilgi düzeyleri ile cinsiyetleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken, eğitim basamakları ile bilgi düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulundu (Tablo 4).

Tablo 3. Katılımcıların antibiyotik kullanımı ve bakteri direncine yönelik bilgileri (n=350).

Anket ifadeleri	Doğru n (%)	Yanlış n (%)	Bilmeyorum n (%)
Antibiyotikler “soğuk algınlığı/grip” karşısında etkilidir.	186 (53.1)	138 (39.4)	26 (7.4)
Antibiyotikler “öksürük” karşısında etkilidir.	132 (37.7)	172 (49.1)	46 (13.1)
Antibiyotikler “boğaz ağrısı” karşısında etkilidir.	228 (65.1)	91 (26.0)	31 (8.9)
Antibiyotikler “ishal” karşısında etkilidir.	101 (28.9)	168 (48.0)	81 (23.1)
Antibiyotikler “ateş” karşısında etkilidir.	166 (47.4)	146 (41.7)	38 (10.9)
Antibiyotikler “yorgunluk” karşısında etkilidir.	109 (31.1)	224 (64.0)	17 (4.9)
Kişi kendini daha iyi hissettiği anda antibiyotik tedavisini bırakmalıdır.	19 (5.4)	292 (83.4)	39 (11.1)
Sık antibiyotik tüketimi bakteri direncine neden olabilir.	243 (69.4)	33 (9.4)	74 (21.1)
Antibiyotik tedavisine kötü hasta uyumu kişilere zararlı olabilir.	243 (69.4)	19 (5.4)	88 (25.1)
El yıkama bakteri direncini önleyebilir.	249 (71.1)	(57 %16.3)	44 (12.6)
Aşılama bakteriyel direnç önleyebilir.	230 (65.7)	34 (9.7)	86 (24.6)
Hayvanlarda uygunsuz antibiyotik. kullanımı insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir.	204 (58.3)	24 (6.9)	122 (34.9)

*Beklenen yanıtlar: Yanlış (S1-S7) ve Doğru (S8-S12).

Tablo 4. Bilgi düzeyi ile cinsiyet ve eğitim durumu arasındaki ilişkinin analizi (n=350).

N	Kötü	Yetersiz	Orta	İyi	p değeri
Erkek öğrenciler	88	8 (%9.1)	21 (%23.9)	41 (%46.6)	0.325
Kız öğrenciler	262	16 (%6.1)	47 (%17.9)	126 (%48.1)	
1. sınıf öğrencileri	190	14 (%7.4)	25 (%13.2)	101 (%53.2)	0.011
2. sınıf öğrencileri	160	10 (%6.2)	43 (%26.9)	66 (%41.2)	

Tablo 5. Katılımcıların antibiyotik kullanımı ve bakteri direncine yönelik görüşleri (n=350).

Anket Söylemleri	Evet n (%)	Hayır n (%)	Fikrim yok n (%)
Nüfusun aşırı antibiyotik kullandığını düşünüyor musunuz?	321 (91.7)	18 (5.1)	11 (3.1)
Antibiyotikler uygun olmayan şekilde kullanıldıklarında etkisizlikleri konusunda size yeterli bilgi verildiğini düşünüyor musunuz?	164 (46.9)	149 (42.6)	37 (10.6)
Dağıtım sırasında antibiyotiklerin kötüye kullanıldıklarında etkisizlikleri hakkında size yeterli bilgi verildiğini düşünüyor musunuz?	175 (50.0)	134 (38.3)	41 (11.7)
Bakteriyel dirençle mücadelede büyük bir rol oynayabileceğinizi düşünüyor musunuz?	265 (75.7)	20 (5.7)	65 (18.6)

Katılımcıların antibiyotik kullanımı ve bakteri direncine yönelik görüşleri: Katılımcıların %91.7'si (n=321) ülkemiz nüfusunun antibiyotikleri aşırı kullandığını düşünüyordu. Ankete katılanların %75.7'si (n=265) bakteriyel dirençle mücadelede oynayacakları büyük bir rolü olduğunun farkındaydı (Tablo 5).

TARTIŞMA

Antimikrobiyal dirençle mücadelede en önemli adımlardan biri, halkın bilgisini artırmaktır. Halk için eğitim kampanyaları bu alanda yaşamsal bir rol oynamaktadır⁽¹⁴⁾. Bu çalışma, sağlık mesleği öğrencilerinin antibiyotiklere yönelik bilgi ve tutumlarını değerlendirmeyi amaçlamıştır. Bildiğimiz kadarıyla sağlık öğrencileri arasında antibiyotik kullanımını değerlendiren Nevşehir'de yapılan ilk çalışmadır.

Türkiye, Avrupa'da en yüksek antibiyotik kullanımına sahip ülkedir. Antibiyotik kullanımının azaltılması için Akılcı İlaç Kullanımı Ulusal Eylem Planı 2014-2017 yayınlanmıştır⁽¹⁶⁾. İlk 20 antibiyotik sıralamasında bulunan penisilin kombinasyonlarının hepsi, amoksisilin-klavulanik asit etkin madde kombinasyonlarını içeren ilaçlardır. Çalışmamız en çok belirtilen üç antibiyotiğin Augmentin® (%34.7), Amoklavın® (%13.3) ve Klamoks® (%10.6) olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar popülasyonun bu üç geniş spektrumlu antibiyotiği kullanmaya alışık olduğunu varsayar. Nüfusun bu iki antibiyotiğe tanıdık olmasının nedenlerini anlamak için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Araştırma sonuçları, insanlarda antibiyotik kullanımı hakkında bazı yanlış anlamalar olduğunu göstermiştir. Polonya'da yapılan bir çalışmaya göre, katılımcıların %38.9'u antibiyotiklerin soğuk algınlığı semptomlarını iyileştirdiğine inanıyordu ve kentsel alanda yaşayanların %37.1'i, kırsal alanda yaşayanların %45.7'si antibiyotiklerin boğaz ağrısı, kentsel alanda yaşayanların %48.8'i, kırsal alanda yaşayanların %56.2'si öksürük gibi semptomlara iyi geldiğine inanmaktadır⁽¹⁷⁾. Çalışma sonuçlarımızda, antibiyotik kullanımı hakkındaki bazı yanlış anlamalar olduğunu göstermiştir. Gerçekten çalışmaya katılan sağlık öğrencileri yanlış bir şekilde antibiyotiklerin; öksürük (%37.7), soğuk algınlığı/grip (%53.1), boğaz ağrısına

(%65.4) karşı kullanıldığını düşündü. Çoğu durumda, bu enfeksiyonlar viral kökenlidir ve virüsleri öldürmedikleri için antibiyotikler önerilmemektedir⁽¹⁸⁾. Bu kavram yanlışları, sağlık profesyonellerinin bu hastalıklara karşı antibiyotik reçete etme veya dağıtma eğiliminden kaynaklanıyor olabilir⁽¹⁹⁾. Pelluchi ve ark.'na⁽¹⁸⁾ göre, reçete yazanlar komplikasyonları önlemek, semptomları hafifletmek veya hastanın isteklerini tatmin etmek için antibiyotik yazmaktadır. Antibiyotik kullanımıyla ilgili yanlış anlaşılma, analjeziklerin akut solunum yolu enfeksiyonlarına karşı kanıtlanmış etkinliği konusunda popülasyonların duyarlı duruma getirilmesi gerektiğini açıkça göstermektedir⁽¹⁸⁾. Bu farkındalık esastır, çünkü gereksiz antibiyotik kullanımı onları bakteri flora dengesizliği ve bakteri direnci gibi yan etkilere maruz bırakır⁽¹⁸⁾. Ek olarak, sağlık profesyonellerinin rasyonel antibiyotik kullanımı konusunda sürekli eğitimleri gerekli olacaktır. Bu eğitimin, onları yalnızca hasta baskısına karşı direnmek için değil, aynı zamanda mikrobu tanımlamak için laboratuvarın önerdiğinin reçete edilmesi için de bir fırsat olacağı düşünülmektedir⁽¹⁸⁾.

Çalışmada öğrencilerin orta bilgi düzeyine rağmen, yüksek oranlarda yanlış davranışları fark edildi. Yeterli teorik altyapıya sahip olmasına rağmen, sağlık öğrencilerinin öğrendiklerini uygulamadıkları belirlendi. Gerçekten katılımcıların %30.8'i semptomlar ortadan kalktığı anda antibiyotik tedavisinin kesilmesi gerektiği düşüncesini yanlış bir şekilde desteklemiştir. İtalya'da tıp öğrencileri ile yapılan bir çalışmada ise, katılımcıların %15'inden fazlası semptomlar düzeldiğinde antibiyotik almayı bıraktığını açıklamışlardır⁽²⁰⁾. Benzer şekilde Birleşik Krallık ve Etiyopya'da hastalar kendilerini daha iyi hissettiklerinde tedaviyi bıraktıklarını kabul etmişlerdir⁽²¹⁾. Bu bilgi yetersizliği, sağlık profesyonellerinin öğrencileri antibiyotiklerin sorumlu kullanımı konusunda eğitmekten sorumlu oldukları düşünüldüğünde endişe vericidir. Bulgularımız, sağlık mesleği ile ilgili öğrencilerin antibiyotikler açısından eğitimlerini geliştirme gereksiniminin bir göstergesidir.

Aşırı antibiyotik kullanımı bakteriyel direnç için bir risk faktörüdür ve bu durum literatürde yaygın olarak bildirilmiştir⁽²²⁾. Çalışmamızda, umut verici şekilde

katılımcıların %69.7'si bunun farkındaydı. Bu oran Romanya'da %87⁽²³⁾, Malezya'da %59.1⁽²⁴⁾ olarak rapor edilmiştir.

Senegal'de yapılan bir araştırmada, antibiyotik tedavisine zayıf hasta uyumu %25.5 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda ise, bu kötü uyum %69.4'tür. Fakat yine de katılımcılarda yaş, yaşa bağlı unutkanlık, ilaçların yüksek maliyeti, reçeteye uygun davranmama vb. risk faktörleri ile bakteri direnci boyutunun yeterince farkında olunmadığı açıkça görülmektedir.

Katılımcıların %58'i hayvanlarda uygunsuz antibiyotik kullanımının insan sağlığı üzerinde olumsuz bir etkisi olabileceğini kabul etmiştir. Hayvanlarda kullanılan çoğu antibiyotik, insan tıbbında kullanılan aynı antimikrobiyal sınıflarına aittir⁽²⁵⁾. Hayvansal üretimlerde bulunan dirençli suşlar insanlara gıda zinciri yoluyla bulaşabilir ve antimikrobiyallerin insan tıbbındaki etkinliğini tehlikeye atabilir⁽²⁶⁾. Bu nedenle, tarım ve hayvancılık sektörlerinin bakteriyel direncin önlenmesi ve kontrolünde dikkate alınması esastır. "Tek sağlık" yaklaşımı, insanlarda ve hayvanlarda rasyonel antibiyotik kullanımını teşvik etmek için harika bir fırsat olacağı düşüncesindeyiz.

Çalışmamızın sonuçları, katılımcıların %71.1'inin el yıkama ve %65.4'ünün aşılama ile bakteriyel direnci önleyebildiğini fark ettiğini ortaya koymuştur. Bu duruma Covid-19 pandemi sürecinde televizyonlardan yapılan yayınların da katkısı olduğu düşüncesindeyiz.

Ankete katılanların belirttiği ilk üç bilgi kaynağı doktor/hemşire (%68), aile veya arkadaşlar (%47.1) ve prospektüs (%46.6) şeklindeydi. Bassoum ve ark.⁽¹³⁾ ise çalışmalarında tanımlanan temel bilgi kaynaklarını çevre (%58.5), eczane personeli (%54.5) ve doktorlar/hemşireler (%25) olarak belirlemişlerdir. Çalışmamız, sağlık yetkililerinin güvenilir bilgi amaçlı olarak daha çok tercih edildiğini göstermiştir. Ayrıca, katılımcıların 106'sı (%30.3) televizyonu bilgi kaynağı olarak göstermiştir. Gerçekten televizyon aracılığıyla yayılan bilinçlendirme kampanyalarının etkinliği birçok ülkede kanıtlanmıştır⁽²⁷⁾.

Katılımcıların %91.7'si ülkemiz insanlarının antibiyotikleri aşırı kullandığına inanıyordu. OECD ülkeleri arasında yer alan Türkiye'nin en yüksek direnç oranına sahip olduğu rapor edilmiş olup, çalışma sonucumuz bu görüşü desteklemektedir⁽¹⁰⁾. Çalışma popülasyonumuzun yüksek oranda antibiyotik tüketimi konusunda farkındalığa sahip olması, toplumu yalnızca gereksinim duyulduğunda antibiyotik kullanmaya özendirmek için bir fırsattır. Bu durum klinisyenler için mevcut terapötik ajanların etkinliğinin korunmasını sağlayacaktır.

Katılımcıların %75.4'ü bakteriyel dirençle mücadelede büyük bir rol oynadıklarına inanıyordu. DSÖ araştırmasına göre katılımcıların %57'sinin bakteriyel direnci durdurmak için fazla bir şey yapamadıkları rapor edilmiştir⁽¹³⁾. Bizim sonuçlarımız da öğrencilerin bakteriyel dirence karşı başlatabilecekleri eylemlerin yeterince farkında olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızın esas olarak çalışma tasarımı ile ilgili olarak kabul edilmesi gereken bazı sınırları vardır. Örneğin, geleneksel anket uygulamasının altın standart yöntemi olarak kabul edilen yüz yüze görüşmeler yerine kendi kendine uygulanan bir anket kullanılmıştır⁽²⁸⁾. Çalışmanın kendi kendine bildirilen bilgilere dayandığı ve araştırmaya katılanların dürüstlük ve hatırlama yeteneklerinin yanı sıra anketi anlamalarına da bağlı olduğu unutulmamalıdır. Ek olarak öğrencilerin üniversitenin son yıllarına girdiklerinde bilgilerinden daha emin oldukları ve yanlış davranışlarda bulunma riskinin daha yüksek olduğu görülmektedir⁽²⁹⁾.

Bu çalışmada, sağlık mesleği öğrencilerinin antibiyotik, antibiyotik kullanımı ve antibiyotik direnci konusundaki bilgileri değerlendirilmiştir. Ülkemizde ve tüm dünyada antibiyotik direncinin ciddi ve büyüyen bir sorun olduğu düşünüldüğünde, sağlıkla ilgili program öğrencilerini bu sorunun çözümüne katkıda bulunabilecek bireyler olmaya hazırlamak gerekmektedir. İnsanları antibiyotikleri kötüye kullanmaya iten tutumların, davranışların belirlenmesi için daha fazla niteliksel ve niceliksel çalışmalara gereksinim vardır.

Etik kurul onayı: Araştırma, Kapadokya Üniversitesi Araştırma Etik Kurulu tarafından 24.09.2019 tarih ve 2019.08 No.lu karar ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Cappadocia University Research Ethics Committee (09.24.2019; 2019.08).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Levy SB. From tragedy the antibiotic age is born. *The Antibiotic Paradox*. Springer. 1992; 1: 12.4
2. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Front Microbiol*. 2010; 1: 134. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2010.00134>
3. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010; 74: 417-33 <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
4. A global declaration on appropriate use of antimicrobial agents across the surgical pathway. *Surg Infect (Larchmt)*. 2017;18(8):846-53. <https://doi.org/10.1089/sur.2017.219>
5. Salm F, Ernsting C, Kuhlmeier A, Kanzler M, Gastmeier P, Gellert P. Antibiotic use, knowledge and health literacy among the general population in Berlin, Germany and its surrounding rural areas. *PLoS One*. 2018;13(2): e0193336. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193336>
6. Chem ED, Anong DN, Akoachere JKT. Prescribing patterns and associated factors of antibiotic prescription in primary health care facilities of Kumbo East and Kumbo West Health Districts, North West Cameroon. *PLoS ONE*. 2018;13(3): e0193353. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193353>
7. Lee CR, Cho IH, Jeong BC, Lee SH. Strategies to minimize antibiotic resistance. *Int J Environ Res Public Health*. 2013; 10: 4274-305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193353>
8. CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States. 2013. Centers for Diseases Control and Prevention. [<https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>] (Erişim tarihi: Ağustos 2019).
9. World Bank Group. Drug-resistant infections: A threat to our economic future; Final report. WBG: Washington, ABD. 2017. [<http://documents.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/114679-REVISED-v2-Drug-Resistant-Infections-Final-Report.pdf>] (Erişim tarihi: Ağustos 2019).
10. OECD. Health spending (indicator). Organisation for Economic Co-operation and Development 2019. <https://doi.org/10.1787/8643de7een>
11. Raosoft, Inc. Raosoft sample size calculator. 2004. [<http://www.raosoft.com/samplesize.html>] (Erişim tarihi: Ağustos 2019).
12. McNulty CAM, Boyle P, Nichols T. The public's attitudes to and compliance with antibiotics. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(Suppl 1): i63-8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm161>
13. Bassoum O, Sougou NM, Diongue M, et al. Assessment of general public's knowledge and opinions towards antibiotic use and bacterial resistance: A cross-sectional study in an urban setting, Rufisque, Senegal. *Pharmacy*. 2018;6(4):103. <https://doi.org/10.3390/pharmacy6040103>
14. Andre M, Vernby A, Berg J, Lundborg CS. A survey of public knowledge and awareness related to antibiotic use and resistance in Sweden. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(6):1292-6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq104>
15. José EM, Oudou N. L'enquête CAP (Connaissances, Attitudes, Pratiques) en Recherche Médicale. *Health Sci Dis*. 2013;14(2):135-6.
16. Versporten A, Bolokhovets G, Gazaryan L, et al. Antibiotic use in eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe. *Lancet Infect Dis*. 2013;14(5):381-7. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70071-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70071-4)
17. Godycki-Cwirko M, Cals JWL, Francis N, et al. Public beliefs on antibiotics and symptoms of respiratory tract infections among rural and urban population in Poland: A questionnaire study. *PLoS One*. 2014;9(10): e109248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109248>
18. ESCMID Sore Throat Guideline Group; Pelucchi C, Grigoryan L, et al. Guideline for the management of acute sore throat. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(Suppl 1):1-28. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03766.x>
19. Abujheisha KY, Al-Shdefat R, Ahmed N, Fouda MI. Public knowledge and behaviours regarding antibiotics use: A survey among the general public. *Int J Med Res Health Sci*. 2017;6(6):82-8.
20. Scaiola G, Gualano MR, Gili R, Masucci S, Bert F, Siliquini R. Antibiotic use: A cross sectional survey assessing the knowledge, attitudes and practices amongst students of a School of Medicine in Italy. *PLoS One*. 2015;10(4): e0122476. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122476>
21. Gebeyehu E, Bantie L, Azage M. Inappropriate use of

- antibiotics and its associated factors among urban and rural communities of Bahir Dar city administration, Northwest Ethiopia. *PLoS One*. 2015; 10: e0138179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138179>
22. Friedman BC, Schwabe-Warf D, Goldman R. Reducing inappropriate antibiotic use among children with influenza infection. *Can Fam Phys*. 2011;57(1):42-4.
 23. Topor G, Grosu IA, Ghiciuc CM, et al. Awareness about antibiotic resistance in a self-medication user group from Eastern Romania: A pilot study. *PeerJ*. 2017;5:e3803. <https://doi.org/10.7717/peerj.3803>
 24. Oh AL, Hassali MA, Al-haddad MS, et al. Public knowledge and attitudes towards antibiotic usage: A cross-sectional study among the general public in the state of Penang, Malaysia. *J Infect Dev Ctries*. 2010;5(5):338-47. <https://doi.org/10.3855/jidc.1502>
 25. Mutua JM, Gitao CG, Bebor LC, Mutua FK. Antimicrobial resistance profiles of bacteria isolated from the nasal cavity of camels in Samburu, Nakuru, and Isiolo Counties of Kenya. *J Vet Med*. 2017;2017:1216283. <https://doi.org/10.1155/2017/1216283>
 26. Asai T, Hiki M, Ozawa M, Koike R, et al. Control of the development and prevalence of antimicrobial resistance in bacteria of food animal origin in Japan: A new approach for risk management of antimicrobial veterinary medicinal products in Japan. *Foodborne Pathog Dis*. 2014;11(3):171-6. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1649>
 27. Gualano MR, Gili R, Scaioli G, Bert F, Siliquini R. General population's knowledge and attitudes about antibiotics: A systematic review and meta-analysis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2015;24(1-2):2-10. <https://doi.org/10.1002/pds.3716>
 28. De LE, Hox J, Dillmann D. *International Handbook of Survey Methodology*. New York: Taylor & Francis Group. 2008.
 29. El Ezz NFA, Ez-Elarab HS. Knowledge, attitude and practice of medical students towards self medication at Ain Shams University, Egypt. *J Prev Med Hyg*. 2011;52(4):196-200.

Hepatit C Virüsü Genotiplerinin Retrospektif İncelenmesi

Retrospective Evaluation of Hepatitis C Virus Genotypes

Harun Ağca*[©], Beyza Ener*[©], İmran Sağlık*[©], Emel Yılmaz**[©], Esra Kazak**[©]

* Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

** Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Atf/Cite as: Ağca H, Ener B, Sağlık İ, Yılmaz E, Kazak E. Hepatit C virüsü genotiplerinin retrospektif incelenmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):303-8.

Öz

Amaç: Hepatit C virüsü (HCV), dünyada ve ülkemizde hepatit, hepatik steatoz, siroz ve hepatosellüler karsinomun önemli bir nedenidir. HCV, yedi genotip ve 67 alt tipte sınıflandırılmaktadır. Bu çalışmada, Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen örneklerde HCV genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, Ocak 2016 ile Aralık 2020 yılları arasında gelen, kronik HCV enfeksiyonlu hastalara ait HCV-RNA pozitif plazma örnekleri genotipleri açısından retrospektif olarak analiz edildi. Abbott RealTime HCV Genotype II (Abbott Molecular, ABD) testi kullanılarak genotip 1a, 1b, 2, 3, 4, 5, 6 ayırt edildi.

Bulgular: Çalışmaya dâhil edilen hastalardan 322'si (%43.5) erkek, 418'i (%56.5) kadındı. Hastaların yaş aralığı 9 ile 95 arasında olup, yaş ortalaması 57.8 olarak bulundu. Baskın olan genotipin 1b olduğu, ancak genotip 1b'nin oransal olarak yıllar içinde azalarak 2016 yılında %74'ten, 2020 yılında %63'e gerilediği saptandı. Genotip 1a ve 3'ün ise yıllar içinde oransal olarak arttığı gözlemlendi. Genotip 3 ise 2016 yılında %6 oranında görülürken, 2020 yılında %17'ye yükseldi. Genotip 3 ve 4 teki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Hastalardan 48'i (%6.5) yabancı uyruklu idi. Yabancı uyruklularda en sık görülen genotip 3, hastalardan 18'inde (%38), genotip 1b 17'sinde (%35), genotip 4 ise beşinde (%10) belirlendi.

Sonuç: HCV genotiplerinin turizm ve kitlesel göç hareketlerinden etkilendiği için verilerin periyodik olarak güncellenmesi, epidemiyolojik açıdan önemli olmakla birlikte, tedavide kullanılacak direkt etkili antiviral ilaçların seçiminde de rol oynadığı için çok önemlidir.

Anahtar kelimeler: HCV, genotip, PZR

ABSTRACT

Objective: Hepatitis C virus (HCV) is an important cause of hepatitis, hepatic steatosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma in the world and in our country. HCV is classified into seven genotypes and 67 subtypes. We aimed to determine HCV genotypes from the samples sent to Microbiology Laboratory of Bursa Uludağ University Health Sciences Research and Application Center.

Method: In this study, HCV-RNA positive plasma samples from patients with chronic HCV infection coming between January 2016 and December 2020 were analyzed retrospectively for their genotypes. Genotypes 1a, 1b, 2, 3, 4, 5, 6 were identified using the Abbott RealTime HCV Genotype II (Abbott Molecular, USA) kit.

Results: Of the patients included in the study, 322 (43.5%) were male and 418 (56.5%) were female. The age of the patients ranged between 9 and 95 years, and the average age was found to be 57.8 years. Dominant genotype was 1b, but the frequency of genotype 1b regressed proportionally during the years from 74% in 2016 to 63% in 2020. Genotype 1a and 3 increased proportionally over the years. Genotype 3, on the other hand, was seen at a rate of 6% in 2016, and increased to 17% in 2020. The increase in the rates of genotype 3 and 4 was found to be statistically significant. Forty-eight (6.5%) patients were foreign nationals. Genotype 3, which was the most common genotype in foreign patients, was detected in 18 (38%) of the patients, genotype 1b in 17 (35%), and genotype 4 in five patients (10%).

Conclusion: Since HCV genotypes are affected by tourism and mass migration movements, periodic updating of the data is epidemiologically important, as it plays a role in the selection of direct-acting antiviral drugs used in treatment.

Keywords: HCV, genotype, PCR

Alındığı tarih / Received:

15.02.2021 / 15. February.2021

Kabul tarihi / Accepted:

01.05.2021 / 01. May.2021

Yayın tarihi / Publication date:

07.09.2021 / 07. September.2021

ORCID Kayıtları

H. Ağca 0000-0002-2651-2034

B. Ener 0000-0002-4803-8206

İ. Sağlık 0000-0003-0864-4989

E. Yılmaz 0000-0002-3894-1231

E. Kazak 0000-0002-7380-2501

✉ harunagca@uludag.edu.tr

GİRİŞ

Hepatit C virüsü (HCV), dünyada ve ülkemizde hepatit, hepatik steatoz, siroz ve hepatosellüler karsinomun önemli bir nedenidir. HCV, *Flaviviridae*'de *Hepacivirus* cinsine ait küçük, zarflı bir virüsdür^(1,2). HCV, yedi genotip ve 67 alt tipte sınıflandırılmaktadır. Hindistan'dan bildirilen yeni bir çalışmada, yeni bir genotipin dâhil edilmesiyle genotip sayısı sekize çıkmıştır ve 19 yeni alt tip tanımlanmıştır⁽³⁻⁵⁾. Genotip 1-4 ve 6 çok sayıda alt tip içermekte olup, bu alt tipler arasında %15-25 arasında nükleotid dizilim farklılığı vardır⁽⁴⁾. Dünyada en yaygın görülen genotip 1 (%46) Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya'da baskındır ve onu takip eden genotip 3 (%30) esas olarak Güney Asya'da, özellikle de Hint Yarımadası'nda yaygın olarak görülmektedir⁽⁶⁻⁸⁾. Genotip 2, 4 ve 6 olguların yaklaşık %23'ünden sorumluyken, genotip 5 ve 7 olguların %1'den azında görülür⁽⁹⁾. Ülkemizde, Balkan ülkelerine benzer biçimde en sık görülen genotip 1b olmasına karşın, özellikle ülkemizin maruz kaldığı kitlesel göç hareketlerinin yanı sıra çalışma amacıyla dış ülkelere giden yurttaşlarımız ve turistik seyahatler de genotip 1b dışında diğer genotiplerin de ülkemize gelmesine neden olmuştur^(10,11).

Kronik HCV tedavisinde kullanılan direkt antiviral etkili ilaçlar; NS3 proteaz inhibitörleri, NS5A serin proteaz inhibitörleri ve NS5B RNA bağımlı RNA polimeraz inhibitörleri olarak üç gruba ayrılmaktadır. Genotip tayini aynı zamanda tedavide kullanılacak ilaç seçimini de etkilemektedir⁽¹²⁾.

Kronik HCV'li hastaların tedavisinin belirlenmesi ve ülkemizin maruz kaldığı göç hareketleri nedeniyle genotip tayini hastaların tedavisi, takibi ve ülkemizdeki genotip dağılımının belirlenmesi açısından çok önemlidir. Bu çalışmada, Güney Marmara bölgesinin referans merkezi olan Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen örneklerde HCV genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızın etik kurul onayı Bursa Uludağ Üniversitesi

tesisi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (03.02.2021 tarih ve 2021-03/15). Çalışmamıza, 2016-2020 yılları arasında hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına HCV genotiplendirme testi için gönderilen plazma örnekleri dâhil edilmiştir. Analiz edilecek örneklerden RNA izolasyonu için üretici firma önerileri doğrultusunda Abbott m2000 sp (Abbott Molecular, ABD) otomatize izolasyon robotu kullanıldı. RNA izolasyonu yapılan örneklerde, Abbott RealTime HCV Genotype II (Abbott Molecular, ABD) testi kullanılarak HCV genotipleri belirlendi. Gerçek zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi-ne dayalı bu genotiplendirme testi, üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulandı ve yorumlandı. Kullanılan test ile genotip 1, 1a, 1b, 2, 3, 4, 5, 6 ayırt edildi.

İstatistik analiz: Çalışmada elde edilen veriler, Windows SPSS, sürüm 22.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) kullanılarak değerlendirildi. Kategorik data ki-kare testi veya Fisher testi ile analiz edildi. Bağımsız grupların analizi için t test veya Mann-Whitney testi kullanıldı.

BULGULAR

Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde kronik HCV enfeksiyonu nedeniyle Ocak 2016- Aralık 2020 arasında beş yıllık dönemde takip edilmekte olan 740 hastaya ait plazma örnekleri retrospektif olarak incelendi. Çalışmaya dâhil edilen hastalardan 322'si (%43.5) erkek, 418'i (%56.5) kadındı (Tablo 1). Hastaların yaş aralığı 9 ile 95 arasında olup, yaş ortalaması 57.8 olarak bulundu. Genotip bakılan hasta sayıları yıllara göre değerlendirildiğinde zaman içerisinde tedrici bir düşüş görüldüğü, 2016 yılında 314 hasta değerlendirilirken bu sayının 2020 yılında 48'e düştüğü gözlemlendi. Hastalardan 629'unda tek bir genotip bulunurken, on

Tablo 1. Yıllara göre hasta sayıları ve cinsiyetleri.

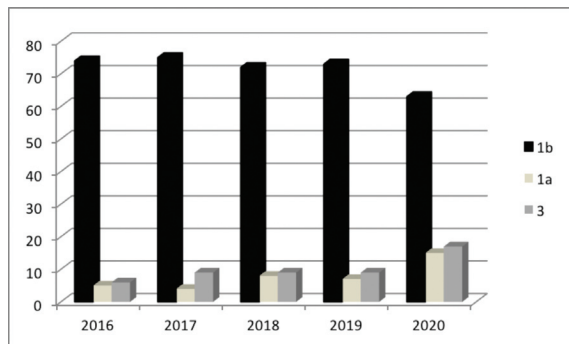
Yıl	Erkek	Kadın	Toplam
2016	136	178	314
2017	72	98	170
2018	42	61	103
2019	50	55	105
2020	22	26	48

birinde ise iki farklı genotip saptandı. Karışık viral popülasyon saptanan 11 hastadan üçünde genotip 1b ve 2, ikisinde genotip 1b ve 3, altısında genotip 1b ve 4 belirlendi. Genotiplere göre yaş ortalaması değerlendirildiğinde, yaş ortalamasının en yüksek olduğu genotip 1b (62 yaş) iken, en düşük olduğu genotip 5 (39 yaş) olarak bulundu (Tablo 2). Yıllara göre genotipler değerlendirildiğinde baskın olan genotipin 1b olduğu (Tablo 2), genotip 1b'nin oransal olarak yıllar içinde azalarak 2016 yılında %74'den, 2020 yılında %63'e gerilediği tespit edildi, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Genotip 1a ve 3'ün ise yıllar içinde oransal olarak arttığı gözlemlendi. Genotip 1a 2016 yılında %5 oranında görülürken, 2020 yılında %15'e yükseldi. Genotip 3 ise 2016 yılında %6 oranında görülürken, 2020 yılında %17'ye yükseldi. Çalışmanın başlangıç yılı olan 2016 yılı verileri ile son yılı 2020 verileri karşılaştırıldığında, genotip 1a ve 3'te görülen artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.

Tablo 2. Genotiplere göre hasta sayısı ve yaş ortalaması.

Genotip	Yaş	Hasta sayısı n (%)
2016	136	314
2017	72	170
2018	42	103
2019	50	105
2020	22	48

Miks: Üç hastada 1b + 2, 2 hastada 1b + 3, 6 hastada 1b + 4 saptandı.



Şekil 1. Yıllara göre en sık görülen üç genotipin yüzde dağılımı (Dikey eksenle oran, yatay eksenle ise yıl yer almaktadır.)

Hastalardan 48'i (%6.5) yabancı uyruklu idi. Yabancı uyruklu hastaların 12'si Suriye, 11'i Özbekistan, 10'u Azerbaycan, beşi Gürcistan, dördü Rusya, ikisi Kırgızistan, bireri ise Afganistan, İran, Kazakistan ve

Türkmenistanlı idi. Yabancı uyruklu hastaların 18'i erkek, 30'u kadın olup, yabancı hastaların yaş ortalaması 40 olarak bulundu. Yabancı hastalarda en sık görülen genotip 3 hastalardan 18'inde (%38) genotip 1b, 17'sinde (%35) genotip 4, beşinde (%10) saptandı. Genotip 4 olan yabancı hastaların tamamı Suriye uyruklu idi. Genotip 5 belirlenen bir hasta da yabancı uyruklu (Suriye) idi. Yerli ve yabancı hastalar değerlendirildiğinde, yerli hastaların yaş ortalamasının yabancılara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek olduğu ($p<0.01$) ve genotip 1b'nin yerli hastalarda daha baskın olarak ($p<0.01$) saptandığı gözlemlendi. Yabancı hastalarda ise genotip 3'ün ($p<0.01$) ve genotip 4'ün ($p=0.04$) yerli hastalara göre daha fazla belirlendiği saptandı.

TARTIŞMA

Farklı ülkelerdeki hepatit C virüslerinde, genomun değişik bölgelerinde nükleotid ve aminoasit dizileri bakımından önemli farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklara bağlı olarak birçok genotip ve alt tip tanımlanmıştır. HCV genotiplerinden 1, 2 ve 3 dünya geneline yayılmış olup, diğer genotiplere oranla daha sık görülmektedir^(7,9). Tüm dünyada görülen HCV enfeksiyonlarının %60'ı ise genotip 1 ile gerçekleşmektedir. Kronik hepatitte tedavi protokolünün belirlenmesinde rol oynayan HCV genotiplerinin dağılımını saptamak üzere ülkemizde pek çok çalışma yapılmıştır. Yayımlanan çalışmalarda, ülkemizdeki genotip dağılımlarına bakıldığında genotip 1b'nin (%52-100) baskın olduğu görülmektedir⁽¹³⁻¹⁷⁾. Ülkemizde bölgeler arasında genotip dağılımı açısından bazı farklılıklar görülmektedir. Kayseri'de yapılan bir çalışmada, en sık rastlanan genotipin 1 olduğu (%61.7) bunu genotip 4'ün takip ettiği (%35.6) ve ender olarak da genotip 2'nin (%2.7) bulunduğu rapor edilmiştir. Kayseri'de yapılmış olan bu çalışmada, ülkemiz genelinde yapılmış olan diğer çalışmalardan farklı olarak genotip 4'ün diğer çalışmalara oranla daha sık rastlandığı bildirilmiştir⁽¹⁶⁾. Adana'da 2014 yılında yayımlanan bir çalışmada, genotip 1, 2 ve 3 sırasıyla %78.3, %6.2 ve %14.6 oranında görülmüştür⁽¹⁸⁾. Kayseri ve Adana'da yapılan çalışmalar genotip 1'in baskınlığının devam etmesine karşın, diğer genotiplerin 2011 yılından itibaren artışa geçtiğini göstermektedir. Aynı

bölgede farklı zamanlarda yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular da bu veriyi desteklemektedir. Antalya'da 2014 yılında yapılan çalışmada, hastaların %78'inde genotip 1 ve %11'inde genotip 3 saptanırken, 2021 yılında yayınlanan çalışmada ise hastaların %74'ünde genotip 1 ve %18'inde genotip 3 saptandığı rapor edilmiştir. Bu bölgede genotip 2 yıllar içinde %3.5'ten %1.5'e düşmüş, genotip 4 %1.6'dan %2.8'e yükselmiştir^(10,19). Bu değişikliklerin nedeninin yurt dışı kaynaklı turistik hareketler ve göç olduğu belirtilmiştir⁽¹⁰⁾. Genotip 1b'nin ileri yaşta saptanması, hastalık etkeni virüsün 1989 yılında keşfedilmesi ve gençlerde hastalığa karşı farkındalık ve bilgi seviyesinin artması ile ilgili olabilir^(1,4,5,24,25). Ayrıca HCV'ye karşı geliştirilen yeni nesil ilaçlar da hastalığın kesin tedavisin sağlayarak yayılımına engel olmaktadır⁽¹²⁾.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda, genotip 2'nin Akdeniz bölgesinde diğer bölgelere kıyasla daha fazla oranda gözleendiği bildirilmiştir^(11,19-21). Akdeniz bölgesinde genotip 2 oranı Kandemir ve ark.⁽²¹⁾ tarafından yapılan çalışmada, %9.2 bulunurken, ülkemizde genotip 2'ye ait en yüksek oran Üçbilek ve ark.⁽¹¹⁾ tarafından %29.8 olarak belirtilmiştir. Üçbilek ve ark.⁽¹¹⁾ ile Kandemir ve Gültekin⁽²¹⁾ tarafından Akdeniz bölgesinde yapılan bu çalışmalarda, genotip 2'nin yüksek çıkmasının önemli bir nedeni olarak damar içi ilaç bağımlısı hastalarda yapılmış olması gösterilebilir.

Genotip 3 ülkemizde giderek artan oranlarda görülmektedir. Abacıoğlu ve ark.⁽²²⁾ tarafından İzmir'de 1995 yılında yapılan bir çalışmada, genotip 3 hiçbir hastada saptanmazken, 2014 yılında aynı bölgede Uzun ve ark.⁽²³⁾ tarafından yapılan çalışmada, %4.9 oranında bulunmuştur. Yetim ve ark.'ları⁽²⁴⁾ tarafından İstanbul'da 2018 yılında yapılan çalışmada, genotip 3 oranı %33.3 olarak bulunmuştur. Genotip 3'ün ülkemizde en yüksek saptandığı oran %58.6 ile Üçbilek ve ark.⁽¹¹⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, Çukurova bölgesinde gösterilmiştir. Üçbilek ve ark.⁽¹¹⁾ ile Yetim ve ark.⁽²⁴⁾ tarafından yapılan çalışmalar, damar içi uyuşturucu kullanan hastalarda gösterilmiştir. Son yıllarda damar içi uyuşturucu kullananlarda genotip 3'ün arttığı farklı ülkeler de de gösterilmiştir⁽²⁵⁾.

Genotip 4 ülkemizde ilk olarak 2011 yılında Gökahmetoğlu ve ark.'ları⁽¹⁶⁾ tarafından Kayseri'de yapılan bir çalışmada, %35.6 olarak bulunmuş ve diğer bölgelere kıyasla oldukça fazla olması nedeniyle dikkat çekmiştir. Cirit ve ark.'ları⁽²⁵⁾ tarafından 2019 yılında Şanlıurfa verilerini içeren yayında, Suriye'den gelen mültecilerde genotip 4'ün %48.2 ile en yaygın genotip olduğu gösterilmiştir. Bu veri Suriye kaynaklı kitlesel göç hareketinin, ülkemizde genotip 4 oranındaki artışın nedeni olarak düşünülmektedir. Cirit ve ark.'ları⁽²⁵⁾ bu çalışmada, genotip 5'in Suriyeli mültecilerde %8.7 oranında olduğunu göstermiştir. Ülkemizde genotip 5 oranlarındaki artışında altında yatan nedenin de Suriyeli mültecilerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ülkemizde az sayıda da olsa Mersin, Diyarbakır ve Konya'dan genotip 6 olgularının bildirildiği görülmektedir⁽²⁶⁾.

Çalışmamızda, 11 hastada miks genotip saptanmıştır. On bir hastanın tamamında iki farklı genotip saptanmış ve saptanan genotiplerden biri mutlaka genotip 1b olmuştur. En çok saptanan miks genotiplerin 1 ve 4 olduğu ve bu verinin ülkemizde farklı merkezlerin verileri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir^(19,27). Hastalarda saptanan miks genotipler aynı hastanın birden fazla virüsle enfekte olduğunu göstermekle birlikte, bazen kullanılan kitin teknik özelliği nedeniyle de yalancı miks enfeksiyonlar saptanabilmektedir. Miks enfeksiyon olduğu saptanan hastaların doğrulanması için dizi analizi veya LIPA (Line probe assay) testleri ile yine çalışılması gereklidir. Çalışmamızda, miks enfeksiyonlar başka bir test ile doğrulanmamıştır.

Çalışmamızda elde edilen veriler, merkezimiz verileri ile yapılan ve 2015 yılında yayınlanan çalışma ile karşılaştırıldığında, genotip 1 oranının %92.6'dan %84.7'ye düştüğü gözlenmiştir. Genotip 2 oranının %0.4'ten %2'ye yükseldiği, genotip 3 oranının %3.9'dan %9.2'ye yükseldiği dikkati çekmektedir. Genotip 4 oranının yıllar içerisinde %3.1'den %2.5'e düşmüştür. Geçmişte merkezimizde hiç genotip 5 belirlenmemişken, ilk kez bu çalışmada, yabancı uyruklu bir hastada genotip 5 saptanmıştır. Bu veriler merkezimizde HCV genotip verilerinin yıllar içerisinde nasıl bir değişime uğradığını gözler önüne ser-

mektedir. Çalışmamızda incelenen yabancı hastalarda genotip 3'ün %38 ile baskın genotip olduğu, genotip 1b'nin %35 ile bunu takip ettiği ve genotip 4'ün de yerli hastalara kıyasla daha fazla görüldüğü belirlenmiştir. Merkezimizde yapılan ve 2015 yılında yayınlanan çalışmada, 231 hastadan yalnızca 6'sı (%2.6) yabancı uyruklu iken, bu çalışmada, 740 hastanın 48'inin (%6.5) yabancı uyruklu olması dikkat çekicidir. Bursa'nın hem Balkan ülkelerinden hem de Suriye'den göç almakta ve bu durumun da HCV genotiplerinin epidemiyolojik verilerinin değişimine neden olduğu düşünülmektedir^(25,28). Eskişehir'de Us ve ark.⁽²⁹⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, genotip 1'in baskın olduğu, genotip 2, 3 ve 4'ün her birinin %1'nin altında olduğu belirtilmiştir. Us ve ark.⁽²⁹⁾ tarafından yapılan çalışmadaki hastalar 2009-2014 yılları arasındaki verileri yansıtmaktadır. Bu veriler kurumumuzda daha önce yapılmış çalışmalar ile uyumlu olmakla birlikte, 2016 yılından itibaren ortaya çıkan genotip değişiklikleri dikkat çekicidir^(25,26,28,29).

Çalışmamızda, genotip 1 ile enfekte hastaların yaş ortalaması diğer genotiplerle enfekte hastalara göre yüksek bulunmuştur. Bursa'da HCV genotipleri ve yaş ilişkisi daha önce araştırılmamış ve ülkemizin farklı bölgelerinde benzer şekilde HCV genotip 1 ile enfekte hastaların daha ileri yaşlarda oldukları rapor edilmiştir^(19,30).

Ülkemizin diğer bölgelerinde olduğu gibi Bursa ve çevresi için referans merkezi olan kurumumuzda en sık görülen HCV genotipi 1b olarak saptanmış olmasına karşın, oransal olarak yıllar içerisinde azalmaktadır. Zaman içerisinde genotip 3 sayı ve oranındaki artış dikkat çekici ve ülkemiz verileri ile de uyumludur. Sonuç olarak, HCV genotiplerinin turizm ve kitleli göç hareketlerinden etkilendiği için verilerin periyodik olarak güncellenmesi, epidemiyolojik açıdan önemli olmakla birlikte, aşı geliştirme çalışmaları ve tedavide kullanılacak direkt etkili antiviral ilaçların seçiminde de rol oynadığı için çok önemlidir.

Etik Kurul Onayı: Çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 03. Şubat.2021 tarih ve 2021-03/15 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Bursa Uludag University Ethics Committee (02.03.2021-2014-12/1).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Lee CM, Hung CH, Lu SN, Changchien CS. Hepatitis C virus genotypes: clinical relevance and therapeutic implications. *Chang Gung Med. J* 2008;31(1):16-25.
2. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005;42(4):962-73. <https://doi.org/10.1002/hep.20819>
3. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014;59(1):318-27. <https://doi.org/10.1002/hep.26744>
4. Borgia SM, Hedskog C, Parhy B, et al. Identification of a novel hepatitis C virus genotype from Punjab, India: Expanding classification of hepatitis C virus into 8 genotypes. *J Infect Dis*. 2018;218(11):1722-9. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy401>
5. Hedskog C, Parhy B, Chang S, et al. Identification of 19 novel Hepatitis C virus subtypes-further expanding HCV classification. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6(3):ofz076. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz076>
6. Petruzzello A, Marigliano S, Loquercio G, Cozzolino A, Cacciapuoli C. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World J Gastroenterol*. 2016;22(34):7824-40. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i34.7824>
7. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014;61(Suppl 1):S45-57. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.07.027>
8. Hissar SS, Goyal A, Kumar M, et al. Hepatitis C virus genotype 3 predominates in North and Central India and is associated with significant histopathologic liver disease. *J Med Virol*. 2006;78(4):452-8. <https://doi.org/10.1002/jmv.20561>
9. Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes.

- Hepatology. 2015;61(1):77-87.
<https://doi.org/10.1002/hep.27259>
10. Erman Daloğlu A, Parkan ÖM, Erdoğan A. ve ark. Damar içi madde bağımlılığı olan ve madde bağımlısı olmayan hastalar arasında hepatit C virus (HCV) genotiplerinin dağılımı. Mikrobiyol Bul. 2021;55(1):30-40.
<https://doi.org/10.5578/mb.20108>
 11. Üçbilek E, Abaylı B, Koyuncu MB, et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes among intravenous drug users in the Çukurova region of Turkey. Turk J Med Sci. 2016;46(1):66-71.
<https://doi.org/10.3906/sag-1411-169>
 12. Zajac M, Muszalska I, Sobczak A, Dadej A, Tomczak S, Jelińska A. Hepatitis C- New drugs and treatment prospects. Eur J Med Chem. 2019; 165: 225-49.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.025>
 13. Özaçar T, Altuglu I, Zeytinoglu A. ve ark. Kronik C hepatitinde HCV genotiplerinin dağılımı. Mikrobiyol Bul. 2001;35(3):451-8.
 14. Küçüköztaş MF, Özgüneş N, Yazıcı S. Kronik hepatit C'li hastalarda hepatit C virusu (HCV) genotipleri ile alanin aminotransferaz ve HCV-RNA düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2010;44(1):111-5.
 15. Aktaş E, Ogedey ED, Külah C, Beğendik Cömert F. Zonguldak bölgesinde hepatit C virusu genotipleri. Mikrobiyol Bul. 2010;44(4):647-50.
 16. Gökahmetoğlu S, Atalay MA, Kılınc A. Hepatit C virüs genotiplerinin pirosekanlama yöntemi ile belirlenmesi. Erciyes Tıp Derg. 2011;33(2):99-102.
 17. Ural O, Arslan U, Fındık D. Konya bölgesinde hepatit C virusu genotip dağılımı. Infeksi Derg. 2007;21(4):175-81.
 18. Kuşçu F, Kömür S, İnal AS, et al. Changing epidemiology of chronic hepatitis C in Adana. Viral Hep J. 2014;20(1):15-8.
<https://doi.org/10.4274/Vhd.70299>
 19. Sağlık İ, Mutlu D, Öngüt G, et al. Akdeniz Üniversitesi Hastanesinde kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalarda hepatit C virus genotipleri. Mikrobiyol Bul. 2014;48(3):429-37.
<https://doi.org/10.5578/mb.7685>
 20. Yarkin F, Hafta A. Kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalarda hepatit C virus genotiplerinin dağılımı. Viral Hepatit Derg 2000;6(3):164-7.
 21. Kandemir Ö, Gültekin O. Kronik hepatit C enfeksiyonlu damar içi uyuşturucu madde kullanıcılarında hepatit C virüs genotiplerinin dağılımı. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2017;37(1):21-6.
<https://doi.org/10.5336/medsci.2016-54118>
 22. Abacıoğlu YH, Davidson F, Tuncer S, et al. The distribution of hepatitis C virus genotypes in Turkish patients. J Viral Hepat 1995;2(6):297-301.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.1995.tb00045.x>
 23. Uzun B, Sener AG, Gungor S, Afsar I. Distribution of hepatitis C virus genotypes in Western Turkey: Experience of four years. Acta Medica Mediterranea 2014; 30: 1109-13.
 24. Yetim A, Şahin M. Hepatitis C virus (HCV) infection in youth with illicit drug use: sociodemographic evaluation and HCV genotype analysis. Klimik Derg. 2018; 31(3):190-4.
<https://doi.org/10.5152/kd.2018.47>
 25. Cirit OS, Uzala Mızraklı A, Vurupalmaz Y, Gümüş HH, Özturhan H, Barış A. Genotyping distribution of hepatitis C virus in Şanlıurfa province and effect of Syrian patients. Viral Hepat J. 2019;25(2): 62-6.
<https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2019.2019.0012>
 26. Altındis M, Dal T, Akyar I, et al. Six-year distribution pattern of hepatitis C virus in Turkey: a multicentre study. Biotech Biotechnol Equipment. 2016;30(2):335-40.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1093430>
 27. Buruk CK, Bayramoğlu G, Reis A, Kaklıkkaya N, Tosun I, Aydın F. Doğu Karadeniz Bölgesi hepatit C hastalarında Hepatit C virusu genotiplerinin belirlenmesi. Mikrobiyol Bul. 2013;47(4):650-7.
<https://doi.org/10.5578/mb.5796>
 28. Ağca H, Mıstık R, Kazak E. Güney Marmara Bölgesinde hepatit C virüs genotiplerinin dağılımı. J Clin Anal Med. 2015;6(2):190-2.
<https://doi.org/10.4328/JCAM.1954>
 29. Us T, Kaşifoğlu N, Aslan FG, Aslan M, Akgün Y, Durmaz G. The distribution of hepatitis C virus genotypes of patients with chronic hepatitis C infection in the Eskisehir region of Turkey. J Clin Anal Med. 2017;8(2):88-91.
<https://doi.org/10.4328/JCAM.4747>
 30. Altuğlu I, Sertöz R, Aksoy A, Gürsel D, Tüzüner U, Günşar F. Possible transmission risks and genotype distribution of hepatitis C virus infection in Western Turkey. Turk J Gastroenterol. 2013;24(5):349-55.
<https://doi.org/10.4318/tjg.2013.0518>

YAZARLARA BİLGİ

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

Başvuru

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

Prof. Dr. Çağrı Ergin

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

Metin Çeşitleri

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

Metin yazımı esnasında uyulacak kurallar

- Yazının Türkçe başlığı kısa, açık ve içeriği tam yansıtır olmalıdır.
- Yabancı dilde başlık Türkçe başlık ile birebir uyusmalıdır.
- On-line ilgili formlarda tüm aşamalar doldurulmalıdır
- Araştırma daha önce bir bilimsel toplantıda bildiri (sözlü veya poster) olarak sunulmuş ise, bu bilgi toplantının adı ve tarihiyle birlikte belirtilmelidir.
- Olgu sunumu, derleme, editöre mektup gibi diğer metin çeşitlerinde bölümlü özet hazırlamaya gerek yoktur.
- Özet bölümünde kısaltmalardan mümkün olduğunca kaçınılmalı ve kaynak, şekil, tablo ve atıf yer almamalıdır.
- Ana metin sayfaları, metin çeşidine göre bölümlendirilmelidir. Özgün araştırmalar amacın belirtildiği giriş, gereç ve yöntem, bulgular ve tartışma kısımlarından oluşmalıdır. Bulgu ve tartışmanın kısa olduğu metinlerde iki başlık birleştirilerek de aktarılabilir. Olgu sunumu amacın belirtildiği kısa bir girişten sonra detaylı olgu ve tartışmadan oluşmalıdır. Derlemelerde önce kısa bir giriş yapılmalıdır ve ardından derlemenin konusuna uygun oluşturulmuş bölümleri kapsamalıdır.
- Mikroorganizma adları ve MİK veya PFGE gibi kısaltmalar ilk 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:** Snyderman DR. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial *Candida* infections. Chest. 2003;123(Suppl 5):S500-3. <https://doi.org/.....>
- **Elektronik dergi makalesi:** Lam PV, Tadros M, Fong IW. Mandibular osteomyelitis due to *Raoultella* species. JMM Case Rep. 2018;5. İnternet adresi: <http://.....> Erişim tarihi: .././20.. <https://doi.org/.....>

B. Kitaplar

- **Kitap:** Appanna VD. Human Microbes - The Power Within Health, Healing and Beyond. Singapur: Springer Singapur; 2018.
- **e-kitap:** Appanna VD. Human Microbes - The Power Within Health, Healing and Beyond. Singapur: Springer

Singapur; 2018. İnternet adresi: <http://.....> Erişim tarihi: .././20..

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

C. Sanal Ortam

- **Web sitesi:** World Health Organization. Global strategy for. Geneva: World Health Organization. 2001 [<http://www.who.international>]. (Erişim tarihi:).

Şekil, Tablo, Fotoğraf, Resim, Grafik

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

