

Cilt / Volume 52

Sayı / Number 3

Eylül / September 2022

ISSN 0258-2171

e-ISSN 2458-7516



Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✓ Bakteriyosinlerin Sağlık Alanında Kullanımı
- ✓ Servikal Fırça Örneklerinde İnsan Papilloma Virüs Prevalansı ve Genotip Dağılımı; Üç Yıllık Analiz
- ✓ Gram Negatif Bakterilerde Modifiye Sıvı Disk Elüsyon Yöntemi ile Kolistin Direncinin Belirlenmesi
- ✓ Kistik Ekinokokkoz Tanısında İndirekt Hemagglütinasyon Testinin Kullanılması: İki Yıllık Retrospektif Laboratuvar Deneyimi

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY



Cilt / Volume 52

Sayı / Number 3

Eylül / September 2022



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 52 Sayı / Number 3 Eylül / September 2022

Editor / 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

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 Gümrall; 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

Nüket Sivri; İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı, İstanbul
0000-0002-4269-5950

Serap Süzük Yıldız; Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ankara, Türkiye
0000-0002-4820-6986

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. Sebahat Aksaray

Yazışma Adresi / Correspondence Address

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
yılada 4 kez yayınlanır.*

© 2022. 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.

© 2022. 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: Yaygın Süreli

Yayınçılık Hizmetleri / Publishing Services

Akdema Bilişim Yayıncılık ve Dan. Tic. Ltd. Şti.
Adres: Balkiraz Mah. Saraycık Cad. No: 19/6 Mamak/Ankara
Sertifika no: 52576
E-posta: bilgi@akdema.com
Tel: +90 533 166 80 80
Web: www.akdema.com

Baskı / Printing

Teknoart Digital Ofset Reklamcılık Matbaacılık İth. İhr. San. ve Tic. Ltd. Şti.
Adres: Cevizlidere Mahallesi 1288 Sok. No: 1/1 Çankaya/Ankara
Sertifika no: 47644
Tel: +90 312 473 92 97
Web: www.printandsmile.com.tr

Danışmanlar Kurulu / Advisory Board

Sinem Akçalı, Manisa Celal Bayar Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa
0000-0001-7783-8723

Deniz Bahar Akgün Karapınar, İstanbul Üniversitesi,
İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-3470-5346

Gülşay Aral Akarsu, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0003-0007-9006

Gönül Aslan, Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin
0000-0002-4431-3629

Ali Aydın, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner
Fakültesi, Veterinerlik Gıda Hijyen ve Teknolojisi Anabilim
Dalı, İstanbul
0000-0002-4931-9843

Ayfer Bakır, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim
ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Ankara
0000-0002-9006-5267

Gülçin Bayramoğlu, Karadeniz Teknik Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon
0000-0002-6103-3127

Gülendam Bozdayı, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-6036-6819

Rabia Can Sarınoğlu, Marmara Üniversitesi,
Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji, İstanbul
0000-0001-9222-8659

Celal Kurtuluş Buruk, Karadeniz Teknik Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon
0000-0001-8497-5419

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

Emel Çalışkan, Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Düzce
0000-0002-9451-7865

Tülin Demir, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji
Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara
0000-0003-2708-2838

Hatice Ertabaklar, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın
0000-0001-7997-6433

Zayre Erturan, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp
Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, İstanbul
0000-0002-6427-3046

Berrin Esen, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyon
0000-0003-1590-7150

Işıl Fidan, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara
0000-0001-6296-5017

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

Aylin Üsküdar Güçlü, Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-1872-028X

Hüseyin Gündüğüoğlu, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne
0000-0003-1048-8268

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

Esra Koçoğlu, İstanbul Medeniyet Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-2860-1794

Hasan Cenk Mirza, Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-8853-3893

İpek Mumcuoğlu, Ankara Şehir Hastanesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara
0000-0002-6392-8880

Sedef Zeliha Öner, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli
0000-0002-9964-2526

Danışmanlar Kurulu / Advisory Board

Cüneyt Özakin, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa
0000-0001-5428-3630

Erdal Özbek, Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır
0000-0002-8593-224X

Ayşe Aydan Özkütük, Dokuz Eylül Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir
0000-0002-1710-2287

Sine Özmen Toğay, Bursa Uludağ Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi, Gıda Bilimleri Anabilim Dalı, Bursa
0000-0002-8851-1803

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

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

Nevin Turgay, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0003-4517-3223

Hatice Türk Dağı, Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya
0000-0002-0291-4987



İÇİNDEKİLER / CONTENTS

DERLEME / REVIEW

- **Bakteriyosinlerin Sağlık Alanında Kullanımı**

Use of Bacteriosins in Health

Ayşenur Fidan, Serpil Uğraş 145

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / RESEARCH ARTICLES

- **Doğu Anadolu Bölgesinde Sağlık Hizmeti ile İlişkili Enfeksiyonlara Neden Olan Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Klonal İlişkileri ve Antibiyotik Direnç Profilleri**

Clonal Relationships and Antibiotic Resistance Profiles of Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Strains Associated with Healthcare-Related Infections in Eastern Anatolia Region, Turkey

Ayşe Karacalı Tunç, Togrul Nagiyev, Tülay Kandemir, Melda Meral Öcal, Fatih Köksal 158

- **Servikal Fırça Örneklerinde İnsan Papilloma Virüs Prevalansı ve Genotip Dağılımı; Üç Yıllık Analiz**

Human papillomavirus prevalence and genotype distribution in servical swab samples: Outcomes of a three-year analysis

Bilal Olcay Peker, Tuba Müderris, Süreyya Gül Yurtsever, Selçuk Kaya 168

- **Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Antimikrobiyal Duyarlılık Sonuçlarının EUCAST ve CLSI Sınır Değerlerine Göre Karşılaştırılması ve Metallo Beta Laktamaz Varlığının Fenotipik Yöntemlerle Araştırılması**

Comparison of Antimicrobial Susceptibility of Nosocomial Pseudomonas aeruginosa Isolates According to EUCAST and CLSI Breakpoints and Investigation of the Existence of Metallo Beta Lactamase by Phenotypic Methods

Sulhiye Aslan, Gülgün Yenişehirli, Bahise Çağla Taşkın Dalgıç, Aydan Yenişehirli 175

- **Gram Negatif Bakterilerde Modifiye Sıvı Disk Elüsyon Yöntemi ile Kolistin Direncinin Belirlenmesi**

Determination of Colistin Resistance in Gram Negative Bacteria by Modified Broth Disk Elution Method

Nazmiye Ülkü Tüzemen, Özlem Işık, Bekir Akça, Cüneyt Özakin 184

- **İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık ile İlgili Fakülte Öğrencilerinin HIV/AIDS Farkındalık Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

Evaluation of HIV/AIDS Awareness Levels of Health-Related Faculty Students of Istanbul Aydın University

Özge Altınok, Turan Onur Bayazıt, Ali Ağaçfidan 192

- **Rekürren Aftöz Stomatitlerin Etiyolojisinde Herpes Simpleks Virüs-1, Herpes Simpleks Virüs-2 ve *Chlamydia trachomatis*'in Rolünün Araştırılması**

Investigation of the Role of Herpes Simplex Virus-1, Herpes Simplex Virus-2 and Chlamydia trachomatis in the Etiology of Recurrent Aphthous Stomatitis

Cem Baysal, Mustafa Önel, Emel Bozkaya, Şükrü Şirin, Ali Ağaçfidan 202



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 52 Sayı / Number 3 Eylül / September 2022

- **Architect® EBV Antikor Panel Sonuçları ve EBV Tanı Algoritmalarının Değerlendirilmesi**
Evaluation of Architect® EBV Antibody Panel Results and EBV Diagnostic Algorithms
Özgür Appak, Abdurrahman Gülmez, Arzu Sayiner 208
- **İntestinal Parazit Saptanan Gaita Örneklerinde Adenovirüs/Rotavirüs ve Gizli Kan Pozitifliğinin Araştırılması**
Investigation of Adenovirus/Rotavirus and Occult Blood Positivity in Stool Samples with Intestinal Parasites
Filiz Demirel, Aydan Yıldız, Hacer Aytekin Börü 216
- **Kistik Ekinokokkoz Tanısında İndirekt Hemagglütinasyon Testinin Kullanılması: İki Yıllık Retrospektif Laboratuvar Deneyimi**
Use of Indirect Hemagglutination Test in the Diagnosis of Cystic Echinococcosis: Two Years of Retrospective Laboratory Experience
Özlem Ulusan Bağcı, Bayram Pektaş, Ayşegül Aksoy Gökmen, Selçuk Kaya 223
- **HBsAg Pozitif Hastalarda Hepatit Delta Virüsü Seroprevalansının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi**
Retrospective Evaluation of Hepatitis Delta Virus Seroprevalence in HBsAg-Positive Patients
Canan Eryıldız, Eray Özgün, Zerrin Yuluğkural, Ahmet Tezel, Nermin Şakru 232
- **Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten ve Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae İzolatlarına Karşı Sefiderokolün İn Vitro Etkinliğinin Araştırılması**
Investigation of In Vitro Activity of Cefiderocol against Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing and Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolates
Hasan Cenk Mirza, Gizem İnce Ceviz 240

DÜZELTME / CORRECTION

- **Düzeltilme: COVID-19 Tanılı Bir Hastada İlk Kez Saptanan *Herbaspirillum huttiense* Bakteriyemisi, Olgu Sunumu**
Correction: Bacteremia Caused by Herbaspirillum huttiense in a Patient with COVID-19, Case Report
Rümeysa Tuba Biçer, Büşra Güneysu Yazar, Abdurrahman Sarıms, Neslihan Önder,
Tuncer Özekinci 246

Bakteriyosinlerin Sağlık Alanında Kullanımı

Use of Bacteriosins in Health

Ayşenur Fidan*, Serpil Uğraş**

* Düzce Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Düzce, Türkiye

** Düzce Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Düzce, Türkiye

Atıf/Cite as: Fidan A, Uğraş S. Bakteriyosinlerin sağlık alanında kullanımı. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):145-157.

Öz

Mevcut antibiyotiklere dirençli patojenlerin dramatik bir şekilde artışı, artan salgın hastalıklar, üstesinden gelinemeyen nozokomiyal enfeksiyonlar gibi birçok alanda patojenlerle mücadele için alternatif stratejilere gereksinim duyulmaktadır. Bu bağlamda, yapılan çalışmalar, bakteriyosinlerin patojenlerle mücadelede alternatif bir strateji olabileceğini göstermektedir. Bakteriyosinler sağlık alanında antikanser, antiviral, antibiyofil ve antimikrobiyal etkileri kanıtlanmış olan önemli bakteriyal kaynaklı peptitlerdir. Patojenlerin inhibisyonunu sağlarken canlıya ve çevreye zararsız oluşları bakteriyosinleri daha da önemli hâle getirmektedir. Günümüzde laktik asit bakterilerinin bakteriyosinleri çalışmalarda odak noktası hâline gelmiş olsa da *Bacillus* sp., *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi diğer üretici bakterilerin bakteriyosinleri de sağlık alanında oldukça önemli sonuçlar vermekte ve bu alanda çalışmalar hızla sürdürülmektedir. Bakteriyosinlerin, patojenler ile mücadelede yeni stratejilerin geliştirilmesinde kilit rol üstlenebileceği öngörülmektedir. Bu derleme çalışmada, bakteriyosinlerin önemi vurgulanmakta olup, sağlık alanında bakteriyosinlerin kullanım olanaklarını sunan çalışmalara yer verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Bakteriyosinler, inhibisyon aktivite, sağlık

ABSTRACT

Alternative strategies are needed to combat pathogens in many areas such as the dramatic increase in pathogens resistant to existing antibiotics, increasing epidemics, and incurable nosocomial infections. Some studies show that bacteriocins can be an alternative strategy in combating pathogens. Bacteriocins are important peptides of bacterial origin with proven anticancer, antiviral, antibiofilm and antimicrobial effects in the health field. Bacteriocins, which provide pathogen inhibition, are considered as very important molecules because they are harmless to living things and the environment. Although bacteriocins produced by lactic acid bacteria are the focus of studies in health, successful findings are obtained as a result of studies with bacteriocins of other producing bacteria such as *Bacillus* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and studies with bacteriocins are rapidly continuing. It is predicted that bacteriocins may play a key role in the development of new strategies in the fight against pathogens. This review includes studies that reveal the possibilities of using bacteriocins in health, and as a result, the importance of bacteriocins is emphasized.

Keywords: Bacteriocins, inhibition activity, health

Alındığı tarih / Received:

28.02.2022 / 28 February 2022

Kabul tarihi / Accepted:

03.05.2022 / 03 May 2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01 September 2022

ORCID Kayıtları

A. Fidan 0000-0003-3188-266X

S. Uğraş 0000-0002-1867-5781

✉ serpillkus@gmail.com

GİRİŞ

Antibiyotiklerin keşfi ile birçok bakteriyel hastalığın tedavisi olası hâle gelmiş ve bu şekilde insanların daha uzun yaşam sürmesi sağlanabilmiştir. Ancak, sağlık alanında çığır açan böylesi önemli moleküllerin bilinçsiz kullanımları neticesinde, bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirdiği gözlenmiştir. Bakterilerde antibiyotiklere yönelik direnç oluşumundan sorumlu genler rastgele mutasyonlarla

veya plazmit aracılığıyla yatay gen transferi sonucunda aktarılabilir. Bilinçsiz antibiyotik kullanımının sonucu olarak da dirençli bakterilerin doğal seçim yoluyla hayatta kaldığı görülmektedir. Son zamanlarda bakterilerde antibiyotik direncinin ciddi sayıda artışı, bilim insanlarını dirençli seçenekleri yeniden değerlendirmeye özendirmiştir^(1,2). Günümüzde, bir çeşit bakteri savunma sistemi olan bakteriyosin molekülleri antibiyotiklere alternatif bir tedavi ajanı olarak değerlendirilmektedir.

Bakteriyosinler, özellikle bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen, antimikrobiyal etki gösteren peptitlerdir. Bakteriyosinler, hem Gram pozitif (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Propionibacterium* vd.) hem de Gram negatif (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* vd.) bakteriler tarafından üretilmektedir⁽³⁾. Göstardıkları inhibisyon (toksik) etki genellikle aynı türden ve yakın akraba bakterilere karşı olmaktadır⁽⁴⁾. Genel anlamda antibiyotikler ve bakteriyosinler arasındaki fark bakıldığında; sentezlenme şekilleri, etki mekanizmaları, toksik etkileri ve direnç mekanizmaları kaynaklı olduğu görülmektedir^(5,6). Sentezlenmeleri ise bakteriyosinler ribozomal olarak gerçekleşirken, antibiyotiklerde multienzim kompleksleriyle olmaktadır⁽⁶⁾. Bununla birlikte, bakteriyosinler özellikle etki mekanizmalarının dar spektrumlu olması dolayısıyla da antibiyotiklerden ayrılmaktadır⁽⁷⁾. Bu bağlamda, dirençli mikroorganizmaların dramatik bir şekilde arttığı, salgın hastalıkların önlenemez hâle geldiği günümüz dünyasında bakteriyosinler birçok alanda mikroorganizmalarla mücadele de etkili ve alternatif bir yol olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bakteriyosinler ve sınıflandırılmaları

Bakteriyosinler, Gram pozitif bakteriler, Gram negatif bakteriler ve bazı arkea grubu mikroorganizmalar tarafından üretilen peptit yapıdaki bileşiklerdir. Kolisin olarak adlandırılan ilk bakteriyosin, 1925 yılında Gratia tarafından keşfedilmiştir. O zamandan beri, tanımlanan bakteriyosinlerin sayısı önemli ölçüde artmış bu nedenle farklı veri tabanlarında farklı şekillerde sınıflandırılmış ve büyük bir heterojen antimikrobiyal bileşik grubu olarak değerlendirilmiştir⁽⁸⁾. Bugüne kadar birkaç yüz bakteriyosin tanımlanmıştır. Aynı zamanda bakteriyosinlerin sınıflandırılması, yapıları, amino asit dizileri ve bilinen etki mekanizmaları ile ilgili yeni gelişmeler ortaya çıktıkça güncellenmektedir. Genel olarak bakteriyosinlerin sınıflandırılması üretici organizmanın Gram pozitif ya da Gram negatif olmasına göre yapılmaktadır ve ek olarak arkea domaini üyeleri tarafından üretilen birkaç bakteriyosin de karakterize edilmiştir (Tablo 1).

Gram pozitif bakterilerin ürettikleri bakteriyosinler başlıca dört sınıfta incelenmektedir. Sınıf I bakteriyosinler "lantiyotik" isimleriyle tanınmakta ve lantionin (Lan), metillantionin (MeLan), dehidroalanin (Dha), dehidrobutirin (Dhb) ve D-alanin (D-Ala) olarak bilinen modifiye amino asitleri içermektedir. Sınıf II bakteriyosinler lantibiyotik-olmayan bakteriyosin grubu olarak bilinmekle birlikte, bu grup üyesi bakteriyosinler post-translasyonel modifikasyona uğramamasıyla ilk gruptan ayrılmaktadır. Sınıf II bakteriyosinleri IIa, IIb, IIc ve IId gibi yapısal bakımdan alt gruplara ayrılmakta olup, bu sınıf pediosin, enterosin gibi bilinen önemli bakteriyosinleri içermektedir. Sınıf III bakteriyosinleri ise moleküler ağırlığı 30 kDa'nın üzerinde olan termolabil (sıcaklığa duyarlı) molekülleri içermektedir. Sınıf IV bakteriyosinleri, tam aktivite için moleküllerinde bir lipit veya karbonhidrat parçalarının varlığını gerektiren bakteriyosinleri kapsamaktadır.

Gram negatif bakterilerin ürettikleri bakteriyosinler ise ColE1 plazmitleri tarafından kodlanan bir kolisin sınıfı ve microsinlerden oluşmaktadır^(3,9). Bununla birlikte, sınıflandırma içerisinde genel olarak güvenli (GRAS) statüsüne sahip Gram pozitif laktik asit bakterilerinin (LAB) bakteriyosinleri endüstriyel kullanımı nedeniyle ilgi odağı hâline gelmektedir⁽¹⁰⁾.

Bakteriyosinlerin etki mekanizması

Bakteriyosinlerin sentezi plazmid veya kromozomal DNA'da bulunan genlerin kontrolü altında gerçekleşmektedir. Bakteride aktif bakteriyosini kodlayan genler, bakteriyosin direncini kodlayan genler, bakteriyosinin hücre dışına çıkarılmasından sorumlu genler ve bazen bakteriyosinlerin posttranslasyonel modifikasyonunda yer alan enzimleri kodlayan genler paralel olarak ekspresyona uğramaktadır⁽³⁾. Bakteriyosinlerin etki mekanizmaları bakterisidal veya bakteriyostatik olabilmektedir.

Gram pozitif bakteriler tarafından sentezlenen lantibiyotikler genel olarak bakterilerin sitoplazmik zarı üzerine toksik etki göstermektedir. Bazıları, örneğin mersasidin, aktagardin ve sinamisin grubu, spesifik lipit veya lipide bağlı hedeflere

Tablo 1. Farklı sınıflara ait bazı bakteriyosin örnekleri ^(11,12)

Gram Pozitif Bakteriler Tarafından Üretilen Bakteriyosinler		
Sınıfı	Bakteriyosin	Üretici
Sınıf I	Nisin	<i>Lactococcus lactis</i>
	Salivaricin	<i>Streptococcus salivarius</i>
	Mersasidin	<i>Bacillus subtilis</i>
	Aktagardin	<i>Actinoplanes ssp.</i>
	Sinamisin	<i>Streptomyces cinnamomeus</i>
Sınıf II		
IIa	Mesentericin Y105	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	Pediocin PA-1	<i>Pediococcus acidilactici</i>
IIb	Lactacin F	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
	Lactocin-705	<i>Lactobacillus paracasei</i>
	Plantaricin F	<i>Lactobacillus plantarum</i>
IIc	Carnobacteriocin A	<i>Carnobacterium piscicola</i>
	Enterocin AS-48	<i>Enterococcus faecalis</i>
	Acidocin B	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
IId	Enterocin L50A	<i>Enterococcus faecium</i>
Sınıf III	Helveticin J	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	Enterolysin A	<i>Enterococcus faecalis</i>
Sınıf IV	Glycocin F	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Gram Negatif Bakteriler Tarafından Üretilen Bakteriyosinler		
Sınıfı	Bakteriyosin	Üretici
Kolisinler	Kolisin E2	<i>Escherichia coli</i>
	Kolisin U	<i>Shigella boydii</i>
Mikrosinler	Mikrosin B17	<i>Escherichia coli</i>
	Mikrosin E492	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

bağlanmakta ve sonraki enzim reaksiyonlarını inhibe etmektedir⁽¹³⁾. Mersasidin ve aktagardin peptidlerinin, membrana bağlı peptidoglikan öncü lipid II ile bir kompleks oluşturarak, transglükosilasyon düzeyinde peptidoglikan biyosentezini inhibe ettiği gösterilmiştir^(14,15). Nisinin ise, sitoplazmik zar üzerinde gözenek oluşumuna yok açarak etki gösterdiği bilinmektedir^(16,17). Bunun yanı sıra modifiye edilmemiş ya da sınıf II bakteriyosinler olarak adlandırılan grubun IIa alt sınıfı bakteriyosinleri, duyarlı hücrelerin yüzeyinde aktif olabilmek için bir hedef moleküle gereksinim duymaktadır. Genel olarak, bu sınıf bakteriyosinlerin ise elektrostatik ve/veya hidrofobik etkileşimler

ile gözenek oluşumuna ve membranda lokalize bozulmaya yol açarak sitoplazmik membranla etkileşime girdiği tespit edilmiştir⁽¹³⁾. Bununla birlikte, katyonik bakteriyosinler ile bakteri zarının negatif yüklü bileşenleri, yani Gram pozitif bakterilerin fosfolipidleri ve teikoik asitleri veya Gram negatif bakterilerin lipopolisakaritleri arasındaki elektrostatik etkileşimler, aktivitelerini başlatan ilk adımı oluşturmaktadır. Elektrostatik etkileşimlerden kaynaklanan bakteriyosinlerin membran yüzeyine spesifik ve spesifik olmayan bağlanması, daha sonra bakteriyosinlerin sitoplazmik membrana girmesine yol açabilmektedir. Bu ilk adım, iyon geçirgen kanalların veya gözeneklerin oluşumuna, ardından potasyum ve magnezyum iyonları, amino asitler ve ATP gibi hücre içi metabolitlerin pasif akışına ve hücre içeriğinin sızmasına yol açan hayati iyon gradyanlarının daha fazla dağılmasına neden olmakta ve son olarak hücre ölümü gerçekleşmektedir^(18,19).

Bakteriyosinlerin kullanım alanları

Yukarıda sınıflandırılan pek çok bakteriyosinin gıda, tarım, sağlık gibi çeşitli alanlarda kullanımı söz konusudur. Bakteriyosinlerin gıda alanında kullanımları oldukça eskiye dayanmaktadır. Nisin, ilk antibiyotik penisilinin keşfedilmesiyle birlikte yaklaşık 1928 yılında sütte keşfedilen bir bakteriyosindir. *Lactococcus lactis* tarafından üretilen bu bakteriyosin starter kültürlerin inhibisyonuyla peynir üretiminde karşılaşılan sorunların araştırılması sırasında keşfedilmiştir⁽²⁰⁾. Nisin 1988 yılında, ABD’de antibiyotiklerin gıdalarda kullanımının yasaklanmasıyla doğal koruyucu olarak kullanılmaya başlanmıştır. Nisin bu bağlamda şimdiye kadar gıdalarda biyokoruyucu olarak kullanılan tek lisanslı bakteriyosin olma özelliğine sahiptir. Tarım alanında, çevresel olarak sürdürülebilir tarıma ulaşmak için kimyasal gübrelerin, herbisitlerin ve pestisitlerin çevre üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılmasına duyulan ihtiyaç karşısında, güncel bazı incelemelerde fitomikrobiyomun bir üyesi olan *Bacillus thuringiensis* tarafından üretilen Thuricin 17 bakteriyosininin patojenleri kontrol altına alarak bitki büyümesini artırdığı vurgulanmaktadır^(21,22). Bakteriyosinlerin veteriner sağlık alanında yapılan çalışmalarda, süt hayvanlarında yaygın görülen mastitis enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisi

için geleneksel antibiyotiklere bir alternatif olarak önerilmekte ve etkili sonuçların elde edildiği gözlenmektedir⁽²³⁾. Bu bağlamda görüldüğü üzere, bakteriyosinler, bazı araştırmalarla gıda, sağlık, tarım alanlarında kullanılabilmekte ve geliştirmeye açık mikrobiyal ürünler olarak değerlendirilmektedir.

Bununla birlikte, bakteriyosinler sağlık alanında oldukça farklı alanlarda kullanılan önemli biyomoleküller olarak değerlendirilmektedir. Yalnızca antimikrobiyal özellikleri ile değil antikanser, antiviral ve antibiyofilik özellikleri ile de dikkat çekici biyomoleküller olarak karşımıza çıkmaktadır.

Sağlık alanında bakteriyosinler

Antikanser etkileri: Bakteriyosinlerin, farklı deneysel çalışmalarda çeşitli kanser hücrelerine karşı önemli biyolojik aktivite sergilediği literatürdeki pek çok çalışmada rapor edilmiştir. Antikanser özelliklere sahip bu bakteriyosinlerin çoğunun, genellikle farklı ortamlarda bulunan bakteriler tarafından üretilen, doğada katyonik ve amfifilik olarak bulunabilen peptit yapıları olduğu bilinmektedir. Çalışmalarla, bakteriyosinler tarafından normal hücrelere kıyasla kanser hücrelerine karşı farklı sitotoksitesite geliştirmesi bu bileşiklerin yeni kanser hücrelerine karşı terapötik ajanlar olarak kullanılabileceği fikrini doğrulamaktadır⁽²⁴⁾. Bakteriyosinlerin normal hücreler yerine kanser hücrelerine karşı seçiciliğine atfedilebilecek bazı faktörler vardır. İlk olarak, kanser hücreleri, önemli miktarlarda anyonik fosfatidil serin, gangliositler, heparin sülfatlar ve O-glikosile edilmiş müsinlerin varlığından dolayı negatif yüklü bir yüzeye sahiptir. Kanser dışı hücrelerin dış yüzeyi, sfingomiyelinler ve fosfatidil kolin dâhil olmak üzere nötr fosfolipitlerden oluşurken, iç yüzey aminofosfolipitler içerir⁽²⁵⁾. Buna göre, bakteriyosinlerin katyonik peptitleri, kanser olmayan hücrelerden çok kanser hücrelerinin negatif yüklü yüzeyine karşı yüksek bir afiniteye sahiptir⁽²⁶⁾. İkinci olarak, tümör hücre zarının yüksek akışkanlığı, kanser olmayan hücrelere kıyasla kanser hücrelerine karşı seçici sitotoksitesiteyi açıklayabilen neden olmaktadır. Son olarak, kanser

hücre zarında çok sayıda mikrovillinin bulunması, bakteriyosin moleküllerinin bağlanmasını ve alımını kolaylaştırmaktadır⁽²⁶⁾. Bazı bakteriyosinlerin kanser hücrelerine karşı seçici hareket ederek anti-kanser aktiviteleri gösterdiği görülmüştür.

Son zamanlar antikanser peptidi olarak kabul edilen nisin kolon kanseri hücre dizisinde apoptozu indükleyebileceği ve kanserli hücre ölümüne yol açabileceğini öne sürülmüştür⁽²⁷⁾. Farklı bir araştırmada, *Brevibacillus* sp. tarafından üretilen Laterosporulin10 (LS10)'un; insan rahim ağzı kanseri hücre hattı, embriyonik böbrek kanseri hücre hattı, insan fibro-sarkom hücre hattı, insan akciğer kanseri ve meme kanseri hücre hattı gibi çeşitli kanser hücreleri için oldukça apoptotik olduğu gösterilmiştir. Sırasıyla düşük ve daha yüksek konsantrasyonlarla tedavi edildiğinde hem apoptozu hem de nekrotik etkileri indükleyen çok etkili bir bakteriyosin olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada, Laterosporulin10 bakteriyosinin, kontrol olarak kullanılan insan normal hücrelerine karşı hiçbir yan etki göstermeyen ve hemolize neden olmayan potansiyel yeni bir antikanser molekülü olduğu belirtilmektedir⁽²⁸⁾. Al Madboly ve ark.⁽²⁹⁾ ise *Enterococcus thailandicus* suşundan üretilen enterosin (LNS18) bakteriyosininin karaciğer kanser hücrelerine karşı etkisini incelemişlerdir. Çalışma enterosinin kanser hücrelerine karşı sitotoksitesitesine yönelik bazı mekanizmaları sunmuştur. Bunlar, hücre içi ROS (Reaktif Oksijen Türleri) üretiminin indüklenmesi ile tümör hücrelerinin ekspresyonunu azaltması ve G0'da hücre döngüsünü durdurmayı başarmasından dolayı karaciğer kanserine karşı gelecek vadeden, seçici ve biyolojik olarak aktif bir bakteriyosin olduğu bilgisini sunmaktadır. Yapılan diğer bir antikanser çalışmasında, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomuna karşı bakteriyosinlerin etkisi değerlendirilmiştir. Baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomu (HNSCC), dünya çapında altıncı önde gelen ölüm nedeni olarak belirtilmektedir. Anatomik konumu göz önüne alındığında, HNSCC cerrahi rezeksiyonu genellikle tahrip edicidir ve sıklıkla tümör kitlesinin tamamen çıkarılması uygun bir seçenek olmamaktadır. Bu durum genellikle kemoradyoterapi ve genellikle tedavi edilemez bir

hastalık hâline gelmektedir⁽³⁰⁾. Dolayısıyla bu durum söz konusu hastalıklar için tedavi seçeneklerinin geliştirilmesinin aciliyetini de vurgulamaktadır. Kamarajan ve ark.⁽³¹⁾ nisinin HNSCC üzerinde sitotoksik ve antitümör özelliklerini araştırarak tümör oluşumunu bloke ettiğini bulmuşlardır⁽³¹⁾. Bu çalışmada, *Lactococcus lactis* bakterisinin fermentasyonu ile üretilen ve 27. pozisyonda tek bir amino asit kalıntısı ile farklılık gösteren iki nisin varyantı (nisin A ve nisin Z) kullanılmıştır. Nisin aracılı apoptoz mekanizmasını daha fazla incelemek için ek apoptotik deneyler kullanılarak bilinen apoptotik sinyal proteinlerini araştırılmıştır. Sonuçlar nisin Z'nin, kalpain, kaspaz 8 ve PARP (poli ADP - riboz polimeraz bölünmesi) yoluyla apoptozu indüklediğini göstermiştir. Özetle nisin Z'nin, HNSCC hücrelerinde kalpain bağımlı apoptozun indüksiyonu, endotelial hücrelerde apoptozun indüksiyonu ve HNSCC hücre proliferasyonunun inhibisyonu yoluyla, azaltılmış intratümoral mikrodamar yoğunluğu sergileyen tümörijenzezi inhibe etmesinden dolayı gelecekte bakteriyosin temelli bir HNSCC tedavisi olarak düşünülebileceği öne sürülmektedir⁽³¹⁾.

Ayrıca Preet ve ark.⁽³²⁾ tarafından fareler üzerinde yapılan bir deneyde ise, kemoterapötik ilaç olan doksorubisinin ve nisinin deri karsinogeneziinde ayrı ayrı uygulamaları ve nisin-doksorubisin birlikte uygulaması incelenmiştir. Nisin-doksorubisin kombinasyonun, tedavi edilmeyen gruba kıyasla tümör hacmini %66.82 azaltarak tek tek kullanıma karşı daha etkili bir sonuç sunmasıyla nisinin kemoterapötik ilaç olan doksorubisinin potansiyelini

artırma kabiliyetine de sahip olduğu gösterilmiştir⁽³²⁾. Literatüre bakıldığında, yapılan önceki çalışmalardan Gram negatif bakterilerin ürettiği ana sınıf olan kolisinlerinse, göğüs kanseri, kolon kanseri, kemik kanseri ve uterus hücre hattı HeLa gibi çeşitli insan tümör hücre hatlarına karşı *in vitro* olarak antikanser aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir^(33,26). Geçmişten günümüze bakteriyosinlerin antikanser etkilerini tespit eden bazı öncül çalışmalar aşağıda yer alan Tablo 2'de sıralanmıştır⁽³⁴⁻³⁹⁾.

Antiviral etkileri: Özellikle sağlık alanında önemli mikroorganizmalar olan virüsler, birçok bilinen ana patojeni içermektedir. Yalnızca bir konakçı organizmayı enfekte ederek üreme yeteneği ve canlılık kazanabilen yapılardır. Günümüzde SARS-CoV-2 virüsünün neden olduğu pandemi süreci düşünüldüğünde, virüsler ile alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Birçok çalışma, çeşitli virüslere karşı laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilen bakteriyosinlerin inhibe edici aktivitesini, bunların etki tarzlarının, viral aşama aktivitelerinin ve sinerjik-antagonistik etkilerinin ayrıntılı gösterimleriyle tanımlamıştır. Bakteriyosinler, antiviral maddeler için umut verici adaylar olarak kabul edilebilmektedir.

Fekal-oral yolla bulaşabilen poliovirüs, çocuk felcinin etken virüsüdür⁽⁴⁰⁾. Pozitif sarmallı zarfsız bir virüs olan poliovirüsten kaynaklanan bu hastalık virüs ağız yolu ile alındığında başlar ve bağırsak ile orofarinjel mukozada çoğalır. Uzunların akut flask paralizi ile

Tablo 2. Bakteriyosinlerin antikanser etkilerinin gösterildiği bazı çalışmalar

Bakteriyosin	Üretici	Hücre Hatları	Kaynak
Pediosin (K2a2-3, PA1, CP2)	<i>Pediococcus acidilactici</i>	Kolon Kanseri (HT29)	34
Nisin A	<i>Lactococcus lactis</i>	Kolon Kanseri (LS180, SW48, HT29 ve Caco2), Baş ve boyun skumöz hücreli karsinomu (UM-SCC-17B, UM-SCC-14A, HSC-3), meme adenokarsinomu (MCF-7), karaciğer hepatosellüler karsinomu (HepG2) ve akut T hücreli lösemi	35, 36
Kolicin (E3, A, E1)	<i>Escherichia coli</i>	Kolon Kanseri (HCT116), Osteosarkom (HOS), fibrosarkom (MRC5, HS913T), insan lösemi hücreleri (P388), leiomyosarkom (SKUT-1 hücreleri), akciğer kanseri (A-549, PC-14, RERF-LC-AL), yumurtalık karsinomu ve meme kanseri (MCF7, ZR75, BT549, BT474, MDA-MB-231, SKRB3, T4D7)	37, 38
Microcin E492	<i>Klebsiella pneumoniae</i> RYC492	HeLa, insan serviks karsinomundan türetilen bir epitelyal hücre dizisi; KG-1, akut T hücreli lösemisi (Jurkat)	39

karakterize olan bu durum Nijerya, Pakistan ve Afganistan gibi gelişmekte olan ülkelerde hâlâ ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Ek olarak, herpes simpleks virüsleri (HSV) ise, insanların çoğunu enfekte ederek 50 yaş civarındaki bireylerde serolojik prevalansın %90'ına kadar ulaşarak kronik ve gizli enfeksiyonlarla ilişkilendirilmektedir. Poliovirüs (PV) ve herpes simpleks virüsleri (HSV) ile Cavicchiol ve ark.⁽⁴¹⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, keçi sütünden izole edilen (ikisi *Lactococcus lactis* bakterisinden: GLc03 ve GLc05 ve dördü *Enterococcus durans* bakterisinden: GEn09, GEn12, GEn14 ve GEn17) altı LAB suşundan elde ettikleri bakteriyosinlerin antiviral etkisini araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, *L. lactis*'ten elde edilen bakteriyosinlerin sınırlı antiviral aktiviteye sahip olduğu, bunun yanı sıra *E. durans* tarafından üretilen bakteriyosinlerin hem HSV-1 hem de PV-1 ile etkileşimlerde daha etkili olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlar, *E. durans* tarafından üretilen bakteriyosinlerin yeni antiviral ajanlar olarak potansiyelini göstermektedir.

Farklı bir çalışmada *Enterococcus faecium* T136 suşunun genetik dizisi kullanılarak sentezlenen enterosin B'nin influenza virüsüne karşı antiviral etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda enterosin B ürettiği bilinen probiyotik *E. faecium* L3 bakterisi alan farelerin influenza virüsü enfeksiyonundan sonra sağlığı ve hayatta kalması da paralel olarak incelenmiştir. Böylelikle çalışmayla doku kültüründe kimyasal olarak sentezlenmiş enterosin B'nin antiviral etkilerinin açıklanması ve literatürde HSV'e karşı antiviral aktiviteye sahip enterosinleri üretme kabiliyeti hesaba katılarak⁽⁴²⁾ *E. faecium* L3'ün influenza virüsüne maruziyet üzerinde aktiviteye sahip olup olmadığı kontrol edilmiştir.

Veriler, *E. faecium* L3 probiyotik enterokok suşu tarafından üretilen veya kimyasal olarak sentez edilen bakteriyosin EntB'nin, influenza A virüsünün *in vitro* olarak suşa özel bir şekilde çoğalmasını önlemek için spesifik bir aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir⁽⁴³⁾. Bu bağlamda sonuçlar, kimyasal sentezle elde edilen veya probiyotik suşlar tarafından üretilen bakteriyosinlere dayanan yeni anti-influenza ilaçları geliştirilebilmesini desteklemektedir. 2019 yılında yapılan bir çalışmada ise, nisin, lizozim, laktoferrin ve bunların karışımlarının sığır viral ishal virüsüne karşı antiviral etkileri araştırılmıştır. *Flaviviridae* ailesinden zarflı, tek sarmallı, pozitif duyarlı RNA virüsü olan sığır viral ishal virüsü (BVDV), küresel olarak dağılan bir sığır patojenidir. Etkilenen bireyler arasında üreme bozuklukları, düşük üretkenlik ve diğer bulaşıcı hastalıkların daha yüksek insidansı nedeniyle önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır⁽⁴⁴⁾. Bu önemli zararlı virüse karşı yapılan çalışma sonucunda, tedaviler arasında en yüksek etkinlik, etki zamanla zayıflasa da hem viral enfeksiyonun erken aşamalarında hem de tüm seyri boyunca etkili olan laktoferrin ile elde edilmiştir. Nisin ve lizozim moleküllerinin enfeksiyonun sonraki aşamalarında etkili olup, etkilerinin yoğunluğu zamanla azalmamıştır. Nisin ve laktoferrin kombinasyonları ise, tek maddelere göre daha güçlü antiviral etkiler göstermiştir. Sonuçlar, özellikle test edilen maddelerin düşük toksisitesi ve seçicilik indeksi sayesinde, profilakside (hücreyi korumak) veya BVDV terapisinde (viral replikasyonun inhibisyonu), özellikle kombinasyon hâlinde kullanılabileceğini öne sürmektedir⁽⁴⁵⁾. Geçmişten günümüze bakteriyosinlerin antiviral etkilerini tespit eden bazı öncül çalışmalar aşağıdaki Tablo 3'te sıralanmıştır^(43,46,47).

Tablo 3. Bakteriyosinlerin antiviral etkilerinin gösterildiği bazı çalışmalar

Bakteriyosin	Üretici	Antiviral Etki	Kaynak
Enterosin B	<i>Enterococcus faecium</i>	İnfluenza virüsü	43
Enterosin CRL35	<i>Enterococcus faecium</i>	Herpes simpleks virüsü (HSV)	46
Enterocin ST4V	<i>Enterococcus mundtii</i>	HSV, HIV	47
Labirentopeptin A1	<i>Actinomyces namibiensis</i>		

Biyofilm üzerine etkileri: Biyofilm, bazı mikroorganizmaların dış etmenlerden korunmak ve yaşamlarını idame ettirebilmek amacıyla oluşturdukları mikrobiyal kümeler olarak tanımlanabilmektedir. Biyofilmler, konak savunmasına ya da antibiyotiklere karşı korunmuş bir ortam oluşturması açısından mikroorganizmalara önemli avantajlar sağlamaktadır⁽⁴⁸⁾. Ancak, bu durum sağlık alanında gelişen enfeksiyonlarda başlıca mikrobiyal enfeksiyon kaynağı olmaktadır. İntravenöz kateterler, implantlar gibi farklı tıbbi ekipmanlarda biyofilmler gelişebilmekte ve bu biyofilmler hastalarda tedavisi güç enfeksiyonlara neden olabilmektedir⁽⁴⁸⁾. Ek olarak, diş yüzeyine yapışarak kolonize olan pek çok bakterinin meydana getirdiği diş plakları ağız sağlığın için de önemli bir sorundur. Bazı karyojenik *Streptococcus* türleri ağız boşluğunda biyofilm geliştirerek, glukosiltransferaz yoluyla diyetle alınan karbondihidratlardan çözünmeyen glukon üretebilmektedir⁽⁴⁹⁾. Bu nedenle biyofilm tabakasının en önemli bileşeni olan glukon sentezini baskılaması için kullanılacak bir inhibitör, diş çürüklerinin önlenmesinde oldukça önemlidir. Hem çıplak hem de kapsüllenmiş nisin, çözünmeyen glukon sentezini inhibe ederek tipik *Streptococcus mutans* bakterilerini inhibe etme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, lipozom teknolojisi ile kapsüllenmiş nisin glukon sentezinin inhibe edici etkisinin uzun süre korunmasına yardımcı olmaktadır⁽⁵⁰⁾.

Antibiyofilm terapötiklerinin gelişimi, genellikle çekirdek algılama, yapışma inhibisyonu, dağılım artışı veya bakteriyofaj bazlı tedavilere odaklanmıştır⁽⁵¹⁾. Ancak, günümüzde bakteriyosinler de biyofilm ile ilişkili direnci azaltmak için bir başka potansiyel strateji olarak antibiyofilm faaliyetlerini geliştirebilen ve direncin ortaya çıkmasını önlemeye veya geciktirmeye yardımcı olabilen antimikrobiyal ajanlar olarak kabul edilmektedir. Terapötik kullanımda sinerjik etkileri de gösterilmiştir. 2016 yılında yapılan bir çalışmada, biyofilm üzerine nisin, tek başına ve antibiyotiklerle birlikte kombine etkileri incelenmiştir. Field ve ark.⁽⁵²⁾ yaptığı bu çalışmada, nisin *Staphylococcus* sp. biyofilmlerine karşı tek başına ve antibiyotiklerle birlikte etkilerini incelemiştir. Çalışma, nisin ve nisin biyomühendislik türevlerinin (nisin V ve nisin I4V) geleneksel antibiyotiklerin etkinliğini

artırma potansiyelini değerlendirmeyi ve çeşitli stafilokok hedeflerinin biyofilm ilişkili hücrelerini öldürme olasılığını değerlendirmeyi amaçlamıştır. *Staphylococcus aureus* SA113, *Staphylococcus pseudintermedius* DSM21284 ve ST528 (MRSA) biyofilmlerine karşı penisilin, kloramfenikol, eritromisin ve nisin kombinasyonlarının etkinliği önemli sonuçlar açığa çıkarmıştır. Veriler, *S. pseudintermedius* biyofilmlerine karşı en etkili sonucun nisin ve kloramfenikolün sinerjik etkisinden kaynaklandığını öne sürerken *S. aureus* suşları üzerinde penisilin ve nisin kullanımı ile oluşan sinerjik etkinin etkili sonuçlarını ortaya çıkarmaktadır. Sonuçlar, nisin ve antibiyotik kombinasyonlarının önemli bir iyileşmeyi temsil ederek antibiyofilm ajanları olarak kullanımları açısından daha fazla araştırmayı gerektirdiğini göstermektedir. Aynı zamanda nisin ve antibiyotik kombinasyonu olarak uygulanan bu şekildeki biyofilm tedavileri ile bireysel antimikrobiallerin dozunun azaltılmasına izin verilerek bakterilerde ilaç direncinin gelişmesine karşı koyabileceği en önemli odak noktası olarak karşımıza çıkmaktadır⁽⁵²⁾.

Dental plak, çok türlü biyofilm topluluğunun bir kompleksidir. Bu biyofilmler ek patojenik özellikler geliştirmek için hızla oluşup olgunlaşabildiği için , yerleşik biyofilmlerin oluşumunu engelleyen ve dağıtan antibiyofilm ajanları ağız hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde önemlidir. ⁽⁵³⁾. Bu konuda Shin ve ark.⁽⁵⁴⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, nisin, insan ağız boşluğundaki çeşitli bakteriler ve tükürükten türetilmiş çok türlü oral biyofilmler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmada; *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, *S. mutans*, *Treponema denticola* ve *Prophyromonas gingivalis* gibi pek çok biyofilm etkeni oral mikroorganizma ile çalışılmıştır. Bu çeşitlilik nisin, hem Gram pozitif hem de Gram negatif hastalıkla ilişkili oral bakterilerin büyümesini inhibe edebileceğini göstermektedir. Yapılan incelemeler sonucunda, nisin, insan oral hücrelerinde sitotoksik etkilere neden olmadan tükürükten türetilen çok türlü biyofilmlere karşı antibiyofilm etkileri kanıtlanmıştır⁽⁵⁴⁾. Yapılan çalışmalar, klinik biyomateryaller olan intravenöz kateterler veya diş sağlığında önemli bir yeri olan implantlar üzerinde oluşan biyofilmlere yönelik umut verici

tedavi düşüncesini oluşturmaktadır⁽⁵⁵⁾. Geçmişten günümüze bakteriyosinlerin antibiyofilim etkilerini tespit eden bazı öncül çalışmalar aşağıda yer alan Tablo 4'te sıralanmıştır^(51,52,56-58).

Veteriner sağlık üzerine etkileri: Veterinerlik alanında yapılan çalışmalara bakıldığında, hayvan beslenmesi veya hastalık tedavisi ile ilişkilendirilen bakteriyosin araştırmalarda etkili sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Örnek olarak, hayvan beslemede 2006 yılına kadar, karma yemlerde kullanılan antibiyotikler, çiftlik hayvanlarının beslenmesinde en çok kullanılan katkı maddesi olmuştur. Ancak patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere geliştirdikleri direnç ile yemlerde antibiyotiklerin kullanımının yasaklanması başta AB ülkeleri olmak üzere sonrasında ise ülkemizde de paralel kararların alınmasıyla devam etmiştir⁽⁵⁹⁾. Bu bağlamda, çalışmalar bakteriyosinleri alternatif doğal ve güvenilir ajanlar olarak bize sunmaktadır. Aynı zamanda hayvan sağlığı ile olumlu sonuçlanan çalışmalar vardır. Süt hayvanlarının meme çevresinde gelişen yangısal reaksiyon olarak da tanımlanan mastitis; tüm dünyada süt sığırları işletmeleri için önemli bir sorun olmakla birlikte, milyonlarca dolar zarara

neden olmaktadır⁽⁶⁰⁾. Bakteriyosinler veteriner sağlık alanında yapılan çalışmalarda, süt hayvanlarında yaygın görülen mastitis enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisi için geleneksel antibiyotiklere bir alternatif olarak önerilmiş ve etkili sonuçlar elde edilmiştir⁽²³⁾. Süt hayvanları genellikle *S. aureus*, *Streptococcus uberis* ve *Streptococcus dysgalactiae* bakterilerinin neden olduğu meme içi bir bakteri enfeksiyonu olan mastitten muzdariptir. Bu bağlamda, bakteriyosinlerle tedavilere yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında etkili sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Bir grup araştırmacı tarafından, süt keçilerinde mastitis ile ilişkili antibiyotiğe dirençli bakterileri kontrol etmek için *B. thuringiensis* suşlarından elde edilen bakteriyosinlerinin potansiyel kullanımı test edilmiştir. Morricin 269, Kurstacin 287, Kenyacin 404, Entomocin 420 ve Tolworthcin 524 olarak adlandırılan bu bakteriyosinlerin patojen mikroorganizmaların yüzde altmışını inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Süt hayvanlarında çoklu ilaç direnci gösteren patojen izolatlarını inhibe etmeleriyle bakteriyosinler bu kapsamda da umut verici ajanlar olarak değerlendirilmektedir⁽⁶¹⁾. Geçmişten günümüze bakteriyosinlerin veteriner sağlık alanında kullanımını destekleyen bazı öncül çalışmalar aşağıdaki Tablo 5'te sıralanmıştır^(61,62).

Tablo 4. Bakteriyosinlerin antibiyofilim etkilerinin gösterildiği bazı çalışmalar

Bakteriyosin	Üretici Suş	Sinerjik Etki	Antibiyofilim Etki	Kaynak
Nisin	<i>Lactococcus lactis</i>	Daptomisin, Siprofloksasin	MRSA	51
NisinV, Nisin14V	<i>Lactococcus lactis</i>	Penisilin kloramfenikol	<i>Staphylococcus aureus</i> SA113, <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> DSM21284 ve ST528 (MRSA)	52
Enterodin AS-48,	<i>Enterococcus faecalis</i>	Triklosan, benzalkonyum klorid	MRSA	56
Enterodin B3A-B3B	<i>Enterococcus faecalis</i>	Nisin	<i>Listeria monocytogenes</i>	57
Nisin A	<i>Lactococcus lactis</i>	-	MRSA	58

Tablo 5. Bakteriyosinlerin veteriner sağlık alanında yapılan bazı çalışmalar

Bakteriyosin	Üretici Suş	Antimikrobiyal etki	Kaynak
Morricin 269, Kurstacin 287, Kenyacin 404, Entomocin 420, Tolworthcin 524	<i>Bacillus thuringiensis subsp. morrisoni</i> (LBIT 269), <i>Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki</i> (LBIT 287), <i>Bacillus thuringiensis subsp. kenyae</i> (LBIT 404), <i>Bacillus thuringiensis subsp. entomocidus</i> (LBIT 420), <i>Bacillus thuringiensis subsp. tolworthi</i> (LBIT 524)	Mastitis ile ilişkili bazı bakteriler (<i>Staphylococcus chromogenes</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Brevibacillus sp.</i> , <i>Pantoea sp.</i> , <i>Pantoea brenneri</i>)	61
Bakteriyosin LFB112	<i>Bacillus subtilis</i> LFB112	Evci hayvan hastalıklarında etkili bazı patojenler (<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella Enteritidis</i> , <i>Salmonella pullorum</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>)	62

Bakteriyosinlerin sağlık alanında diğer kullanımları

Bakteriyosinlerin sağlık alanında kullanımları özellikle antimikrobiyal özellikleri dikkate alınarak değerlendirilmektedir. Antiviral, antibiyofilm ve veteriner sağlık alanlarında kullanımları yine antimikrobiyal özellikleri doğrultusunda da düşünülebilmektedir. Ancak, bu incelemede, spesifik olmaları nedeniyle ayrı başlıklar altında değerlendirilmiştir. Ancak bu başlıklar altında değerlendirilemeyen bakteriyosinlerin bazı antimikrobiyal özelliklerine dair çalışmalara burada yer verilmiştir. *Mycobacterium tuberculosis* bakterisi, solunum yollarından vücuda girerek özellikle akciğerlerde yaygın iltihap gelişmesine neden olan tüberküloz, halk arasında verem hastalığı olarak da bilinen bulaşıcı bir enfeksiyon hastalığına neden olmaktadır. Çoklu ilaca dirençli *M. tuberculosis* suşlarının artan insidansı ve tedavi için mevcut olan çok az sayıda ilaç, bu hastalığın kontrolüne yardımcı olabilecek yeni moleküllerin keşfini ve geliştirilmesini teşvik etmektedir. Clara Aguilar Pérez ve ark.⁽⁶³⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, *M. tuberculosis* bakterisine karşı bakteriyosin AS-48 ve ethambutol arasındaki sinerjiyi incelemiştir. Bacteriocin AS-48, *Enterococcus faecalis* tarafından üretilen bir bakteriyosindir. AS-48'in etambutol ile kombinasyonu AS-48'in antitüberküloz etkisini artırarak sinerjik bir etkileşim göstermiştir. Sonuçlar daha ileri çalışmalarla, bakteriyosinlerin antitüberküloz tedavisi için potansiyel bir ek ilaç olarak geliştirebileceğini öngörmektedir.

Bakteriosin AS-48 üzerinde yapılan farklı bir çalışma yine bu bakteriyosinin antimikrobiyal etkisini kanıtlar niteliktedir. Martin-Escolano ve ark.⁽⁶⁴⁾ yaptığı bir çalışmada, Chagas hastalığına karşı bakteriyosin AS-48'i umut verici alternatif bir terapötik ajan olarak sunmaktadır. Tek hücreli parazit (protozoa) *Trypanosoma cruzi*'nin neden olduğu Chagas hastalığı, Latin Amerika'da dünya çapında yaklaşık 8 milyon olguyu etkileyen önemli bir halk sağlığı sorununu temsil etmektedir. Çalışma sonuçlarında, AS-48'in *T. cruzi*'ye karşı etki mekanizması, bir ROS üretimi ve mitokondriyal membran depolarizasyonu yoluyla mitokondriye bağımlı olduğu ve hızlı şiddetli bir biyoenerjetik çöküşe neden olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada, metisiline dirençli *S. aureus* suşları üzerinde etkili sonuçlar veren nisin-kloramfenikol kombinasyonu veya durancin ve reuterin kombinasyonunun antibiyotik dirençli suşlar üzerine verdiği oldukça etkili sonuçlar, tekli (bireysel) kullanımlarının yanında sinerjik etkileriyle de bakteriyosinleri klinik olarak umut verici ajanlar yapmaktadır^(65,66). Dolayısıyla bu gibi patojen inhibisyonuna neden olan bakteriyosinlerin sağlık alanında tekli ya da mevcut ilaçlar ile kombine olarak kullanımının pozitif sonuçlar vermesi, bakteriyosinleri her geçen gün alternatif tedavi araçları olarak karşımıza çıkarmaya devam etmektedir. Tüm bu etkilerinin yanında nisin doğum kontrol etkinliğine sahip olduğu da öne sürülen yaklaşımlardan biridir. Doza ve zamana bağlı olarak sperm hareketliliğini engellediği görülmüş olup, nisin doğum kontrol ajanı olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir⁽⁶⁷⁾.

SONUÇ

Mevcut antibiyotiklere dirençli patojenlerin dramatik bir şekilde artışı, artan salgın hastalıklar, üstesinden gelinemeyen nozokomiyal enfeksiyonlar gibi birçok alanda patojenlerle mücadele için alternatif stratejilere gereksinim duyulmaktadır. Bu bağlamda yapılan çalışmalar bakteriyosinlerin patojenlerle mücadelede alternatif bir strateji olabileceğini gösterilmektedir. Bakteriyosinler sağlık alanında antikanser, antiviral, antibiyofilm ve antimikrobiyal etkileri kanıtlanmış olan önemli bakteriyal kaynaklı peptitlerdir. Patojen inhibisyonunu sağlarken kolaylıkla degrades olabilir yapıları, sitotoksitelerinin düşük ya da hiç olmadığı, dolayısıyla canlıya ve çevreye zararsız oluşları bakteriyosinleri daha da önemli hâle getirmektedir⁽⁶⁸⁾. Sağlık alanında patojen mücadelesinde yalnızca bakteriyosinlerin kullanımı ya da mevcut ilaçlar ile bakteriyosinlerin kombinasyonu ile terapötik kullanımı önemli başarılı sonuçları beraberinde getirdiği birçok çalışma ile gösterilmektedir⁽⁶⁶⁾. Özellikle bakteriyosin ve antimikrobiyal (antibiyotik gibi) kombinasyonlar, patojenlerin direnç gelişme olasılığını azaltmak açısından önemli bir değere sahip olabileceği birçok çalışmada gösterilmiştir. Günümüzde laktik asit bakterilerinin bakteriyosinleri, özellikle nisin, çalışmalarda odak noktası hâline gelmiş olsa da, *Bacillus* sp., *E. coli*, *K. pneumoniae* gibi diğer üretici

bakterilerin bakteriyosinleri de sağlıklarında oldukça önemli sonuçlar vermekte ve bu alanda çalışmalar hızla sürdürülmektedir. Sonuç olarak, farklı üretici bakteriler tarafından üretilen her bakteriyosinin keşfedilmeyi bekleyen önemli özellikleri olduğu apaçıktır. Bu bağlamda, bakteriyosinler ile yapılacak her çalışmanın, patojenler ile yapılacak yeni stratejilerin gelişmesinde kilit rol üstlenebileceği öngörülmektedir.

Ancak, belirtmek gerekir ki, bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç mekanizmalarına benzer şekilde bakteriyosinlere karşı da direnç geliştirebileceği göz ardı edilmemelidir. Bakteriyosinlerin gıda alanında rutin olarak kullanılması nedeniyle bu alanda ciddi bakteriyosin dirençlilikleri görülmektedir. Bakteriyosin direnci, duyarlı hücre membranında meydana gelen fizyolojik değişim sonucu ya da bazı bakterilerin mutasyonlar sonrasında gıda koruyucu bakteriyosin olan nisin parçalayan nisinaz enzimi üretmesinden kaynaklandığı belirtilmektedir⁽⁶⁹⁾. Yapılan çalışmalar, nisinin yanı sıra lizostafin, laktikin 3147 ve pediosin benzeri bakteriyosinlere karşı da bakteriyal direnç oluşumunu göstermektedir⁽⁷⁰⁾. Ancak, belirtmek gerekir ki, direnç oluşsa bile birçok bakterinin belirli bir bakteriyosin seviyesine duyarlı kaldığı görülmektedir. Bilinen diğer terapötik bileşiklerin aksine, lantibiyotikler gibi bazı bakteriyosinlerin ikili bir etki mekanizmasına sahip olduğu bilinmektedir ve bu durum dirençli suşların seçilme olasılığını azaltmaktadır. Bununla birlikte, bakteriyosinlerin klinik olarak etkinlik kaybı söz konusu olabileceği göz ardı edilmeden kontrollü kullanım gerekmektedir⁽⁷¹⁾.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

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

KAYNAKLAR

1. Michael CA, Dominey Howes D, Labbate M. The antimicrobial resistance crisis: causes, consequences, and management. *Front Public Health*. 2014;2:145. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00145>
2. Holmes AH, Moore LS, Sundsfjord A, et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet*. 2016;387(10014):176-87. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00473-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00473-0)
3. Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Characteristic of bacteriocins and their application. *Pol J Microbiol*. 2013;62(3):223-35.
4. İpçak HH, Özütmen S, Özelçam H, Ünlü HB. Hayvan beslemede antibiyotiklere alternatif olarak organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin kullanımı. *Hayvansal Üretim*. 2017;58(1):57-65.
5. Cleveland J, Montville TJ, Nes IF, Chikindas ML. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int J Food Microbiol*. 2001;71(1):1-20. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00560-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00560-8)
6. Gülgör G, Özçelik F. Bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin probiyotik amaçlı kullanımı. *Akademik Gıda*. 2014;12(1):63-8.
7. Zacharof MP, Lovitt RW. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria a review article. *APCBEE Procedia*. 2012;2:50-6. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.010>
8. Drider D, Fimland G, Héchard Y, McMullen LM, Prévost H. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2006;70(2):564-82. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-05>
9. Nishie M, Nagao J, Sonomoto K. Antibacterial peptides "bacteriocins": an overview of their diverse characteristics and applications. *Biocontrol Sci*. 2012;17(1):1-16. <https://doi.org/10.4265/bio.17.1>
10. Zimina M, Babich O, Prosekov A, et al. Overview of global trends in classification, methods of preparation and application of bacteriocins. *Antibiotics*. 2020;9(9):553. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090553>
11. Kurt Ş, Zorba Ö. Bakteriyosinler ve gıdalarda kullanım olanakları. *YYU Vet Fak Derg*. 2005;16(1):77-83.
12. Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocins a viable alternative to antibiotics? *Nat Rev Microbiol*. 2013;11(2):95-105. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2937>
13. Héchard Y, Sahl HG. Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram-positive bacteria. *Biochimie*. 2002;84(5-6):545-57. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)01417-7](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)01417-7)
14. Brötz H, Bierbaum G, Leopold K, Reynolds PE, Sahl HG. The lantibiotic mersacidin inhibits peptidoglycan synthesis by targeting lipid II. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42(1):154-60. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.1.154>

15. Brötz H, Bierbaum G, Reynolds PE, Sahl HG. The lantibiotic mersacidin inhibits peptidoglycan biosynthesis at the level of transglycosylation. *Eur J Biochem.* 1997;246(1):193-9.
<https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.t01-1-00193.x>
16. Van Kraaij C, Breukink E, Noordermeer MA, et al. Pore formation by nisin involves translocation of its C-terminal part across the membrane. *Biochem.* 1998;37(46):16033-40.
<https://doi.org/10.1021/bi980931b>
17. Uymaz B, Sanlıbaba P. Gıdalardaki biyokoruyucu: Nisin (E234). *TURJAF.* 2015;3(12):908-15.
<https://doi.org/10.24925/turjaf.v3i12.908-915.459>
18. Todorov SD. Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* production, genetic organization and mode of action: produção, organização genética e modo de ação. *Braz J Microbiol.* 2009;40(2):209-21.
<https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000200001>
19. Soltani S, Hammami R, Cotter PD, et al. Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. *FEMS Microbiol Rev.* 2021;45(1):1-24.
<https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa039>
20. Zhang J, Zhong J. The journey of nisin development in China, a natural-green food preservative. *Protein Cell.* 2015;6(10):709-11.
<https://doi.org/10.1007/s13238-015-0214-9>
21. Gray EJ, Smith DL. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol Biochem.* 2005;37(3):395-412.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.030>
22. Nazari M, Smith DL. A PGPR-produced bacteriocin for sustainable agriculture: a review of Thuricin 17 characteristics and applications. *Front Plant Sci.* 2020;11:916.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00916>
23. Nascimento J, Fagundes PC, Brito MAVDP, Dos Santos, KRN, Bastos MDCDF. Production of bacteriocins by coagulase-negative staphylococci involved in bovine mastitis. *Vet Microbiol.* 2005;106(1-2):61-71.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.10.014>
24. Baidara P, Korpole S, Grover V. Bacteriocins: perspective for the development of novel anticancer drugs. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018;102(24):10393-408.
<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9420-8>
25. Riedl S, Rinner B, Asslaber M, et al. In search of a novel target phosphatidylserine exposed by non-apoptotic tumor cells and metastases of malignancies with poor treatment efficacy. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1808(11):2638-45.
<https://doi.org/10.1016/j.bbame.2011.07.026>
26. Kaur S, Kaur S. Bacteriocins as potential anticancer agents. *Front Pharmacol.* 2015;6:272.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00272>
27. Ahmadi S, Ghollasi M, Hosseini HM. The apoptotic impact of nisin as a potent bacteriocin on the colon cancer cells. *Microb Pathog.* 2017;111:193-7.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.037>
28. Baidara P, Gautam, A, Raghava G. et al. Anticancer properties of a defensin like class IId bacteriocin Laterosporulin 10. *Sci Rep.* 2017;7:46541
<https://doi.org/10.1038/srep46541>
29. Al Madboly LA, El-Deeb NM, Kabbash A, Nael MA, Kenawy AM, Ragab AE. Purification, characterization, identification, and anticancer activity of a circular bacteriocin from *Enterococcus thailandicus*. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:450.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00450>
30. Nonzee NJ, Dandade NA, Patel U, et al. Evaluating the supportive care costs of severe radiochemotherapy-induced mucositis and pharyngitis: results from a Northwestern University Costs of Cancer Program pilot study with head and neck and nonsmall cell lung cancer patients who received care at a county hospital, a veterans administration hospital, or a comprehensive cancer care center. *Cancer.* 2008;113(6):1446-52.
<https://doi.org/10.1002/cncr.23714>
31. Kamarajan P, Hayami T, Matte B, et al. Nisin ZP, a bacteriocin and food preservative, inhibits head and neck cancer tumorigenesis and prolongs survival. *PLoS One.* 2015;10(7):e0131008.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131008>
32. Preet S, Bharati S, Panjeta A, Tewari R, Rishi P. Effect of nisin and doxorubicin on DMBA-induced skin carcinogenesis a possible adjunct therapy. *Tumour Biol.* 2015;36(11):8301-8.
<https://doi.org/10.1007/s13277-015-3571-3>
33. Chumchalová J, Smarda J. Human tumor cells are selectively inhibited by colicins. *Folia Microbiol.* 2003;48(1):111-5.
<https://doi.org/10.1007/BF02931286>
34. Kumar B, Balgir PP, Kaur B, Mittu B, Chauhan A. In vitro cytotoxicity of native and rec-pediocin cp2 against cancer cell lines: a comparative study. *Pharm Anal Acta.* 2012;3:1-4.
<https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000183>

35. Joo NE, Ritchie K, Kamarajan P, Miao D, Kapila YL. Nisin, an apoptogenic bacteriocin and food preservative, attenuates HNSCC tumorigenesis via CHAC1. *Cancer Med.* 2012;1:295-305.
<https://doi.org/10.1002/cam4.35>
36. Norouzi Z, Salimi A, Halabian R, Fahimi H. Nisin, a potent bacteriocin and anti-bacterial peptide, attenuates expression of metastatic genes in colorectal cancer cell lines. *Microb Pathog.* 2018;123:183-9.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.07.006>
37. Fуска J, Fusková A, Smarda J, Mach J. Effect of colicin E3 on leukemia cells P388 in vitro. *Experientia.* 1979;35(3):406-7.
<https://doi.org/10.1007/BF01964380>
38. Yaghoubi A, Khazaei M, Avan A, Hasanian SM, Soleimanpour S. The bacterial instrument as a promising therapy for colon cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2020;35(4):595-606.
<https://doi.org/10.1007/s00384-020-03535-9>
39. Hetz C, Bono MR, Barros LF, Lagos R. Microcin E492, a channel-forming bacteriocin from *Klebsiella pneumoniae*, induces apoptosis in some human cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(5):2696-701.
<https://doi.org/10.1073/pnas.052709699>
40. Minor PD. An introduction to poliovirus: pathogenesis, vaccination, and the endgame for global eradication. *Methods Mol Biol.* 2016;1387:1-10.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3292-4_1
41. Cavicchioli VQ, Carvalho OV, Paiva JC, Todorov SD, Silva Júnior A, Nero LA. Inhibition of herpes simplex virus 1 (HSV-1) and poliovirus (PV-1) by bacteriocins from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Enterococcus durans* strains isolated from goat milk. *Int J Antimicrob Agents.* 2018;51(1):33-7.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.04.020>
42. Ermolenko EI, Furaeva VA, Isakov VA, Ermolenko DK, Suvorov AN. Inhibition of herpes simplex virus type 1 reproduction by probiotic bacteria in vitro. *Vopr Virusol.* 2010;55(4):25-8.
43. Ermolenko EI, Desheva YA, Kolobov AA, Kotyleva MP, Sychev IA, Suvorov AN. Anti influenza activity of Enterocin B in vitro and protective effect of bacteriocinogenic enterococcal probiotic strain on influenza infection in mouse model. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2019;11(2):705-12.
<https://doi.org/10.1007/s12602-018-9457-0>
44. Lanyon SR, Reichel MP. Understanding the impact and control of bovine viral diarrhoea in cattle populations. *Springer Sci Rev.* 2013;1:85-93.
<https://doi.org/10.1007/s40362-013-0007-6>
45. Małaczewska J, Kaczorek-Łukowska E, Wójcik R, Siwicki AK. Antiviral effects of nisin, lysozyme, lactoferrin and their mixtures against bovine viral diarrhoea virus. *BMC Vet Res.* 2019;5;15(1):318.
<https://doi.org/10.1186/s12917-019-2067-6>
46. Wachsman MB, Castilla V, de Ruiz Holgado AP, de Torres RA, Sesma F, Coto CE. Enterocin CRL35 inhibits late stages of HSV-1 and HSV-2 replication in vitro. *Antiviral Res.* 2003;58(1):17-24.
[https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00099-2](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00099-2)
47. Férrir G, Petrova MI, Andrei G, et al, The lantibiotic peptide labyrinthopeptin A1 demonstrates broad anti-HIV and anti-HSV activity with potential for microbicidal applications. *PLoS One.* 2013;28;8(5):e64010.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064010>
48. Temel A, Eraç B. Bakteriyel biyofilmler: Saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2018;48(1):1-13.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2018.001>
49. Li YH, Tang N, Aspiras MB, et al. A quorum-sensing signaling system essential for genetic competence in *Streptococcus mutans* is involved in biofilm formation. *J Bacteriol.* 2002;184(10):2699-708.
<https://doi.org/10.1128/JB.184.10.2699-2708.2002>
50. Yamakami K, Tsumori H, Sakurai Y, Shimizu Y, Nagatoshi K, Sonomoto K. Sustainable inhibition efficacy of liposome-encapsulated nisin on insoluble glucan-biofilm synthesis by *Streptococcus mutans*. *Pharm Biol.* 2013;51(2):267-70.
<https://doi.org/10.3109/13880209.2012.717227>
51. Dosler S, Mataraci E. In vitro pharmacokinetics of antimicrobial cationic peptides alone and in combination with antibiotics against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Peptides.* 2013;49:53-8.
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.08.008>
52. Field D, O' Connor R, Cotter PD, Ross RP, Hill C. In vitro activities of nisin and nisin derivatives alone and in combination with antibiotics against *Staphylococcus* biofilms. *Front Microbiol.* 2016;7:508.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00508>
53. Marsh PD. Controlling the oral biofilm with antimicrobials. *J Dent.* 2010;38(1):11-5.
[https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(10\)70005-1](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(10)70005-1)
54. Shin JM, Ateia I, Paulus JR, et al. Antimicrobial nisin acts against saliva derived multi-species biofilms without cytotoxicity to human oral cells. *Front Microbiol.* 2015;6:617.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00617>
55. Costerton JW. Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents.* 1999;11(3-4):217-39.
[https://doi.org/10.1016/s0924-8579\(99\)00018-7](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(99)00018-7)

56. Caballero Gómez N, Abriouel H, Grande MJ, Pérez Pulido R, Gálvez A. Combined treatments of enterocin AS-48 with biocides to improve the inactivation of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* planktonic and sessile cells. *Int J Food Microbiol.* 2013;163(2-3):96-100. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.018>
57. Al-Seraihi A, Belguesmia Y, Baah J, Szunerits S, Boukherroub R, Drider D. Enterocin B3A-B3B produced by LAB collected from infant faeces: potential utilization in the food industry for *Listeria monocytogenes* biofilm management. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2017;110(2):205-19. <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0791-5>
58. Okuda K, Zendo T, Sugimoto S, et al. Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(11):5572-79. <https://doi.org/10.1128/AAC.00888-13>
59. İpçak H, Özüretmen S, Özelçam H, Ünlü H. Hayvan beslemede antibiyotiklere alternatif olarak organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin kullanımı. *Hayvansal Üretim.* 2017;58(1):57-65.
60. Alpay G, Yeşilbağ K. Mastitis olgularında virusların rolü. *Uludağ Üniv Vet Fak Derg.* 2009;28(1):39-46.
61. Gutiérrez Chávez AJ, Martínez Ortega EA, Valencia Posadas M, et al. Potential use of *Bacillus thuringiensis* bacteriocins to control antibiotic-resistant bacteria associated with mastitis in dairy goats. *Folia Microbiol.* 2016;61(1):11-9. <https://doi.org/10.1007/s12223-015-0404-0>
62. Xie J, Zhang R, Shang C, Guo Y. Isolation and characterization of a bacteriocin produced by an isolated *Bacillus subtilis* LFB112 that exhibits antimicrobial activity against domestic animal pathogens. *Afr J Biotechnol.* 2009;8. <https://doi.org/10.4314/AJB.V8I20.66016>
63. Aguilar-Pérez C, Gracia B, Rodrigues L, et al. Synergy between circular bacteriocin as-48 and ethambutol against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;27;62(9):e00359-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.00359-18>
64. Martín-Escolano R, Cebrián R, Martín-Escolano J, et al. Insights into chagas treatment based on the potential of bacteriocin AS-48. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2019;10:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2019.03.003>
65. Brumfitt W, Salton MR, Hamilton-Miller JM. Nisin, alone and combined with peptidoglycan-modulating antibiotics: activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci. *J Antimicrob Chemother.* 2002;50(5):731-4. <https://doi.org/10.1093/jac/dkf190>
66. Hanchi H, Hammami R, Gingras H, et al. Inhibition of MRSA and of *Clostridium difficile* by durancin 61A: synergy with bacteriocins and antibiotics. *Future Microbiol.* 2017;12:205-12. <https://doi.org/10.2217/fmb-2016-0113>
67. Aranha C, Gupta S, Reddy KV. Contraceptive efficacy of antimicrobial peptide Nisin: *in vitro* and *in vivo* studies. *Contraception.* 2004;69(4):333-8. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2003.11.002>
68. Dicks LMT, Dreyer L, Smith C, van Staden AD. A Review: The fate of bacteriocins in the human gastro-intestinal tract: Do they cross the gut-blood barrier? *Front. Microbiol.* 2018; 9:2297. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02297>
69. Cleveland J, Montville TJ, Nes IF, Chikindas ML. Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int J Food Microbiol.* 2001;71:1-20. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00560-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00560-8)
70. Bastos Mdo C, Coelho ML, Santos OC. Resistance to bacteriocins produced by Gram-positive bacteria. *Microbiol.* 2015;161:683-700. <https://doi.org/10.1099/mic.0.082289-0>
71. Gradisteanu Pircalabioru G, Popa LI, Marutescu L, Gheorghe I, Popa M, Czobor Barbu I, Cristescu R, Chifiriuc MC. Bacteriocins in the era of antibiotic resistance: Rising to the challenge. *Pharmaceutics.* 2021;13(2):196. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020196>

Doğu Anadolu Bölgesinde Sağlık Hizmeti ile İlişkili Enfeksiyonlara Neden Olan Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Klonal İlişkileri ve Antibiyotik Direnç Profilleri

Clonal Relationships and Antibiotic Resistance Profiles of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Associated with Healthcare-Related Infections in Eastern Anatolia Region, Turkey

Ayşe Karacalı Tunç^{*✉}, Togrul Nagiyev^{**✉}, Tülay Kandemir^{***✉}, Melda Meral Öcal^{****✉}, Fatih Köksal^{****✉}

* Iğdır Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Iğdır, Türkiye

** Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Adana, Türkiye

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

Atf/Cite as: Karacalı Tunç A, Nagiyev T, Kandemir T, Meral Öcal M, Köksal F. Doğu Anadolu bölgesinde sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlara neden olan karbapenem dirençli *acinetobacter baumannii* suşlarının klonal ilişkileri ve antibiyotik direnç profilleri. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):158-167.

ÖZ

Amaç: Sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlara neden olan karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarının hızlı yayılması, tedavide başarısızlıklara yol açmaktadır. Çalışmamızda, Van, Iğdır, Ağrı, Kars ve Ardahan gibi Türkiye'nin doğu illerinde karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşları arasındaki genotipik ilişkileri ve salgın riskinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızla Türkiye'nin doğu sınır illerinin enfeksiyon sürveyansına önemli katkı sağlamayı amaçladık.

Yöntem: Konvansiyonel kültür yöntemleriyle fenotipik olarak tanımlanmış 84 karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşu, *bla*_{OXA-51-like} gen bölgesi de PCR yöntemiyle tespit edilerek doğrulanmış ve antibiyotik duyarlılıkları sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. İzolatlar arasındaki filogenetik ilişki Apal-PFGE yöntemi ile yapılmıştır. PFGE bant profilleri, %80 ve üzeri benzerlik oranına dayalı olarak Gel COMPARE-II yazılım sistemi kullanılarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Karbapenem dirençli 84 *Acinetobacter baumannii* izolatlarının 22 tanesi sekiz farklı pulstotipe %100 klonal ilişki bulunmuş ve %100 benzer izolatların aynı illerde kendi aralarında pulstotip oluşturduğu gözlemlenmiştir. En fazla benzerliğin Van suşlarına ait olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* klonlarının ilişkisi Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesine de hâkim olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmelidir. Ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan araştırmalar ile kıyaslandığında, izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik direncinin diğer bölgelere oranla daha düşük insidans da ancak farklı hastanelerde benzer klonların görülmesinin, karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* için düşünülen "belirli dirençli klonlar bütün dünyada hastanelere ve topluma hâkim olacak" korkusunu destekler niteliktedir.

Anahtar kelimeler: A. baumannii, karbapenem direnci, klonal ilişki, pulsed-field gel electrophoresis

ABSTRACT

Objective: Huge increase of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains associated with healthcare-associated infections is a leading cause of treatment failures. In our study, we aimed to evaluate the genotypic relationships and epidemic risks of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in eastern provinces of Turkey, such as Van, Iğdır, Ağrı, Kars and Ardahan. We also aim to contribute to the surveillance of these infections in the eastern border provinces of Turkey, with our study.

Methods: A total of 84 carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains, which were previously identified according to their phenotypes by conventional culture methods were then confirmed genotypically using *bla*_{OXA-51-like} genes by PCR. Their antibiotic susceptibility profiles were determined by liquid microdilution method. The phylogenetic relationship between the isolates was assessed using the Apal-PFGE method. The PFGE band profiles were analyzed by using the Gel COMPARE-II software system based on a similarity rate of 80% and above.

Results: Twenty two of 84 carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates showed 100% clonal relationship in eight different pulstotypes. It was observed that 100% similar isolates formed a pulstotype among themselves in the same provinces, where the highest similarity was within the strains from Van province.

Conclusion: Association of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones should be considered as an indication that Turkey dominates the Eastern Anatolia Region as well. When compared to similar studies from different regions of our country, it was observed that antibiotic resistance of isolated *Acinetobacter baumannii* strains had lower incidence than other regions. However, the finding of similar clones in different hospitals supports the common fear of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains: "certain resistant clones will dominate hospitals and society all over the world".

Keywords: A. baumannii, carbapenem resistance, clonal relationship, pulsed-field gel electrophoresis

Alındığı tarih / Received:

20.03.2022 / 20.March.2022

Kabul tarihi / Accepted:

12.05.2022 / 12.May.2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

A. Karacalı Tunç 0000-0002-6453-9887

T. Nagiyev 0000-0002-5719-370X

T. Kandemir 0000-0001-9002-699X

M. Meral Öcal 0000-0002-5628-6154

F. Köksal 0000-0003-0790-1525

✉ ayse_karacali@hotmail.com

GİRİŞ

Karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* (KDAB) özellikle yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastalarda, tedavi başarısızlıklarına bağlı olarak yatış sürelerinde ve tedavi maliyetlerinde artışın yanı sıra yüksek mortalitenin nedeni hâline gelmiştir. Bu nedenle Dünya Sağlık örgütü (DSÖ) karbapenem dirençli *Escherichia coli* (KREC), karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* (KRPK) ve karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* (KDAB)'yi dikkatle izlenmesi gereken yeni tehditler grubu içerisine dâhil etmiştir⁽¹⁾. Irak ve Afganistan savaşlarında, ABD askerleri arasında görülen malign seyreden deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından sorumlu tutularak asker hastalığı olarak tanımlanan klinik patojenler olarak tanımlanan *Acinetobacter* enfeksiyonları hakkında kısa süre içerisinde çok sayıda bildirim yapılmıştır⁽²⁾. Hastanelerde tanı veya tedavi amaçlı invaziv kullanılan tıbbi ekipmanlar üzerinde oldukça uzun bir süre canlı kalabilmeleri ciddi salgınlar oluşturmalarına yardım etmiştir^(3,4). Dünya genelinde özellikle modern sağlık hizmetlerinin verildiği büyük hastanelerde sık karşılaşılan patojenler hâline gelmiştir⁽⁵⁾. Ayrıca *Acinetobacter baumannii* 1980'li yılların ikinci yarısından itibaren bütün geniş spektrumlu antibiyotiklere dirençli pandrug resistant suşlar (PDR) olarak ilgi görmeye başlamıştır⁽⁶⁾. Oluşan enfeksiyonların salgına dönüşmemesi için hızlı moleküler tiplendirme metotları ve etkin kontrol stratejileri geliştirilmektedir. En önemli strateji sürveyans sistemlerinin oluşturulması ve kontrol programlarının oluşturulmasıdır. Enfeksiyon etkeni *A. baumannii*'lerin direnç profillerinin belirlenmesi ve klonal ilişkinin tespitinde Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) yöntemi önemli yer tutmaktadır. Özellikle Doğu Anadolu bölgesinde bu anlamda ender olarak çalışmaya rastlanmaktadır. Bu veriler kapsamında, Van, Iğdır, Ağrı, Kars ve Ardahan'daki çeşitli sağlık kurumlarından alınan klinik örneklerden izole edilen KDAB suşları arasındaki klonal ilişki Apal-PFGE yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Beş merkezden topladığımız *A. baumannii*'lerin klonal ilişkilerinin belirlenmesi ülkemiz için iyi bir veri sağlayacağını düşünüyoruz. Bölgedeki KDAB klonal dağılımı için indeks bir çalışma özelliği gösterecek olup, ilk sürveyans çalışmasıdır. KDAB hastane ve

toplum kökenli enfeksiyonlarının izlenmesinde ve hâkim klonların ortaya çıkması takip edilerek uygulanan kontrol tedbirlerinin düzenlenmesi ve başarılarının takibinde rol oynayacaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (05.07.2019 tarih ve 20 Karar No.) onaylanmıştır.

Bakteri izolasyonu: Çalışmamıza 2019 Eylül-2020 Ocak tarihleri arasında Türkiye'nin doğu sınır illerinden Van, Kars, Iğdır, Ağrı ve Ardahan devlet hastanelerinden sırasıyla izole edilen 40, 24, 13, beş ve iki suş olmak üzere toplam 84 *A. baumannii* dâhil edilmiştir. Bunlar hastanelerde takip edilen hastalara ait klinik örnekler olup, hepsi çoklu ilaç dirençliydi. Konvansiyonel yöntemlerle tür düzeyinde identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş olan dirençli Gram negatif bakteri izolatları moleküler incelemelerden önce kanlı agar ve MacConkey agar besiyerlerine ekilerek bir gece 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiş⁽⁷⁾ ve ardından üretilen kolonilerin makroskopik, mikroskopik morfolojik özelliklerine, biyokimyasal aktivitelerine göre tür düzeyinde identifikasyon yapılarak doğrulanmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testleri: Tamamı karbapenem dirençli olan *A. baumannii*'leri doğrulamak amacıyla Kirby Bauer Disk Difüzyon testi ile değerlendirilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon değerlerinin belirlenmesi için ise sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri EUCAST kriterlerine göre uygulanmıştır^(8,9).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu: Suşların DNA ekstraksiyonu için saf olarak elde edilen bakteri kolonileri, ependorf tüplere paylaştırılan 1ml Luria Broth (10 g pepton, 5 g maya özütü, 5 g NaCl, 1.000 ml distile su) içerisinde 37°C'de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası ependorf tüpler 5 dk. 13.000 rpm'de santrifujlenmiştir. Üst kısım atılıp altta kalan pellete 300 µl steril su koyularak pipetaj yapılmıştır.

100°C'de 10 dk. kaynatıldıktan sonra 13.000 rpm devirde 10 dk. santrifüjlenmiştir. Üstte kalan sıvıdan 200-250 µl kalıp DNA olarak kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Elde edilen DNA ekstraktlarında *bla*_{OXA-51-benzeri} gen bölgesinin varlığı O51-GD2M primerleri, F (5'-GACCGAGTATGTACCTGCTTCGACC-3') ve R (5'-GAGGCTGAACAACCCATCCAGTTAACC-3') kullanılarak PCR ile ortaya çıkarılmıştır. PCR protokolü daha önce tarif edildiği gibi uygulanmıştır⁽¹⁰⁾.

Pulse Field Jel Elektroforezi Yöntemi: Farklı klinik örneklerden izole edilen 84 KDAB suşu arasındaki klonal ilişki *Apal* restriksiyon enzimi kullanılarak PFGE yöntemi ile Pulsenet KEPA protokolüne göre araştırılmıştır⁽¹¹⁾. Elektroforez işlemleri CHEFF-DR II cihazında (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belçika), başlangıç vuruşu 5 sn., bitiş vuruş süresi 30 sn., akım 6V, sıcaklık 14°C'de 20 saat şeklinde yapılmış ve GelCompar II yazılım programı ile DNA paternleri değerlendirilmiştir. UPGMA kullanılarak PFGE profillerinin dendogramı oluşturulup, kümeleşme analizi yapılmıştır. Bantlara bağlı "Dice" benzerlik katsayısına göre %80 ve üzeri benzerlik gösteren suşlar arasındaki ilişki belirlenmiştir. Kümeleşme analizleri büyük harflerle (A, B, C...) gösterilmiştir. Çalışmanın devamı %100 ilişkili izolatlar baz alınarak yapılmıştır (Şekil 2)⁽¹²⁾.

BULGULAR

Çalışmaya Doğu Anadolu bölgesindeki beş farklı merkezden alınan karbapenem dirençli 84 *A. baumannii* izolatı dâhil edilmiştir. Van'dan 40, Kars'tan

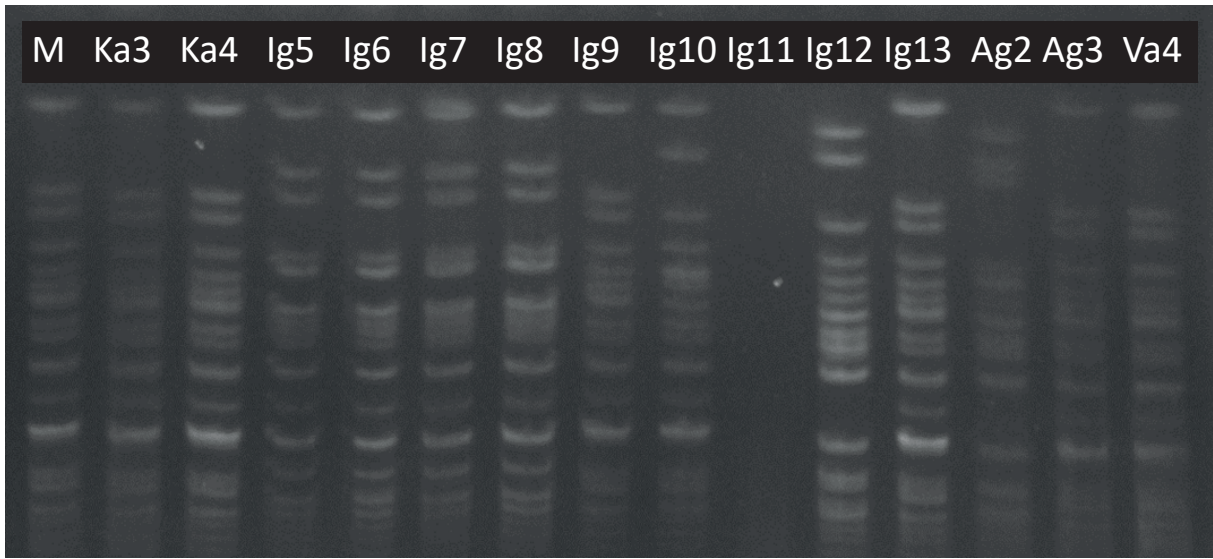
24, Iğdır'dan 13, Ağrı'dan beş ve Ardahan'dan iki izolat toplanabilmiştir. Elde ettiğimiz izolatlar konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmıştır. Tamamının karbapenem direncini doğrulamak için *bla*_{OXA-51-benzeri} gen bölgesinin varlığı PCR ile araştırılmıştır ve hepsinde tespit edilmiş ve pozitif bantlar 497 bp büyüklüğünde görülmüştür (Şekil 1).

Çalışmamızdaki *bla*_{OXA-51-benzeri} gen bölgesinin varlığı tespit edilen KDAB suşları, CHEF-DR II elektroforez sistemi kullanılarak *Apal*-PFGE yöntemi ile değerlendirilmiştir. Gel COMPARE-II yazılım sistemi ile %80 ve üzeri benzerliğe sahip bant profillerinin analizi sonucunda 10 tanesinin uniq (tek üyeli) olmak üzere A, B... ve X gibi alfabenin büyük harfleri ile tanımlanan toplam 24 küme içerisinde toplandıkları görülmüştür. Yirmi iki izolatın ise genotipik olarak aynı %100 ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2).

Birbiri ile %100 ilişkili olan 22 izolat kendi içinde sekiz pulsotipte toplanmıştır. Bu suşların iki üyeli dört pulsotipte (A1(Ag3, Va44), A5 (Ka13, Ka14), E4 (Va31, Va39), I1 (Va2, Va4)), 3 üyeli 2 pulsotipte (A12(Ka2, Ka3, Ka4), A17 (Va15, Va16, Va21)), dört üyeli iki pulsotipte (A15 (Ka15, Ka16, Ka22, Ka29), E1 (Ig5, Ig6, Ig7, Ig8)) toplandığı görülmüştür (Şekil 3). Yalnızca A1 pulsotipinde Ağrı ve Van izolatları %100 ilişkili iken diğer pulsotipler aynı ilin izolatlarından oluşmaktadır (Tablo 1). Sınır illerindeki hastalar Van ya da Erzurum sağlık kuruluşlarına sevk edilmektedir. Bu nedenle Ağrı'dan Van'a hasta sevkinden kaynaklı benzer ilişkide olduğu düşünülmektedir.



Şekil1. *bla*_{OXA-51-benzeri} gen bölgesinin PCR görüntüsü

Şekil 2. *A. baumannii* suşlarına ait PFGE profilleri

Tablo 1. PFGE profillerine göre %100 benzeyen suşlar

PFGE Küme	Pulsotip	Örnek No	Benzerlik Oranı (%)
A Kümesi	A1	Ag3-Va44	100
	A5	Ka13-Ka14	100
	A12	Ka2-Ka3-Ka4	100
	A15	Ka15-Ka16-Ka22-Ka29	100
	A17	Va15-Va16-Va21	100
E Kümesi	E1	Ig5-Ig6-Ig7-Ig8	100
	E4	Va31-Va39	100
I Kümesi	I1	Va2-Va4	100

Benzerlik ilişkisi %100 olan suşların antibiyotik direnç yüzdeleri; amikasin, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, levofloksasin, meropenem, trimetoprim/sülfametoksazol, seftazidim, piperasilin/tazobaktam için sırasıyla %54.5, %90.9, %77.2, %100, %86.3, %100, %59, %95.4 ve %90.9 olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

Benzerlik ilişkisi %100 olan 22 suş için kullanılan antibiyotikler içerisinde en düşük direnç 12 (%54.5) izolat ile amikasin karşı belirlenmişken, en yüksek direnç oranları 22 izolatın tamamında imipenem ve meropenem karşı kaydedilmiştir (Tablo 2).

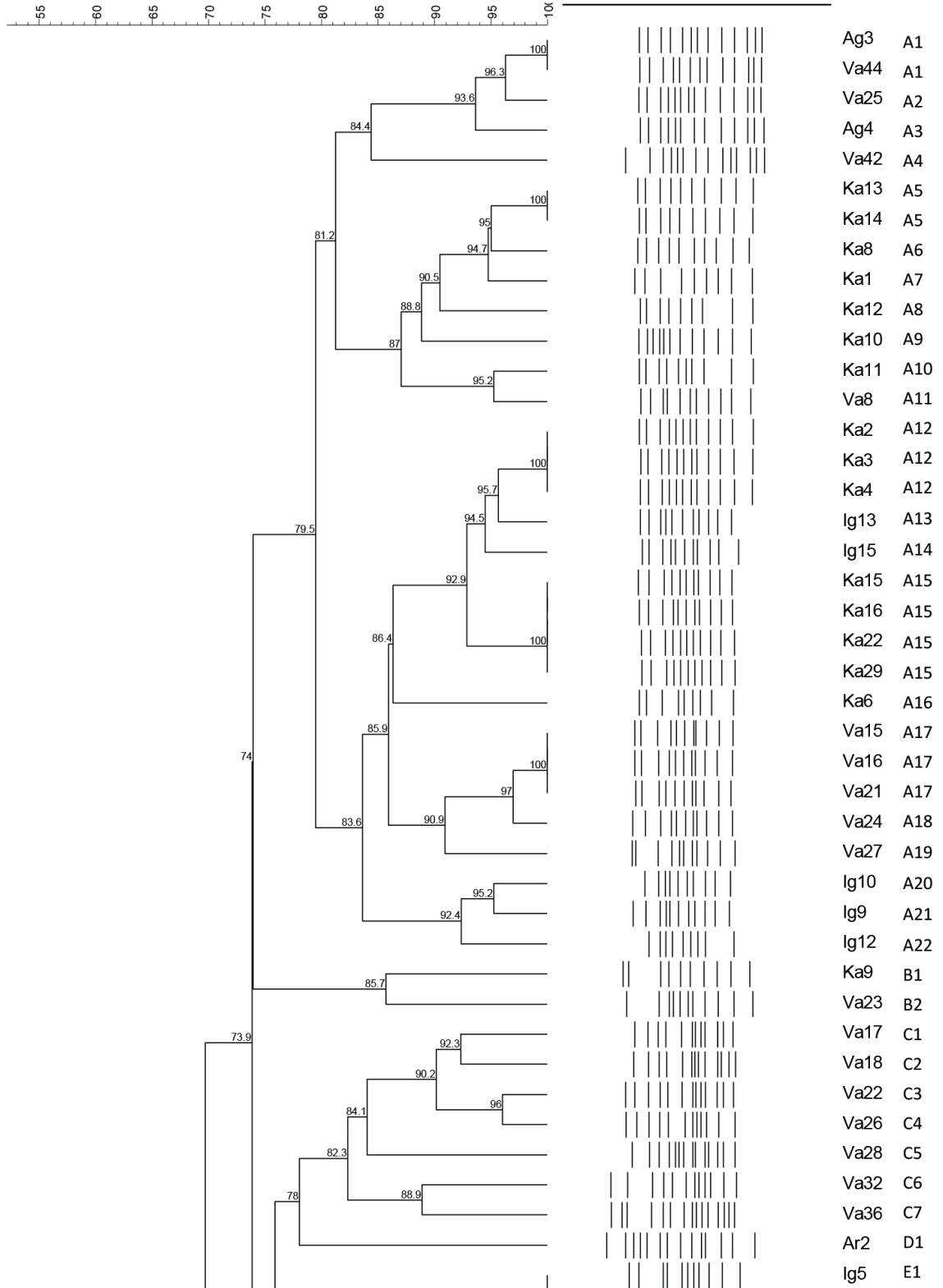
TARTIŞMA

Dünya çapında sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlardan (SHİE) en sık sorumlu olan özellikle nazokomiyal enfeksiyonların başında gelen patojen KDAB türleridir. SHİE etkenleri arasında %37.25 ile ilk sırayı *Enterobacteriaceae* ailesinin almasının yanında, *A. baumannii* tek başına %20 oranına sahiptir. Bilinen tüm direnç mekanizmaları kullanmaları ile çoklu ilaca dirençli olmaları ürkütücü bir hâl almaktadır. Son yıllarda bildirilen ölüm oranlarının %30-76 arasında olmasıyla, küresel ölümlerin başlıca nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir⁽¹³⁾. 2000'li yıllarda yapılan çalışmalarda, yoğun bakım ünitelerinde *A. baumannii* oranı %5'lerde iken, yıllar ilerledikçe oran %30'lara artmasıyla direnç oranı da aynı hızda devam etmektedir⁽¹⁴⁾. Van bölge eğitim araştırma hastanesinde, 2007-2011 yılları arasında yapılan bir çalışmada, direnç oranları perasilin-tazobaktam %96, sefepime %95, siprofloksasine %93, seftazidime %94, gentamisine %90, sefoperazon-sulbaktam %89, meropenem %72, imipenem %71, trimetoprim-sülfametoksazole %62, levofloksasine %86, tetrasikline %55, amikasin %64 olarak bildirilmektedir⁽¹⁵⁾. Çalışmamızın özellikle Van bölgesine ait izolatlarında amikasin %50; gentamisin ve trimetoprim/sülfametoksazole %75, siprofloksasin, levofloksasin ve piperasilin-tazobaktam %87.5, seftazidim, meropenem ve imipenem %100 oranında bulunmuştur.

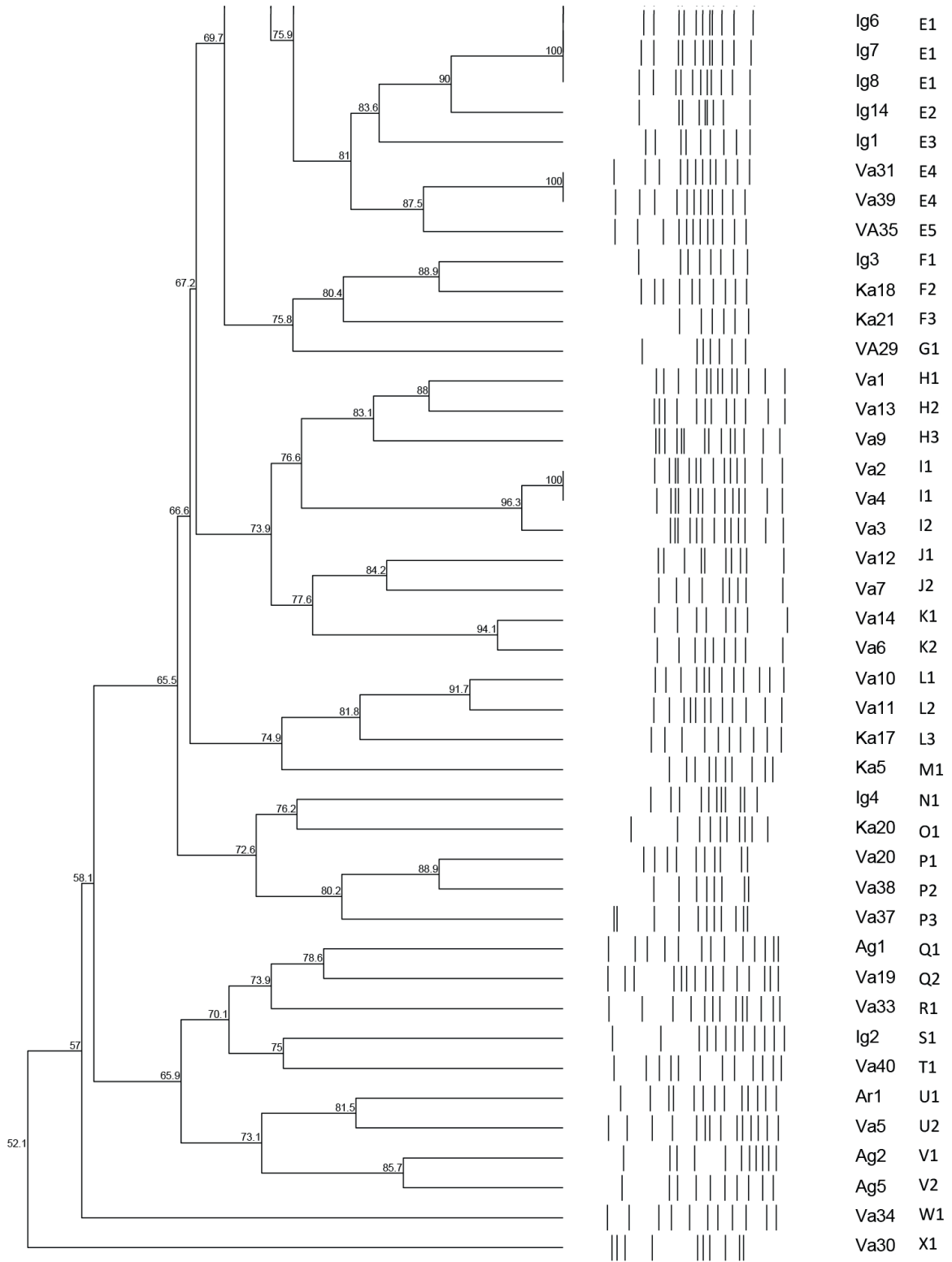
Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE

PFGE



Şekil 3. Doğu Anadolu bölgesi *A. baumannii* izolatlarının PFGE sonucunda elde edilen dendrogramı



Şekil 3. Devamı

Tablo 2. Antibiyotik direnç profilleri

Antibiyotikler	Van Devlet Hastanesi Sayı/%	Kars Devlet Hastanesi Sayı/%	Iğdır Devlet Hastanesi Sayı/%	Ağrı Devlet Hastanesi Sayı/%	Toplam Sayı/%
Amikasin	4/8 50	6/9 66.6	2/4 50	0/1 -	12/22 54.5
Siprofloksasin	7/8 87.5	9/9 100	3/4 75	1/1 100	20/22 90.9
Gentamisin	6/8 75	6/9 66.6	4/4 100	1/1 100	17/22 77.2
İmipenem	8/8 100	9/9 100	4/4 100	1/1 100	22/22 100
Levofloksasin	7/8 87.5	8/9 88.8	3/4 75	1/1 -	19/22 86.3
Meropenem	8/8 100	9/9 100	4/4 100	1/1 100	22/22 100
Trim./ sülfametoksazol	6/8 75	5/9 55.5	2/4 50	0/1 -	13/22 59
Seftazidim	8/8 100	8/9 88.8	4/4 10	1/1 100	21/22 95.4
Piperasilin/ Tazobaktam	7/8 87.5	5/6 83.3	3/4 75	1/1 100	20/22 90.9

Aynı bölgede yapılan başka bir çalışmada, direnç oranları amikasin için %19.2, imipenem için %27, siprofloksasin için %7.7, sefoperazon/sulbaktam için %30.8, tetrasiklin için %84.6, trimetoprim/sülfametoksazol için %38.5 olarak tespit edilmiş olup, diğer çalışmalara ve çalışmamıza göre direnç oranları daha düşük bulunmuştur⁽¹⁶⁾. Kars iline ait veriler değerlendirildiğinde, 2015 yılında Gölboyu ve ark.'nın⁽¹⁷⁾ yaptığı bir çalışmada, çoklu ilaca direnç oranı %39 iken, çalışmamıza alınan 24 izolatın tamamı çoklu dirence sahip olduğu görülmüştür.

Çalışma alanımıza en yakın sınır komşumuz olan İran'da yapılan çalışma da SHİE'larda *A. baumannii*'yi %61.97 oranında ve karbapeneme direncini %38.03 olarak bildirmişlerdir⁽¹⁸⁾.

Yapılan uluslararası bir çalışmada, Asya, Doğu Avrupa, Afrika, Orta ve Güney Amerika'da, Batı Avrupa'da,

Okyanusya'da, Kuzey Amerika'da, Güney Afrika ve Kanada enfeksiyon oranları ve antimikrobiyal direnç profilleri arasında önemli farklılıklar belirtmişlerdir. *A. baumannii* enfeksiyon prevalansı coğrafi lokalizasyona ve hastanın sosyoekonomik durumuna göre değişmektedir⁽¹⁹⁾.

Farklı moleküler yöntemlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarında *bla*_{OXA-51-benzeri} geni her yöntemde tespit edilmiştir. Bundan yola çıkarak PCR yöntemi ile *bla*_{OXA-51-benzeri} genini doğrulama adına kullanılmıştır ve bu gen bölgesi tüm izolatlarımız da belirlenmiştir⁽²⁰⁾. Karbapenem direncinin moleküler epidemiyolojisinin çalışıldığı bir araştırma sonucunda, 122 *A. baumannii*'nin *bla*_{OXA-51-benzeri} gen bölgesine sahip olduğu gösterilmiştir⁽²¹⁾. Karşılaştırma yapabileceğimiz en yakın bölge olan Erzurum ait bir çalışmada, gerek karbapenem direnci gerekse *bla*_{OXA-51-benzeri} gen bölgesinin varlığı birebir aynı düşünülebilmektedir⁽²²⁾.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında *A. baumannii* suşlarının yerel epidemiyolojik potansiyellerinin belirlenmesi klonal salgıların kontrolü için son derece önemlidir. Suşların kolonize olabilmeleri, toplum ve hastanelerdeki oranları, antibiyotiklere direnci *A. baumannii* suşlarının nazokomiyal salgın yapma potansiyellerinin yüksek olmasının yanı sıra ortak bir klondan köken alırlar⁽²³⁾. Direnç gelişiminin önlenmesi, salgıların engellenmesi, yayılma yollarının belirlenmesi ve bölgesel sürveyans için moleküler yöntemlerin önemi büyüktür. Moleküler tiplendirme yöntemlerinden yinelenebilirliği ve ayırım gücü yüksek olan PFGE yöntemi altın standart olarak kabul edilmektedir⁽²⁴⁾. Çalışmamızın PFGE analizi sonucunda aynı hastanelere ait suşların aynı kümelerde yer alıp kendi içlerinde aynı klonu taşıdıkları tespit edilmiştir.

Ceylan ve ark.'nın⁽²⁵⁾ yaptığı bir çalışmada, PFGE tiplendirilmesi sonucunda 69 *A. baumannii* suşunun 62 (%89.9)'ünün küme içinde olduğu, bu suşların 16 küme içinde yer aldığını, kümeleşme suş aralığının 2-9 arasında olduğunu bildirilmiştir. Aynı zamanda *Acinetobacter* suşlarının yaklaşık 10 tanesinden dokuzunun klonal yönden ilişkili olduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki aynı bölgeye ait 38 izolatin 12 tanesinin 5 küme içerisinde aynı klona sahip olduğunu ve 24 izolatin ise yüksek oranda klonal ilişkili olduğunu belirlenmiştir. Toplam 84 izolatomız içinden 24 *A. baumannii* izolatomız %100 benzerlik oranına sahipken, bunların 12 tanesinin Van iline ait olduğu görülmüştür. Zaman içinde çoklu ilaç dirençli *A. baumannii*'nin artarak izole edilmesi ve benzer genotipte suşların bulunması bölgesel olarak endemik bir enfeksiyon hâlini göstermektedir. Hastalar arasında da çapraz bulaşın çok yüksek olduğunu göstermektedir.

İçinde Erzurum'un da bulunduğu çok merkezli bir çalışmada, 172 izolata ait PFGE tiplemesinin 88 pulsotipte toplandığı bildirilmiştir. Yüz elli yedi suşun 14 farklı pulsotipte kümelendiği gösterilmiştir⁽²²⁾. Karbapenem dirençli 79 *A. baumannii* ile yapılan bir çalışma da PFGE tiplendirmesinin 10 farklı gruba ayrıldığı ve özellikle iki grupta yoğunlaştığı bildirilmiştir⁽²⁶⁾.

Çalışmamızı oluşturan beş farklı merkezden izole edilen 84 suştan 24 tanesinin sekiz farklı kümede %100 ilişkili yani genotipik olarak aynı olduğu tespit edilmiştir. Bu suşlardan 12 tanesi Van iline ait beş farklı kümede, Kars iline ait altı tanesi iki küme içinde, Iğdır iline ait dört tanesi tek bir küme içerisinde yer almaktadır. Ağrı ve Ardahan'dan izole ettiğimiz suşlar arasında klonal ilişki görülmemiştir. Bölgesel olarak daha önce beş merkezli çalışmanın yapılmamış olması elimizdeki verileri kıyaslama açısından bizi kısıtlamaktadır. Van ve Kars illeri için epidemiyolojik verilerle karşılaştırdığımızda hasta sayısının fazla olduğu illerde daha yoğun bir bulaşın söz konusu olduğu görülmüştür.

Ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan araştırmalar ile kıyaslandığında, hem izole edilen *A. baumannii* suşlarının hem de antibiyotik direncinin diğer bölgelere oranla daha düşük insidans da ancak farklı hastanelerde benzer klonların görülmesinin, KDAB için düşünülen "belirli dirençli klonlar bütün dünyada hastanelere ve topluma hâkim olacak" korkusunu destekler niteliktedir. Periyodik olarak yinelenen moleküler sürveyans çalışmaları bu mikroorganizma klonlarının yayılımının önlenmesi ve kontrolü açısından yaşamsal önem taşımakta olup, kesinlikle cesaretlendirilmeli ve desteklenmelidir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (05.07.2019 tarih ve 20 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Çukurova University, Non-invasive Research Ethics Committee (07.05.2019; 20).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. T.C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Özet Raporu. 2017. [https://www.researchgate.net/publication/326346836_ULUSAL_SAGLIK_HIZMETI_ILISKILI_ENFEKSIYONLAR_SURVEYANS_AGI_OZET_RAPORU_2017] (Erişim Tarihi: 10 Şubat 2022).
2. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008;21(3):538-82. https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07
3. Akyüz S, Parlak M, Gündüoğlu H. Yoğun bakım hastalarından izole edilen çoklu antibiyotik dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında seftolozan-tazobaktamın çeşitli antibiyotik kombinasyonları ile in-vitro etkinliğinin araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2020;54(1):154-62. https://doi.org/10.5578/mb.68981
4. Gülbudak H, Aslan G, Tezcan S, ve ark. Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Acinetobacter baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişkinin Rep-PCR ile araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2014;48(2):316-24. https://doi.org/10.5578/mb.7225
5. Kireççi E, Kireççi M, Aksu M. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* türlerinin antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. Türk Mikrobiyol Cemiyet Derg. 2014;44(2):65-9. https://doi.org/10.5222/TMCD.2014.065
6. Almasaudi SB. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology and resistance features. Saudi J Biol Sci. 2018;25(2):586-96. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.009
7. Lal B, Vijayakumar S, Anandan S, Veeraghavan B. Specimen collection, processing, culture, and biochemical identification of *Acinetobacter spp.* Methods Mol Biol. 2019;1946:1-15. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9118-1_1
8. EUCAST. European Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing. Disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing. EUCAST Documents Ver. 2021. [https://www.eucast.org] (Erişim tarihi: Ocak 2021).
9. Guven Gokmen T, Nagiyev T, Meral M, Onlen C, Heydari F, Koksall F. NDM-1 and rmtC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Turkey. Jundishapur J Microbiol. 2016;9(10):e33990. https://doi.org/10.5812/jjm.33990
10. Akış F. İnvaziv enfeksiyonlardan izole edilen çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter* suşlarında, direncin moleküler karakterizasyonu, suşlar arası klonal ilişkinin PFGE (Pulse Field Gel Electrophoresis) ve MLST (Multi Locus Sequencing Typing) ile karşılaştırılması [Uzmanlık tezi]. Adana: Çukurova Üniversitesi, 2019.
11. Durmaz R, Otlı B, Köksal F, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* Spp. Jpn J Infect Dis. 2009;62(5):372-7.
12. Vijayakumar S, Veeraghavan B, Pragasam A. Genotyping of *Acinetobacter baumannii* in nosocomial outbreak and surveillance. Methods Mol Biol. 2019;1946:17-22. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9118-1_2
13. Ezadi F, Jamali A, Heidari A, Javid N, Ardebili A. Heteroresistance to colistin in oxacillinase-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Gorgan, Northern Iran. J Glob Antimicrob Resist. 2020;21:380-385. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.11.010
14. ECDC. European centre for disease prevention and control. Surveillance of antimicrobial resistance in europe. Surveillance Report. 2018;51-55. [https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2018] (Erişim Tarihi: Şubat 2022).
15. Rağbetli C, Gündüoğlu H, Parlak M. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen çok ilaca dirençli *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* izolatlarında karbapenem direncinin araştırılması. J Contemp Med. 2019;9(3):275-9. https://doi.org/10.16899/jcm.609560
16. Şafak B, Kılınç O, Tunç N. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılık oranlarının incelenmesi (2010-2016). Flora. 2016;21(2):77-81.
17. Gölboyu B, Dülgeroğlu O, Baysal P, Murat K. Yoğun bakım ünitesinde çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonu gelişiminde predispozan faktörler. Tepecik Egit ve Arast Hast Derg. 2015;25(3):157-64. https://doi.org/10.5222/terh.2015.157
18. Bardbari AM, Mohajeri P, Arabestani MR, et al. Molecular typing of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from clinical and environmental specimens in three Iranian hospitals by pulsed field gel electrophoresis. BMC Microbiol. 2020;20(1):101. https://doi.org/10.1186/s12866-020-01792-w

19. Atay GU. Karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* klinik izolatlarının moleküler epidemiyolojisinin araştırılmasında farklı yöntemlerin karşılaştırılması [Doktora Tezi]. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2019.
20. Gözalan A, Ünalı Ö, Kırca F, ve ark. Yoğun bakım ünitelerinde kan dolaşımı enfeksiyonu etkeni karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının moleküler yöntemlerle karakterizasyonu. Turk Hij Den Biyol Derg. 2020;77(1):15-24. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2019.53323>
21. Telli M, Eyigör M, Korkmazgil B, Aydın N, Atalay MA. Klinik *Acinetobacter spp.* izolatlarında karbapenem direnci. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2017;47(4):190-6. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2017.190>
22. Boral B, Unaldi Ö, Ergin A, Durmaz R, Köseoğlu Eser Ö. A prospective multicenter study on the evaluation of antimicrobial resistance and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in intensive care units with clinical and environmental features. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2019;18(1):19. <https://doi.org/10.1186/s12941-019-0319-8>
23. Altınok Ö, Boral B, Ergin A, Eser ÖK. Çok ilaca dirençli invaziv *Acinetobacter baumannii* izolatlarında biyofilm ve biyofilm ilişkili virülans genlerinin varlığı. Mikrobiyol Bul. 2020;54(1):40-9. <https://doi.org/10.5578/mb.20204>
24. Gökmen TG, Akçimen B, Kaya B, Marzi M, Köksal F. The outbreak of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 and OXA-51 type carbapenemases in a state hospital. J Exp Clin Med. 2016;33(3):157-61. <https://doi.org/10.5835/jecm.omu.33.03.006>
25. Ceylan MR, Karahocagil MK, Karagöz A, Çıkman A, Durmaz R. Çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının pulsed-field gel elektroforezis ile klonal ilişkisinin araştırılması. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2020;17(2):297-305. <https://doi.org/10.35440/hutfd.757137>
26. Ulusoy Al M, Mumcuoğlu İ, Aksu N, ve ark. İmipenem dirençli *Acinetobacter* suşlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2011;41(1):29-36.

Servikal Fırça Örneklerinde İnsan Papilloma Virüs Prevalansı ve Genotip Dağılımı; Üç Yıllık Analiz

Human Papillomavirus Prevalence and Genotype Distribution in Cervical Swab Samples: Outcomes of a Three-Year Analysis

Bilal Olcay Peker^{*✉}, Tuba Müderris^{**✉}, Süreyya Gül Yurtsever^{**✉}, Selçuk Kaya^{**✉}

* İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

** İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Atıf/Cite as: Peker BO, Müderris T, Gül Yurtsever S, Kaya S. Servikal fırça örneklerinde insan papilloma virüs prevalansı ve genotip dağılımı; üç yıllık analiz. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):168-174.

Öz

Amaç: Bu çalışmada, laboratuvarımızda servikal fırça örneklerinde çalışılan insan papilloma virüs (HPV) DNA test sonuçlarına ait üç yıllık veriler analiz edildi.

Yöntem: Ocak 2019-Aralık 2021 yılları arasında hastaların (18-85 yaş) servikal fırça örneklerinde yüksek risk (HR) HPV-DNA gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) ile, Abbott RealTime High Risk HPV kiti kullanılarak m2000 (Abbott, Wiesbaden, Almanya) ve Cobas HPV kiti kullanılarak LightCycler 480 GZ-PZR sistemi (Roche Diagnostics, Indianapolis, ABD) ile analiz edildi. Kalitatif sonuçlar HPV16, 18 ve diğer HR-HPV (HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68) için rapor edildi. Sonuçlar hasta yaş gruplarına (<25, 25-29, 30-34, 35-39, 40-44, 45-49, 50-54, 55-59, 60-65, >65) göre analiz edildi.

Bulgular: HPV-DNA pozitiflik oranı %18.6 (1.231/6.609) saptandı. HPV-DNA pozitif (40.9±10.8, aralık:18-76 yaş) ve negative (43.2±9.8, aralık:19-85 yaş) hastaların yaş ortalaması arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). HPV16, 18 ve diğer HR-HPV için pozitiflik oranları sırasıyla %3.3, %0.7 ve %11.9 olarak saptandı. Çoklu HPV için pozitiflik oranı %2.5 (169/6609) idi. Pozitif sonuçlar arasındaki oran, HPV16, 18, diğer HR-HPV ve çoklu HPV genotip için sırasıyla %17.7, %4.2, %64.2 ve %3.7 olarak bulundu ($p<0.001$). HPV-DNA pozitiflik oranları <25 ve 25-29 yaş için sırasıyla %40.9 ve %27.2 olarak saptandı. HPV-DNA pozitiflik oranının yaş ile birlikte azaldığı ($r^2=-0.08$, $p=0.01$), 30-34 ve 60-65 yaş aralıklarında pik yaptığı saptandı (%21.9 ve %18.8, $p<0.001$).

Sonuç: Çalışmamızda analiz edilen hasta grubunda, HR-HPV DNA pozitiflik oranı %18.6'dır. Genç ve ileri yaş gruplarında HPV-DNA pozitiflik oranları artmaktadır. Aşı programları dışında kalan duyarlı popülasyona uygulanacak tarama programları, servikal kanserin kontrol altına alınmasına, erken tanı ve tedavisine olanak sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: Servikal fırça, servikal kanser, yüksek risk HPV, HPV-DNA PZR

ABSTRACT

Objective: We analyzed the results of a three-year analysis of human papillomavirus (HPV) DNA tests performed on servical swabs in our laboratory.

Methods: High-risk(HR) HPV-DNA in cervical swabs from patients (18–85 years) were assessed by real-time polymerase chain reaction (rt-PCR), using Abbott RealTime High Risk HPV (Abbott, Wiesbaden, Germany) and Cobas HPV test (Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) kits between January 2019 and December 2021. Qualitative results were reported for HPV16, 18 and other HR-HPV (HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 and 68) genotypes. Results were analyzed according to the age groups of the patients (<25, 25–29, 30–34, 35–39, 40–44, 45–49, 50–54, 55–59, 60–65, >65).

Results: The HPV-DNA positivity rate was 18.6% (1231/6609). The mean age of HPV-DNA positive patients (40.9±10.8 range:18–76 years) was lower than that of negative patients (43.2±9.8, range:19–85 years) ($p<0.001$). Positivity rates for HPV16, 18 and other HR-HPV were 3.3%, 0.7% and 11.9%, respectively. The positivity rate for multiple HPV was 2.5% (169/6609). The ratios between positives were 17.7%, 4.2%, 64.2% and 13.7% for HPV16, 18, other HR-HPV and multiple HPV genotypes, respectively ($p<0.001$). HPV-DNA positivity rates were found to be 40.9% and 27.2% for <25 and 25–29 years old. HPV-DNA positivity rate decreases with age ($r^2=-0.08$, $p=0.01$) and peaks between 30–34 and 60–65 years of age (21.9% and 18.8%, $p<0.001$).

Conclusion: In our study group, HPV-DNA positivity rate was 18.6%. HPV-DNA positivity rates are elevated in young and older age groups. Screening programs applied to susceptible populations other than vaccination programs may enable cervical cancer control, early diagnosis and treatment.

Keywords: Servical swab, servical cancer, high risk HPV, HPV-DNA PCR

Alındığı tarih / Received:
04.03.2022 / 04.March.2022

Kabul tarihi / Accepted:
18.05.2022 / 18.May.2022

Erken çevrimiçi / First Published:
01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

B. O. Peker 0000-0001-8735-2962
T. Müderris 0000-0002-8538-5864
S. G. Yurtsever 0000-0002-4421-230X
S. Kaya 0000-0002-8637-6345

✉ olcaypeker@hotmail.com

GİRİŞ

İnsan papilloma virüs (HPV, Human papillomavirus) enfeksiyonu dünya çapında en yaygın cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlardan biridir⁽¹⁾. HPV'nin ölümle sonuçlanabilen serviks kanserine neden olduğu bilinmekle birlikte, diğer anogenital kanserlerle (anüs, vulva, vajina ve penis) ve baş-boyun kanserleri ile de ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur^(1,2). Servikal kanserler ile ilişkili ölümlerde ülke ekonomilerinin etkili olduğu ve bu ölümlerin büyük çoğunluğunun düşük ve orta gelirli ülkelerde olduğu bildirilmektedir⁽³⁾. Ancak, serviks kanseri ölüm oranları insidanstan önemli ölçüde daha düşüktür (mortalite/insidans oranı %57)⁽⁴⁾. Güncel olarak 228 farklı HPV genotipi bildirilmiştir ve bunların yaklaşık 40'ı ağırlıklı olarak genital mukozada enfeksiyona neden olmaktadır^(5,6). Genital yolu enfekte eden HPV tipleri, onkojenik potansiyellerine göre yüksek riskli [High Risk: HR-HPV (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)] veya düşük riskli [Low Risk: LR-HPV (HPV6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81)] HPV tipleri olarak sınıflandırılmaktadır^(7,8). Yüksek ve düşük riskli HPV prevalansı yaş gruplarına ve kıtalara göre değişmekle birlikte, HPV prevalansı Asya kıtası hariç tüm dünyada %30'a varan oranlardadır. HPV prevalansı orta yaş gruplarında azalmaktadır; ancak yaş arttıkça belirli yaş gruplarında artış pikleri görülmektedir^(9,10). Serviks kanserlerinin büyük çoğunluğu yüksek riskli HPV tipleri ile ilişkilidir ve bunları %70'ini HPV16 ve 18 oluşturmaktadır⁽¹¹⁾.

HPV tarama programları ülkelerin hedef popülasyonlarına göre değişmekle birlikte, ülkemiz için her beş yılda bir HPV-DNA veya pap-smear testi olarak, 30-65 yaş arası kadınları kapsamaktadır⁽¹²⁾. Bu tarama kapsamında, ülkemiz için güncel HPV pozitiflik oranı %4.39 olarak bildirilmiştir⁽¹³⁾. HPV tiplerinin dağılımının bilinmesi kontrol ve aşılama oldukça önemlidir. Bu çalışmada, retrospektif olarak, 2019-2021 yılları arasında laboratuvarımızda HPV-DNA çalışılmak üzere servikal fırça örnekleri gönderilen kadınlarda HPV-DNA test sonuçlarına ait üç yıllık veriler analiz edilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (23.12.2021 tarih ve 567 Karar No.) onaylanmıştır.

Çalışmamızda, Ocak 2019-Aralık 2021 yılları arasında İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran semptomatik hastalara (≥18 yaş) ait servikal fırça örneklerinde çalışılan HPV-DNA test sonuçlarına hastane bilgi sisteminden ulaşıldı ve veriler retrospektif olarak analiz edildi. Servikal fırça örneklerinde HPV-DNA analizleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) ile yapıldı. HPV-DNA analizi 2019 yılında Abbott RealTime High Risk HPV kiti (Abbott, Wiesbaden, Almanya) kullanılarak m2000 GZ-PZR sistemi (Abbott, Wiesbaden, Almanya) ile 2020 ve 2021 yılları arasında Cobas HPV kiti (Roche Diagnostics, Indianapolis, ABD) kullanılarak LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Indianapolis, ABD) cihazı ile yapıldı. Her iki ticari kitte kalitatif sonuçlar onkojenik HPV tipleri HPV16 ve HPV18 için ayrı, diğer HR-HPV tipleri (HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68) için genotip ayrımı yapılmadan rapor edildi. Sonuçları analiz edilen tüm hastalar 18-85 yaş aralığındaydı. Hastalar yaşlarına göre kategorik olarak <25, 25-29, 30-34, 35-39, 40-44, 45-49, 50-54, 55-59, 60-65, >65 şeklinde gruplara ayrıldı. Tespit edilen HPV genotipleri; HPV16, HPV18, diğer HR-HPV ve birden fazla HPV tipinin saptandığı çoklu HPV genotip olarak dört grupta değerlendirildi. Tespit edilen HPV genotiplerinin dağılımı, yaş gruplarına ve yıllara göre analiz edildi.

İstatistik analizler IBM SPSS istatistik 23 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı ile yapıldı. Normal dağılıma sahip değerler, bağımsız örneklem için t-test metodu kullanılarak analiz edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar kategorik değişkenler için Fisher'in kesinlik testi ve sürekli değişkenler için Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapıldı. Değişkenler arasındaki korelasyon Spearman korelasyon katsayısı

kullanılarak analiz edildi. Veriler ortalama, standart sapma ($\pm$), sayı (n) ve yüzde oran (%) olarak verildi ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda, 6.609 kadına ait servikal fırça örneğinde çalışılan HPV-DNA test sonuçları analiz edildi. Çalışmaya dâhil edilen kadınların yaş ortalaması 42.8 ± 10.1 (aralık=18-85 yaş) idi. HPV-DNA pozitiflik oranı %18.6 ($n=1.231/6.609$) olarak bulundu. Tarama programı kapsamında değerlendirilen 30-65 yaş grubunda HPV-DNA pozitiflik oranı %17.4 ($n=1.028/5.904$) idi. Tüm yaş gruplarında HPV-DNA pozitif saptananların yaş

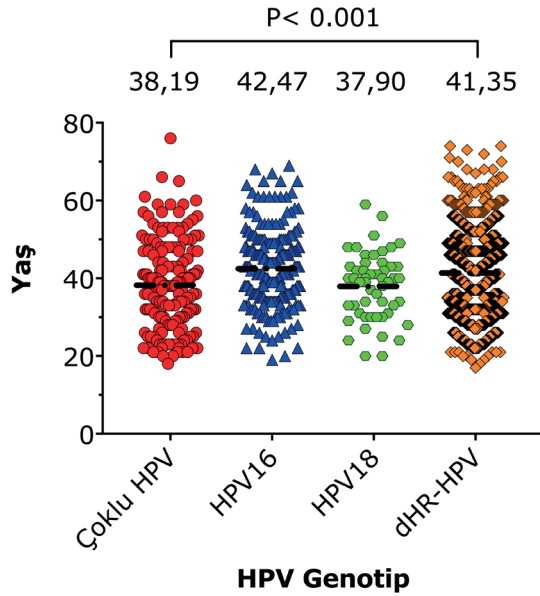
ortalaması 40.9 ± 10.8 (aralık=18-76 yaş), negatif olanların yaş ortalaması ise 43.2 ± 9.8 (aralık=19-85 yaş) olarak bulundu. HPV-DNA pozitif ve negatif saptanan kadınların yaş ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

HPV16, 18 ve diğer HR-HPV için pozitiflik oranları sırasıyla %3.3 ($n=219/6.609$), %0.7 ($n=52/6.609$) ve %11.9 ($n=791/6.609$) şeklinde tespit edildi. Çoklu HPV için pozitiflik oranı %2.5 ($n=169/6.609$) iken, çoklu HPV ve diğer HR-HPV ile birlikte bu oran %14.5 ($n=960/6.609$) idi (Tablo 1). Pozitif sonuçlar arasındaki oran HPV16, 18, diğer HR-HPV ve çoklu HPV genotip için sırasıyla %17.7 ($n=219/1.231$), %4.2 ($n=52/1.231$), %64.2 ($n=791/1.231$) ve %13.7 ($n=169/1.231$) olarak bulundu ($p < 0.001$).

Tablo 1. Hastaların yaş gruplarına ve yıllara göre HPV genotip dağılımları

Yaş Grupları	HPV Genotip								
	Negatif (n / %)	HPV poz (n / %)	HPV16 (n / %)	HPV18 (n / %)	Çoklu HPV Genotip				
					dHR-HPV (n / %)	HPV16/18 (n / %)	HPV16/dHR (n / %)	HPV18/dHR (n / %)	HPV16/18/dHR (n / %)
< 25	121 / 59.0	84 / 40.9	6 / 2.9	4 / 1.9	49 / 23.9	-	20 / 9.7	1 / 0.4	4 / 1.9
25-29	264 / 72.7	99 / 27.2	11 / 3.0	4 / 1.1	67 / 18.4	-	12 / 3.3	3 / 0.8	2 / 0.5
30-34	661 / 78.0	184 / 21.7	35 / 4.1	12 / 1.4	112 / 13.2	2 / 0.2	15 / 1.7	8 / 0.9	2 / 0.2
35-39	864 / 81.8	191 / 18.1	38 / 3.6	6 / 0.5	122 / 11.5	-	20 / 1.8	4 / 0.3	1 / 0.09
40-44	1107 / 83.7	215 / 16.2	38 / 2.8	16 / 1.2	134 / 10.1	4 / 0.3	18 / 1.3	5 / 0.3	-
45-49	1058 / 84.2	198 / 15.7	39 / 3.1	7 / 0.5	137 / 10.9	-	12 / 0.9	1 / 0.07	2 / 0.1
50-54	640 / 84.2	120 / 15.7	28 / 3.6	1 / 0.1	72 / 9.4	-	14 / 1.8	5 / 0.6	-
55-59	356 / 82.7	74 / 17.2	9 / 2.0	2 / 0.4	54 / 12.5	-	6 / 1.3	2 / 0.4	1 / 0.2
60-65	190 / 81.1	32 / 13.6	12 / 5.1	-	29 / 12.3	-	1 / 0.4	2 / 0.8	-
>65	117 / 85.4	20 / 14.5	3 / 2.1	-	15 / 10.9	1 / 0.7	1 / 0.7	-	-
Yıl									
2019	1626 / 79.6	415 / 20.3	71 / 3.4	20 / 0.9	269 / 13.1	1 / 0.04	42 / 2.0	8 / 0.3	4 / 0.1
2020	1569 / 81.6	353 / 18.3	65 / 3.3	13 / 0.6	226 / 11.7	4 / 0.2	30 / 1.5	12 / 0.6	3 / 0.21
2021	2183 / 82.5	463 / 17.4	83 / 3.1	19 / 0.7	296 / 11.1	2 / 0.07	47 / 1.7	11 / 0.4	5 / 0.1
Toplam (n/%)	5378 / 81.3	1231 / 18.6	219 / 3.3	52 / 0.7	791 / 11.9	7 / 0.1	119 / 1.8	31 / 0.4	12 / 0.1

HPV: İnsan papilloma virüs, dHR-HPV: diğer yüksek risk insan papilloma virüs, poz: pozitif.



Şekil 1. HPV genotip gruplarına göre yaş ortalamalarının dağılımı

Yaş gruplarının hepsinde HPV genotip dağılımlarının sıklık sıralaması diğer HR-HPV, HPV16 ve HPV18 olarak saptandı. Yaş grupları arasında HPV genotip (HPV16, 18, diğer HR-HPV ve çoklu HPV) dağılımları açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.43$). Ancak, dört grup HPV genotipi için yaş ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$) (Şekil 1). Yaş gruplarına göre en yüksek HPV-DNA pozitiflik oranı 25 yaş altı ve 25-29 yaş grubunda tespit edildi (%40.9 ve %27.2). HPV-DNA pozitiflik oranlarının yaş ile birlikte azaldığı ($r^2=-0.08$ $p=0.01$), ancak 30-34 ve 60-65 yaş aralığında %21.9 ve %18.8 oranları ile pik yaptığı saptandı ($p<0.001$) (Tablo 1).

Analize dâhil edilen 2019, 2020 ve 2021 yılları için en yüksek test sayısı 2021 yılına ait olup, yıllara göre pozitiflik oranları sırasıyla %20.3, %18.3 ve %17.4 olarak bulundu ($p=0.04$).

TARTIŞMA

Serviks kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen dördüncü kanser olarak raporlanmaktadır⁽⁴⁾. Ülkemizde 15-44 yaş arası kadınlarda en sık izlenen kanser türleri arasında ise beşinci sıradadır⁽¹⁴⁾. Serviks kanseri ile mücadelede birincil önlem aşılama, ikincil önlem kanser öncesi lezyonların taranması, üçüncül önlem ise invaziv serviks kanserinin teşhis ve tedavisidir⁽¹⁵⁾. Çalışmamızda, tarama programlarındaki hedef popülasyonun dışındaki kadınları da kapsayarak mikrobiyoloji laboratuvarında çalışılan HPV-DNA test sonuçlarına ait üç yıllık veri retrospektif olarak analiz edilmiştir.

Çalışmamızda, HPV prevalansı tüm yaş grupları için %18.6'dır. Ülkemizdeki HPV prevalansını ve genotip dağılımlarını sunan çalışmalar, farklı coğrafi bölgelerde ve zaman aralıklarındaki verileri içermektedir. Ülkemizde yapılan HPV tarama sonuçlarına ait bazı çalışmalar ise Tablo 2'de sunulmuştur^(13,16-20). Ancak, HPV analizinde ve genotiplendirmede kullanılan test metodlarındaki farklılıklar elde edilen verilerin analizini güçleştirmektedir. Çalışmamızda, ulusal tarama programının kapsadığı 30-65 yaş grubu için HPV-DNA pozitiflik oranı %17.4'tür. Gültekin ve ark.'nın⁽¹³⁾ yaptıkları bir çalışma, ülkemize ait en kapsamlı çalışma olup, HPV-DNA tarama programına

Tablo 2. Bazı çalışmalarda saptanan HPV-DNA pozitiflik oranları

Çalışma	Yıl – Şehir	Yaş aralığı / hasta sayısı (n)	HPV-DNA pozitiflik oranı (%)***
Gültekin ve ark. ⁽¹³⁾	2020 – Türkiye*	30 – 65 / 4.099.230	4.36
Dursun ve ark. ⁽¹⁶⁾	2013 – Ankara**	15 – 76 / 6388	16.4
Bayram ve ark. ⁽¹⁷⁾	2015 – İzmir	30 – 82 / 5350	10.0
Barut ve ark. ⁽¹⁸⁾	2018 – Ankara	20 – 30 ve ↑ / 532	22.9
Aydoğan ve ark. ⁽¹⁹⁾	2018 – Ankara	16 – 69 / 328	33.5
Alaçam ve ark. ⁽²⁰⁾	2021 – İstanbul	17 – 76 / 2285	36.3

HPV: İnsan papilloma virüs, * Türkiye istatistik bölge birimleri sınıflandırmasına göre 12 farklı bölge, **Ankara dahil farklı illerde toplam 12 merkez, *** Yüksek risk HPV pozitiflerin oranı

dâhil olan dört milyonun üzerindeki hastanın verilerini içermekte ve tüm onkojenik HR-HPV tipleri için prevalans %4.39 olarak bildirilmektedir. Ayrıca, Zare ve ark.'nın⁽²¹⁾ HPV prevalansı ve genotip dağılımları üzerine olan meta-analiz verilerinde ülkemize ait dört farklı çalışma için bu oran %6.2'dir. Gültekin ve ark.'nın⁽¹³⁾ çalışmasına kıyasla, çalışmamızda tarama programı içerisinde yer alan yaş gruplarındaki yüksek oran, poliklinik başvurularının yalnızca tarama amaçlı sağlıklı kadınlardan oluşmaması ile ilişkilendirilebilir.

HPV prevalansı yaş ile ilişkili olarak değişiklik göstermektedir. En yüksek prevalans oranı 20-24 yaş arasında görülmektedir. Orta yaş gruplarında prevalans azalmakta, ancak 35-44 veya 45-54 yaş arası kadınlarda ise artış izlenmektedir^(9,22). Bazı bölgelerde ileri yaş gruplarındaki artışın, yeni edinilen enfeksiyon veya aktive olan latent HPV enfeksiyonları ile ilişkili olduğu bildirilmektedir⁽⁹⁾. Çalışmamızda, HPV prevalansı 25 yaş altı grupta en yüksektir ve yapılan çalışmalarda verilerle uyumlu olarak 30-34 ve 60-65 yaş gruplarında prevalansta artış saptanmıştır. Yaş ile birlikte HPV prevalansına ilişkin verilerin sunulduğu bir meta-analiz çalışmasında, 30 yaşından sonra yeni bir enfeksiyonun tespit edilme olasılığının daha düşük olduğu bildirilmiş ve bu yaş grubunda saptanan enfeksiyonların çoğunda HPV16 ve 18'e rastlanmıştır⁽²³⁾. Çalışmamızda, tüm yaş gruplarında tek başına diğer HR-HPV genotipleri en yüksek orandadır. Ancak, bu grup hariç tutulduğunda en sık HPV16 tespit edilmiştir. Yaş grupları içinde HPV16 için en yüksek pozitiflik oranı %27.3 ile 60-65 yaş grubundadır. Müderris ve ark.'nın⁽²⁴⁾ İzmir ilinde yaptıkları bir çalışmada, HPV pozitif saptanan hastalar arasında en sık HPV16 tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, çoklu HPV tipi ile enfeksiyon %35.9 olarak bildirilmiştir. Taranan popülasyonun özellikleri, coğrafi dağılım ile ilişkili olarak değişmekle birlikte, çoklu HPV genotip enfeksiyonuna sıklıkla rastlanmaktadır⁽²⁵⁾. Çoklu HPV tipleri ile enfeksiyon, çalışmamızda %14.5 olarak saptanmıştır, ancak çalışmamızda, HPV-DNA analizi için kullanılan kit ile yalnızca onkojenik HPV16 ve 18 için ayırım yapılabilmektedir. Diğer HR-HPV pozitif olarak rapor edilen sonuçlar içinde de birden çok HPV genotipinin de pozitif olabileceği varsayılmaktadır. Bu nedenle elde edilen sonuçlarda çoklu HPV genotip enfeksiyonu için kesin bir oran veremiyoruz. Her ne kadar bu

ayırım yapılamasa da çalışmamız yüksek oranda HR-HPV genotip enfeksiyonlarına işaret etmektedir. Gültekin ve ark.'nın⁽¹³⁾ tespit ettikleri HR-HPV genotipleri tüm yaş grupları ve bölgeler için HPV16'yı takiben sırasıyla 51, 31, 52, 56 ve 18'dir. Müderris ve ark.'nın⁽²⁴⁾ çalışmasında, HR-HPV oranları sırasıyla HPV16, 45, 18, 31 ve 51'dir. Akcalı ve ark.'nın⁽²⁶⁾ çalışmasında, HR-HPV ve LR-HPV'nin pozitiflik oranı %8.5 olarak bulunmuştur ve tespit edilen HR-HPV oranları sırasıyla HPV16, 45, 56, 66 ve 31'dir. Burada HR-HPV için tiplendirmenin önemini vurgulamak önemlidir. HPV için immünizasyonun etkinliğini belirlemek ve servikal kansere yol açan yaygın HR-HPV genotiplerinin varlığını göstermek açısından dikkat çekicidir. İdeal tarama algoritmalarının geliştirilmesinde HR-HPV genotiplerinin moleküler epidemiyolojisini belirlemek için büyük ölçekli toplum temelli çalışmalar, serviks kanserine karşı ulusal koruyucu halk sağlığı stratejilerinin oluşturulmasına katkı sağlayabilirler.

Klinik deneyler, HPV aşılarının HPV enfeksiyonlarının, yüksek dereceli kanser öncesi lezyonların ve invaziv kanser enfeksiyonlarının önlenmesinde çok güvenli ve çok etkili olduğunu göstermiştir. HPV aşı programlarının gelecekte HPV ile ilişkili kanser olgularında azalma sağlayabileceği ileri sürülmektedir. Ancak, aşı ile ilgili bilgisizlik ile tereddütlerin ve 65 yaş üstü kadın popülasyonundaki artışın, HPV ile ilişkili kanser yükünde birkaç on yıl boyunca artışa yol açacağı düşünülmektedir⁽²⁷⁾. Ülkemiz için ulusal HPV aşılama programı ise henüz mevcut değildir. Ancak, çalışmamızda yer alan her yaş grubunda yüksek oranlarda HPV-DNA tespit edilmiştir. Tarama programları ile birlikte yürütülecek olan aşı programları, risk altındaki bu popülasyonda enfeksiyonun yayılması için sınırlayıcı olacak ve HPV ilişkili kanserlerin önlenmesini sağlayabilecektir.

Hastaların HPV immünizasyon durumu, pap-smear sitolojik bulguları, tedavi ve takip uygulamalarına ait verilerin yer almaması ve HPV16 ve HPV18 dışı diğer HR-HPV genotiplerinin ayırımının yapılamaması çalışmamızın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır. Seksen hastaya ait HPV pozitif test sonucu, takip örneklerinde negatif olarak tespit edilmiştir. Bu negatif test sonucunun nedeni ancak klinik verilerle açıklanabilir.

COVID-19 pandemisi, serviks kanseri taramaları ve HPV aşılama yöntemlerini de kapsayacak şekilde koruyucu sağlık hizmetlerinde önemli bir azalmaya yol açmıştır. Risk temelli kılavuzlar, kanser öncesi ve kanser açısından en yüksek risk altındaki hastalarda tanıda gecikmeleri önlemek amacıyla öncelik sıralamasının belirlenmesinde kullanılabilir⁽²⁸⁾. Çalışmamızda, 2020 yılı için bir önceki yıla kıyasla test sayısında azalma vardır ve HPV prevalansı yıllara göre azalmaktadır. Ancak, sağlık hizmetlerindeki kesintinin kanser insidansı ve çeşitli sağlık sorunları üzerine etkisini anlamak zaman alacaktır.

Sonuç olarak, çalışmamızda test sonuçları analiz edilen hasta grubunda HR-HPV DNA pozitiflik oranı %18.6'dır. Genç ve ileri yaş gruplarında HPV pozitiflik oranları artmaktadır. HPV enfeksiyonu ve onunla ilişkili kanserlerin önlenmesinde uygulanacak stratejilerin belirlenmesinde prevalans çalışmaları önemli veriler sunmaktadır. Aşı programları dışında kalan duyarlı popülasyona yönelik uygulanacak tarama programları, servikal kanserin kontrol altına alınmasına, erken tanı ve tedavisine olanak sağlayabilir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (23.12.2021 tarih ve 567 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of İzmir Kâtip Çelebi University, Non-invasive Research Ethics Committee (12.23.2019; 567).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis.* 2010;202:1789-99. <https://doi.org/10.1086/657321>
2. WHO. WHO technical guidance and specifications of medical devices for screening and treatment of precancerous lesions in the prevention of cervical cancer. Geneva: 2020. [<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331698>] (Erişim tarihi: 24 Aralık 2021).
3. Smith JS, Melendy A, Rana RK, Pimenta JM. Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. *J Adolesc Health.* 2008;43(4 Suppl):S5-25.e41. <https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2008.07.009>
4. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
5. Doorbar J, Quint W, Banks L, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine* 2012;30(Suppl 5):F55-70. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083>
6. HPV reference clones – hpvcenter. Int Hum Papillomavirus Ref Cent 2021. [https://www.hpvcenter.se/human_reference_clones/] (Erişim tarihi: 24 Aralık 2021).
7. WHO. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol 97. World Health Organisation, France, 2012.
8. Siegler E, Reichman Y, Kugelman N, et al. Low-risk human papillomavirus types in cervical intraepithelial neoplasia 2-3 and in invasive cervical cancer patients. *J Low Genit Tract Dis.* 2019;23(4):248-52. <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000486>
9. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2007;7(7):453-9. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70158-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70158-5)
10. Manini I, Montomoli E. Epidemiology and prevention of Human Papillomavirus. *Ann Ig.* 2018;30(4 Suppl 1):28-32. <https://doi.org/10.7416/ai.2018.2231>
11. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 2010;11(11):1048-56. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70230-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70230-8)
12. Ulusal HPV-Smear Tarama Testi Nasıl Yapılır Bilgilendirme. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü 2020. [<https://hpvtarama.saglik.gov.tr/duyurular/Sayfa/HpvTaramaTestiNasilYapilir>] (Erişim tarihi: 24 Aralık 2021).
13. Gultekin M, Dundar S, Keskinilic B, et al. How to triage HPV positive cases: Results of four million females. *Gynecol Oncol.* 2020;158(1):105-11. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.04.698>
14. Bruni L, Albero G, Serrano B, et al. Human Papillomavirus and related Diseases in Turkey. 2021. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). [<https://hpvcentre.net>] (Erişim tarihi: Aralık 2021).

15. WHO. Comprehensive Cervical Cancer Control: A guide to essential practice. Geneva: 2014. [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/144785/9789241548953_eng.pdf?sequence=1] (Erişim tarihi: 24 Aralık 2021).
16. Dursun P, Ayhan A, Mutlu L, et al. HPV types in Turkey: multicenter hospital based evaluation of 6388 patients in Turkish gynecologic oncology group centers. *Türk Patoloji Derg.* 2013;29(3):210-6. <https://doi.org/10.5146/tjpath.2013.01188>
17. Bayram A, Karaca Derici Y, Ozkalay Yilmaz N, et al. Prevalence of high-risk human papillomavirus in women from Turkey. *Clin Obstet Gynecol Reprod Med.* 2015;1(3):84-6. <https://doi.org/10.15761/COGRM.1000122>
18. Barut MU, Yildirim E, Kahraman M, et al. Human papilloma viruses and their genotype distribution in women with high socioeconomic status in Central Anatolia, Turkey: A pilot study. *Med Sci Monit.* 2018;24:58-66. <https://doi.org/10.12659/msm.906652>
19. Aydoğan S, Yazgan A, Taş EE, Gözalan A, Yavuz AF, Açıkgöz ZC. The presence and distribution of high risk HPV types in simultaneous cervical cytology samples. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 2018;75(1):13-20. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2018.15986>
20. Alacam S, Bakir A. Human papillomavirus prevalence and genotype distribution in cervical swab samples in Istanbul, Turkey. *J Infect Dev Ctries.* 2021;15(8):1190-6. <https://doi.org/10.3855/jidc.14663>
21. Zare E, Roozbeh N, Akbari PA, Teshnizi SH, Ghazanfarpour M, Abdi F. HPV and its high-risk genotypes in Middle Eastern countries: A meta-analysis. *Future Virol.* 2020;15(9):595-607. <https://doi.org/10.2217/fvl-2019-0155>
22. Erickson BK, Alvarez RD, Huh WK. Human papillomavirus: what every provider should know. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208(3):169-75. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2012.09.007>
23. Wheeler BS, Rositch AF, Poole C, Taylor SM, Smith JS. Patterns of incident genital human papillomavirus infection in women: A literature review and meta-analysis. *Int J STD AIDS.* 2019;30(13):1246-56. <https://doi.org/10.1177/0956462418824441>
24. Muderris T, Afsar I, Yıldız A, Akpınar Varer C. HPV genotype distribution among women with normal and abnormal cervical cytology in Turkey. *Rev Esp Quimioter.* 2019;32(6):516-24.
25. Salazar KL, Zhou HS, Xu J, et al. Multiple Human papilloma virus infections and their impact on the development of high-risk cervical lesions. *Acta Cytol.* 2015;59(5):391-8. <https://doi.org/10.1159/000442512>
26. Akcali S, Goker A, Ecemis T, Kandiloglu AR, Sanlidag T. Human papilloma virus frequency and genotype distribution in a Turkish population. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2013;14(1):503-6. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.1.503>
27. Deshmukh AA, Suk R, Shiels MS, et al. Incidence trends and burden of human papillomavirus-associated cancers among women in the United States, 2001-2017. *J Natl Cancer Inst.* 2021;113(6):792-6. <https://doi.org/10.1093/jnci/djaa128>
28. Wentzensen N, Clarke MA, Perkins RB. Impact of COVID-19 on cervical cancer screening: Challenges and opportunities to improving resilience and reduce disparities. *Prev Med.* 2021;151:106596. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2021.106596>

Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Antimikrobiyal Duyarlılık Sonuçlarının EUCAST ve CLSI Sınır Değerlerine Göre Karşılaştırılması ve Metallo Beta Laktamaz Varlığının Fenotipik Yöntemlerle Araştırılması

Comparison of Antimicrobial Susceptibility of Nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* Isolates According to EUCAST and CLSI Breakpoints and Investigation of the Existence of Metallo Beta Lactamase by Phenotypic Methods

Sulhiye Aslan*, Gülgün Yenişehirli*, Bahise Çağla Taşkın Dalgıç**, Aydan Yenişehirli***

* Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye

** Turhal Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Tokat, Türkiye

*** Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye

Atf/Cite as: Aslan S, Yenişehirli G, Taşkın Dalgıç BÇ, Yenişehirli A. Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarının EUCAST ve CLSI sınır değerlerine göre karşılaştırılması ve metallo beta laktamaz varlığının fenotipik yöntemlerle araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):175-183.

Öz

Amaç: Yüksek morbidite ve mortaliteleri nedeniyle nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları ciddi sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Antimikrobiyal direnç oranlarının artması tedavi seçeneklerinin kısıtlanmasına yol açmaktadır. Bu çalışmanın amacı, hastanemizden izole edilen 250 nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatında antimikrobiyal direnç durumlarının EUCAST-2022 ve CLSI-2022 sınır değerlerine göre karşılaştırılmasının yanı sıra metallo-beta-laktamaz (MBL) aktivitesi varlığının da farklı fenotipik yöntemlerle değerlendirilmesidir.

Yöntem: *Pseudomonas aeruginosa* izolatının antibiyotik duyarlılık testleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapıldı. Sonuçlar EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ve CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) standartlarına göre değerlendirildi. Karbapenem dirençli izolatlarda metallo-betalaktamaz (MBL) üretimi, çift disk sinerji testi, kombine disk difüzyon testi ve modifiye hodge testi kullanılarak araştırıldı.

Bulgular: Çalışmamızda, nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatları en fazla solunum yolundan, ikinci sıklıkta idrardan izole edilmiştir. Test edilen antibiyotikler içinde *P. aeruginosa* izolatlarının en duyarlı olduğu antibiyotik EUCAST-2022 kriterlerine göre seftazidim-avibaktam (%96), CLSI-2022 kriterlerine göre seftolozan-tazobaktam (%95.2). EUCAST ve CLSI kriterlerine göre belirlenen duyarlılık durumları karşılaştırıldığında, *P. aeruginosa* izolatlarının EUCAST kriterlerine göre amikasin'e daha duyarlı; siprofloksasin, levofloksasin, tikarsilin-klavulonik asit, sefepim, aztreonam, imipenem ve doripenem'e daha dirençli olduğu belirlendi. EUCAST kriterlerine göre belirlenen çoklu ilaç direnci (%98), CLSI kriterlerine göre belirlenen çoklu ilaç direncinden (%36) yüksek bulundu. Nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatlarının MBL pozitifliği kombine disk difüzyon testi ile %36.8, çift disk sinerji testi ile %38.2 ve modifiye hodge testi ile %36.8 olarak tespit edildi. Diğer yandan MBL üretimini saptayabilmeleri yönünden testler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç: EUCAST kriterlerine göre değerlendirildiğinde, nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatlarında siprofloksasin, levofloksasin, tikarsilin-klavulonik asit, sefepim, aztreonam, imipenem ve doripenem direnç oranları daha yüksektir. MBL üretiminin ve çoklu ilaç direnci sıklığının nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatlarında yaygın olarak görülmesi, tedavi seçeneklerinin önemli ölçüde kısıtlanmasına yol açmaktadır. Tedavide uygun antimikrobiyal ajanın seçimi, direnç gelişiminin ve yayılımının yakın takibi için antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanmasının yanı sıra fenotipik yöntemlerle MBL varlığının da araştırılması oldukça önemlidir.

Alındığı tarih / Received:

18.01.2022 / 18.January.2022

Kabul tarihi / Accepted:

01.06.2022 / 01.June.2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

S. Aslan 0000-0003-0210-5597

G. Yenişehirli 0000-0001-7030-0752

B. Ç. Taşkın Dalgıç 0000-0002-1271-7522

A. Yenişehirli 0000-0003-0824-917X

✉ gulgun.yenisehirli@gop.edu.tr

Anahtar kelimeler: Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa*, antimikrobiyal duyarlılık, EUCAST, CLSI, metallo-betalaktamaz aktivitesi

ABSTRACT

Objective: Nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections are accepted a serious healthcare problem with a high morbidity and mortality rates. Therapeutic options are restricted increasingly due to the development of resistance. The purpose of this study was to compare the antimicrobial resistance status of 250 nosocomial

Pseudomonas aeruginosa isolates from our hospital according to EUCAST-2022 and CLSI-2022 breakpoints and also evaluate the presence of metallo-beta-lactamase (MBL) activity by different phenotypic methods.

Methods: Antibiotic susceptibility testing of 250 nosocomial *P. aeruginosa* isolates were performed using disc diffusion method. The results were evaluated according to EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) and CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) criteria. MBL production of carbapenem resistant isolates were screened by double disk synergy test, combined disk diffusion test and modified hodge test.

Results: In our study, nosocomial *P. aeruginosa* isolates were most frequently isolated from respiratory tract samples, followed by urine samples. Among the tested antibiotics, nosocomial *P. aeruginosa* isolates were most sensitive to ceftazidime-avibactam (96%) according to EUCAST-2022 criteria, and ceftolozane-tazobactam (95.2%) according to CLSI-2022 criteria. When the susceptibility profiles of *P. aeruginosa* isolates were compared according to EUCAST and CLSI criteria; the higher resistance rates for ciprofloxacin, levofloxacin, ticarcillin-clavulanic acid, ceftazidime, aztreonam, imipenem and doripenem were observed according to EUCAST-2022 criteria. In contrast amikacin resistance rate was found to be lower according to CLSI-2022 criteria. MDR (98%) determined according to EUCAST-2022 criteria was found to be higher than MDR determined according to CLSI-2022 criteria (36%). MBL positivity was found to be 36.8% with the combined disc diffusion test, 38.2% with the double disc synergy test and 36.8% with the modified Hodge test. In terms of MBL production, we didn't observe any statistical significance between the phenotypic methods.

Conclusion: When evaluated according to EUCAST-2022 criteria, resistance rates of ciprofloxacin, levofloxacin, ticarcillin-clavulanic acid, ceftazidime, aztreonam, imipenem and doripenem are higher in nosocomial *P. aeruginosa* isolates. Increased MBL production and multi drug resistance in nosocomial *P. aeruginosa* isolates result in significant limitation of treatment options. Besides the antimicrobial susceptibility testing, phenotypic MBL screening methods must be performed for the selection of the appropriate antimicrobial therapy and for the close monitoring the development and spread of resistance.

Keywords: Nosocomial *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial susceptibility, EUCAST, CLSI, metallo-beta-lactamase activity

GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa doğada yaygın olarak bulunan, hastane ortamında yaşayabilen non-fermentatif bir bakteridir. Nozokomiyal enfeksiyonların %11-13.8'inden, yoğun bakım ünitesinde görülen nozokomiyal enfeksiyonların ise %13.2-22.6'sından sorumlu olduğu bildirilmektedir. Pnömoni başta olmak üzere, idrar yolu enfeksiyonu, kan dolaşımı enfeksiyonu, yara enfeksiyonu, yanıklı hastalarda deri enfeksiyonu gibi çeşitli klinik tablolara yol açabilmektedir⁽¹⁾. *P. aeruginosa* beta laktamların çoğuna, eski kinolonlara, kloramfenikole, tetrasikline, makrolidlere, trimetoprim-sülfametoksazole ve rifampine doğal olarak dirençlidir. Birçok antimikrobiyal ilaca doğal dirençli olmasının yanı sıra tedavi sırasında hızlı ve yüksek oranda direnç geliştirebilmesi etken olduğu enfeksiyonların tedavisini güçleştirmektedir. Bu nedenle *P. aeruginosa* izolatlarının antibakteriyel duyarlılık durumlarının yakın takibi gerekmektedir⁽²⁾. Antimikrobiyal direnç durumlarının yorumlanması EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ya da CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) sınır değerleri dikkate alınarak yapılmaktadır^(3,4). EUCAST ve CLSI standartlarında önerilen sınır değerlerin birbirinden farklı olması, test edilen bakterinin duyarlılık durumunun kullanılan standarda göre farklılık göstermesine neden olabilmektedir.

Beta-laktam antibiyotikler tüm dünyada hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için en yaygın kullanılan ve en güvenilir kabul edilen antimikrobiyal ajanlardır⁽⁵⁾. Beta-laktam antibiyotiklerden olan karbapenemler çoklu dirençli *P. aeruginosa* izolatlarına karşı en etkili antibiyotikler olarak kabul edilmektedirler. Beta-laktamaz üretimi beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişiminden sorumlu antibiyotiklere karşı dirençten sorumlu en yaygın mekanizmadır. Metallo beta laktamazlar (MBL), karbapenemleri ve diğer beta-laktamları (monobaktamlar hariç) hidrolize ederek inaktive ederler⁽⁶⁾. Metallo beta laktamazlar (MBL), plazmidler aracılığıyla taşınarak diğer bakterilere aktarılabilmesinden dolayı klinik açıdan önem taşımaktadır⁽⁷⁾. MBL üreten *P. aeruginosa* izolatları tüm dünyada tedavisi güç nozokomiyal enfeksiyonlara yol açmakta ve salgınlara neden olmaktadır⁽⁸⁾. *P. aeruginosa* izolatlarında direnç yayılımını önlemek ve dirençli izolatların etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde yeni tedavi stratejilerini belirleyebilmek için, antibiyotik direnç durumunun takibi ve direnç mekanizmalarının aydınlatılması önemlidir. MBL aktivitesinin saptanmasında en güvenilir ve en etkin yöntem MBL üretimine yol açan genlerin moleküler yöntemlerle saptanmasıdır. Bununla birlikte, fenotipik yöntemlere göre daha pahalı ve daha az pratik olmaları nedeniyle kullanımları kısıtlıdır⁽⁹⁾.

Bu çalışmada, hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarının antimikrobiyal direnç durumlarının EUCAST-2022 ve CLSI-2022 sınır değerlerine göre karşılaştırılmasının yanı sıra metallo-beta-laktamaz (MBL) aktivitesi varlığının da farklı fenotipik yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dekanlığı, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (17.02.2022 tarih ve 22-KAEK-030 Karar No.) onaylanmıştır.

Çalışmaya Ekim 2019-Şubat 2022 yılları arasında hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 250 *P. aeruginosa* izolatu dâhil edilmiştir. Nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak çeşitli klinik örneklerden izole edilen 250 *P. aeruginosa* izolatının tanımlanması için koloni morfolojisinin değerlendirilmesi, Gram

boyama ve oksidaz testinin yanı sıra VITEK-2 (BioMérieux, Fransa) otomatize sistem kullanılmıştır. *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri Disk Difüzyon Yöntemi kullanılarak yapıldı ve EUCAST-2022 ve CLSI-2022 standartlarına göre değerlendirildi^(3,4) (Tablo 1). Kontrol suşu olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanıldı.

Karbapenem dirençli izolatlarda MBL üretimi, çift disk sinerji testi, kombine disk difüzyon testi ve modifiye hodge testi kullanılarak araştırıldı. EUCAST önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile imipenem (10 µg) veya meropenem (10 µg) diskleri etrafındaki inhibisyon zon çapları imipenem için < 20 mm ise meropenem için < 14 mm ise dirençli kabul edildi.

Çift Disk Sinerji Testi: Taze kültürden alınan bakteri kolonileri steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanarak Mueller-Hinton Agar besiyeri yüzeyine plağın her tarafına eşit olacak şekilde ekim yapıldı. Birer adet imipenem (10 µg) ve boş disk (blank) aralarında 15 mm olacak

Tablo 1. *Pseudomonas aeruginosa* izolatları için kullanılan EUCAST 2022 ve CLSI 2022 sınır değerleri (mm)

Antibiyotik	EUCAST		CLSI	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
Amikasin	≥ 15	< 15	≥ 17	≤14
Tobramisin	≥ 18	< 18	≥ 15	≤12
Siprofloksasin	≥ 50	< 26	≥ 25	≤18
Levofloksasin	≥ 50	< 18	≥ 22	≤14
Piperasilin	≥ 50	< 18	-	-
Tikarsilin	≥ 50	< 18	-	-
Piperasilin-tazobaktam	≥ 50	< 18	-	-
Tikarsilin-klavulonikasıit	≥ 50	< 18	≥ 24	≤15
Sefepim	≥ 50	< 21	≥ 18	≤14
Seftazidim	≥ 50	< 17	-	-
Seftazidim-avibaktam	≥ 17	< 17	-	-
Seftolozan-tazobaktam	≥ 23	< 23	≥ 21	≤16
Aztreonam	≥ 50	< 18	≥ 22	≤15
İmipenem	≥ 50	< 20	≥ 19	≤15
Meropenem	≥ 20	< 14	≥ 19	≤15
Doripenem	≥ 50	< 22	≥ 19	≤15

şekilde besiyerine yerleştirildi. Daha sonra boş disk üzerine 10 µL 0.5 M EDTA eklendi. 36±1°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında imipenem diskinden boş diske doğru inhibisyon zonunda düzensizleşme var ise MBL pozitif kabul edildi⁽¹⁰⁾.

Kombine Disk Difüzyon Testi: Taze kültürden alınan bakteri kolonileri steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanarak Mueller-Hinton Agar besiyeri yüzeyine plağın her tarafına eşit olacak şekilde ekim yapıldıktan sonra iki adet imipenem (10 µg) diski yerleştirildi. Disklerin bir tanesine 0.5 M EDTA solüsyonundan 10 µL pipetle damlatıldı. 36±1°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. EDTA damlatılan imipenem diskinin çevresindeki zon çapı, EDTA'sız imipenem diskinin zon çapından en az 7 mm daha büyük ise MBL pozitif kabul edildi⁽¹⁰⁾.

Modifiye Hodge Testi: Taze kültürden alınan *E. coli* ATCC 25922 suşunun 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu hazırlandı. Steril plastik tüp içerisinde 100 µl bakteri süspansiyonu ve 900 µl SF olacak şekilde 1/10 bulanıklığında yeni bir süspansiyon hazırlandı ve hazırlanan bu süspansiyon Mueller-Hinton Agar besiyeri yüzeyine her tarafa eşit olacak şekilde yayıldı. Plağın ortasına imipenem (10 µg) diski yerleştirildi. Test izolatları bu diskin dört bir kenarından periferine doğru çizgi ekimi şeklinde öze ile ekildi. 36±1°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında diskin etrafındaki zon çapı yonca yaprağı görünümünde ise MBL pozitif olarak değerlendirildi⁽¹¹⁾.

Sonuçların istatistiksel analizi Student's t test kullanılarak yapılmıştır. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada, nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatları en fazla solunum yolundan, ikinci sıklıkta idrardan izole edilmiştir. *P. aeruginosa* izolatlarının izole edildikleri klinik örneklerle göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Nozokomiyal enfeksiyon etkeni *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının izole edildikleri klinik örneklerle göre dağılımı

Klinik Örnek	Sayı	%
Solunum yolu	107	42.8
İdrar	57	22.8
Yara yeri	52	20.8
Kan	31	12.4
Steril vücut sıvısı	3	1.2
Toplam	250	100.0

Nozokomiyal enfeksiyon etkeni *P. aeruginosa* izolatlarının EUCAST-2022 ve CLSI-2022 sınır değerlerine göre belirlenen antibiyotik direnç durumları Tablo 2'de sunulmuştur. Elde ettiğimiz sonuçları EUCAST-2022 kriterlerine göre değerlendirdiğimizde, test edilen antibiyotikler içinde *P. aeruginosa* izolatlarının en duyarlı olduğu antibiyotik seftazidim-avibaktam, en az duyarlı olduğu antibiyotik piperasilin ve sefepim olarak saptandı. CLSI-2022 kriterlerine göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek duyarlılık oranı seftolozan-tazobaktamda gözlemlendi. EUCAST-2022 ve CLSI-2022 kriterlerine göre belirlenen duyarlılık durumları karşılaştırıldığında, *P. aeruginosa* izolatlarının EUCAST kriterlerine göre amikasin'e daha duyarlı; siprofloksasin, levofloksasin, tikarsilin-klavulonik asit, sefepim, aztreonam ve imipeneme daha dirençli olduğu belirlendi ($p<0.005$) (Tablo 3).

İzolatların penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, florokinolon ve aminoglikozid grubu antibiyotiklerden en az üç veya daha fazla grup antibiyotiğe orta düzey dirençli veya dirençli olması "çoklu ilaç direnci (MDR)" olarak kabul edildi. Çalışmamızda, 2022-EUCAST kriterlerine göre belirlenen çoklu ilaç direnci (%98), CLSI kriterlerine göre belirlenen çoklu ilaç direncinden (%36) yüksek bulundu ($p<0.005$).

Karbapenem dirençli olarak bulunan 68 *P. aeruginosa* izolatının çift disk sinerji testine göre 26'sı (%38.2), kombine disk difüzyon testine göre 25'i (%36.8), modifiye hodge testine göre 25'i (%36.8) MBL

Tablo 3. Nozokomiyal enfeksiyon etkeni *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının EUCAST 2022 ve CLSI 2022 sınır değerlerine göre antimikrobiyal duyarlılık durumları

	EUCAST						CLSI						
	Duyarlı (Standart Doz)		Duyarlı (Yüksek Doz)		Dirençli		Duyarlı		Orta Dirençli		Dirençli		<i>p</i>
Antibiyotik	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Amikasin	229	91.6	-	-	21	8.4	203	81.2	26	10.4	21	8.4	<0.001
Tobramisin	199	79.6	-	-	51	20.4	214	85.6	-	-	36	14.4	>0.05
Siprofloksasin	45	18	135	54	70	28	191	76.4	9	3.6	50	20	<0.001
Levofloksasin	24	9.6	171	68.4	55	22	169	67.6	36	14.4	45	18	<0.001
Piperasilin	2	0.8	124	49.6	124	49.6	-	-	-	-	-	-	-
Tikarsilin	16	6.4	156	62.4	78	31.2	-	-	-	-	-	-	-
Piperasilin-tazobaktam	15	6	161	64.4	74	29.6	-	-	-	-	-	-	-
Tikarsilin-klavulonikası	20	8	160	64	70	28	68	27.2	111	44.4	71	28.4	<0.001
Sefepim	2	0.8	123	49.2	125	50	166	66.4	29	11.6	55	22	<0.001
Seftazidim	5	2	171	68.4	74	29.6	-	-	-	-	-	-	-
Seftazidim-avibaktam	240	96	-	-	10	4	-	-	-	-	-	-	-
Seftolozan-tazobaktam	227	90.8	-	-	23	8.2	238	95.2	5	2	7	2.8	>0.05
Aztreonam	22	8.8	206	82.4	22	8.8	198	79.2	37	14.8	15	6	<0.001
İmipenem	17	6.8	165	66	68	27.2	188	75.2	10	4	52	20.8	<0.001
Meropenem	193	77.2	37	14.8	20	8	195	78	16	6.4	39	15.6	>0.05
Doripenem	34	6.8	148	66	68	27.2	193	77.2	19	7.6	38	15.2	<0.001

Tablo 4. MBL Test Sonuçları

Yöntem	Pozitif		Negatif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Çift Disk Sinerji	26	38.2	42	61.8	68	100
Kombine Disk Difüzyon	25	36.8	43	63.2	68	100
Modifiye Hodge	25	36.8	43	63.2	68	100

pozitif olarak saptandı. En fazla pozitiflik oranı çift disk sinerji testi (%38.2) ile bulunurken, MBL üretimin saptayabilmeleri yönünden testler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$) (Tablo 4).

TARTIŞMA

Çalışmamızda, nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatları en fazla solunum yolu örneklerinden (%42.8), ikinci sıklıkta idrar örneklerinden (%22.8) izole edildi. Benzer şekilde ülkemizden Erdoğan ve ark.⁽¹²⁾ çalışmalarına dâhil ettikleri 468 nozokomiyal

P. aeruginosa izolatının %51.7'si solunum yolu örneğidir. İnce ve ark.⁽¹³⁾ hastane enfeksiyonu olarak bildirdikleri *P. aeruginosa* suşlarının %49.1'ini solunum yolu örneklerinden izole etmişlerdir. 1997-2016 yıllarını arasında yapılan Avrupa, Latin ve Kuzey Amerika ile Asya-Pasifik bölgelerini kapsayan süveyans araştırmasında, hastane enfeksiyonu olarak izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının en sık pnömoni olgularından izole edildiği bildirilmiştir⁽¹⁴⁾.

Çalışmamızda, EUCAST-2022 ve CLSI-2022 kriterlerine göre belirlenen duyarlılık durumları karşılaştırıldığında, *P. aeruginosa* izolatlarının EUCAST kriterlerine göre amikasin'e daha duyarlı;

siprofloksasin, levofloksasin, tikarsilin-klavulonik asit, sefepim, aztreonam, imipenem ve doripenem daha dirençliydi. Genç-Bahçe ve ark.⁽¹⁵⁾ kan kültürlerinden izole ettikleri *P. aeruginosa* izolatlarında aztreonam direncinin EUCAST kriterlerine göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Maçin ve ark.⁽¹⁶⁾ klinik örneklerden izole ettikleri bakterilerin antibiyotik duyarlılık durumlarını EUCAST ve CLSI kriterlerine göre değerlendirmiş, *P. aeruginosa* izolatlarında gentamisin, seftazidim, sefepim, meropenem sonuçları arasında fark saptamamışlardır. Çalışmamızda, EUCAST kriterlerine göre direnç oranlarımızın daha yüksek olması, EUCAST-2022 kriterlerinde antibiyotik diski zon çapı aralıklarının genişletilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sefepim ve seftazidimin, *P. aeruginosa* izolatlarının etken olduğu nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde etkin bir antibiyotik olduğu bilinmektedir⁽¹⁷⁾. Çalışmamızda, CLSI ve EUCAST kriterlerine göre sırasıyla sefepim direncini %22 ve %50, seftazidim direncini EUCAST sınır değerine göre %29.6 olarak belirledik. Solunum yolundan izole ettiğimiz *P. aeruginosa* izolatlarında sefepim direncini EUCAST (%54.2) ve CLSI (%22.4) kriterlerine göre değerlendirdiğimizde, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptadık ($p<0.005$). Çeken ve ark.⁽¹⁸⁾ yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole ettikleri *P. aeruginosa* izolatlarında sefepim direncini %28.1, seftazidim direncini %29.4 olarak bildirmişlerdir. 1997-2016 yıllarını kapsayan, çok merkezli sürveyans çalışmasında, hastanede yatan hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında; sefepim ve seftazidim için en düşük direnç oranları Kuzey Amerika, en yüksek direnç oranları da Latin Amerika'dan bildirilmiştir⁽¹⁴⁾. Son yıllarda çoklu dirençli Gram negatif bakterilerin tedavisinde iki yeni seçenek ortaya çıkmıştır. Bunlardan biri beta laktamaz inhibitörü avibaktamın geniş spektrumlu bir sefalosporin olan seftazidime eklenmesiyle seftazidim-avibaktam kombinasyonu, diğeri de seftolozan-tazobaktam kombinasyonudur^(19,20). Seftolozan yeni bir sefalosporindir ve tazobaktam ile kombine edildiğinde *P. aeruginosa* izolatlarına karşı etkili betalaktam antibiyotik olduğu bildirilmiştir⁽¹⁾. Çalışmamızda, antibiyotik disk zon çaplarını EUCAST-2022 kriterlerine göre değerlendirdiğimizde, *P. aeruginosa* izolatlarının en duyarlı olduğu

antibiyotik seftazidim-avibaktam (%96), CLSI kriterlerine göre en duyarlı olduğu antibiyotik seftolozan-tazobaktamdı (%95.2). Solunum yolundan izole edilen 107 izolatın 10'u (%9.3) EUCAST kriterlerine göre seftolozan-tazobaktama dirençli bulunurken, CLSI kriterlerine göre yalnızca iki (%1.9) izolat seftolozan-tazobaktam dirençli olarak saptandı.

Bu çalışmada, nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatlarında CLSI-2022 ve EUCAST-2022 kriterlerine göre sırasıyla amikasin direnci %8.4 ve %8.4, tobramisin direnci %14.4 ve %20.4 olarak bulundu. Ülkemizden yapılan çeşitli çalışmalarda, Mansur ve ark. nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatlarında amikasin direncini %6, tobramisin direncini %10 olarak bildirmişlerdir⁽²¹⁾. Uludağ Altun ve ark.⁽²²⁾ çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *P. aeruginosa* izolatlarında amikasin direncinin %9, tobramisin direncinin %11 olduğunu açıklamışlardır. Çok merkezli sürveyans çalışmasında amikasin duyarlılığı %90.5 olarak bulunmuştur⁽¹⁴⁾.

Geniş spektrumlu beta laktam antibiyotiklerden olan karbapenemler, *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan etkin ilaçlardır⁽¹⁾. Bununla birlikte, karbapenemlerin yaygın kullanımı karbapenem dirençli *P. aeruginosa* izolatlarının görülmesine ve tedavi seçeneklerinin kısıtlanmasına yol açmaktadır^(1,20). Çalışmamızda, EUCAST-2022 kriterlerine göre imipenem ve doripenem direncini %27.2, meropenem direncini %8 olarak bulduk. Hastane enfeksiyonu etkeni *P. aeruginosa* izolatlarında imipenem ve meropenem direncini İnce ve ark. sırasıyla %48 ve %56 olarak bildirmişlerdir⁽¹³⁾. Hazirolan ve ark.⁽²³⁾ nozokomiyal enfeksiyon etkeni *Pseudomonas* türlerinde imipenem direncini %61.8 bulmuşlardır. Latin Amerika'da 2002-2013 yılları arasında nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatları üzerine yapılan tüm çalışmaların toplandığı bir derlemede, *P. aeruginosa* izolatlarında imipenem direncinin %57, meropenem direncinin %52'ye ulaştığı rapor edilmiştir⁽²⁴⁾. *P. aeruginosa* izolatlarında meropenem direncinin Kuzey Amerika'da en düşük, Latin Amerika'da en yüksek olduğu bildirilmiştir⁽¹⁴⁾.

Çalışmamızda, nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatlarında EUCAST-2022 kriterlerine göre çoklu ilaç direnci (%98) olarak belirlendi. Çoklu direnç

oranimizin yüksek bulunması temel aldığımız EUCAST-2022 kriterlerindeki antibiyotik diski zon çapı aralıklarının genişletilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

MBL üreten bakterilerin erken tanısı ve yayılmasının kontrol altına alınması önemlidir. MBL üretiminin saptanmasında altın standart yöntem MBL üretiminden sorumlu genlerin polimeraz zincir reaksiyonu ve sekans analizi gibi moleküler tekniklerle tespit edilmesidir. Fakat bu yöntemlerin özel ekipman gerektirmeleri, pahalı ve zaman alıcı olmaları nedeniyle laboratuvarların rutin işlemleri içinde yer almaları çoğu zaman mümkün olamamaktadır⁽²⁵⁾. Bunun için mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanan basit birçok fenotipik yöntem vardır. IMP-EDTA çift disk sinerji testi, IMP-EDTA kombine disk testi, modifiye hodge testi, E-Test metallo beta-laktamaz saptanmasında kullanılan tarama testleridir⁽⁸⁾. Çalışmamızda, disk difüzyon yöntemiyle karbapenem direnci tespit edilen 68 *P. aeruginosa* izolatında çift disk sinerji testi ile %38.2, kombine disk difüzyon testi ile %36.8 ve modifiye hodge testi ile %36.8 oranında MBL varlığı saptandı ve üç yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Ülkemizden Aksoy ve Tuğrul⁽²⁶⁾; 35 *P. aeruginosa* izolatında çift disk sinerji testi ile %42.8, kombine disk difüzyon testi ile %94.2, E-Test ile %54.2 oranında MBL pozitifliği saptarken, Modifiye hodge testi ve genotipik yöntem ile MBL direnci saptamamışlardır. Yaman ve ark.⁽²⁷⁾ hastane enfeksiyonu etkeni imipenem dirençli *P. aeruginosa* izolatlarının kombine disk testi ile 53 (%85)'ünde MBL varlığı belirlemişlerdi. Ülkemizde 2020 yılında yapılan bir başka çalışmada, karbapenem dirençli 57 *P. aeruginosa* suşunda kombine disk difüzyon testi ile %63.7, E-Test ile %27 MBL pozitifliği bildirilmiştir⁽²⁸⁾.

Bu araştırmanın kısıtlılığı, fenotipik yöntemlerle saptadığımız MBL aktivitesi genotipik yöntemlerle doğrulanamamasıdır. Ayrıca çalışmamız tek merkezli bir çalışma olup, ülke/dünya verileri ile karşılaştırabilmek için daha geniş kapsamlı çok merkezli çalışmaların gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde ettiğimiz veriler; EUCAST kriterlerine göre değerlendirildiğinde, nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatlarında

siprofloksasin, levofloksasin, tikarsilin-klavulonik asit, sefepim, aztreonam ve imipenem direncinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ek olarak MBL üretiminin ve çoklu ilaç direnci sıklığının nozokomiyal *P. aeruginosa* izolatlarında yaygın olarak görülmesi, tedavi seçeneklerinin önemli ölçüde kısıtlanmasına yol açmaktadır. Tedavide uygun antimikrobiyal ajanın seçimi, direnç gelişimin ve yayılımının yakın takibi için; antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanmasının yanı sıra fenotipik yöntemlerle MBL varlığının da araştırılması oldukça önemlidir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dekanlığı, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (17.02.2022 tarih ve 22-KAEK-030 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Bu çalışma kısmi olarak Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No. 2020/43) tarafından desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Tokat Gaziosmanpaşa University, Faculty of Medicine, Clinical Research Ethics Committee (02.17.2019; 22-KAEK-030).

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

Funding: The research particularly financed by Tokat Gaziosmanpaşa University, Scientific Research Project (Project No. 2020/43).

KAYNAKLAR

1. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*. 2007;67(3):351-68. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767030-00003>
2. Rossolini GM, Montengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect*. 2005;11(Suppl 4):17-32. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01161.x>
3. EUCAST. Breakpoint tables for 2022. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. [https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/] (Erişim tarihi: Ocak 2022).

4. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100- Ed32. Clinical and Laboratory Standards Institute.
5. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001;14(4):933-51.
<https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
6. Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picão RC, Gales AC. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010;8(1):71-93.
<https://doi.org/10.1586/eri.09.108>
7. Dortet L, Boulanger A, Poiriel L, Nordmann P. Bloodstream infections caused by *Pseudomonas* spp.: How to detect carbapenemase producers directly from blood cultures. J Clin Microbiol. 2014;52(4):1269-73.
<https://doi.org/10.1128/JCM.03346-13>
8. Baumgart AM, Molinari MA, Silveira AC. Prevalence of carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in high complexity hospital. Braz J Infect Dis. 2010;14(5):433-6.
<https://doi.org/10.1590/s1413-86702010000500002>
9. Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Sharma V. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*. Indian J Med Microbiol. 2008;26(3):233-7.
<https://doi.org/10.4103/0255-0857.39587>
10. Franklin C, Liolios L, Peleg AY. Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo-beta-lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory. J Clin Microbiol. 2006;44(9):3139-44.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00879-06>
11. CLSI. Screening and Confirmatory Tests for Suspected Carbapenemases Production. Vol: 20 Supplemental Table 2A-S2. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.
12. Erdoğan MM, Acun Delen L, Erdoğan E. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılığı. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi. 2021;9(1):230-7.
<https://doi.org/10.33715/inonusaglik.826224>
13. İnce N, Geyik MF, Özdemir D, Daniş A. Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının yıllara göre antibiyotik duyarlılıklarının karşılaştırılması. ANKEM Derg. 2014;28(3):94-9.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2014.094>
14. Shortridge D, Gales AC, Streit JM, Huband MD, Tsakris A, Jones RN. Geographic and temporal patterns of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* over 20 years from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-2016. Open Forum Infect Dis. 2019;15(6(Suppl 1)):63-8.
<https://doi.org/10.1093/ofid/ofy343>
15. Genç-Bahçe Y, Baran I, Aksoy A. Kan kültürlerinden izole edilen bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıklarının araştırılmasında CLSI ve EUCAST standartlarının karşılaştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2020;77(1):3-14.
<https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2019.32549>
16. Maçın S, Akyön-Yılmaz Y, Özden Ö, Gür D. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının EUCAST ve CLSI'ya göre yorumlanması: Hacettepe deneyimi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2017;47(1):21-5.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2017.021>
17. Yüce A, Yapar N, Eren Kutsoylu O. İzmir Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi yoğun bakım hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. suşlarının 2000-2002 ve 2003-2006 yıllarında saptanan antibiyotik duyarlılık paternlerinin değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2009;43(2):195-202.
18. Ceken N, Duran H, Atik B. The profile of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from in intensive care units over a four-year span. Pam Med J. 2021;14(2):306-11.
<https://doi.org/10.31362/patd.789332>
19. Sader HS, Castanheira M, Shortridge D, Mendes RE, Flamm RK. Antimicrobial activity of ceftazidime-avibactam tested against multidrug-resistant enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from U.S. Medical Centers, 2013 to 2016. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(11):e01045-17.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01045-17>
20. Shortridge D, Pfaller MA, Castanheira M, Flamm RK. Antimicrobial activity of ceftolozane-tazobactam tested against Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* collected from patients with bloodstream infections isolated in United States hospitals (2013-2015) as part of the Program to Assess Ceftolozane-Tazobactam Susceptibility (PACTS) surveillance program. Diagn Microbiol Infect Dis. 2018;92(2):158-63.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.05.011>
21. Mansur A, Ay S, Ersoy Y. Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antibiyotik duyarlılık oranları. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi. 2013;20(2):138-42.

22. Uludağ Altun H, Ak S. İkinci basamak bir hastanede izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. Ege Tıp Dergisi. 2012;51(4):249-52.
23. Hazirolan G, Kanyılmaz D, Mumcuoğlu İ, Bodur H, Yetkin MA, Aksu N. Nozokomiyal infeksiyon etkeni gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere karşı direnç durumu: Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sürveyans Verisi (2011-2015). ANKEM Derg. 2016;30(1):24-30.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2016.024>
24. Labarca JA, Salles MJ, Seas C, Guzmán-Blanco M. Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in the nosocomial setting in Latin America. Crit Rev Microbiol. 2016;42(2):276-92.
<https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.940494>
25. Guzel M, Afsar Y, Akdogan D, Moncheva P, Hristova P, Erdem G. Evaluation of metallo-beta-lactamase production in multiple antibiotic-resistant *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter baumannii* strains. Biotechnol Biotechnol Equip. 2018;32(5):1285-90.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2018.1500146>
26. Aksoy MD, Tuğrul HM. Karbapenemlere dirençli *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde metallo-beta-laktamaz enzimlerinin fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Flora. 2020;25(3):301-7.
<https://doi.org/10.5578/flora.68921>
27. Yaman G, Çıkman A, Parlak M, Gündüçüoğlu H, Berktaş M. Nozokomiyal kökenli *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz sıklığı. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2014;44(4):139-43.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2014.139>
28. Vural E, Delialioğlu N, Tezcan Ulger S, Emekdas G, Serin M S. Phenotypic and molecular detection of the metallo-beta-lactamases in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from clinical samples. Jundishapur J Microbiol. 2020;13(2):e90034.
<https://doi.org/10.5812/jjm.90034>

Gram Negatif Bakterilerde Modifiye Sıvı Disk Elüsyon Yöntemi ile Kolistin Direncinin Belirlenmesi

Determination of Colistin Resistance in Gram Negative Bacteria by Modified Broth Disk Elution Method

Nazmiye Ülkü Tüzemen[®], Özlem Işık[®], Bekir Akça[®], Cüneyt Özakin[®]

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

Atıf/Cite as: Tüzemen NÜ, Işık Ö, Akça B, Özakin C. Gram negatif bakterilerde modifiye sıvı disk elüsyon yöntemi ile kolistin direncinin belirlenmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):184-191.

Öz

Amaç: Çalışmamız, kolistin direncini malzeme ve iş yükünden tasarruf ederek sıvı disk elüsyon (SDE) yönteminde kullanılan tüp ve kolistin diski sayısını azaltarak, iş yükü fazla olan tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarının kullanabileceği alternatif bir yöntemi sunmak ve referans yöntem ile performansını karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Hastanemizde 2020-2022 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 adet otomatize sistem ile kolistin duyarlı, 50 adet kolistin dirençli Gram negatif bakteri çalışmaya alınmıştır. Tek tüp ile yapılan modifiye SDE yönteminin ve otomatize sistemin sonuçları, referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon (SMD) yöntemi ile kategorik uyum (KU), çok büyük hata (ÇBH) ve büyük hata (BH) oranları ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Otomatize sistemin tüm izolatlarda KU %86, ÇBH oranı %10.7 ve BH oranı %3.3 olarak bulunmuştur. Modifiye SDE yönteminin ise tüm izolatlarda KU %80, ÇBH oranı %4 ve BH oranı %16 olarak bulunmuştur. Otomatize sistemde ÇBH olarak yorumlanan 16 izolatın 10'u (%62.5) modifiye SDE yönteminde olması gerektiği gibi dirençli, BH olarak yorumlanan beş izolatın üçü (%60) ise modifiye SDE yönteminde olması gerektiği gibi duyarlı olarak saptanmıştır.

Sonuç: Çoğu mikrobiyoloji laboratuvarında antibiyotik duyarlılık testinde kullanılan otomatize sistemin KU'mu ISO standartlarına yakın olmasına rağmen, kolistin duyarlılığı açısından ÇBH oranının çok fazla olduğu, bunların modifiye SDE yöntemi ile çalışıldığında bu oranın azaldığı saptanmıştır. Özellikle günlük antibiyogram sayısı fazla olan mikrobiyoloji laboratuvarlarında kolistin duyarlılık sonuçlarının SMD yöntemi ile çalışılmadığı durumlarda, Enterobacteriaceae ve Pseudomonas spp. izolatlarında otomatize sistemde kolistin duyarlı ise modifiye SDE yöntemi ile çalışılmasının daha güvenilir bir sonuç verdiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Kolistin sıvı disk elüsyon yöntemi, BD Phoenix sistemi, kolistin sıvı mikrodilüsyon yöntemi

ABSTRACT

Objective: The aims of this study were to evaluate the performance of the Modified Broth Disk Elution (BDE) test with diminished test tubes and colistin disks, compare it with the reference method and consequently hope to present an alternative method for busy microbiology laboratories.

Method: A total of 100 colistin-susceptible and 50 colistin-resistant gram-negative bacteria, isolated from various clinical samples in our hospital between 2020-2022 with the automated system were included in this study. The results of the modified BDE method and the automated system were compared with the reference method as broth microdilution (BMD), with categorical agreement (CA), very major error (VME) and major error (ME) rates.

Results: Overall, the categorical agreement (CA) rate of the automated system was 86%, VME rate was 10.7%, and ME rate was 3.3%. In the modified BDE method, these rates were 80%, 4% and 16%, respectively. Ten of the 16 (62.5%) isolates which were interpreted as VME in the automated system, were found to be resistant in modified BDE method. Similarly, three of five (60%) isolates which were interpreted as ME, were found to be susceptible in the modified BDE method.

Conclusion: Although the CA of the automated system is close to ISO standards, it was found that the rate of VME was very high in terms of colistin sensitivity, and this rate decreased when these were studied with the modified BDE method. When colistin susceptibility tests could not be studied with the BMD method, and if isolates of Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. are found as susceptible in the automated system, the modified BDE method gives more reliable results.

Keywords: Colistin broth disk elution method, BD Phoenix system, colistin broth microdilution method

Alındığı tarih / Received:

17.05.2022 / 17.May.2022

Kabul tarihi / Accepted:

10.06.2022 / 10.June.2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

N. Ü. Tüzemen 0000-0003-3544-3509

Ö. Işık 0000-0002-0928-0008

B. Akça 0000-0002-2153-6627

C. Özakin 0000-0001-5428-3630

✉ utuzemen@uludag.edu.tr

GİRİŞ

Antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonlarla savaşmak amacıyla insanlarda olduğu gibi hayvancılık ve su ürünleri yetiştiriciliğinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin gözetimsiz ve sürekli olarak kullanımı, bakteriler üzerinde seçici baskıya ve antibiyotik direnci prevalansında artışa yol açmaktadır. Antibiyotiğe dirençli bakteriler ve ilişkili antibiyotik direnç genleri çevresel kirleticiler olarak kabul edilirler^(1,2). Polimiksinler, ribozomal olmayan siklik oligopeptit yapıda antibiyotikler olup, kimyasal olarak ayırt edilebilen beş bileşiği (polimiksinler A, B, C, D ve E) mevcuttur. Polimiksin B ve kolistin (polimiksin E) şu anda piyasada bulunan iki polimiksin⁽²⁾. Kolistin *Bacillus polymyxa*'dan üretilmiş olup, ilk olarak 1947 yılında klinik kullanıma girmiş, ancak daha sonra toksisitesi nedeniyle kullanımı azalmıştır⁽³⁾. Çoklu ilaca dirençli (MDR), aşırı artmış direnç (XDR) ve tüm ilaçlara dirençli (PDR) olguların ortaya çıkması, şiddetli bakteriyel enfeksiyonlara karşı son çare bir ilaç olan kolistin yeniden kullanılmasına yol açmıştır^(1,2).

Kolistin katyonik bir peptiddir ve Gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan anyonik yapıdaki lipopolisakkaridlere bağlanır. Lipopolisakkarid moleküllerini bir arada stabil hâlde tutan divalent katyonların (Ca^{+2} , Mg^{+2}) yerini değiştirir ve bunun sonucu olarak dış membranda permeabilite artışı ve bakterinin ölümüne neden olur⁽⁴⁾. Polimiksin grubu antibiyotiklere direnç çeşitli mekanizmalarla olmaktadır. Bunlardan bazıları (i) dış membran porinlerinin spesifik modifikasyonu ve lipopolisakkaritlerin toplam negatif yükündeki azalmalar, (ii) dışa akış pompa sistemlerinin aşırı ekspresyonu, (iii) kapsül polisakkaritinin aşırı üretimi ve (iv) şimdiye kadar enzimatik direnç mekanizmaları rapor edilmemiş olsa da, *B. polymyxa* suşlarının kolistinaz ürettiği bilinmektedir⁽⁵⁾. Fakat son yıllarda, edinilmiş kolistin direnci olguları bildirilmektedir. Kolistin direncinin kazanılmasına ya bir plazmitin (*mcr-1* ve *mcr-2*) aracılık ettiği ya da iki bileşenli PhoP/PhoQ ve PmrAB düzenleyici sistemlerindeki değişikliklerin veya mgrB dizisinin kesintiye uğramasının neden olduğu bulunmuştur⁽⁶⁾. Plazmit aracılı kolistin direncine yol açan *mcr-1* proteini ilk kez 2015 yılında *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*

izolatlarında tanımlanmış ve bunu takiben 2016 yılında *mcr-2* proteini tanımlanmıştır. Plazmit aracılı direnç mekanizmaları, yatay gen transferi ile hızlı bir şekilde türler arasında yayılım göstermesi ve salgın oluşturma potansiyeli taşımasından dolayı, klinik ve epidemiyolojik açılarından oldukça önemlidir⁽⁷⁾. Ülkemizde ilk kez 2018 yılında *mcr-1* geni taşıyan *E. coli* suşu izole edilmiş⁽⁸⁾ ve bu tarihten itibaren kolistin direnci ülkemizde giderek artmıştır.

Kolistin büyük ve amfipatik yapısı, agarda difüzyonunu zorlaştırmakta ve bu nedenle duyarlılık testlerinde disk difüzyon ve gradiyen difüzyon metodunun kullanılması önerilmemektedir^(9,10). 2017 yılında "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" ve "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" Polimiksin Eşik Değer Belirleme Çalışma Grubu çalışma grubu, ISO 20776 standardı gereğince kolistin duyarlılığının belirlenmesi için, sıvı mikrodilüsyon (SMD) yöntemini "referans yöntem" olarak belirlemiştir⁽¹¹⁾. Fakat SMD yöntemi pratik bir yöntem olmadığı için rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık uygulanmamaktadır. Ekim 2018 yılında Simner ve ark.⁽¹²⁾ kolistin sıvı disk elüsyon (SDE) yöntemini tanımlamışlardır. Çalışmamız iş yükü fazla olan tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarının kullanabileceği alternatif bir yöntemi sunmak amacıyla yapılmıştır. Kolistin direncini, malzeme ve iş yükünden tasarruf ederek modifiye bir SDE yöntemini geliştirmek ve referans yöntem ile performansını karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (11.05.2022 tarih ve 2022-10/38 Karar No.) onaylanmıştır.

Bakteri izolatları: Nisan 2020 ile Nisan 2022 tarihleri arasında hastanemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen, "matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry" (MALDI-TOF MS) (Bruker Daltonik, Bremen, Almanya) ile isimlendirilen, 100 adet Phoenix™ M50 (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemiyle

kolistin duyarlı, 50 adet kolistin dirençli Gram negatif bakteri izolatu randomize olarak seçilmiştir. Yapılan bir çalışmada, Phoenix otomatize sistemiyle dirençli kolistin suşlarının tümünün referans yöntem olan SMD yöntemi ile de dirençli saptanması nedeniyle dirençli suş sayısını daha az tutulmuştur⁽¹³⁾. Farklı zaman dilimlerinde yatan her hastadan yalnızca bir izolat çalışmaya dâhil edilmiştir. *E. coli* ATCC 25922 (kolistin duyarlı) ve *E. coli* NTCC 13846 (kolistin dirençli) kalite kontrol suşu olarak kullanılmıştır. İzolatlar çalışılana kadar -70°C'de gliserollü saklama besiyerlerinde korunmuştur.

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi: Aktif madde olan kolistin sülfat (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) üreticinin önerileri doğrultusunda süspansiyon hâline getirilerek stok solüsyonlar hazırlanmıştır. Stok solüsyondan Mueller-Hinton sıvı besiyerinde seri dilüsyonlar (0.125-64 µg/ml) hazırlanarak mikrodilüsyon plaklarına aktarılmıştır. Tüm izolatlardan 0.5 McFarland standardı bulanıklığında süspansiyon hazırlandıktan sonra son bakteri konsantrasyonu 5×10⁵ CFU/ml olacak şekilde mikrodilüsyon plaklarına eklenmiştir. Mikroplaklar 18-20 saat 35°C'de inkübe edilmiştir. Üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon kolistin için MİK değeri olarak belirlenmiştir. Her bir mikroplakta *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* NTCC 13846 kalite kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

Modifiye sıvı disk elüsyon testi: Simner'in⁽¹²⁾ SDE yönteminde 10 ml katyon eklenmiş Mueller Hinton sıvı besiyeri içeren dört adet tüp kullanılır. İlk tüp üreme kontrolü olarak kullanılır ve içerisine kolistin diski (10 µg) konmaz. Çalışmadan en az yarım saat önce ikinci, üçüncü ve dördüncü tüplere sırasıyla bir, iki ve dört adet kolistin diski (10 µg) eklenir ve oda ısısında inkübe edilir. Her tüpe 0.5 McFarland standardı bulanıklığına eşdeğer bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonundan 50 µl eklenerek son bakteri konsantrasyonu 7.5×10⁵ CFU/ml olacak şekilde süspansiyon hazırlanır. 35°C'de 16-20 saat inkübasyon sonrası minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri hesaplanır. EUCAST standartlarına göre kolistin MİK değeri Enterobacteriaceae ve *Acinetobacter* spp. için 2 µg/ml, *Pseudomonas* spp. için 4 µg/ml'dir⁽¹⁴⁾.

Çalışmamızda, Simner'in⁽¹²⁾ bu yöntemi modifiye edilmiştir. Beş ml katyon eklenmiş Mueller Hinton sıvı besiyeri içerisine Enterobacteriaceae ve *Acinetobacter* spp. için bir adet kolistin diski konularak MİK değeri 2 µg/ml olan kolistin SDE tüpü, *Pseudomonas* spp. için iki adet kolistin diski konularak MİK değeri 4 µg/ml olan kolistin SDE tüpü ile çalışılmıştır. Her tüpe 0.5 McFarland standardı bulanıklığına eşdeğer bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonundan 25 µl eklenerek 35°C'de 16-20 saat inkübasyon sonrası bu tüpte bulanıklık olması durumunda kolistin dirençli, bulanıklık olmaması durumunda duyarlı olarak yorumlanmıştır. Kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* NTCC 13846 kullanılmıştır.

Yöntemlerin karşılaştırılması: Kategorik uyum (KU) test suşunun CLSI, EUCAST vb. kriterlerine göre yorumlanan duyarlılık sonuçlarının (duyarlı, yüksek dozda duyarlı, dirençli) uyumu; temel uyum (TU) ise test edilen suşun antibiyotik MİK'inin ±1 çift kat dilüsyon içindeki uyumu olarak tanımlanır. Küçük hata (KH) bir antibiyotik duyarlılık testinde yüksek dozda duyarlı sonuç bulunurken, referans testinde duyarlı veya dirençli sonuç alınması anlamına gelmektedir. Çok büyük hata (ÇBH) referans test yöntemiyle dirençli bulunan bir suşun, test edilecek antibiyotik duyarlılık testiyle duyarlı sonuç vermesi anlamına gelmektedir. Büyük hata (BH) ise referans test yöntemiyle duyarlı bulunan bir suşun, test edilecek antibiyotik duyarlılık testiyle dirençli sonuç vermesi demektir⁽¹⁵⁾. Referans test olan SMD sonuçlarıyla, Phoenix™ M50 ve modifiye SDE yöntemi sonuçları karşılaştırılmış ve KU, ÇBH ve BH oranları hesaplanmıştır. ISO⁽¹⁶⁾ tarafından belirlenen kriterlere göre kabul edilebilir performans, KU için ≥%90; ÇBH ve BH'ler için ≤%3 olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda, 80 *Acinetobacter* spp. (79 *Acinetobacter baumannii*, 1 *Acinetobacter nosocomialis*), 54 Enterobacteriaceae (45 *Klebsiella pneumoniae*, 5 *E. coli*, 1 *Enterobacter asburiae*, 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *Klebsiella oxytoca*, 1 *Klebsiella variicola*) ve 16 *Pseudomonas* spp. (15 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *Pseudomonas putida*) olmak üzere

150 suş kullanılmıştır. Çalışma izolatlarının klinik dağılımı; %60.6 (n=91) erişkin yoğun bakım klinikleri, %16.7 (n=25) erişkin cerrahi branş klinikleri, %12 (n=18) erişkin dâhili branş klinikleri, %10.7 (n=16) çocuk sağlığı klinikleri şeklindedir. İzolatların %53.3'ü (n=80) solunum yolu örneği, %23.3'ü (n=35) steril vücut sıvısı örneği, %22.7'si (n=34) yara yeri ve ameliyat materyali örneği, %0.7'si (n=1) idrar örneğidir. Tüm izolatların referans yöntem olan SMD yöntemi ile MİK değerlerinin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Referans yöntem ile kıyaslandığında, Phoenix Sisteminin tüm izolatlarda KU %86 ile ÇBH oranı %10.7, BH oranı %3.3 olarak bulunmuştur (Tablo 2). Phoenix Sisteminde ÇBH olarak yorumlanan 16 izolatın

14'ü *Acinetobacter baumannii*, ikisi *K. pneumoniae* izolatıdır. Bu 14 *A. baumannii* izolatının modifiye SDE yönteminde sekizi (%57.1) dirençli, altısı (%42.9) duyarlı olarak saptanmıştır. Phoenix Sisteminde ÇBH olarak yorumlanan iki *K. pneumoniae* izolatı modifiye SDE yönteminde referans yöntemde olduğu gibi dirençli olarak belirlenmiştir. Phoenix Sisteminde BH olarak yorumlanan beş izolatın dağılımı ise bir *K. oxytoca*, bir *K. pneumoniae*, iki *A. baumannii* ve bir *P. aeruginosa* şeklindedir. *A. baumannii* izolatlarından biri modifiye SDE yöntemi ile duyarlı, biri dirençli saptanmıştır. *Enterobacteriaceae* ailesinden olan *Klebsiella* spp. suşlarından da biri modifiye SDE yöntemi ile duyarlı, biri dirençli saptanmıştır. *P. aeruginosa* suşu ise modifiye SDE yöntemi ile referans yöntemde olduğu gibi duyarlı olarak saptanmıştır.

Tablo 1. İzolatların sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerlerine göre dağılımı

Mikroorganizma	İzolatların MİK değerlerine göre dağılımı (µg/ml)											
	<0.5	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256
<i>Acinetobacter spp.</i>	19	0	25	8	7	3	2	2	2	2	2	8
<i>Enterobacteriaceae</i>	19	0	2	0	2	3	4	9	9	5	1	0
<i>Pseudomonas spp.</i>	3	0	10	1	2	0	0	0	0	0	0	0
Total	41	0	37	9	11	6	6	11	11	7	3	8

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu.

Tablo 2. İzolatların kolistin duyarlılığının sıvı mikrodilüsyon yöntemi, Phoenix sistemi ve modifiye sıvı disk elüsyon yöntemi ile karşılaştırılması

Yöntem	İzolat Grupları	Duyarlı	Dirençli	KU	ÇBH	BH
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
SMD	Tüm izolatlar	89 (59.3)	61 (40.7)			
	<i>Acinetobacter spp.</i>	52 (65)	28 (35)			
	<i>Enterobacteriaceae</i>	21 (38.9)	33 (61.1)			
	<i>Pseudomonas spp.</i>	16 (100)	0			
Phoenix Sistemi	Tüm izolatlar	100 (66.7)	50 (33.3)	129 (86)	16 (10.7)	5 (3.3)
	<i>Acinetobacter spp.</i>	64 (80)	16 (20)	64 (80)	14 (17.5)	2 (2.5)
	<i>Enterobacteriaceae</i>	21 (38.9)	33 (61.1)	50 (92.6)	2 (3.7)	2 (3.7)
	<i>Pseudomonas spp.</i>	15 (93.7)	1 (6.2)	15 (93.7)	0	1 (6.2)
Modifiye SDE	Tüm izolatlar	71 (47.3)	79 (52.7)	120 (80)	6 (4)	24 (16)
	<i>Acinetobacter spp.</i>	42 (52.5)	38 (47.5)	58 (72.5)	6 (7.5)	16 (20)
	<i>Enterobacteriaceae</i>	13 (24.1)	41 (75.9)	46 (85.2)	0	8 (14.8)
	<i>Pseudomonas spp.</i>	16 (100)	0	16 (100)	0	0

TARTIŞMA

Geniş spektrumlu beta-laktamaz ve karbapenemaz direnci, *Enterobacteriaceae*'lerde MDR ortaya çıkmasına neden olurken, bu durum uygun antibiyoterapi seçiminde zorluk yaratmış ve kolistin kullanımında artışa neden olmuştur. Fakat günümüzde kolistin direncinin de giderek yaygınlaşmasıyla tedavi seçenekleri giderek azalmıştır. Plazmit aracılı *mcr-1* geninin yayılması ile kolistin direnci hayvanlar, gıda ürünleri ve insanlar gibi çok çeşitli konakçılar arasında kısa sürede yayılmıştır^(17,18). Amerika'da 2017 yılında çok merkezli yapılan iki çalışmada, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direnci oranı %13 ve %16 olarak bildirilirken, İtalya'da 2014 yılında yapılan çok merkezli çalışmada aynı oran %43 olarak bildirilmiştir⁽¹⁹⁾. Ülkemizde 2018 yılında karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'larda (CRE) yapılan bir çalışmada, referans yöntem olan SMD ile kolistin direncinin %76.19 olduğu ve MDR ve XDR suşları için düzenli bir izleme sistemine gereksinim duyulduğu bildirilmiştir⁽²⁰⁾. Ülkemizde 2017 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada, *mcr-1* veya *mcr-2* gen bölgesi saptanmamış olmasına rağmen, ilk kez 2018 yılında *mcr-1* geni taşıyan *E. coli* suşu izole edilmiş^(7,8) ve bu tarihten itibaren kolistin direnci ülkemizde giderek artmıştır. Ülkemizdeki bu yüksek direnç oranı⁽²⁰⁾, *mcr-1* geninin yayılması ile kolistin direncinin artışını dramatik olarak göstermesi açısından anlamlıdır.

Sıvı disk elüsyon yöntemi ilk defa yaklaşık 45 yıl önce tanımlanmış olup, anaeoplalar için CLSI tarafından onaylanmıştır⁽¹⁹⁾. Kolistin için ise ilk defa Ekim 2018'de Simner ve ark.⁽¹²⁾ klinik laboratuvarların kullanımına uygun olarak SDE metodunu geliştirmiş ve referans yöntem ile karşılaştırıldığında, KU'un %98, TU'un %99 olduğunu bildirmişlerdir. CLSI ise bu yöntemi 2019 yılında yaptığı bir çalışmanın verilerini yayınlarak *Enterobacteriaceae* ve *P. aeruginosa* için onayladığını ve KU'un %97.9, ÇBH oranının %3.2 ve BH oranının %0.9 olduğunu bildirmiştir⁽²¹⁾. Bell ve ark.⁽²²⁾ ise bu yöntemi biraz daha geliştirmiş, plazmit aracılı kolistin direncini tespit etmek amacıyla EDTA varlığında kolistin MİK'deki azalmayı araştırmış ve EDTA'lı SDE MİK değeri ile EDTA'sız SDE MİK değerini karşılaştırmışlardır. EDTA'lı SDE yönteminin moleküler genotip sonuçlarının duyarlılığının %100,

özellikliğünün ise %95.8 olduğunu bildirmişlerdir. Fenwick ve ark.⁽²³⁾ EDTA'lı kolistin SDE yöntemi ile plazmid aracılı kolistin direncini araştırmış, moleküler yöntemlerle doğruladıkları Gram negatif basillerdeki *mcr* geni pozitifliği ile karşılaştırmış ve pozitif prediktif değerin %100, negatif prediktif değerin ise %94.3 olduğunu bildirmişlerdir. Cielo ve ark.⁽²⁴⁾ ise polimiksin B için SDE yöntemini referans metot ile karşılaştırmış ve KU'un %99.5, BH'nın %0, ÇBH'nın %1.11 olduğunu bildirmişlerdir. Fransa'da yapılan bir çalışmada, CRE izolatlarında kolistin direncini belirlemek için altı fenotipik yöntem ile SMD yöntemi karşılaştırılmış ve kolistin SDE yönteminin kategorik uyumunun %100 olduğu bildirilmiştir⁽²⁵⁾. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise, kolistin SDE testi SMD yöntemi ile karşılaştırılmış ve KU %99.3, ÇBH oranı, %0.2 ve BH oranı %0.5 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada, BD Phoenix yönteminin KU %95, ÇBH oranı %5 olarak bildirilmiştir⁽⁹⁾.

Brezilya'da yapılan bir çalışmada, kolistin direncini tespit etmek için yöntemimize benzer bir yöntem uygulanmış, kolistin elüsyon duyarlılık tarama test tüpü yöntemi ile SMD yöntemi karşılaştırılmış⁽²⁶⁾. Beş ml katyon eklenmiş Mueller Hinton sıvı besiyeri içerisine tüm Gram negatif bakteriler için (*Pseudomonas* spp. dâhil) bir adet kolistin diski konularak, ek olarak üreme kontrolü için kolistin diski olmayan 5 ml katyon eklenmiş Mueller Hinton sıvı besiyeri ile birlikte çalışmışlar. *Enterobacteriaceae* için KU'un %91.18, ÇBH oranının %6.98 ve BH oranının %12 olduğunu bildirmişlerdir. Non-fermentatif Gram negatif bakteriler için KU'un 82.35, ÇBH oranının %37.5 ve BH oranının %0 olduğunu açıklamışlardır⁽²⁶⁾.

Laboratuvarımızda Phoenix™ M50 otomatize sistemi kullanılmaktadır. Daha önce laboratuvarımızda otomatize sistem ile kolistin dirençli Gram negatif bakteriler ile yaptığımız çalışmada, otomatize sistemin KU'u tüm izolatlar için %92, *K. pneumoniae* için %100, *A. baumannii* için %77.8 ve *P. aeruginosa* için %60 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, kolistin direnci yeni artmaya başladığı için otomatize sistemde kolistin duyarlı örnekler çalışılmamıştır⁽²⁷⁾. Şimdiki çalışmamızda ise hem kolistin dirençli hem de kolistin duyarlı örnekler birlikte çalışılmıştır. Otomatize sistemin KU'u tüm izolatlar için %86,

Enterobacteriaceae için %92.6, *Acinetobacter* spp. için %80 ve *Pseudomonas* spp. için %93.7 olduğu ve ISO standartlarına göre *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* spp. için yapılan kolistin duyarlılık sonucunun kabul edilebilir düzeyde olduğu saptanmıştır. Modifiye SDE yönteminin KU ise tüm izolatlar için %80, *Enterobacteriaceae* için %85.2, *Acinetobacter* spp. için %72.5 ve *Pseudomonas* spp. için %100 olarak saptanmıştır. Bu yöntemle ise yalnızca *Pseudomonas* spp. izolatlarında kabul edilebilir düzeyde bulunmuştur.

Çok büyük hata otomatize sistemin duyarlı sonuç verip referans yöntem ile sonucun aslında dirençli olması demektir. Phoenix™ M50 otomatize sisteminde tüm izolatlar için ÇBH oranı %10.7, *Acinetobacter* spp. için %17.5, *Enterobacteriaceae* için %3.7 ve *Pseudomonas* spp. için %0 olarak bulunmuştur. En fazla ÇBH oranının *Acinetobacter* spp. izolatlarında olduğu ve ISO standartlarına uygun olmadığı saptanmıştır. Bu izolatları modifiye SDE yöntemi ile çalıştığımızda, sekizinin (%57.1) referans yöntemde olması gerektiği gibi dirençli, altısının (%42.9) ise yine duyarlı olduğu bulunmuştur. ÇBH sonucu veren iki *Enterobacteriaceae* (*K. pneumoniae*) modifiye SDE yönteminde de olması gerektiği gibi dirençli olarak saptanmıştır. Modifiye SDE yönteminde ise tüm izolatlarda ÇBH oranı %4 olup, *Acinetobacter* spp. izolatlarında %6, diğer izolatlarda ise ÇBH oranının gözlemlenmediği saptanmıştır. CLSI'nin SDE yöntemini yalnızca *Enterobacteriaceae* ve *P. aeruginosa* için onayladığı göz önünde bulundurulduğunda modifiye SDE yönteminin de kabul edilebilir sınırlarda olduğu saptanmıştır. BH otomatize sistemin dirençli sonuç verip referans yöntem ile sonucun aslında duyarlı olması durumudur. Tüm izolatlar içinde otomatize sistemde BH sonucu veren beş örneğin ise üçünün (%60) modifiye SDE yöntemi ile olması gerektiği gibi duyarlı sonuç verdiği saptanmıştır. Modifiye SDE yönteminde ise BH oranı *Acinetobacter* spp. ve *Enterobacteriaceae* için ISO standartlarını karşılamamaktadır.

Sonuç olarak, çoğu mikrobiyoloji laboratuvarında antibiyotik duyarlılık testinde kullanılan otomatize sistemin KU'mu ISO standartlarına yakın olmasına rağmen, kolistin duyarlılığı açısından ÇBH oranının çok fazla olduğu, aynı zamanda BH oranına kıyasla

daha fazla olduğu ve bunların modifiye SDE yöntemi ile çalışıldığında bu oranın azaldığı saptanmıştır. Bu nedenle otomatize sistemde Gram negatif bakterilerde özellikle *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* spp. izolatlarında, kolistin duyarlı ise modifiye SDE yöntemi ile çalışılmasının daha güvenilir bir sonuç verdiği görülmüştür. Ayrıca modifiye SDE yöntemi, *Acinetobacter* spp. izolatlarında gerek BH gerekse ÇBH oranlarının yüksek olması nedeniyle kullanılmamalıdır. Özellikle günlük antibiyogram sayısı fazla olan mikrobiyoloji laboratuvarlarında kolistin duyarlılık sonuçlarının SMD yöntemi ile çalışılmadığı durumlarda *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* spp. izolatlarında bu yöntemin kullanılması düşünülebilir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (11.05.2022 tarih ve 2022-10/38 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Uludağ University, Clinical Research Ethics Committee (05.11.2022; 2022-10/38).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Gogry FA, Siddiqui MT, Sultan I, Haq QMR. Current update on intrinsic and acquired colistin resistance mechanisms in bacteria. *Front Med (Lausanne)*. 2021;12;8:677720. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.677720>
2. El-Sayed Ahmed MAE, Zhong LL, Shen C, Yang Y, Doi Y, Tian GB. Colistin and its role in the era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019). *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):868-85. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1754133>
3. Boinett CJ, Cain AK, Hawkey J, et al. Clinical and laboratory-induced colistin-resistance mechanisms in *Acinetobacter baumannii*. *Microb Genom.* 2019;5(2):e000246. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000246>

4. Matzneller P, Strommer S, Österreicher Z, Mitteregger D, Zeitlinger M. Target site antimicrobial activity of colistin might be misestimated if tested in conventional growth media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34(10):1989-94.
<https://doi.org/10.1007/s10096-015-2441-7>
5. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin*. 2015;31(4):707-21.
<https://doi.org/10.1185/03007995.2015.1018989>
6. Ben-Chetrit E, Mc Gann P, Maybank R, Stam J, Assous MV, Katz DE. Colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: Old drug, bad bug. *Arch Microbiol*. 2021;203(6):2999-3006.
<https://doi.org/10.1007/s00203-021-02289-4>
7. Sarı AN, Süzük S, Karatuna O, ve ark. Ülkemizde klinik *Enterobacteriaceae* izolatlarında plazmit aracılı kolistin direnç genlerini (*mcr-1* ve *mcr-2*) araştıran çok merkezli çalışmaya ait sonuçlar. *Mikrobiyol Bul*. 2017;51(3):299-303.
<https://doi.org/10.5578/mb.57515>
8. Kurekci C, Aydın M, Nalbantoglu OU, Gundogdu A. First report of *Escherichia coli* carrying the mobile colistin resistance gene *mcr-1* in Turkey. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018;15:169-170.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.09.013>
9. Koyuncu Özyurt Ö, Özhan B, Ögünç D, ve ark. Kolistin gram-negatif bakterilere in vitro etkinliğinin belirlenmesinde BD Phoenix100 sistemi ve kolistin sıvı disk elüsyon yöntemlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2019;53(3):254-261.
<https://doi.org/10.5578/mb.68066>
10. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederer BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, Etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(10):3726-30.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01406-06>
11. EUCAST. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E). As recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Basel, 2016. [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf] (Erişim tarihi: 1 Mart 2018).
12. Simner PJ, Bergman Y, Trejo M, et al. Two-site evaluation of the colistin broth disk elution test to determine colistin in vitro activity against Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol*. 2019;30;57(2):e01163-18.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01163-18>
13. Pfennigwerth N, Kaminski A, Korte-Berwanger M, et al. Evaluation of six commercial products for colistin susceptibility testing in *Enterobacterales*. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(11):1385-9.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.017>
14. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. [<http://www.eucast.org>] (Erişim tarihi: 1 Mart 2018).
15. CLSI. Development of in vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters. Approved Guideline. 3rd ed. CLSI Document M23-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA: 2008.
16. ISO 20776-2:2007. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices - Part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. International Organization for Standardization. Geneva: ISO [<https://www.iso.org/standard/41631.html>] (Erişim tarihi: 1 Nisan 2022).
17. Lin YC, Kuroda M, Suzuki S, Mu JJ. Emergence of the *mcr-1* colistin resistance gene in extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021;24:278-84.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.12.024>
18. Zhang S, Abbas M, Rehman MU, et al. Updates on the global dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli*: An emerging threat to public health. *Sci Total Environ*. 2021;10;799:149280.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149280>
19. Satlin MJ. The search for a practical method for colistin susceptibility testing: Have we found it by going back to the future? *J Clin Microbiol*. 2019;0;57(2):e01608-18.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01608-18>
20. Süzük Yıldız S, Kaşkatepe B, Şimşek H, Sarıgözel FM. High rate of colistin and fosfomycin resistance among carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Turkey. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2019;1;66(1):103-12.
<https://doi.org/10.1556/030.65.2018.042>
21. Humphries RM, Green DA, Schuetz AN, et al. Multicenter evaluation of colistin broth disk elution and colistin agar test: a report from the Clinical and Laboratory Standards Institute. *J Clin Microbiol*. 2019;23;57(11):e01269-19.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01269-19>

22. Bell DT, Bergman Y, Kazmi AQ, Lewis S, Tamma PD, Simner PJ. A novel phenotypic method to screen for plasmid-mediated colistin resistance among *Enterobacteriales*. J Clin Microbiol. 2019;26;57(5):e00040-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00040-19>
23. Fenwick AJ, Bergman Y, Lewis S, et al. Evaluation of the NG-Test MCR-1 Lateral flow assay and EDTA-colistin broth disk elution methods to detect plasmid-mediated colistin resistance among Gram-negative bacterial isolates. J Clin Microbiol. 2020;25;58(4):e01823-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.01823-19>
24. Cielo NC, Belmonte T, Raro OHF, et al. Polymyxin B broth disk elution: a feasible and accurate methodology to determine polymyxin B susceptibility in *Enterobacteriales*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2020;98(2):115099. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115099>
25. Földes A, Székely E, Voidăzan ST, Dobreanu M. Comparison of six phenotypic assays with reference methods for assessing colistin resistance in clinical isolates of carbapenemase-producing *Enterobacteriales*: Challenges and opportunities. Antibiotics (Basel). 2022;11(3):377. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030377>
26. Dalmolin TV, Mazzetti A, Ávila H, et al. Elution methods to evaluate colistin susceptibility of Gram-negative rods. Diagn Microbiol Infect Dis. 2020;96(1):114910. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.114910>
27. Tüzemen NÜ, Efe K, Akalın H, Özakın C. Retrospective evaluation of colistin-resistant isolates in automated system by gradient diffusion method and broth microdilution method. Klimik Derg. 2019;32(1):57-61. <https://doi.org/10.5152/kd.2019.13>

İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık ile İlgili Fakülte Öğrencilerinin HIV/AIDS Farkındalık Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of HIV/AIDS Awareness Levels of Health-Related Faculty Students of Istanbul Aydın University

Özge Altınok*, **, Ali Ağaççidan****

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

** İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

*** İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ve Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

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

Atıf/Cite as: Altınok Ö, Bayazıt TO, Ağaççidan A. İstanbul Aydın Üniversitesi sağlık ile ilgili fakülte öğrencilerinin HIV/AIDS farkındalık düzeylerinin değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):192-201.

Öz

Amaç: Bu çalışmada, İstanbul Aydın Üniversitesi (İAÜ) sağlık ile ilgili fakülte öğrencilerinin HIV/AIDS farkındalık düzeylerinin değerlendirilmesi ve bu hasta grubuna karşı tutumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırmaya IAÜ Tıp, Diş Hekimliği ve Sağlık Bilimleri Fakültesi öğrencisi olan 160 kişi katıldı. Katılımcılara 50 sorudan oluşan anket uygulandı.

Bulgular: Araştırmaya IAÜ öğrencisi 160 kişi katılmış, 154 kişi (kadın=115, erkek=39) anketi tamamlamıştır. Kadın katılımcıların ortalama yaşları 21.42, erkeklerin 22 idi. Katılımcıların %63'ü sağlık bilimleri, %31.8'i tıp ve %5.2'si ise diş hekimliği fakültesi öğrencisiydi. Genel bilgi düzeyinin değerlendirildiği soru grubuna ortalama olarak %77.02; bulaş yollarının değerlendirildiği soru grubuna %65.84; risk gruplarının değerlendirildiği soru grubuna %64.88; korunma ve tedavinin değerlendirildiği soru grubuna %60.59; tutumların dağılımının değerlendirildiği soru grubuna ortalama %70.28 doğru yanıt verildi ($p<0.01$). Katılımcılar AIDS/HIV hakkındaki bilgilerini %85.63 internetten, %4.38 radyodan edindiklerini belirtmişlerdi.

Sonuç: Tutumlar açısından değerlendirildiğinde, internetten yanlış olarak edinilen bilgilerin bir kısmının sağlık eğitimi alan öğrencilerde bile olumsuz tutum sergilemesine neden olduğu gözlemlendi. İnternetteki bilgi kirliliğinin yanında, nefret dilinin de giderilmesi, AIDS ve AIDS'ten korunma yolları hakkında okullarda tüm öğrencilere eğitim verilmesiyle bireylerin HIV/AIDS farkındalık düzeyinin artacağına ve damgalamanın toplumdaki yerinin azalacağına inanmaktayız. Gençler arasında önemli bir öğrenme aracı olan akran eğitiminden üniversite kampüslerinde HIV/AIDS farkındalığını artırma amacıyla yararlanılabileceği düşüncesindeyiz. Araştırma, HIV/AIDS konu alan film-dizi senaryoları hazırlanırken, viroloji, mikrobiyoloji ya da enfeksiyon hastalıkları uzmanlarından medikal danışmanlık alınmasının önemini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: HIV/AIDS, bilgi düzeyi, damgalama

ABSTRACT

Objective: It is aimed to evaluate HIV/AIDS awareness levels of health-related faculty students at Istanbul Aydın University (IAU) and determine their attitudes towards this patient group.

Methods: IAU Faculty of Medicine, Dentistry, and Health Sciences students participated in this study. A questionnaire consisting of 50 questions was applied to participants.

Results: A total of 154 of 160 students who participated in the study completed the questionnaire (female: 115, male: 39). The mean age was 21.42 and 22 for the girls and boys, respectively. Regarding the faculties of the participants, 63% were from the Health Sciences while 31.8% from Medicine and 5.2% from Dentistry. The ratios of the correct answers to the question categories were listed as follows: general information 77.02%; transmission route of the disease 65.84%; risk groups 64.88%; prevention and treatment 60.59% and the attitudes towards the patients were 70.28% ($p<0.01$). The participants reported that they acquired their knowledge on AIDS from the internet (85.63%) and radio broadcast (4.38%).

Conclusion: It was observed that incorrect information received from the internet caused the development of negative attitudes, even in students from Health-related faculties. Prevention of the transmission of fraud information and speech of hate on AIDS disease and the patients, together with the peer education, which is an important learning tool among young people, can be used to increase HIV/AIDS awareness in university campuses and prevent the social stigma related to AIDS in public. The research shows the importance of getting medical advice from Virology, Microbiology, or Infectious Diseases specialists when preparing movie-series scenarios about HIV/AIDS.

Keywords: HIV/AIDS, knowledge, stigma

Alındığı tarih / Received:

12.05.2022 / 12.May.2022

Kabul tarihi / Accepted:

13.06.2022 / 13.June.2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

Ö. Altınok 0000-0003-3981-539X
T. O. Bayazıt 0000-0002-7761-2617
A. Ağaççidan 0000-0002-5470-296X

✉ ozgealtinok85@gmail.com

GİRİŞ

Kazanılmış İmmün Yetmezliği Sendromu (AIDS) ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde 41 yıl önce tanımlanmıştır. İlk olgular, Haiti göçmenleri ve eşcinsel erkeklerden oluşuyordu. Bu hastalarda *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi ve Kaposi sarkomuna sıklıkla rastlanıyordu. AIDS etkeni olan İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü Tip-1 (HIV-1), 1986'da izole edilebilmiştir⁽¹⁻³⁾.

HIV genetik olarak *Retroviridae* familyasından, *Lentivirus* cinsi bir virüstür. Genetik materyali birbirinin kopyası olan tek zincirli ribonükleik asitten (RNA) oluşur. *Retrovirüsler*, uzun süren latent enfeksiyon ile kronikleşme eğilimi gösterirler. Bu bağlamda HIV, AIDS tablosuna neden olur^(2,4,5).

Ülkemizde ilk kez 1985 yılında 3 hastada HIV enfeksiyonu görülmüştür. Türkiye Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü 2021'de toplam olgu sayısının 2.074 olduğunu bildirmiştir^(6,7).

HIV enfeksiyonu, dünya çapında morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerinden biri olup, olguların çoğu Sahra altı Afrika'dan bildirilmektedir⁽⁸⁾. HIV, HIV-1 ve HIV-2 olmak üzere 2 alt tipe ayrılır. Bununla birlikte, yaygın olan tip HIV-1'dir. HIV-2, Batı ve Orta Afrika bölgesinde daha sık görülür^(2,4,5).

Virüsün konaklar arasında yayılımı vücut sıvılarındaki virüs miktarı ile ilişkili olup, ana bulaş yolu kan transfüzyonu, korunmasız homo/heteroseksüel cinsel ilişki ve çok partnerli cinsel yaşamdır^(1,2,9). Asemptomatik ve AIDS'li bireylerin kan numunelerinde enfekte edici partiküle (IP) rastlanılmaktadır. AIDS'in akut fazında 5.000 IP/ml iken haftalar içinde <1 IP/ml'ye kadar geriler. Bu sırada CD4+ hücre sayısı azalır ve buna bağlı olarak IP sayısı artar^(10,11). Literatürde idrar, ter, süt, bronkoalveolar lavaj sıvıları, amniyotik sıvı, eklem sıvısı, dışkı ve gözyaşındaki HIV konsantrasyonunun sıfır veya bazen ancak bulaşıcılık sınırında olduğu belirtilmektedir^(12,13). Anne sütünde anti-viral moleküller olmasına rağmen, post-partum

dönemde enfekte olan anneden bebeğe süt ile bulaş olabileceği bildirilmiştir^(14,15). Kan ve kan ürünlerinin HIV açısından tarama yapılmaksızın alıcıya nakli HIV bulaşı açısından büyük risk taşır⁽¹⁶⁾.

Bu çalışmada, İstanbul Aydın Üniversitesi sağlık ile ilgili fakülte öğrencilerinin HIV/AIDS farkındalık düzeylerinin değerlendirilmesi ve bu hasta grubuna karşı tutumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (14.01.2020 tarih ve 207 Karar No.) onaylanmıştır.

Katılımcılar: Araştırmaya İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp, Diş Hekimliği ve Sağlık Bilimleri Fakültesi öğrencisi olan ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formunu okuyup çalışmada yer almayı kabul eden 160 kişi (kadın=115, erkek=39) katıldı.

Anket: Literatürde yer alan geçerlik güvenilirlik çalışması yapılan anket araştırmada kullanıldı^(17,18). Anket, katılımcıların *AIDS/HIV ile ilgili, Genel Bilgi Düzeyi, Bulaşma Yolları, Risk Grupları, Korunma ve Tedavi, Tutumların Dağılımını* içeren 50 sorudan oluşuyordu (Tablo 1) Soruların, evet-hayır-kararsızım olarak yanıtlanması istendi. Katılımcıların HIV/AIDS hakkındaki bilgi edinme kaynakları ise açık uçlu bir soru ile soruldu. Anket, internet üzerinden Google Formlar (Google LLC, Mountain View, California, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)) kullanılarak uygulandı.

İstatistiksel Analiz: İstatistiksel analizlerde SPSS 15.00 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) yazılımı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler ile ortalama, standart sapma, frekans ve yüzde değerleri hesaplandı. Veri dağılımının normalliği Kolmogorov Smirnov testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren verilere eşleştirilmiş ve bağımsız örneklem t testi, normal dağılım göstermeyen verilere eşleştirilmiş ve bağımsız örneklem Mann Whitney U testi uygulandı.

p değeri 0.05'ten küçük olan bulgular istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

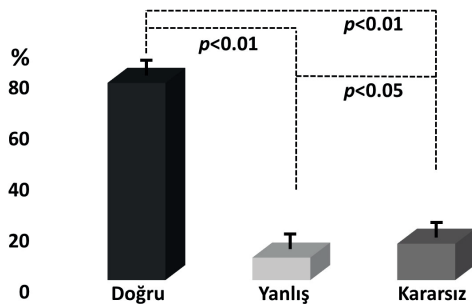
BULGULAR

Araştırmaya İAÜ öğrencisi 160 kişi (kadın=115, erkek=39) katıldı. Kadın katılımcıların ortalama yaşları 21.42 ± 4.69 , erkeklerin 22 ± 5.96 idi. Katılımcıların %63'ü sağlık bilimleri, %31.8'i tıp ve %5.2'si ise diş hekimliği fakültesi öğrencisiydi.

Genel bilgi düzeyinin değerlendirildiği soru grubunun ortalaması alındığında $\%77.02 \pm 15.00$ doğru, $\%8.78 \pm 9.15$ yanlış yanıt verildi ($p < 0.01$). Bu grupta yer alan sorulara kararsız olarak belirtilen yanıtların ortalaması $\%14.20 \pm 8.29$ olarak belirlendi ($p < 0.01$) (Tablo 1) (Şekil 1).

"HIV, bağışıklık sistemini zayıflatan bir virüstür" sorusuna $\%91.82$ doğru, $\%1.89$ yanlış yanıt verildi. Bu saptama en yüksek doğru yanıtlanma oranına sahipti ($p < 0.001$).

"Günümüzde AIDS kronik bir hastalık olarak değerlendirilir." saptamasına ise $\%46.67$ doğru, $\%23.81$ yanlış yanıt verilirken, katılımcıların kararsız kalma oranı $\%29.52$ olarak belirlendi. Bu saptama diğer sorulara göre en yüksek yanlış ve kararsız yanıtlanma oranına sahipti ($p < 0.05$).



Şekil 1. Katılımcıların HIV/AIDS hakkındaki genel bilgi düzeyinin değerlendirildiği soru grubu cevaplarının ortalama yüzde olarak gösterilmektedir (T: Standart sapma).

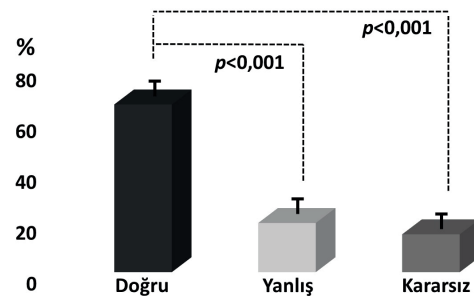
Bulaş yollarının değerlendirildiği soru grubunun ortalaması alındığında, $\%65.84 \pm 16.93$ doğru, $\%19.30 \pm 13.40$ yanlış yanıt verildi. Bu grupta yer alan sorulara kararsız olarak belirtilen yanıtların ortalaması $\%14.86 \pm 5.53$ olarak belirlendi ($p < 0.001$) (Tablo 1) (Şekil 2).

"HIV pozitif bir bireyle korunmasız olarak cinsel ilişki yaşamak bulaş riski doğurur." saptamasına $\%96.20$ doğru, sıfır yanlış yanıt verildi. Bu saptama en yüksek doğru yanıtlanma oranına sahipti ($p < 0.001$).

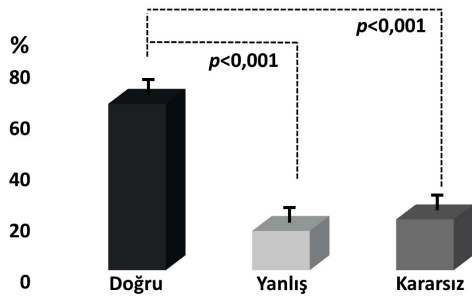
"HIV pozitif bireyle öpüşmek riskli bir davranıştır." saptamasına ise $\%44.03$ doğru, $\%41.51$ yanlış yanıt verilirken, katılımcıların kararsız kalma oranı $\%14.47$ olarak belirlendi. Bu saptama diğer sorulara göre en yüksek yanlış yanıtlanma oranına sahipti.

"HIV pozitif bir anneden emzirme yoluyla bebeğine bulaş mümkündür." saptamasına $\%55.97$ doğru, $\%17.61$ yanlış yanıt verildi. Bu saptama $\%26.42$ ile en yüksek kararsız yanıtlanma oranına sahipti.

Risk gruplarının değerlendirildiği soru grubunun ortalaması alındığında, $\%64.88 \pm 13.96$ doğru, $\%15.32 \pm 8.64$ yanlış yanıt verildi. Bu grupta yer alan saptamalara kararsız olarak belirtilen yanıtların ortalaması $\%19.80 \pm 9.14$ olarak belirlendi ($p < 0.001$) (Tablo 1) (Şekil 3).



Şekil 2. Katılımcıların HIV/AIDS hakkındaki bulaş yollarının değerlendirildiği soru grubu cevaplarının ortalama yüzde olarak gösterilmektedir (T: Standart sapma).



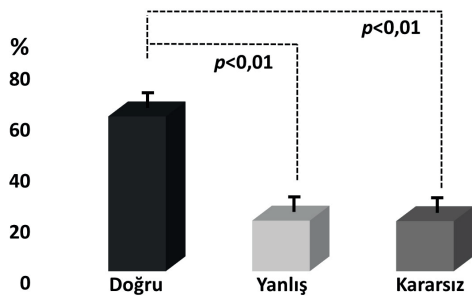
Şekil 3. Katılımcıların HIV/AIDS risk gruplarının değerlendirildiği soru grubu cevaplarının ortalaması yüzde olarak gösterilmektedir (T: Standart sapma).

“Birden çok cinsel partneri olan heteroseksüeller.” saptamasına %89.31 doğru, %5.03 yanlış yanıt verildi. Bu saptama en yüksek doğru yanıtlanma oranına sahipti ($p<0.001$).

“Berber”lerin risk grupları arasında yer alıp almadığı konusundaki soruya ise %55.35 doğru, %28.30 yanlış yanıt verildi. Bu soru diğer sorulara göre en yüksek yanlış yanıtlanma oranına sahipti.

“Damar içi (IV) ilaç/madde kullananlar” sorusuna %60.38 doğru, %11.32 yanlış yanıt verildi. Bu soru %28.30 ile en yüksek kararsız yanıtlanma oranına sahipti ($p<0.01$).

Korunma ve tedavinin değerlendirildiği soru grubunun ortalaması alındığında, %60.59±17.13) doğru, %19.81±14.64 yanlış yanıt verildi. Bu grupta yer alan sorulara kararsız olarak belirtilen yanıtların ortalaması %19.60±9.94) olarak belirlendi ($p<0.01$) (Tablo 1) (Şekil 4).



Şekil 4. Katılımcıların HIV/AIDS’ten korunma ve tedavinin değerlendirildiği soru grubu cevaplarının ortalaması yüzde olarak gösterilmektedir (T: Standart sapma).

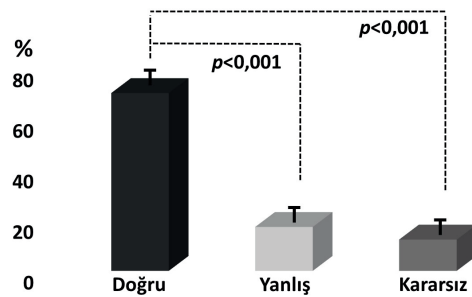
“Toplulun eğitilmesi HIV/AIDS’ten korunmanın en iyi yoludur.” saptamasına %82.39 doğru, %7.55 yanlış yanıt verildi. Bu saptama en yüksek doğru yanıtlanma oranına sahipti ($p<0.001$).

“HIV pozitif kişilerden kaçınmak hastalıktan korunmak için gereklidir.” saptamasına ise %43.40 doğru, %44.03 yanlış yanıt verildi. Bu saptama diğer sorulara göre en yüksek yanlış yanıtlanma oranına sahipti.

“Düzenli egzersiz HIV/AIDS’e karşı koruyucudur.” saptamasına %46.54 doğru, %15.72 yanlış yanıt verildi. Bu saptama %37.74 ile en yüksek kararsız yanıtlanma oranına sahipti.

Tutumların dağılımının değerlendirildiği soru grubunun ortalaması alındığında, %70.28±23.89) doğru, %17.35±19.09) yanlış yanıt verildi ($p<0.001$). Bu grupta yer alan sorulara kararsız olarak belirtilen yanıtların ortalaması %12.37±6.24) olarak belirlendi (Tablo 1) ($p<0.001$) (Şekil 5).

“AIDS ve AIDS’ten korunma yolları hakkında okullarda tüm öğrencilere eğitim verilmelidir.” ifadesine %94.97 olumlu, %5.03 oranında kararsız tutum sergilendi ($p<0.001$). “HIV (+) kişilere yardım edilmeli ve tedavileri için destek verilmelidir.” ifadesine ise %94.97 olumlu, %5.03 oranında olumsuz tutumda (kararsız+olumsuz) oldukları belirlendi ($p<0.001$). Bu iki ifade de diğerlerine göre en yüksek olumlu tutum oranına sahipti.

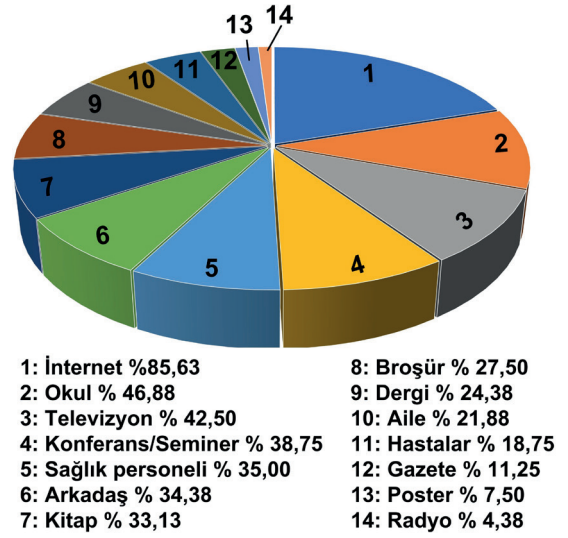


Şekil 5. Katılımcıların HIV/AIDS hakkındaki tutumlarının değerlendirildiği soru grubu cevaplarının ortalaması yüzde olarak gösterilmektedir (T: Standart sapma).

“HIV (+) bireylere karşı herhangi bir acıma duygusu hissetmem.” ifadesine %31.45 olumlu, %54.09 olumsuz tutum gösterildi. Bu ifade en yüksek olumsuz tutum oranına sahipti.

“HIV (+) bir kişi ile aynı evde olmak istemem.” ifadesine ise %48.43 olumlu, %28.30 olumsuz tutum sergilenirken, bu ifade %23.27 ile en yüksek kararsızlık oranına sahipti.

Katılımcılar AIDS/HIV hakkındaki bilgilerini %85.63 internetten, %46.88 okuldan, %42.50 televizyondan, %38.75 konferans/seminerden, %35.00 sağlık personelinin, %34.38 arkadaştan, %33.13 kitaptan, %27.50 broşürden, %24.38 dergiden, %21.88 aileden, %18.75 hastalardan, %11.25 gazeteden, %7.50 posterden ve %4.38 radyodan elde ettiklerini belirtmişlerdir (Şekil 6).



Şekil 6. Katılımcıların AIDS/HIV hakkındaki bilgi edinme kaynakları ve yüzdeleri gösterilmektedir.

Tablo 1. Ankette yer alan sorular, sorunun beklenen (doğru) cevabı ve sorulara verilen yanıtların (EVET, HAYIR, KARARSIZ) yüzdeleri

Genel Bilgi Düzeyi-1	Doğru Cevap	EVET %	HAYIR %	KARARSIZ %
AIDS, viral bir tablodur	Evet	77.99	5.66	16.35
HIV ile enfekte kişiler sağlıklı bir görünüme sahip olabilirler	Evet	86.15	3.08	10.77
Günümüzde AIDS kronik bir hastalık olarak değerlendirilir	Evet	46.67	23.81	29.52
AIDS sadece cinsel yolla bulaşan bir hastalıktır	Hayır	20.13	72.96	6.92
HIV, bağışıklık sistemini zayıflatan bir virüstür	Evet	91.82	1.89	6.29
HIV enfeksiyonu olan bir kişinin hastalığın belirtilerini göstermesi uzun sürebilir	Evet	76.10	4.40	19.50
HIV pozitifliği kan testi ile teşhis edilir	Evet	87.42	2.52	10.06
Bulaş Yolları-1				
Tedavisiz HIV pozitif bir gebeden bebeğine bulaş mümkündür	Evet	75.47	7.55	16.98
HIV pozitif bir anneden emzirme yoluyla bebeğine bulaş mümkündür	Evet	55.97	17.61	26.42
Kontamine diş ekipmanları ile bulaş mümkündür	Evet	60.38	21.38	18.24
Sivrisinekler gibi artropodlar HIV taşıyıcısı olup, virüsü insanlara bulaştırabilirler	Hayır	36.48	40.25	23.27
HIV pozitif bir bireyle korunmasız olarak cinsel ilişki yaşamak bulaş riski doğurur	Evet	96.20	0.00	3.80
Enjektör iğnelerinin ortak kullanımı bulaş açısından risklidir	Evet	88.61	4.43	6.96
KontROLSÜZ kan nakli yaptırmak bulaş riski doğurur	Evet	84.28	5.66	10.06
Sterilizasyon/dezenfeksiyon açısından yetersiz merkezlerde yapılan dövme ve peercing uygulamaları bulaş riski doğurur	Evet	74.84	11.95	13.21
Masaj yaptırmak HIV bulaşını kolaylaştırır	Hayır	6.29	77.99	15.72
HIV pozitif olan bir bireyle el sıkışmak ya da ona dokunmak bulaş açısından riskli bir davranıştır	Hayır	10.06	77.99	11.95
HIV pozitif bireyin öksürdüğü ya da hapşırduğu ortamda bulunmak bulaş açısından risklidir	Hayır	23.27	61.01	15.72
HIV pozitif bireyle öpmek riskli bir davranıştır	Hayır	41.51	44.03	14.47

Tablo 1. Devamı

Bulaş Yolları-1	Doğru Cevap	EVET %	HAYIR %	KARARSIZ %
HIV pozitif kişi ile kişisel eşyaları (örn: çay fincanı, havlu ya da giysi) ortak kullanmak bulaş açısından risklidir	Hayır	33.96	49.06	16.98
HIV pozitif kişi ile aynı traş bıçağını paylaşmak bulaş riski doğurur	Evet	66.04	22.01	11.95
HIV pozitif kişi ile aynı tuvaleti kullanmak risklidir	Hayır	37.74	47.17	15.09
HIV pozitif kişi ile aynı yüzme havuzunda yüzmek bulaş açısından risklidir	Hayır	28.93	54.09	16.98
Risk Grupları-1				
Sağlık çalışanları	Evet	75.00	15.00	10.00
Berber	Evet	55.35	28.30	16.35
IV ilaç/madde kullananlar	Evet	60.38	11.32	28.30
IV tedavi alan hastalar	Evet	52.83	15.72	31.45
Hemofili ya da pıhtılaşma sorunu olan hastalar	Evet	58.49	14.47	27.04
Kan transfüzyonu hastaları	Evet	77.36	5.66	16.98
Cinsel yönelim açısından homoseksüel olmak	Evet	50.31	27.04	22.64
Birden çok cinsel partneri olan heteroseksüeller	Evet	89.31	5.03	5.66
Korunma ve Tedavi-1				
Tek bir cinsel partnere sahip olmak koruyucudur	Evet	57.86	23.27	18.87
AIDS'in aşısı mevcuttur	Hayır	25.16	52.20	22.64
HIV pozitif kişilerden kaçınmak hastalıktan korunmak için gereklidir	Hayır	44.03	43.40	12.58
Kondom kullanımı HIV'den korunmaya yardımcı olur	Evet	81.13	3.14	15.72
Düzenli egzersiz HIV/AIDS'e karşı koruyucudur	Hayır	15.72	46.54	37.74
Toplunun eğitilmesi HIV/AIDS'ten korunmanın en iyi yoludur	Evet	82.39	7.55	10.06
Tutumların Dağılımı-1				
AIDS, toplumun ciddi bir sağlık sorunu değildir	Hayır	15.72	72.96	11.32
HIV (+) kişilerin çalışmasına müsaade edilmemelidir	Hayır	7.55	78.62	13.84
HIV (+) öğrencilerin sağlıklı öğrenciler ile aynı okula gitmelerine izin verilmemelidir	Hayır	11.32	75.47	13.21
HIV (+) kişilerle sosyal temas kurulması tehlikelidir	Hayır	17.61	66.67	15.72
HIV (+) kişiler hastalıkları hakkında diğer kişilere bilgi vermek zorundadır	Hayır	53.46	27.04	19.50
HIV (+) kişilere yardım edilmeli ve tedavileri için destek verilmelidir	Evet	94.97	0.63	4.40
AIDS ve AIDS'ten korunma yolları hakkında okullarda tüm öğrencilere eğitim verilmelidir	Evet	94.97	0.00	5.03
AIDS ve AIDS'ten korunma yolları hakkında okullarda seminer/konferanslar düzenlenmelidir	Evet	94.34	1.26	4.40
Öğrenciler için AIDS ve AIDS'ten korunma yolları hakkında okullarda kitap ve broşür/poster hazırlanmalıdır	Evet	92.45	1.26	6.29
HIV (+) bir kişi ile aynı evde olmak istemem	Hayır	28.30	48.43	23.27
HIV (+) bir kişi ile aynı işyeri/okulda bulunmak istemem	Hayır	16.98	66.04	16.98
HIV (+) bireylere karşı herhangi bir acıma duygusu hissetmem	Evet	31.45	54.09	14.47

TARTIŞMA

Araştırmaya katılan öğrenciler “genel bilgi düzeyi”nin değerlendirildiği sorulara yüksek oranda doğru yanıt (%77.02) vermişlerdir. Bu oran, literatürde yer alan araştırma sonuçlarından yüksekti⁽¹⁸⁻²⁰⁾.

Çalışmamızda yalnızca sağlıkla ilgili fakülte öğrencileri yer alırken, Özalp ve ark.’nın⁽²¹⁾ tıp ve mühendislik fakültesinde okuyan öğrencilerle yaptıkları çalışmada yer alan katılımcıların bilgi düzeyi bizim bulgumuzdan yüksek (%98.6) olarak rapor edilmiştir. Ancak, bulgumuz, Ali ve ark.’nın⁽²²⁾ Pakistanlı tıp ve diş hekimliği öğrencileri ile yaptıkları çalışmadan yüksekti (%59.68).

Bu araştırma sonuçlarına göre öğrenciler “HIV, bağışıklık sistemini zayıflatan bir virüstür.” saptamasına en yüksek oranda (%91.82) doğru yanıt verdi. Bu oran “genel bilgi düzeyinin değerlendirildiği soru grubu” içerisinde en yüksek değere sahipti. Bu bulgu literatürde yer alan çalışmadaki orandan (%81) yüksekti⁽¹⁸⁾. Ancak, ilgili çalışmanın katılımcılarını farklı fakülte öğrencileri oluştururken, araştırmamızda Tıp, Diş Hekimliği ve Sağlık Bilimleri fakültelerinden öğrenciler yer aldı. Sağlıkla ilgili fakültelerde eğitim alan öğrencilerin genel bilgi düzeylerinin yüksek olması bu durumu açıklayabilir.

Bu araştırma ve Avcıkurt’un⁽¹⁸⁾ araştırmasında, “bulaş yolları”nın değerlendirildiği sorulara verilen yanıtların yüzdeleri yakın olarak bulundu (sırasıyla %65,84 ve %65,63). Maimati ve ark.’nın⁽²³⁾, bulaş yolları ile bilgi düzeyine verilen yanıtların ortalaması çalışmamızdan yüksekti (%74.50). Ancak, araştırmamızda, “HIV pozitif bir bireyle korunmasız olarak cinsel ilişki yaşamak bulaş riski doğurur.” saptamasına verilen tüm yanıtlar doğru olup, literatürdeki çalışmaların bulgularından yüksekti^(18,24).

“HIV pozitif bireyle öpmek riskli bir davranıştır.” saptamasına ise Avcıkurt’un⁽¹⁸⁾ araştırmasının bulgularında mevcut çalışmamıza göre daha yüksek oranda doğru yanıt verilmiştir. Bu soru araştırmamıza katılan öğrencilerin en çok yanlış yanıtladığı sorulardan biriydi. Öğrencilerin büyük

bir kısmının (134 kişi; %83.75) izlediği romantik bir sinema filminde (İncir Reçeli, Aytaç Ağırlar, 2011), HIV/AIDS’in öpmeye de bulaşabileceği mesajı yanlış olarak verildiğinden bu sonuca ulaşılmış olabilir. Öğrenciler mantıksal olarak, tükürüğün bir vücut sıvısı olduğunu ve HIV’in de vücut sıvılarıyla bulaştığını kabul etmiş, böylece tükürük transferinin olası bulaş yolları arasında olduğu sonucuna varmış olabilirler.

Risk gruplarının değerlendirildiği soruların ortalaması, Günbatan ve ark.’nın⁽²⁵⁾ çalışma bulgularıyla aynı doğrultuydu. Ancak, bu çalışmanın doğru yanıt yüzdesi, literatürden daha düşük olarak saptandı. Bu durum katılımcılarımızın büyük çoğunluğunun Sağlık Bilimleri Fakültesi öğrenci olmasına ve bilimsel bilgilerinin Tıp ve Diş Hekimliği Fakültesi öğrencilerine göre daha az olmasından kaynaklanabilir.

Bu çalışma sonuçlarında “birden çok cinsel partneri olan heteroseksüeller” seçeneği en yüksek doğru yüzdesine sahipken, “berber”lerin risk grubunda yer alıp almadığı konusundaki soru ise en yüksek yanlış yanıtlanma yüzdesine sahipti. Bu iki bulgu da literatürle uyumludur⁽²⁵⁾. Katılımcılarımızın “berber” sorusuna yüksek oranda yanlış yanıt vermesi (%28.30) katılımcılarımızın büyük çoğunluğunun kadınlardan oluşmasından kaynaklanabilir. Erkek bireyler “berber”lerde hijyen kurallarına uyulmadan yapılan tıraş sırasında kanama ve dolayısıyla kan yoluyla bulaşabileceği bilgisine kadınlara göre daha hâkim olabilirler.

“IV ilaç/madde kullananlar”ın risk grubunda olup olmadığının irdelendiği soruya katılımcıların %28.30’u kararsız kaldıklarını belirtmişler ve bu sorunun bu soru grubu içerisindeki en yüksek kararsızlık oranına sahip olduğu görülmüştür. Sağlıkla ilgili eğitim alan katılımcıların, IV ilaç uygulanmasının hastanelerde bir sağlık çalışanı tarafından asepti koşullarına uygun olarak yapılacağını bilmesi ve ankette birleşik hâlde sorulan IV ilaç ve IV madde kullanımı ifadesi kararsızlık yaşamalarına neden olmuş olabilir.

Korunma ve tedavinin değerlendirildiği sorulara doğru yanıt verme ortalama yüzdesi literatürden (%53.07) yüksekti (%60.59)⁽¹⁸⁾.

“Toplumsal eğitilmesi HIV/AIDS’ten korunmanın en iyi yoludur.” ifadesi %82.39 doğru yanıtlanma yüzdesiyle bu soru grubunun en yüksek doğru yanıtlanma oranına sahipti. Bu durum Avcıkurt’un çalışmasının bulgularıyla aynı yönde olup daha yüksek bulunmuştur⁽¹⁸⁾. Bu durum toplumda farkındalık yaratmak amacıyla yapılan kampanyaların başarılı olduğunu düşündürmüştür.

Yunancada damgalama ya da işaretleme anlamına gelen stigma (damgalama), insanları sosyolojik ve kültürel açıdan ötekileştirme durumudur. Goffman⁽²⁶⁾ ise stigmatı “itibar edilmeyen özelliklere işaret eden şey” olarak tanımlamıştır. “Damga-damgalama”, bireyin toplumdaki saygınlık ile statüsünü yitirmesine ve toplumdaki değerinin azalması gibi olumsuzluklara neden olabilmektedir. Gökengin ve ark.⁽²⁷⁾ tarafından yapılan bir çalışma, insanların HIV’in bulaşma yolları konusunda yetersiz bilgiye sahip olması nedeniyle, gündelik temas yoluyla bulaşma korkusu yaşadıklarını ve HIV pozitif bireyleri damgalama eğiliminde olduklarını göstermiştir. Bozkurt ve Turan⁽²⁸⁾, katılımcıların öğrenim ve bilgi düzeylerinin HIV/AIDS ile ilgili damgalama düzeyine etkidiğini belirtmişlerdir.

“HIV pozitif kişilerden kaçınmak hastalıktan korunmak için gereklidir.” ifadesi katılımcılar tarafından %44.03 oranında desteklenmiş olup, bu bulgu literatürle aynı doğrultudadır. Bu yaklaşım stigmatın toplumda hâlen hakimiyetini sürdürdüğünü göstermektedir. Sonuç olarak, Yılmaz ve Yüksel⁽²⁹⁾’in çalışmasında, öğrencilerin %42.9’u AIDS hakkında eğitim almak istemediklerini ifade etmişlerdir. Bu yaklaşımın toplumda süregelen HIV/AIDS hakkındaki bilgisizliğin devamlılığını sağladığı ve buna bağlı olarak stigmatın gücünü arttırdığı görüşündeyiz.

En yüksek kararsızlık oranına sahip ifade çalışmamızda “Düzenli egzersiz HIV/AIDS’e karşı koruyucudur.” iken, Avcıkurt’un⁽¹⁸⁾ makalesinde, “Hastalığa karşı etkili yeni bir aşı vardır.” olarak belirtilmiştir. Çalışmamız ile Avcıkurt’un⁽¹⁸⁾ çalışması arasındaki bu farklılık katılımcılarımızın tamamının sağlıkla ilgili fakültede eğitim alan öğrencilerden oluşması nedeniyle teorik derslerinde etkili bir AIDS aşısının mevcut olmadığı bilgisine tanık olmalarından kaynaklanabilir.

Tutumların dağılımının değerlendirildiği soruların ortalaması alındığında yüksek oranda (%70.28) olumlu tutum sergilendiği görüldü. Bu oran literatürde yer alan çalışma bulgularından yüksekti^(19,20). Rusya’da yalnızca tıp öğrencileriyle yapılan bir çalışmada, hekim adaylarının HIV pozitif hastalara sağlık hizmeti sunma konusunda olumsuz tutum sergiledikleri gösterilmiştir⁽³⁰⁾.

Katılımcıların tamamına yakını (%94.97) “AIDS ve AIDS’ten korunma yolları hakkında okullarda tüm öğrencilere eğitim verilmesi gerekliliği” konusunda görüş birliğine sahiptiler. Bu bulgu Avcıkurt’un çalışması ile benzerdir⁽¹⁸⁾. Buna rağmen, Yılmaz ve Yüksel’in⁽²⁹⁾ çalışmasında, “AIDS hakkında eğitim almak ister misiniz?” sorusuna katılımcıların %42.9’u (n=343) “hayır” yanıtını vermiştir.

Çalışmamızda “HIV (+) bireylere karşı herhangi bir acıma duygusu hissetmem.” ifadesinde katılımcıların %54.09’u literatür bulgusuyla aynı yönde olarak bu bireylerle iletişim kurarlarken acıma duygularının baskın olacağını belirtmişlerdir⁽¹⁸⁾.

“HIV (+) bir kişi ile aynı evde olmak istemem.” ifadesiyle ilgili olarak katılımcıların %48.43’ü herhangi bir önyargıya sahip değildi. Bu bulgu, Ali ve ark.’nın⁽²²⁾ çalışması ile benzerdi (%45). Tutumların değerlendirildiği bu ifade en yüksek kararsız yanıtlanma oranına sahip olması, katılımcıların birlikte yaşama konusunda duygusal davranmasından kaynaklanabilir.

HIV pozitif kişilerle fiziksel temas kurma konusundaki olumsuz tutum çalışmamızda, Pakistan’da tıp ve diş hekimliği fakültesi öğrencileriyle yapılan çalışma bulgusuna kıyasla oldukça düşüktü (sırasıyla 17.61 ve 61.4)⁽²²⁾. Bu durum iki toplumun kültürel farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

Bilgi edinme araçlarından internet en sık, radyo ise en seyrek kullanılan araçtı. Bu bulgu literatürde yer alan benzer çalışmalar ile uyumluydu^(24,29). Bu durum internetin günümüzde diğer bilgi kaynaklarına göre daha yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir.

Sonuç olarak, toplumun bilinçlendirilmesi ve olumlu tutum geliştirilmesinde bilgi kaynakları önemlidir. Araştırmamız internetin yaygın kullanılan bir bilgi kaynağı olduğunu göstermektedir. Ancak, tutumlar açısından değerlendirildiğinde sağlık eğitimi alan öğrencilerde bile hâlen olumsuz tutumlar gözlenmektedir. Bu durum internetten edinilen bilgilerin bir kısmının da yanlış olduğunu göstermektedir. İnternetteki bilgi kirliliği ve nefret dilinin giderilmesinin yanında, AIDS ve AIDS'ten korunma yolları hakkında okullarda tüm öğrencilere eğitim verilmesi ile bireylerin HIV/AIDS farkındalık düzeyinin artacağına ve stigmanın toplumdaki yerinin azalacağına inanıyoruz. Gençler arasında önemli bir öğrenme aracı olan akran eğitiminden üniversite kampüslerinde HIV/AIDS farkındalığını artırma amacıyla yararlanılabileceği düşüncesindeyiz.

Araştırmamızın bulgularından biri, katılımcıların izledikleri bir film senaryosundan (İncir Reçeli, Aytaç Ağırlar, 2011) etkilenecek HIV'in öpüşmeyle bulaştığı sonucunu çıkarmalarıdır. Bu durum, HIV/AIDS'i konu alan film-dizi senaryoları hazırlanırken, viroloji, mikrobiyoloji ya da enfeksiyon hastalıkları uzmanlarından medikal danışmanlık alınması gerekliliğini göstermektedir. Böylece, toplumdaki bilgi kirliliğinin ve stigmanın azalacağını düşünüyoruz.

Bu çalışmanın bir sonraki aşaması olarak aynı üniversitede sağlıkla ilgili eğitim alan öğrencilerin yanı sıra farklı disiplinlerde eğitim alan öğrencileri de dâhil ederek genişletilebilir. Yine diğer üniversite öğrencilerinde de aynı anket uygulanarak farklı üniversite öğrencileri de birbirleriyle karşılaştırılabilir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (14.01.2020 tarih ve 207 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of İstanbul Aydın University, Non-invasive Clinical Research Ethics Committee (01.14.2020; 207).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: Evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. N Engl J Med. 1981;305(24):1425-31. <https://doi.org/10.1056/NEJM198112103052401>.
2. Jaffe HW, Bregman DJ, Selik RM. Acquired immune deficiency syndrome in the United States: the first 1,000 cases. J Infect Dis. 1983;148(2):339-45. <https://doi.org/10.1093/infdis/148.2.339>.
3. Deeks SG, Overbaugh J, Phillips A, Buchbinder S. HIV infection. Nat Rev Dis Primers. 2015;1:15035. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.35>.
4. Whittle H, Morris J, Todd J, et al. HIV-2-infected patients survive longer than HIV-1-infected patients. AIDS. 1994;8(11):1617-20. <https://doi.org/10.1097/00002030-199411000-00015>
5. Luciw PA. Human immunodeficiency virus and their replication. In: Fields BN, Knippe DM, Howley PM (Eds.). Field virology. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1996:1881-952.
6. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. HIV-AIDS İstatistik. 2021 [<https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/bulasici-hastaliklar/hiv-aids/hiv-aids-liste/hiv-aids-istatistik.html>] (Erişim tarihi: 14 Mart 2022).
7. Bayazıt O, Atlı Kocaaslan S, Başoğlu Tuncel M, Karagülle A, Gökengin D. Effects of HIV on neuroelectric responses: AERP and EDA. J Neurol Sci-Turkish. 2017;34(4):291-300. <https://doi.org/10.24165/jns.9860.16>
8. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet. 2015;385(9963):117-71. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61682-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61682-2)
9. Harris C, Small CB, Klein RS, et al. Immunodeficiency in female sexual partners of men with the acquired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med. 1983;308(20):1181-4. <https://doi.org/10.1056/NEJM198305193082001>

10. Coombs RW, Collier AC, Allain JP, et al. Plasma viremia in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1989;321(24):1626-31.
<https://doi.org/10.1056/NEJM198912143212402>
11. Pan LZ, Werner A, Levy JA. Detection of plasma viremia in human immunodeficiency virus-infected individuals at all clinical stages. *J Clin Microbiol*. 1993;31(2):283-8.
<https://doi.org/10.1128/jcm.31.2.283-288.1993>
12. Fujikawa LS, Salahuddin SZ, Palestine AG, Masur H, Nussenblatt RB, Gallo RC. Isolation of human T-lymphotropic virus type III from the tears of a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. *Lancet*. 1985;2(8454):529-30.
[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(85\)90464-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(85)90464-7)
13. Skolnik PR, Kosloff BR, Bechtel LJ, et al. Absence of infectious HIV-1 in the urine of seropositive viremic subjects. *J Infect Dis*. 1989;160(6):1056-60.
<https://doi.org/10.1093/infdis/160.6.1056>
14. Ziegler JB, Cooper DA, Johnson RO, Gold J. Postnatal transmission of AIDS-associated retrovirus from mother to infant. *Lancet*. 1985;1(8434):896-8.
[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(85\)91673-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(85)91673-3)
15. Van de Perre P, Simonon A, Msellati P, et al. Postnatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. A prospective cohort study in Kigali, Rwanda. *N Engl J Med*. 1991;325(9):593-8.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199108293250901>
16. Busch MP, Bloch EM, Kleinman S. Prevention of transfusion-transmitted infections. *Blood*. 2019;133(17):1854-64.
<https://doi.org/10.1182/blood-2018-11-833996>
17. Aydemir N, Yakın I, Arslan HS. AIDS bilgi ve tutum ölçeklerinin geliştirilmesi ve psikometrik özelliklerinin sınanması. *Psikoloji Çalışmaları*. 2018; 38(1):73-93.
18. Avcıkurt AS. Balıkesir Üniversitesi öğrencilerinin HIV/AIDS hakkındaki bilgi düzeyi ve tutumlarının değerlendirilmesi. *Balıkesir Sağlık Bil Derg*. 2014;3(2):81-6.
<https://doi.org/10.5505/bsbd.2014.83703>
19. Bektaş HA, Kulakaç O. Knowledge and attitudes of nursing students toward patients living with HIV/AIDS (PLHIV): A Turkish perspective. *AIDS Care*. 2007;19(7):888-94.
<https://doi.org/10.1080/09540120701203352>
20. Alawad M, Alturki A, Aldoghayyim A, Alrobaee A, Alsoghair M. Knowledge, attitudes, and beliefs about HIV/AIDS and people living with HIV among medical students at Qassim University in Saudi Arabia. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2019;13(5):22-30.
21. Özalp S, Tanır HM, Ilgın H, Ilgın B, Karataş A. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi tıp ve mühendislik fakültesi öğrencilerinin cinsel yolla bulaşan hastalıklar ve aile planlaması konusundaki bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi. *Duzce Medical J*. 2012;14(3):18-21.
22. Ali A, Ali NS, Nasir U, et al. Comparison of knowledge and attitudes of medical and dental students towards HIV/AIDS in Pakistan. *Cureus*. 2018;10(4):e2426.
<https://doi.org/10.7759/cureus.2426>
23. Maimati N, Shamsuddin K, Abdurahim A, Tohti N, Memet R. Knowledge, attitude and practice regarding HIV/AIDS among university students in Xinjiang. *Glob J Health Sci*. 2010;2(2):51-60.
24. Verulava T, Kachkachishvili I, Abulashvili S, et al. Students' awareness, knowledge, and behavior regarding HIV/AIDS. *Gazi Med J*. 2018;29(3):215-8.
<https://doi.org/10.12996/gmj.2018.59>
25. Günbatan M, Tolonay B, Tomruk CÖ, Çapar GD. Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi öğrencilerinin HIV/AIDS konusundaki farkındalıkları, bilgi düzeyleri ve tutumları. *Yeditepe J Dent*. 2016;12(1):29-39
<https://doi.org/10.5505/yeditepe.2016.54264>
26. Goffman E. Stigma: Notes on the management of spoiled identity. New York: Simon&Schuster Inc; 1963.
27. Gökengin D, Çalık Ş, Öktem P. Türkiye'de HIV'le ilgili damgalama ve ayrımcılığın analizi. *Klinik Derg*. 2017;30(1):15-21.
<https://doi.org/10.5152/kd.2017.03>
28. Bozkurt O, Bayırlı Turan D. HIV/AIDS ile ilgili bilgi ve damgalanma düzeyinin ve ilişkili faktörlerin değerlendirilmesi. *J Psychiatric Nurs*. 2020;11(1):41-8.
<https://doi.org/10.14744/phd.2020.88156>
29. Yılmaz BE, Yüksel A. Meslek yüksekokulu öğrencilerinin HIV/AIDS hakkındaki bilgi düzeyleri ve tutumları. *J Soc Sci*. 2020;4(7):196-210.
<https://doi.org/10.30520/tjsosci.668297>
30. Bikmukhametov DA, Anokhin VA, Vinogradova AN, Triner WR, McNutt LA. Bias in medicine: A survey of medical student attitudes towards HIV-positive and marginalized patients in Russia, 2010. *J Int AIDS Soc*. 2012;15(2):17372.
<https://doi.org/10.7448/IAS.15.2.17372>

Rekürren Aftöz Stomatitlerin Etiyolojisinde Herpes Simpleks Virüs-1, Herpes Simpleks Virüs-2 ve *Chlamydia trachomatis*'in Rolünün Araştırılması

Investigation of the Role of Herpes Simplex Virus-1, Herpes Simplex Virus-2 and *Chlamydia trachomatis* in the Etiology of Recurrent Aphthous Stomatitis

Cem Baysal*, Mustafa Önel**, Emel Bozkaya**, Şükrü Şirin*, Ali Ağaçfidan**

* İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

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

Atf/Cite as: Baysal C, Önel M, Bozkaya E, Şirin Ş, Ağaçfidan A. Rekürren aftöz stomatitlerin etiolojisinde herpes simpleks virüs-1, herpes simpleks virüs-2 ve *chlamydia trachomatis*'in rolünün araştırılması. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):202-207.

Öz

Amaç: Rekürren aftöz stomatit (RAS), oral mukozanın en yaygın ülseratif hastalıklardan biridir. Herpes Simpleks Virus (HSV) RAS'in etkeni olarak gösterilmiş, ancak etiolojisindeki rolü kesin olarak kanıtlanamamıştır. Bu çalışmada, HSV ve *Chlamydia trachomatis*'in RAS'in etiolojisindeki rolünün belirlenmesi ilk kez amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya RAS'lı 25 hasta dâhil edilmiştir. Hastalardan alınan biyopsi örneklerinde HSV Hücre kültürü, Direkt Fluoresan Antikor (DFA) yöntemiyle, *C. trachomatis* ise biyopsi örneklerinde Hücre Kültürü, DFA ve kan örneklerinde ise ELISA yöntemleri ile araştırılmıştır.

Bulgular: Hiçbir hastanın hücre kültürü ve DFA testi sonuçlarında HSV-1 ve HSV-2 pozitifliğine rastlanmamıştır. *C. trachomatis* için 25 hastanın örnekleriyle yapılan hücre kültürü ilk pasaj sonunda, üç hastada (%12) kuşku/olası pozitiflik, DFA testleri sonucunda ise 16 hastada (%64) pozitiflik saptanmıştır. *C. trachomatis*'e ait serolojik test sonuçları incelendiğinde altı hastada yalnızca IgM (%24), altı hastada yalnızca IgG (%24), iki hastada ise IgG ve IgM (%8) antikorları birlikte pozitif bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızda yer alan hastalarda HSV'nun izole edilmemesinin yanı sıra DFA testi ile de saptanamaması, bu etkenin RAS etiolojisinde rol oynamadığını düşündürülebilir. *C. trachomatis* test sonuçlarından elde edilen pozitiflik RAS ile *C. trachomatis*'i ilişkilendirmede dikkat çekici olabilir. Bu nedenle, RAS'lerde *C. trachomatis*'in rolünün başka çalışmalar ile desteklenerek araştırılması gerekir.

Anahtar kelimeler: Rekürren aftöz stomatit, herpes simpleks virüs, *chlamydia trachomatis*

ABSTRACT

Objective: Recurrent aphthous stomatitis(RAS) is one of the most common ulcerative diseases of the oral mucosa. Herpes Simplex Virus(HSV) has been shown as the causative agent of RAS but its role in its etiology has not been definitively proven. This study was primarily aimed to determine the role of HSV and *Chlamydia trachomatis* in the etiology of RAS.

Methods: 25 patients with RAS were included in the study. In biopsy samples taken from the patients, HSV was investigated by cell culture and DFA method, and *C. trachomatis* was investigated by Cell Culture, DFA methods in biopsy samples and ELISA methods in blood samples.

Results: HSV-1 and HSV-2 positivity were not found in cell culture and DFA test results. At the end of the first passage of cell culture for *C. trachomatis* with samples from 25 patients, suspicious/possible positivity was found in three patients(12%), and positivity was found in 16 patients (64%) as a result of DFA tests. When the serological test results of *C. trachomatis* were examined, only IgM(24%) antibodies were found in six patients, only IgG(24%) in six patients, and IgG and IgM antibodies together in two patients (8%).

Conclusion: In addition to the fact that HSV was not isolated in the patients in our study, it was not detected by DFA test, which may suggest that this factor does not play a role in the etiology of RAS. The positivity obtained from the *C. trachomatis* test results may be remarkable in associating RAS with *C. trachomatis*. Therefore, the role of *C. trachomatis* in RAS should be investigated by supporting it with other future studies.

Keywords: Recurrent aphthous stomatitis, herpes simplex virus, *chlamydia trachomatis*

Alındığı tarih / Received:

28.06.2021 / 28.June.2021

Kabul tarihi / Accepted:

14.06.2022 / 14.June.2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

C. Baysal 0000-0002-8411-662X
M. Önel 0000-0002-3987-6611
E. Bozkaya 0000-0001-6065-694X
Ş. Şirin 0000-0002-7549-9972
A. Ağaçfidan 0000-0002-5470-296X

✉ cembaysal@yahoo.com

GİRİŞ

Rekürren aftöz stomatit (RAS), kronik ülserasyonlarla karakterize, sıklıkla görülen bir oral mukozal bozukluktur. Popülasyonun yaklaşık %20'sini etkiler. RAS klinik olarak, oral mukozada eritematöz bir halo ile çevrili sarımsı beyaz merkezli fibrinöz eksüdan oluşan farklı boyutlarda oval ağırlı ülserlerle karşımıza çıkmaktadır^(1,2). RAS'ın karakteristik özelliği ülseratif lezyon ortaya çıkmadan önce 2 ila 48 saat süren yanma duygusu vermesidir. Ülserler eritematöz makül veya papül olarak başlamakta ve vezikül hiç oluşmadan nekroz gelişmektedir⁽³⁾. Sağlıklı bireylerde genellikle tipik olarak yanak içinde, dudak mukozasında ve dilde lokalize olur. Damak ve diş etinin ağır keratinize mukozasının tutulumu daha az oranda görülmektedir. RAS, minör, majör ve herpetiform ülserler olarak sınıflandırılır. RAS'ın %85'inden fazlası çapı 1 cm'den küçük olan ve iz bırakmadan iyileşen minör ülserler olarak ortaya çıkar. Sutton hastalığı olarak da bilinen majör RAS ülserleri, genellikle 1 cm çapından büyük olup, haftalarca hatta aylarca sürebilmekte ve daha sonra ülserlerin iyileşmesi ile sonlanmaktadır. Herpetiform ülserler, ağız mukozasına dağılmış çok sayıda kümeler hâlinde göründükleri için klinik olarak farklılık gösterir. Bu isimle tanımlanmalarına rağmen, HSV ile ilişkileri yoktur. Bu üç tip RAS'ın genel özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir^(2,4).

Klinik görünüm açısından RAS, hafif ve şiddetli tip olarak iki kategoriye ayrılır. Daha hafif tipe basit aft, daha şiddetli ve daha az yaygın olan tipe ise kompleks aft adı verilir⁽⁵⁾.

Genel popülasyonda RAS insidansı etnik ve sosyoekonomik gruplara göre %5 ile %50 arasında değişebilmektedir⁽⁶⁾. RAS prevalansı, çalışılan popülasyon, tanı kriterleri ve çevresel faktörlerden etkilenir. RAS ile karıştırılabilen ve oral ülserlere neden olan hastalıklar arasında Behçet hastalığı, sıklıkla nötropeni, tekrarlayan ağız içi Herpes enfeksiyonları, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile ilişkili oral ülserler veya Crohn gibi gastrointestinal hastalıklar sayılabilir. Bu noktada klinisyenin görevi RAS'i altta yatan sistemik bir bozukluğun neden olabileceği ülserlerden ayırmaktır. RAS için olası etkenler arasında; genetik olarak duyarlı bireylerdeki travma gibi yerel faktörler, mikroorganizmalar, folat ve B kompleks vitaminlerinin eksikliği gibi durumlar, immünolojik faktörler, psikososyal stres ve diyet bileşenlerine karşı oluşan alerji tablosu sayılabilir. Kapsamlı çalışmalar ağırlıklı olarak immünolojik faktörlere odaklanmış durumdadır, ancak RAS'ın kesin etiolojisi henüz net olarak belirlenememiştir⁽⁷⁾. Ayrıca oral seks dikkate alınarak, *Chlamydia trachomatis*/HSV'nin cinsel temasla bulaşan birer patojen olması bu çalışmanın planlanmasında önemli bir faktör olmuştur. Bu nedenle oral bölgede bu mikroorganizmaların barınabilme özelliği ve RAS'a yol açabilme olasılığı bu çalışmada göz önünde tutulmuştur.

Yapılan histopatolojik çalışmalar, eksojen antijenlerle ilişkili RAS'ta tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonlarının rolünü göstermiştir. Bu çalışmalar, sitotoksik CD8 T lenfositlerinin çeşitli sitokinlerin salınmasıyla oral ülserlerde ve yaralanan oral epitelde sayısının

Tablo 1. Rekürren aftöz stomatitin genel özellikleri

	RAS tipleri		
	Minör	Majör	Herpetiform
Cinsiyet (K/E)	K=E	K=E	K>E (Genellikle)
Başlangıç yaşı (Yıl)	5-19	10-19	20-29
Ülser sayısı	1-5	1-10	10-100
Ülserin büyüklüğü (mm)	<10	>10	1-2 (Birleştğinde daha büyük)
Süre (Gün)	4-14	>30	<30
Tekrarlama oranı (Ay)	1-4	<1	<1
Bölge	Dudak, yanak, dil, ağız tabanı	Dudak, yanak, dil, damak, farenks	Dudak, yanak, dil, farenks, damak, dişeti, ağız tabanı
Kalıcı yara izi	Nadiren	Sıklıkla	Nadiren

arttığını ve bunun deri yama testleri ile kanıtlandığını bildirmiştir. Deri yama testleri, kullanılan altın standart tanı yöntemidir. Cilde temas eden ve alerjik cilt reaksiyonlarına neden olan sorumlu eksojen antijenleri tespit edilmesinde kullanılan yöntemdir⁽²⁾. Yapılan literatür taraması sonuçlarına göre, RAS'ın etiyolojisinde *C. trachomatis*'in etken olduğunu gösteren ve/veya ilişkisini araştıran çalışmalara rastlanmamıştır. Bu çalışma, *C. trachomatis* ve HSV'nun RAS etiyolojisindeki yerini saptamak ve dikkat çekmek amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (28.03.2021 tarih ve 432 Karar No.) onaylanmıştır.

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı'na RAS yakınması nedeniyle başvuran 25 hasta dâhil edilmiştir. Çalışma kapsamında yer alan 25 hastanın 12'sini (%48) erkek, 13'ünü (%52) ise kadınlar oluşturmuştur. Hastaların yaş ortalamasının 16-47 arasında değiştiği (29.6 ± 8.65), kadınlarda ortalama yaşın $32.6 (\pm 12.39)$, erkeklerde ise $26.3 (\pm 5.15)$ olduğu belirlenmiştir.

Çalışma grubunda yer alan hastalar, rekürrensi 1-3 ay olan RAS'ten yakınması olmayan yetişkin, son altı ayda antibiyotik veya antiviral kullanmayan, kadın hastaların menstrüal dönemde ya da hamile olmaması, akut nekrotizan ülseratif gingivitis, herpes labialis gibi lokal ya da generalize bilinen hiçbir hastalığa sahip olmayan, Behçet sendromu teşhisi konulmayan kişilerden oluşmuştur. Hastalardaki minör aft'lerden, lokal anestezi altında, iki farklı yöntemle biyopsi örnekleri alınmıştır. Bu örneklerden biri Direkt Fluoresan Antikor (DFA) testi için, diğeri ise hücre kültürü yöntemi için kullanılmıştır. DFA testi için gereken biyopsi materyali olabildiğince epitel hücrelerini tek tabaka alabilecek şekilde yatay kesit ve kazıma yöntemiyle alınmıştır. Nekroz bölgesinin çevresinde bulunan epitel hücrelerinin örneklerin alınması sırasında zarar görmemesi için gerekli özen gösterilmiştir.

DFA testi için alınan örnekler, epitel doku üst üste gelmeyecek şekilde HSV-1 ve HSV-2 için standart lamlara, *C. trachomatis* için test kiti ile birlikte bulunan teflon kaplı lamlara, yayılmış ve daha sonra tespit edilmiştir. DFA yöntemiyle, *C. trachomatis*'in saptanması için, (Chlamydia Direct FA, Syva Micro Trak, California, ABD) DFA kiti, HSV-1 ve HSV-2 saptanması için ise (Pathfinder, Kallestad, Freiburg, Almanya) DFA kiti uygulanım prospektüsü dikkate alınarak çalışılmıştır.

Hücre kültürü yöntemi için ülser, daha fazla infekte hücreden yararlanma olasılığı düşünülerek eksizyonel biyopsi yöntemiyle alınmıştır. Alınan örnekler HSV ve *C. trachomatis* Hücre kültürü için özel hazırlanmış transport besiyerlerine konulmuş ve en geç 7-10 gün içinde çalışılmak üzere -20°C ile -30°C arasındaki sıcaklıkta saklanmıştır. Çalışmada, *C. trachomatis* izolasyonu için, insan sinovya hücrelerinden derive edilen, daha sonra fare fibroblastları ile kontamine edilen ve günümüzdeki özelliklerini kazanmış olan Mc Coy hücreleri, HSV-1 ve HSV-2 için ise maymun böbrek hücrelerinden derive edilen Vero hücreleri kullanılmıştır^(8,9). *C. trachomatis* hücre kültürü yöntemi ile saptanmasında ilk pasaj ve sekonder pasaj uygulaması shell-vial yöntemi ile yapılmıştır.

Hastalardan alınan kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Serum örnekleri daha sonra çalışılmak üzere -20°C 'de saklanmıştır. *C. trachomatis* IgG ve IgM antikorlarının saptanabilmesi için Sero ELISA IgM ve IgG (Savyon Diagnostics, İsrail) kitleri uygulanım prospektüsleri dikkate alınarak çalışılmıştır.

BULGULAR

Hücre kültürü sonuçlarına göre, yapılan değerlendirmede, üç hastada da (%12) yalnızca bir tek *C. trachomatis* inklüzyonu saptanmıştır. Birinci pasajda saptanan pozitif örneklerin inklüzyon sayısını arttırmak ve doğrulamak amacıyla sekonder pasaja (körleme pasaja) tabi tutulduğunda, sekonder, kültürlerden yapılan DFA preparatlarında herhangi bir pozitiflik saptanmamıştır. Ancak, yapılan ilk pasajda tipik *C. trachomatis* inklüzyonunun her üç örnekte de görülmesi nedeniyle pozitiflik durumu

bu hastalarda dışlanmamış ve sonuçlar kuşkulu/olası pozitif şeklinde değerlendirilmiştir. Hücre kültürü ilk pasaj sonuçlarında pozitiflik taşıyan üç örneğin, DFA testleri de pozitif olarak bulunmuştur. Yirmi beş hastanın tamamında hücre kültürü ve DFA testleri açısından HSV-1 ve HSV-2 pozitifliğine rastlanılmamıştır. HSV ve *C. trachomatis*'e ait hücre kültürü ve DFA testi pozitiflik durumunun cinsiyete göre dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

C. trachomatis'e ait serolojik test sonuçları incelendiğinde altı hastada yalnızca IgM (%24), altı hastada yalnızca IgG (%24), iki hastada ise IgG ve IgM (%8) antikorları birlikte pozitif bulunmuştur. Serolojik sonuçların cinsiyete göre dağılımı Tablo 3'te gösterilmiştir. DFA testinde sonuçları pozitif olarak değerlendirilmiş 16 hastanın dördünde (%25) kan örnekleri *C. trachomatis* serolojisi açısından negatif olarak bulunmuştur.

Hücre kültürü sonuçlarında pozitiflik kuşkulu/olası ve aynı zamanda DFA testi sonuçları pozitif olarak değerlendirilen üç hastadan birinde *C. trachomatis* IgM, birinde *C. trachomatis* IgG, bir diğerinde ise *C. trachomatis* IgM ve IgG birlikte pozitif olarak saptanmıştır.

C. trachomatis için yapılan hücre kültürü çalışmalarında ilk pasajdan sonra sekonder pasaj yapılmış, ancak örneklerin hiçbirinde pozitifliğe rastlanılmamıştır.

TARTIŞMA

Rekürrent aftöz stomatitin etiyolojisinde tek etkenin rol oynadığı ve bir çok hazırlayıcı faktör sonrasında görülen bir hastalık mı, yoksa çeşitli etiyolojik faktörlerin neden olduğu farklı hastalıkların sonucu olarak görülen bir klinik tablo mu olduğu henüz kesin olarak bilinmemektedir⁽¹⁰⁾. Her hastalıkta olduğu gibi, RAS'ın etiyolojisinde de viral veya başka bir enfeksiyöz etkeni unutmamakta yarar bulunmaktadır⁽¹¹⁾.

Hooks ve ark.⁽¹⁰⁾, 26 kişilik RAS, üç kişilik oral ve genital aftlı ve beş kişilik Behçet sendromlu hastanın biyopsi materyallerini 300 gün süren kültürlerde, sitopatik etki açısından, elektron mikroskopunda değerlendirmiştir. Yapılan işlem partikül aranması yoluyla ve fluoressan antikor boyama yöntemiyle, uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda, latent veya enfeksiyöz hiçbir virüse rastlanmadığını bildirmesine rağmen, RAS'ın etiyolojisinde enfeksiyöz etkenlerin tek başına veya başka faktörlerle de beraber rol oynayabileceği ve enfeksiyöz bir etkenin rol oynamadığının söylenebilmesi için tüm olasılıkların denenmesi gerektiği vurgulamıştır.

Sapp ve Brooke⁽¹²⁾, altı adet herpetiform RAS'den aldıkları biyopsi örneklerini elektron mikroskopunda (EM) incelemiş ve hücre içi inklüzyon cisimcikleri gözlediğini, ancak HSV ve diğer virüslere ait morfolojik hiçbir yapıya rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Tablo 2. HSV ve *Chlamydia trachomatis*'e ait hücre kültürü ve direkt flüoresans antikor testi (DFA) pozitiflik durumunun cinsiyete göre dağılımı

	DFA (+)		Hücre kültürü (+)		Hücre Kültürü ve DFA (+)	
	<i>C. trachomatis</i> n (%)	HSV n (%)	<i>C. trachomatis</i> n (%)	HSV n (%)	<i>C. trachomatis</i> n (%)	Toplam (n)
Kadın	6 (46.15)	0	0	0	1 (7.6)	7
Erkek	7 (58.13)	0	0	0	2 (16.6)	9

Tablo 3. *Chlamydia trachomatis*'e ait serolojik test sonuçlarının cinsiyete göre dağılımı

	IgG (+) n (%)	IgM (+) n (%)	IgM (+) ve IgG (+) n (%)	Toplam (n)
Kadın	4 (30.7)	3 (23)	0	7
Erkek	2 (16.6)	3 (25)	2 (16.6)	7

Pedersen⁽¹³⁾, 800 mg/gün asiklovir uygulanan sekiz RAS'li hastadan altısının ülserlerinin iki gün içinde iyileştiğini, bunların dördünde daha sonra ülser görülmediğini, ikisinin ise daha hafif rekürrensler geçirdiğini bildirmiştir. Diğer iki hastada ise asiklovirin hiçbir etki sağlamadığını, asiklovir yanıtının HSV enfeksiyonunun kanıtı olmayabileceğini, etkenin Varicella zoster virus olabileceğini ve iyileşme için asiklovirin yüksek dozlarda uygulanması gerektiğini belirtmiştir.

Çalışmamızda yer alan hastalara ait örneklerde HSV'nün izole edilememesinin yanı sıra DFA testi ile incelenen ağız mukozasında da görülmemesi, hasta grubumuzda yer alan kişilerde, bu etkenin RAS'lerin etiolojisinde rol oynamadığı şeklindeki genel kaniya uymaktadır.

Rekürrent aftöz stomatitli hastalarda özellikle *C. trachomatis*'e karşı oluşan antikörlerin pozitiflik sıklığı, araştırılması gereken bir konudur. Bu antikörlerin ülserlerin çıkışını takip eden günlerde artıp artmadığı, artış söz konusu ise lezyonun kaçınıcı gününde artış gösterdiği oldukça önem taşımaktadır. Bu amaçla serolojik tanı değeri son derece değerlidir. Aynı önem hücre kültürü ve DFA testleri içinde geçerlidir. Birçok hastada RAS'ın, üçüncü veya dördüncü günden sonra ilerlemesinin durması ve epitelin iyileşmeye başlaması söz konusudur. Enfeksiyöz etken olarak araştırılıyor ise araştırmanın lezyonun olduğu ilk günden itibaren ve günler arasında karşılaştırma yapılarak oluşturulmasında yarar vardır. Biyopsi örneğinin alınması ve epitel hücrelerinin zarar görmeden ayrılmasını sağlamak için saptanacak bir standart yalnızca hücre kültürü için değil, aynı zamanda, bu hücrelerin tek tabaka şeklinde lama yayılmasını sağlayacağından, DFA yöntemi de yapılacak çalışmalara katkı sağlayabilir. Ayrıca RAS'lerde lezyonun periferinde bulunan ve inflamasyonlu hücrelerin bulunduğu 2-3 mm'lik eritematöz bölge bazı araştırmacılar tarafından incelenmesi gereken alan olarak gösterilmektedir⁽¹⁴⁾.

Muayene maddesinin alımından kaynaklı dezavantajlar bazen etkenin doğru saptanmasına izin vermeyebilir. Bu nedenle çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre, *C. trachomatis*'in RAS ile

ilişkisi olabileceği yönünde oldukça önemli sonuçlar mevcuttur. Elde edilen sonuçlarda saptanan bazı olumsuzluklara rağmen, ilk pasajda her üç örnekte tek bir inklüzyon bile olsa saptanan pozitiflik RAS ile ilişki konusunu desteklemektedir. Ancak, yapılan sekonder pasajda inklüzyon sayısının artmaması ve pozitiflik belirlenmemesinin nedeni, ilk pasajda saptanan tek inklüzyon varlığına, yetersiz mikroorganizma sayısına ve/veya uygulamada laboratuvarından kaynaklanan bir soruma dayandırılmıştır.

C. trachomatis serolojisi pozitifliği ve hücre kültüründen elde edilen sonuçlar RAS ile bu etkenin ilişkisi yönünden olası bir durumdur. Yaptığımız çalışmada elde hastaların tamamından elde edilen negatif sonuçlar HSV ile ilgili yapılan diğer çalışmaları desteklemektedir. Hastalarda HSV serolojisinin bakılmama nedeni ise geçirilmiş HSV enfeksiyonları ile oluşacak çapraz reaksiyonlara bağlı pozitiflik olasılığı ve RAS tanısında değerinin olmamasıdır.

Çalışmamızda, hasta popülasyonunun 25 hasta ile sınırlı kalması bir dezavantaj gibi olsa da *C. trachomatis* test sonuçları ile ilgili pozitif veriler RAS'ın *C. trachomatis* ile ilişkisinin olabileceği konusunda destekler durumdadır. *C. trachomatis* cinsel temasla bulaşması ve oral seksin bu konuda primer rol oynadığı düşünüldüğünde *C. trachomatis* ile infekte kişilerde RAS ilişkisinin bu bakteri ile değerlendirilmesi konusunda daha detaylı çalışmaların yapılmasına gereksinim bulunduğu kaçınılmazdır. RAS'lerin meydana gelmesinde *Chlamydia*'ların etkisinin olup olmadığı detaylı araştırılması gereken önemli bir konudur. RAS'lerin etiolojisinde tek bir etkenin olma şartı yoktur. Bu durumun yanı sıra patojene ya da patojenlere karşı aşırı duyarlılık veya sürekli olarak yan faktörlerle tetiklenen immünolojik düzensizliklerin bu olayda rolünün olduğu düşünülebilir.

Rekürrent aftöz stomatitin etiolojisi hakkında kesin bir bilgi olmamasına rağmen, kronik, yineleyici ülserasyonlarla ortaya çıkan, oral mukozada sıklıkla görülen bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Erkeklerle oranla kadınlarda görülme sıklığı daha yüksektir. Östrojenin neden olduğu B hücrelerindeki antikör üretimi ile birlikte humoral immun yanıt

ve sistemik lupus eritematozus tablolarındaki çalışmalarda saptanmıştır. RAS hastalığının erkeklere oranla kadınlarda daha sık görülmesi benzer nitelikte bir mekanizma ile açıklanabilir. Kadın hastalardaki menstrüasyon öncesi dönemde görülen alevlenme de hormonal hipotezi desteklerken, bu durumun kadın hastaların %10'unda olduğu bilinmektedir⁽¹⁵⁾.

Sonuç olarak, bu çalışmada, RAS'lerin etiolojisinin bulunmasına yönelik olarak *C. trachomatis*'in varlığı ilk kez aranmıştır. Sonuçta, bu etkenin RAS'lerin etiolojisinde rol oynayabileceğine dair bilgiler elde edilmiştir. Bu araştırma daha sonra yapılacak olan araştırmaların bu etken üzerine yoğunlaşmasını ve belki de, RAS'lerin bir enfeksiyon olup olmadığı konusundaki tartışmaların sona ermesini sağlayacak bilgileri içeriyor olabileceği düşüncesindeyiz.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (28.03.2021 tarih ve 432 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of İstanbul Aydın University, Non-invasive Clinical Research Ethics Committee (03.28.2021; 432).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Akintoye SO, Greenberg MS. Recurrent aphthous stomatitis. Dent Clin North Am. 2014;58(2):281-97. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2013.12.002>
2. Letsinger JA, McCartyb MA, Jorizzob JL. Complex aphthosis: a large case series with evaluation algorithm and therapeutic ladder from topicals to thalidomide. J Am Acad Dermatol. 2005;52(3 Pt 1):500-8. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.10.863>
3. Weathers DR, Griffin JW. Intraoral ulcerations of recurrent herpes simplex and recurrent aphthae: two distinct clinical entities. J Am Dent Assoc. 1970;81(1):81-7. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1970.0157>
4. Porter SR, Scully C, Pedersen A. Recurrent aphthous stomatitis. Crit Rev Oral Biol Med. 1998;9(3):306-21. <https://doi.org/10.1177/10454411980090030401>
5. Woo SB, Sonis ST. Recurrent aphthous ulcers: A review of diagnosis and treatment. J Am Dent Assoc. 1996;127(8):1202-13. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1996.0412>
6. Rogers RS. Recurrent aphthous stomatitis: clinical characteristics and associated systemic disorders. Semin Cutan Med Surg. 1997;16(4):278-83. [https://doi.org/10.1016/s1085-5629\(97\)80017-x](https://doi.org/10.1016/s1085-5629(97)80017-x)
7. Cui RZ, Bruce AJ, Rogers 3rd RS. Recurrent aphthous stomatitis. Clin Dermatol. 2016;34(4):475-81. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.02.020>
8. Önel M, Bozkaya E. Çeşitli risk gruplarında *Chlamydia trachomatis*'in hücre kültürü yöntemi ve direkt fluoresan antikor testi ile araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2001;31(3-4):227-33.
9. Yılmaz G, Bozkaya E, Türkoğlu S, Badur S, Çetin ET. Hayat kadınlarında genital Herpes simpleks virusu enfeksiyonu prevalansının hücre kültürü ve enzim immünoessey yöntemleri ile saptanması. Klimik Derg. 1991;4(2):72-3.
10. Hooks JJ. Possibility of a viral etiology in recurrent aphthous ulcers and Behçet's syndrome. J Oral Pathol. 1978;7(6):353-64. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1978.tb01602.x>
11. Miller MF, Garfunkel AA, Ram C, Ship II. Inheritance patterns in recurrent aphthous ulcers: Twin and pedigree data. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1977;43(6):886-91. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(77\)90081-0](https://doi.org/10.1016/0030-4220(77)90081-0)
12. Sapp JP, Brooke RI. Intranuclear inclusion bodies in recurrent aphthous ulcers with a herpetiform pattern. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1997;43(3):416-21. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(77\)90329-2](https://doi.org/10.1016/0030-4220(77)90329-2)
13. Pedersen A. Acyclovir in the prevention of severe aphthous ulcers. Arch Dermatol. 1992;128(1):119-20. <https://doi.org/10.1001/archderm.1992.01680110133024>
14. Luzardo-Baptista MJ. Aspect of the fine anatomy of aphthous stomatitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1975;39(2):239-48. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(75\)90225-x](https://doi.org/10.1016/0030-4220(75)90225-x)
15. Güngör Ş, Akbay G, Eksioğlu M. Rekürren aftöz stomatit hastalarında tetikleyici faktörlerin değerlendirilmesi. Okmeydanı Tıp Derg. 2014;30(1):26-9. <https://doi.org/10.5222/otd.2014.026>

Architect® EBV Antikor Panel Sonuçları ve EBV Tanı Algoritmalarının Değerlendirilmesi

Evaluation of Architect® EBV Antibody Panel Results and EBV Diagnostic Algorithms

Özgür Appak*, Abdurrahman Gülmez**, Arzu Sayiner*

* Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Viroloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

** İstanbul Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, İstanbul, Türkiye

Atıf/Cite as: Appak Ö, Gülmez A, Sayiner A. Architect® EBV antikor panel sonuçları ve EBV tanı algoritmalarının değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):208-215.

Öz

Amaç: Çalışmamızda, EBV'ye özgül VCA IgM, VCA IgG ve EBNA-1 IgG antikor sonuçlarının analizi, seroepidemiolojik verilerin elde edilmesi, EBV test algoritmalarının kullanılabilirliğinin ve maliyet üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Seroloji Laboratuvarı'na Ocak 2018-Aralık 2021 tarihleri arasında gönderilen ve Architect® (Abbott) cihazı ile EBV serolojisi çalışılan hastaların sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. EBV tanısında başlangıç testi olarak anti-VCA M/G ve anti-EBNA-1 IgG yaklaşımların etkileri incelendi.

Bulgular: Çalışma döneminde 6.529 serum örneği değerlendirildi. EBV seropozitifliği %86 iken, EBV klinik profili olarak geçirilmiş enfeksiyon en sık görülen profildi. Atipik EBV profil oranı %12.6 olup, her üç testin birlikte pozitifliği ve izole VCA IgG pozitifliği sık görüldü. Anti-VCA (VCA IgM/VCA IgG) yaklaşımı tüm olguların %14.8'inde EBNA-1 IgG testinin kullanılmasını, anti-EBNA (EBNA-1 IgG) yaklaşımı ise tüm olguların %76.7'sinde VCA IgG ve IgM testlerinin kullanılmasını gereksiz kıldı. Anti-VCA yaklaşımı ile izole EBNA-1 IgG olgularının, anti-EBNA yaklaşımı ile reaktivasyon olgularının hatalı yorumlanabileceği saptandı.

Sonuç: Çalışmamızda saptanan seropozitiflik oranımız ülkemiz verileri ile uyumludur. EBNA-1 IgG yaklaşımı kit tasarrufu sağlayarak test maliyetlerini yaklaşık %50 oranında azalttığı, immünkompetan kişilerde uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: EBV, seroloji, algoritma

ABSTRACT

Objective: In the study, it is aimed to analyze the results of EBV-specific VCA IgM, VCA IgG and EBNA-1 IgG antibodies, to obtain seroepidemiological data and to evaluate the usability of EBV test algorithms and their effects on cost.

Methods: The test results of the patients whose EBV serology was evaluated with the Architect® (Abbott) device in the Serology Laboratory between January 2018 and December 2021 were evaluated retrospectively. The effects of two different test algorithms initiated according to the anti-VCA and anti-EBNA results were examined.

Results: During the study period, 6529 serum samples were evaluated. The EBV seropositivity rate was 86%, and the most common EBV clinical profile was 'past infection'. Atypical EBV profile rate was 12.6%, and positivity of all three tests together and isolated VCA IgG positivity were common. While the anti-VCA (VCA IgM/VCA IgG) approach makes it unnecessary to use the EBNA-1 IgG test in 14.8% of all cases, the anti-EBNA (EBNA-1 IgG) approach makes it unnecessary to use VCA IgM-VCA IgG tests in 76.7% of all cases. It was determined that isolated EBNA-1 IgG cases in the anti-VCA approach and reactivation cases in the anti-EBNA approach could be misinterpreted.

Conclusion: The seropositivity rate determined in our study is consistent with the data of our country. The EBNA-1 IgG approach reduces testing costs by approximately 50%, and it has been concluded that this algorithm can be applied in immunocompetent individuals.

Keywords: EBV, serology, algorithm

Alındığı tarih / Received:

11.04.2022 / 11.April.2022

Kabul tarihi / Accepted:

17.06.2022 / 17.June.2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

Ö. Appak 0000-0003-1810-8346

A. Gülmez 0000-0003-3953-5267

A. Sayiner 0000-0001-6750-2353

✉ ozgur.appak@deu.edu.tr

GİRİŞ

Epstein-Barr virüsü (EBV), insan herpes virüsü 4 olarak da bilinir ve insanlarda en yaygın görülen virüslerden biridir. Yirmi beş yaş üzerindeki erişkinlerde seroprevalansı $>95\%$ 'tir^(1,2). Epstein-Barr virüsünün doğal konağı insandır ve temel bulaş yolu enfekte kişilerin tükürüğüdür. Transplantasyon ve lenfosit içeren kan ürünleri ile bulaş görülmekte, seksüel yolla geçişte olası bir bulaş yolu olarak bildirilmektedir⁽³⁾. Epstein-Barr virüs, akut enfeksiyöz mononükleoz etkenidir. Burkitt lenfoma ve nazofaringiyal karsinoma gibi malignitelerin etiolojisinden sorumlu olduğu belirlenmiş, multiple skleroz etiolojisinde rol oynayabileceği bildirilmiştir⁽⁴⁾.

Epstein-Barr virüs enfeksiyonu tanısında EBV'ye özgül olan ve olmayan laboratuvar testleri kullanılmaktadır. Epstein-Barr virüs viral kapsid antijeni (VCA) ve EBV nükleer antijenine (EBNA-1) karşı gelişen özgül antikorların saptandığı spesifik testler ile akut enfeksiyon ve geçirilmiş enfeksiyon tanıları kolaylıkla konabilmektedir. Ancak, izole VCA IgG, izole EBNA-1 IgG veya VCA IgM, VCA IgG ve EBNA-1 IgG'nin üçünün eşzamanlı pozitifliği gibi atipik EBV profillerinde immunoblot, IgG avidite gibi ek laboratuvar testlerinin yapılması gerekmektedir⁽⁵⁾. İmmünofloresan testi (IFA), VCA IgM/IgG ve EBNA-1 IgG'nin saptanması için altın standart olarak kabul edilse de⁽⁶⁾ otomatik analizörlerin kullanıldığı chemiluminescence immunoassay (CLIA) yöntemleri yüksek verim, düşük iş gücü ve sonuçların objektif yorumlanması nedeniyle günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Epstein-Barr virüs serolojik tanısında henüz kabul görmüş bir algoritma yoktur. Bunda tanı için kullanılan ticari kitlerin performansı, test edilen hasta popülasyonun özellikleri, klinik tanıları, laboratuvarların iş akışları ve test geri ödemeleri gibi birçok faktörün etkisi bulunmaktadır. Tanısal yaklaşım için iki algoritma önerilmektedir. IgG veya IgM belirteçlerinden en az birinin reaktif olması durumunda diğer testlerin yapıldığı anti-VCA yaklaşımı ve çalışmanın yalnızca EBNA-1 IgG

belirteci negatif olduğunda devam ettiği anti-EBNA yaklaşımıdır⁽⁷⁾. Hastanemizde tanı için bu üç test birlikte değerlendirilmektedir.

Çalışmamızda Architect® cihazı ile elde edilen EBV'ye özgül VCA IgM, VCA IgG ve EBNA-1 IgG antikor sonuçlarının analizi ile seroepidemiolojik verilerin elde edilmesi, EBNA-1 IgG antikorları ile taramayı içeren algoritmanın kullanılabilirliğinin ve maliyet üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (23.02.2022 tarih ve 2022/07-11 Karar No.) onaylanmıştır.

Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi, Seroloji Laboratuvarı'na Ocak 2018-Aralık 2021 tarihleri arasında gönderilen ve Architect® (Abbott) cihazı ile EBV serolojisi çalışılan hastaların sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi.

Architect® (Abbott, Almanya) EBV antikor panel testi, insan serum ve plazmasında bulunan VCA IgM, VCA IgG ve EBNA-1 IgG'yi kalitatif saptayan iki adımlı kemilüminesan mikropartikül immunojenik test teknolojisini kullanmaktadır. Test, spesifik sentetik peptidler ile kaplanmış p18 kapsid antijen ve p72 nükleer antijen ile akrinyum etiketli anti IgG veya anti-IgM konjugatlarını kullanır. Elde edilen kemilüminesan sinyal, relatif ışık (RLU) olarak ölçülür. Sonuçlar örnek RLU değerinin cut-off RLU'ya oranı (S/CO) ile değerlendirilir. VCA IgM ve EBNA IgG için S/CO değeri <0.5 negatif, $0.5 \leq x < 1$ belirsiz, ≥ 1 pozitif; VCA IgG için ise S/CO değeri ≤ 0.75 negatif, $0.75 < x < 1$: belirsiz, ≥ 1 pozitif olarak değerlendirildi. Belirsiz sonuçlar çalışmamızda pozitif olarak değerlendirildi.

Anti-VCA ve anti-EBNA esaslı iki tarama algoritması, çalışma grubuna geriye dönük olarak uygulandı. Anti-VCA yaklaşımı için; başlangıç testi olarak VCA

IgM ve VCA IgG test sonuçları incelendi ve herhangi birinin pozitif olması durumunda EBNA-1 IgG testi değerlendirildi. Anti EBNA yaklaşımında, başlangıç testi olarak EBNA-1 IgG sonuçları incelendi, negatif olması durumunda VCA IgM ve VCA IgG testleri değerlendirildi. Her iki algoritma ile elde edilen tanımlar, tam panel ile elde edilenlerle karşılaştırıldı. Serolojik paternlerin dağılımı, algoritmaların uygulanmasının paternlere etkisi ve sonuçların klinik anlamı değerlendirildi.

İstatistik analiz: Tüm analizler, IBM SPSS Statistics sürüm 26.0 (<https://www.ibm.com/tr-tr/products/spss-statistics>) kullanılarak yapıldı. Verilerin normalliğini değerlendirmek için Shapiro-Wilk normallik testi ve histogram grafiği kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma ve median değer olarak belirtildi. Epstein-Barr virüs profilleri arasındaki yaş dağılımlarının ilişkisini incelemek için Kruskal Wallis testi ve ardından Bonferroni düzeltmesi uygulandı, p anlamlılık düzeyi 0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

2018-2021 yılları arasında, farklı kliniklerden gelen, EBV serolojik test istemi olan 6.529 örneğin, %51.4'ü (3.359/6.529) erkek, %48.6'sı (3.170/6.529) kadın hastalara ait olup, yaş ortalaması 28.97 ± 34.47

(median 23 yaş) idi. Örneklerin 2018-2021 arası yıllara göre dağılımı sırasıyla %22.9 (1.496/6.529), %28.8 (1.878/6.529), %18.6 (1.216/6.529), %29.7 (1.939/6.529) idi.

Çalışmamızda, EBV seropozitifliği %86 (5.612/6.529) iken, klinik profillere göre değerlendirildiğinde, geçirilmiş enfeksiyon %70.6 (4.612/6.529), akut enfeksiyon %2.7 (176/6.529) ve seronegatiflik %14 (917/6.529) tespit edildi. Atipik EBV profil oranı %12.6 (824/6.529) olup, her üç testin birlikte pozitifliği %5.3 (348/6.529), izole VCA IgG pozitifliği %5.3 (346/6.529), izole VCA IgM pozitifliği %1.3 (82/6.529) ve izole EBNA-1 IgG pozitifliği %0.6 (48/6.529) sıklık sırasıyla saptandı. Epstein-Barr virüs klinik profilleri arasında yaş ortalamaları açısından anlamlı fark saptandı ($p < 0.001$) (Tablo 1) (Tablo 2). Üç yüz yirmi yedi serum numunesinde (%5, 327/6.529) bir veya iki EBV antikor test sonucu belirsiz olarak tespit edildi. Belirsiz sonuçlar, EBV VCA IgM'de %3.4 (220/6.529), EBNA-1 IgG'de %1.3 (87/6.529) ve EBV VCA IgG'de %0.3 (20/6.529) idi. Belirsiz sonuçlar klinik profil olarak değerlendirildiğinde, %50'si (160/320) üç testin birlikte pozitifliği şeklindeydi (Tablo 3).

Çalışmamızda, EBV VCA IgM'i pozitif olan 606 hastanın, yaklaşık yarısının (325/606) CMV IgM test sonucu da bulunmakta idi. EBV VCA IgM pozitif olan hastaların %29'unda (94/325) CMV IgM pozitif olarak saptandı.

Tablo 1. Architect EBV ve CMV IgM seroloji sonuçları

VCA IgM	VCA IgG	EBNA-1 IgG	SAYI (n)	CMV IgM				%
				-	+	+/-	yok	
-	-	-	917					14
-	+	+	4612					70.6
-	+	-	346					5.3
-	-	+	48					0.7
+	-	-	82	34	11	2	35	1.3
+	+	-	176	33	29	3	111	2.7
+	+	+	348	154	44	5	145	5.3
			6529	231	84	10	281	

(+): pozitif sonuç

(-): negatif sonuç

Tablo 2. EBV profillerine göre yaş ortalama, standart sapma, median değerleri

Yaş						
				Ortalama $\pm$ SS	Median	n
				28.97 $\pm$ 34.47	23,0	6529
VCA IgM	VCA IgG	EBNA IgG	Klinik profil			p
*,+	*,+	-	Akut Enfeksiyon	8.57 $\pm$ 8.64	6.0	176
-	-	-	Seronegatif	5.86 $\pm$ 8.82	3.0	917
-	*,+	*,+	Geçirilmiş Enfeksiyon	35.59 $\pm$ 23.24	35.0	4612
-	*,+	-	İzole G	19.77 $\pm$ 23.20	8.0	346
*,+	-	-	İzole M	8.21 $\pm$ 6.60	6.0	82
-	-	*,+	İzole EBNA	26.78 $\pm$ 24.25	27.5	48
*,+	*,+	*,+	Üç'lü pozitif	21.08 $\pm$ 19.05	15.0	348

SS:Standart Sapma

n:Örnek Sayısı

*,+: Belirsiz ve Pozitif sonuç veren örnekler

-:Negatif Sonuç veren örnekler

Tablo 3. Belirsiz saptanan EBV test parametrelerinin EBV klinik profil ve CMV IgM sonuçlarıyla ilişkisi

VCA IgM	VCA IgG	EBNA-1 IgG	Klinik Profil	SAYI (n)	CMV IgM			
					-	+	+/-	İstem yok
+/-	-	-	İzole VCA IgM	40	22	4	1	13
-	-	+/-	İzole EBNA-1 IgG	8	-	-	-	-
-	+/-	+	Geçirilmiş enfeksiyon	7	-	-	-	-
-	+	+/-	Geçirilmiş enfeksiyon	70	-	-	-	-
+	+/-	+/-	Üçlü pozitif	1	1	-	-	-
+/-	+/-	-	Akut enfeksiyon	1	-	-	-	1
+/-	+/-	+	Üçlü pozitif	1	1	-	-	-
-	+/-	-	İzole VCA IgG	3	-	-	-	-
-	+/-	+/-	Geçirilmiş enfeksiyon	3	-	-	-	-
+/-	+	+/-	Üçlü pozitif	1	-	-	-	1
+/-	+	-	Akut enfeksiyon	25	7	-	-	18
+/-	+	+	Üçlü pozitif	152	88	8	-	56
+	+	+/-	Üçlü pozitif	4	1	-	-	3
+	+/-	-	Akut enfeksiyon	3	-	2	-	1
+	+/-	+	Üçlü pozitif	1	-	-	-	1
					120	14	1	94

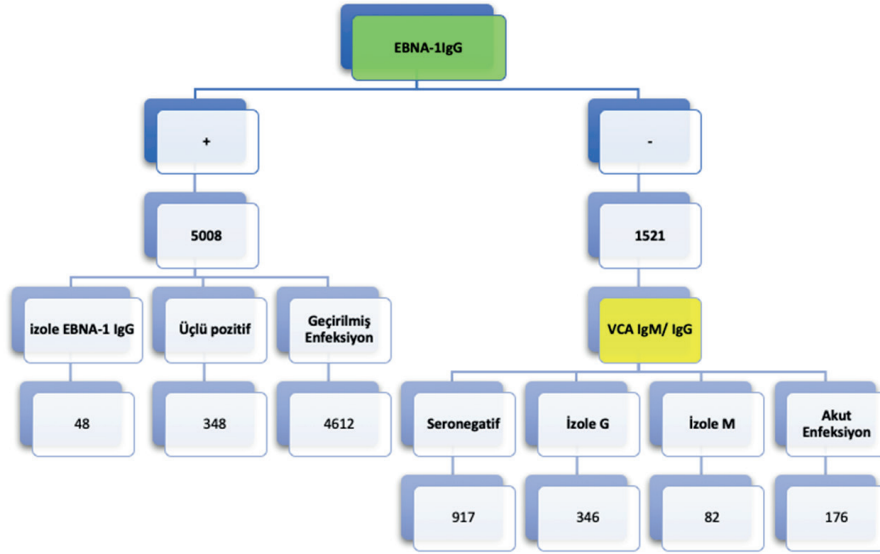
(+/-): belirsiz sonuç

(>): pozitif sonuç

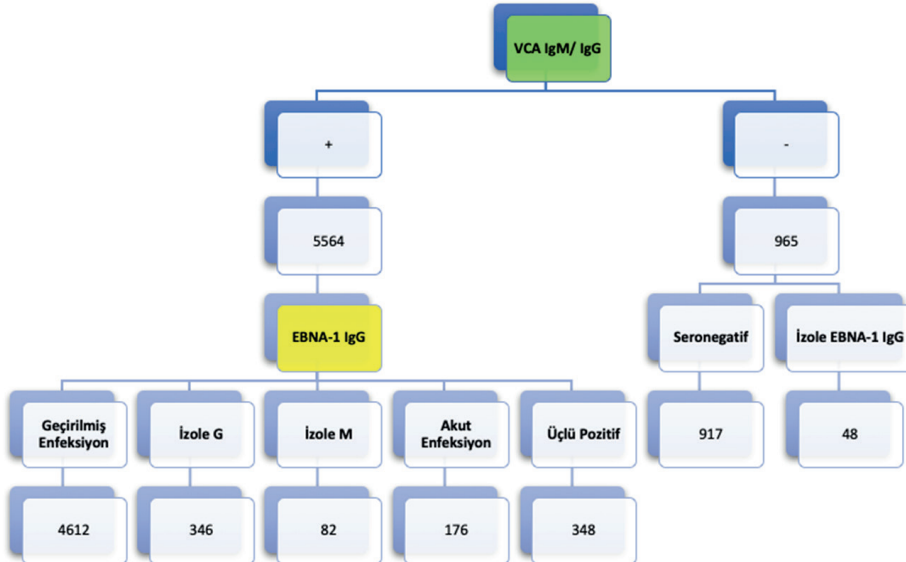
(-): negatif sonuç

İki farklı algoritma incelendiğinde, anti-VCA yaklaşımı, tüm olguların %14.8'inde (965/6.529) EBNA-1 IgG testinin kullanılmasını, anti-EBNA yaklaşımı tüm olguların %76.7'sinde (5008/6.529) VCA IgG ve IgM testlerinin kullanılmasını engellemektedir. Anti-VCA yaklaşımında izole EBNA-1 IgG paterni

olan olgular [tüm olguların %0.7'si (48/6.529)] tanımlanamamaktadır. Geçirilmiş enfeksiyon veya reaktivasyon olabilecek, üçlü pozitif %5.3 (348/6.529) örnekte anti-EBNA yaklaşımı uygulandığında reaktivasyon olguları atlanabilmektedir (Resim 1, 2).



Resim 1. EBNA-1 IgG yaklaşımı



Resim 2. VCA IgM ve VCA IgG yaklaşımı

TARTIŞMA

Çalışmamızda, EBV ile seropozitiflik oranı %86 olarak tespit edilmiş olup, bu oran ülkemizde yapılan diğer çalışma verileri (%70-99.4) ile uyumlu bulunmuştur⁽⁸⁻¹¹⁾. EBV seroprevalansı yaş ile birlikte arttığı, insanların %90-95'inin 25 yaşına kadar enfekte olurken, küçük bir kısmının (%5-10) yaşamları boyunca seronegatif kalabildiği bilinmektedir⁽¹²⁾. EBV'nin yaşa bağlı seroprevalansı bölgesel farklılık göstermektedir. Asya'daki insanların %80'i 5 yaş, %90'ı 7-8 yaşına kadar EBV ile karşılaşırken, Avrupa ve Kuzey Amerika'daki çalışmalarda, seroprevalansın 22 yaşına kadar %90'a varan daha kademeli bir artış gösterdiği tespit edilmiştir⁽¹³⁾.

Çalışmamızda, EBV profilleri arasında yaş ortalamaları açısından anlamlı fark ($p<0.001$) saptandı. Bu farkın ileri incelemesinde düşük yaş ortalamasına sahip gruplarda, seronegatiflik, akut enfeksiyon, izole VCA IgM; yüksek yaş ortalamasına sahip gruplarda ise geçirilmiş enfeksiyon, izole VCA IgG, izole EBNA-1 IgG, üçlü pozitif klinik profillerinin olduğu gözlemlendi. Çalışmamıza benzer şekilde Duran ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ çalışmalarında da akut enfeksiyon ve seronegatiflik düşük yaş gruplarında, geçirilmiş enfeksiyon ise daha büyük yaş gruplarında tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, atipik EBV profil oranı %12.6 olup, her üç testin birlikte pozitifliği ve izole VCA IgG pozitifliği sık görülen profiller olmuştur. Yapılan çalışmalarda, atipik EBV profil oranları kullanılan yöntem ve hasta popülasyonlarına göre değişebilmektedir. EBV VCA IgM ve VCA IgG'nin indirekt immun floresan antikor, EBNA-1 IgG'nin ELISA yöntemi ile değerlendirildiği ve merkezimizde daha önce yapılan bir çalışmada da atipik profil oranı çalışmamıza benzer şekilde %11.4 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, sıklık sırası ile izole VCA IgG, üç testin birlikte pozitifliği ve izole EBNA-1 IgG pozitifliği saptanmıştır⁽¹⁵⁾. Enzim bağlantılı floresan testi (ELFA) yöntemi ile yapılan bir çalışmada, %15.0 olan atipik profil oranı çalışmamıza benzer iken, sıklık sırası ile izole VCA IgG, izole EBNA-1 IgG ve üç testin birlikte pozitifliği tespit edilmiştir⁽⁸⁾. Architect® EBV kitlerinin kullanıldığı çalışmada ise,

atipik EBV profil oranı %5.01 ile çalışmamızdan düşük saptanmasına rağmen, benzer şekilde her üç testin birlikte pozitifliği en sık görülen profil olmuştur⁽¹⁴⁾.

Çalışmamızda, belirsiz sonuç, örneklerin %5'inde ve en sık VCA IgM testinde saptanmıştır. Immulite®, Architect® ve Vidas® otomatize sistemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, VCA IgM kitlerinin her üç sistem için duyarlılığı %100, özgüllükleri ise sırasıyla %100, %94 ve %99 olarak bulunmuştur. Architect® sistemiyle VCA IgM için özgüllüğün daha düşük olmasının belirsiz VCA IgM sonuçlarının yalancı pozitifliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir⁽¹⁶⁾. EBV Anti VCA IgM kitlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, birinci basamak sağlık hizmetlerinde enfeksiyöz mononükleoz veya mononükleoz benzeri hastalıkların tanısı için EBV IgM'in akut EBV enfeksiyonunu dışlayacağı, ancak pozitif sonucun dikkatli yorumlanması gerektiği bildirilmiştir⁽¹⁷⁾. Primer EBV enfeksiyonu olan çocuklarda, EBV Anti VCA IgM ve CMV IgM'in ikili pozitifliği de sık bildirilmektedir. Bu ikili pozitiflik CMV ile koenfeksiyonun bir göstergesinden ziyade, olasılıkla antijenik çapraz reaksiyona bağlıdır. Bu nedenle klinik uygulamada gereksiz test yapılmasını önlemek için primer EBV enfeksiyonu olan çocuklarda bu tür ikili pozitif sonuçların yorumlanması önemlidir⁽¹⁸⁾. Çalışmamızda, EBV Anti VCA IgM ve CMV IgM birlikte pozitifliği iki testin de çalışıldığı örneklerin yaklaşık 1/3'ünde tespit edilmiştir.

Ülkemizde, EBV anti VCA IgM, EBV anti VCA IgG ve EBNA-1 IgG kitlerinin her biri için 25.50 TL. kuruma geri ödeme yapılmaktadır. Laboratuvar rutin uygulamamızda her üç test çalışılmaktadır. Bu çalışmada incelenen örnekler dikkate alındığında, EBV testleri için toplam geri ödeme miktarı yaklaşık 499.468,50 TL. olmaktadır. Algoritmaların uygulanması hâlinde, EBNA-1 IgG yaklaşımı için geri ödeme miktarı yaklaşık 244.060 TL; anti VCA IgM/IgG yaklaşımı için geri ödeme miktarı yaklaşık 474.861 TL. olmaktadır. Çalışmamızda, anti VCA IgM/IgG yaklaşımı maliyet etkin saptanmamıştır. Ayrıca bu algoritmanın kullanılması hâlinde izole EBNA-1 IgG olguları hatalı olarak seronegatif olarak kabul edilmektedir.

EBNA-1 IgG taramasının başarılı olabilmesi için kullanılan kitlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin yüksek olması gerekmektedir. Architect EBNA-1 IgG'nin kit prospektüsünde duyarlılık %99.42 ve özgüllük %99.22 olarak belirtilmiştir. Merkezimizde yapılan bir çalışmada da duyarlılığı %98.1, özgüllüğü %98.5 olarak tespit edilmiştir⁽¹⁵⁾. Çalışmamızda, tanı algoritması için EBNA-1 IgG yaklaşımı maliyet etkin saptanmıştır. Ayrıca EBNA-1 IgG pozitif hastalarda anti VCA IgM test gereksinimi ortadan kalkacağı için romatoid faktör ve çapraz reaksiyonlara bağlı (CMV veya parvovirüs B19 enfeksiyonları) yalancı anti VCA IgM pozitifliği olasılığının da azalacağı bildirilmektedir⁽¹⁹⁾. EBNA-1 IgG ile anti VCA IgM'in birlikte pozitif olduğu geçirilmiş enfeksiyon ve/veya reaktivasyon durumlarında bu yaklaşımın kullanılması immünkompetan kişilerde herhangi bir klinik sıkıntıya neden olmamaktadır. Ancak, immünsüprese kişilerde reaktivasyon olgularını atlamamak için her üç testin birlikte kullanılması önerilir.

Çalışmamızın kısıtlılığı retrospektif bir çalışma olması nedeniyle EBV profil sonuçlarının hasta klinikleri ile birlikte değerlendirilememesi ve atipik profiller için ek laboratuvar testlerinin uygulanamaması veya izlem bilgilerinin eksikliği olarak sayılabilir.

Sonuç olarak, çalışmamızda EBV seropozitifliği %86 ve ileri yaş ile birlikte EBV ile karşılaşma oranlarının arttığı tespit edilmiştir. Klinik profiller arasında en sık geçirilmiş enfeksiyon saptanmıştır. EBV serolojik tanısında EBNA-1 IgG yaklaşımı kit tasarrufu sağlayarak test maliyetlerini yaklaşık %50 oranında azaltmaktadır. İmmünkompetan kişilerde EBV serolojik tanısında başlangıç testi olarak EBNA-1 IgG kullanılmasının maliyet etkin olduğu sonucuna varılmıştır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (23.02.2022 tarih ve 2022/07-11 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Dokuz Eylül University, Non-invasive Research Ethics Committee (02.23.2022; 2022/07-11).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Ooka T, de Turenne-Tessier M, Stolzenberg MC. Relationship between antibody production to Epstein-Barr virus (EBV) early antigens and various EBV-related diseases. *Springer Semin Immunopathol.* 1991;13(2):233-47. <https://doi.org/10.1007/BF00201471>
2. Rickinson AB, Kieff E. Epstein-Barr virus. In; Knipe PM, Howley DE, Griffin MA (eds). *Fields Virology*, 4th ed. Philadelphia, PA; 2001:2575-627.
3. Crawford DH, Swerdlow AJ, Higgins C, et al. Sexual history and Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis.* 2002;186(6):731-6. <https://doi.org/10.1086/342596>
4. Bjornevik K, Cortese M, Healy BC, et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science.* 2022;21;375(6578):296-301. <https://doi.org/10.1126/science.abj8222>
5. Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: Still challenging after 35 years. *J Clin Microbiol.* 2004;42(8):3381-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3381-3387.2004>
6. de Ory F, Guisasaola ME, Sanz JC, García-Bermejo I. Evaluation of four commercial systems for the diagnosis of Epstein-Barr virus primary infections. *Clin Vaccine Immunol.* 2011;18(3):444-8. <https://doi.org/10.1128/CVI.00486-10>
7. Sickinger E, Berth M, Vockel A, Braun HB, Oer M, Bunning C. Comparative evaluation of the new ARCHITECT EBV assays considering different testing algorithms. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;79(3):310-6. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.03.022>
8. Soylu M, Zeytinoğlu A, Altuğlu İ. Ege Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran hastalarda enzim işaretli floresan test ile elde edilen Epstein-Barr virüsü serolojik test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Ege Tıp Derg.* 2014;53(3):119-23.

9. Aydemir Ş, Erensoy S. Epstein-Barr virüsün seroprevalansı: Bir alan çalışması. *İnfeks Derg.* 1999;3(13):275-80.
10. Erensoy S, Zeytinoğlu A. Epstein Barr Virüs (Lymphocryptovirus, HHV-4). In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. Cilt, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; 2008:1672-9.
11. Fidan I, Yüksel S, İmir T. Değişik yaş gruplarında Epstein-Barr virüs antikorlarının araştırılması. *İnfeks Derg.* 2005;19(4):453-6.
12. Hjalgrim H, Friborg J, Melbye M. The epidemiology of EBV and its association with malignant disease. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, et al. (eds). *Human herpesviruses: Biology, Therapy and Immunoprophylaxis*. Cambridge: Cambridge University Press; 2007.
13. Winter JR, Jackson C, Lewis JE, Taylor GS, Thomas OG, Stagg HR. Predictors of Epstein-Barr virus serostatus and implications for vaccine policy: A systematic review of the literature. *J Glob Health.* 2020;10(1):010404. <https://doi.org/10.7189/jogh.10.010404>
14. Çetin Duran A, Kula Atik T. Değişik yaş gruplarındaki hastalarda kemilüminesan mikropartikül immünoassay yöntemiyle Epstein-Barr virüsü antikorlarının araştırılması: Atipik serolojik profillerin değerlendirilmesi. *Klinik Derg.* 2021;34(2): 103-8. <https://doi.org/10.36519/kd.2021.3511>
15. Varıcı Balcı FK, Özbek ÖA, Sayiner AA. EBV serolojik tanısında atipik profil sorunu. *Mikrobiyol Bul.* 2017;51(4):78-86. <https://doi.org/10.5578/mb.58662>
16. Appak O, Ozkaratas MH, Sayiner AA. Evaluation of Abbott Architect, Siemens Immulite, bioMerieux Vidas, and Euroimmune assays for determination of Epstein-Barr virus serological diagnosis. *J Med Virol.* 2021;93(11):6309-16. <https://doi.org/10.1002/jmv.27262>
17. Berth M, Bosmans E. Comparison of three automated immunoassay methods for the determination of Epstein-Barr virus-specific immunoglobulin M. *Clin Vaccine Immunol.* 2010;17(4):559-63. <https://doi.org/10.1128/CVI.00372-09>
18. Sohn MJ, Cho JM, Moon JS, Ko JS, Yang HR. EBV VCA IgM and cytomegalovirus IgM dual positivity is a false positive finding related to age and hepatic involvement of primary Epstein-Barr virus infection in children. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(38):e12380. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012380>
19. Robertson P, Beynon S, Whybin R, et al. Measurement of EBV-IgG anti-VCA avidity aids the early and reliable diagnosis of primary EBV infection. *J Med Virol.* 2003;70(4):617-23. <https://doi.org/10.1002/jmv.10439>

İntestinal Parazit Saptanan Gaita Örneklerinde Adenovirüs/ Rotavirüs ve Gizli Kan Pozitifliğinin Araştırılması[§]

Investigation of Adenovirus/Rotavirus and Occult Blood Positivity in Stool Samples with Intestinal Parasites

Filiz Demirel[®], Aydan Yıldız[®], Hacer Aytekin Börü[®]

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

Atıf/Cite as: Demirel F, Yıldız A, Aytekin Börü H. İntestinal parazit saptanan gaita örneklerinde adenovirüs/rotavirüs ve gizli kan pozitifliğinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):216-222.

Öz

Amaç: İntestinal parazit enfeksiyonlar (İPE) özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. İPE, özellikle gelişme çağındaki çocuklarda malnütrisyon, malabsorbsiyon, anemi, büyüme geriliği, öğrenme güçlüğü, ishal ve diğer gastrointestinal sistem yakınmalarına neden olmaktadır. Rotavirüs ve adenovirüs özellikle çocuklarda klinik önem taşıyan ve sık görülen viral akut gastroenterit etkenleridir. Özellikle çocukluk çağındaki akut gastroenteritlerde birden fazla etkenin rol aldığı koenfeksiyonlar görülebilmektedir. Bu çalışmada, İPE ile adenovirüs ve rotavirüs enfeksiyonlarının birlikte görülmeye sıklıklarının araştırılması, intestinal parazit varlığı ile gaitada gizli kan pozitifliği arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya gastrointestinal yakınmaları olan toplam 136 hasta dâhil edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle parazitolojik incelemeleri yapılmış gaita örneklerinde ticari hızlı tanı kitleri kullanılarak gizli kan, adenovirüs/rotavirüs ve *Cryptosporidium parvum*/ *Giardia intestinalis*/ *Entamoeba histolytica* antijenleri araştırılmıştır.

Bulgular: Konvansiyonel incelemeler sonucunda, gaitada bir ya da daha fazla sayıda IP tespit edilen 68 hastanın yaş ortalaması 31.7, intestinal parazite rastlanmayan 68 hastanın yaş ortalaması 36.6 idi. IP tespit edilen 68 hastanın 57'sinde (%83.8) *Blastocystis* sp. saptandı. Gaitada *C. parvum*/ *G. intestinalis* /*E. histolytica* antijen testi çalışılan toplam 136 gaita örneğinin birinde *E. histolytica* antijeni, dördünde *G. intestinalis* antijeni, 16'sında *C. parvum* antijeni pozitif olarak belirlendi. Örneklerin %38.2'sinde gizli kan, %31.6'sında rotavirüs, %29.4'ünde adenovirüs antijen pozitifliği saptandı. *Blastocystis* sp. varlığı ile gizli kan, adenovirüs ve rotavirüs antijen pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç: İntestinal parazitlerle diğer enterik patojenlerin gastrointestinal enfeksiyonlardaki sinerjistik ilişkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için moleküler temelli testlerin kullanıldığı daha geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Blastocystis*, adenovirüs, rotavirüs, koenfeksiyon

ABSTRACT

Objective: Intestinal parasitic infections (IPE) are common all over the world, especially in underdeveloped and developing countries. IPE in children may cause malnutrition, malabsorption, anemia, growth retardation, learning difficulties, diarrhea and other gastrointestinal system complaints. Rotavirus and adenovirus are common and clinically important viral acute gastroenteritis agents, especially in children. In acute gastroenteritis in childhood, co-infections involving more than one pathogen can be seen. In this study, it was aimed to investigate the frequency of co-infections of IPE and adenovirus/ rotavirus infections, and to examine the relationship between the presence of intestinal parasites and occult blood positivity in the stool.

Methods: A total of 136 patients with gastrointestinal complaints were included in the study. Fecal occult blood, adenovirus/rotavirus and *Cryptosporidium parvum*/ *Giardia intestinalis*/ *Entamoeba histolytica* antigens were investigated by using commercial rapid diagnosis kits in stool samples that were parasitologically analyzed by conventional methods.

Results: The mean age of 68 patients with one or more IP detected by conventional methods in the stool was 31.7 years; the mean age of 68 patients who did not have any intestinal parasites in the stool was 36.6. *Blastocystis* sp. was detected in 57 of 68 (83.3%) patients with IP. A total of 136 stool samples, *E. histolytica* antigen was positive in one, *G. intestinalis* in four, *C. parvum* in 16 with *C. parvum*/ *G. intestinalis*/ *E. histolytica* antigen detection test. Fecal occult blood antigen positivity was found in 38.2%, rotavirus in 31.6% and adenovirus in 29.4%. The relationship between the presence of *Blastocystis* sp. and occult blood, adenovirus and rotavirus antigen positivity was found to be statistically significant.

Conclusion: More comprehensive studies using molecular-based tests are needed to better understand the synergistic relationships between intestinal parasites and other enteric pathogens in gastrointestinal infections.

Keywords: *Blastocystis*, adenovirus, rotavirus, coinfection

Alındığı tarih / Received:

18.04.2022 / 18.April.2022

Kabul tarihi / Accepted:

22.06.2022 / 22.June.2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

F. Demirel 0000-0002-3513-8347

A. Yıldız 0000-0002-5053-6669

H. Aytekin Börü 0000-0002-4934-6438

✉ dr.filiz.demirel@gmail.com

[§]Bu çalışma, 26 Mart 2022 tarihinde Ankara'da düzenlenen 3.TOBB ETÜ Pediatri Sempozyumu'nda sunulmuştur.

GİRİŞ

İntestinal parazit (IP) enfeksiyonları; başta az gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada yaygın olup, sağlıkta ve sosyal alanlarda önemli sorunlar oluşturmaktadır^(1,2). İntestinal parazit enfeksiyonları; malnütrisyon, malabsorbsiyon, anemi, büyüme geriliği, öğrenme güçlüğü, ishal ve diğer gastrointestinal sistem yakınmaları gibi klinik bulgular gösterebilmektedir⁽³⁾. Bu enfeksiyonların oluşturduğu sorunlar; hastalık etkeni olan parazitin türü, oluşan enfeksiyonun şiddeti, toplumların sosyoekonomik özellikleri gibi faktörlere bağlıdır. Birçok intestinal parazit enfeksiyonu olgusu asemptomatik olduğu için, sorunların boyutunu tespit etmek zordur⁽²⁾. İntestinal helmintler ve protozoonların neden olduğu paraziter enfeksiyonlar, gelişmekte olan ülkelerde en yaygın enfeksiyonlar arasındadır. Protozoonlar, helmintlere göre gelişmiş ülkelerde daha sık gastrointestinal enfeksiyonlara neden olmaktadır⁽⁴⁾.

Gastroenterite yol açan mikroorganizmalar arasında viral etkenler ilk sıradır. Özellikle çocuklarda rotavirüs ve adenovirüs en sık rastlanan viral gastroenterit etkenlerindendir⁽⁵⁾. Viral etkenlerin klinik olarak ayrımı yapılamadığı için mikrobiyoloji laboratuvarlarında etkenlerin hızlı tespit edilmesi; enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması, hızlı ve doğru tedavi açısından önemlidir⁽⁶⁾.

Kötü hijyen koşullarında fekal-oral yolla olan bulaş, tüm gastroenterit etkenlerinin başlıca bulaş yoludur. Sağlıksız ortamlarda intestinal enfeksiyonlar, polimikrobiyal kaynaklı olabilir. Gastroenteritli hasta gruplarında viral ve paraziter etkenler ile ilgili araştırmalar bulunsun da bu etkenlerin birlikteliğinin gösterildiği çalışmalar sınırlıdır^(7,8).

Gaita örneklerinin kimyasal, mikroskopik, immunolojik testler ile incelenmesi gastrointestinal sistemi etkileyen hastalık etkenlerinin başlıca tespit yöntemidir⁽⁹⁾. Bu çalışmada, intestinal paraziter enfeksiyonlar ile adenovirüs/rotavirüs enfeksiyonlarının birlikte görülme sıklıklarının araştırılması ve intestinal parazit varlığı ile gaitada gizli kan pozitifliği arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREK ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (09.03.2021 tarih ve 880/2022 Karar No.) onaylanmıştır.

Hasta grubu seçimi: Çalışmaya, hastanemize gastrointestinal yakınmalarla başvuran ve parazitolojik incelemeler sonucunda gaitasında bir ya da daha fazla sayıda IP tespit edilen 68, IP tespit edilmeyen 68 olmak üzere toplam 136 hasta dâhil edilmiştir. Hastalara ait demografik ve klinik parametrelere ilişkin veriler laboratuvar bilgi yönetim sisteminden elde edilmiştir.

Parazitolojik incelemeler: Parazitolojik incelemeleri yapılmak üzere laboratuvara ulaştırılmış taze gaita örnekleri öncelikle makroskopik olarak kıvam, kan, mukus ve helmint erişkin formlarının varlığı açısından değerlendirilmiştir. Nativ-lugol direkt mikroskopik inceleme ile gaita örneklerinde lökosit, eritrosit, protozoon kist ve trofozoitleri ile helmint yumurta ve larvaları araştırılmıştır. Formol eter konsantrasyon tekniği (FECT) için ticari bir fekal konsantrasyon tüpü (Parasep® Fecal Parasite Concentrators, Apacor, ABD) kullanılmış ve santrifüj sonrası elde edilen sediment nativ-lugol mikroskopi yöntemi ile incelenmiştir. *Entamoeba* spp., *Dientamoeba fragilis* trofozoitleri olduğu düşünülen örnekler Wheatley trikrom boyama yöntemi ile boyanmıştır.

Hızlı antijen tanı testleri: IP incelemesi tamamlanmış gaita örneklerinde ticari hızlı tanı kitleri kullanılarak gizli kan (GGK, Rapid Diagnostic Test, Türkiye) adenovirus/rotavirus (AV-RV kombo test, Rapid Diagnostic Test, Türkiye) ve *Cryptosporidium parvum*/*Giardia intestinalis*/*Entamoeba histolytica* (Crypto-Giardia-Entamoeba, MonLab, İspanya) antijenleri araştırılmıştır.

İstatistiksel analizler: İstatistiksel analiz SPSS 20 (IBM Inc, New York, Amerika) programı ile yapılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar yapılırken Pearson ki-kare testi uygulanan gruplarda $p < 0.05$ değeri, Yate's ki-kare testi uygulanan gruplarda $p < 0.001$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen toplam 136 hastanın yaş ortalaması 34.1 (1-80) olup, bu hastaların 66'sı (%48.5) kadın, 70'i (%51.5) erkekti.

Konvansiyonel parazitolojik incelemeler sonucunda, gaitada bir ya da daha fazla sayıda IP tespit edilen 68 hastanın yaş ortalaması 31.7 (1-80) olup, bunların 7'si (%10.3) 0-6 yaş, 18'i (%26.5) 7-18 yaş, 43'ü (%63.2) 19-80 yaş aralığındaydı. IP saptanan hastaların 36'sı (%52.9) kadın, 32'si (%47.1) ise erkekti. IP görülen hastaların toplam 57'sinde (%83.8) *Blastocystis* sp. saptandı. Hastalarda konvansiyonel mikroskopik inceleme ile tespit edilen intestinal parazitlerin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Konvansiyonel parazitolojik incelemeler sonucunda, gaitada herhangi bir intestinal parazite rastlanmayan 68 hastanın yaş ortalaması 36.6 (1-79) olup, bu hastaların 30'u (%44.1) kadın, 38'i (%55.9) erkekti. Bu hastaların 5'i (%7.4) 0-6 yaş, 8'i (%11.8) 7-18 yaş, 55'i (%80.8) 19-79 yaş aralığındaydı.

İntestinal parazit saptanan ve saptanmayan hastalar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.06$, $p=0.3$).

Tablo 1. Gaita örneklerinde konvansiyonel mikroskopik inceleme ile tespit edilen intestinal parazitlerin dağılımı

Parazit	n (%)
<i>Blastocystis</i> sp.	47 (69.1)
<i>Blastocystis</i> sp.+ <i>Dientamoeba fragilis</i>	5 (7.4)
<i>Blastocystis</i> sp.+ <i>Entamoeba</i> spp.	4 (5.9)
<i>Giardia intestinalis</i>	3 (4.4)
<i>Entamoeba</i> spp.	3 (4.4)
<i>Dientamoeba fragilis</i>	2 (2.9)
<i>Taenia</i> spp.	2 (2.9)
<i>Blastocystis</i> sp.+ <i>Giardia intestinalis</i>	1 (1.5)
<i>Enterobius vermicularis</i>	1 (1.5)
Toplam	68

Cryptosporidium parvum/ *Giardia intestinalis*/ *Entamoeba histolytica* antijen testi çalışılan toplam 136 gaita örneğinin birinde *E. histolytica* antijeni, dördünde *G. intestinalis* antijeni, 16'sında *C. parvum* antijeni pozitif olarak saptandı (Tablo 2). *E. histolytica* antijeni pozitif bulunan tek gaita örneğinde, mikroskopik incelemede de *Entamoeba* spp. saptandı. *G. intestinalis* antijeni pozitif bulunan dört gaita örneğinin birinde mikroskopik olarak *G. intestinalis* trofozoit ve/veya kistleri görüldü. *C. parvum* antijeni pozitif bulunan 16 gaita örneğinin modifiye aside dirençli boyama yöntemi ile incelenmesinde *Cryptosporidium* spp.'ye rastlanmazken, bu örneklerin 13'ünde *Blastocystis* sp., birinde ise *G. intestinalis* görüldü.

İncelemeye alınan toplam 136 gaita örneğinin 52'sinde (%38.2) gizli kan pozitifliği tespit edildi (Tablo 2). GGK pozitifliği saptanan hastaların 32'si (%61.5) 18 yaşından büyüktü ve hastalar arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı bir fark yoktu ($p=0.08$, $p=0.78$). GGK pozitif gaita örneklerinin 45'inde (%86.5) bir ya da daha fazla sayıda IP tespit edildi. Bu 45 örneğin 39'unda (%86.7) GGK pozitifliği ile birlikte *Blastocystis* sp. saptandı ve bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$).

İncelenen toplam 136 gaita örneğinin 40'ında (%29.4) adenovirüs antijen pozitifliği saptandı (Tablo 2). Bu hastaların 25'i (%62.5) 18 yaşından büyüktü, hastalar arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı bir fark yoktu ($p=0.06$, $p=0.55$). Adenovirüs antijeni

Tablo 2. Hızlı antijen testleri ile antijen pozitifliği saptanan örneklerin dağılımı

Pozitif antijen	n (%)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	16 (11.8)
<i>Giardia intestinalis</i>	4 (2.9)
<i>Entamoeba histolytica</i>	1 (0.7)
Adenovirüs	40 (29.4)
Rotavirüs	43 (31.6)
Adenovirüs + Rotavirüs	38 (27.9)
Toplam	136

pozitif bulunan örneklerin tamamında eşzamanlı olarak *Blastocystis* sp. görüldü. Adenovirüs antijen pozitifliği ve *Blastocystis* sp. varlığı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$).

İncelenen toplam 136 gaita örneğinin 43'ünde (%31.6) rotavirüs antijen pozitifliği saptandı (Tablo 2). Bu hastaların 26'sı (%60.5) 18 yaşından büyüktü ve hastalar arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı bir fark yoktu ($p=0.11$, $p=0.67$). Rotavirüs antijen pozitifliği saptanan örneklerin tamamında eşzamanlı olarak bir ya da daha fazla sayıda IP görüldü. Bu örnekler içinde en fazla görülen parazit *Blastocystis* sp. (%95.3) idi. Rotavirüs antijen pozitifliği ve *Blastocystis* sp. varlığı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$).

Örneklerin 38'inde (%27.9) adenovirüs ve rotavirüs antijenleri eş zamanlı pozitif olarak tespit edildi (Tablo 2). Bu örneklerin tamamında aynı zamanda IP görüldü. Adenovirüs/rotavirüs antijen pozitifliği ve IP varlığı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$).

TARTIŞMA

İntestinal parazitler enfeksiyonlar, özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve sosyoekonomik seviyesi düşük toplumlarda önemli bir sağlık sorunu olarak görülmeye devam etmektedir. İntestinal parazitlerin tespitinde çoğunlukla uygulanan konvansiyonel tanı yöntemleri düşük duyarlılığa sahip olmaları, deneyim gerektirmeleri ve zaman alıcı olmaları gibi bazı dezavantajlara sahiptir⁽¹⁰⁾. İntestinal parazitlerin tanısında antijen saptamaya dayalı yöntemler hızlı ve deneyim gerektirmeyen testler olmaları nedeniyle yaygın olarak tercih edilmeye başlamıştır. Garcia ve ark.'nın⁽¹¹⁾ yaptıkları çalışmada, 444 gaita örneği formol eter konsantrasyon tekniği (FECT), trikrom boyama ve modifiye aside dirençli boyamanın yanında hızlı antijen saptama yöntemleriyle intestinal parazit varlığı bakımından incelenmiştir. Örneklerin %38.3'ünde *G. intestinalis*, 13.5'inde *Cryptosporidium* spp., 22.1'inde *E. histolytica*/*E. dispar* tespit edilmiş, immünolojik tanı testlerinin konvansiyonel yöntemlerle birlikte uygulandığında oldukça yararlı olduğu belirtilmiştir⁽¹¹⁾. Benzer

şekilde, Atia ve ark.'nın⁽¹²⁾ yaptıkları bir çalışmada, immünokromatografik yöntemle incelenen toplam 91 gaita örneğinin %31.8'inde *G. intestinalis*, %20.9'unda *Cryptosporidium* spp., %11'inde *E. histolytica*/*E. dispar* tespit edilmiştir. Bu çalışmada, özellikle klinik kuşku olan hastalarda mikroskobik incelemede parazitlerin saptanmadığı durumlarda immünokromatografik kart testlerin kullanımının basit, hızlı ve yararlı olduğu belirtilmiştir⁽¹²⁾. Çalışmamızda, örneklerin %11.7'sinde kart test ile *C. parvum* antijeni tespit edilmiş, ancak bu örneklerin konvansiyonel yöntemlerle incelenmesinde *Cryptosporidium* spp.'ye rastlanmamıştır. *Cryptosporidium* spp., özellikle küçük çocuklarda ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda ciddi bir diyare etkeni olup, tanısında direkt mikroskobik inceleme yetersiz kalmaktadır. *Cryptosporidium* türlerine ait ookistlerin genellikle gaitada az sayıda olmaları nedeniyle konvansiyonel yöntemler ile saptama olasılıkları düşüktür. Bu nedenle parazitin tanı şansını arttırmak için en az üç gaita örneğinin incelenmesi önerilmektedir. Direkt floresan antikor (DFA), ELISA ve immünokromatografik hızlı tanı testi gibi immünodiyagnostik teknikler ile nükleik asit saptama yöntemleri (PCR) *Cryptosporidium* türlerinin tanısında kullanılan daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip testlerdir⁽¹³⁾. Çalışmamızda, mikroskobik inceleme ile *Cryptosporidium* spp. görülmemesinin olası nedenleri arasında gaita örneklerinde az miktarda ookist bulunması ve her hastadan tek bir gaita örneğinin incelemeye alınmış olması düşünülmektedir. *Cryptosporidium* spp. çoğu laboratuvarında yalnızca klinisyen tarafından talep edildiği takdirde araştırılmaktadır. Ancak, özellikle beş altı çocuklarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda diyare varlığında rutin olarak araştırılması önem taşımaktadır⁽¹⁴⁾.

Çalışmamızda, immünokromatografik hızlı tanı testleri ile daha fazla oranda intestinal parazit tespit edilmiş olmakla birlikte, nispeten düşük maliyetleri ve uygulama kolaylıkları gibi avantajları olan bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleri ELISA ve PCR gibi yöntemlere göre düşüktür. Bu nedenle immünokromatografik hızlı tanı testlerinin tarama testi olarak kullanılması ve elde edilen sonuçların daha duyarlı yöntemlerle doğrulanması önerilmektedir⁽¹³⁾.

Çalışmamızda en fazla tespit edilen parazit *Blastocystis* sp. idi. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, *Blastocystis* sp. prevalansı kullanılan yöntemle ve seçilen hasta grubuna bağlı olarak %1-86 arasında değişen oranlarda saptanmıştır⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Tüm dünyada en yaygın görülen protozoonlardan biri olan *Blastocystis* sp.'nin patojenitesi hâlen tartışmalı olup, son yıllarda bu parazitin sağlıklı insan gastrointestinal mikrobiyotasının bir parçası olabileceği düşünülmektedir⁽¹⁸⁾. Bazı çalışmalarda ise, parazitin disbiyozise neden olduğu ve inflamatuvar bağırsak hastalığı ile irritabl bağırsak sendromu gibi hastalıklara yol açabileceği de gösterilmiştir⁽¹⁹⁾.

Yapılan bazı çalışmalarda, özellikle *Trichuris trichiura*, kancalı kurtlar ve *Schistosoma* spp. gibi helmintler ile *Entamoeba histolytica* gibi protozoonların gaitada gizli kan varlığı ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Wakid'in⁽¹⁾ yaptığı çalışmada incelenen 1.238 gaita örneğinin %47.01'inde intestinal parazit saptanırken, gizli kan pozitifliği ile intestinal parazit varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Patel ve ark.'nın⁽²⁰⁾ yaptığı çalışmada da *T. trichiura* görülen 1.034 dışkı örneğinin incelenmesinde gizli kan pozitifliği ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Jada ve ark.'nın⁽²¹⁾ yaptıkları çalışmada ise, gaitada intestinal parazit ve gizli kan pozitiflikleri arasındaki ilişki anlamlı bulunmuş, özellikle asemptomatik hastalarda bu iki testin birlikte yapılmasının yararlı olacağı belirtilmiştir. Çalışmamızda da gaitada *Blastocystis* sp. varlığı ile gizli kan pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. *Blastocystis* sp. patojenitesini araştıran çalışmalarda, parazitin invazyon ve intestinal hasar yaptığına dair bir kanıt bulunamamış, ülseratif kolit gibi hastalıklarda *Blastocystis* sp. kolonizasyonuna altta yatan intestinal mukozal hasarın yol açabileceği öne sürülmüştür. Patojenitesi halen net olarak anlaşılmamış olan *Blastocystis* sp.'nin konak immün modülasyonu veya epitel bariyerinin bozulması gibi diğer bazı mekanizmalar yoluyla hastalığa neden olabileceği de düşünülmektedir⁽²²⁾. Çalışmamızda elde ettiğimiz *Blastocystis* sp. varlığı ile gizli kan pozitifliği arasındaki ilişkinin nedenlerinin anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır.

Rotavirüs ve enterik adenovirüsler çocuklarda en sık rastlanan viral gastroenterit etkenleri arasındadır⁽⁵⁾.

Bozok ve ark.'nın⁽²³⁾ yaptıkları bir çalışmada, rotavirüs ve adenovirüs antijen pozitiflikleri sırasıyla %7.7 ve %2.3 olarak bulunmuş olup, bu virüslere bağlı gastroenteritlerin özellikle beş yaş altındaki çocuklarda daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Varışlı ve ark.'nın⁽²⁴⁾ yaptıkları çalışmada incelenen örneklerin %6.7'sinde rotavirüs, %1.3'ünde adenovirüs tespit edilmiş, özellikle akut gastroenteritli çocuk hastalarda bu virüslerin araştırılmasının önemi vurgulanmıştır. Çaycı ve ark.'nın⁽²⁵⁾ çalışmasında, akut gastroenterit ön tanılı hastaların %11.7'sinde rotavirüs, %3.3'ünde adenovirüs saptanmış, yaşa göre istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Çiftçi ve ark.'ları⁽²⁶⁾, inceledikleri gaita örneklerinin %8.9'unda rotavirüs, %2.5'inde adenovirüs, %2.4'ünde rotavirüs+adenovirüs bulunduğunu bildirmiş, viral antijenlerin üç yaş altında daha fazla olmakla birlikte, ileri yaştaki insanlarda da pozitif bulunabildiğini vurgulamışlardır. . Kirişçi ve ark.'nın⁽²⁷⁾ yaptıkları çalışmada ise, rotavirüs pozitifliği %20.1, adenovirüs pozitifliği %3, rotavirüs+adenovirüs pozitifliği ise %0.3 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda ise, ülkemizde daha önce yapılmış birçok çalışmaya kıyasla çok daha yüksek oranda rotavirüs ve adenovirüs pozitifliği tespit edilmiştir. Çalışmalar arasındaki bu farklılıkların incelenen hasta sayısı, çalışmanın yapıldığı bölge ve kullanılan kitlerin duyarlılık ve özgüllüklerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Nitiema ve ark.'nın⁽²⁸⁾ yaptıkları bir çalışmada, diyaresi olan beş yaş altındaki 309 çocuğun gaita örnekleri viral, bakteriyel ve paraziter etkenler açısından incelenmiştir. Bu çocukların %32.4'ünde rotavirüs, %16.8'inde bakteriyel enfeksiyon, %18.8'inde ise paraziter enfeksiyon tespit edilmiştir. Rotavirüs enfeksiyonlarının paraziter enfeksiyonlara kıyasla daha küçük yaşlarda görüldüğü ve daha ciddi semptomlara yol açtığı bildirilmiştir⁽²⁸⁾. Zhang ve ark.'nın⁽²⁹⁾ yaptıkları çalışmada, akut diyaresi olan çocuklarda rotavirus enfeksiyonunun diğer enterik patojenlerle koenfeksiyonunun semptomların şiddetini arttırdığı belirtilmiştir. Benzer şekilde, Bhavnani ve ark.'nın⁽³⁰⁾ yaptıkları bir çalışmada da rotavirüs ve diğer enterik patojenler arasındaki sinerjistik etki incelenmiş, koenfeksiyon sırasında her organizmanın patojenik potansiyelinin artacağı vurgulanmıştır. Çalışmamızda, adenovirüs+rotavirüs koenfeksiyonu %27.9 oranında bulunmuş, rotavirüs

ve/veya adenovirüs enfeksiyonu saptanan hastaların tamamında eşzamanlı olarak bir ya da daha fazla sayıda intestinal parazit tespit edilmiş, adenovirüs/rotavirüs antijen pozitifliği ve IP varlığı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada, intestinal parazit saptanan gaita örneklerinin büyük çoğunluğunda adenovirüs, rotavirüs ve gaitada gizli kan pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu durum ortak bulaş yollarına ve benzer risk faktörlerine sahip enterik patojenlerin koenfeksiyon sıklığını gösterebileceği gibi, antijen saptamaya yönelik testlerin özgüllükleri ile ilişkili olarak çapraz reaksiyon veya yanlış pozitifliğe bağlı olabilir. Gastrointestinal enfeksiyonlarda intestinal parazitlerle diğer enterik patojenlerin sinerjistik ilişkilerinin anlaşılabilmesi için moleküler temelli testlerin kullanıldığı daha geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (09.03.2021 tarih ve 880/2022 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Ankara Research and Training Hospital, Clinical Research Ethics Committee (09.03.2021; 880/2022).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Wakid MH. Fecal occult blood test and gastrointestinal parasitic infection. J Parasitol Res. 2010;2010:434801. <https://doi.org/10.1155/2010/434801>
2. Norhayati M, Fatmah MS, Yusof S, Edariah AB. Intestinal parasitic infections in man: a review. Med J Malaysia. 2003;58(2): 296-05.
3. Wakid MH. Prevalence of enteroparasites among non-Saudis in Bahrah, Saudi Arabia. Cureus. 2020;12(7):e9253. <https://doi.org/10.7759/cureus.9253>
4. Haque R. Human intestinal parasites. J Health Popul Nutr. 2007;25(4):387-91.
5. Alp Avcı G, Akbaba M. Beş yaşın altındaki akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs, enterik adenovirüs ve norovirüs insidansı. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2018;48(4):264-72. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2018.264>
6. Gülbudak H, Kurnaz N, Tezcan-Ülger S, ve ark. Akut gastroenteritli hastalarda rotavirus ve enterik adenovirus sıklığının araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg. 2020;77(2):185-94. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2019.13540>
7. Gürbüz F, Tezer H, Şaylı TR. Akut gastroenterit nedeniyle hastaneye yatan hastalarda etkenler ve klinik bulgular: Epidemiyolojik çalışma. Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi. 2010;4(4): 211-18.
8. Lindsay B, Ramamurthy T, Sen Gupta S, et al. Diarrheagenic pathogens in polymicrobial infections. Emerg Infect Dis. 2011;17(4):606-11. <https://doi.org/10.3201/eid1704.100939>
9. Kasırga E. The importance of stool tests in diagnosis and follow-up of gastrointestinal disorders in children. Turk Pediatri Ars. 2019;54(3):141-8. <https://doi.org/10.14744/TurkPediatriArs.2018.00483>
10. Wong LW, Ong KS, Khoo JR, et al. Human intestinal parasitic infection: a narrative review on global prevalence and epidemiological insights on preventive, therapeutic and diagnostic strategies for future perspectives. Expert Rev Gastroenterol Hepatol 2020;14(11):1093-105. <https://doi.org/10.1080/17474124.2020.1806711>
11. Garcia LS, Shimizu RY, Bernard CN. Detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*, and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens using the triage parasite panel enzyme immunoassay. J Clin Microbiol. 2000;38(9):3337-40. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.9.3337-3340.2000>
12. Atia MM, Elsettauy MA, Fathy GM, Salama MA, Metally Ashoush SEM. Comparison of immunochromatographic test and microscopy in the detection of some enteric protozoa in stool samples. J Egypt Soc Parasitol. 2016;46(3):625-32.
13. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi (Cilt 3). Ankara, 2014.
14. Khurana S, Chaudhary P. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. Trop Parasitol. 2018;8(1):2-7. https://doi.org/10.4103/tp.TP_34_17

15. Sarzhanov F, Köster PC, Dogruman-Al F, et al. Detection of enteric parasites and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Blastocystis* sp. in patients admitted to hospital in Ankara, Turkey. *Parasitology*. 2021;148(5): 550-61.
<https://doi.org/10.1017/S0031182020001821>
16. Kaya F, Kocaağa M. Distribution of intestinal parasites detected in Ankara Training and Research Hospital between 2017 and 2020. *Acta Medica* 2022;53(1):66-72.
<https://doi.org/10.32552/2022.ActaMedica.715>
17. Dagci H, Kurt Ö, Demirel M, et al. Epidemiological and diagnostic features of *Blastocystis* infection in symptomatic patients in izmir province, Turkey. *Iran J Parasitol*. 2014;9(4):519-29.
18. Popruk S, Adao DEV, Rivera WL. Epidemiology and subtype distribution of *Blastocystis* in humans: A review. *Infect Genet Evol*. 2021;95:105085.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105085>.
19. Tunalı V, Akdur Öztürk E, Ünver A, Turgay N. The prevalence of *Blastocystosis* among patients with gastrointestinal and dermatologic complaints and effects of *Blastocystis* spp. density on symptomatology. *Türkiye Parazitoloj Derg*. 2018;42(4):254-57.
<https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5702>
20. Patel C, Keller L, Welsche S, et al. Assessment of fecal calprotectin and fecal occult blood as point-of-care markers for soil-transmitted helminth attributable intestinal morbidity in a case-control substudy conducted in Côte d'Ivoire, Lao PDR and Pemba Island, Tanzania. *EClinicalMedicine*. 2021;32:100724.
<https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100724>
21. Jada S, Jayakumar K, Vinoth R, et al. Detection of fecal occult blood among patients with intestinal parasitic infections attending a tertiary care centre. *J Dis Glob Health*. 2015;5(2):73-7.
22. Wang W, Bielefeldt-Ohmann H, Traub RJ, Cuttall L, Owen H. Location and pathogenic potential of *Blastocystis* in the porcine intestine. *PLoS One*. 2014;9(8):e103962.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103962>
23. Bozok T, Şimşek T. Üçüncü basamak bir hastanede rotavirüs, enterik adenovirüs ve enterik parazit enfeksiyonlarının prevalansı ve demografik özellikleri: Altı yıllık retrospektif kesitsel çalışma. *Mersin Univ Sağlık Bilim Derg*. 2021;14(2):199-07.
<https://doi.org/10.26559/mersinsbd.862795>
24. Varışlı AN, Tekin S, Bıçak İ. Akut gastroenterit olgularında rotavirus ve adenovirus ne kadar sorun?: Dört yıllık sonuçlar. *Klinik Derg*. 2019;32(1):67-70.
<https://doi.org/10.5152/kd.2019.15>
25. Çaycı YT, Yılmaz G, Birinci A. Akut gastroenterit vakalarında rotavirüs ve adenovirüs sıklığının araştırılması. *Pam Tıp Derg*. 2017;10(1):61-5.
<https://doi.org/10.5505/ptd.2017.79037>
26. Çiftçi N, Maçın S. Adenovirüs ve rotavirüs gastroenterit sıklığının araştırılması. *Sağlık Akademisi Kastamonu*. 2021;6(1):40-7.
<https://doi.org/10.25279/sak.644024>
27. Kirişçi Ö, Muratdağı G. Bir devlet hastanesine akut gastroenterit ile başvuran hastalarda rotavirüs ve enterik adenovirüs enfeksiyonu sıklığı. *Sakarya Tıp Derg*. 2019;9(4):585-91.
<https://doi.org/10.31832/smj.606475>
28. Nitiema LW, Nordgren J, Ouermi D, et al. Burden of rotavirus and other enteropathogens among children with diarrhea in Burkina Faso. *Int J Infect Dis*. 2011;15(9):e646-52.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.05.009>
29. Zhang SX, Zhou YM, Xu W, et al. Impact of co-infections with enteric pathogens on children suffering from acute diarrhea in southwest China. *Infect Dis Poverty*. 2016;5(1):64.
<https://doi.org/10.1186/s40249-016-0157-2>
30. Bhavnani D, Goldstick JE, Cevallos W, Trueba G, Eisenberg JN. Synergistic effects between rotavirus and coinfecting pathogens on diarrheal disease: Evidence from a community-based study in northwestern Ecuador. *Am J Epidemiol*. 2012;176(5):387-95.
<https://doi.org/10.1093/aje/kws220>

Kistik Ekinokokkoz Tanısında İndirekt Hemaglutinasyon Testinin Kullanılması: İki Yıllık Retrospektif Laboratuvar Deneyimi

Use of Indirect Hemagglutination Test in the Diagnosis of Cystic Echinococcosis: Two Years of Retrospective Laboratory Experience

Özlem Ulusan Bağcı[✉], Bayram Pektaş[✉], Ayşegül Aksoy Gökmen[✉], Selçuk Kaya[✉]

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

Atıf/Cite as: Ulusan Bağcı Ö, Pektaş B, Aksoy Gökmen A, Kaya S. Kistik ekinokokkoz tanısında indirekt hemaglutinasyon testinin kullanılması: İki yıllık retrospektif laboratuvar deneyimi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):223-231.

Öz

Amaç: Kistik ekinokokkoz (KE), sestod sınıfından *Echinococcus granulosus*'ün neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. Çalışmamızda, Ocak 2020 ile Aralık 2021 tarihleri arasında laboratuvarımıza serum örneği gönderilen hastaların KE İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA) sonuçlarının geriye dönük olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Laboratuvarımızda KE tanısı için ticari bir kit (Hydatidose, Fumouze laboratoires, Fransa) kullanılmaktadır. Çalışmamızda, hastaların demografik bilgileri, klinik bulguları, seroloji ve radyoloji sonuçları birlikte değerlendirilmiştir.

Bulgular: Hastaların %14.12'sinin antikor titresi 1/320 ve üzerinde bulunmuştur. İndirekt Hemaglutinasyon testinde pozitiflik saptanan 75 hastanın 73'ünün radyolojisinde kist saptanmış olup, 58'inin kistinde KE'ye özgü bulgular olduğu belirtilmiştir. Seropozitiflik erkeklerde (%14.81) kadınlara (%13.65) göre daha yüksek saptanmıştır. En yüksek pozitiflik yüzdesi 20-29 yaş grubundadır. Kistlerin çoğunluğunun yerleşim yeri karaciğerdir (%87.67) ve yedi hastada çoklu organ kisti saptanmıştır. IHA'da antikor titresi 1/80-1/160 saptanan 43 hastanın 36'sının radyolojisinde kist saptanmış olup, bu kistlerin 28'inin KE'ye özgü bulguları olduğu belirtilmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda saptanan seropozitiflik yüzdesi ülkemizdeki diğer merkezlerden bildirilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur. Eşik değerin altında antikor titresine sahip hastaların radyolojik görüntülemelerinde KE ile uyumlu kistlerin varlığı, bu değerlerin sonuç raporunda verilmesinin hastaların tanı ve takibinde yararlı olacağını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Kistik ekinokokkoz, İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA), seropozitiflik

ABSTRACT

Objective: Cystic echinococcosis (CE) is a zoonotic disease caused by *Echinococcus granulosus* from the cestode class. In our study, it was aimed to retrospectively evaluate the CE Indirect Hemagglutination Test (IHA) results of patients whose serum samples were sent to our laboratory between January 2020 and December 2021.

Methods: A commercial kit (Hydatidose, Fumouze laboratoires, France) is used for the diagnosis of CE in our laboratory. Demographic information, clinical findings, serology and radiology results of the patients were evaluated together.

Results: The antibody titer of 14.12% of the patients was found to be 1/320 and above. Cysts were detected in the radiology of 73 of 75 patients with positive IHA test, and CE-specific findings were reported in 58 of them. Seropositivity was found to be higher in males (14.81%) than females (13.65%). The highest percentage of positivity was in the 20-29 age group. Most of the cysts were localized in the liver (87.67%) and multi-organ cysts were detected in seven patients. Cysts were detected in the radiology of 36 of 43 patients with an antibody titer of 1/80-1/160 in IHA, and 28 of these cysts were reported to have CE-specific findings.

Conclusions: The percentage of seropositivity detected in our study was found to be compatible with the results reported from other centers in our country. The presence of cysts compatible with CE in the radiological imaging of patients with antibody titers below the threshold value suggests that it would be useful to provide these values in the final report for the diagnosis and follow-up.

Keywords: Cystic echinococcosis (CE), Indirect hemagglutination test (IHA), seropositivity

Alındığı tarih / Received:
06.04.2022 / 06.April.2022

Kabul tarihi / Accepted:
05.07.2022 / 05.July.2022

Erken çevrimiçi / First Published:
01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

Ö. Ulusan Bağcı 0000-0002-9695-5703
B. Pektaş 0000-0001-6117-0247
A. Aksoy Gökmen 0000-0001-6407-4592
S. Kaya 0000-0002-8637-6345

✉ drozlemulusan@gmail.com

GİRİŞ

Ekinokokkoz, sesto d sınıfından *Echinococcus* spp.'nin neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. Etkenin *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus vogeli* ve *Echinococcus oligarthrus* olmak üzere insanlarda hastalık yapan dört türü bulunmaktadır. En sık hastalığa yol açan türü olan *E. granulosus*'un kesin konağı köpekler, ara konağı koyun gibi otçul hayvanlardır. Hastalık köpek dışkıyla atılan yumurtaların iyi yıkanmadan yenen sebze ve meyveler aracılığıyla alınması veya ellerin yumurta barındıran köpek veya toprakla teması sonrasında ağza geçirilmesi ile insanlara da bulaşabilmektedir⁽¹⁾.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından, ihmal edilen 17 tropikal hastalıktan biri olarak ilan edilen ekinokokkoz, özellikle sosyoekonomik açıdan geri kalmış ülkelerde yaygındır^(2,3). Dünyada bir milyondan fazla olgu bulunmakta olup, yılda 19.300 kişi bu hastalık nedeniyle yaşamını kaybetmektedir⁽⁴⁾. Ekinokokkoz; Güney Amerika, Doğu Avrupa, Orta Doğu ve Çin'de endemik seyretmekte ve prevalansı Güney Amerika'daki mezbahalarda %20-95'lere ulaşmaktadır⁽⁵⁾. Ülkelerde tarımın ön planda olması, sosyoekonomik durumun düşük olması, iklim koşulları, hijyenik şartlarda olmayan hayvan kesimleri yapılması hastalığın görülme sıklığını artırmaktadır. Endemik olarak görüldüğü yerlerde önemli bir hastalık yükü oluşturan ekinokokkoz, ortalama bir hesaplara 871.000 engelliliğe ayarlanmış yaşam yılı kaybına neden olmakta ve insanlardaki tedavi ve iş gücü kayıpları ile hayvancılıktaki kayıplar göz önüne alındığında yıllık maliyetinin üç milyar Amerikan doları olduğu tahmin edilmektedir⁽⁴⁾. Dünya Sağlık Örgütü 2050 yılında ekinokokkozu tüm dünyada kontrol altına almayı/etkenin eliminasyonunu hedeflemektedir; ancak şimdiye kadar yalnızca Tanzanya, Malta, Güney Kıbrıs ve Yeni Zelanda gibi ülkeler, alınan korunma önlemleri sayesinde ekinokokkozu eradike etmeyi başarmıştır⁽⁶⁾. Türkiye, *E.granulosus* açısından yüksek düzeyde endemik ülkelerden bir tanesidir⁽⁷⁾. Ülkemizde ekinokokkoz bildirimi zorunlu hastalık grubunda olmasına rağmen bakanlığa bildirimlerin gerçek olgu sayısının oldukça altında olduğu bilinmektedir⁽⁸⁾. Türkiye'de farklı gruplar tarafından yürütülen aktif sörveyans çalışmalarında, toplumda

hastalığın görülme sıklığının %0.2-0.6 arasında olduğu belirtilmektedir⁽⁸⁻¹⁰⁾. Altı ilimizin dâhil olduğu HERACLES Uluslararası Projesi'nde ultrasonografi ile ülkemizde 8.618 kişi incelenmiş ve bunların 53'ünde (%0.6) kist saptanmıştır⁽¹¹⁾. Bu çalışmalar ülkenin daha çok batı kısımlarında yürütüldüğü için Türkiye genelinde prevalansın daha yüksek olacağı tahmin edilmektedir. Ülkemizde yaygın olarak görülen, morbidite ve mortalitesi yüksek bir hastalık olan ekinokokkoz önemli halk sağlığı sorunlarımızdan bir tanesidir.

Kistik ekinokokkoz (KE) lezyonları en sık karaciğeri, ikinci sıklıkta ise akciğerleri tutmaktadır. Ancak, dalak, kemik, beyin, böbrek ve kalp gibi birçok organda tutulum görülebilmektedir⁽¹²⁾. Tanıda sıklıkla radyolojik yöntemlere başvurulmaktadır. Serolojik yöntemler olan ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), IHA (Indirect Hemagglutination Test), IFAT (Indirect Immunofluorescent Antibody Test), WB (Western Blot) genellikle tanıya yardımcı olarak, tanıyı doğrulamada veya takip amacıyla kullanılmaktadır. Serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllüğü; kistin yapısı, büyüklüğü, canlılığı, yerleşim yeri, kullanılan antijen ve yöntemle bağlı olarak değişmektedir⁽¹³⁾.

Bu çalışmada, Ocak 2020 ile Aralık 2021 tarihleri arasındaki iki yıllık süreçte laboratuvarımıza KE şüphesi veya KE'li hastaların takibi amacıyla gönderilen serumların IHA sonuçlarının retrospektif olarak incelenmesi; anamnez, radyolojik görüntüleme ile seroloji sonuçlarının birlikte analiz edilmesiyle testin hastanemizde kullanım etkinliği, duyarlılığı ve özgüllüğünün değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (24.02.2022 tarih ve 0059 Karar No.) onaylanmıştır.

Laboratuvarımıza 1 Ocak 2020-31 Aralık 2021 tarihleri arasında KE şüphesi veya takibi amacıyla serum örneği gönderilen hastaların IHA sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. Hastane bilgi yönetim sistemi kullanılarak hastaların yaş, cinsiyet

gibi demografik bilgilerine, klinik bulgularına ve radyolojik görüntüleme sonuçlarına ulaşıldı. Bir hastadan yineleyen örnek gönderilmesi durumunda yalnızca ilk örnek çalışmaya dâhil edildi. Aynı hastaya ait negatif ve pozitif sonuçların bulunması durumunda ise pozitif olan ilk örnek çalışmaya alındı.

Testin uygulanması: Laboratuvarımızda KE tanısı için serumda *E. granulosus* antikorlarını manuel olarak saptamayı hedefleyen ticari bir kit (Hydatidose, Fumouze laboratoires, Fransa) kullanılmaktadır. Test U tabanlı mikropaklarda çalışmakta olup, antijenli eritrosit süspansiyonu eklenmiş serum dilüsyonlarında (1/80-1/2.500) çökelti olmaması veya dantela gibi kenarı düzensiz çökelti olması durumunda pozitif, eritrositlerin yer çekimi etkisiyle düğme iliği gibi kuyucukların ortasına çökmesi durumunda negatif olarak değerlendirilmektedir. 1/2.500 oranında dilüe edilmiş kuyucukta pozitif reaksiyon saptanması durumunda dilüsyon 1/10.000'e kadar devam ettirilerek test yinelenmektedir. Ticari kitin prospektüsünde belirtildiği gibi 1/320 ve üzerindeki değerler pozitif olarak raporlanmakta olup, klinik olarak KE'yi desteklemektedir. 1/160; şüpheli sonuç olarak bildirilmekte ve 2-3 hafta sonrasında testin yinelenmesi önerilmektedir. 1/80 ve altındaki değerler ise negatif olarak bildirilmektedir. Kitin prospektüsünde belirtilen duyarlılık %93, özgüllük ise %94.9'dur.

İstatistiksel analiz: İstatistiksel analizler Graph Pad Prisma V.3 paket programı kullanılarak yapılmış olup, %95 güven aralığında $p < 0.05$ olan değerler anlamlı kabul edilmiştir. Analizlerde nitel verilerin karşılaştırılması için Fisher's exact ve ki-kare testleri kullanılmıştır.

BULGULAR

Ocak 2020-Aralık 2021 tarihleri arasında IHA istemiyle serum örneği gönderilmiş 315'i kadın (%59.32), 216'sı erkek (%40.68) toplam 531 hasta çalışmaya dâhil edilmiştir. Kadınların ve erkeklerin yaş ortalaması 51 olarak bulunmuştur. Her hasta için yalnızca bir örnek çalışmaya alınmış; aynı hastaya ait yineleyen örnekler değerlendirme dışı bırakılmıştır. Hastaların 75'inde antikor titresi 1/320 ve üzeri olup,

seropozitiflik %14.12 olarak saptanmıştır. IHA'sında pozitiflik saptanan hastaların 43'ü kadın (kadınlarda pozitiflik oranı=%13.65), 32'si erkektir (erkeklerde pozitiflik oranı=%14.81). Seropozitiflik, %6.40'lık oran ile en yüksek 20-39 yaş grubunda saptanmıştır. Kadın ve erkekler ayrı olarak değerlendirildiğinde, pozitiflik oranı kadınlarda %6.67 ile yine en yüksek 20-39 yaş grubunda saptanırken, erkeklerde 20-39 ve 40-59 yaş gruplarında benzer olarak %6.02 olarak bulunmuştur. Seropozitifliğin en düşük olduğu yaş grubu 80 yaş ve üzeri hastalar (%0.19) olmuştur. Yaş grubu ve cinsiyetlere göre IHA antikor titrelerinin dağılımı Tablo 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Hastane bilgi yönetim sistemi kullanılarak hastaların klinik verileri ve radyoloji sonuçları da değerlendirilmiştir. IHA testinde antikor titresi 1/320 ve üzerinde olan 73 hastanın yakın zamanlarda yapılan radyolojik görüntülemelerinde (USG, BT, MR) KE'ye özgü bulguları olan kistler saptanmıştır. İki hastanın da eski raporlarında KE bulgusu olan kistler tanımlanmıştır. Bu hastaların 64'ünde yalnızca karaciğer, birinde akciğer, birinde kemik kisti olduğu görülürken, 7'sinin birden fazla organında kist saptanmıştır. IHA pozitif hastalarda saptanan kistlerin bulunduğu organlar Tablo 2'de verilmiştir.

İndirekt hemaglütinasyon testi negatif saptanan 456 hastanın 287'sinin radyolojisinde kist saptanmış olup, bu hastaların 98'inin kistleri radyolojik olarak KE bulguları içermektedir. IHA'sı 1/320 ve üzerinde olan hastaların 73'ünün en az bir organında kist saptanırken, 58 hastanın kistinde radyolojik olarak KE bulguları vardır. IHA'da saptanan antikor titreleri ile radyolojik bulgular Tablo 3'te karşılaştırılmıştır.

TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü tarafından ihmal edilmiş 17 tropikal hastalık ve 12 zoonotik hastalıktan biri olarak nitelendirilen KE, özellikle Çin ve Orta Asya'dan, Ortadoğu ve Akdeniz ülkelerine kadar uzanan coğrafyada, Sahra altı Afrika ülkelerinde ve Güney Amerika'da yaygın olarak görülen, dünya için oldukça önemli halk sağlığı sorunlarından bir tanesidir^(2,3,14). Dünyada bir milyon kişinin KE ile enfekte olduğu düşünülmektedir⁽¹⁵⁾. Ülkemizde

Tablo 1. İndirekt hemaglutinasyon testinde saptanan antikor titrelerinin yaş gruplarına ve cinsiyetlere göre dağılımı

Yaş grupları	Cinsiyet	Negatif*		1/320		1/640		1/1280		1/2500		1/5000		1/10000		Toplam pozitiflik		Toplam sayı	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0-19	Kadın	2	0.63	0	0	0	0	0	0	1	0.32	0	0	0	0	1	0.32	3	0.95
	Erkek	3	1.39	0	0	1	0.46	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.46	4	1.85
	Toplam	5	0.94	0	0	1	0.19	0	0	1	1.88	0	0	0	0	2	0.38	7	1.32
20-39	Kadın	50	15.87	6	1.90	7	2.22	3	0.95	2	0.63	1	0.32	2	0.63	21	6.67	71	22.54
	Erkek	37	17.13	5	2.31	3	1.39	1	0.46	2	0.93	2	0.93	0	0	13	6.02	50	23.15
	Toplam	87	16.38	11	2.07	10	1.88	4	0.75	4	0.75	3	0.56	2	0.38	34	6.40	121	22.79
40-59	Kadın	129	40.95	2	0.63	2	0.63	1	0.32	3	0.95	3	0.95	2	0.63	13	4.13	142	45.08
	Erkek	71	32.87	2	0.93	2	0.93	2	0.93	3	1.39	3	1.39	1	0.46	13	6.02	84	38.89
	Toplam	200	37.66	4	0.75	4	0.75	3	0.56	6	1.13	6	1.13	3	0.56	26	4.90	226	42.56
60-79	Kadın	84	26.67	3	0.95	2	0.63	1	0.32	0	0	0	0	1	0.32	7	2.22	91	28.89
	Erkek	72	33.33	1	0.46	2	0.93	1	0.46	0	0	0	0	1	0.46	5	2.31	77	35.65
	Toplam	156	29.38	4	0.75	4	0.75	2	0.38	0	0	0	0	2	0.38	12	2.26	168	31.64
80 ve üzeri	Kadın	7	2.22	0	0	0	0	1	0.32	0	0	0	0	0	0	1	0.32	8	2.54
	Erkek	1	0.46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.46
	Toplam	8	1.51	0	0	0	0	1	0.19	0	0	0	0	0	0	1	0.19	9	1.69
Tüm yaşlar	Kadın	272	86.35	11	3.49	11	3.49	6	1.90	6	1.90	4	1.27	5	1.59	43	13.65	315	100
	Erkek	184	85.19	8	3.70	8	3.70	4	1.85	5	2.31	5	2.31	2	2.31	32	14.81	216	100
	Toplam	456	85.88	19	3.58	19	3.58	10	1.88	11	2.07	9	1.69	7	1.32	75	14.12	531	100

*1/40, 1/80, 1/160 dilüsyonlar "negatif" olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 2. İndirekt hemaglutinasyon testinde pozitiflik saptanan hastaların radyolojik görüntülemelerinde saptanan kistlerin lokalizasyonları

Kistlerin lokalizasyonları		
Organ	n	%
Karaciğer	64	87.67
Akciğer	1	1.37
Karaciğer+akciğer	3	4.11
Karaciğer+böbrek	2	2.74
Karaciğer+akciğer+kas	1	1.37
Karaciğer+safra kesesi	1	1.37
Kemik	1	1.37
Toplam	73	100

yapılan tarama çalışmalarından yola çıkılarak, prevalansın %0.5-0.6 olduğu ve yaklaşık her 150.000-200.000 kişiden birinin etken ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir^(8,16). Ülkemiz ve

dünya için oldukça önemli bir halk sağlığı sorunu olan KE'nin tanısında; başlangıç semptomlarının nonspesifikliği nedeniyle akla gelmemesi ve testlerde duyarlılığın düşük olabilmesi nedeniyle gecikmeler yaşanabilmektedir. Geç tanı alan hastalar cerrahi kür şansını kaybetmekte, uzun yıllar hastalıkla mücadele etmek zorunda kalmakta, hastaların morbidite ve mortalitesinde artış görülmektedir⁽¹⁷⁾.

Kistik ekinokokkoz tanısında radyoloji, seroloji, patoloji ve moleküler yöntemler bir arada kullanılmaktadır. Kesin tanı mikroskopik olarak kiste ait yapıların veya moleküler inceleme ile parazitin genomik materyalinin gösterilmesi ile konmaktadır. Ancak, mikroskopik veya moleküler incelemelerin yapılabilmesi için cerrahi işlem gerektiği için tanıda daha çok radyolojik görüntülemelere başvurulmaktadır. Kistlerin en fazla yerleştiği organ olan karaciğerin görüntülenmesinde ultrasonografiden yararlanılmaktadır. Ultrasonda

Tablo 3. İndirekt hemaglutinasyon testinde saptanan antikor titreleriyle radyolojik bulguların karşılaştırılması; n (%)

		NEGATİF					POZİTİF			
		0-1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2500	1/5000	1/10000
Radyolojik görüntüleme	Kist varlığı	251	23	13	18	19	10	10	9	7
		(60.8)	(82.1)	(86.7)	(94.7)	(100)	(100)	(90.9)	(100)	(100)
	[KE bulgusu olanlar]	[70]	[17]	[11]	[16]	[16]	[9]	[6]	[8]	[3]
		(16.9)	(60.7)	(73.3)	(84.2)	(84.2)	(90)	(54.5)	(88.9)	(42.9)
	Kiste benzeyen lezyonu olmayanlar	60	4	1	1	0	0	1	0	0
		(14.5)	(14.3)	(6.7)	(5.3)	(0)	(0)	(9.1)	(0)	(0)
	Radyolojik görüntülemesi olmayanlar	102	1	1	0	0	0	0	0	0
		(24.7)	(3.6)	(6.7)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Toplam	413	28	15	19	19	10	11	9	7	
	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	

evreleme de yapılmakta olup, kistin evresine göre uygulanacak tedavi protokolü değişmektedir. Kistlerin ikinci sıklıkta yerleştiği organ olan akciğerin görüntülenmesinde öncelikle akciğer grafisine başvurulmasına rağmen, küçük kistlerin saptanması, birçok organın birlikte taranması ve evreleme de istendiğinde bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntümeden yararlanılmaktadır. Serolojik yöntemler genellikle tanıya yardımcı ve tedavi sonrası takipte kullanılmaktadır⁽¹⁸⁾. Serolojik yöntemlerden tanıda kolay uygulanması, maliyetinin düşük olması ve kolay değerlendirilmesi nedeniyle sıklıkla IHA'ya başvurulmaktadır ve literatür tarandığında farklı merkezlerin KE IHA seropozitiflik verilerini paylaştığı yayınlara rastlanmıştır. Erzurum'da yapılan bir çalışmada, 2008-2016 yılları arasındaki dokuz yıllık dönemde IHA seropozitifliği %14.05 olarak saptanmıştır⁽¹⁹⁾. Adıyaman'da ise 2007-2012 yılları arasında seropozitiflik %20.5 olarak bildirilmiştir⁽²⁰⁾. Bursa'da aynı merkezde farklı yıllarda yapılan iki çalışmada, seropozitiflik sırasıyla %17.95 ve %19.9 olarak bulunmuştur^(21,22). İzmir'de yapılan bir çalışmada, 465 hastanın %14'ünde IHA ile seropozitiflik saptandığı belirtilmiştir⁽²³⁾. Çalışmamızda, ülkemizdeki farklı merkezlerden belirtilen oranlara benzer olarak hastaların %14.12'sinin IHA'sı pozitif bulunmuştur. Seropozitiflik erkeklerde %14.81; kadınlarda %13.65 olarak saptanmış olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.37). Ancak, ülkemizde yapılan birçok çalışmada, kadınlarda seropozitifliğin erkeklere göre daha fazla olduğu

belirtilmiştir^(19,20,22,24,25). Seropozitiflik yüzdesinin yaş gruplarına göre dağılımları incelendiğinde, 20-39 yaş grubunda pozitifliğin daha yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmamızda, IHA sonucu pozitif çıkan hastaların %45'i 20-39, %35'i 40-59, %16'sı 69-79, %3'ü 0-19 yaş aralığında iken, %1'i 80 yaş ve üzeridir; ancak yaş grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.08). Çalışmamızın aksine Esenkaya Taşbent ve ark.⁽²⁴⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, en yüksek seropozitifliğin 41-65 yaş aralığında saptandığı belirtilmektedir. Yine benzer olarak Çitil ve ark.⁽²⁰⁾ tarafından Adıyaman'da yürütülen çalışmada, 40-49 yaş grubunda seropozitifliğin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Çorum'da yürütülen bir çalışmada ise, pozitif hastaların %75'i 40 yaş ve üzerindedir⁽²⁵⁾. Bursa'da yapılan bir çalışmada, çalışmamıza benzer olarak pozitiflik en fazla 20-29 yaş grubunda saptanmıştır⁽²²⁾. Delibaş ve ark.⁽²³⁾ pozitif hastaların %46'sının 20-40 yaş grubunda bulunduğunu belirtmiştir. Bu durum bize pozitifliğin en fazla görüldüğü yaş grubunun çalışmanın yapıldığı yerleşim yerine, bölge halkının sosyokültürel alışkanlıklarına ve ekonomik durumuna bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Hastalığın 5-20 yıl gibi uzun olan inkübasyon dönemi düşünüldüğünde, 20-39 yaş grubundaki hastaların etkenle genellikle çocukluk yaş grubunda veya 20'li yaşlarda karşılaştığı tahmin edilmektedir. Bu nedenle KE ile mücadelede, halkın parazite karşı bilinçlendirilmesi için eylem planlarının oluşturulmasında hedef popülasyon belirlenirken çocuk ve gençlerin öncelikli grupta yer alması yararlı

olacaktır. Bu yaşlarda kazandırılan KE farkındalığı ve hijyen alışkanlıklarının geliştirilmesiyle hastalıkla mücadelede önemli kazanımlar elde edileceği düşünülmektedir. Hastalığın daha erken yaşlarda görülmeye başlanmasının cinsiyetler arasındaki farkı azalttığı/ortadan kaldırdığı düşünülebilir, çünkü cinsiyetler arasında çalışma koşulları ve kültürel alışkanlıklardan kaynaklanan farklar ilerleyen yaşlarda belirgin hâle gelmektedir.

Ocak 2020 ile Aralık 2021 tarihleri arasında hastaların IHA sonuçları retrospektif olarak değerlendirilirken, hastane bilgi yönetim sistemi kullanılarak hastaların klinik verilerine ve radyolojik görüntüleme sonuçlarına da ulaşılmıştır. Hastaların 427'sinin eşzamanlı en az bir görüntüleme yöntemi sonucu (USG, BT, MR) bulunmaktadır. IHA'sında 1/320 ve üzerinde pozitiflik saptanan 75 hastanın 73'ünün en az bir radyolojik görüntülemesinde KE'ye özgü bulguları olan kist saptanmıştır. Diğer iki hasta kist nedeniyle opere olmuş ve sonrasında nüks saptanmayan hastalardır. Hastaların büyük çoğunluğunda literatürle uyumlu olarak yalnızca karaciğer kisti (%87.67) bulunmaktadır^(20,22,24,26). Birinde yalnızca akciğer, birinde yalnızca kemik ve geriye kalan 7'sinde çoklu organ kisti saptanmıştır (Tablo 2). Gastrointestinal sistemde yumurtadan çıkan onkosfer yapıları bağırsak duvarını delerek kan dolaşımına geçmekte olup, öncelikle portal dolaşımın ilk durağı olan karaciğere uğramaktadır. Bu nedenle *E. granulosus*'a bağlı kistler %50-70 oranında karaciğerde görülmektedir. Çalışmamızda, IHA'pozitif ve radyolojik görüntülemesinde KE'ye özgü bulguları olan kist tanımlanan 73 hastanın 71'inde karaciğer tutulumu izlenmiştir. Karaciğeri %20-30'luk oranla akciğerler izlemekte ve daha ender olarak kistler dalak, böbrek, kemikler, kalp ve santral sinir sisteminde de görülebilmektedir⁽²⁴⁾. Çalışmamızda hastaların %9.6'sında çoklu organ tutulumu mevcut olup, çoklu organ tutulumlarında karaciğer ve/veya akciğer ile birlikte böbrek, kas ve safra kesesi tutulumları göze çarpmaktadır. Bu nedenle bir hasta KE tanısı aldığı zaman diğer organlarının da radyolojik yöntemlerle taranmasının tedavi ve takip açısından yararlı olacağını düşünüyoruz.

Çalışmamızda, hastaların IHA sonuçları, klinik verileri ve radyolojik görüntüleme sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmiştir. Literatürde hastaların klinik bulgularının, serolojik ve radyolojik sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiği az sayıda çalışma vardır. Karaciğer kistleri, çoğunlukla radyolojik görüntüleme yöntemleriyle rastlantı sonucu saptanan genellikle asemptomatik yapılardır. *E. granulosus* kist nedenlerinden yalnızca bir tanesidir. Basit karaciğer kistleri, adenom ve adenokarsinomlar, karaciğer metastazları, abse ve polikistik karaciğer hastalığı gibi konjenital nedenler kistlerin diğer nedenleridir⁽²⁷⁾. Radyolojik görüntülemede karaciğerinde kist saptanan her olgu doğrudan KE olarak düşünülmemeli, radyolojisinde kız vezikül, protoskoleks, hidatik kum, septa yapıları ve kalsifikasyon bulguları aranmalıdır. Çalışmamızda, IHA testinin en fazla radyolojisinde kist saptanan hastaların ayırıcı tanısı amacıyla istendiği göze çarpmaktadır. Bu durum serolojik testlerin radyolojik tanıyı destekleyici rolü olduğunu doğrular niteliktedir. IHA istemi yapılmış 531 hastanın 360'unda en az bir görüntüleme yönteminde kist saptanırken, kistlerin 156 tanesinin KE'ye özgü bulguları olduğu belirtilmiştir (Tablo 3).

Çalışmada kullandığımız ticari kitin prospektüsünde 1/320 ve üzerindeki değerlerin pozitif olarak kabul edilmesi gerektiği belirtilmektedir. Antikor titresi 1/160 saptandığında sonuç şüpheli olarak değerlendirilmekte ve 2-3 hafta sonra istenecek yeni bir serumla test tekrarı yapılmaktadır. 1/80 ve altındaki değerler negatif kabul edilmektedir. Çalışmamızda, IHA sonucu 1/160 saptanan 15 hastanın 13'ünün en az bir radyolojik görüntülemesinde kist saptanmıştı ve bunların 11'inin KE ile uyumlu olduğu belirtilmişti. IHA sonucu 1/80 olan 28 hastanın, 23'ünün radyolojisinde kist tanımlanmıştı ve bu hastaların 17'sinin kistleri KE ile uyumluydu. Bu sonuçlar 1/80 ve 1/160 antikor titrelerinin klinik olarak anlamlı olabileceğini ve sonuç raporunda belirtilmesi gerektiğini göstermektedir. Bu aşamada klinisyenle iletişime geçilerek, hastaların belirli aralıklarla serolojik ve radyolojik takiplerinin yapılmasının, hastaların gözden kaçırılmasını engelleyeceği düşünülmektedir. 1/80 ve 1/160 antikor titreleriyle,

klirik ve radyolojik tanı arasında saptanan uyum, eşik değerin altındaki antikor titrelerinin dikkate alınması gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle 1/80 ve 1/160 değerlerinin sonuç raporunda sayısal olarak belirtilmesi ve hastada KE spesifik antikorların eşik değerin altında pozitif sonuç verdiği yorumu ile onaylanmasının yararlı olacağını düşünüyöruz.

Çalışmamızda, en az bir radyoloji raporunda KE ile uyumlu kistleri olduğu belirtilen 156 hastanın 58'inin IHA'sında antikor titresi 1/320 ve üzerinde, 11'inin 1/160 ve 17'sinin 1/80 olarak saptanmıştır. Ayrıca radyoloji raporunda kist saptandığı halde, IHA'sı negatif olan 70 hasta vardır. Bu hastaların radyolojik bulguları ayrıntılı olarak değerlendirildiğinde, 42'sinde evre 4-5, 6'sında evre 1 kist olduğu, üçünde operasyon sonrası rezidü kistler görüldüğü ve dokuzunun kistlerinin karaciğer dışı yerleşimli olduğu görülmüştür. Testin duyarlılığı kistin yerleşimine, parazitin evresine ve büyüklüğüne göre değişmekte olup, seronegatiflik kist olasılığını dışlamamaktadır⁽²⁸⁾. Yapılan çalışmalarda, erken ve geç evre kistlerde ve karaciğer dışı yerleşimlerde %20'ye varan yalancı negatiflik oranları bildirilmiştir^(12,29). Evre 4-5 kistler geç dönem kalsifiye kistlerdir ve genellikle cerrahi ve medikal tedavi uygulanmadan takip edildikleri için yalancı negatiflik saptanması klinik açıdan çok önemli olmayabilir. Ancak, özellikle erken evre kistlerde ve karaciğer dışı yerleşimlerde seronegatiflik olması tanının atlanmasına ve hastalığın ilerlemesine neden olacağından dikkatli olunmalıdır. Esenkaya Taşbent ve ark.⁽²⁴⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, benzer olarak IHA duyarlılığının karaciğer yerleşimli kistlerde karaciğer dışı yerleşimlilere göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Yaman ve ark.'nın⁽³⁰⁾ pelvik yerleşimli 20 cm'lik kisti olan hastada, serolojik testlerin negatif bulunduğunu belirttiği olgu sunumu, bu konuda verilebilecek en çarpıcı örneklerden bir tanesidir. Bu nedenle radyolojik görüntülemelerde karaciğer dışında kistten söz edilen hastalarda antikor titresi negatif olduğunda, karaciğer dışı yerleşimlerde duyarlılığın düşük olduğu ve yalancı negatiflik görülebileceği yorumunun sonuç raporuna eklenmesinin klinisyen açısından yol gösterici olacağı düşünülmektedir. Benzer olarak erken evre kistlerde de yalancı negatiflik olasılığı göz önünde bulundurularak hasta düzenli aralıklarla serolojik ve radyolojik

takibe alınmalıdır. Laboratuvar hekimi ve klinisyen arasında iletişim kurulmasının testlerin akılcı kullanımı ve yorumlanmasına katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, serolojik yöntemlerden kist tanısında radyolojik tanıya destek olarak ve tedavi edilmiş hastaların takibinde yararlanılmaktadır. Bu yöntemlerden IHA rutin mikrobiyoloji/parazitoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Laboratuvarımıza 2020-2021 yılları arasında IHA testi çalışılması için serum örneği gönderilen 531 hastanın %14,12'sinin IHA antikor titresi 1/320 ve üzerinde saptanmış olup, pozitiflik erkeklerde ve 20-39 yaş grubunda daha fazla bulunmuştur. Hastaların IHA antikor titreleri radyolojik görüntüleme sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiği zaman, eşik değeri 1/80 olarak kabul edildiğinde, kist hastalarının daha yüksek duyarlılıkla saptanabileceği görülmüştür. Bu nedenle 1/80 ve 1/160 değerlerinin sonuç raporunda belirtilmesinin hastaların erken tanı ve nüks takibinde yararlı olacağı öngörülmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (24.02.2022 tarih ve 0059 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of İzmir Kâtip Çelebi University, Non-invasive Research Ethics Committee (02.24.2022; 0059).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev. 2004;17(1):107-35. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.1.107-135.2004>

2. Budke CM, Deplazes P, Torgerson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(2):296-303. <https://doi.org/10.3201/eid1202.050499>
3. WHO. First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. World Health Organization. 2010;140. [<https://apps.who.int/iris/handle/10665/44440>] (Erişim tarihi: 01.04.2022).
4. WHO. Echinococcosis. World Health Organization. 2020. [<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>] (Erişim tarihi: 01.04.2022).
5. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Writing Panel for the WHO-IWGE. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop.* 2010;114(1):1-16. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.11.001>
6. Craig PS, Lariou E. Control of cystic echinococcosis/hydatidosis: 1863-2002. *Adv Parasitol.* 2006;61:443-508. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)61011-1](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)61011-1)
7. Wen H, Vuitton L, Tuxun T, et al. Echinococcosis: advances in the 21st century. *Clin Microbiol Rev.* 2019;32(2):e00075-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00075-18>
8. Ok ÜZ. İnsanlarda epidemiyoloji, sorunun kaynakları ve çözüm yolları. (Türkiye’de Kistik Ekinokokkoz Sorunu ve Çözüm Yolları başlıklı Yuvarlak Masa Sunumu’nda) 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 25-29 Eylül 2017, Eskişehir, 2017:155-8.
9. Ok ÜZ, Özko M, Kilimcioğlu AA, et al. A province-based study using sampling method to investigate the prevalence of cystic echinococcosis among primary school children in Manisa, Turkey. *Acta Trop.* 2007;103(2):116-22. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.05.013>
10. Bakal U, Kazez A, Akyol M, Kocakoç E, Şimsek S. A portable ultrasound based screening study on the prevalence and risk factors of cystic echinococcosis in primary school children in East Turkey. *Acta Trop.* 2012;123(2): 91-5. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.03.011>
11. Tamarozzi F, Akhan O, Cretu CM, et al. Prevalence of abdominal cystic echinococcosis in rural Bulgaria, Romania, and Turkey: A cross-sectional, ultrasound-based, population study from the HERACLES project. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(7):769-78. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30221-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30221-4)
12. Özbilgin A, Kilimcioğlu AA. Kistik Ekinokokkozis. In: Özcel MA, Özbel Y, Ak M (eds.). Özcel’in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Meta Basım-Türkiye Parazitoloji Derneği; 2007:541-66.
13. CDC. Echinococcosis. Centers For Disease Control and Prevention. [<https://www.cdc.gov/dpdx/echinococcosis/index.html>] (Erişim tarihi: 23/01/2022).
14. Deplazes P, Rinaldi L, Rojas CAA, et al. Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis. *Adv Parasitol.* 2017;95:315-493. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.11.001>
15. Torgerson PR, Devleeschauwer B, Praet N, et al. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 11 foodborne parasitic diseases, 2010: A data synthesis. *PLoS Med.* 2015;12(12):e1001920. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001920>
16. Ok ÜZ, Kilimcioğlu AA, Özko M. Türkiye’de insanlarda kistik ekinokokkoz. *Mikrobiyol Bul.* 2020;54(3):510-22. <https://doi.org/10.5578/mb.69712>
17. Sezgin O, Altıntaş E, Sarıtaş Ü, Şahin B. Hepatic alveolar echinococcosis. *J Clin Gastroenterol.* 2005;39(2):160-7.
18. Kilimcioğlu AA, İnceboz T. Echinococcosis. In: Korkmaz M, Ok UZ (eds.). Parazitolojide Laboratuvar. İzmir: Meta Basım-Türkiye Parazitoloji Derneği; 2011:293-306.
19. Aslan MH, Kurt A, Vural MK. Kistik ekinokokkozis ön tanılı hastaların indirekt hemaglutinasyon (İHA) test sonuçlarının araştırılması. *Van Tıp Derg.* 2019;26(2):158-61. <https://doi.org/10.5505/vtd.2019.07269>
20. Çitil BE, Tunçoğlu E, Erbil ÖF, Değirmenci M, Özenoğlu A, Sert H. Adıyaman’da kistik ekinokokkozis ön tanılı hastaların indirekt hemaglutinasyon (İHA) yöntemi ile değerlendirilmesi. *Van Tıp Derg.* 2015;22(4):220-4.
21. Tüzemen NÜ, Alver O, Özakin C, Ener B. Kistik ekinokokkozis şüpheli olguların serumlarından 2008-2016 yılları arasında çalışılan indirekt hemaglutinasyon sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 25-29 Eylül 2017, Eskişehir, 2016:P115-605-6.
22. Alver O, Payaslıoğlu AM, Özakin C, Esen S. Kistik ekinokokkozla ilgili 2017 ve 2018 yılları laboratuvar sonuçları. *Türkiye Parazit Derg.* 2021;45(3):207-10. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2021.43434>
23. Delibaş SB, Ozkoç S, Sahin S, Aksoy U, Akisü C. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı’na kistik ekinokokkozis şüphesiyle başvuran hastaların değerlendirilmesi. *Türkiye Parazit Derg.* 2006;30(4):279-81.
24. Esenkaya Taşbent F, Yağcı B, Kadiyoran C, İyisoy MS. İHA ve radyolojik yöntemlerin kistik ekinokokkoz ön tanısındaki etkinliklerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. *Türkiye Parazit Derg.* 2021;45(1):22-7. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2020.7045>

25. Güreşer AS, Özcan O, Özünel L, Boyacıoğlu Zİ, Taylan Özkan A. Çorum'da kistik ekinokokkoz ön tanısı ile başvuran hastaların radyolojik, biyokimyasal ve serolojik analizlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul.* 2015;49(2):231-9.
26. Kara M, Davarci M, Dabanlioglu B. Prevalence of cystic echinococcosis in humans in Erzincan Province. *Ann Med Res.* 2020;27(1):128-32. <https://doi.org/10.5455/annalsmedres.2019.11.685>
27. Bernshteyn MA, Masood U. Hepatic Cyst. *Treasure Island: StatPearls*; 2022. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526052/] (Erişim tarihi: 15 Ocak 2022).
28. Bhat NA, Rashid KA, Wani I, Wani S, Syeed A. Hydatid cyst of the pancreas mimicking choledochal cyst. *Ann Saudi Med.* 2012;31(5):536-8. <https://doi.org/10.4103/0256-4947.84638>
29. Derbel F, Zidi MK, Mtimet A. Hydatid cyst of the pancreas: A report on seven cases. *Arab J Gastroenterol.* 2010;11:219-22.
30. Yaman İ, İnceboz Ü, İnceboz T, Keyik B, Uzgören E. Primer pelvik kistik ekinokokkoz. *Türkiye Parazitol Derg.* 2015;39(2):167-70.

HBsAg Pozitif Hastalarda Hepatit Delta Virüsü Seroprevalansının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

Retrospective Evaluation of Hepatitis Delta Virus Seroprevalence in HBsAg-Positive Patients

Canan Eryıldız*, Eray Özgün**, Zerrin Yuluğkural***, Ahmet Tezel****, Nermin Şakru*

* Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

** Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

*** Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

**** Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Edirne, Türkiye

Atf/Cite as: Eryıldız C, Özgün E, Yuluğkural Z, Tezel A, Şakru N. HBsAg pozitif hastalarda hepatit delta virüsü seroprevalansının retrospektif olarak değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):232-239.

ÖZ

Amaç: Çalışmamızda, HBsAg pozitif hastalarda hepatit delta virüsü (HDV) seroprevalansının belirlenmesi ve anti-HDV saptanan hastalarda hepatit B serolojik belirteçleri ile çeşitli biyokimyasal parametrelerin incelenmesi amaçlandı.

Yöntem: Hastanemize Ocak 2015-Aralık 2021 tarihleri arasında başvuran ve anti-HDV çalışmak üzere laboratuvarımıza örneği gönderilen 1831 HBsAg pozitif hasta çalışmaya dâhil edildi. Hastaların aynı başvuru sırasında incelenen diğer hepatit B serolojik belirteçleri, HBV-DNA düzeyleri, anti-HCV ve anti-HDV test sonuçları ile karaciğer transaminazları, serum albümin ve bilirubin düzeyleri, trombosit sayısı ve INR değerleri de geriye dönük olarak hastane kayıtlarından incelendi.

Bulgular: HBsAg pozitif hastaların %3.6'sında anti-HDV testi pozitif saptandı. Anti-HDV pozitiflik oranının erkek olgularda kadınlardan daha düşük olduğu belirlendi ($p=0.009$). Yıllara göre anti-HDV pozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0.05$). Anti-HDV negatif olgularda HBV-DNA pozitifliğinin, anti-HDV pozitif hastalardan yüksek olduğu belirlendi ($p=0.001$). Anti-HDV negatif olgularda anti-HBe pozitiflik oranının, anti-HDV pozitif olgulardan yüksek olduğu saptandı ($p=0.001$). Delta antikoru saptanan hastalarda trombosit sayısı ve albümin değerlerinin antikor saptanmayan hastalara göre düşük olduğu görülürken, INR değerleri yüksek bulundu ($p<0.01$).

Sonuç: HBsAg pozitif hastalarda %3.6 oranında saptanan anti-HDV pozitifliğinin ülkemizde özellikle batı bölgelerde yapılan çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmektedir. Hepatit D enfeksiyonunun klinik seyri göz önüne alındığında, hepatit B enfeksiyonlu hastaların hepatit D açısından taranması ve izlemi bu hastalığın yönetimi açısından oldukça önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Hepatit D virüsü, delta antikoru, seroprevalans

ABSTRACT

Objective: The purpose of this study was to determine hepatitis delta virus (HDV) seroprevalence in patients with HBsAg and to examine hepatitis B serological markers and various biochemical parameters in patients with anti-HDV.

Methods: A total of 1831 patients with HBsAg admitted to our hospital between January 2015 and December 2021 and whose samples were sent to our laboratory for anti-HDV testing were included in the study. The test results of other hepatitis B serological markers, HBV DNA, anti-HCV, and anti-HDV of the patients were examined. In addition, levels of liver transaminase, serum bilirubin and albumin, platelet count, and INR values were analyzed retrospectively from hospital records.

Results: Anti-HDV testing was positive in 3.6% of HBsAg-positive patients. The anti-HDV-positivity rate was lower in males than in females ($p=0.009$). There was no statistically significant difference in anti-HDV-positivity rates according to years ($p>0.05$). The HBV-DNA-positivity rate in anti-HDV-negative patients was higher than in anti-HDV-positive patients ($p=0.001$). The rate of anti-HBe-positivity in anti-HDV-negative patients was higher than in anti-HDV-positive patients ($p=0.001$). Platelet count and albumin values were lower in patients with delta antibodies compared to patients without delta antibodies, while INR values were higher in these patients ($p<0.01$).

Conclusion: Anti-HDV-positivity, which occurred at a rate of 3.6% among HBsAg-positive patients, seems to be compatible with studies conducted in our country, especially in western regions. Considering the clinical course of hepatitis D infection, it is important to screen and follow-up of patients with hepatitis B infection to manage this disease.

Keywords: Hepatitis delta virus, delta antibody, seroprevalence

Alındığı tarih / Received:

17.05.2022 / 17.May.2022

Kabul tarihi / Accepted:

18.07.2022 / 18.July.2022

Erken çevrimiçi / First Published:

01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

C. Eryıldız 0000-0002-9095-4590

E. Özgün 0000-0002-6744-1519

Z. Yuluğkural 0000-0002-0813-0403

A. Tezel 0000-0002-3054-475X

N. Şakru 0000-0002-1312-7233

✉ cananeryildiz@gmail.com

GİRİŞ

Hepatit delta virüsü (HDV); hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) ile kaplı, dairesel, tek sarmallı, negatif polariteli bir RNA virüsüdür⁽¹⁾. Bu virüs; hepatositlere giriş, intrahepatik ve konaklar arası yayılım için hepatit B virüsüne gereksinim duymaktadır⁽²⁾. Virüs, yaklaşık 1.700 nükleotid içerir ve genomik RNA'sının %74'ünü içeren baz eşleşmeleri nedeniyle dairesel bir yapıya sahiptir. HDV genomu ile virüsün kodladığı tek protein olan delta antijeni (HDAg) ribonükleoprotein kompleksini (RNP) oluştururlar. HDAg; küçük (S-HDAg) ve büyük (L-HDAg) olmak üzere iki izoformda bulunur ve her biri HDV yaşam döngüsünde belirli bir rol üstlenir. S-HDAg 195 amino asitten oluşur ve RNA replikasyonunu desteklerken, L-HDAg 214 amino asitten oluşur ve virion paketlemesi için gereklidir⁽³⁾.

Hepatit D virüsü, hepatit B virüsü (HBV) ile enfekte olmuş bireylerde hastalık oluşturur ve klinik olarak süperenfeksiyon veya koenfeksiyon şeklinde görülür. HBV/HDV koenfeksiyonu, duyarlı bir bireyde HBV ve HDV'nin eşzamanlı akut enfeksiyonudur. Enfeksiyon ancak HBV, hepatositleri enfekte ettikten sonra başlar ve akut hepatit B'ye benzer. Olguların %95'inde spontan iyileşme görülür. Koenfeksiyon tanısı, primer HBV ve HDV enfeksiyonları için serolojik belirteçlerin eşzamanlı mevcudiyeti ile doğrulanır. Süper enfeksiyon, kronik olarak HBV ile enfekte olmuş bir bireyde HDV enfeksiyonudur. Fulminan hepatite neden olabilir ve kronikleşme oranı %80'in üzerindedir. Süper enfeksiyonun tanısı; HBsAg taşıyan hastalarda pozitif anti-HDV IgM ve negatif anti-HBc IgM testine dayanır ve akut faz sırasında HBV replikasyonunun baskılanması da söz konusudur^(3,4). Klinik uygulama kılavuzları, HBV ile enfekte olan tüm hastalarda veya HBV açısından yüksek riskli popülasyonlarda HDV taraması yapılmasını önermektedir⁽⁵⁾. HDV tanısında ilk adım, HBsAg pozitif bireylerde HDAg'ye karşı oluşan antikörlerin (anti-HDV IgM ve IgG) taranmasıdır. Anti-HDV reaktif olan hastalarda bir sonraki adım, HDV-RNA'nın varlığının belirlenmesidir⁽⁴⁾.

HDV enfeksiyonu tüm dünyada görülmekte olup, HBsAg pozitif kişilerde tahmini HDV prevalansı %4.5, genel popülasyonda ise %0.16'dır⁽⁶⁾. Delta hepatitinin

prevalansı dünyanın farklı bölgeleri arasında önemli farklılıklar göstermekte olup, Türkiye, diğer Doğu Avrupa ve Akdeniz bölgeleri delta hepatiti için endemik alanlar olarak kabul edilmektedir⁽⁷⁾. Ülkemizin özellikle doğu bölgelerinde bu enfeksiyon önemini korumaktadır^(8,9).

Bu çalışma ile HBsAg pozitif hastalarda HDV seroprevalansının ortaya konulması ve anti-HDV saptanan hastalarda hepatit B serolojik belirteçleri ile çeşitli biyokimyasal parametrelerin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dekanlığı, Girişimsel Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.03.2022 tarih ve TUTF-GOBAEK 2022/66 No.) onaylanmıştır.

Trakya Üniversitesi, Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne Ocak 2015-Aralık 2021 tarihleri arasında başvuran ve anti-HDV çalışılmak üzere laboratuvarımıza örneği gönderilen 1.831 HBsAg pozitif hasta çalışmaya dâhil edildi. Hastaların aynı başvuru tarihinde incelenen diğer hepatit B serolojik belirteçleri (anti-HBs, anti-HBc IgM, anti-HBc total, HBeAg, anti-HBe), HBV-DNA düzeyleri, anti-HDV ve anti-HCV sonuçları ile karaciğer transaminazları, serum albumin ve bilirubin düzeyleri, trombosit sayısı ve INR değerleri de geriye dönük olarak hastane kayıtlarından incelendi. Hepatit B ve C serolojik belirteçleri cobas e601 cihazında (Roche Diagnostics, İsviçre), HBV-DNA ise Montania 4896 real-time PCR cihazında (Anatolia Tanı ve Biyoteknoloji, Türkiye) çalışıldı. Anti-HDV seropozitifliği, BioTek µQuant (BioTek Instruments, ABD) mikro-ELISA cihazında, Dia.Pro HDV Ab (Dia.Pro-Diagnostic Bioprobes, İtalya) kiti ile üreticinin önerileri doğrultusunda araştırıldı.

Serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), albümin ve total bilirubin düzeyleri Abbott Architect C16000 ve Beckman AU 5800 marka klinik kimya analizörleri ile orijinal kitleri kullanılarak ölçüldü. Plazma protrombin zamanı düzeyleri Stago Star Evolution ve Sysmex CS-5100

marka koagülasyon analizörleriyle sırasıyla Stago ve Siemens marka kitler kullanılarak ölçüldü ve INR düzeyleri belirlendi. Tam kandaki trombosit sayıları Sysmex XE-2100 ve Beckman DxH 800 hematoloji analizörleri kullanılarak ölçüldü.

İstatistiksel İncelemeler: İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, ABD) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınılandı. Normal dağılım gösteren nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında bağımsız gruplar t testi kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test, Fisher's exact test, Fisher-Freeman-Halton exact testleri kullanıldı ve istatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Ocak 2015-Aralık 2021 tarihleri arasında hastanemize başvuran 1.831 HBsAg pozitif hastanın 66'sında (%3.6) anti-HDV testi pozitif saptandı. Ayrıca iki hastada HBsAg negatif iken, anti-HDV'nin pozitif olduğu belirlendi. Bu hastaların her ikisinde de anti-HBc IgM negatif ve anti-HBc total pozitif idi. Bu hastaların birinde anti-HBs negatif (3.33 IU/L) iken, HBV-DNA düşük düzeyde (46 IU/mL) pozitif, diğer hastada ise anti-HBs pozitif (14.66 IU/L) iken, HBV-DNA negatif (<10 IU/mL) idi. Cinsiyete göre anti-HDV pozitiflik oranı karşılaştırıldığında, erkek olgularda bu oranın kadınlardan istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük olduğu saptandı ($p=0.009$) (Tablo 1). Yaş grupları arasında ise anti-HDV sonucuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 2).

Yıllara göre anti-HDV pozitiflik oranları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 3).

Tablo 1. HBsAg pozitif hastaların anti-HDV sonucuna göre yaş ve cinsiyet dağılımları (n,%)

		Anti-HDV (-) (N=1765)	Anti-HDV (+) (N=66)	p
Cinsiyet	Erkek	1034 (58.6)	28 (42.4)	0.009 ^{a, **}
	Kadın	731 (41.4)	38 (57.6)	
Yaş	Ort±Ss	49.98±14.05	50.35±14.60	0.834 ^b
	Medyan (Min-Maks)	51 (16-91)	52 (18-79)	

^aPearson Chi-Square Test

^bStudent-t Test

** $p < 0.01$

Tablo 2. HBsAg pozitif hastalarda anti-HDV sonucuna göre yaş gruplarının dağılımı (n, %)

		Toplam	Anti-HDV (-) (N=1765)	Anti-HDV (+) (N=66)	p
Yaş grupları	0-19	12 (0.7)	10 (0.6)	2 (3.0)	0.192 ^c
	20-29	157 (8.6)	153 (8.7)	4 (6.1)	
	30-39	265 (14.5)	258 (14.6)	7 (10.6)	
	40-49	384 (21.0)	367 (20.8)	17 (25.8)	
	50-59	547 (29.9)	530 (30.0)	17 (25.8)	
	≥60	466 (25.5)	447 (25.3)	19 (28.8)	

^cFisher Freeman Halton Test

Tablo 3. Anti-HDV pozitiflik oranlarının yıllara göre dağılımları (n, %)

		Anti-HDV (-) (N=1765)	Anti-HDV (+) (N=66)	p
Yıllar	2015	246 (96.1)	10 (3.9)	0.146 ^c
	2016	248 (94.7)	14 (5.3)	
	2017	407 (96.2)	16 (3.5)	
	2018	522 (96.8)	17 (3.2)	
	2019	131 (98.5)	2 (1.5)	
	2020	62 (92.5)	5 (7.5)	
	2021	149 (98.7)	2 (1.3)	

^cFisher Freeman Halton Test

HBsAg pozitif hastalarda çeşitli serolojik ve biyokimyasal parametrelerin anti-HDV test sonucuna göre dağılımları Tablo 4 ve 5'te gösterilmiştir. Buna göre; anti-HDV negatif olguların HBV-DNA ve anti-HBe pozitiflik oranı, anti-HDV pozitif hastalardan istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptandı ($p=0.001$). Delta antikoru saptanan hastalarda trombosit sayısı ve albümin değerlerinin, antikor saptanmayan hastalara oranla düşük olduğu görülürken INR değerleri ise yüksek bulundu ($p<0.01$).

TARTIŞMA

Hepatit delta virüsü, portal hipertansiyon ve ensefalopati gibi ciddi durumlarla beraber hızla karaciğer sirozuna ilerleyen şiddetli bir hepatit formuna neden olabilen önemli bir sağlık sorunudur⁽¹⁰⁾. Tüm dünyada, yaklaşık 240 milyon kişinin HBsAg pozitif olduğu ve bunların %2-8'inin HDV ile koenfekte olduğu düşünülmektedir⁽⁷⁾. Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırmaları Derneği (AASLD)

Tablo 4. HBsAg pozitif hastalarda çeşitli serolojik parametrelerin anti-HDV test sonucuna göre dağılımları (n,%)

		Anti-HDV (-)	Anti-HDV (+)	p
Anti-HBs	Negatif	1468 (92.3)	53 (94.6)	0.796 ^d
	Pozitif	123 (7.7)	3 (5.4)	
Anti-HBc IgM	Negatif	729 (95.5)	33 (97.1)	1.000 ^d
	Pozitif	34 (4.5)	1 (2.9)	
Anti-HBc	Negatif	7 (0.8)	0 (0)	1.000 ^d
	Pozitif	916 (99.2)	33 (100)	
HBeAg	Negatif	1505 (92.3)	51 (86.4)	0.133 ^d
	Pozitif	126 (7.7)	8 (13.6)	
Anti-HCV	Negatif	1179 (98.8)	43 (95.6)	0.112 ^d
	Pozitif	14 (1.2)	2 (4.4)	
HBV-DNA	Negatif	306 (19.3)	22 (37.9)	0.001 ^{d,**}
	Pozitif	1282 (80.7)	36 (62.1)	
Anti-HBe	Negatif	112 (7.0)	13 (22.4)	0.001 ^{d,**}
	Pozitif	1497 (93.0)	45 (77.6)	

^dFisher Exact Test** $p<0.01$

Tablo 5. HBsAg pozitif hastaların çeşitli biyokimyasal belirteçlerinin anti-HDV test sonucuna göre dağılımları

		Anti-HDV (-)	Anti-HDV (+)	p
Albumin (g/dL)	n	1635	59	0.001 ^{b,**}
	Ort±Ss	4.10±0.57	3.75±0.74	
	Medyan (Min-Maks)	4.2 (1.6-5.5)	4 (2-5)	
ALT (U/L)	n	1641	60	0.887 ^b
	Ort±Ss	95.60±296.97	90.12±190.98	
	Medyan (Min-Maks)	25 (4-4625)	40 (8-1415)	
AST (U/L)	n	1634	60	0.972 ^b
	Ort±Ss	81.22±232.28	80.17±122.81	
	Medyan (Min-Maks)	26 (7-3330)	38 (12-870)	
Total bilirubin (mg/dL)	n	1600	59	0.518 ^b
	Ort±Ss	1.22±2.45	1.43±1.82	
	Medyan (Min-Maks)	0.6 (0-43.9)	0.9 (0.2-9.8)	
PLT (10 ³ /μl)	n	1611	59	0.001 ^{b,**}
	Ort±Ss	228.61±85.96	191.47±88.61	
	Medyan (Min-Maks)	223 (3-985)	195 (29-484)	
INR	n	1554	56	0.003 ^{b,**}
	Ort±Ss	1.12±0.33	1.25±0.31	
	Medyan (Min-Maks)	1.1 (0.8-8.7)	1.1 (0.9-2.2)	

^bStudent-t Test

**p<0.01

2016 HBV kılavuzu; HIV enfeksiyonu olanlar, damar içi madde kullanıcıları, erkeklerle seks yapan erkekler ve HDV'nin yüksek oranda endemik olduğu bölgelerden gelen göçmenler dâhil olmak üzere HDV riski taşıyan HBsAg pozitif kişilerin test edilmesini önermektedir. Ayrıca, HBV-DNA'sı düşük veya saptanamayan, ancak yüksek ALT düzeyleri olan HBsAg pozitif hastalar da HDV testi için değerlendirilmelidir. Önerilen tarama testi anti-HDV'dir ve bu test sonucu pozitifse, aktif HDV enfeksiyonunun tanısı için bunu HDV RNA testi takip etmelidir⁽¹¹⁾.

Ülkemizde HDV enfeksiyonu açısından Güneydoğu Anadolu bölgesindeki oranlar diğer bölgelerden yüksektir. Son yıllarda ülkemizde delta hepatiti olgularında batı bölgelerinde daha belirgin olmak üzere azalma gözlenmektedir⁽⁹⁾. Aydemir ve ark.'nın⁽¹²⁾ Sakarya'da gerçekleştirdiği ve üç yıllık dönemi kapsayan çalışmada, hastaneye başvuran hastalardan; HBsAg pozitifliği saptanan 740 hastanın 10 (%1.4)'unda HDVAb, 4'ünde (%0.5) HDVAg ve

birinde (%0.1) HDVAg ile HDVAb'nin birlikte pozitifliği saptanmıştır. Adıyaman'da yapılan bir çalışmada, 462 HBsAg pozitif hastanın 15'inde (%3.2) anti-HDV pozitifliği belirlenmiştir⁽¹³⁾. İstanbul'da yapılan bir çalışmada ise, HBsAg pozitifliği olan 1.374 hastanın 109'unda (%7.9) anti-HDV pozitifliği tespit edilmiştir. Bu çalışmada, mevcut çalışmamızla benzer şekilde hastaların yıllara göre (2015-2019) anti-HDV pozitifliği oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir⁽¹⁴⁾. İki bin beş yüz kırk sekiz HBsAg pozitif hastanın dâhil edildiği bir diğer çalışmada ise, delta antikör pozitifliği %2.9 olarak saptanmıştır⁽¹⁵⁾. Elazığ'da 2017-2019 yılları arasında kronik hepatit B tanısıyla takip edilen 455 hastanın anti-HDV sonuçlarının değerlendirildiği bir çalışmada ise, anti-HDV seropozitiflik oranı %8.8 olarak bulunmuştur⁽¹⁶⁾. Malatya, Eskişehir ve Erzurum'da yapılan çeşitli çalışmalarda, hepatit B enfeksiyonlu hastalarda sırasıyla %15, %0.9 ve %4.05 oranlarında anti-HDV pozitifliği saptanmıştır⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. Çalışmamızda, 1.831 HBsAg pozitif hastanın 66'sında (%3.6) delta antikoru saptanmıştır. Buna göre,

Edirne’de 2016 yılında yapılan ve HBsAg pozitif hastalarda HDV seroprevalansının %2.47 olarak tespit edildiği bir çalışmaya oranla, delta antikor pozitifliğinde hafif bir yükselme gözlenmektedir⁽²⁰⁾. Bununla birlikte, ülkemizde yapılan benzer çalışmalar ile karşılaştırıldığında, yüksek seroprevalansa sahip belirli bölgeler dışında bu oranın Türkiye geneliyle uyumlu olduğu görülmektedir. Çalışmamızda, 66 hastaya ek olarak iki HBsAg negatif hastada da anti-HDV’nin pozitif olduğu belirlenmiştir. Serolojik belirteçler değerlendirildiğinde, bu hastaların enfeksiyonu geçirmiş olabileceği düşünülmekle birlikte, anti-HDV pozitif saptanan hastaların HDV-RNA test sonuçlarının olmaması çalışmanın kısıtlayıcı bir faktörü olarak görülmektedir.

Ergen ve ark.⁽¹⁵⁾ delta antikor pozitifliği olan hastaların ortalama yaşını 51 ve bu hastalarda kadın/erkek oranını eşit olarak bulmuşlardır. Dülger ve ark.’nın⁽⁸⁾ Van’da yürüttüğü ve 2012-2014 yıllarını kapsayan bir çalışmada, HDV enfeksiyonlu hastaların yaş ortalaması 55 olarak saptanmış ve cinsiyete göre anti-HDV pozitifliğinde anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Elazığ ve İzmir’de yapılan çalışmalarda ise, bu değer sırasıyla 45.75 ve 45.92 olarak bulunmuştur^(16,21). 2015-2017 yılları arasında 2089 HBsAg pozitif hastanın değerlendirildiği bir çalışmada, anti-HDV pozitif hastaların yaş ortalaması 49.5±11.1 olarak tespit edilmiş ve anti-HDV pozitifliğinde 50-59 yaş grubunda anlamlı bir artış saptanmıştır, cinsiyetler arasında ise anlamlı bir fark görülmemiştir⁽²²⁾. Çalışmamızda, anti-HDV pozitif hastaların yaş ortalaması 50.35±14.60 olarak bulunmuş ve yaş grupları arasında ise anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bu veri Türkiye’de yapılan benzer çalışmaların geneliyle uyum göstermektedir. Cinsiyete göre anti-HDV pozitifliği değerlendirildiğinde, erkek hastalarda anti-HDV pozitiflik oranının kadınlarından düşük olduğu saptanmış olup, bu veri Türkiye’de yapılan benzer çalışmalarla uyum göstermemektedir. HDV viremi sırasında HBV replikasyonunun inhibisyonu görülebilmekte ve bu hastalarda HBeAg negatifliği, anti-HBe pozitifliği ve düşük/tespit edilemeyen HBV-DNA düzeyleri gözlenebilmektedir^(19,23-25). Bu durumla uyumlu olarak çalışmamızda, anti-HDV negatif olguların HBV-DNA pozitiflik oranı, anti-HDV pozitif hastalardan istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır. HBeAg ve anti-HBe pozitifliği

açısından ise anti-HDV negatif ve pozitif hasta grupları arasında istatistiksel olarak bu durumla uyumlu sonuçlar elde edilmemiştir. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde, hastaların klinik bulgularının değerlendirildiği, yüksek olgu sayılarını içeren kapsamlı araştırmaların HDV enfeksiyonlu hastaların demografik, klinik ve laboratuvar özelliklerini kavramada yararlı olacağı düşünülmektedir.

Karaciğer sirozu, zamanla portal hipertansiyona yol açarak dalak hiperfonksiyonu ve ardından trombosit sayısında düşüşe yol açabilmektedir. Bu nedenle trombositler, karaciğer hastalıklarının progresyonunun dolaylı bir belirtecidir. INR ise, tümü karaciğerde sentezlenen faktör I, II, V, VII ve X’a bağlı ekstremsel pıhtılaşma yolunun değerlendirildiği bir oran olduğundan, karaciğerin protein üretiminin önemli bir göstergesidir⁽²⁶⁾. İleri düzey kronik karaciğer hastalıklarında, dolaşımdaki albümin miktarını ve etkinliğini azaltan çeşitli değişiklikler de meydana gelmektedir⁽²⁷⁾. Çalışmamızda, hepatit D virüs enfeksiyonu ile ilişkili olabilen çeşitli biyokimyasal parametreler incelenmiş, buna göre, delta antikor saptanan hastalarda trombosit sayısı ve albümin değerleri antikor saptanmayan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük saptanırken, INR değerleri yüksek bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu sonuçların karaciğer hastalıklarının olumsuz seyrine işaret eden bulgular ile uyum gösterdiği görülmektedir⁽²⁶⁾. Benzer şekilde Coghill ve ark.’nın yaptığı bir çalışmada da HDV pozitif hastaların, HDV negatif olanlara kıyasla daha düşük trombosit sayılarına ve daha yüksek INR değerlerine sahip olduğu bulunmuştur⁽²⁵⁾.

Sonuç olarak, Edirne’de HBsAg pozitif hastalarda anti-HDV pozitifliği %3.6 olarak saptanmış olup, bu oran, ülkemizin özellikle batı bölgelerinde yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir. Delta hepatiti riski taşıyanlar başta olmak üzere hepatit B enfeksiyonlu hastaların taranması ve izlemi hastalığın klinik seyri nedeniyle oldukça önemlidir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dekanlığı, Girişimsel Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.03.2022 tarih ve TUTF-GOBAEK 2022/66 No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Trakya University, School of Medicine, Non-invasive Scientific Research Ethics Committee (07.03.2022; TUTF-GOBAEK 2022/66).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

- Rizzetto M. The adventure of delta. *Liver Int.* 2016;36(Suppl 1):S135-40. <https://doi.org/10.1111/liv.13018>
- Urban S, Neumann-Haefelin C, Lampertico P. Hepatitis D virus in 2021: Virology, immunology and new treatment approaches for a difficult-to-treat disease. *Gut.* 2021;70(9):1782-94. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323888>
- Niro GA, Ferro A, Cicerchia F, Brascugli I, Durazzo M. Hepatitis delta virus: From infection to new therapeutic strategies. *World J Gastroenterol.* 2021;27(24):3530-42. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i24.3530>
- Botelho-Souza LF, Vasconcelos MPA, Dos Santos AO, Salcedo JMV, Vieira DS. Hepatitis delta: Virological and clinical aspects. *Virology.* 2017;14(1):177. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0845-y>
- Hercun J, Koh C, Heller T. Hepatitis delta: Prevalence, natural history, and treatment options. *Gastroenterol Clin North Am.* 2020;49(2):239-52. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.01.004>
- Stockdale AJ, Kreuels B, Henrion MYR, et al. The global prevalence of hepatitis D virus infection: Systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2020;73(3):523-32. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.04.008>
- Wranke A, Pinheiro Borzacov LM, Parana R, et al. Clinical and virological heterogeneity of hepatitis delta in different regions world-wide: The Hepatitis Delta International Network (HDIN). *Liver Int.* 2018;38(5):842-50. <https://doi.org/10.1111/liv.13604>
- Dulger AC, Suvak B, Gonullu H, et al. High prevalence of chronic hepatitis D virus infection in Eastern Turkey: Urbanization of the disease. *Arch Med Sci.* 2016;12(2):415-20. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.52030>
- Tosun S. Viral hepatitlerin ülkemizdeki değişen epidemiyolojisi. *ANKEM Derg.* 2013;27(Ek 2):128-34.
- Wranke A, Serrano BC, Heidrich B, et al. Antiviral treatment and liver-related complications in hepatitis delta. *Hepatology.* 2017;65(2):414-25. <https://doi.org/10.1002/hep.28876>
- Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology.* 2018;67(4):1560-99. <https://doi.org/10.1002/hep.29800>
- Aydemir Ö, Terzi HA, Karakeçe E, Köroğlu M, Altındış M. Hepatit B virüsü ile infekte hastalarda delta hepatit pozitifliği; koinfeksiyon mu, süperinfeksiyon mu? *Flora.* 2019;24(2):131-5. <https://doi.org/10.5578/flora.67957>
- Kölgelir S, Aktuğ Demir N, Özçimen S. Adıyaman'da HBsAg pozitif kişilerde delta hepatit seropozitifliği. *Viral Hepatit Derg.* 2013;19(1):8-10. <https://doi.org/10.4274/Vhd.13008>
- Ziver Sarp T, Dinç HÖ, Özbey D, et al. Hepatit delta virüsü enfeksiyonu seroprevalansının retrospektif olarak değerlendirilmesi. *CBU-SBED.* 2021;8(3):495-502. <https://doi.org/10.34087/cbusbed.901563>
- Ergen P, Yılmaz Karadağ F, Aydın Ö. Investigating the prevalence of hepatitis delta and assessment of treatment response. *Viral Hepatitis J.* 2020;26(3):135-40. <https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2020.2020.0025>
- Eser-Karlıdağ G. Kronik hepatit B hastalarında hepatit delta sıklığı. *Klinik Derg.* 2019;32(3):281-4. <https://doi.org/10.5152/kd.2019.75>
- Duman Y, Tekerekoğlu MS, Ay S. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, 2012 yılında, HBsAg, anti-HBs, anti-HDV ve HDVAg seroprevalansı. *Medicine Science.* 2014;3(1):982-90. <https://doi.org/10.5455/medscience.2013.02.8096>
- Korkmaz P, Aykın N, Çağlan Çevik F, Güldüren HM, Alpay Y. Seropositivity of delta hepatitis in HBsAg positive patients in Eskişehir province. *Viral Hepatitis J.* 2014;20(2):72-4. <https://doi.org/10.4274/vhd.47966>

19. Parlak E, Ertürk A, Parlak M, et al. Assessment of patients with hepatitis D. *Viral Hepatitis J*. 2015;21(3):80-4.
<https://doi.org/10.4274/vhd.40469>
20. Ugur M, Ünlü S, Eryıldız C, Sakru N, Tezel A. Seropositivity of delta hepatitis in patients with positive hepatitis B surface antigen, between 2011 and 2016. *Int J Infect Dis*. 2016;53(Suppl):76.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.11.193>
21. Kaya S, Karabey M, Güngör S, Baran N, Şener AG, Afşar İ. İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi hepatit D virus seroloji sonuçlarının değerlendirilmesi. *J Immunol Clin Microbiol*. 2019;4(3):91-6.
22. Yolcu A, Karabulut N, Alaçam S, et al. Frequency of Hepatitis delta virus in hepatitis B surface-antigen-positive patients. *Viral Hepatitis J*. 2019;25(1):14-8.
<https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2018-0018>
23. Williams V, Brichler S, Radjef N, et al. Hepatitis delta virus proteins repress hepatitis B virus enhancers and activate the alpha/beta interferon-inducible MxA gene. *J Gen Virol*. 2009;90(Pt 11):2759-67.
<https://doi.org/10.1099/vir.0.011239-0>
24. Masood U, John S. Hepatitis D. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2022. [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470436/>] (Erişim tarihi: 18 Nisan 2022).
25. Coghill S, McNamara J, Woods M, Hajkovicza K. Epidemiology and clinical outcomes of hepatitis delta (D) virus infection in Queensland, Australia. *Int J Infect Dis*. 2018;74:123-7.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.07.005>
26. Calle Serrano B, Großhennig A, Homs M, et al. Development and evaluation of a baseline-event-anticipation score for hepatitis delta. *J Viral Hepat*. 2014;21(11):e154-63.
<https://doi.org/10.1111/jvh.12251>
27. Jagdish RK, Maras JS, Sarin SK. *Hepatology*. 2021;74(5):2848-62.
<https://doi.org/10.1002/hep.31836>

Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten ve Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae İzolatlarına Karşı Sefiderokolün İn Vitro Etkinliğinin Araştırılması[§]

Investigation of In Vitro Activity of Cefiderocol against Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing and Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolates

Hasan Cenk Mirza[®], Gizem İnce Ceviz[®]

Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Atıf/Cite as: Mirza HC, İnce Ceviz G. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten ve karbapenem dirençli Enterobacteriaceae izolatlarına karşı sefiderokolün in vitro etkinliğinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):240-245.

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, GSBL üreten ve karbapenem dirençli suşlardan oluşan 115 adet Enterobacteriaceae klinik izolatına karşı sefiderokolün etkinliğinin araştırılması, farklı bakteri grupları arasındaki sefiderokol duyarlılık oranlarının karşılaştırılmasıdır.

Yöntemler: Çalışmaya GSBL üreten ve karbapenemlere duyarlı 60 (30 *Klebsiella pneumoniae* ve 30 *Escherichia coli*), karbapenemlere dirençli 55 (40 *K. pneumoniae* ve 15 *E. coli*) olmak üzere toplam 115 izolat dâhil edilmiştir. İzolatların sefiderokole duyarlılıklarının saptanması amacıyla disk difüzyon testi kullanılmıştır. İnhibisyon zonu çapları EUCAST ve CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Farklı bakteri grupları arasındaki sefiderokol duyarlılık oranlarının karşılaştırılması için yerine göre Pearson ki-kare veya Fisher's Exact test kullanılmıştır.

Bulgular: GSBL üreten *K. pneumoniae* ve GSBL üreten *E. coli* izolatları arasında sefiderokole duyarlılık oranı EUCAST kriterlerine göre eşit (%86.7) bulunmuştur. Karbapenem dirençli izolatlar arasındaki sefiderokole duyarlılık oranı (EUCAST kriterlerine göre %74.5; CLSI kriterlerine göre %96.4), GSBL üreten izolatlara (EUCAST kriterlerine göre %86.7; CLSI kriterlerine göre %98.3) kıyasla daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, duyarlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. OXA-48 üreten karbapenem dirençli *E. coli* izolatları arasındaki sefiderokol duyarlılık oranı EUCAST kriterlerine göre %73.3 iken, OXA-48 üreten *K. pneumoniae* suşları arasında bu oran %96.2 olarak saptanmıştır. NDM üreten izolatlar arasındaki sefiderokol duyarlılık oranı (EUCAST kriterlerine göre %45.5), OXA-48 üreten izolatlar arasındaki duyarlılık oranından (EUCAST kriterlerine göre %87.8) anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0.006$).

Sonuçlar: Sefiderokol, hem EUCAST hem de CLSI kriterlerine göre, çalışmamızdaki GSBL üreten *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatları ile OXA-48 karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* izolatlarına karşı yüksek etkinlik göstermiştir. Bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar için sefiderokolün tedavi seçenekleri arasında yer alabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: GSBL üreten Enterobacteriaceae, karbapenem dirençli Enterobacteriaceae, NDM, OXA-48, Sefiderokol

ABSTRACT

Objective: Our objective was to investigate activity of cefiderocol against 115 clinical isolates of Enterobacteriaceae including ESBL-producing and carbapenem-resistant strains and compare cefiderocol susceptibility rates between different subsets of bacteria.

Methods: A total of 115 isolates comprising 60 ESBL-producing, carbapenem-susceptible isolates (30 *Klebsiella pneumoniae*, 30 *Escherichia coli*) and 55 carbapenem-resistant isolates (40 *K. pneumoniae*, 15 *E. coli*) were included in the study. Susceptibility testing for cefiderocol was performed using disk diffusion test. Inhibition zone diameters were interpreted according to EUCAST and CLSI criteria. Pearson Chi-Square test or Fisher's Exact test, where appropriate, was used to compare cefiderocol susceptibility rates between different subsets of bacteria.

Results: Cefiderocol susceptibility rate among ESBL-producing *K. pneumoniae* and ESBL-producing *E. coli* was same (86.7%) according to EUCAST criteria. Cefiderocol susceptibility rates in carbapenem-resistant isolates (74.5% according to EUCAST, 96.4% according to CLSI criteria) were lower than those observed for ESBL-producing isolates (86.7% according to EUCAST, 98.3% according to CLSI criteria), but differences were not statistically significant. Cefiderocol susceptibility rate was 73.3% among OXA-48-producing carbapenem-resistant *E. coli* isolates and was 96.2% among OXA-48-producing *K. pneumoniae* isolates.

Alındığı tarih / Received:
23.06.2022 / 23.June.2022

Kabul tarihi / Accepted:
25.07.2022 / 25.July.2022

Erken çevrimiçi / First Published:
01.09.2022 / 01.September.2022

ORCID Kayıtları

H. C. Mirza 0000-0002-8853-3893
G. İnce Ceviz 0000-0002-9012-620X

✉ cenkmirza@baskent.edu.tr

[§]Bu çalışma, 18-19 Mart 2022 tarihinde düzenlenen 9. Uluslararası Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları Kongresi'nde (9th International Medicine and Health Sciences Researches Congress) sunulmuştur.

according to EUCAST criteria. Cefiderocol susceptibility rate among NDM-producing isolates (45.5% according to EUCAST criteria) were significantly lower than that observed for OXA-48-producing isolates (87.8% according to EUCAST criteria) ($p=0.006$).

Conclusions: Cefiderocol demonstrated high activity against ESBL-producing *K. pneumoniae*, ESBL-producing *E. coli* and OXA-48 carbapenemase-producing *K. pneumoniae* isolates in our study according to both EUCAST and CLSI criteria. Cefiderocol may be an option for treatment of infections caused by these bacteria.

Keywords: ESBL-producing *Enterobacteriaceae*, Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, NDM, OXA-48, Cefiderocol

GİRİŞ

Enterobacteriaceae üyeleri insanlarda üriner sistem enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, menenjit, pnömoni, osteomyelit, yara enfeksiyonları, bakteriyemi ve sepsis gibi çok çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedirler⁽¹⁾. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* ile karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* önemli bir toplum sağlığı tehdidi olup, beta-laktam antibiyotiklerin yanında diğer antibiyotik gruplarına karşı da direnç neden olan mekanizmalar bu izolatlarda sıklıkla bulunmaktadır^(2,3). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 yılında, mevcut antibiyotiklere gösterdiği direnç nedeniyle insan sağlığı için büyük tehlike oluşturan patojenlerden oluşan bir liste yayınlamış ve bu patojenler için acil olarak yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gerektiğini ilan etmiştir⁽⁴⁾. DSÖ, yeni antibiyotik gereksiniminin aciliyetine göre bu listeyi kritik, yüksek ve orta öncelikli patojenler olmak üzere üç bölüme ayırmıştır. GSBL üreten *Enterobacteriaceae* ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*, bu listenin “kritik” bölümünde yer almakta ve bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için yeni antibiyotiklere gereksinim duyulmaktadır.

Sefiderokol, yeni bir siderofor sefalosporindir. Sefiderokolün Gram negatif bakteriler tarafından oluşturulan komplike üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanımı Kasım 2019’da⁽⁵⁾; hastane kökenli bakteriyel pnömoni ve ventilatör ilişkili bakteriyel pnömoni tedavisinde kullanımı ise Eylül 2020’de Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmıştır⁽⁶⁾. European Medicines Agency (EMA) ise sınırlı tedavi seçeneği bulunan aerobik Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında sefiderokolün kullanımını Nisan 2020’de onaylamıştır^(6,7). Sefiderokolün birçok beta-laktamaz enzimine karşı dayanıklı olduğu bildirilmektedir⁽⁶⁾.

Escherichia coli ile *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri arasında klinik örneklerden en sık izole edilen türlerdendir^(1,8,9). Bu çalışmanın amacı, Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı bakteri koleksiyonu içerisinde bulunan, GSBL üreten ve karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarını içeren toplam 115 adet *Enterobacteriaceae* klinik izolatına karşı sefiderokolün in vitro etkinliğinin araştırılmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Başkent Üniversitesi, Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından (10.02.2022 tarih ve DA22/08 No.) onaylanmıştır.

Çalışmaya GSBL üreten ve karbapenemlere duyarlı 60 (30 *K. pneumoniae* ve 30 *E. coli*), karbapenemlere dirençli 55 [40 *K. pneumoniae* (26 adet *bla*_{OXA-48}-pozitif, 11 adet *bla*_{NDM}-pozitif, 3 adet *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM}-pozitif) ve 15 *E. coli* (tamamı *bla*_{OXA-48}-pozitif)] olmak üzere toplam 115 izolat dâhil edilmiştir. Bu çalışmaya dâhil edilen izolatlardaki GSBL üretimi ve karbapenemaz genleri, daha önce yapılan bir çalışma sırasında saptanmıştır⁽¹⁰⁾.

İzolatlar idrar (n=60), kan (n=30), yara (n=11), derin trakeal aspirat (n=5), dren sıvısı (n=3), balgam (n=2), doku (n=2), vajan (n=1) ve intraabdominal sıvı (n=1) örneklerinden izole edilmiştir. Her hastadan tek izolat çalışmaya dâhil edilmiştir.

İzolatların sefiderokole duyarlılıklarının saptanması amacıyla disk difüzyon testi [MASTDISCS (Mast Group Ltd. Bootle, Birleşik Krallık)] kullanılmıştır. Sefiderokol zon çaplarının değerlendirilmesi için European Committee on Antimicrobial Susceptibility

Testing (EUCAST) ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) rehberleri kullanılmıştır. Enterobacterales için sefiderokol zon çapı sınır değerleri EUCAST rehberinde “≥22mm duyarlı, <22mm dirençli” olarak belirtilirken, CLSI rehberinde “≥16mm duyarlı, 12-15mm orta duyarlı, ≤11mm dirençli” olarak belirtilmiştir^(11,12). Çalışmamızda, kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 21 yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Çalışmaya dâhil edilen farklı bakteri grupları arasındaki sefiderokol duyarlılık oranlarının karşılaştırılması için varsayımlar sağlandığı durumda “Pearson ki-kare”, varsayımların sağlanmadığı durumlarda “Fisher’s Exact test” kullanılmıştır. P-değerinin 0.05’in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirilmiştir.

BULGULAR

GSBL üreten izolatlar (n=60) arasında sefiderokole duyarlılık oranı EUCAST kriterlerine göre %86.7; CLSI kriterlerine göre ise %98.3 olarak bulunmuştur. GSBL üreten *K. pneumoniae* (n=30) ve GSBL üreten *E. coli* (n=30) izolatları arasında sefiderokole duyarlılık oranı EUCAST kriterlerine göre eşit (%86.7) bulunmuştur. GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatları arasında sefiderokole duyarlılık oranı CLSI kriterlerine göre

%96.7 iken, GSBL üreten *E. coli* izolatları arasında bu oran %100 olarak bulunmuştur (Tablo 1).

Karbapenem dirençli izolatlar (n=55) arasındaki sefiderokole duyarlılık oranı (EUCAST kriterlerine göre %74.5; CLSI kriterlerine göre %96.4), GSBL üreten izolatlara (EUCAST kriterlerine göre %86.7; CLSI kriterlerine göre %98.3) kıyasla daha düşük bulunmuştur (Tablo1). Bununla birlikte, duyarlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (EUCAST kriterleri kullanıldığında p=0.099; CLSI kriterleri kullanıldığında p=0.606).

OXA-48 üreten karbapenem dirençli *E. coli* izolatları arasındaki sefiderokol duyarlılık oranı EUCAST kriterlerine göre %73.3 iken, OXA-48 üreten *K. pneumoniae* suşları arasında bu oran %96.2 olarak saptanmış, oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 2; p=0.051).

NDM üreten izolatlar (n=11) arasındaki sefiderokol duyarlılık oranı EUCAST kriterlerine göre %45,5 iken, OXA-48 üreten izolatlar (n=41) arasındaki duyarlılık oranı %87.8 olarak saptanmış, oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 2; p=0.006).

OXA-48 (n=41) veya NDM (n=11) üreten izolatların sefiderokole duyarlılık oranı CLSI kriterlerine göre %100 olarak bulunmuştur. OXA-48 ile birlikte

Tablo 1. GSBL üreten ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının sefiderokole duyarlılıkları

	EUCAST		CLSI		
	n (%) S	n (%) R	n (%) S	n (%) I	n (%) R
GSBL üreten izolatlar (n=60)	52 (86.7)	8 (13.3)	59 (98.3)	1 (1.7)	0 (0.0)
<i>K. pneumoniae</i> (n=30)	26 (86.7)	4 (13.3)	29 (96.7)	1 (3.3)	0 (0.0)
<i>E. coli</i> (n=30)	26 (86.7)	4 (13.3)	30 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)
Karbapenem dirençli izolatlar (n=55)	41 (74.5)	14 (25.5)	53 (96.4)	2 (3.6)	0 (0.0)
<i>K. pneumoniae</i> (n=40)	30 (75.0)	10 (25.0)	38 (95.0)	2 (5.0)	0 (0.0)
<i>E. coli</i> (n=15)	11 (73.3)	4 (26.7)	15 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)
Toplam (n=115)	93 (80.9)	22 (19.1)	112 (97.4)	3 (2.6)	0 (0.0)
<i>K. pneumoniae</i> (n=70)	56 (80.0)	14 (20.0)	67 (95.7)	3 (4.3)	0 (0.0)
<i>E. coli</i> (n=45)	37 (82.2)	8 (17.8)	45 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)

S: Duyarlı. I: Orta Duyarlı. R: Dirençli

NDM üreten üç izolatın ikisi CLSI kriterlerine göre sefiderokole orta duyarlı saptanırken, birisi sefiderokole duyarlı saptanmıştır. EUCAST kriterleri kullanıldığında ise üç izolatın tamamı sefiderokole dirençli saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı karbapenemaz genlerine sahip izolatların sefiderokole duyarlılıkları

	EUCAST	CLSI
	n (%) S	n (%) S
<i>bla</i> _{OXA-48} (n=41)	36 (87.8)	41 (100)
<i>K. pneumoniae</i> (n=26)	25 (96.2)	26 (100)
<i>E. coli</i> (n=15)	11 (73.3)	15 (100)
<i>bla</i> _{NDM} (n=11)	5 (45.5)	11 (100)
<i>bla</i> _{OXA-48} ve <i>bla</i> _{NDM} (n=3)	0 (0)	1 (33.3)
Toplam (n=55)	41 (74.5)	53 (96.4)

S: Duyarlı

TARTIŞMA

Siderofor bir sefalosporin olan sefiderokol, bakterilerin demir transport sistemlerini kullanarak bakteri dış membranını geçmekte ve periplazmik aralığa girmektedir. Penisilin bağlayan proteinlere bağlanarak hücre duvarı sentezini engellemekte ve hücrenin ölümüne neden olmaktadır^(6,13). Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, sefiderokolün *Enterobacteriaceae* izolatlarına karşı etkinliğinin araştırıldığı, ülkemizde yapılan ilk çalışmadır. Sefiderokol için EUCAST ve CLSI tarafından önerilen sınır değerlerin farklı olması, çalışmamızdaki izolatların sefiderokole duyarlılık sonuçlarının yorumlanmasında farklılıklara neden olmuştur.

Stracquadanio ve ark.⁽¹⁴⁾ tarafından yürütülen bir çalışmada, 1.545 Enterobacterales izolatının sefiderokol duyarlılıkları EUCAST kriterlerine göre değerlendirilmiş ve duyarlılık oranı %95.6 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, *K. pneumoniae* izolatları arasındaki sefiderokol duyarlılık oranı %88.1; meropenem dirençli *K. pneumoniae* izolatları arasındaki duyarlılık oranı %67.9 olarak bulunmuştur⁽¹⁴⁾. Çalışmamızda, *K. pneumoniae* izolatları arasındaki sefiderokol duyarlılık oranı

EUCAST kriterlerine göre %80 iken, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında %75 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızdaki karbapenem dirençli izolatlar arasında sefiderokole duyarlılık oranlarının Mushtaq ve ark.⁽¹⁵⁾ tarafından yürütülen çalışmadaki oranlara yakın olduğu görülmektedir. Mushtaq ve ark.⁽¹⁵⁾ tarafından yürütülen çalışmaya 305 adet karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatı dâhil edilmiş; izolatların %78.7'sinin sefiderokol MİK değeri ≤ 2 µg/ml (EUCAST kriterlerine göre duyarlı); %92.1'inin sefiderokol MİK değeri ≤ 4 µg/ml (CLSI kriterlerine göre duyarlı) olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, NDM karbapenemaz üreten izolatlar arasında sefiderokole duyarlılık oranı EUCAST kriterlerine göre %41 iken, OXA-48 benzeri enzim üreten izolatlar arasında %92.9 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda da benzer şekilde; NDM karbapenemaz üreten izolatlar arasında sefiderokole duyarlılık oranı, OXA-48 üreten izolatlarla kıyasla düşük bulunmuştur (EUCAST kriterlerine göre sırasıyla %45.5 ve %87.8).

Rolston ve ark.⁽¹⁶⁾ tarafından yürütülen bir çalışmada, GSBL üreten 52 *E. coli* izolatının tamamının sefiderokol MİK değeri ≤ 4 µg/ml (CLSI kriterlerine göre duyarlı) iken, 49'unun (%94.2) MİK değeri ≤ 2 µg/ml (EUCAST kriterlerine göre duyarlı) olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, GSBL üreten 37 *K. pneumoniae* izolatının 36'sının sefiderokol MİK değeri ≤ 2 µg/ml, birisinin MİK değeri > 64 µg/ml olarak saptanmış, bu izolatlar arasındaki sefiderokol duyarlılık oranı hem EUCAST hem de CLSI kriterlerine göre %97 olarak bulunmuştur⁽¹⁶⁾. Kresken ve ark.⁽¹⁷⁾ tarafından yürütülen çalışmada, GSBL üretmeyen 129, GSBL üreten 17 olmak üzere toplam 146 Enterobacterales izolatının 140'ının (%95.9) sefiderokol MİK değeri ≤ 2 µg/ml (EUCAST kriterlerine göre duyarlı) olarak bulunmuştur. GSBL üretmeyen 129 izolatın 128'inin (%99.2) sefiderokol MİK değeri ≤ 2 µg/ml (EUCAST kriterlerine göre duyarlı) iken, GSBL üreten 17 izolatın 12'sinin (%70,6) MİK değeri ≤ 2 µg/ml (EUCAST kriterlerine göre duyarlı) olarak bulunmuştur⁽¹⁷⁾. Çalışmamızda, GSBL üreten 60 izolat arasında sefiderokol duyarlılık oranı EUCAST kriterleri kullanıldığında %86.7'dir.

Çalışmamıza dâhil edilen NDM karbapenemaz üreten izolat sayısının sınırlı olması, çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte, NDM karbapenemaz üreten izolatlar arasında EUCAST kriterlerine göre sefiderokol duyarlılık oranının %50'nin altında olması dikkat çekicidir. NDM karbapenemaz üreten daha fazla izolatın kullanıldığı çalışmaların yapılması, çalışmamızın sonuçlarının doğrulanması açısından önemlidir.

Çalışmamızda, OXA-48 üreten *E. coli* izolatları arasında EUCAST kriterlerine göre sefiderokol duyarlılık oranının (%73.3), OXA-48 üreten *K. pneumoniae* izolatlarına kıyasla (%96.2) düşük olduğu dikkati çekmektedir. Oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olsa da p değerinin (0.051) sınırda olduğu görülmüştür. OXA-48 üreten daha fazla sayıda *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatının dâhil edileceği çalışmalarda, sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Sefiderokol direnç sınır değerlerinin EUCAST ve CLSI rehberlerinde farklı olması nedeniyle, literatürdeki diğer çalışmaların sonuçlarıyla yapılan kıyaslamalar sırasında, çalışmalarda esas alınan rehberler göz önünde bulundurulmalıdır. Sefiderokol, hem EUCAST hem de CLSI kriterlerine göre, çalışmamızdaki GSBL üreten *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatları ile OXA-48 karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* izolatlarına karşı yüksek etkinlik göstermiştir. Bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar için sefiderokolün tedavi seçenekleri arasında yer alabileceği düşünülmektedir.

Teşekkür

İstatistiksel analiz için Dr. Arzu Mirza ve Dr. Uğur Toprak'a teşekkür ederiz.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Başkent Üniversitesi, Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından (10.02.2022 tarih ve DA22/08 No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu'na desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Baskent University, Medicine and Health Sciences Committee (02.10.2022; DA22/08).

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

Funding: Research funding of Baskent University.

KAYNAKLAR

- Özinel MA. *Enterobacteriaceae*. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (Eds.). 'Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi: Etkenlere Göre Enfeksiyonlar' kitabında. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008:2126-36.
- Lynch JP 3rd, Clark NM, Zhanel GG. Evolution of antimicrobial resistance among *Enterobacteriaceae* (focus on extended spectrum β -lactamases and carbapenemases). Expert Opin Pharmacother. 2013;14(2):199-210. <https://doi.org/10.1517/14656566.2013.763030>
- van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*. Virulence. 2017;8(4):460-9. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1222343>
- WHO. World Health Organization. [https://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed] (Erişim tarihi: 03 Haziran 2022).
- US Food & Drug Administration. FDA approves new antibacterial drug to treat complicated urinary tract infections as part of ongoing efforts to address antimicrobial resistance. 2019. [https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-antibacterial-drug-treat-complicated-urinary-tract-infections-part-ongoing-efforts] (Erişim tarihi: 07 Haziran 2022).
- Simner PJ, Patel R. Cefiderocol antimicrobial susceptibility testing considerations: the Achilles' heel of the trojan horse? J Clin Microbiol. 2020;59(1):e00951-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00951-20>
- European Medicines Agency. Fetroja. [https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/fetroja#overview-section] (Erişim tarihi: 09 Haziran 2022).
- Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. Front Cell Infect Microbiol. 2018;8(4):1-15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>

9. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, et al. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*. 2015;13(5):269-84. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3432>
10. İnce G, Mirza HC, Üsküdar Güçlü A, et al. Comparison of in vitro activities of plazomicin and other aminoglycosides against clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76(12):3192-6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab331>
11. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022. [<https://www.eucast.org>] (Erişim tarihi: Haziran 2022).
12. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31th ed. CLSI Supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2021.
13. El-Lababidi RM, Rizk JG. Cefiderocol: A siderophore cephalosporin. *Ann Pharmacother*. 2020;54(12):1215-31. <https://doi.org/10.1177/1060028020929988>
14. Stracquadanio S, Torti E, Longshaw C, et al. In vitro activity of cefiderocol and comparators against isolates of Gram-negative pathogens from a range of infection sources: SIDERO-WT-2014-2018 studies in Italy. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021;25:390-8. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.04.019>
15. Mushtaq S, Sadouki Z, Vickers A, et al. In vitro activity of cefiderocol, a siderophore cephalosporin, against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(12):e01582-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.01582-20>
16. Rolston KVI, Gerges B, Shelburne S, et al. Activity of cefiderocol and comparators against isolates from cancer patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(5):e01955-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.01955-19>
17. Kresken M, Korte-Berwanger M, Gatermann SG, et al. In vitro activity of cefiderocol against aerobic Gram-negative bacterial pathogens from Germany. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56(4):106128. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106128>

Düzeltilme: COVID-19 Tanılı Bir Hastada İlk Kez Saptanan *Herbaspirillum huttiense* Bakteriyemisi, Olgu Sunumu

Correction: Bacteremia Caused by Herbaspirillum huttiense in a Patient with COVID-19, Case Report

Rümeysa Tuba Biçer*, Büşra Güneysu Yazar*, Abdurrahman Sarmış**, Neslihan Önder**,
Tuncer Özekinci**

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

** İstanbul Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından (07.04.2021 tarih ve 2021/0228 Karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/Bildirilmemiştir.

ORCID Kayıtları

R. T. Biçer 0000-0002-8497-4405
B. Güneysu Yazar 0000-0001-5684-1667
A. Sarmış 0000-0002-8156-6633
N. Önder 0000-0001-5286-0908
T. Özekinci 0000-0003-3475-660X

✉ rtbicer91@gmail.com

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Istanbul Medeniyet University, Goztepe Research and Training Hospital, Clinical Research Ethics Committee (04.07.2021; 2021/0228).

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

Funding: None/Not declared.

YAZARLARA BİLGİ

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

Başvuru

- Sadece on-line başvurular kabul edilir.
- Başvurularda, tüm yazarların adları ve adresleri, açık olarak yazılmalıdır. Tüm yazarların ORCID numaraları başvuru esnasında on-line olarak ilgili alana eklenmelidir. ORCID ID kaydı için <https://orcid.org> adresini kullanınız. Ayrıca, yazının tüm yazarlar tarafından onaylandığını ve daha önce hiçbir yerde yayımlanmadığını ve teklif hakkının dergiye bırakılacağını belirten ve tüm yazarlar tarafından imzalanmış web sayfasındaki belgenin (Copyright-Telif) on-line olarak sisteme yüklenmesi veya posta ile aşağıdaki adrese gönderilmesi zorunludur.
- İnsanlar üzerinde yapılan klinik araştırmalarla ilgili olarak etik kurulların onaylarının ve gönüllülerden alınmış yazılı onam formlarının da on-line olarak sisteme yüklenmesi ve posta ile aşağıdaki adrese gönderilmesi zorunludur.

Prof. Dr. Çağrı Ergin

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Kınıklı Kampüsü / Denizli

Tel: 0258 296 2491

E-posta: tmcdeditor@gmail.com

Metin Çeşitleri

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

Metin yazımı esnasında uyulacak kurallar

- Yazının Türkçe başlığı kısa, açık ve içeriği tam yansıtır olmalıdır.
- Yabancı dilde başlık Türkçe başlık ile birebir uyummalıdır.
- 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 atf 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 kullanılmalıdır. 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:** 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. Internet 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:** Başustaoğlu AC, Süzük S, Mumcuoğlu İ, ve ark. Kan kültürü uygulamalarının değerlendirilmesi: EpiCenter verilerinin kullanımı. XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 16-20 Kasım 2016, Belek, Antalya; 2016:TPS-85.
- **Tez:** Öktem İMA. Endoservikal sürüntü örneklerinde Chlamydia trachomatis hücre kültürü sonuçlarının direk floreson antikor (DFA) ve enzim immunoassay (EIA) yöntemleri ile karşılaştırılması [Tıpta uzmanlık tezi]. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 1998.

C. Sanal Ortam

- **Web sitesi:** World Health Organization. Global strategy for. Geneva: World Health Organization. 2001 [<http://www.who.international>]. (Erişim tarihi:).

Şekil, Tablo, Fotoğraf, Resim, Grafik

- Tablo, şekil, fotoğraf, resim ve grafikler Arap rakamları ile numaralandırılmalı ve yazı içinde geçtiği yerler belirtilmelidir.
- Tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne, sol kenardan başlanarak yazılmalı ve tablo sıra numarasından sonra nokta kullanılmalıdır. Örneğin; Tablo 1. E. coli izolatlarının MİK dağılımları, gibi.
- Tablolarda kullanılan kısaltmalar alt kısımda mutlaka açıklanmalıdır.
- Tablolarda metnin tekrarı olmamalıdır
- Şekil, fotoğraf, resim ve grafiklere ait açıklamalar ana metninle beraber en sona eklenerek yollanmalıdır.
- Şekillerde ölçü önemli ise üzerine cm veya mm'yi gösteren bir ölçek çizgisi konmalıdır.
- Fotoğraflar tanınmayı engelleyecek şekilde olmalı ve hastalardan yazılı onam alınmalıdır.
- İsim, baş harfler, hastane kayıt numarası gibi kimlik bilgileri yazılmamalıdır.

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

ETİK POLİTİKALAR

Yayın Etiği

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi yayın süreçleri, bilginin tarafsız ve saygın bir şekilde oluşturulması ve yayımlanmasını ilke olarak benimsemiştir. Bilimsel bir çalışmayı ortaya koyan tüm paydaşların (yazar, editör, hakem, yayıncı ve okuyucu), bilimin doğru bir şekilde ilerlemesine katkı sağlaması hedeflendiğinden, hazırlanan bilimsel çalışmaların bilimsel etik ilkelere uygunluğuna önem verilmektedir. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisinin tüm paydaşlarının aşağıdaki yayın etiği ilkelerine uyması beklenmektedir. Bu etik ilkeler, COPE (Committee on Publication Ethics) ve ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) tarafından hazırlanan yönerge ve akışlar dikkate alınarak hazırlanmıştır. Aşağıda belirtilen etik ilkeler haricinde kalan konu ve durumlar için COPE ve ICMJE'nin rehberleri esas alınır.

Yazarların Etik Sorumlulukları

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisine makale gönderen yazarların aşağıda belirtilen etik ilkelere uyması beklenmektedir.

- Makalenin bilimsel ve etik kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Yazarın çalışmayla ilişkili verilerin doğruluğundan emin olması, araştırmasına ilişkin kayıtlarını düzenli tutması ve olası bir istek üzerine bu verilere erişim sağlayabilmesi gerekir.
- Yazarların gönderdikleri çalışmaların özgün olması beklenmektedir. Başka çalışmalardan yararlanmaları durumunda eksiksiz ve doğru bir biçimde atıfta bulunmaları ve/veya alıntı yapmaları gerekmektedir.
- Yazarlar gönderdiği makalenin başka bir yerde yayınlanmadığından veya kabul edilmediğinden emin olmalıdır.
- Yazar listesinde yer alan kişilerin tümü, çalışmanın yürütülmesi ve yayımlanması sürecinde yazarlık katkısı sunmuş olması gerekmektedir. Yazarlık ölçütlerini tam karşılamayan ve çalışmaya katkı sağlayanlar varsa teşekkür bölümünde belirtilmelidir.
- Çok yazarlı makalelerde yazarların araştırmaya katkıları (fikir oluşturma, çalışmanın tasarımı, uygulama, istatistik, yazımı gibi) telif hakkı devir formunda belirtilerek, editör kuruluna iletilmelidir.
- Yazarların isim sıralaması ortak verilen bir kararla belirlenmelidir. Tüm yazarlar yazar sıralamasını Telif Hakkı Devir Formu'nda imzalı olarak belirtmek zorundadırlar. Dergiye makale gönderildikten sonra yazarlardan hiçbirinin ismi, tüm yazarların yazılı izni olmadığı sürece yazar listesinden silinemez veya yeni bir isim yazar olarak eklenemez. Ayrıca telif hakkı devir formunda belirtilen yazar sırası değiştirilemez.
- Makalenin gönderim aşamasında, Telif Hakkı Devir Formu'nun imzalı ve taranmış hali dergi yönetim sistemine (<http://www.journalagent.com/tmcd/>) yüklenmesi gerekmektedir.
- Makaleye ilişkin etik kurul onayı, katılımcılardan alınan bilgilendirilmiş onamlar ve araştırma etiği uygulamalarının ayrıntıları, makalenin "Yöntem" kısmında açıkça belirtilmelidir. İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda etik kurul onayının alınması gerekmektedir. Başvuru esnasında etik kurul onayının sisteme (<http://www.journalagent.com/tmcd/>) yüklenmesi zorunludur.

- İnsan veya hayvan denek içeren tüm çalışmalar için ulusal ve uluslararası yasalara ve yönergelere uygun olarak, (örneğin, WMA Helsinki Bildirgesi, NIH Laboratuvar Hayvanlarının Kullanımına İlişkin Politika, Hayvanların Kullanımına İlişkin AB Direktifi ile T.C. Sağlık Bakanlığı'nın ilgili yönetmeliklerine uygun olarak) gerekli onayların alındığının belirtilmesi, denek mahremiyetine saygı gösterilmesi gerekmektedir.
- Herhangi bir çıkar çatışması durumunda veya makaleyle ilgili etik bir ihlal belirlendiğinde, bu durum editör ve yayıncı ile paylaşılmalı ve bu durum editör kuruluna başlık sayfasında ve kaynaklardan önce belirtilen 'Çıkar çatışması' başlığı altında açıklanmalıdır.
- Araştırma için alınmış finansal destek, bağış vb. yardım söz konusu ise araştırma sonunda Destekleyenler başlığı altında belirtilmelidir.
- Yazarların yayımlanmış, erken görünüm veya değerlendirme aşamasındaki çalışmasıyla ilgili yanlış bir durumu fark etmesi durumunda, dergi editörünü veya yayıncıyı bilgilendirmesi, düzeltme veya geri çekme işlemlerinde editörlerle işbirliği yapma yükümlülüğü bulunmaktadır.

Editörlerin Etik Sorumlulukları

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi editör ve editör yardımcılarının aşağıdaki etik ilke ve sorumlulukları yerine getirmesi gerekmektedir.

- Editörler, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisinde yayınlanan her yayından sorumlu olup bu bağlamda; okuyucu ve yazarların bilgi gereksinimlerini karşılama, derginin sürekli olarak gelişimini sağlama, dergide yayınlanan çalışmaların kalitesini artırma, yayın süreçlerine ilişkin açıklık ve şeffaflığı sağlama, etik ilkeleri dikkate alarak tüm süreçleri yürütmek gibi rol ve yükümlülükleri yerine getirmek zorundadırlar.
- Editörler, makalelerin içerik ve yayın sürecindeki kalitesinden sorumlu olup hatalı durumlarda gerekli düzeltmelerin yapılmasını sağlar.
- Editörler, hakemlerin, çalışmaları tarafsız ve bağımsız olarak değerlendirmelerini sağlama, yeni hakem belirlerken niteliklerini dikkate alma, derginin yayın politikaları ve gelişimine ilişkin sürekli etkileşim içerisinde olma, gerektiğinde bilgi ve eğitim toplantıları yapma gibi yükümlülükleri yerine getirmelidir.
- Editörler, yazarların etnik kökeni, cinsiyeti, uyruğu, dini ve siyasi özelliklerinden bağımsız olarak, dengeli, yansız ve adil şekilde makaleleri değerlendirmekle yükümlüdür.
- Editörler, sisteme yüklenen makalelere ilişkin tüm bilgileri, makale yayınlanana kadar gizli tutmak zorundadır. Ayrıca, yazarlara açıklayıcı ve bilgilendirici şekilde geri bildirim vermelidir.
- Editörler, etik ihlale ilişkin bir şikayet olması durumunda, COPE'un iş akışlarını dikkate alır.
- Editörler, hakem atama konusunda tam yetkili olup yazarlar, editörler ve hakemler arasında çıkar çatışmasını korur.
- Editörler, hakem havuzunun genişletilmesi, makalenin konu alanına uygun hakemi atamaya özen gösterilmesi, kör hakemlik sürecinde hakem bilgilerinin gizliliğini sağlama, değerlendirme sürecinin tarafsız, bilimsel ve nesnel bir şekilde yapılabilmesi için gerekli bilgi ve

desteği sağlama, hakem performansını artırmaya yönelik uygulama ve politikaların belirlenmesi gibi çalışmaları yerine getirmelidir.

- Editörler, değerlendirilen çalışmalarda yer alan deneklere veya görsellere ilişkin kişisel verilerin korunmasını sağlamakla yükümlüdür. Çalışmada kullanılan deneklerin/ katılımcıların, açık onayının alındığının belgeli olmadığı durumda çalışmayı reddetmek hakkına sahiptir.
- Editörler, yayınlanan tüm makalelerin fikri mülkiyet hakkını korumakla, olası ihlallerde derginin ve yazarların haklarını savunmakla yükümlüdür.
- Editörler, yazarlar, hakemler ve diğer editörler arasındaki olası çıkar çatışmalarını göz önünde bulundurarak, çalışmaların yayın sürecinin bağımsız ve tarafsız bir şekilde tamamlaması için gerekli önlemleri alır ve saptanan durumlar varsa etik ilkeler doğrultusunda değerlendirir.

Hakemlerin Etik Sorumlulukları

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisine gönderilen tüm çalışmalar, nesnel ve bağımsız değerlendirilme olanağı sağlaması nedeniyle “ift Kör Hakemlik” yöntemiyle değerlendirilmektedir. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi için değerlendirme yapan hakemlerin aşağıdaki etik ilkelere uyması beklenmektedir.

- Hakemler, makaleleri değerlendirirken, yazarların etnik kökeni, cinsiyeti, uyruğu, dini ve siyasi özelliklerinden bağımsız şekilde, zamanında inceleyerek, tarafsız bir değerlendirme yapmalıdır.
- Hakemler, makale ile ilgili çalışmaları bilerek, herhangi bir telif hakkı ihlali veya intihal fark ettiğinde editöre raporlandırmalıdır.
- Hakemler, gönderilen makaleye ilişkin tüm bilgileri gizli tutmalıdır.
- Hakemler, makaleye ilişkin kendini yetkin hissetmediğinde veya geri dönüş için yeterli zamanı olmadığında, editörlere belirtmelidir.

- Hakemler, makalenin kalitesini yükseltmeye yardımcı olacak yönlendirmelerde bulunmalı, çalışmayı titizlikle inceleyerek, yorumlarını yapıcı ve nazik bir dille ifade etmelidir.
- Hakemlerin, makaleyi üçüncü kişilerle paylaşmamaları gerekir.
- Gizlilik ilkesi gereği hakemler, değerlendirme süreci tamamlandıktan sonra makalelerin kopyalarını yok etmelidir.
- Hakemler, potansiyel çıkar çatışmalarının (mali, kurumsal, işbirlikçi ya da yazar/yazarlar arasındaki diğer ilişkiler) farkında olmalı ve gerekirse bu konuda editörleri uyarmalıdır.

Yayıncının Etik Sorumlulukları

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti’nin resmi yayın organıdır. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi cemiyetin kuruluş amacı doğrultusunda meslek üyelerinin akademik gelişimine katkı sağlamak üzere, kar amacı gütmeden ve kamu yararı gözetilerek yayımlanmaktadır. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kurulu, derginin yayın süreçlerine ilişkin olarak aşağıdaki etik sorumlulukların bilincindedir.

- Bilimsel bir çalışmada görev alan tüm paydaşlar gibi yayıncı olarak, tüm etik ilkeler kapsamında hareket eder.
- Yayımlanan her makalenin telif hakkının korunması ve yayınlanmış her makalenin arşivlenmesi görevini üstlenir.
- Bağımsız editör kararının oluşturulmasını güvenceye alarak, ekonomik veya politik kazançları gözetmeksizin tüm yayın sürecinde editörlerin son karar verici olmalarına olanak sağlar.
- Kişilerin etik olmayan bir durumla (sahtecilik, çarpıtma, dilimleme, sahte yazarlık vb.) karşılaşmaları durumunda çekinmeden yayıncı veya editörlerle iletişime geçmeleri için olanak sağlar.

HAKEMLERE BİLGİ

“Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi” hakemli bir dergidir. İncelemeye alınan her çalışma; hakemler ve editörler tarafından değerlendirilir.

Hakem daveti

- Derginin editörler kurulu, farklı bölümleri inceleyen “Bölüm Editörleri”nden oluşur. Gönderilen her makale başeditör tarafından ilgili bölüm editörüne aktarılır. İlgili bölüm editörü, kendi alanında uzmanlaşmış, ulusal ve uluslararası dergilerde inceleyeceği çalışma ile ilgili güncel yayınları olan en az iki bilim insanımıza “hakem daveti”ni on-line başvuru sistemi üzerinden gönderir.
- Hakemlerimizin kendilerine gönderilen davet yazısını, online sistem üzerinden bir hafta içinde “Değerlendirme kabul” veya “Değerlendirme red” olarak cevaplama beklenmektedir. Değerlendirmenin hakem tarafından kabul edilmediği durumlarda ilgili gerekçenin yazılması beklenmektedir. Bu gerekçe ileriki dönemlerde hakem davetindeki muhtemel sorunları engelleyecektir.
- Hakemlerin kendilerine gönderilen yazılarda yazar(lar) ile ve/veya finansal konuda çıkar çatışması olmamalıdır. Çalışmalar tarafsız ve nesnel değerlendirilmelidir.
- Değerlendirmeyi kabul eden hakemlerimiz için inceleme süresi 20 (yirmi) gündür. Bu süre içinde gecikme olması durumunda hakemlere ek olarak 7 (yedi) gün süre bölüm editörü tarafından verilebilir. Bu sürede de değerlendirmesini göndermeyen hakemimiz ilgili çalışma için hakem panelinden çıkarılır.

Makalelerin genel değerlendirilmesi;

- Makale derginin kapsamına bilimsel olarak uygun mudur?
- Makale etik kural ve ilkelere uygun mudur?
- Çalışmanın konusu güncel midir? Bu makalenin kabulü için öne çıkarılan konular vurgulanmış mıdır?
- Alanında katkı sağlayacak özgünlüğü var mıdır?
- Hipotezi açık olarak belirtilmiş midir? Bu hipotez, uygun olarak araştırmaya alınmış mıdır?
- Araştırmanın yöntem ve sonuçları uygun olarak planlanmış, test edilmiş ve raporlanmış mıdır?
- Elde edilen sonuçlar uygun şekilde hipotez kapsamında değerlendirilerek yazılmış mıdır?
- Çalışmanın kısıtlılıkları –varsa- eklenmiş midir?
- Makalenin yazımında güncel kaynaklar (Türkçe ve/veya yabancı dilde) yeterince kullanılmış mıdır?
- Makale düzgün ve akıcı Türkçe ile yazılmış mıdır?
- Makale içinde intihal ve/veya kişisel hakların ihlali olarak değerlendirilebilecek yazı, resim, şekil vb var mıdır?

Derlemelerin değerlendirilmesi

- Derleme konusu güncel midir? Bu derlemenin, konusunda ilgili okuyucuya katkısı var mıdır?
- Derleme düzgün ve akıcı Türkçe ile yazılmış mıdır?
- Derleme içinde intihal ve/veya kişisel hakların ihlali olarak değerlendirilebilecek yazı, resim, şekil vb var mıdır?
- Kullanılan kaynaklar az veya fazla mıdır? Gereksiz kaynak kullanımı var mıdır? Kullanılan kaynaklar (Türkçe ve/veya yabancı dilde) güncel midir?

Olgu sunumu değerlendirilmesi

- Olgu sunumu konusu güncel midir? Bu olgu sunumunun, konusunda ilgili okuyucuya katkısı belirtilmiş midir?
- Kullanılan kaynaklar (Türkçe ve/veya yabancı dilde) güncel midir?
- Olgu sunumu düzgün ve akıcı Türkçe ile yazılmış mıdır?
- Derleme içinde intihal ve/veya kişisel hakların ihlali olarak değerlendirilebilecek yazı, resim, şekil vb var mıdır?

Çevresel araştırmalar

- Çevresel araştırmalar için yasal/özel izin alınacak bir yöntem uygulanmış mıdır?
- Gerekli olduğu durumlarda gerekli izinler mevzuatın belirlediği kurumlardan alınmış mıdır?
- Kamu/özel kurum ve kuruluşlarından kamuya açık olmayan bilgi, belge vb. veriler var mıdır?
- Çalışma; tarihi eserler, arkeolojik alanlar, askeri bölgeler vb. alanlar veya korunma altına alınmış yer altı, yer üstü ve su altı alanlarında yürütülen araştırma ve çalışmalar için yetkili kurum ve kuruluşların iznine bağlanan araştırmalar kapsamında mıdır?
- İlgili mevzuatın yetkili kurum ve kuruluşların iznine bağladığı mikroorganizma örneklerinin toplanmasını içermekte midir?

Hakem raporu

- Hakemler kendilerine gönderilen çalışmalarını gizli tutmalıdır. Makaleyi kendisi ile birlikte değerlendiren bilim insanı varsa (mentor, asistan vb) bu durum hakem raporunda “Editör için yorumlar” bölümünde açık isim olarak belirtilmelidir.
- Rapor “değerlendirme bilgi formu”, “Yazar için yorumlar” ve “Editör için yorumlar” bölümünden oluşur. Raporun hazırlanmasında etik konulara dikkat edilmeli, kişisel ifade ve imalardan kaçınılmalı, akıcı ve anlaşılır bir dil kullanılmalıdır.
- Yazarlar için yorumları yazarken, hakemlerin kendi adlarını yazmamaları önerilir.

