

Cilt / Volume 53

Sayı / Number 1

Mart / March 2023

ISSN 0258-2171

e-ISSN 2458-7516



Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✓ Bakteriyel Sirkadiyen Ritim
- ✓ Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kan Transfüzyon Merkezi ve Merkezi Sterilizasyon Ünitesinde Risk Değerlendirmesi
- ✓ Kıyı Atıksu Arıtma Tesisleri Deşarjının Yüzeysel Suların Toksisitesine Etkisinin Belirlenmesi: İstanbul Örneği
- ✓ İzmir'den İlk *Candida auris* İzolasyonu: Amputasyon İle Sonuçlanan Polimikrobiyal Diyabetik Ayak Enfeksiyonu

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY



Cilt / Volume 53

Sayı / Number 1

Mart / March 2023



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 53 Sayı / Number 1 Mart / March 2023

Editör / Editor in Chief

Çağrı Ergin

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

Bölüm Editörleri / Section Editors

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

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

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
0000-0002-4820-6986

Rabia Can Sarınoğlu; Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0001-9222-8659

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. Candan Çiçek

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: tmcdeditor@gmail.com
www.tmc-online.org

*Mart, Haziran, Eylül, Aralık olmak üzere
yılıda 4 kez yayınlanır.*

© 2023. 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.

© 2023. 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

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

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

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

Yeliz Çetinkol, Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ordu
0000-0003-4940-4498

Meryem Çolak, Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Karabük
0000-0001-9876-935X

Nilay Çöplü, Ankara Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara
0000-0003-1956-1417

Evren Doruk Engin, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-9209-8858

Hatice Ertabaklar, Aydın 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

Nuran Esen, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0001-9796-3003

Ayşe Esra Karakoç, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara
0000-0001-6332-1109

Ayşe Nedret Koç, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri
0000-0002-2889-9228

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

Berna Gültekin Korkmazgil, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın
0000-0002-0353-6922

Demet Haciseyitoğlu, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak
0000-0001-7404-8347

Tuğrul Hoşbul, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-0150-4417

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

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

Sinem Öktem Okullu, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-2255-0930

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

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

Güven Özdemir, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0002-7577-4233

Duygu Perçin Renders, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kütahya
0000-0002-4436-5226

Fatma Mutlu Sarıgül, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri
0000-0003-2747-0208

Burçin Şener, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-0724-3166

Murat Telli, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın
0000-0003-2648-881X

Ebru Us, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-9705-1792

Caner Vural, Pamukkale Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli
0000-0003-1400-6377

Server Yağcı, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta
0000-0003-1956-6074

Süreyya Gül Yurtsever, Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0002-4421-230X



İÇİNDEKİLER / CONTENTS

DERLEME / REVIEW

- **Bakteriyel Sirkadiyen Ritim**
Bacterial Circadian Rhythm
Ayşegül Ateş, Şafak Ermertcan1

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / RESEARCH ARTICLES

- **Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kan Transfüzyon Merkezi ve Merkezi Sterilizasyon Ünitesinde Risk Değerlendirmesi**
Risk Assessment in Medical Microbiology Laboratory, Blood Transfusion Center and Central Sterilization Unit
Kübra Derçin, Burak Küçük, Esra Kaya, Nurettin Furkan Doğan, Murat Aral10
- ***Mucor circinelloides*'in Maya ve Küf Dönüşümünün Gösterilmesi ve İki Formun *Galleria mellonella* Enfeksiyon Modelinde Virülansının Değerlendirilmesi**
*Transformation of Yeast and Mould Forms *Mucor circinelloides* and the Assessment of its Virulence on *Galleria mellonella* Larvae Model in Vivo*
Funda Karakurt, Ayşe Kalkancı21
- **Konya İli Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'ne Başvuran Hamilelerde Enzyme Linked Fluorescent Assay Yöntemiyle Tespit Edilen *Toxoplasma gondii*, Rubella, Sitomegalovirüs Seroprevalansı**
*Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, Rubella, Cytomegalovirus Detected by Enzyme Linked Fluorescent Assay Method in Pregnant Women Who Applied to Meram Medical Faculty Hospital in Konya Province*
Burak Ezer, Havva Kaya, Fatma Kılıç, Mehmet Özdemir, Kadir Kaba28
- **Kıyı Atıksu Arıtma Tesisleri Deşarjının Yüzeysel Suların Toksisitesine Etkisinin Belirlenmesi: İstanbul Örneği**
Determining the Effect of Discharge of the Coastal Wastewater Treatment Plants on the Toxicity of Surface Waters: A Case Study in İstanbul
Vildan Zülal Sönmez, Ceyhan Akarsu, Nüket Sivri35

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- **İzmir'den İlk *Candida auris* İzolasyonu: Amputasyon İle Sonuçlanan Polimikrobiyal Diyabetik Ayak Enfeksiyonu**
*First *Candida auris* Infection Case from İzmir: Polymicrobial Diabetic Foot Infection Resulting in Amputation*
Kübra Kulaklı, Nazlı Arslan, Onur Gürsan, Aydan Özkütük47
- **Nadir Görülen Bir İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkeni: *Myroides odoratimimus***
*A Rare Caused of Urinary Tract Infection: *Myroides odoratimimus**
Makbule Hilal Yıldırım, Fulya Bayındır Bilman, Selçuk Kaya, Süreyya Gül Yurtsever, Tuba Müderris55

Bakteriyel Sirkadiyen Ritim

Bacterial Circadian Rhythm

Ayşegül Ateş[®], Şafak Ermertcan[®]

Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Atıf/Cite as: Ateş A, Ermertcan Ş. Bakteriyel sirkadiyen ritim. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(1):1-9.

ÖZ

Moleküler bir saat olarak tanımlanabilen sirkadiyen ritim metabolik, biyokimyasal, hormonal değişiklikler bütünüdür. Bitkiler, memeliler, böcekler, mantarlar gibi ökaryotik canlılarda sirkadiyen ritim benzerliklerin ve farklılıkların olduğu kompleks moleküler mekanizmalarla görülmektedir. Basit bir yaşam tarzına sahip oldukları düşünülen siyanobakterilerde de sirkadiyen ritmin kompleks mekanizmalarla ortaya çıktığı görülmektedir. Bu mekanizmaya bağlı olarak fotosentez gün ışığında, azot fiksasyonu ise karanlıkta gerçekleştirilir. Siyanobakterilerin oluşturdukları ritim gün ışığındaki değişimden bağımsız olarak da görülmektedir. Mekanizma üç temel adımdan oluşmaktadır: osilatör, giriş yolu (Input pathway) ve çıkış yolu (Output pathway). Giriş yollarından osilatörlere gelen bilgiler gen ifadesine çevrilir ve çıkış yolları (output pathway) tarafından belirli hücrel aktiviteğin günlük ritimde gerçekleşmesi sağlanır. Non-fotosentetik mikroorganizmalarda da sirkadiyen ritme benzeyen ritimler görülmüştür. Bakteriyel sirkadiyen ritmin göz önünde bulundurulmasıyla antibiyotik direnci, disbiyozis gibi sorunlarla mücadele sağlanabilir. Endüstri ve tarım alanlarında ise hem ürünün hem de üretimin kalitesini olumlu anlamda şekillendirebilecek yenilikler gerçekleştirilebilir.

Anahtar kelimeler: Sirkadiyen ritim, siyanobakteri, osilatör

ABSTRACT

Circadian rhythm, which can also be defined as a molecular clock, is the whole of metabolic, biochemical, and hormonal changes. Circadian rhythm can be seen through molecular mechanisms with similarities and differences in prokaryotes, fungi, plants, and insects. These rhythm is also seen in cyanobacteria, which are thought to have an extremely simple lifestyle. Depending on the rhythm, it performs photosynthesis in day and nitrogen fixation at night. The circadian rhythm created by cyanobacteria has started to appear independent of the change in daylight after. This mechanism can be examined in three basic steps; 'oscillator', 'input pathway', and 'output pathway'. The information coming to the oscillators from the input pathways is translated into gene expression, and by the output pathways, certain cellular activities occur in a daily rhythm. Rhythms that resemble the circadian rhythm are also observed in non-photosynthetic microorganisms. By considering the bacterial circadian rhythm, problems such as antibiotic resistance and dysbiosis can be combated in the field of medicine. In the field of industry and agriculture, innovations that can positively shape the quality of both the product and the production, can be realized.

Keywords: Circadian rhythm, cyanobacteria, oscillator

Alındığı tarih / Received:

01.08.2022 / 01.August.2022

Kabul tarihi / Accepted:

29.11.2022 / 29.November.2022

Yayın tarihi / Publication date:

24.03.2023 / 24.March.2023

ORCID Kayıtları

A. Ateş 0000-0001-6891-6662

Ş. Ermertcan 0000-0001-6686-6892

✉ aysegulates117@gmail.com

GİRİŞ

Dünyanın kendi eksenini etrafındaki dönüşünü 24 saatte tamamlaması gece gündüz döngüsünü oluşturmaktadır. Bu döngüye bağlı gerçekleşen sıcaklık ve ışıktaki değişikliklere adapte olabilmek için organizmalar bir iç zamanlama mekanizması geliştirmiştir⁽¹⁾. Bu iç zamanlama mekanizmasına 1959 yılında Franz Halberg tarafından Latince *Circa* (yaklaşık) ve *Dies* (Gün) terimlerinin birleştirilmesiyle sirkadiyen saat adı verilmiştir⁽²⁾. Moleküler bir saat olarak da tanımlayabileceğimiz sirkadiyen ritim veya

biyolojik saat metabolik, biyokimyasal, hormonal değişiklikler bütünüdür. Günümüzde sirkadiyen ritimleri ve onları etkileyen etmenleri inceleyen bilim dalı 'Kronobiyoloji' olarak bilinir⁽³⁾.

Fransız gökbilimci Jean-Jacques d'Ortous de Mairan, 1729 yılında *Mimosa pudica* bitkisinin yapraklarının gün ışığında açıldığını akşamları ise kapandığını gözlemledikten sonra bitkiyi tamamen karanlıkta bıraktığında değişimin nasıl olacağını sorguladı ve yaptığı deneyde karanlığa bağlı olarak yaprakların kapandığını ancak bir süre sonra yaprakların tekrar

açıldığını gördü. Aynı dönemde İsveçli botanikçi Carl Linneaus, belirli bitki türlerinin ne zaman çiçekleneceğine dair çalışmalarıyla gün içerisinde saati anlamak için kullanılabilecek bir "çiçek saati" geliştirdi⁽⁴⁾. 1950'lerin ortalarında Colin S. Pittendrigh ve Jürgen Aschoff tarafından modern sirkadiyen ritimle ilgili çalışmalar yapıldı ve sirkadiyen sisteminin ilkeleri tanımlandı. 1970'lere geldiğimizde Seymour Benzer iki kız çocuğu arasındaki davranışların aynı anne babadan olmalarına rağmen nasıl bu kadar farklı olabileceğini araştırmaya başladı. Genlerin ve genlerdeki değişimlerin davranışlar üzerindeki etkisini incelemek için *Drosophila melanogaster* (Sirke sineği) üzerinde çalışmalara başladı. Genlerde meydana getirdiği modifikasyonlarla optik görüşü, hareketi, cinsel dürtüleri kontrol eden birçok geni tanımladı. Benzer ve öğrencisi Ronald J. Konopka sirke sineklerinde gen modifikasyonlarına bağlı olarak kozadan çıkma sürelerinde değişim gerçekleştiğini ve bu genlerdeki değişime bağlı olarak sirke sineklerinin biyolojik saatinin aksadığını gördüler. Bu gene 'period' adını verdiler ancak genin mekanizmasını ve biyolojik saat üzerindeki etkinliğini net olarak ortaya koyamadılar^(5,6). 1973 yılında Jerry Feldman ve Marian Hoyle *Neurospora crassa*'da asexual spor üretim ritminin 'frequency' olarak tanımladıkları gen üzerinden gerçekleştiğini gösterdiler. Filamentöz bir mantar olan *Neurospora crassa*'da spor gelişimi, konidyum üretimi ve misel oluşumundan sorumlu sirkadiyen ritim mekanizması aydınlatılmıştır⁽⁷⁾. Bitkiler yaprak hareketi, büyüme, germinasyon, stoma hareketi, enzim aktivitesi, çiçek açma, fotosentez gibi metabolik ve gelişimsel aktivitelerini sirkadiyen ritme bağlı olarak gerçekleştirirler. Özellikle *Arabidopsis thaliana* üzerinde yapılan genomik çalışmalar ile bu bitkinin sirkadiyen ritminden sorumlu genlerin ve kodladıkları proteinlerin süreç üzerindeki etkisi aydınlatılmıştır^(8,9). Patojenik bir küf mantarı *Aspergillus flavus* da yine spor oluşumunda, misel oluşumunda, sklerotia gelişiminde sirkadiyen ritimden destek alır^(7,10). 2017 yılında üç bilim insanı Jeffrey C. Hall, Micheal Rosbash ve Michael W. Young biyolojik saat ile ilgili yaptıkları çalışmalar sonucunda Nobel tıp ödülünün sahibi oldular ve biyolojik saatin moleküler mekanizması net olarak aydınlatılmış oldu. Benzer'in *period* adını verdiği gen tarafından kodlanan PER proteininin gece boyunca hücrede biriktiği, gündüzleri ise çözüldüğü ve buna bağlı olarak 24 saatlik bir döngüde sirkadiyen ritmin oluştuğu

ayrıca PER proteininin belirli bir seviyeye ulaştığında *period* geni üzerinde transkripsiyonu baskılayıcı işlev gördüğü bildirildi⁽¹¹⁾. Bunun gerçekleştirmesinde 1994 yılında Michael W. Young'un 'timeless' adını verdiği genin ürünü olan TIM proteininin rol aldığı doğrulandı⁽¹²⁾.

Bitkiler, memeliler, böcekler ve mantarlar gibi ökaryotik canlılarda sirkadiyen ritim; benzerliklerin ve farklılıkların olduğu kompleks moleküler mekanizmalarla görülmektedir⁽¹³⁾. Prokaryotik hücrelerde ise ritmik aktivite için nükleer yapının, hücreler arası iletişimin yeterli olmadığı öne sürülerek uzun bir süre sirkadiyen ritmin ökaryotlarla sınırlı olduğu düşünülmüştür⁽¹⁴⁾. Ancak yapılan çalışmalar *Synechococcus* sp. WH 7803'de sıcaklıkla ilişkili olarak hücre bölünmesine ait 24 saatlik ritimler ve *Cyanothece* sp. PCC 8801'deki sirkadiyen azot fiksasyonu düşünülenin aksini kanıtladı^(15,16). Yapılan çalışmalar son derece basit bir yaşam tarzına sahip oldukları düşünülen ancak aslında çok daha fazlası olan siyanobakterilerde de sirkadiyen ritmin kompleks mekanizmalarla ortaya çıktığını göstermektedir.

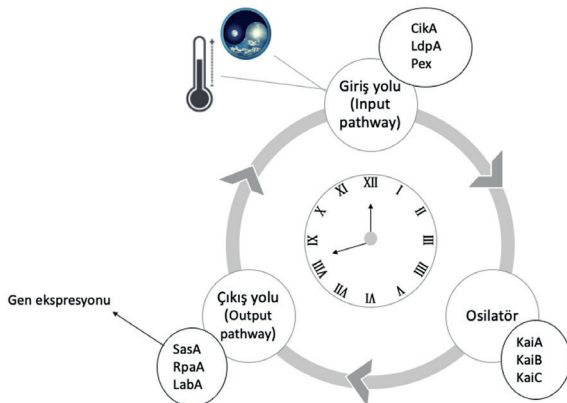
Siyanobakteriler ve sirkadiyen ritim

Eskiden mavi-yeşil algler olarak adlandırılan siyanobakteriler kloroplast içermeleriyle ökaryotik organizmalara benzeseler de prokaryotik özellikler taşımaktadırlar. Siyanobakteriler enerjilerini fotosentez yoluyla elde eder ve denizdeki karbon ile azot çevriminde önemli rol oynarlar. Siyanobakterilerin dünyadaki ilk yaşam formlarından biri oldukları ve en az 3.5 milyar yıl önce ortaya çıktıkları düşünülmektedir^(17,18). Bazı siyanobakteri türleri fotosentez ve azot fiksasyonu yapma yeteneğine sahiptir. Fotosentez sonucu oluşan oksijen, azot fiksasyonunda rol oynayan enzimler üzerinde inhibisyona yol açmaktadır. Siyanobakteriler bu iki metabolik olayı farklı zaman periyotlarında gerçekleştirmek için bir sirkadiyen ritim mekanizması geliştirmiştir. Bu mekanizmaya bağlı olarak fotosentezi gün ışığında, azot fiksasyonunu ise karanlıkta gerçekleştirirler. Yapılan çalışmalar sonucunda siyanobakterilerin oluşturdukları bu ritim bir süre sonra gün ışığındaki değişimden bağımsız olarak da

görölmeye başlamıştır. Prokaryotik hücrelerde böyle bir ritmin olmasına dair kanıtlar bilim insanlarını bu alana yöneltti ve *Synechococcus elongatus* PCC 7942 sirkadiyen ritmin moleküler mekanizmalarında tercih edilen bir model oldu^(13,19). Siyanobakteriyel genlerin büyük çoğunluğu sirkadiyen ritme bağlı olarak ifade edilir. Bu genler Sınıf I ve Sınıf II genler olarak kategorize edilirler ve gün boyunca eksprese edilerek birikirler. Sınıf I genler karanlıkta, Sınıf II genler ise gün aydınlanmaya başlayınca en yüksek miktarlara ulaşmış olur⁽²⁰⁾.

Siyanobakterilerde sirkadiyen ritim mekanizması

Siyanobakterilerdeki sirkadiyen saatin moleküler yapısı ve mekanizması oldukça karmaşık bir organizasyon içindedir. Bu mekanizma üç temel adımda incelenebilir (Şekil 1); Osilatör, giriş yolu (input pathway) ve çıkış yolu (output pathway)⁽²¹⁾. Sirkadiyen mekanizmanın merkezinde 24 saatlik ritmin sürdürülmesi, yayılması ve dağıtımından sorumlu olan osilatörler bulunur. Osilatörler çevresel değişimler tarafından direkt olarak kontrol edilmez. Bu kontrol giriş yolları (Input pathway) tarafından gerçekleştirilir. Giriş yollarından osilatörlere gelen bilgiler gen ifadesine, ekspresyonuna çevrilir ve çıkış yolları (output pathway) tarafından belirli hücrel aktiviteğin günlük ritimde gerçekleşmesi sağlanır. Sıcaklık, ışık, pH gibi farklı etmenlere bağlı olarak gelişen çevresel değişiklikler hücre zarının redoks potansiyelinde değişime neden olur. Bu değişim, redoksa duyarlı Cika (circadian input kinase A) ve LdpA (light-dependent period A) gibi giriş yolu proteinleri



Şekil 1. *Synechococcus elongatus* PCC 7942'nin sirkadiyen ritim mekanizması

tarafından algılanır ve osilatörlere iletilir. Osilatörde fosforilasyon temelinde gerçekleşen işlemler sonucu oluşan hücre bölünmesi ve gen ekspresyonu gibi moleküler çıktılar, biyolojik saatin devam etmesini sağlamak için SasA (*Synechococcus* adaptive sensor A) ve RpaA (Regulator of phycobilisome association A) proteinlerinden oluşan çıkış yoluna aktarılır⁽²²⁻²⁴⁾. Sirkadiyen mekanizmanın bu üç temel ayağı moleküler temeller üzerine kurulmuştur ve sirkadiyen ritmin gerçekleşmesinde oldukça önemlidirler.

Osilatörler

Ökaryotik hücrelerde sirkadiyen ritim 24 saatlik zaman diliminde moleküler düzeyde iç içe geçmiş iki adet "transkripsiyonel translasyonel geri bildirim döngüsü" (transcriptional translational feedback loop (TTFL)) ile kontrol edilen osilatörler tarafından sürdürülür^(25,26). Siyanobakterilerde ise fosforilasyon temeline dayanan post-translasyonel osilatörler (PTO) tarafından gerçekleşen bir ritim vardır⁽²⁷⁾.

1998 yılında dört bilim insanı Susan Golden, Carl Johnson, Masahiro Ishiura ve Takao Kondo lusiferaz aktivitesini kullanarak *S. elongatus*'un sirkadiyen ritmini düzenleyen osilatör proteinlerine Japonca 'Cycle' (döngü) anlamına gelen 'Kai' adını verdiler. Kai proteinleri birbirleriyle etkileşim içinde olan KaiA, KaiB ve KaiC adlı oligomerik proteinlerden oluşmaktadır⁽²¹⁾. Kai proteinleri temel olarak siyanobakterilerde fotosentez, hücre bölünmesi, çevresel değişikliklere adaptasyon gibi belirli bir döngü içindeki olayların kontrolünü sağlamaktadır⁽²⁸⁾. Farklı yapısal özellikler gösteren bu proteinler siyanobakteriyel ritmin temelini oluşturmaktadırlar (Şekil 2).

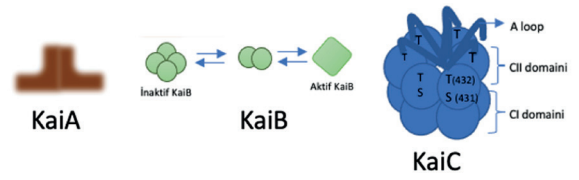
KaiC, halka şeklinde iki loblu homoheksamerik yapıda bir proteindir. Bu protein yapısı dört temel domain içerir: bir CI domaini, bir CII domaini, B-loop'u ve CII domaininin C terminalinden çıkan KaiA'nın bağlanmasını sağlayan 22 aminoasitlik uzantı şeklindeki A-loop'u⁽²⁹⁾. CI ve CII alt domainleri benzer yapısal özellikler gösterse de ATP bağlama bölgelerindeki farklılık fonksiyonel olarak önemlidir^(29,30). KaiC proteini KaiA ve KaiB'nin bağlanması ile aktif hale gelen ATPaz, otokinaz

ve otofosfat aktivitesine sahiptir. Özellikle CII halkasının 431. pozisyonundaki serin(S) (Ser431) ve 432. pozisyonundaki treonin (T) (Thr432) rezidülerinin fosforilasyon ve de-fosforilasyon durumu Kai osilatörüne bağlı olarak sirkadiyen ritmi yönlendirir⁽³¹⁾.

KaiC osilatörünün fosforilasyonu endojen ritimler üretme kabiliyetine sahip olmasına rağmen, gen ekspresyonunu doğrudan etkilemez; Kai proteinlerinin hiçbirisi DNA-bağlama alanlarına sahip değildir⁽³²⁾. Bunun yerine, bir histidin kinazı olan SasA ve bir transkripsiyon faktörü olan RpaA'dan oluşan iki bileşenli bir sistem, KaiC fosforilasyonundaki değişiklikleri transkripsiyonel olaylara bağlar^(30,33).

KaiA, amino ve karboksı terminalleri bulunan, sahte alıcı bölgeye (pseudo-receiver) sahip ve KaiC'nin otokinaz aktivitesini indükleyen homodimerik yapıda bir proteindir. KaiA'nın aksine, KaiB ve KaiC proteinlerinin sirkadiyen döngü boyunca salındığı ve hücre içi konsantrasyonlarının KaiA ya göre 25 kat fazla olduğu bilinmektedir. KaiA aynı zamanda KaiC otofosforilasyonunun uyarılmasını kontrol eden giriş yolunda da görevlidir^(22,34).

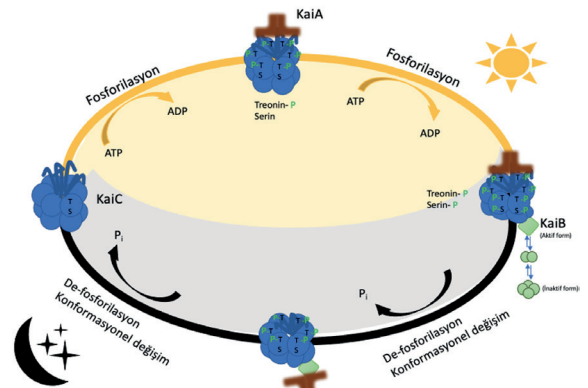
KaiB, SasA-RpaA yolunun (output pathway) ana düzenleyicisi olarak görev yapar ve sirkadiyen ritim oluşumuna katkıda bulunan ve SasA:KaiC ile etkileşimi kolaylaştıran yapısal modifikasyonlar gösterir. Siyanobakterilerde ifade edilen KaiB çoğunlukla KaiC ile etkileşime giremeyen, aktif olmayan bir homo-tetramerik yapıdadır. KaiB, KaiC ile etkileşime girebilmek için tetramerik formdan monomerik forma geçerek yapısal olarak konformasyonel değişikliğe uğramak zorundadır. Temel durumdaki inaktif formdan, KaiC'ye bağlanabilen katlanmış aktif forma dönüşür. KaiB bugüne kadar bilinen tek metamorfik saat proteindir^(35,36). Aktif konfigürasyondaki KaiB, SasA'nın N terminaline çok benzeyen bir katlanmaya sahiptir. Ayrıca kinazın KaiC'ye olan bağına kompetatif olarak değiştirir. Bununla birlikte, KaiB'deki inaktif formdan aktif forma olan konformasyon değişikliği, SasA'nın KaiC'ye bağlanmasına ve RpaA'nın görece olarak öğleden sonra aktivasyonunun azalmasına neden olur⁽³⁷⁾.



Şekil 2. Kai proteinlerinin yapısı

Sirkadiyen osilatörlerin mekanizması

Sirkadiyen ritmin Kai osilatörleri üzerinden mekanizması Şekil 3'te görüldüğü gibi özetlenebilir. Görece olarak günün ilk saatlerinde, KaiC'nin Ser431 ve Thr432 rezidüleri de-fosforile durumda ve A-loop'u yapısal olarak ortaya çıkarılmıştır. CII ve CI domainleri birbirine gevşek olarak bağlanmıştır. Günün ilerleyen saatlerinde KaiA, otokinaz aktivitesini modüle etmek için KaiC'nin A-loop'una bağlanır. Bu bağlanmayla birlikte önce Thr432 ardından Ser431 fosforile edilir. Görece olarak hava karamaya başladığında Ser431 rezidüsünün fosforilasyonuyla birlikte KaiC heksameresinde önemli konformasyonel değişiklikler meydana getirir. Protein kompleksinin CI ve CII domainleri arasındaki etkileşim artar ve CII domaini CI'in üzerine çöker. Bu çökme ile birlikte A loop'u CII domainin içine girerken KaiA'nın bağlanma bölgesiyle etkileşimi azalmaya başlar. CI domaininde de genişleme meydana gelir ve B-loop'u ortaya çıkar. Bu sırada tetramerik yapıdaki inaktif KaiB aktif monomerik forma geçerek B-loop'una bağlanır. KaiB'nin bağlanmasıyla birlikte, KaiA değişiklik geçirerek A-loop'undan uzaklaşır ve KaiB ye bağlanır. KaiA:B kompleksi KaiC'nin otofosfataz aktivitesini artırır ve otokinaz aktivitesini inhibe eder. KaiC'nin de-fosforilasyonu gece meydana gelir



Şekil 3. Siyanobakterilerdeki sirkadiyen osilatörlerin mekanizması

ve fosforilasyonun tersi sırayla önce Thr432 ardından Ser431 defosforile edilir, döngü başa dönerek devam eder. Sonuçta, KaiA ve KaiB bağlanması tarafından regüle edilen KaiC fosforilasyonundaki bu ritim, değişen çevresel koşullara bağlı olarak hem giriş yollarıyla hem de transkripsiyon olaylarına aracılık etmek için çıkış yollarıyla etkileşim içindedir^(35,36).

Giriş yolu (Input pathway)

Gündüz-gece döngüsündeki değişiklikleri ökaryotlar doğrudan fotoreseptörler yoluyla algılayarak siyanobakteriler ise çevresel fonksiyonlara bağlı olarak hücrenin değişen redoks durumunu algılayarak değişiklikleri izler. CikA ve LdpA dahil olmak üzere birkaç redoks duyarlı protein tanımlanmıştır. Ek olarak, osilatör bileşenlerinden KaiA ve KaiC'nin sirkadiyen saati dış ortamla senkronize etmek için doğrudan fotosentez metabolitlerini (kinon, ATP) tespit ettiği de bilinmektedir^(23,24,38).

CikA bir histidin kinazdır ve tanımlanan ilk giriş yolu bileşenidir. CikA da meydana gelen mutasyon sirkadiyen periyotta kısalmaya, düşük genlikli salınımlara, karanlıkta gen ifadesinin sıfırlanmamasına neden olur⁽³⁹⁾. Çevresel algılama siyanobakterilerde fotosentetik aktivitenin bir fonksiyonu olarak oluşan metabolitlerin varlığına ve redoks durumuna bağlı olarak CikA ve hatta KaiA ile sağlanır. Hem CikA hem de KaiA membranlardaki kinonlarla etkileşimi sağlayacak şekilde periferik membran üzerinde konumlanmış proteinlerdir⁽⁴⁰⁾.

Kinon havuzu, karanlıkla birlikte hızla okside olur. CikA ve KaiA, kendi sahte alıcılara (Pseudo receiver) (PsR) aracılığıyla kinonun okside formuna (Qq) bağlanabilir ancak redükte formuna (Rq) bağlanamaz^(40,41). CikA miktarı ışık yoğunluğuyla ters orantılıdır ve karanlıkta en yüksek seviyeleri sergiler⁽⁴²⁾. CikA/KaiA ve kinonlar arasındaki etkileşimlere ek olarak hücrel redokstaki değişiklikler demir sülfür bağlayıcı redoks aktif proteini olan LdpA aracılığıyla da osilatöre aktarılır. LdpA, elektron taşınımındaki değişikliklerin algılanmasının bir sonucu olarak sirkadiyen ritimin düzenlenmesinden sorumludur ve konsantrasyonu ışık yoğunluğuna bağlıdır. LdpA'daki mutasyonlara bağlı olarak periyot kısalması meydana gelir. Çevresel

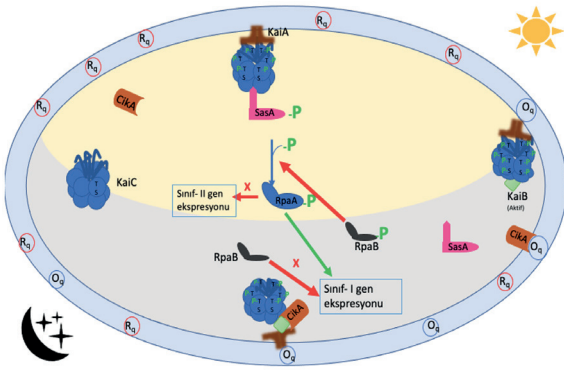
sinyalleri osilatöre iletmede CikA ile LdpA arasında etkileşim söz konusudur^(42,43).

CikA bir fosforil grubunu in vitro olarak RpaA'ya aktarabilmekte iken, in vivo olarak CikA'nın ana rolünün, SasA tarafından eklenen fosforil gruplarının RpaA'dan çıkarılmasını sağlayan bir fosfataz olduğu görülmektedir. RpaA'nın Sas A gibi negatif regülasyon yoluyla sirkadiyen ritmin çıkış yolunda da rol aldığı gösterilmiştir⁽⁴³⁾.

Çıkış yolu (Output pathway)

Belirli hücrel aktivitelerin doğru ritim ve periyotta gerçekleşmesini sağlayan birtakım proteinler tanımlanmıştır. Bir histidin protein kinaz olan SasA'nın KaiC'den gerekli bilgileri almasıyla birlikte aralarında gerçekleşen bu protein-protein etkileşimi SasA'nın otofosforilasyonunu ve ardından fosforil grubunun yanıt düzenleyici protein RpaA'ya transferini uyarır^(44,45). RpaA, gen ekspresyonunun transkripsiyonel bir regülatörü olarak görev yapabilir. Fosforile edildiğinde (RpaA-P) transkripsiyon faktörü olarak DNA'ya bağlanabilir. RpaA-P uygun transkripsiyon bölgesine bağlanarak *kaiBC* promotorundan (*PkaiBC*) sirkadiyen ritme bağlı olarak gen ekspresyonunu regüle eder⁽⁴⁶⁾. Ek olarak, LabA proteini osilatörden gelen bilgilere dayanarak KaiC ve RpaA aktivitesinin bir baskılayıcısı olarak görev yapmaktadır⁽⁴⁵⁾. *pex* (period extender gene) geninin transkripsiyonu ile oluşan Pex proteini, kaiA ekspresyonunun doğrudan veya dolaylı bir baskılayıcısı olarak görünmektedir. Pex'in aşırı üretimi sirkadiyen dönemi uzatır, çünkü Pex oluşumuna bağlı olarak üretimi baskılanan KaiA, KaiC fosforilasyonunu uyaramaz ve sirkadiyen döngü normal bir şekilde ilerleyemez. Pex'in baskılanması KaiA protein üretimini artırır ve KaiC otofosforilasyonunu aşırı stimüle ederek sirkadiyen sürelerin kısalmasına neden olur⁽²²⁾.

Siyanobakterilerde sirkadiyen mekanizma Şekil 4'te özetlenmiştir. Sirkadiyen ritmin genel mekanizması KaiC osilatörünün fosforilasyon ve de-fosforilasyon durumuna göre ilerlemektedir. KaiA ve KaiC gün boyunca sitozolde bulunurlar. KaiA günün aydınlık evresinde KaiC ile etkileşime girerek KaiC'nin



Şekil 4. Siyanobakterilerde sirkadiyen mekanizma (Rq: Redükte kinonlar; Qq: Okside kinonlar)

fosforilasyonunu sağlar. CikA, hücrelerin kutuplarına doğru konumlanmıştır. Membrandaki kinon birikimine bağlı olarak redoks potansiyelindeki değişimi algılar. SasA, KaiC ile etkileşime girerek kendi otofosforilasyonunu, ardından RpaA'ya fosfor transferini sağlar. RpaA-P gün boyunca birikir, gece-gündüz geçişinde zirve yapar. RpaA-P, sınıf II genlerinin ekspresyonunu baskılar ve sınıf I genlerini aktive eder. Çevresel olarak kontrol edilen RpaB, RpaA'nın fosforilasyonunu inhibe edebilir. Gece boyunca, kinon havuzu geçici olarak oksitlenir. CikA ve KaiA oksitlenmiş kinonlarla etkileşime girer. KaiB, KaiC'ye bağlanmak için SasA ile yarışır ve KaiC'nin gece boyunca de-fosforilasyonunu sağlar. CikA KaiB'ye bağlanmak için KaiA ile rekabet eder. KaiBC kompleksi, CikA'nın RpaA'ya karşı fosfatase aktivitesini artırır. Defosforile hale gelen KaiC ile birlikte KaiB, KaiA ve CikA yeni bir döngüye başlar^(33,37,40).

Farklı bakterilerdeki sirkadiyen ritimler

Synechococcus elongatus'un sirkadiyen ritim mekanizması oldukça detaylı çalışılmış ve moleküler organizasyonu aydınlatılmıştır. Bu ritimdeki en önemli unsurlardan biri olan Kai osilatör proteinlerinin değişik varyasyonları farklı siyanobakterilerde de bulunabilmektedir. Fotosentetik bir deniz siyanobakterisi olan *Prochlorococcus* sp. *kaiB* ve *kaiC* genlerini taşır, ancak *kaiA* geni içermez *Prochlorococcus marinus*'un bu osilatörlere bağlı gösterdiği salınım çok uzun süreli olmamaktadır. Bu mekanizmanın sürmesi için belirli periyotlarla çevresel girdinin girilmesi gerekir. Gen ekspresyonuna

bağlı olarak kısa salınımlar ortaya çıkar ki bu durum denizlerdeki heterotrof bakteri popülasyonlarıyla metabolik etkileşiminde önemlidir. Bu durum siyanobakteriyel sirkadiyen saatin denizlerdeki ve doğadaki genel mekanizmaları da etkilediğini göstermektedir^(17,47). *Prochlorococcus* sp. dahil bazı siyanobakteriyel türler bu moleküler mekanizmadaki *kaiA*'yı kaybetmiş olsa da, *Synechocystis* sp. PCC 6803 *kaiB* ve *kaiC* paraloglarını kodlar. Standart *kaiAB1C1* kümesine ek olarak *kaiC2*, *kaiB2*, *kaiB3* ve *kaiC3* genleri dört genomik lokusta bulunur. Bu çoklu genler tarafından kodlanan Kai proteinlerinin nasıl etkileşime girebileceği ve bunların sirkadiyen mekanizmada işlev görüp görmediği henüz net olarak aydınlatılmamıştır. Bununla birlikte, *Synechocystis* sp.'in sirkadiyen mekanizmasında temel olarak *kaiAB1C1* lokusunun rol aldığı öne sürülmüştür⁽⁴⁸⁾.

Siyanobakteriler sirkadiyen ritme sahip olduğu bilinen ve incelenen prokaryotik model olmasına rağmen, siyanobakteriler dışındaki non-fotosentetik mikrorganizmalarda da sirkadiyen ritme benzeyen ritimler görülmüş ve bazı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Schimmer ve ark.⁽⁴⁹⁾ non-sirkadiyen olduğu düşünülen *Pseudomonas* sp. de KaiC homologlarını buldular. Paulose ve arkadaşları⁽⁵⁰⁾ bir hastanın bağırsak mikrobiyotasından izole edilen klinik *Klebsiella aerogenes* izolatında sıcaklıkla ilişkili 24 saatlik ritimler gösterebilen gen ekspresyonlarının olduğunu ortaya koymuştur. Bu ritmin melatonin varlığında oluşması bakterinin konaktan bağımsız serbest ritimler oluşturup oluşturamayacağını düşündürmüştür. Elderink-Chen ve ark.⁽⁵¹⁾ ise biyofilm oluşturan *Bacillus subtilis* kökenlerinde 24 saatlik periyotta sirkadiyen bir ritim oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Diallo ve ark.⁽⁵²⁾ ise *Escherichia coli*'de KaiC homologu *radA* genini analizlerle ortaya koydular. *radA* geni dışında başka genlerin de sirkadiyen ritimle ilişkili olduğunu gösteren araştırmacılar *radA* ve *recA* genlerinin döngüsel bir sirkadiyen ekspresyona sahip olduğu, *ssrA* ve *cysG* genlerinin ise sirkadiyen gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol aldığını gösterdiler. RadA proteininin KaiC gibi sabah saatlerinde zirve yaptığı, 3 gün boyunca besiyeri ortamında kültür yapıldığında *radA* geninin sirkadiyen şekilde ekspresyonunun devam ettiği ortaya koyuldu.

SONUÇ

Birçok organizmada karşımıza çıkan sirkadiyen ritim, moleküler mekanizmalar yardımıyla çevresel değişikliklere adaptasyonda oldukça önemlidir. *S. elongatus* PCC 7942 prokaryotik sirkadiyen saatinin öneminin anlaşılmasını sağlayan, genetik manipülasyonların yapılabildiği ve gen ekspresyonlarının incelendiği model organizmadır.

Chen ve ark.⁽⁵³⁾ 2015 yılında *S. elongatus*'un sirkadiyen saatini göz önünde bulundurarak oluşturdukları sentetikbiyolojiksaa gelecekle ilgili farklı senaryoların oluşturulmasına olanak tanımıştır. Bu sentetik saati *E. coli*'ye transfer ettiklerinde bakteride 72 saat süreyle oluşan sirkadiyen ritmi, KaiC proteininin fosforilasyonunu inceleyerek göstermişlerdir. Bu çalışmada oluşturulan transplante edilebilir sentetik biyolojik saat ile özellikle kemoterapi alan hastalarda ilaç salınımının belirli periyotlarla ve uygun dozlarda olması, endüstride mikrobiyal proseslerde sirkadiyen kontrol ile yüksek verimde ürünler elde edilebilmesi ve sirkadiyen ritim bozukluklarının tedavi edilebilmesi amaçlanmıştır ve bu amaç doğrultusunda çalışmalar devam etmektedir. Patojenik bakterilerdeki sirkadiyen ritimlerin konak yanıtı ve antibiyotik direnciyle ilişkili çeşitli konularda da etkisi merak edilmektedir. Yakın zamanda Kovac ve ark.⁽⁵⁴⁾ *E. coli*'nin genomik yapısının memeli sirkadiyen saat genleri üzerinde bir etkiye sahip olduğunu gösterdi. Bu etki düşünüldüğünde gelecekte *E. coli* probiyotik suş olarak konakçı sirkadiyen ritmini etkilemek için kullanılabilir ve aslında patojenik bakteriler kendi sirkadiyen ritimleriyle konak organizmanın sirkadiyen ritmini etkileyebilirler. Kısacası ritmik bir mikrobiyom konağın sirkadiyen ritmini etkileyebileceği hatta bu iki ritmin asenkron olmasının disbiyozis ile sonuçlanabileceği düşünülmektedir.

Bakteriler tıp, tarım ve endüstriyel prosesler gibi pek çok alanda önemli rollere sahiptir⁽⁵⁵⁾. Tüm bu alanlarda bakteriyel sirkadiyen ritmin göz önünde bulundurulması onlarla nasıl etkileşime gireceğimizi kavramamızda bizlere yol gösterici olabilir. Global bir sağlık sorunu olan antibiyotik direncini bakteriyel sirkadiyen ritim perspektifinden ele aldığımızda, antibiyotik direnciyle mücadele

yeni bir bakış açısı kazandırılabilir. Bakterinin gün içinde metabolizmasının ve replikasyonunun yavaş seyrettiği zaman diliminde ilgili antibiyotiğe maruziyeti güçlü bir tedavi yaklaşımı olabilir ve direnç gelişimini geciktirebilir. Endüstriyel proseslerden özellikle fermentasyonda mikroorganizmaların ritmik saati göz önünde bulundurularak farklı metabolitlerin birikiminin önüne geçilebilir, hem ürünün hem de üretimin kalitesi iyi yönde şekillendirilebilir. Tarım alanında ise bitkinin biyolojik saati ile senkronize mikroorganizmalar bitkideki pek çok metabolik yolağın, hormonal sürecin, kök gelişiminin ve bitki hastalıklarıyla mücadelenin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir. Gelecek bu karmaşık sistemin mekanizmaları hakkında daha fazla bilgi edinmeyi vaat ediyor.

Çıkar Çatışması: Herhangi bir kişi ve/veya kurum ile ilgili çıkar çatışması yoktur.

Finansman: Bu makalede herhangi bir nakdî/aynı yardım alınmamıştır.

Conflict of Interest: The authors declare that there is no conflict of regarding any person and/or institution.

Funding: The authors declare the study received no funding.

KAYNAKLAR

1. Kartlaşmış K, Kökbaş U, Sanna B, Alparslan MM, Kayrın L. Sirkadiyen saatin epigenetikle ilişkisi. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 2017;26(1):50-62. <https://doi.org/10.17827/aktd.280521>
2. Deutch M. Circadian: "Circa dies". N Engl J Med. 1969;280(12):673.
3. Wolverton M. Living by the clock: The science of chronobiology. Penn Medicine. 2013;(June):17-9. [https://medicalxpress.com/news/2013-06-clock-science-chronobiology.html] (Erişim Tarihi: 19.05.2022).
4. Pfaff DW. Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical. Silver R, Rainbow M, editors. New York: Springer; 2013. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1997-6>
5. Jan YN, Jan L. Retrospective: Seymour Benzer (1921-2007). Science. 2008;319(5859):45. <https://doi.org/10.1126/science.1154050>

6. Harris WA, Seymour Benzer 1921–2007 The man who took us from genes to behaviour. *PLoS Biol.* 2008;6(2):e41. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060041>
7. Feldman JF, Hoyle MN. A direct comparison between circadian and noncircadian rhythms in *Neurospora crassa*. *Plant Physiol.* 2008;53(6):928-30. <https://doi.org/10.1104/pp.53.6.928>
8. Más P. Circadian clock signaling in *Arabidopsis thaliana*: From gene expression to physiology and development. *Int J Dev Biol.* 2005;49(5-6):491-500. <https://doi.org/10.1387/ijdb.041968pm>
9. Millar AJ, Kay SA. Circadian control of *cab* gene transcription and mRNA accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 2007;3(5):541. <https://doi.org/10.2307/3869359>
10. Greene AV, Keller N, Haas H, Bell-Pedersen D. A circadian oscillator in *Aspergillus* spp. regulates daily development and gene expression. *Eukaryot Cell.* 2003;2(2):231-7. <https://doi.org/10.1128/ec.2.2.231-237.2003>
11. Nobel Prize Outreach AB 2022. NobelPrize.org, 2017. [<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2017/advanced-information/>] (Erişim Tarihi: 21.07.2022).
12. Vossshall LB, Price JL, Sehgal A, Saez L, Young MW. Block in nuclear localization of period protein timeless by a second clock mutation, timeless. *Science.* 1994;263(5153):1606-9. <https://doi.org/10.1126/science.8128247>
13. Bhadra U, Thakkar N, Das P, Pal Bhadra M. Evolution of circadian rhythms: from bacteria to human. *Sleep Med.* 2017;35:49-61. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2017.04.008>
14. Kippert F. Endocytobiotic coordination, intracellular calcium signaling, and the origin of endogenous rhythms. *Ann N Y Acad of Sci.* 1987;503:476-95. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1987.tb04631.x>
15. Sweeney B, Borgese M. A circadian rhythm in cell division in a prokaryote, the cyanobacterium *Synechococcus* WH7803. *J Phycol.* 1989;25(1):183-6. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1989.00183.x>
16. Huang TC, Chow TJ. Characterization of the rhythmic nitrogen-fixing activity of *Synechococcus* sp. RF-1 at the transcription level. *Curr Microbiol.* 1990;20:23-6. <https://doi.org/10.1007/BF02094019>
17. Dvornyk V, Vinogradova O, Nevo E. Origin and evolution of circadian clock genes in prokaryotes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(5):2495-500. <https://doi.org/10.1073/pnas.0130099100>
18. Grobbelaar N, Huang TC, Lin HY, Chow TJ. Dinitrogen-fixing endogenous rhythm in *Synechococcus* RF-1. *FEMS Microbiol Lett.* 1986;37(2):173-7. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01788.x>
19. Iwasaki H, Williams SB, Kitayama Y, Ishiura M, Golden SS, Kondo T. A KaiC-interacting sensory histidine kinase, SasA, necessary to sustain robust circadian oscillation in *Cyanobacteria*. *Cell.* 2000;101(2):223-33. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80832-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80832-6)
20. Hoyle NP, O'Neill JS. Circadian rhythms: Hijacking the cyanobacterial clock. *Curr Biol.* 2013;23(23):R1050-2. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.046>
21. Ishiura M, Kutsuna S, Aoki S, et al. Expression of a gene cluster *kaiABC* as a circadian feedback process in *Cyanobacteria*. *Science.* 1998;281(5382):1519-23. <https://doi.org/10.1126/science.281.5382.1519>
22. Williams SB. A circadian timing mechanism in the *Cyanobacteria*. *Adv Microb Physiol.* 2006;52(06):229-96. [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(06\)52004-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(06)52004-1)
23. Rust MJ, Golden S, O'Shea EK. Light-driven changes in energy metabolism directly entrain the cyanobacterial circadian oscillator. *Science.* 2011;331(6014):220-3. <https://doi.org/10.1126/science.1197243>
24. Ivleva NB, Gao T, LiWang AC, Golden SS. Quinone sensing by the circadian input kinase of the cyanobacterial circadian clock. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(46):17468-73. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606639103>
25. Sözlü S, Şanlıer N. Sirkadiyen ritim, sağlık ve beslenme ilişkisi. *Türkiye Klinikleri J Health Sci.* 2016;2(2):100-9. <https://doi.org/10.5336/healthsci.2015-48902>
26. Nakajima M, Nakajima M, Imai K, et al. Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro. *Science.* 2005;308(5720):414-5. <https://doi.org/10.1126/science.1108451>
27. Jolley CC, Ode KL, Ueda HR. A design principle for a posttranslational biochemical oscillator. *Cell Rep.* 2012;2(4):938-50. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.09.006>
28. Brettschneider C, Rose RJ, Hertel S, Axmann IM, Heck AJR, Kollmann M. A sequestration feedback determines dynamics and temperature entrainment of the KaiABC circadian clock. *Mol Syst Biol.* 2010;6:389. <https://doi.org/10.1038/msb.2010.44>
29. Pattanayek R, Williams DR, Pattanayek S, et al. Analysis of KaiA-KaiC protein interactions in the cyano-bacterial circadian clock using hybrid structural methods. *EMBO J.* 2006;25(9):2017-28. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601086>
30. Nishiwaki T, Iwasaki H, Ishiura M, Kondo T. Nucleotide binding and autophosphorylation of the clock protein KaiC as a circadian timing process of cyanobacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;97(1):495-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.1.495>
31. Johnson CH, Stewart PL, Egli M. The cyanobacterial circadian system: From biophysics to bioevolution. *Annu Rev Biophys.* 2011;40:143-67. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-042910-155317>
32. Mori T, Saveliev SV, Xu Y, et al. Circadian clock protein KaiC forms ATP-dependent hexameric rings and binds DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(26):17203-08. <https://doi.org/10.1073/pnas.262578499>

33. Tseng R, Goularte NF, Chavan A, et al. Structural basis of the day-night transition in a bacterial circadian clock. *Science*. 2017;355(6330):1174-80. <https://doi.org/10.1126/science.aag2516>
34. Johnson CH. Bacterial circadian programs. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2007;72:395-404. <https://doi.org/10.1101/sqb.2007.72.027>
35. Kageyama H, Kondo T, Iwasaki H. Circadian formation of clock protein complexes by KaiA, KaiB, KaiC, and SasA in *Cyanobacteria*. *J Biol Chem*. 2003;278(4):2388-95. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208899200>
36. Chang YG, Cohen SE, Phong C, et al. A protein fold switch joins the circadian oscillator to clock output in *Cyanobacteria*. *Science*. 2015;349(6245):324-8. <https://doi.org/10.1126/science.1260031>
37. Cohen SE, Golden SS. Circadian rhythms in *Cyanobacteria*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2015;79(4):373-85. <https://doi.org/10.1128/mmr.00036-15>
38. Wood TL, Bridwell-Rabb J, Kim YI, et al. The KaiA protein of the cyanobacterial circadian oscillator is modulated by a redox-active cofactor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(13):5804-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910141107>
39. Katayama M, Kondo T, Xiong J, Golden SS. *IdpA* encodes an iron-sulfur protein involved in light-dependent modulation of the circadian period in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *J Bacteriol*. 2003;185(4):1415-22. <https://doi.org/10.1128/JB.185.4.1415-1422.2003>
40. Williams SB, Vakonakis I, Golden SS, LiWang AC. Structure and function from the circadian clock protein KaiA of *Synechococcus elongatus*: a potential clock input mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(24):15357-62. <https://doi.org/10.1073/pnas.232517099>
41. Zhang X, Dong G, Golden SS. The pseudo-receiver domain of *CikA* regulates the cyanobacterial circadian input pathway. *Mol Microbiol*. 2006;60(3):658-68. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05138.x>
42. Ivleva NB, Bramlett MR, Lindahl PA, Golden SS. LdpA: A component of the circadian clock senses redox state of the cell. *EMBO J*. 2005;24(6):1202-10. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600606>
43. Gutu A, O'Shea EK. Two antagonistic clock-regulated histidine kinases time the activation of circadian gene expression. *Mol Cell*. 2013;50(2):288-94. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.02.022>
44. Iwasaki H, Kondo T. The current state and problems of circadian clock studies in cyanobacteria. *Plant Cell Physiol*. 2000;41(9):1013-20. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp024>
45. Takai N, Nakajima M, Oyama T, et al. A KaiC-associating SasA-RpaA two-component regulatory system as a major circadian timing mediator in cyanobacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(32):12109-14. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602955103>
46. Smith RM, Williams SB. Circadian rhythms in gene transcription imparted by chromosome compaction in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(22):8564-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508696103>
47. Harding LW, Prézélin BB, Sweeney BM, Cox JL. Diel oscillations of the photosynthesis-irradiance (P-I) relationship in natural assemblages of phytoplankton. *Marine Biol*. 1982;67(2):167-78. <https://doi.org/10.1007/BF00401282>
48. Holtzendorff J, Partensky F, Mella D, Lennon JF, Hess WR, Garczarek L. Genome streamlining results in loss of robustness of the circadian clock in the marine cyanobacterium *Prochlorococcus marinus* PCC 9511. *J Biol Rhythms*. 2008;23(3):187-99. <https://doi.org/10.1177/0748730408316040>
49. Schmelling NM, Lehmann R, Chaudhury P, et al. Minimal tool set for a prokaryotic circadian clock. *BMC Evol Biol*. 2017;17(1):169. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0999-7>
50. Paulose JK, Cassone CV, Graniczowska KB, Cassone VM. Entrainment of the circadian clock of the enteric bacterium *Klebsiella aerogenes* by temperature cycles. *iScience*. 2019;19:1202-13. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.09.007>
51. Eelderink-Chen Z, Bosman J, Sartor F, Dodd AN, Kovács ÁT, Merrow M. A circadian clock in a nonphotosynthetic prokaryote. *Sci Adv*. 2021;7(2):eabe2086. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe2086>
52. Diallo AB, Mezouar S, Boumaza A, et al. *RadA*, a key gene of the circadian rhythm of *Escherichia coli*. *Int J Mol Sci*. 2022;23(11):6136. <https://doi.org/10.3390/ijms23116136>
53. Chen AH, Lubkowitz D, Yeong V, Chang RL, Silver PA. Transplantability of a circadian clock to a noncircadian organism. *Sci Adv*. 2015;1(5):e1500358. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500358>
54. Kovač U, Žužek Z, Dall'olio LR, et al. *Escherichia coli* affects expression of circadian clock genes in human hepatoma cells. *Microorganisms*. 2021;9(4):869. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040869>
55. Sartor F, Eelderink-Chen Z, Aronson B, et al. Are there circadian clocks in non-photosynthetic bacteria? *Biology (Basel)*. 2019;8(2):41. <https://doi.org/10.3390/biology8020041>

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kan Transfüzyon Merkezi ve Merkezi Sterilizasyon Ünitesinde Risk Değerlendirmesi

Risk Assessment in Medical Microbiology Laboratory, Blood Transfusion Center and Central Sterilization Unit

Kübra Derçin*, Burak Küçük*, Esra Kaya*, Nurettin Furkan Doğan**, Murat Aral*

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

** Fırat Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, İktisat Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Atf/Cite as: Derçin K, Küçük B, Kaya E, Doğan NF, Aral M. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarı, kan transfüzyon merkezi ve merkezi sterilizasyon ünitesinde risk değerlendirmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(1):10-20.

Öz

Amaç: Çalışmamızın amacı, iş yerindeki çalışma şartlarından, kullanılan malzeme, makine ve tesisattan, insan ve organizasyon hatalarından kaynaklanan tehlikeler dikkate alınarak çalışanların sağlık ve güvenliklerini etkileyebilecek tüm unsurların belirlenerek değerlendirilmesi ve risklerin kontrol altına alınması için bir kılavuz hazırlanmasıdır.

Yöntem: Araştırma kapsamında, internet ağı bazlı verilerin yanı sıra belirtilen birimlerde çalışan toplam altı yetkili bireyin (her birimden iki çalışan) ifadelerinden faydalanılmıştır. Risk değerlendirme çalışmasını yapan ekip; işveren, işyerinde sağlık ve güvenlik hizmetini yürüten iş güvenliği uzmanları ile işyeri hekimleri, laboratuvar yöneticileri, çalışmadaki bütün birimleri temsil edecek şekilde belirlenen, mevcut veya muhtemel tehlike kaynakları ile riskler konusunda bilgi sahibi çalışanlardır.

Bulgular: Mikrobiyoloji laboratuvarında kişisel koruyucu ekipman kullanımına dikkat edilmemesine bağlı enfeksiyon bulaşma riski ve gürültü riski yüksek risk olarak bulunmuştur. Sterilizasyon ünitesinde tüm riskler orta risk olarak belirlenmiştir. Kan transfüzyon merkezinde yanlış hastaya yanlış kan ürünü verilmesi riski yüksek risk olarak bulunmuştur.

Sonuç: Kişisel koruyucu ekipman kullanımına özen gösterilmeli, hasta numunelerinin barkodlandırılmalarına dikkat edilmeli, cihazların bakımı zamanında yapılmalıdır. Yüksek riskli durumlar orta seviyeye düşürülmeli, çalışanlar risk konusunda eğitilmelidir.

Anahtar kelimeler: Kan tranfüzyon merkezi, risk analizi, sterilizasyon ünitesi, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarı

ABSTRACT

Objective: The aim of our study is to determine and evaluate all factors that may affect the health and safety of the employees, considering the dangers arising from the working conditions in the workplaces, the materials, machinery and installations used, human and organizational errors, and to prepare a guide for controlling the risks.

Methods: Within the scope of the research, in addition to the internet web-based data, the statements of a total of six authorized individuals (two employees from each unit) working in the specified units were used. The team carrying out the risk assessment study, employers, occupational safety specialists who carry out health and safety services in the workplace, occupational physicians, laboratory managers, employees who are determined to represent all units in the study and who have information about the current or potential sources of the danger and risks.

Results: The risk of infection transmission and noise risk due to not paying attention to the use of personal protective equipment in the microbiology laboratory were found to be high risks. All risks in the sterilization unit were determined as medium risks. The risk of giving the wrong blood product to the patient in the blood transfusion center was found to be a high risk.

Conclusion: Attention should be paid to the use of personal protective equipments, barcoding of patient samples should be considered, and devices should be maintained on time. High-risk situations should be reduced to medium, and employees should be trained on the risk assessment procedures.

Keywords: Blood transfusion unit, medical microbiology laboratory, risk analysis, sterilization unit

Alındığı tarih / Received:
07.08.2022 / 07.August.2022

Kabul tarihi / Accepted:
17.10.2022 / 17.October.2022

Yayın tarihi / Publication date:
24.03.2023 / 24.March.2023

ORCID Kayıtları

K. Derçin 0000-0002-4290-1793
B. Küçük 0000-0001-5596-3347
E. Kaya 0000-0002-0732-6471
N. F. Doğan 0000-0002-2728-8660
M. Aral 0000-0002-3576-4380

✉ dr.burakkucuk@gmail.com

GİRİŞ

Risk, farklı bağlamlarda farklı anlamları olan karmaşık bir kavramdır. Risk; tehlikelerden kaynaklanan bir olayın, meydana gelme ihtimali ile zarar verme derecesinin bileşkesidir. Genel olarak risk, bir eylemin veya olayın zarar verme potansiyelini ifade eder⁽¹⁾. Riskin nasıl ifade edileceği, nasıl analiz edileceği ve risk değerlendirmesinin hasta güvenliğini iyileştirmek için bir araç olarak nasıl kullanılacağı dahil olmak üzere birçok problem risk değerlendirmesinin temel konularındandır⁽²⁾.

Hasta numunelerinin laboratuvar testlerinin yönetimi karmaşık bir süreçtir. Hatalar, test sürecinin herhangi bir noktasında ortaya çıkabilir. Bu nedenle laboratuvarlar, güvenilir ve doğru sonuçların üretilmesini sağlamak için adımlar atmalıdır. Test süreci haritalandırarak veya testin preanalitik, analitik ve postanalitik aşamaları boyunca numune izlenerek, potansiyel tehlike riski açısından süreçteki her adım incelenmelidir. Hastane ortamında mikrobiyoloji laboratuvarı, kan transfüzyon merkezi ve merkezi sterilizasyon ünitesi kaynaklı riskler genel olarak dört başlık altında toplanabilir. Kısaca özetlemek gerekirse bu riskler; biyolojik riskler (kesici delici alet yaralanmalarına bağlı enfekte kan ve vücut sıvılarından bulaşan Hepatit B, Hepatit C, HIV virüslerinin bulaşması), fiziksel riskler (gürültü, termal konfor şartları, elektrik, radyasyon, havalandırma, aydınlatma gibi çalışan sağlığını etkileyen faktörler), kimyasal riskler (etilen oksit, formaldehit, hidrojen peroksit, parasetik asit, gluteraldehit gibi kimyasallar), psikososyal riskler (fiziki ortam, ücret yetersizliği, iş yükündeki artma ve uzun çalışma saatleri, kişiler arası ilişkiler, yoğun ve istenmeyen şartlarda çalışma, malzeme ve ekipman yetersizliği, eksik eleman, sözel şiddet vb.) olarak gruplandırılabilir^(3,4).

Bu araştırma tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarı, kan transfüzyon merkezi ve merkezi sterilizasyon ünitelerinde tehlike belirleme ve risk değerlendirme çalışmalarını kapsamaktadır. Risk değerlendirme çalışmamızın temel amacı; işyerlerindeki çalışma şartlarından, kullanılan malzeme, makine ve tesisatlardan, insan ve organizasyon hatalarından kaynaklanan tehlikeler dikkate alınarak çalışanların sağlık ve güvenliklerini etkileyebilecek tüm unsurların belirlenerek değerlendirilmesi ve risklerin kontrol altına alınması için kılavuzun hazırlanmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih: 02.11.2021 ve Karar no: 01).

Araştırma Ocak 2021- Ocak 2022 tarihleri arasında gerçekleştirilmiş olup hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarı, kan transfüzyon merkezi ve merkezi sterilizasyon ünitelerini kapsamıştır. Araştırma kapsamında web bazlı verilerin yanı sıra belirtilen birimlerde çalışan toplam altı yetkili bireyin (her birimden iki çalışan) ifadelerinden faydalanılmıştır. Risk değerlendirme çalışmasını yapan ekip; işveren, işyerinde sağlık ve güvenlik hizmetini yürüten iş güvenliği uzmanları ile işyeri hekimleri, laboratuvar yöneticileri, çalışmadaki bütün birimleri temsil edecek şekilde belirlenen, mevcut veya muhtemel tehlike kaynakları ile riskler konusunda bilgi sahibi çalışanlardır.

Risk formülü: Risk = Olasılık x Şiddet

İlgili birimlerdeki bireylerin ifadelerine göre, her tehlike için bir risk tablosu çıkarılmıştır. Yapılan risk analizi çalışmasında tehlikelerin gerçekleşme olasılığı yapılan işin özelliğine, yoğunluğuna, ortam şartlarına ve mevcut personelin bilgi düzeyi ile mevcut organizasyon sistemine göre belirlenmiştir. Tehlikelerin gerçekleşmesi halinde olabilecek şiddet ise tehlike kaynağı ile kapsadığı alan ve çeşidi dikkate alınarak belirlenmiştir. Risk matrisi oluşturulurken kullanılan olasılık ve şiddet kriterleri Tablo 1’de verilen bilgilere göre belirlenmiştir. Bu değerler kullanılarak risk matrisi yani risk analizlerinin tablosu oluşturulmuştur. Bunun için ilgili birimlerdeki kişilerin olası risklere (tehlikelerden kaynaklanabilecek bir olayın, meydana gelme olasılığı ile bu olayın sonuçlarının ortaya çıkardığı zarar veya yaralanmanın şiddetinin bileşkesi) dair ihtimal skorları alınmıştır. Elde edilen değerler Tablo 2’ye göre yorumlanmıştır. Çıkan risk değerine göre Tablo 3’te belirtilen faaliyetler ve önlemler uygulanmalıdır.

Risk puanı (zarar verme derecesi): Değerlendirme puanlarına göre; kabul edilebilir risk, dikkate değer risk, kabul edilemez riskler belirlenmiştir. Buna göre düzeltici veya önleyici faaliyet önerilmiştir.

Tablo 1. Matris tablosu oluşturulurken kullanılan olasılık ve şiddet skalası

Olasılık (Oluşma Sıklığı, ihtimal)	Şiddet (Zarar verme derecesi)
Çok yüksek (5): Son bir ayda oluşmuş.	Çok ciddi (5): Ölüm
Yüksek (4): Son üç ayda oluşmuş.	Ciddi (4): Kalıcı hasar (ciddi yaralanma)
Orta (3): Son bir yılda birden fazla oluşmuş.	Orta (3): Hastanede yatarak tedavi
Küçük (2): Son bir yılda en fazla bir kez oluşmuş.	Hafif (2): İstirahat raporu
Çok küçük (1): Son 2-10 yıldır hiç rastlanmamış.	Çok hafif (1): İş gücü kaybı yok

Tablo 2. L Matris tablosu 5x5⁽⁵⁾

DERECE / ŞİDDET					
İhtimal	Çok hafif 1	Hafif 2	Orta 3	Ciddi 4	Çok ciddi 5
Çok küçük 1	Anlamsız 1	Düşük 2	Düşük 3	Düşük 4	Düşük 5
Küçük 2	Düşük 2	Düşük 4	Düşük 6	Orta 8	Orta 10
Orta 3	Düşük 3	Düşük 6	Orta 9	Orta 12	Yüksek 15
Yüksek 4	Düşük 4	Orta 8	Orta 12	Yüksek 16	Yüksek 20
Çok yüksek 5	Düşük 5	Orta 10	Yüksek 15	Yüksek 20	Kabul Edilemez 25

Tablo 3. Risk seviyesine göre yapılması gereken faaliyetler ve önlemler⁽⁵⁾

Risk seviyesi	Faaliyetler/önlemler
Anlamsız 1	☐ Önlem almaya ve kayıt tutmaya gerek yok
Düşük risk (tolere edilebilir) 2, 3, 4, 5, 6	☐ Ek kontrol gerekmiyor ☐ Dikkat ek bir maliyet yükü getirmeyecek daha etkin çözümlere veya iyileştirmelere verilmeli ☐ Mevcut kontrollerin uygulanıp uygulanmadığının takibi gerekir
Orta dereceli risk 8, 9, 10, 12	☐ Riski azaltmak için çaba sarf edilmeli ☐ İncelemenin maliyeti dikkatle ölçülmeli ve sınıflandırılmalı ☐ Risk azaltma önlemleri belirlenmiş zaman periyotlarında uygulanmalıdır ☐ Ciddiyet derecesinin yüksek olduğu, orta dereceli risklerin bulunduğu yerler için daha ileri değerlendirmeler gerekli olabilir
Yüksek dereceli risk 15, 16, 20	☐ Risk azaltılmadan çalışmaya başlanılmaz ☐ Risk kaynakları daha az riskli yöntemlerle değiştirilmelidir. Bu riskle işin devam etmesi halinde acil önlem paketleri devreye sokulmalıdır
Kabul edilemez risk 25	☐ Risk tolere edilebilir düzeye getirilene kadar işe başlanmaz ☐ Sınırsız kaynaklar kullanılmasına rağmen riski azaltmak mümkün olmuyorsa iş yasaklanmalı ve durdurulmalıdır.

BULGULAR

transfüzyon merkezi için yapılan risk analizleri Tablo 4-6'da gösterilmiştir.

Araştırmada elde edilen tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarı, merkezi sterilizasyon ünitesi ve kan

Tablo 4. Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan risk analizi

Genel Tehlike Adı	Mevcut Tehlike	Oluşacak Risk	Sonuç	Risk Değerlendirmesi		
				Olasılık	Şiddet	Risk Faktörü
Biyolojik riskler	Tıbbi atık kovasının kapağının açık tutulması	Vücuda bulaş riski ve inhalasyon yolu ile bulaş riski	Çalışanlarda enfeksiyon, bulaşıcı hastalık gelişmesi, ölüm	2	5	10
	Kişisel koruyucu ekipman kullanılmaması ve uygun ölçülerde olmaması	İlaç ajanlarının göze, cilde temas ile bulaş riski, inhalasyon yolu ile bulaş riski	Çalışanlarda enfeksiyon, bulaşıcı hastalık gelişmesi, ölüm	3	5	15
	Kesici delici atıkların uygun ayrıştırılmaması	Kesici delici alet Yaralanma riski	Çalışanlarda enfeksiyon, bulaşıcı hastalık gelişmesi, ölüm	2	5	10
	Enfeksiyonlu hasta numunesi alımı	Kan ve vücut sıvılarının cilde temas ile bulaş riski, inhalasyon yolu ile bulaş riski, Kesici delici alet yaralanma riski	Çalışanlarda enfeksiyon, bulaşıcı hastalık gelişmesi, ölüm	2	5	10
Tehlikeli kimyasalların kullanımından kaynaklanan riskler	Tehlikeli kimyasalların kapaklarının açık bırakılması	Dökülme, bulaş, inhalasyon	Yanma, alerjik reaksiyon, zehirlenme, kimyasal kaynaklı hastalık gelişmesi	2	4	8
	Kimyasalların uygun olmayan şekilde depolanmaması	Dökülme, bulaş, inhalasyon, patlama, yangın	Tesisin zarar görmesi, çalışanların yaralanması	2	3	6
	Kimyasala uygun kişisel koruyucu ekipman kullanılmaması	Bulaş, inhalasyon	Çalışanlarda yaralanma, kimyasal kaynaklı hastalık gelişmesi	2	4	8
	Kimyasalların "Ürün Güvenlik Bilgi Formları"nın (MSDS) olmaması	Hatalı kullanım, kimyasal hakkında bilgi eksikliği, yanlış depolama, patlama, yangın riski	Çalışanlarda yaralanma, kimyasal kaynaklı hastalık gelişimi hastanenin zarar görmesi	2	4	8
	Tehlikeli kimyasal atıkların karıştırılarak toplanması ve geçici depolanması	Patlama, yangın, toksik gaz çıkışı, inhalasyon	Çalışanlarda yaralanma, zehirlenme, kimyasal kaynaklı hastalık gelişmesi, hastanenin zarar görmesi	2	4	8
	Tehlikeli kimyasal atıkların lavaboya dökülmesi	Inhalasyon, patlama, toksik gaz çıkışı	Çalışanlarda zehirlenme, yanma, hastanenin zarar görmesi	2	4	8
Yangın riski	Elektrik prizlerinin açık olması, prizlere birden fazla fişin takılması, kabloların yerlerde dağınık bir şekilde olması, ezilmesi	Açık prizlere sıvı sıçraması, aşırı yüklenmeye bağlı elektrik kaçakları, yerde bulunan kabloların ezilmesi	Yangın, yaralanma, iş gücü kaybı, maddi hasar, prestij kaybı	2	4	8
Gürültü riski	Cihaz kullanımı	Mekanik gürültü oluşumu	Meslek hastalığı, stres	4	4	16
Alerji riski	Lateks eldiven kullanımı	Lateks alerjisi	Meslek hastalığı, ciltte tahriş	3	4	12
	El antiseptiklerinin kullanımı	Kimyasal alerjisi	Meslek Hastalığı, ciltte tahriş	3	4	12
	Yüzey dezenfektan kullanımı	Kimyasal alerjisi	Ciltte tahriş meslek hastalığı	3	4	12

Tablo 4. Kan transfüzyon merkezi genel tehlikeler ve risk analizi (devam)

Genel Tehlike Adı	Mevcut Tehlike	Oluşacak Risk	Sonuç	Risk Değerlendirmesi		
				Olasılık	Şiddet	Risk Faktörü
Ergonomik riskler	Uzun süre aynı pozisyonda çalışma	Kas iskelet sistemi rahatsızlığı	Yaralanmalar	4	3	12
	Uzun süre oturma ve uzun süre ayakta kalma	Kas iskelet sistemi rahatsızlığı	Yaralanmalar	4	3	12
	Birim içi malzeme taşınması	Kas iskelet sistemi rahatsızlığı	Yaralanmalar	2	3	6
	Uzun süre bilgisayar kullanımına bağlı el bileği rahatsızlıkları	Kas iskelet sistemi rahatsızlığı	Meslek hastalığı	2	4	8
	Islak ve kaygan zemin	Çarpma, kayma, düşme	Yaralanmalar	2	3	6
İletişim kaynaklı riskler	İddia ya da dava edilme riski	Hasta/hasta yakını tarafından	Stres gelişimi	2	3	6
	Fiziksel şiddet (saldırı, darp vs.)	Hasta/hasta yakını tarafından	Stres gelişimi, psikolojik rahatsızlıklar	2	3	6
	Sözel şiddet (Hakaret, tehdit, iftira vs.)	Hasta/hasta yakını tarafından	Stres gelişimi, psikolojik rahatsızlıklar	2	3	6
	Mobing	Çalışanlar arasındaki olumsuz iletişim ve baskı oluşması	İş gücü kaybı, strese bağlı hastalıklar	3	3	9
Stres oluşumu	Aşırı iş yükü ve alan dışı görevlendirmeler, fazla mesai ve nöbetler	Uykusuzluk yorgunluk dikkat dağınıklığı	Hatalı uygulamalar psikolojik ve fizyolojik rahatsızlıklar	2	4	8
Elektrik kaynaklı riskler	Cihazların periyodik bakım ve muayenelerinin yapılmaması	Elektrik çarpması elektrik kaçağı	Yaralanmalar, yangın İş gücü kaybı, maddi kayıp, prestij kaybı ölümler	2	5	10

Tablo 5. Merkezi sterilizasyon ünitesinde yapılan risk analizi⁽¹⁰⁾

Mevcut Tehlike	Oluşacak Risk	Risk Değerlendirmesi		
		Olasılık	Şiddet	Risk Faktörü
Sterilizasyon ve dezenfeksiyon makinelerinin topraklamalarının bulunmaması	Uzuv kayıplı, yaralanmalı veya iş kaybı oluşturan kaza	3	4	12
Sterilizasyon ve dezenfeksiyon makinelerinin acil durdurma butonlarının bulunmaması	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Çalışanların gerekli kişisel koruyucu donanımları kullanmaması	Ölümlü kaza ciddi çevresel olay	2	5	10
Basınçlı hava ve su tabancasının hortumunun kırılması, katlanması, üzerine malzeme konulması	Uzuv kayıplı, yaralanmalı veya iş kaybı oluşturan kaza	2	4	8
Basınçlı hava ve su tabancalarının hortumlarının basınçla geri tepmesi çarpma ve yaralanma olması	Uzuv kayıplı, yaralanmalı veya iş kaybı oluşturan kaza	2	4	8
Kesici ve delici kirli malzemelerin taşınması esnasında düşmesi	Ölümlü kaza ciddi çevresel olay	2	5	10
Malzemelerin otoklav sterilizatör makinesinden çıkarılırken kişisel koruyucu donanım (KKE) kullanılmaması	Ölümlü kaza ciddi çevresel olay	2	5	10
Kompresör motorunun otomatik olarak durmasını sağlayacak tertibatın olmaması sonucu patlama meydana gelmesi	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Kompresör ile çalışmada emniyet subaplarının test edilmemesi	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Havalandırma sisteminin yetersiz olmasından kaynaklı cihazların ve elektrik aksamların terleme yapması sonucu yangın	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Sterilizasyon alanında uygunsuz yüksekte çalışma	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Taşıma arabalarının fren tertibatının olmaması ya da çalışır durumda olmaması	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Sterilizasyon içerisinde bulunan yükleme boşaltma arabalarının uygun olmayan yıkama makinesinde kullanılmaya çalışılması	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Sterilizasyon içerisinde bulunan taşıma arabalarının makine uyumlu düğmelerinin arızalı olması	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Teknik ekibin makine ve donanımlara müdahale ederken uygun ekipman ve KKE kullanmaması	Ölüm, Tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Formaldehit gazı ölçümünün yapılmaması	Ölümlü kaza, ciddi çevresel olay	2	5	10
Hidrojen peroksit gazına maruz kalınması	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Formaldehit ve hidrojen peroksitin dökülme saçılması durumunda uygun temizleme kiti ve KKE olmadan müdahale edilmesi	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Kompresörün koruma duvarının olmaması	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10
Yıllık teknik periyodik bakım gerektirecek ekipmanların kontrollerinin olmaması	Ölüm, tam maluliyet, ağır çevresel etki	2	5	10

Tablo 6. Kan transfüzyon merkezi genel tehlikeler ve risk analizi

Genel Tehlike Adı	Mevcut Tehlike	Oluşacak Risk	Sonuç	Risk Değerlendirmesi		
				Olasılık	Şiddet	Risk Faktörü
Transfüzyon sürecine ilişkin riskler	Kayıt sırasında donörün yanlış tanımlanması	İleri süreçte transfüzyon sırasında yanlış eşleştirme	Hastaya yanlış transfüzyon işlemi gerçekleşmesi, ciddi hastalık veya ölüm	2	5	10
	Yapılan testlerde elektronik arıza oluşması	Numune israfı, yanlış kan testi sonucu	Yanlış transfüzyona neden olabilecek kan testi sonucu	2	3	6
	Yanlış hastaya yanlış numune verilmesi	Uyumsuz eşleşmeye bağlı komplikasyon oluşumu	Hastada ciddi yaralanma ya da ölüm	3	5	15
Biyolojik riskler	Tıbbi atık kovasının kapağının açık tutulması	Vücuda bulaş riski ve inhalasyon yolu ile bulaş riski	Çalışanlarda enfeksiyon, hastalık gelişmesi, ölüm	2	5	10
	Kişisel koruyucu ekipman kullanılmaması ve uygun ölçülerde olmaması	İlaç ajanlarının göze, cilde temas ve inhalasyon yoluyla bulaş riski	Çalışanlarda enfeksiyon, bulaşıcı hastalık gelişmesi, ölüm	2	5	10
	Kesici delici atıkların uygun ayrıştırılmaması	Kesici delici alet yaralanma riski	Çalışanlarda enfeksiyon, bulaşıcı hastalık gelişmesi, ölüm	2	5	10
	Enfeksiyonlu hasta numunesi alımı	Kan ve vücut sıvılarının cilde temas ve inhalasyon yoluyla bulaş riski, kesici delici alet yaralanma riski	Çalışanlarda enfeksiyon, bulaşıcı hastalık gelişmesi, ölüm	2	5	10
Tehlikeli kimyasalların kullanımından kaynaklanan riskler	Tehlikeli kimyasalların kapaklarının açık bırakılması	Dökülme, bulaş, inhalasyon	Yanma, alerjik reaksiyon, zehirlenme, kimyasal kaynaklı hastalık gelişmesi	2	4	8
	Kimyasalların uygun depolanmaması	Dökülme, bulaş, inhalasyon, patlama, yangın	Tesisin zarar görmesi, çalışanların yaralanması	2	3	6
	Kimyasala uygun kişisel koruyucu ekipman kullanılmaması	Bulaş, inhalasyon	Çalışanlarda yaralanma, kimyasal kaynaklı hastalık gelişmesi	2	3	6
	Kimyasalların ürün güvenlik bilgi formlarının (MSDS) olmaması	Hatalı kullanım, kimyasal hakkında bilgi eksikliği, yanlış depolama, patlama, yangın	Çalışanlarda yaralanma, kimyasal kaynaklı hastalık gelişimi hastanenin zarar görmesi	2	3	6
	Tehlikeli kimyasal atıkların karıştırılarak toplanması ve geçici depolanması	Patlama, yangın, toksik gaz çıkışı, inhalasyon	Çalışanlarda yaralanma, zehirlenme, kimyasal kaynaklı hastalık gelişmesi, hastanenin zarar görmesi	2	3	6
	Tehlikeli kimyasal atıkların lavaboya dökülmesi	İnhalasyon, patlama, toksik gaz çıkışı	Çalışanlarda zehirlenme, yanma, hastanenin zarar görmesi	2	3	6
Yangın riski	Elektrik prizlerinin açık olması, prize birden fazla fişin takılması, kabloların yerlerde dağınık şekilde olması	Açık prize sıvı sıçraması, aşırı yüklenmeye bağlı elektrik kaçakları, yerde bulunan kabloların ezilmesi	Yangın, yaralanma, iş gücü kaybı, maddi hasar, prestij kaybı	2	3	6
Gürültü riski	Cihaz kullanımı	Mekanik gürültü oluşumu	Meslek hastalığı stres	2	2	4
Allerji riski	Lateks eldiven kullanımı	Lateks alerjisi	Meslek hastalığı ciltte tahriş	3	2	6
	El antiseptiklerinin kullanımı	Kimyasal alerjisi	Meslek hastalığı ciltte tahriş	3	2	6
	Yüzey dezenfektan kullanımı	Kimyasal alerjisi	Ciltte tahriş meslek hastalığı	2	2	4

Tablo 6. Kan transfüzyon merkezi genel tehlikeler ve risk analizi (devam)

Genel Tehlike Adı	Mevcut Tehlike	Oluşacak Risk	Sonuç	Risk Değerlendirmesi		
				Olasılık	Şiddet	Risk Faktörü
Ergonomik riskler	Uzun süre aynı pozisyonda çalışma	Kas iskelet sistemi rahatsızlığı	Yaralanmalar	3	2	6
	Birim içi malzeme taşınması	Kas iskelet sistemi rahatsızlığı	Yaralanmalar	2	2	4
	Uzun süre bilgisayar kullanımına bağlı el bileği rahatsızlıkları	Kas iskelet sistemi rahatsızlığı	Meslek hastalığı	2	2	4
	Islak ve kaygan zemin	Çarpma, kayma, düşme	Yaralanmalar	2	2	4
İletişim Kaynaklı Riskler	İddia ya da dava edilme riski	Hasta/hasta yakını tarafından	Stres gelişim	2	2	4
	Fiziksel şiddet (saldırı, Darp vs.)	Hasta/hasta yakını tarafından	Stres gelişimi Psikolojik rahatsızlıklar	2	2	4
	Sözel şiddet (hakaret, tehdit, iftira vs.)	Hasta/hasta yakını tarafından	Stres gelişimi, psikolojik rahatsızlıklar	2	2	4
	Mobbing	Ast üst ve çalışanlar arasındaki olumsuz iletişim ve baskı oluşması	İş gücü kaybı strese bağlı hastalıklar	2	2	4
	Çalışanlar arasında sözlü ve fiziksel şiddet	Çalışanlar arasında	İş gücü kaybı strese bağlı hastalıklar	3	2	6
Stres oluşumu	Aşırı iş yükü ve alan dışı görevlendirmeler, fazla mesai ve nöbetler	Uykusuzluk, yorgunluk, dikkat dağınıklığı	Hatalı uygulamalar, psikolojik ve fizyolojik rahatsızlıklar	3	2	6
Elektrik kaynaklı riskler	Cihazların periyodik bakım ve muayenelerinin yapılmaması	Elektrik çarpması Elektrik kaçağı	Yaralanmalar, yangın, iş gücü kaybı, maddi kayıp, prestij kaybı, ölümler	2	5	10

TARTIŞMA

Risk, önleyici faaliyetlerle önlenebilecek güvenlik açıklarından kaynaklanan bir hasar olasılığı veya tehditidir. Risk değerlendirmesi, potansiyel tehlikeleri belirleme ve bir tehlike oluştuğunda neler olabileceğini analiz etme sürecidir⁽⁶⁾.

Mikroorganizmalarla, özellikle patojenlerle çalışmak, özel ekipman ve güvenlik uygulamaları gerektirir. Bu nedenle hastanelerdeki mikrobiyoloji laboratuvarlarında da risk değerlendirmesi yapılması önemlidir. Mikrobiyoloji laboratuvarında risk değerlendirmesi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında Türk'ün⁽⁷⁾ Ege Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapmış olduğu risk değerlendirmesinde en önemli risk faktörlerinin kimyasalların uygun depolanmaması, kan, vücut sıvıları ve solunum yolu aracılığıyla bulaşların meydana gelmesi, fiziksel tehlikeler açısından da

elektrik ve basınç olduğu sonucuna varılmıştır. Elde edilen sonuçlar kapsamında çalışan güvenliğinin sağlanması için uygun biyogüvenlik önlemlerinin alınmasının hastane politikaları ile gerçekleştirilmesi önerilmiştir. Koroğlu ve ark.nın⁽⁸⁾ farklı illerden 23 hastanenin mikrobiyoloji laboratuvarlarını kapsayan risk değerlendirmesi çalışmasında KKE'lerin uygun olmayan ya da yanlış kullanımı, laboratuvarda yiyecek ve içecek tüketimi, laboratuvar çalışanlarının ve temizlik personelinin tıbbi atık kullanımına dair kurallara yeterince riayet etmemesi başlıca risk faktörleri olarak tespit edilmiştir. Çalışma bulgularına göre laboratuvarlara yiyecek ve içecek girişinin engellenmesi, ekipman ve fiziki mekan eksikliklerinin giderilmesi, tıbbi atık kullanımı ve KKE'lerin uygun kullanımına dair tüm personellere periyodik eğitimlerin verilmesine yönelik hastane politikalarının geliştirilmesinin gerekliliği ortaya koyulmuştur. Demirkan'ın⁽⁹⁾ bir üniversite hastanesi laboratuvarında yaptığı risk analizi çalışmasında çalışanların yanlış ve eksik KKE kullanımı sonucunda

kesici ve delici alet yaralanmaları yaşamaları, çalışanların çalışma ortamına ilişkin risklere dair farkındalık ve bilgi düzeylerinin yetersiz oluşu, yetersiz aydınlatma ve elektrik çarpması gibi fiziki mekân ilişkili kazaların meydana gelmesi sıklıkla görülen risk faktörleri olarak bulunmuştur. Bu bağlamda fiziki mekân, ergonomik koşullar, personel eğitimine yönelik önlemlerin alınmasının önemi vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda da mikrobiyoloji laboratuvarında düşük, orta ve yüksek riskli durumların var olduğu ancak tolere edilemez şiddetteki risklerin bulunmadığı tespit edilmiştir. Biyolojik risklerden KKE'nin yetersiz ve yanlış uygulanması, gürültü oluşumu yapan cihaz kullanımı yüksek risk olarak bulunmuştur. Bu risklerden KKE hususunda mevcut önlemler kapsamında yeterli KKE olduğu ve çalışanların bu konuda eğitim aldıkları belirtilmiştir. Bu durumlara karşı el hijyeni uyum eğitimlerine daha fazla katılımın sağlanması ve KKE'lerin uygun kullanılmasına dair daha sık denetim yapılması gerekmektedir. Gürültülü cihaz kullanımında ise, iş ortamında kullanılan makinelerin gürültü düzeyi düşük olanlar ile değiştirilmesi, gürültü kaynağının ayrı bir bölmeye alınması, çevrede duvar, tavan, taban gibi sesin geçebileceği ve/veya yansıyabileceği yerleri ses emici malzeme ile kaplamak, gürültülü ortamdaki çalışma süresinin kısaltılması, gürültüye karşı etkin kişisel koruyucular kullanmak, kulak tıkaçları, manşon tipi kulak koruyucuları, işitme koruyucu baretler alınabilecek önlemlerdir.

Sterilizasyon hizmetleri, patojenlerin kan ve diğer biyolojik sıvılar yoluyla cerrahi aletlerle bulaşması durumunda mücadele etmek için önemli bir unsurdur. Sterilizasyon ünitelerinde risk değerlendirmesi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında Karabulut ve ark.⁽¹⁰⁾ yaptıkları çalışmada yetersiz ve yanlış KKE kullanımı, sterilizasyon ekipmanlarının çalışmasına ilişkin basınç ve elektrik ilişkili kazaların gerçekleşmesi, sterilizasyon cihazlarının düzenli kontrol ve bakımlarının yapılmaması, çalışan sağlığını riske atabilecek toksik gaz kaçaklarına dair yeterli tedbirlerin alınmaması ve fiziki mekanın yeterli havalandırılmaması unsurlarını yüksek riskli olarak belirlemişlerdir. Dağlı'nın⁽¹¹⁾ merkezi sterilizasyon ünitelerinde risk değerlendirmesi yaptığı çalışmada diğer çalışmalarla benzer şekilde havalandırma sistemi sorunlarına, KKE kullanımına dair hatalar

ve eğitim eksikliklerine, karsinojenik kimyasalların kullanımına ve atık yönetimindeki aksaklıklara dikkat çekerken bunlara ek olarak çalışanların sağlık kontrollerinin periyodik olarak yapılmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da basınçlı hava ve su tabancasının hortumunun kıvrılması, katlanması, üzerine malzeme konulması, basınçlı hava ve su tabancalarının hortumlarının basınçla geri tepmesi çarpma ve yaralanma olması (fiziki mekan), teknik ekibin makine ve donanımlara müdahale ederken uygun ekipman ve KKE kullanmaması, formaldehit gazı ölçümünün yapılmaması, hidrojen peroksit gazına maruz kalınması, formaldehit ve hidrojenperoksitin dökülme saçılması durumunda uygun temizleme kiti ve KKE olmadan müdahale edilmesi orta şiddetli riskler olarak belirlenmiştir⁽¹⁰⁾.

Kan transfüzyon merkezinde yapılan risk değerlendirmesi çalışmalarına bakıldığında Bolcato ve ark.⁽¹²⁾ yaptıkları çalışmada hasta kan yönetimi programlarından biriken kanıtları birleştirerek, klinik risk yönetimi bağlamında bu tehlikelerin olası tıbbi hukuki etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Yapılan bu çalışmada hasta kan yönetiminin uygulanması yoluyla transfüzyonun önlenilebileceği ters bir transfüzyon olayı, tıbbi profesyonel tıbbi ihmal için bir profil oluşturabileceği tespit edilmiştir. Hasta güvenliğini en üst düzeye çıkarmak amacıyla, transfüzyon tıbbi uygulama kültürünün, hastanelerin allojenik kan transfüzyonu risklerini en aza indirmek için önemli bir araç olarak uygulanmasıyla birlikte, hasta kan yönetimi yaklaşımına doğru kayması gerektiği önerilmiştir. Cagliano ve ark.⁽¹³⁾ yaptıkları çalışmada kan transfüzyonunu, işlenen ürünlerin doğası ve ilgili alt süreçler arasındaki güçlü karşılıklı bağımlılıktan kaynaklanan karmaşıklık nedeniyle kritik bir sağlık bakım süreci olarak tanımlamışlardır. Chadrashekar ve ark.⁽¹⁴⁾ yaptıkları çalışmada her kan merkezinin donör, alıcı veya transfüzyon süreci ile ilgili riskleri tespit etmesi ve bunların oluşmasını önlemek veya en azından risk seviyesini kabul edilebilir bir düzeye indirmek için düzeltici ve önleyici tedbirler alınmasının önemine dikkat çekmişlerdir. Bunun yanında, risk azaltmanın devam eden bir süreç olduğu ve her kan merkezinin hem kendi yararına hem de ülkenin yararına bir hemovijilans programına katılması gerekliliğine vurgu yapılmıştır. Bizim çalışmamızda da yanlış hastaya yanlış numune

verilmesi yüksek riskli, diğer tüm durumlar düşük ve orta riskli bulunmuştur. Kayıt masasından itibaren hasta kaydının doğru tutulması, laboratuvar testlerinde barkodlama sistemi ile numunelerin dikkatli etiketlenmesi, hastaya nakil öncesi bilgilerin tekrar kontrolü, transfüzyon yapılacak numunelerin barkodlanarak saklanması, kimlik bilgilerinin sistemde kaydının denetlenmesi gibi önlemlerin bu riskleri büyük oranda azaltacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Sonuç olarak çalışanların KKE kullanımına dikkat edilmeli, doğru ve uygun kullanılması için gerekli eğitimler planlanmalıdır. Birimlerde mutlaka göz duşları bulundurulmalıdır. Kan transfüzyon merkezinde doğru kimlik tanımlaması evraklarla kontrol ve kayıt altına alınmalıdır. Her üç birimde de kullanılan cihazların topraklandırılmasına dikkat edilmeli, elektrik kabloları uygun şekilde düzenlenmeli, cihazların acil durdurma butonları bulundurulmalı, kullanılan prizlerin kesintisiz güç kaynağına bağlı bulunması sağlanmalıdır. Daha az gürültü çıkaran fanlar kullanılmalı, bu konuda gerekli eğitimler verilmeli, gereken KKE temin edilmelidir. Formaldehit gazı ölçümü uygun şekilde ve sayıda yapılmalı, formaldehit ve hidrojen peroksitin dökülme saçılması durumunda uygun temizleme kiti ve KKE ile temizlenmesi sağlanmalıdır. Laboratuvar çalışanlarının kullanılan cihazların kullanıcı eğitimlerini almaları sağlanmalıdır. Cihazların bakımları, cihazın temizlik ve dezenfeksiyonuna uygun yöntemlerle yapılmalıdır. Basınçlı hava su tabancalarında hortumunun basınçla geri tepmesi olaylarının yaşanmaması için gerekli eğitim çalışanlara sık sık verilmelidir. Birimlerde uygun sayıda ve alanlarda kesici delici alet kutusu bulundurulmalıdır. Ergonomik risklerin azaltılması için çalışanlar arasında rotasyonlar uygulanmalı, çalışanların düzenli egzersiz yapması önerilmelidir. Laboratuvarlarda kullanılan kimyasallar kılavuzlara göre kullanılmalı ve depolanmalıdır. Çalışanlar arasında sözlü ve fiziksel şiddetin önlenmesi için personelin birbiri ile iletişimi iyileştirilmeli, gerekli psikolojik destek sağlanmalı ve gerekli aktiviteler yapılmalıdır. Çalışanların kullanması için mümkünse lateks yerine nitril eldivenler temin edilmelidir. Tüm personele yangın söndürme eğitimi verilmeli, yeterli miktarda yangın söndürme cihazı bulundurulmalıdır.

Personellerin yıllık izinlerini kullanabilmesi için personel sayısı artırılmalı, personeller mümkünse molalı şekilde çalıştırılmalıdır. Son olarak düşük riskli durumların orta seviyeye yükselmemesi ve tüm risklerin daha önlenabilir olması açısından çalışanlar çalışma ortamı tehlike ve riskleri açısından eğitilmeli, bilgi ve farkındalıkları artırılmalıdır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih: 02.11.2021 ve Karar no: 01).

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Kahramanmaraş Sütçü İmam University Non-invasive Clinical Research Ethics Committee (Date: 02.11.2021 and Decision no: 01).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Azadeh A, Fam IM, Khoshnoud M, Nikafrouz M, Nouri J. Design and implementation of a fuzzy expert system for performance assessment of an integrated health, safety, environment (HSE) and ergonomics system: The case of a gas refinery. Inform Sci. 2008;178(22):4280-300. <https://doi.org/10.1016/j.ins.2008.06.026>
2. Eidsen K, Sollid SJM, Aven T. Risk assessment in critical care medicine: A tool to assess patient safety. J Risk Res. 2009;12(3-4):281-94. <https://doi.org/10.1080/13669870802456914>
3. Sewell DL. Laboratory-acquired infections: Are microbiologists at risk? Clin Microbiol Newsl. 2006;28(1):1-6. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2005.12.004>
4. Dehnavieh R, Ebrahimipour H, Molavi-Taleghani Y, Vafaee-Najar A, Noori Hekmat S, Esmailzadeh H. Proactive risk assessment of blood transfusion process, in pediatric emergency, using the Health Care Failure Mode and Effects Analysis (HFMEA). Glob J Health Sci. 2015;7(1):322-31. <https://doi.org/10.5539/gjhs.v7n1p322>

5. Nichols JH. Laboratory quality control based on risk management. *Ann Saudi Med.* 2011;31(3):223-8. <https://doi.org/10.4103/0256-4947.81526>
6. McGowan J, Wojahn A, Nicolini JR. Risk management event evaluation and responsibilities. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559326] (Erişim tarihi: Ocak 2022).
7. Türk M. Bir üniversite hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarında risk değerlendirilmesi. *Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi.* 2012;12(43):27-33.
8. Koroglu M, Altındış S, Aydemir Ö, Yüksel B. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında çalışan güvenliği ve biyogüvenlik uygulamaları açısından Türkiye’de çok merkezli bir değerlendirme. *Mikrobiyol Bul.* 2020;54(3):347-67. <https://doi.org/10.5578/mb.69634>
9. Demirkan C. Sağlık hizmetleri sektöründe risk değerlendirmesi: Hastane merkez laboratuvarı örneği [Tıpta uzmanlık tezi]. Edirne: Trakya Üniversitesi, 2015.
10. Karabulut C, Canbaz B, Kandemir G. Merkezi sterilizasyon ünitesinde çalışanlarda iş sağlığı ve güvenliği uygulamaları ve risk değerlendirme çalışması. *J Med Sci.* 2021;2(3):32-41. <https://doi.org/10.46629/JMS.2021.46>
11. Dağlı G. Merkezi sterilizasyon ünitesi çalışanlarının güvenliği, ünitelerde korunma ve örgütlenme modelleri. 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 4-8 Nisan, 2007, Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon Derneği, Antalya.
12. Bolcato M, Russo M, Trentino K, Isbister J, Rodriguez D, Aprile A. Patient blood management: The best approach to transfusion medicine risk management. *Transfusion and apheresis science.* 2020;59(4):102779. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.102779>
13. Cagliano AC, Grimaldi S, Rafele C. A structured approach to analyse logistics risks in the blood transfusion process. *J Healthc Risk Manag.* 2021;41(2):18-30. <https://doi.org/10.1002/jhrm.21458>
14. Chadrashekar S, Kanthraraj A. Risk mitigation in blood transfusion services – A practical approach at the blood center level. *Glob J Transfus Med.* 2019;4(2):132-9. https://doi.org/10.4103/GJTM.GJTM_58_19

***Mucor circinelloides*'in Maya ve Küf Dönüşümünün Gösterilmesi ve İki Formun *Galleria mellonella* Enfeksiyon Modelinde Virülansının Değerlendirilmesi**

Transformation of Yeast and Mould Forms *Mucor circinelloides* and the Assessment of its Virulence on *Galleria mellonella* Larvae Model in Vivo

Funda Karakurt[✉], Ayşe Kalkancı[✉]

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

Atıf/Cite as: Karakurt F, Kalkancı A. *Mucor circinelloides*'in maya ve küf dönüşümünün gösterilmesi ve iki formun *Galleria mellonella* enfeksiyon modelinde virülansının değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(1):21-27.

Öz

Amaç: *Mucoromycotina* alt şubesinin *Mucorales* takımında sınıflandırılan *Mucor circinelloides* esasen endüstriyel, biyoteknolojik ve tarımsal öneme sahip, nadiren de tıbben önemi olan, oksijene bağlı dimorfizm gösteren saprofit bir mantardır. Bu çalışmanın amacı, *M. circinelloides*'in maya ve küf dönüşümünün gösterilmesi ve bu iki formun *in vivo* virülansının larva modelinde gösterilmesidir.

Yöntem: *Mucor circinelloides*'in anaerobik ve aerobik koşullarda üreyen kolonilerinin maya ve küf dönüşümü gerçekleştirilmiş, küften mayaya ve mayadan küfe dönüşümleri gözlenmiştir. Koloniler boyasız olarak veya laktofenol pamuk mavisi ve metilen mavisi ile boyanarak mikroskop altında incelenmiştir. Rastgele seçilmiş 70 adet *Galleria mellonella* larvası *in vivo* model olarak kullanılmıştır. Enfeksiyon oluşturulan larvalar 30°C'de bekletilmiş ve her gün canlı kalan larva sayıları hesaplanarak virülans özellikleri karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Sabouraud dekstroza agarda (SDA) 37°C etüvde 96 saatlik inkübasyonun ardından küf kolonisi elde edilmiştir. Küf kolonisinden yapılan ekim, hava sızdırmaz kap içerisinde 25°C'de, 96 saat inkübasyonun ardından maya formuna dönüşmüştür. Küf ve maya formu ile enfekte edilen larvaların hayatta kalım oranları benzer bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızda, *M. circinelloides*'in dimorfik maya ve küf formları ile oluşturulan *Galleria mellonella* enfeksiyon modelleri arasında belirgin bir virülans farkının olmadığı saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Mucor circinelloides*, virülans, dimorfizm, *Galleria mellonella*

ABSTRACT

Objective: *Mucor circinelloides* is a saprophytic fungus classified under *Mucorales* order of subphylum *Mucoromycotina* and showing dimorphism-dependence on oxygen, with medical, industrial, biotechnological and agricultural significance. The aim of this study is to show the transformation of *M. circinelloides* yeast and mould forms and to reveal the virulence characteristics of these two forms in an *in vivo* *Galleria mellonella* larvae model.

Methods: *M. circinelloides* was incubated under anaerobic and aerobic conditions to show its mould to yeast and yeast to mould transformation. Yeast and mould forms were examined under the microscope with direct uncoloured, lactophenol cotton blue and methylene blue preparations. Randomly selected 70 larvae were used as *in vivo* larvae model. Infected larvae were incubated under 30°C and the number of survived larvae was documented; thus the virulence of the yeast and mould forms were compared.

Results: Mould colony was isolated after 96 hours of incubation at 37°C on Sabouraud dextrose agar plates. Subcultured mould colony transformed into the yeast form after 96 hours of incubation at 25°C in a desiccator box. Survival rates of larvae infected by yeast and mould forms were found to be similar.

Conclusion: We concluded that there was no significant difference between virulence of *M. circinelloides* yeast and mould forms in *G. mellonella* larvae model.

Keywords: *Mucor circinelloides*, virulence, dimorphism, *Galleria mellonella*

Alındığı tarih / Received:
25.03.2022 / 25.March.2022

Kabul tarihi / Accepted:
25.11.2022 / 25.November.2022

Yayın tarihi / Publication date:
24.03.2023 / 24.March.2023

ORCID Kayıtları

F. Karakurt 0000-0002-1380-0379
A. Kalkancı 0000-0003-0961-7325

✉ fnddmr@gmail.com

GİRİŞ

Mucor circinelloides, taksonomik olarak yeni tanımlanan Mucoromycotina alt şubesi içindeki Mucorales takımında yer alır. Oksijene bağımlı olarak dimorfizm gösterir. Tüm dünyada yaygın olarak toprakta ve gübre içeriğinde bulunur. Bilinen bir mikotoksin ürettiği gösterilememiştir. Sığır, domuz gibi çiftlik hayvanları ile kümes hayvanlarında ve insanlarda enfeksiyon etkeni olduğu bilinmektedir^(1,2). İnsanlarda en çok beş türün enfeksiyon etkeni olduğu gösterilmiş olmakla birlikte, tanımlanmış en az elli tür bulunmaktadır. İnsanlarda enfeksiyon etkeni türler; *Mucor circinelloides*, *Mucor indicus*, *Mucor ramosissimus*, *Mucor hiemali* ve *Mucor racemosus*'tur⁽³⁾.

Fırsatçı patojen olan *M. circinelloides*'in enfeksiyon oluşturabilmesi için konak faktörleri kadar, mantarın sahip olduğu virülans faktörlerinin de önemi vardır. Diyabeti olan, AIDS gelişmiş, hematolojik kanser nedeniyle kök hücre nakli yapılmış hasta grubunda bağışıklık sistemi baskılanması nedeniyle mukormikoz gelişmektedir⁽⁴⁾. Bağışık sistemin bozulduğu her durumda, doğada bulunan saprofit mantarlar insanlarda mantar enfeksiyonu etkeni olabilir. Mantarların hastalık yapabilmelerindeki temel virülans faktörü insan vücudundaki sıcaklığa uyum sağlayabilmeleri ve bağışık sisteme direnç gösterme mekanizmalarıdır⁽⁵⁾.

Mantarlarda dimorfizmin uyarılması genel olarak virülans ile ilişkilidir. Ancak, dimorfik bir mantar olan *M. circinelloides*'in maya ve küf formunun virülans farkları tam olarak ortaya çıkarılmamıştır. *Mucor circinelloides* anaerobik inkübasyon ile maya formunda, aerobik inkübasyon ile küf formunda üremektedir. Oksijen bağımlı bu dönüşüm, dimorfik mantarların patogenezi, virülansı ve yaşam döngüsü için kritik öneme sahiptir⁽⁶⁻⁸⁾.

Bu çalışmada, *M. circinelloides*'in maya ve küf koloni dönüşümünün besiyerinde gösterilmesi ve her iki formun larva modelinde virülans özelliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın hipotezi, küf ve maya formları arasında *in vivo* virülans özelliklerinin farklı olduğudur. Bu hipotezi doğrulamak

amacıyla, *M. circinelloides*'in anaerobik ve aerobik koşullarda oluşan maya ve küf formları ile mum güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* larvasında deneysel enfeksiyon oluşturulmuş ve larvaların sağ kalım oranları karşılaştırılmıştır.

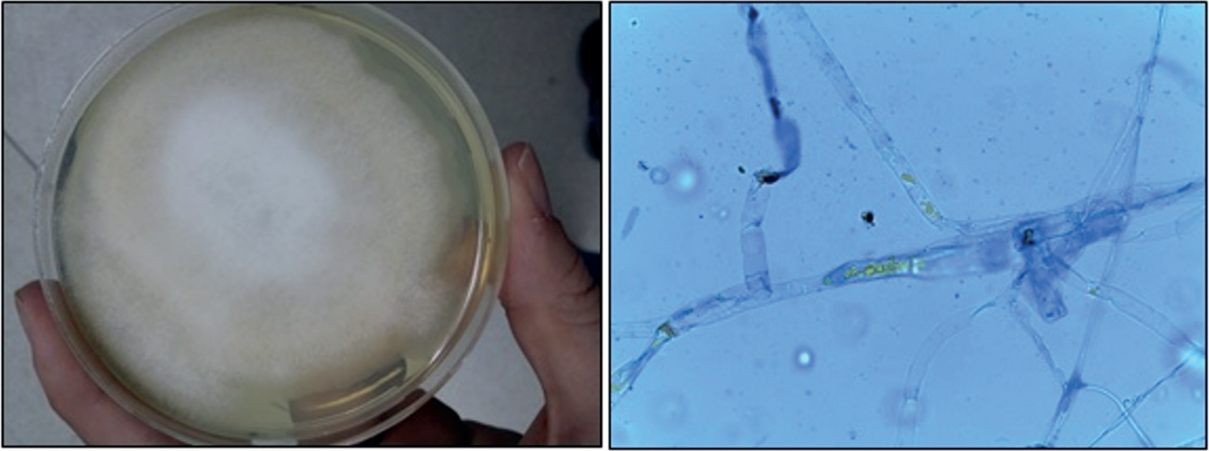
GEREÇ ve YÖNTEM

Maya ve küf dönüşümü: Arşivimizde -80°C de saklanan *M. circinelloides* kökenleri (NBRC 4554 ve NBRC 5774 kökenleri) canlandırılarak kullanılmıştır. Canlandırılan *M. circinelloides* kolonileri 24°C, 30°C, 37°C'lik etüvde 24-96 saatlik aerobik ve anaerobik inkübasyonla takip edilmiştir. Üreyen küf ve maya kolonileri laktofenol pamuk mavis, metilen mavis ve boyasız direk inceleme ile mikroskop altında değerlendirilmiştir^(9,10).

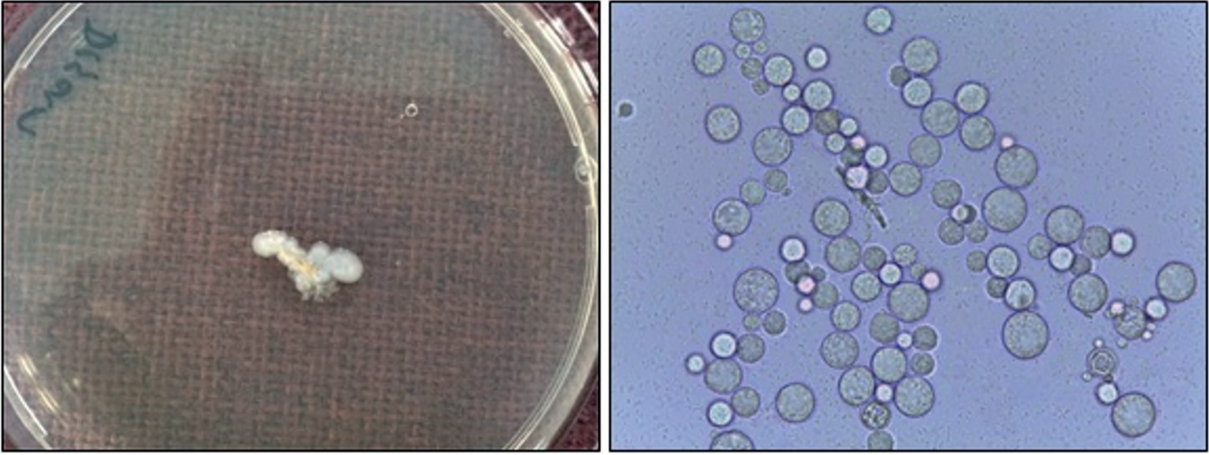
Galleria mellonella enfeksiyon modeli: *M. circinelloides*'in küf ve maya formu ile *G. mellonella* enfeksiyon modeli oluşturulmuştur^(11,12). Toplam 70 adet larva ayrılmıştır. Her larvanın sol arka bacak içine Hamilton iğnesi kullanılarak 10 µl mikroorganizma içeren serum fizyolojik doğrudan uygulanmıştır. İnokülasyon yapılan larvalar 30°C etüvde her gün takip edilmiştir. Larvalar 22 g buğday unu, 22 g buğday kepeği, 11 g süt tozu, 5.5 g kuru maya, 11 ml gliserin, 11 ml bal, 17.5 g balmumu içeren bir besi ortamında bekletilmiştir. Larva modelinin tasarımı kontrol gruplarını içerecek şekilde yapılmıştır. Şekil 1'de larva modelinin deneysel tasarımı ve grup isimleri gösterilmektedir.

BULGULAR

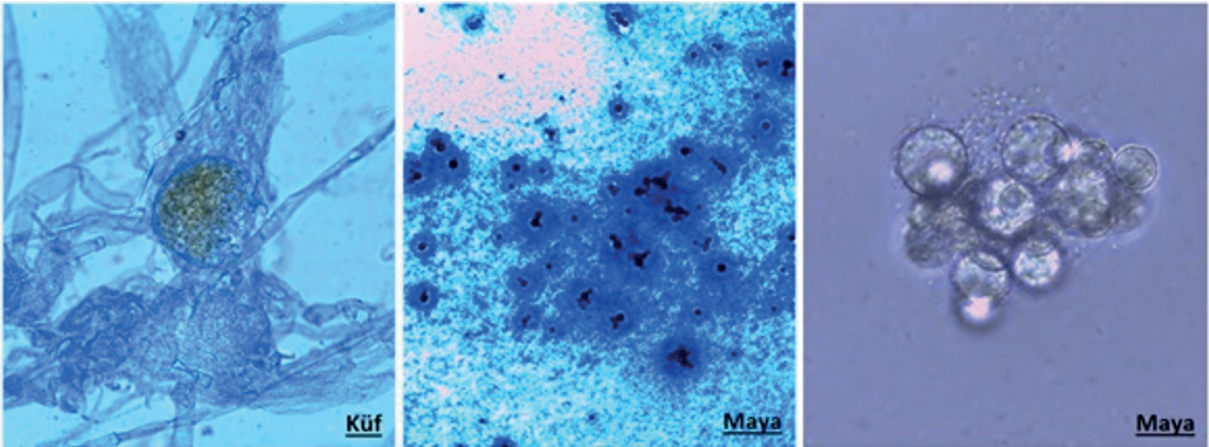
Maya ve küf dönüşümün sonuçları: *M. circinelloides* 37°C'lik etüvde 96 saatlik aerobik inkübasyon ile küf formunda üretilmiştir. Maya dönüşümü için anaerobik kavanoz içinde 37°C'de 96 saatlik inkübasyona rağmen, üreme olmamıştır. Küf kolonisinden yapılan ekim 25°C'de 96 saat inkübe edildiğinde maya dönüşümü gösterilmiştir. (Resim 1 ve 2). Küf kolonisi laktofenol pamuk mavis ile incelendiğinde, *M. circinelloides*'in küf formunun sporangiospor içeren sporangiyumlar, bölmesiz düzensiz hifler, Mucoromycotina'ya özgü kurdele benzeri katlanma yapıları oluşturduğu gözlenmiştir.



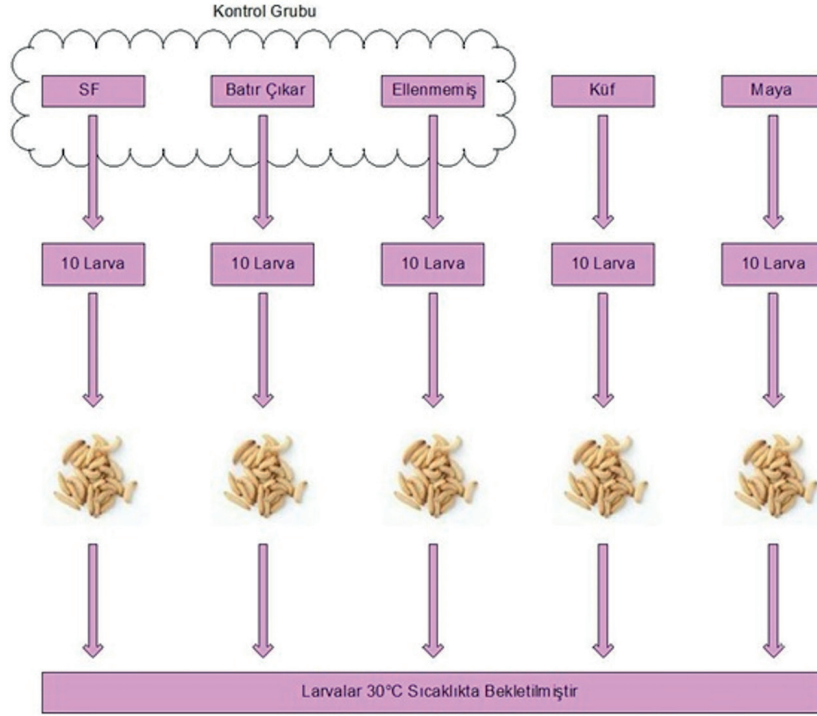
Resim 1. SDA'da *M. circinelloides* küf kolonisi (soldaki), laktofenol pamuk mavisi ile Mucoromycotina'ya özgü kurdele benzeri katlanmalar/bölmesiz, düzensiz hif görünümü x40 (sağdaki).



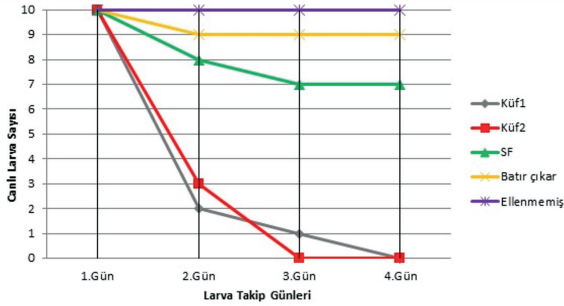
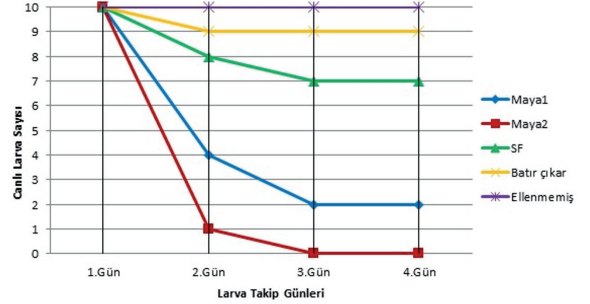
Resim 2. SDA'da *M. circinelloides* maya kolonisi (soldaki), boyasız direkt mikroskopik incelemede maya kolonisi x40 (sağdaki).



Resim 3. *Mucor circinelloides*'in küf formunun laktofenol pamuk mavisi ile (solda), maya formunun metilen mavisi ile (ortada) ve direkt boyasız preparatta (sağda) mikroskopik incelenmesi.

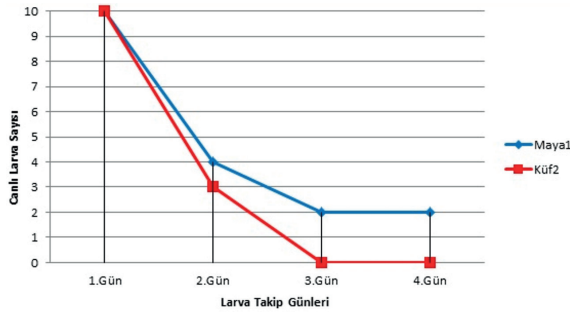


Şekil 1. Larva modelinin deneysel tasarımı ve grup isimleri

Şekil 2. *Mucor circinelloides*'in kūf formunun enjekte edildiği larvaların Kaplan-Meier grafiğiŞekil 3. *Mucor circinelloides*'in maya formunun enjekte edildiği larvaların Kaplan-Meier grafiği

Maya kolonisinin boyasız direk incelemesi ve metilen mavisi ile incelenmesi sonucunda tam yuvarlak, kalın cidarlı, 50-100 µm çapında maya hücreleri gözlenmiştir. Hem maya, hem de kūf morfolojisinin literatürdeki *M. circinelloides* türü ile tam uyumlu olduğu görülmüştür^(9,10). Resim 1'de kūf formu ve mikroskobisi, Resim 2'de maya formu ve mikroskobisi, Resim 3'te boyalı ve boyasız preparatların mikroskopisi görülmektedir.

Larva modelinin sonuçları: Çalışmamızda *M. circinelloides*'in kūf ve maya formlarının virülans karşılaştırması *G. mellonella* larvalarını öldürme güçleri üzerinden saptanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız ellenmemiş kontrol grubu, enjektör batırıp çıkardığımız kontrol grubu ve SF enjeksiyonu yaptığımız kontrol grubu larvalarının sayımı ile kūf ve maya enjekte ettiğimiz deney gruplarının sayımı her gün düzenli olarak yapılmıştır⁽¹³⁾. Kūf ve maya ile her birinde 10 larva olan ikişer grup enfekte edilmiş ve bu



Şekil 4. Maya ve küf gruplarının karşılaştırması

gruplar “Küf 1” / “Küf 2” / “Maya 1” / “Maya 2” olarak kayıt edilmiştir. Dördüncü günün sonunda kontrol grupları sağ kalırken, “Küf 1” ve “Küf 2” ile enjekte ettiğimiz larvaların tamamı canlılığını yitirmiştir (Şekil 2). “Maya 1” grubundaki 2 canlı larva dışında “Maya 1” ve “Maya 2” de enfekte ettiğimiz larvaların tamamı canlılığını yitirmiştir (Şekil 3). Şekil 4’te maya ve küf gruplarının karşılaştırması gösterilmektedir.

TARTIŞMA

Maya formundaki mantarların yalancı hif oluşturarak yaptıkları filamentöz dönüşümünün dokuya invazyona yardım ettiği ve virülansın ilk basamağı olduğu bilinmektedir⁽¹¹⁾. *Mucorales* için dimorfizmin virülansa etkisi tam olarak açıklanmamıştır⁽¹²⁾. *M. circinelloides*’in virülans faktörleri ile ilgili çalışma sayısı da kısıtlıdır^(14,15). Çalışmamızda *M. circinelloides*’in küf ve maya formlarının ayrı ayrı *G. mellonella* larvalarına inoküle edilmesi ile bir enfeksiyon modeli oluşturulmuştur. Larvaların sağ kalım sayısı takip edilerek virülansın karşılaştırılması amaçlanmıştır. Virülans özelliği olarak *G. mellonella* larvalarını öldürme güçleri ölçülmüştür. Dimorfik etkenler ile oluşturulan omurgasız hayvan modelleri bulunmaktadır⁽¹⁶⁾. Bu modellerde maya formu ile enfekte edilen larvalar 37°C’de bekletilmiştir. Bizim çalışmamızda hem maya hem de küf formu ile enfekte edilen larvalar 30°C’de bekletilerek, küf ve maya için benzer koşul oluşturulması amaçlanmıştır. Larva aerob veya anerobik olarak tanımlanamayacağından, etüve konan kavanoz mikroaerofilik ortam olarak kabul edilmiştir. Yaptığımız araştırma sonuçlarına göre, *M. circinelloides*’in küften mayaya veya mayadan küfe dönüşümü 96 saatten önce gerçekleşmemektedir.

Bu nedenle tüm larvaların kaybedildiği dört günlük takip süresi larva vücudunda maya-küf dönüşümüne etkili olacak atmosferik koşul olarak değerlendirilmemiştir.

Mantarlarda dimorfizmin virülansa etkisi iyi bilinmekte^(17,18), *Mucorales* için dimorfizm ve virülans arasındaki ilişki de açıklanmaktadır⁽¹⁹⁾. *M. circinelloides*’in küf ve maya dönüşümünü belirleyen faktörler bilinmektedir. Karbon kaynağı olarak fermente edilebilir heksoz şeker var ise, maya formu gelişirken, karmaşık karbon kaynakları varlığında küf formu gelişmiştir⁽¹⁹⁾. Oksijene bağlı dimorfizm gösteren bu mantarın maya formunun elde edilmesi için anaerobik ortam koşulları oda sıcaklığı hazırlanmıştır ve 96 saat sonunda istenilen küf-maya dönüşümü gerçekleştirilmiştir. Bunun için, anaerobik ortam sağlayan hava kısıtlı bir ortamda küf formunun maya formuna dönüşümü gerçekleştirilmiştir.

Omurgasız bir canlı olan *Caenorhabditis elegans*’in model olarak kullanıldığı bir çalışmada, dimorfik patojenlerin küf formu ile enfeksiyon oluşturulduğunda solucanların hızla kaybedildiği görülmüştür⁽²⁰⁾. Bizim çalışmamızda da küf formu ile enfekte edilen larvalar ilk iki günde hızla kaybedilmiştir. Dördüncü günde küf grubunda canlı larva kalmamıştır. Oysa maya grubunda ölümler daha yavaş seyretmiş, dördüncü günde iki larva canlı kalmıştır. Buna rağmen, maya ve küf karşılaştırması ise farklı bulunmamıştır.

Galleria mellonella gibi omurgasız canlılar, enfeksiyon modeli olarak etik kurul onayı gerektirmeden kullanılabilmeleri nedeniyle hem ekonomik hem de etik açıdan avantajlıdır^(13,16). Fakat bu çalışmaların bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. En önemlisi, “Koch postülatı”nın omurgasız modellerde tamamlanamıyor olmasıdır. Omurgasız canlılarda organ sistemleri memelilerden çok farklı olduğu için, enfeksiyon oluşturulan mikroorganizmanın larvadan izole edilmesi standart bir yöntem olamamaktadır. Bunun yerine larvalarda renk değişikliği, hareketsizlik ve hayatta kalmayı içeren bir “yaşam indeksi” enfeksiyon varlığını gösteren kanıtlar olarak kabul edilegelmiştir⁽²¹⁾.

Oksijene bağımlı dimorfizm *M. circinelloides* için tanımlanmış bir virülans faktörüdür. Kalsinörin bu mantarın dimorfik dönüşümünü kontrol eden bir faktör olarak, küf formuna dönüşüm ile ilişkili bulunmuştur. Demir alım sistemleri ve antifungal direnci ile birlikte hastalık patogeneğinde etkilidir⁽²²⁾. Termal dimorfizm mantarlar için daha iyi bilinen bir mekanizmadır. Termal dimorfik mantarlar aynı zamanda endemik enfeksiyonlara yol açan sistemik patojenlerdir. Termal dimorfizm, oksijen ile ilişkili dimorfizmden daha çok çalışılmış bir konudur⁽²³⁾. Dimorfizm esasen konağa adaptasyon ile ilişkili olup, enfeksiyon etkenlerinin yayılmasında, bulaşmasında ve yeni konaklar oluşturulmasında etkilidir.

Larva modelinde küf ve maya arasındaki virülans farkının gösterilmesi için tasarladığımız çalışmada, larvaların hayatta kalım sayıları karşılaştırılarak bakıldığında, *M. circinelloides*'in küf ve maya formunun *in vivo* virülans özelliklerinin benzer olduğu sonucuna varılmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Fazili ABA, Shah AM, Zan X, et al. *Mucor circinelloides*: a model organism for oleaginous fungi and its potential applications in bioactive lipid production. *Microb Cell Fact*. 2022;21(1):29. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01758-9>
2. Vellanki S, Navarro-Mendoza MI, Garcia A, et al. *Mucor circinelloides*: Growth, maintenance, and genetic manipulation. *Curr Protoc Microbiol*. 2018;49(1):e53. <https://doi.org/10.1002/cpmc.53>
3. Iwen PC, Sigler L, Noel RK, Freifeld AG. *Mucor circinelloides* was identified by molecular methods as a cause of primary cutaneous zygomycosis. *J Clin Microbiol*. 2007;45(2):636-40. <https://doi.org/10.1128/JCM.01907-06>
4. Li CH, Cervantes M, Springer DJ, et al. Sporangiospore size dimorphism is linked to virulence of *Mucor circinelloides*. *PLoS Pathog*. 2011;7(6):e1002086. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002086>
5. Nicolás FE, Murcia L, Navarro E, Navarro-Mendoza MI, Pérez-Arques C, Garre V. Mucorales species and macrophages. *J Fungi (Basel)*. 2020;6(2):94. <https://doi.org/10.3390/jof6020094>
6. Wagner L, Stielow JB, de Hoog GS, et al. A new species concept for the clinically relevant *Mucor circinelloides* complex. *Persoonia*. 2020;44:67-97. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2020.44.03>
7. Lübbehüsen TL, Nielsen J, McIntyre M. Morphology and physiology of the dimorphic fungus *Mucor circinelloides* (syn. *M. racemosus*) during anaerobic growth. *Mycol Res*. 2003;107(Pt 2):223-30. <https://doi.org/10.1017/s0953756203007299>
8. Orłowski M. *Mucor* dimorphism. *Microbiol Rev*. 1991;55(2):234-58. <https://doi.org/10.1128/mr.55.2.234-258.1991>
9. Dizbay M, Adisen E, Kustimur S, et al. Fungemia and cutaneous zygomycosis due to *Mucor circinelloides* in an intensive care unit patient: case report and review of literature. *Jpn J Infect Dis*. 2009;62(2):146-8.
10. Valle-Maldonado MI, Jácome-Galarza IE, Gutiérrez-Corona F, Ramírez-Díaz MI, Campos-García J, Meza-Carmen V. Selection of reference genes for quantitative real time RT-PCR during dimorphism in the zygomycete *Mucor circinelloides*. *Mol Biol Rep*. 2015;42(3):705-11. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3818-x>
11. Czechowicz P, Nowicka J, Gościński G. Virulence factors of *Candida* spp. and host immune response important in the pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. *Int J Mol Sci*. 2022;23(11):5895. <https://doi.org/10.3390/ijms23115895>
12. Muszewska A, Pawłowska J, Krzyściak P. Biology, systematics, and clinical manifestations of Zygomycota infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(8):1273-87. <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2076-0>
13. Kalkancı A, Fouad AA, Erdoğan M, et al. Bazı bakteri ve mantarların virülansının araştırılmasında *Galleria mellonella*'nın *in vivo* model olarak kullanılması. *Mikrobiyol Bul*. 2015;49(3):366-76. <https://doi.org/10.5578/mb.9701>
14. Lee SC, Li A, Calo S, Heitman J. Calcineurin plays key roles in the dimorphic transition and virulence of the human pathogenic zygomycete *Mucor circinelloides*. *PLoS Pathog*. 2013;9(9):e1003625. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003625>

15. López-Fernández L, Sanchis M, Navarro-Rodríguez P, et al. Understanding *Mucor circinelloides* pathogenesis by comparative genomics and phenotypical studies. *Virulence*. 2018;9(1):707-20.
<https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1435249>
16. Singulani JL, Scorzoni L, de Oliveira HC, et al. Applications of invertebrate animal models to dimorphic fungal infections. *J Fungi (Basel)*. 2018;4(4):118.
<https://doi.org/10.3390/jof4040118>
17. Gauthier GM. Dimorphism in fungal pathogens of mammals, plants, and insects. *PLoS Pathog*. 2015;11(2):e1004608.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004608>
18. Fuchs BB, Eby J, Nobile CJ, El Khoury JB, Mitchell AP, Mylonakis E. Role of filamentation in *Galleria mellonella* killing by *Candida albicans*. *Microbes Infect*. 2010;12(6):488-96.
<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.03.001>
19. Lübbenhüsen TL, Nielsen J, McIntyre M. Characterization of the *Mucor circinelloides* life cycle by on-line image analysis. *J Appl Microbiol*. 2003; 95(5):1152-60.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02098.x>
20. Ahamefule CS, Ezeudji BC, Ogbonna JC, et al. *Caenorhabditis elegans* as an infection model for pathogenic mold and dimorphic fungi: Applications and challenges. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:751947.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.751947>
21. Ménard G, Rouillon A, Cattoir V, Donnio PY. *Galleria mellonella* as a suitable model of bacterial infection: Past, present and future. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:782733.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.782733>
22. Lax C, Pérez-Arques C, Navarro-Mendoza MI, et al. Genes, pathways, and mechanisms involved in the virulence of Mucorales. *Genes (Basel)*. 2020;11(3):317.
<https://doi.org/10.3390/genes11030317>
23. Gauthier GM. Fungal Dimorphism and virulence: Molecular mechanisms for temperature adaptation, immune evasion, and *in vivo* survival. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:8491383.
<https://doi.org/10.1155/2017/8491383>

Konya İli Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'ne Başvuran Hamilelerde Enzyme Linked Fluorescent Assay Yöntemiyle Tespit Edilen *Toxoplasma gondii*, Rubella, Sitomegalovirüs Seroprevalansı

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, Rubella, Cytomegalovirus Detected by Enzyme Linked Fluorescent Assay Method in Pregnant Women Who Applied to Meram Medical Faculty Hospital in Konya Province

Burak Ezer*, Havva Kaya*, Fatma Kılıç**, Mehmet Özdemir*, Kadir Kaba***

* Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

** Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

*** Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Atf/Cite as: Ezer B, Kaya H, Kılıç F, Özdemir M, Kaba K. Konya ili Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran hamilelerde Enzyme Linked Fluorescent Assay yöntemiyle tespit edilen *Toxoplasma gondii*, Rubella, Sitomegalovirüs seroprevalansı. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(1):28-34.

Öz

Amaç: Gebelikte geçirilen *Toxoplasma gondii*, rubella, sitomegalovirüs (CMV), herpes virüs enfeksiyonları fetüs ve yenidoğanda sarılık, katarakt, mikrosefali, fetal ölüm gibi klinik tablolara yol açabilir. Bu nedenle hastanemize takip için başvuran hamile kadınlarda bu etkenlerin seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda 1 Mart 2017-28 Şubat 2022 tarihleri arasında laboratuvarımıza T. gondii, rubella, CMV serolojisinin incelenmesi için gönderilen 16-49 yaş aralığındaki hamile kadınlara ait 982 anti-T. gondii IgM ve IgG, 1018 anti-Rubella IgM ve IgG, 456 anti-CMV IgM ve IgG sonuçları hastane otomasyon sistemi kullanılarak retrospektif olarak incelenmiştir. T. gondii, Rubella ve CMV'ye özgü antikorların tespiti için Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA-VIDAS, bioMérieux, Fransa) yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda anti-T. gondii IgM pozitifliği %9.87, anti-T. gondii IgG pozitifliği %28.30; anti-Rubella IgM pozitifliği %1.96, anti-Rubella IgG pozitifliği %98.13; anti-CMV IgM pozitifliği %1.53, anti-CMV IgG pozitifliği ise %99.78 olarak tespit edilmiştir. Anti-T. gondii IgM pozitifliğinin yaştan azalması ile istatistiksel olarak arttığı ($p<0.001$) bulunmuştur.

Sonuç: Konya bölgesindeki anti T. gondii IgM pozitifliğinin çalışmamızda daha yüksek bulunmasının; et ağırlıklı veya az pişmiş etle beslenme alışkanlığı, sosyoekonomik düzey, tarım, hayvancılık bölgesi olması ve laboratuvarımızda duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek ELFA yönteminin kullanılıyor olmasından sebebiyle olduğunu düşünmekteyiz. Genç kadınlarda gerekli önlemler alınarak bulaş ihtimali azaltılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Gebelik, *Toxoplasma*, Rubella, Sitomegalovirüs, Seroprevalans

ABSTRACT

Objective: *Toxoplasma gondii*, rubella, cytomegalovirus (CMV) infections during pregnancy may cause clinical symptoms such as jaundice, cataract, microcephaly, fetal death in fetus and newborn. Therefore, we aimed to investigate the seroprevalence of these agents in pregnant women.

Methods: The serology test results of pregnant women aged within 16-49 years, performed in the our laboratory between March 1st, 2017 and February 28th, 2022, were evaluated in terms of T. gondii, rubella and CMV. A total of 982 anti-T. gondii IgM and IgG, 1018 anti-Rubella IgM and IgG, 456 anti-CMV IgM and IgG test results were analyzed retrospectively, using the hospital patient follow-up program. For the detection of antibodies specific to T.gondii, Rubella and CMV, Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA-VIDAS, bioMérieux, France) method was used in accordance with the manufacturer's instructions.

Results: Our study results shows that the positivity rates of anti-T. gondii IgM and IgG were 9.87% and 28.30%, respectively; anti-Rubella IgM and IgG were 1.96% 98.13%, respectively; and anti-CMV IgM and IgG were 1.53% and 99.78%, respectively. In addition, the increase in anti-T. gondii IgM positivity rate was found to be increased statistically with decreasing age in our study.

Conclusion: The higher anti-T. gondii IgM positive rates in Konya may be due to meat-based diet, undercooked meat consumption, socioeconomic level, Konya's being an agriculture and livestock region, and the use of highly sensitive and specific ELFA method within our laboratory. The possibility of contamination risk should be decreased by necessary measures in young women.

Keywords: Pregnancy, *Toxoplasma*, Rubella, Cytomegalovirus, Seroprevalence

Alındığı tarih / Received:
06.10.2022 / 06.October.2022

Kabul tarihi / Accepted:
09.01.2023 / 09.January.2023

Yayın tarihi / Publication date:
24.03.2023 / 24.March.2023

ORCID Kayıtları

B Ezer 0000-0003-1217-2080
H. Kaya 0000-0001-8956-7107
F. Kılıç 0000-0002-9735-3552
M. Özdemir 0000-0002-9316-771X
K. Kaba 0000-0003-0451-9662

✉ dr.burakezer@gmail.com

GİRİŞ

Konjenital enfeksiyonlar, özellikle gelişmekte olan ülkelerde perinatal morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir^(1,2). Hamilelikte meydana gelen geçici immunsupresyon durumu nedeniyle hamile kadınların çeşitli enfeksiyöz ajanlara karşı savunması yetersiz kalmaktadır^(3,4). Enfeksiyöz ajanlar içerisinde *Toxoplasma gondii*, rubella, sitomegalovirüs (CMV) gebelikte doğumsal malformasyonlara, tekrarlayan düşüklere, erken ve ölü doğumlara neden olabilen etkenlerdir^(1,4). Hamilelik sırasında edinilen toksoplazmozun fetal ölüm ve hidrosefali, mikrosefali, serebral kalsifikasyon, sarılık, koryoretinit, mikroftalmi, hepatosplenomegali gibi etkileri olabilir. Rubella, fetal ölümün yanı sıra hepatomegali, sarılık, katarakt, işitme kaybı, mikrosefali ve özellikle gebeliğin ilk üç ayında görülen konjenital kalp malformasyonları gibi klinik durumlara yol açabilir. CMV ise konjenital enfeksiyonlarla en sık ilişkili viral ajan olmasıyla beraber; fetüs üzerinde mental retardasyon, koryoretinit veya serebral kalsifikasyon gibi etkilere yol açabilir⁽⁵⁾.

Maternal enfeksiyonlar genellikle başlangıç döneminde asemptomatik olduğundan gebelerde akut enfeksiyon tanısı genellikle serolojik testlere dayanır. *T. gondii*, rubella ve CMV enfeksiyonlarına karşı oluşan IgM ve IgG antikorlarının tespiti için kullanılan Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), Enzyme Immuno Assay (EIA), Kemilüminesans ve Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) gibi yöntemlerin son derece duyarlı ve spesifik yöntemler olduğu bilinmektedir^(6,7). Pozitif IgM seviyeleri akut enfeksiyonları, pozitif IgG seviyeleri geçirilmiş enfeksiyonları gösterir ve IgG seviyeleri aynı zamanda seroprevalansı belirlemek için kullanılır⁽⁸⁾.

Toxoplasma gondii, rubella ve CMV enfeksiyonlarının prevalansı coğrafi bölge, sosyoekonomik durum, ırk ve yaşa göre büyük ölçüde değişir⁽⁹⁾. Bu retrospektif çalışmanın amacı, üniversite hastanemize başvuran hamilelerde *T. gondii*, rubella ve CMV sıklığını belirlemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi, İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih: 09.09.2022 ve Karar no: 2022/3959).

Bu çalışmada 1 Mart 2017-28 Şubat 2022 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na *T. gondii*, rubella ve CMV serolojisinin incelenmesi için gönderilen 16-49 yaş aralığındaki hamile kadınlara ait anti-*T. gondii* IgM ve IgG, anti-rubella IgM ve IgG, anti-CMV IgM ve IgG numuneleri hastane otomasyon sistemi kullanılarak retrospektif olarak incelenmiştir. Çalışmaya anti-*T. gondii* IgM ve IgG antikorlarını tespit etmek için 982 hasta, anti-Rubella IgM ve IgG antikorlarını tespit etmek için 1018 hasta, anti-CMV IgM ve IgG antikorlarını tespit etmek için ise 456 hasta dâhil edilmiştir. Birden fazla istemi olan olguların sadece ilk serolojik testlerinin sonuçları değerlendirmeye alınmıştır. Sadece IgM veya IgG istenmiş olan hastalar çalışmaya dâhil edilmemiştir.

Hamile kadınlardan alınan kan örneklerinden santrifüj sonrası ayrılan serumlar, *T. gondii*, rubella ve CMV'ye özgü antikorların tespiti için Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA-VIDAS, bioMérieux, Fransa) yöntemi ile çalışılmıştır.

Sonuçlar kit için belirlenen kriterlere göre; anti-*T. gondii* IgM için; >0.65 s/co (signal-to-cutoff) olan değerler pozitif, anti-*T. gondii* IgG için >8.0 IU/ mL olan değerler pozitif olarak kabul edilmiştir

Anti-rubella IgM için;>1.20 s/co olan değerler pozitif, anti-rubella IgG için;>15 IU/mL olan değerler pozitif olarak kabul edilmiştir.

Anti-CMV IgM için; >0.90 s/co olan değerler pozitif, anti-CMV IgG için; > 6 AU/mL (AU: Arbitrary Unit) olan değerler pozitif olarak kabul edilmiştir.

İstatistiksel analiz: Çalışmadaki kişiler 16-25, 26-35, 36-49 olmak üzere yaş bakımından üç alt gruba

ayrılmıştır. İstatistiksel analiz Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Version 23 programı kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda anti-*T.gondii* IgG pozitiflik oranı 278/982 (%28.3), anti-rubella IgG testinin pozitifliği 999/1018 (%98.13), anti-CMV IgG için ise pozitiflik oranı 455/456 (%99.78) olarak bulunmuştur. Etkenlere karşı oluşan antikorların pozitiflik yüzdeleri Tablo 1’de verilmiştir.

Yaş gruplarına göre anti-*T.gondii* IgM ve IgG pozitiflik yüzdelerinin dağılımı Tablo 2’de verilmiştir.

Yaş alt gruplarında anti-*T. gondii* IgM testlerinin pozitiflik ve negatiflik açısından yapılan ki-kare testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.001$). Yaş alt gruplarında anti-*T. gondii* IgG testlerinin pozitiflik ve negatiflik açısından yapılan ki-kare testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Spearman korelasyon testine göre yaşla anti-*T. gondii* IgM

sonucu arasında negatif yönlü düşük derecede bir ilişki vardır ($r=-0.121$; $p<0.001$). Spearman korelasyon testine göre yaşla anti-*T. gondii* IgG sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($r=-0.043$; $p>0.05$). Yaş alt gruplarında anti-CMV IgM ve anti-CMV IgG sonuçlarının yaşla ilişkisi açısından ki-kare testi sonucuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Fetal hasara yol açabilecek *T. gondii*, rubella, CMV gibi etkenlerin teşhisinin erken konulması ve tedavi edilmesi oldukça önemlidir. Bu enfeksiyonlar genellikle; çığ veya yetersiz pişmiş et tüketimi, enfekte etle fiziksel temas, su veya kedi dışkısından ookistlerle kontamine olmuş toprakla temas, yıkanmamış meyve veya sebzelerin yenmesi veya hamilelik sırasında transplasental olarak anneden fetüse bulaşır⁽¹⁰⁾.

Tablo 1. Hamilelerde *Toxoplasma gondii*, Rubella, CMV’ye karşı oluşan antikorların pozitiflik yüzdesi

	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Toplam N
Anti <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	97 (9.87)	885 (90.13)	982
Anti <i>Toxoplasma gondii</i> IgG	278 (28.30)	704 (71.70)	982
Anti Rubella IgM	20 (1.96)	998 (98.04)	1018
Anti Rubella IgG	999 (98.13)	19 (1.87)	1018
Anti CMV IgM	7 (1.53)	449 (98.47)	456
Anti CMV IgG	455 (99.78)	1 (0.22)	456

Tablo 2. Anti-*Toxoplasma gondii* IgM ve IgG pozitiflik, negatiflik yüzdelerinin yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grubu	Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM		Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgG		Toplam N
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
16-25	48 (13.75)	301 (86.25)	99 (28.36)	250 (71.64)	349
26-35	46 (9.46)	460 (80.54)	138 (27.27)	368 (72.73)	506
36-49	3 (2.36)	124 (97.64)	41 (32.8)	86 (67.22)	127
Toplam	97 (9.88)	885 (90.12)	278 (28.30)	704 (71.70)	

Konjenital toksoplazmoz spontan düşüklere, ölü doğumlara veya yenidoğanın ciddi enfeksiyonlarına yol açmasının yanı sıra ilk trimesterde *T. gondii*'ye maruz kalma; zeka geriliği, nöbetler veya körlük gibi ciddi klinik tablolara yol açabilir. Klasik fetal triad hidrosefali, intrakraniyal kalsifikasyon ve oküler lezyonlardan oluşmaktadır^(11,12).

Kızamıkçık tipik olarak bir çocukluk hastalığı olmasına rağmen, her yaşta ortaya çıkabilir ve hamilelik sırasında ciddi fetal anomalilere yol açabilir. Konjenital kızamıkçık sendromu, çeşitli klinik belirtilerle ilişkilidir; genellikle hamilelikte ne kadar erken ortaya çıkarsa, sekeller o kadar şiddetli olur. Gebeliğin ilk iki ayında maternal bulaş sonrası %40-60'ında intrauterin enfeksiyon oluşur ve fetüste çoklu deformiteler gibi bulgular gözlemlenir. Üçüncü ayda bulaş sonrası ise %30-35 aralığında fetüste işitme kaybı ve doğuştan kalp hastalığı gibi bulgular görülür. Dördüncü aydan sonraki bulaşlarda ise fetüs yaklaşık %10-15 aralığında etkilenir ve genellikle tek bulgu işitme kaybıdır^(12,13).

CMV enfeksiyonu olan bebeklerin yaklaşık dörtte birinde fetal büyüme geriliği, mikrosefali, koryoretinit, serebral kalsifikasyon, hepatit, sarılık, trombositopeni veya anemi gibi klinik bulgular görülür^(12,14).

Ülkemizden Edirne⁽¹⁵⁾, Afyon⁽¹⁶⁾, Van^(4,17), Uşak⁽¹⁸⁾, Çanakkale⁽¹⁹⁾, Kayseri⁽²⁰⁾, Yozgat⁽²¹⁾, Mersin⁽²²⁾ ve Artvin'de⁽²³⁾ yapılan çalışmalarda anti-*T.gondii* IgG pozitifliği %18.3-37 aralığında tespit edilmiştir. İzmir⁽²⁴⁾ ve İstanbul'dan⁽²⁵⁾ yapılan çalışmalarda ise sırasıyla %32.3 ve %23 saptanmıştır. Bizim çalışmamızda tespit edilen anti-*T. gondii* IgG için %28.3 pozitiflik oranı bu şehirlerle uyumlu saptanmıştır. Şanlıurfa⁽²⁶⁾, Hatay⁽⁹⁾, Adıyaman⁽²⁷⁾, Kocaeli⁽²⁸⁾, Kahramanmaraş⁽²⁹⁾ ve Zonguldak⁽²⁾ illerinde yapılan çalışmalarda sırasıyla; %60.4, %52.1, %48.4, %48.3, %47.1, %43.9 anti-*T. gondii* IgG pozitifliği saptanmış olup, bizim çalışmamızda daha düşük pozitiflik elde edilmiştir. Anti-*T.gondii* IgM pozitifliği ise ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda %0,2-3 aralığında bulunmuştur^(2,9,15-26,28-30). Çalışmamızda tespit ettiğimiz anti-*T.gondii* IgM pozitifliği ise %9,87

oranıyla daha yüksek bulunmuştur. Anti-*T. gondii* IgM pozitifliğinin Konya bölgesindeki çalışmamızda daha fazla olmasının; et ağırlıklı veya az pişmiş etle beslenme alışkanlığı, sosyoekonomik düzey, tarım, hayvancılık bölgesi olması ve laboratuvarımızda duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek ELFA yönteminin kullanılıyor olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Ülkemizde 2022 yılında yapılan bir metaanaliz çalışmasında, son 30 yıldır *T. gondii* seroprevalansı ile ilgili yapılmış olan çalışmaların inceleme sonucuna göre anti-*T. gondii* IgG seroprevalansı %36.76, anti-*T. gondii* IgM seroprevalansı %2,91 saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise anti-*T. gondii* IgG için %28.3 ve anti-*T. gondii* IgM için ise %9.87 pozitiflik elde edilmiştir⁽³¹⁾. Çalışmamızda, Mersin'de yapılan bir çalışmada olduğu gibi anti-*T. gondii* IgM pozitifliğinin yaş azaldıkça arttığı istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) olduğu saptanmıştır. Anti-*T. gondii* IgG'nin pozitifliğinin ise çalışmamızda yaşla ilişkisi istatistiksel olarak anlamsız saptanmış olup, Mersin'de yapılan çalışmada ise yaş arttıkça anti-*T. gondii* IgG pozitifliğinin arttığı istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) saptanmıştır⁽²²⁾.

Anti-rubella IgG pozitifliği Trakya bölgesinde yapılan çalışmada %76.6 saptanmış olup, bizim çalışmamızda daha yüksek değer saptanmıştır⁽¹⁵⁾. Ülkemizde çeşitli bölgelerde yapılan çalışmalarda ise %89.1-96.1 aralığında pozitiflikler tespit edilmiş olup bizim çalışmamızda %98.13 oranıyla diğer çalışmalara göre daha yüksek bir pozitiflik bulunmuştur^(2,9,16,18,21-25,28-30). Van'da yapılan bir çalışmada ise anti-rubella IgG için %99 pozitiflik oranı bulunmuş olup bizim çalışmamızdan daha yüksek saptanmıştır⁽¹⁷⁾. Konya bölgesindeki anti-Rubella IgG pozitifliğinin yüksek olmasını aşılama programlarına ve akut enfeksiyonların sıklığına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Anti-Rubella IgM için ülkemizdeki çeşitli çalışmalarda pozitiflik oranı %0-1.9 aralığında saptanmış olup, bizim çalışmamızda %1.96 ile daha yüksek pozitiflik elde edilmiştir^(2,15-17,21-24,28-30). Anti-rubella IgM ve anti-*T. gondii* IgM antikollarının diğer çalışmalara göre yüksek pozitif saptanmasının nedeninin laboratuvarımızda duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek ELFA yönteminin kullanılıyor olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Ülkemizde 2019 yılında yapılan bir metaanaliz çalışmasında 2007-2017 yılları arasında rubella seroprevelansı ile ilgili yapılmış olan çalışmaların inceleme sonucuna göre anti-rubella IgG seroprevelansı %93.47, rubella IgM seroprevelansı %0.783 saptanmıştır⁽³²⁾. Bizim çalışmamızda %98.13 ve %1.96 ile daha yüksek pozitiflikler elde edilmiştir.

Anti-CMV IgG antikorlarının pozitiflik oranı Trakya bölgesinde yapılan bir çalışmada %80.3 olarak hem ülkemizdeki diğer çalışmalardan hem de bizim çalışmamızdan daha düşük saptanmıştır⁽¹⁵⁾. Bizim çalışmamızda %99.78 anti-CMV IgG antikoru pozitiflik oranı, ülkemizde yapılan diğer çalışmalara göre daha yüksek, 2019 yılında Mersin’de yapılan başka bir çalışmaya göre daha düşük saptanmıştır^(2,9,16-18,21-25,28,29). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda anti-CMV IgM için %1-2 aralığında pozitiflik saptanmış olup, çalışmamıza benzer veriler elde edilmiştir^(2,15,17,18,23,24).

2016 yılında ülkemizde yapılan, Konya’nın da dahil olduğu çok merkezli bir çalışmada ise pozitiflik oranları anti-rubella IgM için %0.6-1.6, anti-rubella IgG için ise %76-96.4 aralığında; anti-CMV IgM için %0.2-3.7, anti-CMV IgG için ise %87.8-100 aralığında tespit edilmiş olup bizim çalışmamıza benzer oranlar saptanmıştır⁽³³⁾. 2011 yılında Konya’da 249 gebe kadında yapılmış başka bir çalışmada ise anti-rubella IgM ve IgG, anti-CMV IgM ve IgG seroprevelansı sırasıyla %0.4, %95.9, %0, %98.7 oranında tespit edilmiş olup çalışmamıza benzer veriler elde edilmiştir⁽³⁴⁾. 2021 yılında Konya’da immunsupresif hastalarda yapılmış olan başka bir çalışmada ise anti-*T. gondii* IgM pozitifliği %2.4, anti-*T. gondii* IgG pozitifliği ise %24.1 olarak saptanmış olup bizim çalışmamıza benzer veriler elde edilmiştir⁽³⁵⁾.

Dünyada yapılmış olan çeşitli çalışmalarda ise anti-*T. gondii* IgM pozitifliği %0.3-%13.3 aralığında anti-*T.gondii* IgG pozitifliği %1.71-%38.3 aralığında saptanmış olup bizim çalışmamıza benzer veriler elde edilmiştir. Anti-rubella IgM pozitifliği ise %0.5-%3 aralığında, anti-rubella IgG pozitifliği %68.4-%81.97 aralığında saptanmış olup; anti-CMV IgM pozitifliği %0.52-%1.8 aralığında, anti-CMV IgG pozitifliği ise

%57.2-%95.09 aralığında saptanmış olup bizim çalışmamıza benzer veriler elde edilmiştir⁽³⁶⁻³⁸⁾.

Anti-*T. gondii* IgM ve IgG’nin yaş gruplarına göre olan değişimini saptamak için incelenen yaş gruplarının örneklem sayısının eşit dağılmamasının çalışmamızın kısıtlılıklarından olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, gebelikte konjenital enfeksiyonlara neden olan *T. gondii*, rubella, CMV enfeksiyon riski açısından takip edilerek antikor düzeyleri belirlenmelidir. Hamilelik öncesinde rubella aşısı uygulanmalıdır. Anti-*T. gondii* IgM pozitiflik oranının beslenme alışkanlığı, sosyoekonomik düzey, tarım, hayvancılık uğraşının sık olması gibi nedenlere bağlı olarak Konya bölgesinde daha yüksek saptandığını düşünmekteyiz. Ayrıca anti-*T. gondii* IgM pozitifliğinin yaş düştükçe artması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Genç kadınlarda anti-*T. gondii* IgM sıklığı daha fazla olabileceği için birinci basamak sağlık hizmetlerinde, üreme çağındaki genç kadınlara bu tür enfeksiyöz ajanların bulaş yolları anlatılarak enfeksiyon ihtimali azaltılmalıdır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi, İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih: 09.09.2022 ve Karar no: 2022/3959).

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Necmettin Erbakan University, Non-Pharmaceutical and Medical Devices Research Ethics Committee (09.09.2022; 2022/3059).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Sharma S, Duggal N, Agarwal S, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma*, rubella and CMV infections in antenatal women in a tertiary care hospital in North India. J Commun Dis. 2015;47(2):23-6.

2. Aynioglu A, Aynioglu O, Altunok ES. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella and cytomegalovirus among pregnant females in north-western Turkey. *Acta Clin Belg*. 2015;70(5):321-4. <https://doi.org/10.1179/2295333715Y.0000000021>
3. Sebastian D, Zuhara KF, Sekaran K. Influence of TORCH infections in first trimester miscarriage in the Malabar region of Kerala. *Afr J Microbiol Res*. 2008;2(3):56-9. <https://doi.org/10.5897/AJMR.9000418>
4. Parlak M, Çim N, Nalça Erdin B, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma*, rubella and cytomegalovirus among pregnant women in Van. *Turk J Obstet Gynecol*. 2015;12(2):79-82. <https://doi.org/10.4274/tjod.35902>
5. Feldman DM, Timms D, Borgida AF. Toxoplasmosis, parvovirus, and cytomegalovirus in pregnancy. *Clin Lab Med*. 2010;30(3):709-20. <https://doi.org/10.1016/j.cl.2010.04.009>
6. Mendelson E, Aboudy Y, Smetana Z, et al. Laboratory assessment and diagnosis of congenital viral infections: Rubella, cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus(VZV), herpes simplex virus(HSV), parvovirus B19 and human immunodeficiency virus(HIV). *Reprod Toxicol*. 2006;21(4):350-82. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.02.001>
7. Karad D, Kharat A. Seroprevalence of torch infections in bad obstetrics history in HIV and non-HIV women in Solapur district of Maharashtra India. *J Hum Virol Retrovirol*. 2015;2(7):226-31. <https://doi.org/10.15406/jhvr.2015.02.00067>
8. Constantin FS, Denislam D. Congenital toxoplasmosis with ocular involvement- case report. *Oftalmologia*. 2014;58(1):42-7.
9. Ocak S, Zeteroglu S, Ozer C, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella and cytomegalovirus among pregnant women in southern Turkey. *Scand J Infect Dis*. 2007;39(3):231-4. <https://doi.org/10.1080/00365540600978880>
10. Thaller R, Tammaro F, Pentimalli H. Risk factors for toxoplasmosis in pregnant women in central Italy. *Infez Med*. 2011;19(4):241-7.
11. Doudou Y, Renaud P, Coralie L, et al. Toxoplasmosis among pregnant women: high seroprevalence and risk factors in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4(1):69-74. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60211-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60211-2)
12. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi, 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008.
13. Bouthry E, Picone O, Hamdi G, et al. Rubella and pregnancy: diagnosis, management and outcomes. *Prenat Diagn*. 2014;34(13):1246-53. <https://doi.org/10.1002/pd.4467>
14. Gindes L, Teperberg-Oikawa M, Sherman DJ, et al. Congenital cytomegalovirus infection following primary maternal infection in the third trimester. *BJOG*. 2008;115(7):830-5. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2007.01651.x>
15. Varol FG, Sayın NC, Soysüren S. Trakya yöresinde antenatal bakım alan gebelerde *Toxoplasma gondii* antikor seroprevalansı. *J Turk Soc Obstet Gynecol*. 2011;8(2):93-9. <https://doi.org/10.5505/tjod.2011.00533>
16. Aşık G, Ünlü BS, Er H, et al. Afyon bölgesinde gebelerde Toksoplazma ve Rubella seroprevalansı. *Pam Tıp Derg*. 2013;6(3):128-32.
17. Efe Ş, Kurdoglu Z. Van yöresindeki gebelerde sitomegalovirüs, rubella ve Toksoplazma antikorlarının seroprevalansı. *Van Tıp Derg*. 2009;16(1):6-9.
18. Doğan Toklu G. Antibodies frequency against toxoplasmosis, rubella virus and cytomegalovirus in pregnant Women. *J Clin Ana Med*. 2013;4(1):38-40. <https://doi.org/10.4328/JCAM.896>
19. Gencer M, Cevizci S, Saçar S, et al. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi obstetri polikliniğine müracaat eden gebelerde anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının dağılımı ve risk faktörlerinin irdelenmesi. *Türkiye Parazitol Derg*. 2014;38(2):76-80. <https://doi.org/10.5152/tpd.2014.3355>
20. Kayman T, Kayman M. Kayseri'deki gebelerde toksoplazmoz seroprevalansı. *Perinatal Derg*. 2010;18(3):92-6.
21. Kiriş Satılmış OK, Yapca OE, Yapca D, et al. Sorgun Devlet Hastanesine başvuran gebelerde rubella, sitomegalovirüs ve Toksoplazma antikorlarının seroprevalansı. *İKSST Derg*. 2014;6(2):90-6. <https://doi.org/10.5222/iksst.2014.090>
22. Gonca S, Serin MS, Halepliler S, Erden Ertürk S. Mersin'de bir devlet hastanesine başvuran gebelerde *Toxoplasma gondii* seroprevalansı, 2019. *Türkiye Parazitol Derg*. 2021;45(3):176-80. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2021.7273>
23. İnci A, Yener C, Güven D. Bir devlet hastanesinde gebe kadınlarda toksoplazma, rubella ve sitomegalovirüs seroprevalansının araştırılması. *Pam Tıp Derg*. 2014;7(2):19-25.
24. Sirin MC, Agus N, Yılmaz N, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella virus and cytomegalovirus among pregnant women and the importance of avidity assays. *Saudi Med J*. 2017;38(7):727-32. <https://doi.org/10.15537/smj.2017.7.18182>
25. Alaçam S, Bakır A, Karatas A, et al. Investigation of seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella and cytomegalovirus in pregnant population in İstanbul. *JAMER*. 2020;5(3):19-24.

26. Harma M, Harma M, Gungen N, et al. Toxoplasmosis in pregnant women in Sanliurfa, Southeastern Anatolia City, Turkey. J Egypt Soc Parasitol. 2004;34(2):519-25.
27. Kölgelir S, Demiraslan H, Katas B, et al. Gebelerde Toksoplasma gondii seroprevalansı. Dicle Tip Derg. 2009;36(3):170-2.
28. Sonmez Tamer G, Dundar D, Caliskan E. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella and cytomegalovirus among pregnant women in western region of Turkey. Clin Invest Med. 2009;32(1):43-7.
<https://doi.org/10.25011/cim.v32i1.5086>
29. Bakacak M, Bostancı MS, Köstü B, et al. Gebelerde *Toxoplasma gondii*, rubella ve sitomegalovirüs seroprevalansı. Dicle Tip Derg. 2014;41(2):326-31.
<https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2014.02.0425>
30. Dünder Ö, Çelik S, Tütüncü L, Ergür AR, Atay V, Müngen E. 2000-2005 yılları arasında kliniğimizde doğum yapan gebelerde Hepatit-B, Hepatit-C, HIV, *Toxoplasma* ve rubella prevalansının araştırılması. Zeynep Kamil Tıp Bülteni. 2009;40(1):1-9.
31. Demiray E, Alkan S, Barutcu A, et al. Investigating the toxoplasmosis seroprevalence in pregnant women from Turkey by pool analyses method. Pediatr Pract Res. 2022;10(1):16-21.
<https://doi.org/10.21765/pprjournal.1027715>
32. Çetinkaya RA, Yenilmez E. The seroprevalence of rubella in pregnant women in Turkey: a meta-analysis research of 90988 rubella IgM, 84398 Rubella IgG, and 522 avidity results. Turk J Obstet Gynecol. 2019;16(1):63-71.
<https://doi.org/10.4274/tjod.galenos.2018.89663>
33. Özdemir M, Taşbent FE, Terzi HA, et al. Seroprevalence of major viral pathogens during pregnancy: A multicenter study in Turkey. Adv Clin Med Microbiol. 2016;1(1):1-5.
34. Özdemir M, Kalem F, Feyzioğlu B, et al. Investigation of viral pathogens during pregnancy in a city region in Turkey. Anatol J Clin Investig. 2011;5(2):78-81.
35. Taşbent F, Beder D, Özdemir M, et al. Hastanemizdeki farklı hasta gruplarında *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. Türkiye Parazitoloj Derg. 2022;46(1):1-6.
<https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2021.25733>
36. Sahu SK, Pradhan SK, Nayak LM. Seroprevalence of TORCH infection among pregnant women. Int J Community Med Public Health. 2019;6(5):2189-94.
<https://doi.org/10.18203/2394-6040.ijcmph20191842>
37. Qi Y, Zhu S, Li C, et al. Seroepidemiology of TORCH antibodies in the reproductive-aged women in China. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2020;254:114-8.
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.09.010>
38. Deka S, Kalita D, Paul M, et al. Seroprevalence and determinants of TORCH pathogens in pregnant women in the Sub-Himalayan region. Cureus. 2022;14(2): e21946.
<https://doi.org/10.7759/cureus.21946>

Kıyı Atıksu Arıtma Tesisleri Deşarjının Yüzeysel Suların Toksisitesine Etkisinin Belirlenmesi: İstanbul Örneği

Determining the Effect of Discharge of the Coastal Wastewater Treatment Plants on the Toxicity of Surface Waters: A Case Study in İstanbul

Vildan Zülal Sönmez[®], Ceyhan Akarsu[®], Nüket Sivri[®]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Atıf/Cite as: Sönmez VZ, Akarsu C, Sivri N. Kıyı atıksu arıtma tesisleri deşarjının yüzeysel suların toksisitesine etkisinin belirlenmesi: İstanbul örneği. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(1):35-46.

Öz

Amaç: Son 50 yıldır denizel ekosistemlere sahip ülkeler, evsel ve endüstriyel deşarj kaynaklı kirlilik, aşırı avlanma, yerli olmayan türlerin tehdidi ve iklim değişikliği, sucul ekosistemlerde pH değişimleri gibi antropojenik baskılarla ve çevresel problemler ile karşı karşıyadır. Farklı kaynaklardan gelen ksenobiyotik bileşikler, toksik olan/olmayan maddeler ile kimyasal etkileşim (sinerjistik/antagonistik ters/toplam) içerisinde olup, toksisiteyi meydana getirmektedir. Yüzeysel sularda tespit edilen makro kirlleticilerin yanı sıra, mikro kirleticilerin varlığı ve oluşturdukları toksisite son yıllarda giderek artan bir önem kazanmıştır. Evsel ve endüstriyel atıksular aracılığıyla arıtma tesislerine gelen bu kirleticiler ortalama %80 oranlarında giderilebilmektedir. Ancak, özellikle nüfus yoğunluğunun yüksek olduğu büyükşehirlerin atıksu debisi dikkate alındığında, artan yükün giderim verimleri üzerine baskısı sonucunda bu kirleticilerin yüzeysel sulara deşarj yoluyla ulaştığı bilinmektedir. Dolayısıyla, bu çalışmanın amacı İstanbul yüzeysel sularında özellikle dere yolu ile deşarj yapan ileri biyolojik atıksu arıtma tesisleri çıkış sularının yüzeysel sularına karıştığı alanlardan alınan su numunelerinde akut toksisite seviyelerinin belirlenmesidir.

Yöntem: Biyoluminesans bakteri (*Aliivibrio fischeri*) ile akut toksisite testi gerçekleştirilmiş ve sonuçların yorumlanması için analitik yöntemler kullanılmıştır.

Bulgular: Bu istasyonlardan elde edilen sonuçlarda genel olarak "hormesis" verisine rastlanılmıştır. Ambarlı istasyonu yüzeysel sularının toksisite seviyesinde "aşırı derecede toksik" ve Ataköy istasyonu yüzeysel sularında "çok toksik" seviyelerine ait sayısal sonuçlar dikkat çekicidir.

Sonuç: Kanalizasyon sistemine kaçak deşarj yapan endüstriyel kuruluşların atıksularının içerdiği bazı kirleticiler ve atıksu arıtma tesislerine gelen öncelikli mikrokirleticiler yüzeysel suları ile bulunduğu noktada, su kalitesini ekotoksikolojik açıdan olumsuz etkileyebilmektedir.

Anahtar kelimeler: Akut toksisite, atıksu arıtma tesisleri, *Aliivibrio fischeri*

ABSTRACT

Objective: In addition to macro-pollutants detected in surface waters, micro-pollutants in water bodies and the toxicity of these pollutants have become increasingly important in recent years. The removal efficiency of these pollutants reaching domestic and industrial wastewater and wastewater treatment plants has increased to up to 80%. However, considering the wastewater throughput of metropolitan cities, it is known that these pollutants reach surface waters with the discharge at the end of the plant, as the increased load presses on the removal efficiency. Our aim in this study is to determine the acute toxicity in water samples from surface waters in İstanbul.

Methods: The study was conducted primarily in areas where effluent from advanced biological treatment plants discharged via the stream mixes with surface waters.

Results: An acute toxicity test with bioluminescent bacteria (*Aliivibrio fischeri*) was performed and the results were interpreted using analytical methods. "Hormesis" data were generally found in the results from these stations. Noteworthy are the numerical results of the "extremely toxic" values in the surface water of the Ambarlı station and the "very toxic" values of the Ataköy station.

Conclusion: Pollutants and micropollutants contained in the effluents of industrial facilities that illegally discharge into the sewerage system and enter the treatment plant can ecotoxicologically affect water quality at the point where they mix with surface waters. Rapid, sensitive and microscale toxicity tests are recommended as a promising tool for integrated environmental quality assessment.

Keywords: Acute toxicity, wastewater treatment plants, *Aliivibrio fischeri*

Alındığı tarih / Received:
21.09.2022 / 21.September.2022

Kabul tarihi / Accepted:
10.01.2023 / 10.January.2023

Yayın tarihi / Publication date:
24.03.2023 / 24.March.2023

ORCID Kayıtları

V. Z. Sönmez 0000-0002-7488-2996
C. Akarsu 0000-0002-0168-9941
N. Sivri 0000-0002-4269-5950

✉ zulal.sonmez@iuc.edu.tr

GİRİŞ

Denizel ortamlara yeterli seviyede arıtılmadan deşarj edilen atıksular, özellikle kıyısız alanların su kalitesi üzerindeki kirletici baskılarını arttırmaktadır. Ne yazık ki, kentsel atıksuların karakterizasyonu evsel, endüstriyel, ticari ve kurumsal kaynaklardan gelen kirleticilerin çeşitliliği nedeniyle oldukça heterojen olabilmektedir. Buna bağlı olarak, hanelerde, endüstriyel tesislerde ve kentsel alanlarda yaygın olarak kullanıldığı tahmin edilen 900 ila 30.000 arasındaki ksenobiyotik bileşiklerin analizi zor olmaktadır⁽¹⁾. Ayrıca bu analizlerin maliyeti yüksek olup, her zaman klasik yöntemler ile analiz edilememektedir. Özellikle ileri analiz gerektiren kirleticiler için genellikle AR-GE amaçlı olarak sınırlı sayıda kirletici varlığı ve konsantrasyonunu araştıran testler yapılmaktadır. Öte yandan, piyasaya giren yeni kimyasal maddelerin sayısı her geçen gün arttığından, kimyasal analizin potansiyel olarak tüm ksenobiyotik bileşikleri kapsadığından da emin olmak imkansızdır⁽²⁾. Yürürlükteki mevzuat kapsamında arıtılmış atıksu deşarjları temel fizikokimyasal parametrelere dayandırılmakta, ilaç kalıntıları, hormonlar, nano-malzemeler gibi önemli mikrokirleticiler bakımından kontrol edilmemektedir^(3,4). Bu nedenle, atıksu deşarj standartları, konvansiyonel ve kolektif parametrelerin ölçülen konsantrasyonlarının mevzuat tarafından belirlenen sınır konsantrasyonlara uygunluğundan oluşmaktadır.

Atıksuların karakterizasyonunda bulunan tüm kirleticilerin analizi gerçekleştirilemeyeceği gibi, fizikokimyasal analizler ksenobiyotik bileşiklerin arasındaki sinerjistik veya antagonistik etkileşimleri ifade edemez⁽⁵⁾. Oysa ki, tek başlarına suda bulunma durumlarında dahi giderimleri kompleks olan mikrokirleticilerin, birden fazla kirleticinin etkileşim halindeki giderimi daha da kompleks hale gelebilmektedir⁽²⁾. Bazen de sucul ekosistemlerdeki toksisite, besi maddesi artışına bağlı olarak baskın hale gelen zararlı alglerin aşırı çoğalmasına (Harmful Algal Bloom) bu organizmaların oluşturduğu toksinlere bağlı olarak değişebilmektedir⁽⁶⁾. Sonuçta hem antropojenik kaynaklı ksenobiyotik bileşikler hem de mikroorganizmalardan kaynaklı toksinler, yüzeysel suların toksisite seviyesini belirlemektedir.

Ancak yüzeysel sularının toksisitesini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır⁽⁷⁻¹¹⁾. Yüzeysel suların toksisitesinin tespiti için kullanılacak yöntemin çok hassas ve kesin sonuç vermesi beklenmektedir. Çünkü yüzeysel sularda toksisiteye sebep olan kirletici konsantrasyonları neredeyse ppb seviyelerinde gözlemlenmektedir. Sonuç olarak, ortamdaki canlılar üzerindeki mikro/nano yapıların etkilerinin hızlı bir şekilde değerlendirilmesi için bilgilendirici, tutarlı ve birleştirici bir platform oluşturulması gerekmektedir⁽¹²⁾.

Farklı trofik seviyelerinde organizmalar ile gerçekleştirilen akut toksisite testlerinde, fazla zaman gerektiren ve genel olarak uygulanabilirliği düşük birçok test mevcuttur. Çoğu zaman bu deneylerde, test organizması olarak yüksek yapılı organizmaların kullanılması; etik olarak da uygun görülmemektedir⁽¹³⁾. Ayrıca, balık, su piresi, mikroalg gibi farklı trofik seviyelerdeki canlılarla yapılan toksisite testlerinde, organizma standardizasyonu, özel ekipman gereksinimi, uzun test süreleri ve yeniden üretebilirliğin eksikliği bu biyodeneylelerin başlıca dezavantajlarını oluşturmaktadır^(5,14). Besin ağının farklı seviyelerindeki herhangi bir besin/ yiyecek/av dengesinin değişmesi, daha yüksek trofik seviyelerde yer alan türler üzerinde dolaylı bir "alt-üst" etkiye neden olabilmektedir⁽¹⁵⁾. Bu sebeple, güncel literatüre en hassas toksisite testi olarak geçen ve ayrıştırıcılar trofik seviyesine ait biyoluminesans bakteri (*Aliivibrio fischeri*) ile toksisite testi literatürde dikkat çekmektedir⁽¹⁵⁾. Bu testte esas olan, biyoluminesansı bir fizyolojik test parametresi olarak dikkate alıp, karmaşık girdilerin olduğu ortamlarda su örneğinin toksisitesini izlemektir⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Biyoluminesans bakteri ile akut toksisite testi, testin kolay oluşu, yüksek hassasiyet, yüksek verim kapasitesi ve biyoluminesansın belirlenmesinde cihazın varlığı başta olmak üzere büyük avantajlara sahiptir^(19,20).

Aliivibrio fischeri, sucul ekosistemlerdeki besin döngüsü ve enerji akışında aktif rol oynayan ayrıştırıcı grubundadır. *A. fischeri*'nin farklı toksik maddelere maruz kalma ihtimallerine verdikleri tepkinin belirgin ve adaptasyonlarının düşük oluşu nedeniyle; gerçek ölüm nedeninin toksik maddelere bağlı olma ihtimali

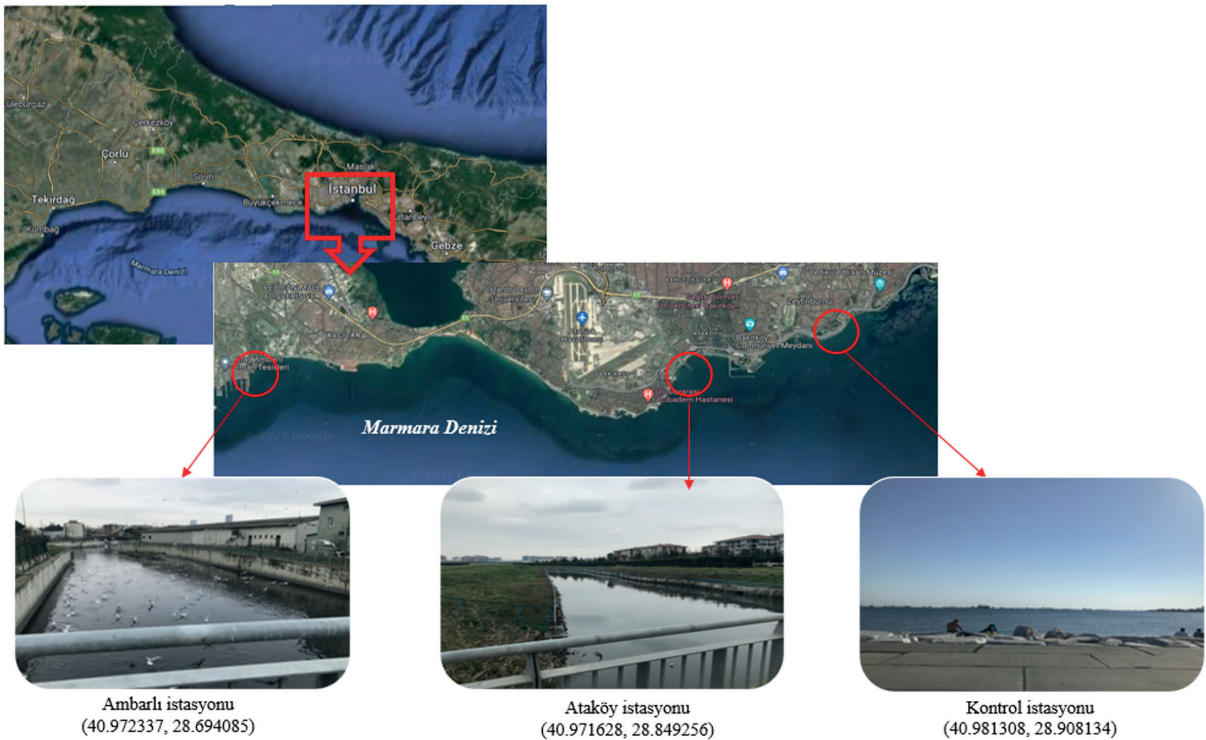
yüksektir. Liyofilize olmuş bakteri kültürü sayesinde kısa sürede aktifleşen organizmaların deney süresi ve deney prosedüründe olası aksaklıkların kolaylıkla tespiti sayesinde; testlerin tekrarlanabilirliği kolaydır. Diğer toksisite testlerine göre ekonomik olmadığı öngörülse de aslında tekrarlanabilirlik, örnek hacmi, kullanılan ekipman, verim/süre gibi parametreler dikkate alındığında katma değeri yüksek ve sonuçları belirgin bir testtir. *A. fischeri* ile yapılan toksisite testi, mevzuatta bulunan balık biyodeneyine kıyasla hem ülkemizde hem de uluslararası çalışmalarda kimyasalların ve/veya endüstriyel atıksuların toksisitesinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır^(14,21-25).

Bu çalışmada amaç, İstanbul ili özelinde ileri biyolojik atıksu arıtma tesisleri çıkış sularının yüzeysel sularla karıştığı alanlardan alınan su numunelerinde, akut toksisite seviyelerinin belirlenmesidir. Bu amaçla alınan su örneklerinde, kısa sürede sonuç alınabilen ve alanın toksisitesine dair yorum yapılabilen bakteriyal biyoluminesans akut toksisite testi (*A. fischeri*) ile toksisite seviyeleri tespit edilmiştir. Mikro ölçekli organizmalardan makro organizmalara kadar

her trofik seviyede gözlenebilecek olası hasarların kısa sürede yorumlanabilmesi ve böylece kıyısız alanların su kalitesinde ekotoksikolojik testlerin önemi vurgulanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örnekleme Alanı: İstanbul, 16 milyonu aşkın nüfusu ile günde 5 milyon m³'ten fazla atıksu, atıksu arıtma tesislerinde (AAT) arıtılarak doğrudan veya dolaylı olarak denize deşarj edilmektedir⁽²⁶⁾. Bu çalışmada, İstanbul'un en yüksek atıksu debilerine ve farklı arıtma kademelerine sahip atıksu arıtma tesislerinin (AAT) deşarj sularının denizel alana döküldüğü yerler örnekleme alanı olarak seçilmiştir (Şekil 1). Buna göre, Ambarlı ve Ataköy istasyonları sırasıyla 400.000 m³/gün ve 620.000 m³/gün kapasiteye sahip, ileri biyolojik atıksu arıtımı yapan AAT'lerin deşarj noktalarına yakın olmak üzere temsilen seçilmiştir⁽²⁶⁾. Her iki tesisin atıksuları arıtdıktan sonra dere yoluyla Marmara Denizi'ne deşarj edilmektedir. Ayrıca, İstanbul kıyısız alanında AAT deşarjlarının etkisi altında olmayan bir adet kontrol istasyonu seçilmiştir.



Şekil 1. Çalışma alanı ve istasyonlara ait genel bilgiler (Google Haritalar'dan uyarlanmıştır.)

Belirlenen istasyonlardan, Ekim 2020 ve Eylül 2021 tarihleri arasında aylık olarak numune alınmıştır. Çalışma alanından örnekler, 100 ml olacak şekilde önceden temizlenmiş amber cam özellikteki geniş ağızlı şişeler ile seçilen istasyonların yüzey suyu (0-20 cm derinlikte) örnekleri doldurularak toplanmıştır.

Biyolüminesans Bakteri ile Akut Toksikite Testi: Biyolüminesans Bakteri ile Akut Toksikite Testi için iki farklı prosedür uygulanmıştır. Önce tüm numuneler için, Microtox® Temel Test prosedürü tercih edilmiştir. Bu prosedür, toksisitesi belli olmayan numuneler için kullanılmaktadır. Microtox® Temel test, biyolüminesans bakteriler tarafından üretilen biyolüminesans değişikliklerini ölçerek yüzey su, yeraltı suyu, atıksular, sızıntı sularından alınan numunelerin akut toksisitesini belirlemeye yardımcı olmaktadır⁽²⁷⁾. Test genellikle, sulu çözeltiler için standart prosedür olarak kabul görmektedir.

Microtox® Temel testin toksisite aralığına uygun olmayan numuneler için ise, çok daha hassas olan Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi prosedürü uygulanmıştır. Buna göre, ay farkı gözetmeksizin Ambarlı ve Ataköy istasyonlarından alınan yüzey suyu numuneleri için Microtox® Temel Test, kontrol istasyonundan alınan yüzey suyu numuneleri için ise Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi yapılmıştır.

Microtox® akut toksisite testlerinde, denizel biyolüminesans bakteri olan *A. fischeri* (NRRL B-11177)'ye göre akut toksisite tespiti, Microtox® Model 500 Analizörü ile ilgili testin üretici protokolüne göre yapılmıştır. Toksik maddeye maruz kaldığında, denizel bakteri hücrelerinin metabolizmasında ve/veya yapısında, doğal biyolüminesanslarının azalmasıyla sonuçlanan değişiklikler meydana gelmektedir^(28,29).

Literatürde tüm kimyasalların, atıksuların ve doğal numunelerin akut toksisitelerinin değerlendirmesi için standart olarak 15 dakikalık maruziyet süresi geniş çapta kabul görmüş olup, Microtox® testlerinde standart (norm) olarak uygulanmaktadır⁽³⁰⁾. Bu nedenle, testlerde 15 dakikalık inhibisyon süresinin

sonuçları verilmiştir⁽²⁷⁾. Her iki prosedür de, pozitif kontrol olarak formaldehit kullanılmıştır⁽³¹⁾. Çalışmada kullanılan numunelere analiz öncesinde bir seyreltme yapılmamıştır.

Microtox® Temel Test: Test organizması olarak, rehidrasyon yöntemi kullanılarak (dondurularak kurutulmuş) 10^8 bakteri/vial kültürü içeren *A. fischeri* kullanılmıştır. Prosedüre göre⁽²⁷⁾, %45 Basic Test seçilmiş olup; 10 µl bakteri kültürü %2'lik NaCl içeren 500 µl numunenin seyreltme serisine maruz bırakılmıştır. Prosedür gereği, negatif kontrol olarak %2'lik NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Metot gereği, biyolüminesans bakterinin toksik madde ile karşılaştıktan sonraki ışık çıkışı ile numune içermeyen %2'lik NaCl şahitin ışık çıkışı kıyaslanarak ölçüm yapılmaktadır. Şahit ve numunenin ışık çıkışı arasındaki fark, numunenin organizma üzerindeki etkisine dayanmaktadır. Testler, üç seri ve üç tekrar olarak yürütülmüştür.

Microtox Temel Test Prosedürü sonucunu elde etmek için gama değerleri, Denklem 1 ve Denklem 2'deki gibi hesaplanmaktadır. Düzeltme Faktörü (R_t), negatif kontrolün (şahit) t süresinden sonra yayılan biyolüminesans ile negatif kontrolün (şahit) ilk yaydığı biyolüminesansa bölünmesiyle elde edilmektedir⁽²⁷⁾.

Denklem 1. $R_t = I_t / I_0$

Gama değeri (Γ), belirli bir numune konsantrasyonu için t zamanında kaybolan biyolüminesansın t zamanında kalan biyolüminesansa oranıdır⁽²⁷⁾.

Denklem 2. $I_t^- = (R_t \times I_0 - I_t) / I_t$

Biyolojik inhibisyon teorisi, organizmanın toksik maddeye verdiği yanıtın gama değerleri cinsinden ölçülmesi sonucu toksik bir maddenin konsantrasyonu ile duyarlı bir organizmanın tepkisi arasında basit bir matematiksel ilişki öngörmektedir (Denklem 3). Bu denklem, eğimine ve log a kesişimine sahip bir çizgiyi tanımlamakla birlikte, buradaki C konsantrasyonu ve Γ karşılık gelen gammayı temsil etmektedir.

Denklem 3. $\log C = b \log I^{-} + \log a$

$\log C$ ve $\log I^{-}$, testin son noktası olan ortalama etkili konsantrasyon (EC_{50}) tahmin etmek için kullanılmaktadır. EC_{50} , gamma 1'i temsil etmektedir. Log 1 sıfır olduğundan, eğimin etkisi (b katsayısı) iptal edilmekte ve $\log C$ tahmini $\log a$ ile eşitlenmektedir. EC_{50} , deneysel koşullar altında, ölçülebilir %50'lik biyölüminsans azalmasını meydana getiren konsantrasyon olarak tanımlanmaktadır⁽³²⁾. Çalışılan numunelerin doz-yanıt eğrileri ve %95 güven aralığındaki EC_{50} değerleri Microtox Omni Yazılımı kullanılarak elde edilmektedir⁽³³⁾.

Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi: Prosedüre göre, bu test referans numuneye karşı bilinmeyen bir numunenin göreceli akut toksisitesini değerlendirmektedir⁽¹¹⁾. Karşılaştırma Testi, temel bir test kullanılarak bir EC_{50} değeri belirlenemediği durumlarda, düşük toksisiteye sahip numuneleri test etmek için en iyi protokoldür (Microtox Manual, 1992). Sonuç, deniz suyu/nehir ağzı numunesinin (bilinmeyen toksisite) ve referans numunenin (toksik olmayan numune) ışıma değerleri arasındaki fark olarak ortaya çıkmaktadır. Referans numunenin tuzluluğu ile deniz suyundan alınan numunenin tuzluluğu aynı olmalıdır⁽²⁷⁾.

Karşılaştırma Testi, iki numune arasında önemli bir fark olup olmadığını belirlemek için bir numunenin tek bir dilüsyonunu referans bir numuneyle karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Hem referans hem de numune 5 dilüsyon olacak şekilde bir sette analiz edilmiştir. Bir set 3 tekrar halinde çalışılmıştır. Her maruz kalma süresi için, referans numune ve numune için düzeltilmiş biyölüminsans değerleri ile aradaki ışıma farkı hesaplanmaktadır (Denklem 4, 5 ve 6). Tahmini varyanslar ve bunlara karşılık gelen standart sapmalar ile birlikte istatistiksel yaklaşım belirlenerek, %95 güven aralığı hesaplanmaktadır. Farkın pozitif bir sayı olarak belirtilmesi, numunenin referans numuneden daha fazla toksik olduğunu, farkın negatif bir sayı olarak belirtilmesi ise; numunenin kontrolden (veya karşılaştırıldığı numuneden) daha az toksik olduğunu göstermektedir.

X_c, X_s = Referans numune (X_c) ve numune (X_s) için t zamanındaki analizörde bireysel ışıma okumaları

$\sum X_c, \sum X_s$ = Analizörde okunan ışımaların toplamaları

$\bar{X}_c, \bar{X}_s$ = Analizörde okunan ışımaların ortalamaları,
 $\sum X/n, n=5$

Denklem 4. $CF = 1 + (1 - \bar{X}_s / \bar{X}_c)$

Denklem 4'te CF Düzeltme faktörünü ifade etmektedir. t=0 için düzeltme faktörü hesaplanmaktadır.

Denklem 5. Işımadaki fark = $\bar{X}_c - (CF \times \bar{X}_s)$

Denklem 6. Işımadaki fark (%) = $(\text{Işımadaki fark} / \bar{X}_c) \times 100$

Testin sonucu, bir referans numuneye kıyasla ortalama yüzde fark (Denklem 6) olarak rapor edilmektedir. Biyölüminsans değerlerinden hesaplanan ortalama ışıma farkı değerleri (%), Microtox Omni Yazılımı kullanılarak elde edilmektedir. Microtox® Temel Testin son noktası olan EC_{50} farklı olarak, referans numune ve numuneler arasındaki ışımadaki yüksek farklılık, numunenin daha yüksek bir toksisite seviyesinde olduğu anlamına gelmektedir.

BULGULAR

Bir yıllık örnekleme periyoduna ait Ambarlı, Ataköy ve kontrol istasyonunun, akut toksisite testi sonuçları değerlendirilmiştir. Şekil 2'de Ambarlı istasyonu yüzey sularının akut toksisite değerleri (EC_{50}) aylara bağlı olarak verilmiştir. Ambarlı istasyonundan alınan yüzey suyu örneklerinde, ağırlıklı olarak "hormesis" sonucu elde edilmiştir. Farklı çalışmalarda, düşük dozlu eksojen bileşiklere bakteri tepkilerinin "hormesis" modeline karşılık geldiği ortaya konmuş ve bu çalışma ile benzer bulgular tespit edilmiştir. Echols ve ark.⁽³⁴⁾ tarafından yapılan çalışmada, uyarıcı etki olarak negatif sonuçlar bulunmuştur. Mattson⁽³⁵⁾ tarafından, "kimyasal ya da çevresel faktörün yüksek dozları zararlı olan ama düşük dozda maruz kalmanın hücre veya organizma üzerinde

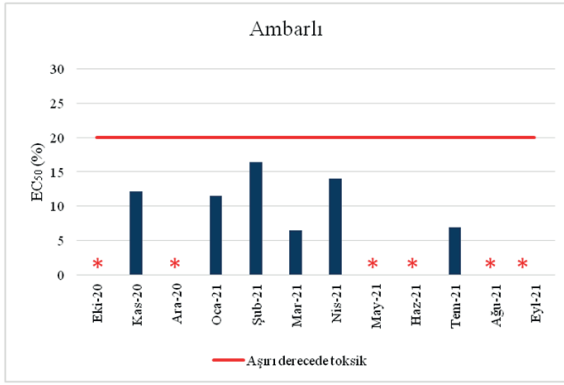
Tablo 1. Microtox® Temel Test ve Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi parametreleri⁽²⁷⁾

Parametreler	Microtox® Temel Test (%45)	Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi
Kullanılan bakteri	<i>A. fischeri</i> (NRRL B-11177)	<i>A. fischeri</i> (NRRL B-11177)
Bakteri kültürü hacmi	10 µl	100 µl (seyreltilmiş)
Numune hacmi	500 µl	1500 µl
Ortam sıcaklığı	15°C	15°C
İnhibisyon süresi	15 dk	15 dk
Negatif Kontrol	%2'lik NaCl çözeltisi	Yok
Pozitif Kontrol	Formaldehit	Formaldehit
Referans numune	Yok-hazırlanmaz	Numune ile aynı tuzluluğa ait toksik olmayan numune hazırlanır
Çalışılabilen numune özellikleri	Akut toksisitesi bilinmeyen/orta ve/veya çok toksik olduğu öngörülen atıksu, su, kimyasal maddeler vb.	Akut toksisitesinin çok düşük olduğu öngörülen hassas su numuneleri, lagün, deniz suyu numuneleri vb.
Testin son noktasının hesaplanabilirliği	Bakteri ilk olarak negatif kontrole maruz kalmakta ve yaptığı ışıma ölçülmektedir. Daha sonrasında bakteri, numuneye maruz bırakılmakta ve belirlenen inhibisyon süresi sonunda yaptığı ışıma ölçülmektedir. Ölçümler, bir doz yanıt eğrisi oluşturmak için kullanılmakta ve EC ₅₀ değeri hesaplanmaktadır.	Bakteri ilk olarak negatif kontrole maruz kalmakta ve yaptığı ışıma ölçülmektedir. Daha sonrasında bakteri, hem referans numuneye hem de numuneye maruz bırakılmakta ve belirlenen inhibisyon süresi sonunda yaptığı ışıma ölçülmektedir. Testin sonucu, bir referans numuneye kıyasla ortalama yüzde fark olarak rapor edilmektedir.
Testin son noktası	Ortalama etkili konsantrasyon EC ₅₀ (mg/L veya %)	İşimada yüzde fark
Sonucun hesaplanmasın kullanılan yazılım/program	Microtox Omni Yazılım	Microtox Omni Yazılım
Sonucun yorumlanması	EC ₅₀ (mg/L veya %) değeri ne kadar düşük ise, akut toksisite o kadar yüksektir. Testin sonunda elde edilen, 100 mg/L'nin üzerindeki EC ₅₀ değerine sahip numuneler toksik olmayan numune özelliği sergilemektedir.	İşimada yüzde farklılık, çalışılan numunenin hazırlanan toksik olmayan referans numuneye karşı akut toksisitesindeki farklılığını yansıtmaktadır. Testin sonunda elde edilen değerler, %0-99 arasında değişmektedir.

adaptif yararlı bir etki yarattığı süreç” şeklinde ifade edilmektedir. Toksikolojide hormesis, klasik J-şeklinde veya ters U-şeklinde eğrilerle sonuçlanan, düşük dozda fizyolojik stimülasyon ve daha yüksek dozda inhibisyon ile karakterize edilen bir doz-yanıt olgusudur. Genel olarak, düşük stres etkenlerine maruz kalma durumlarına olumlu biyolojik tepkiler olarak yorumlanır^(12,36,37).

Sayısal sonuç olarak elde edilen EC₅₀ değerlerinin ise, %6.44 ile %16.41 arasında değişiklik gösterdiği görülmektedir. Bilindiği üzere, EC₅₀ değeri ne kadar düşük ise, toksisite seviyesi o kadar yüksektir⁽³⁸⁻⁴⁰⁾. Biyoluminesans bakteri ile akut toksisite seviyelerinin EC₅₀ değeri 1-19 aşırı derecede toksik; 20-39 çok toksik; 40-59 toksik; 60-79 orta derecede toksik;

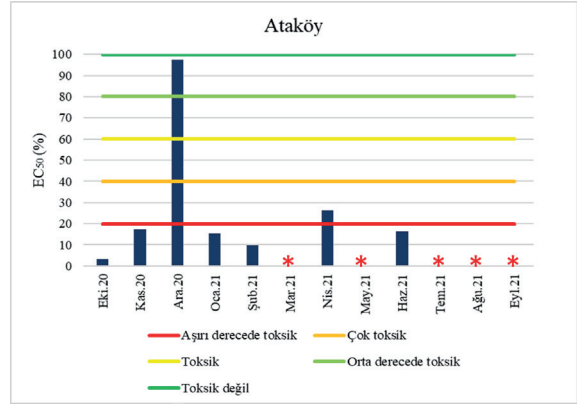
80-99 az toksik; >100 toksik olmayan olarak sınıflandırılmaktadır⁽²⁷⁾. İstasyonda hormesis sonucu haricinde, EC₅₀ değeri elde edilen ayların ortalama akut toksisite değeri ise, %11.22±6.43 olarak hesaplanmıştır. Ambarlı istasyonunun yüzey sularında çalışma periyodunun 12 aylık döneminin yarısında, “aşırı derecede toksik” seviyesi tespit edilirken, diğer yarısında “hormesis” sonucu elde edilmiştir. Ramirez-Morales ve ark.⁽⁴¹⁾, Kosta Rika’da domuz çiftliklerinde kullanılan farmasötiklerin bölgedeki yüzeysel su alanlarında sebep olabileceği toksisiteyi belirlemek amacıyla hem çiftlik atıksularında hem de bölgedeki yüzeysel sulardan aldıkları örneklerde Microtox® ile ekotoksikolojik test gerçekleştirmişlerdir. Çalışılan numunelerin %21’lik bölümü çok toksik olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 2. Ambarlı istasyonunun aylara bağlı olarak Microtox® Temel Testi akut toksisite değerleri (EC₅₀ (%)) ("Hormesis" sonucu sayısal bir değere karşılık gelmediği için grafiklerde %0 olarak kabul edilmiş olup, "*" işareti ile vurgulanmıştır.)

Ataköy istasyonu yüzey sularının akut toksisite değerleri (EC₅₀) aylara bağlı olarak değişimi Şekil 3'te verilmiştir. Ataköy istasyonundan alınan yüzey suyu örneklerinde, en yüksek toksisite Ekim '20 ayında (EC₅₀ değeri %9.78) tespit edilmiştir. En düşük toksisite ise, %97.59 EC₅₀ değeri ile Aralık '20 ayında bulunmuştur. Boluda ve ark.⁽⁴²⁾ tarafından yapılan çalışmada Microtox® testine 15 dakika maruz kaldıktan sonra elde edilen sulama kanalları numunelerinin akut toksisite sonuçları %90'ın üzerinde bulunmuş olup, herhangi bir toksik etki göstermediği şeklinde yorumlanmıştır. Zadorozhnaya ve ark.⁽⁴⁰⁾ Katalonya'nın 54 farklı bölgesinden aldıkları su örneklerinde Microtox® testi ile su toksisite seviyelerini belirleme çalışması gerçekleştirmiştir. Analiz sonuçları doğrultusunda yüksek EC₅₀ değerine bağlı olarak toksisite seviyesi düşük olarak yorumlanmıştır. Bununla birlikte bölgelerdeki endüstriyel faaliyetlere bağlı olarak toksisitesi belirlenmek istenilen kirleticiler de değişiklik gösterebilmektedir. Ambarlı istasyonuna benzer olarak, diğer aylarda ise, "hormesis" sonucu bulunmuştur. Yine Ambarlı istasyonuna benzer olarak, Ataköy istasyonunun yüzey suları çalışma periyodunun yarısından fazlasında "çok toksik" seviyesinde tespit edilirken, diğer dönemlerde "hormesis" olarak kayda geçmiştir.

Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testine göre, akut toksisite testi gerçekleştirilen kontrol istasyonuna ait yüzeysel su örneklerinde, ay farkı gözetmeksizin sayısal bir sonuç elde edilebilecek herhangi bir ışıma



Şekil 3. Ataköy istasyonunun aylara bağlı olarak Microtox® Temel Testi akut toksisite değerleri (EC₅₀ (%)) ("Hormesis" sonucu sayısal bir değere karşılık gelmediği için grafiklerde %0 olarak kabul edilmiş olup, "*" işareti ile vurgulanmıştır.)

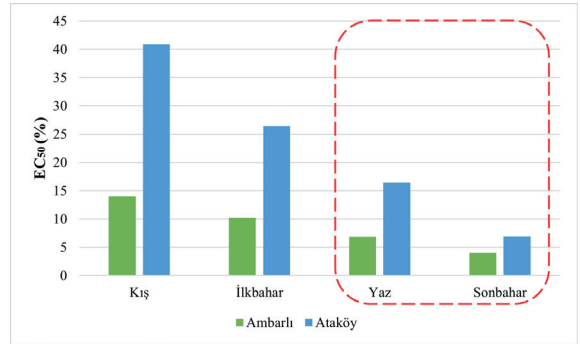
farkı bulunamamıştır. Diğer toksisite testlerinde olduğu gibi, bakterinin numuneye karşı verdiği tepki, mazuriyet süresine bağlı olarak test edilen spesifik bileşik veya numunenin kimyasal yapısı ile ilişkilidir⁽³⁰⁾. Uygun prosedürün seçimi, numunenin tipine ve fiziksel özelliklerine, numunenin nispi toksisitesine, test amaçlarına bağlıdır. Sucul toksikoloji üzerine yapılan çalışmalarda bilinen çevresel toksikolojik yanıtların haricinde, *A. fischeri* ile yapılan farklı prosedürler ile de karşılaşılmaktadır. Sönmez ve Sivri⁽¹¹⁾ tarafından Küçükçekmece Lagünü su kalitesi indeksinin belirlendiği çalışmaya da benzer olarak, Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi farklı karakterizasyondaki su örneklerine (deniz, göl ve lagün) uygulanmış ve "hormesis" sonucu alınmıştır.

Ambarlı ve Ataköy istasyonları için uygulanan "Microtox® Temel Test - Microtox® Basic Test" prosedürü, yüzeysel su kalitesi açısından daha kötü olan sularda sonuç verilebildiği aşikardır. Çünkü, Ambarlı ve Ataköy AAT'leri deşarjlarının tamamını kıydan Marmara denizi üst tabakasına vermektedir. Bu AAT'ler başta evsel olmak üzere, hastane, tekstil sanayi, kağıt fabrikası ve lojistik hizmetleri gibi sanayilere ait atıksuları da arıtmaktadır^(43,44). Ancak bazı endüstriyel kuruluşlar AAT yatırımı yapmaktan kaçınmakta veya kurulu AAT'yi uygun şekilde işletmemektedir. Kanalizasyon sistemine kaçak deşarj yapan endüstriyel kuruluşlar kentsel AAT yükünü artırmakta ve bu nedenle hedeflenen çıkış suyu kalitesi sağlanamamaktadır⁽⁴³⁾. Örneğin,

Küba'daki bakır madeninde oluşan bir çukur gölü olan El Cobre Blue Lagünü'nün ekotoksitesi Microtox® Temel Test yardımı ile tespit edilmiştir. Çalışılan tüm su numunelerinde metal konsantrasyonları yüksek olduğu için, sonuçların %2.4-4.4 oranında değiştiği ve yüksek toksisite seviyelerinde olduğu bulunmuştur⁽⁴⁵⁾. Bir başka çalışma olan, Bothnia Körfezi'ndeki nehir ağızlarından alınan yüzeysel su örneklerine *A. fischeri* ile akut ve kronik toksisite testleri uygulanmıştır⁽⁴⁶⁾. Yüksek metal konsantrasyonları tespit edilen numunelerde, %0.03 ile %9.34 değerleri arasında değişen yüksek toksisite değerleri saptanmıştır. Phyu ve ark.⁽³⁸⁾ tarafından Upper Colo Nehri (Sidney, Avustralya) yüzey suyu ve sedimentinden aldığı örneklerde bölgeye deşarj edildiği düşünülen herbisitlerin toksisite seviyesini test etmişlerdir. Sonuçlar, su ve sediment numuneleri için düşük EC_{50} değerine (sırasıyla 1.8-3.6 mg/L ve 1.3-4.2 mg/L) bağlı olarak yüksek toksisiteyi işaret etmiştir. Wei ve ark.⁽⁴⁷⁾ ise, liman bölgesindeki yüzey sularında (Hong Kong, Çin) bir grup antibiyotik'in toksisitesini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmaların sonucunda da düşük EC_{50} değerine bağlı olarak yüksek toksisite tespiti yapılmıştır.

Zamana bağlı olarak toksisite sonuçları değerlendirildiğinde, istasyonlar arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Ancak, her iki istasyonun dönem dönem "aşırı derecede toksik" veya "çok toksik" seviyede iken, dönem dönem hormesis seviyesinde olması, özellikle AAT'ye gelen ani, değişken kirlenici yükleri ve kirlenicilerin kimyasal etkileşimleri ile açıklanabilmektedir. Özellikle organik mikrokirlenicilerin çevresel etkileri bazı prosesler ile azaltılabiliyorken, bazı mikrokirleniciler için çoğu prosesler ile daha toksik hale dönüştürebilmektedir^(48,49). Mikrokirlenicilerin oluşturacağı toksisite, çevresel sularda bulunan mikro ya da nanoplastikler sebebiyle de artabildiği bilinmektedir^(3,50,51).

İstasyonlara ait toksisite sonuçları mevsimsel olarak değerlendirildiğinde, tüm istasyonların yüzey suyu düşük toksisiteden yüksek toksisiteye doğru kış < ilkbahar < yaz < sonbahar şeklinde olduğu görülmektedir (Şekil 4). Ancak hormesis sonucunun sayısal bir ifade karşılığı olmadığından ortalamaya dâhil edilememiştir. Bu doğrultuda, Ataköy istasyonu



Şekil 4. İstasyonların yüzey suyu toksisitesinin mevsimlere bağlı değişimi (Kurak sezon kırmızı çerçeve ile gösterilmiştir.)

özelinde Aralık ayında tespit edilen sonuçta, yağışlı dönemde meydana gelen seyrelemenin etkili olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, Ambarlı ve Ataköy istasyonlarından mevsimlere bağlı olarak elde edilen veriler arasında pozitif yönde yüksek korelasyon bulunmuştur ($r=0.998$). İstanbul ili için belirlenen kurak sezonda (Mayıs ve Ekim ayları arası) toksisite seviyesinin, yağışlı sezona göre daha yüksek seviyede (düşük EC_{50} değerleri) olduğu görülmektedir. Uzun ve kuru bir yaz mevsiminde toksik özellik gösteren kirlenicilerin fazla seyrelememesi nedeniyle, alınan yüzey suyu örneklerinde yüksek toksisitenin tespitine neden olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmaya benzer olarak, Selanik yüzey sularında tespit edilen toksisitenin ilkbahar mevsiminde analiz edilen toksisitenin, sonbahar başlarına göre daha düşük olduğu görülmüştür⁽²⁾.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, İstanbul ili özelinde ileri biyolojik atıksu arıtma tesisleri çıkış sularının yüzeysel sularla karıştığı alanlardan alınan su numunelerinin akut toksisite seviyelerinin "aşırı derecede toksik" ile "hormesis" arasında geniş bir yelpazede olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında ise özellikle yağışlı dönemlerde, seyrelemenin etkisi ile yüzey sularının toksisite açısından su kalitesinde iyileşme olduğu görülmektedir.

Microtox® testi ile yüzeysel suyu kalitesinin takibi ve toksisitesinin belirlenmesi, çevresel kontrolün önde gelen trendi olarak değerlendirilmektedir⁽⁴⁰⁾. Bilindiği üzere yüzey suları bölgelerin kendine özgü dinamikleri dolayısıyla farklı su karakteristiğine

sahip olmakta, beraberinde farklı kirleticilere maruz kalabilmektedir⁽⁵²⁾. Bununla paralel bu dinamiklerin sebep olduğu etkileri belirlemek amacıyla literatürde Microtox® testi ile suların toksisite seviyesini belirlemeye yönelik gerçekleştirilmiş birçok çalışma mevcuttur. Ayrıca, su kalitesi ve kontrolünü sağlayabilmek adına, analizi gerçekleştirilebilen çevresel kirleticilerin bir arıtma tesisi aracılığıyla giderimi sağlandıktan sonra arıtılmış suyun alıcı ortama verilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda yapılan son çalışmalarda yüksek toksisiteye sahip kirleticilerin alternatif arıtım metotları ile giderimi sonrası toksisite testlerinin yapılması iş planlarına dahil edilerek akademik yayınlarda sıklıkla yer verilmektedir⁽⁵³⁻⁵⁵⁾.

Atıksuların yönetimi ve alıcı ortama deşarjı ile ilgili ulusal ve uluslararası otoriteler tarafından çıkarılan çok sayıda düzenleyici kanunun amacı, hem insan sağlığını hem de bir ekosistemde yaşayan organizmaları korumaktır. Akut toksisite testleri, kirliliğe sebep olan kimyasal maddeleri ölçmese de test organizmaları üzerindeki toksik etkiyi doğrudan ölçebilirler. Biyoluminesans bakteri ile akut toksisite testi, araştırmacılar tarafından ekotoksikolojik çalışmalarda tercih edilen farklı trofik seviyelerdeki organizmalar ile yapılan toksisite testleri ile yüksek korelasyon göstermektedir. Diğer testlere nazaran sunduğu avantajlar nedeniyle, biyoluminesans bakteri ile akut toksisite testi, farklı karakterizasyondaki kıyasal alanın su kalitesini değerlendirmede çok faydalı bir araç olabilir. Bu çalışma, standartlaştırılmış Microtox® yöntemlerinin birçok prosedürü olmasına rağmen kapsam, içerik, deney düzeneği, protokol türleri ve test sonuçları uygulamaları açısından birbirlerinden biraz farklı oldukları vurgulanmaktadır. Bununla birlikte, standartlaştırılmış Microtox® yöntemlerinin ve prosedürlerinin kullanılması, testin sonucunun kesinliğine katkı sağlamaktadır.

Kıyasal alan suyu kalitesinin değerlendirilmesi için, su kütlesinin ekolojik kalitesini belirlemek ve su deşarjlarının su yaşamına etkisini değerlendirmek için biyoanalizler kimyasal analiz testleri ile birleştirilmelidir. Hızlı, hassas ve mikro ölçekli toksisite testlerinin, entegre çevresel kalite değerlendirmesi

için umut verici araç olarak önerilmektedir. Yüzeysel suların toksisite profili, bilim adamlarının ve su yöneticilerinin, izleme programlarında hedeflenmeyen seçili öncelikli kirleticiler dışındaki kimyasalların (potansiyel) zararlı etkilerini değerlendirmelerine, kaynakları belirlemelerine ve kirleticiler ile ekolojik etkiler arasında bir ilişki kurmaya yardımcı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma birinci yazarın “Yüzeysel suların toksisitesinde mikropplastiklerin rolü ve giderim alternatiflerinin değerlendirilmesi” (İÜC Lisansüstü Eğitim Enstitüsü - Çevre Mühendisliği ABD) başlıklı doktora tezinden üretilmiştir. Ayrıca, çalışmanın bir kısmı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 121Y073 no’lu proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Çalışmanın bir kısmı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 121Y073 no’lu proje ile desteklenmiştir.

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

Funding: A part of the study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBİTAK 121Y073).

KAYNAKLAR

1. Şişman-Aydın G, Oral R. Investigation of the hormesis/ toxicity potential of Manisa (Turkey) urban wastewater treatment plant by using *Selenastrum capricornutum* Printz. Fresen Environ Bull. 2014;23(5):1183-9.
2. Kungolos A, Samaras P, Koutseris E. Using bioassays for testing seawater quality in Greece. J Environ Sci Health A. 2003;38(3):533-44. <https://doi.org/10.1081/ESE-120016915>
3. Dogruel S, Gurel M, Pehlivanoglu Mantas E. Mikrokirleticiler: Tanım, mevzuat ve ülkemizde atıksularda ve yerüstü sularında mevcudiyetleri. Çevre, İklim ve Sürdürülebilirlik. 2022;23(2):133-44.

4. Szklarek S, Kiedrzyńska E, Kiedrzyński M, Mankiewicz-Boczek J, Mitsch WJ, Zalewski M. Comparing ecotoxicological and physicochemical indicators of municipal wastewater effluent and river water quality in a Baltic Sea catchment in Poland. *Ecol Indic.* 2021;126:107611. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107611>
5. Sonmez VZ, Sivri N, Dokmeci AH. Determination of the toxicity of different discharge waters using acute toxicity tests approved for national pollutant discharge permit in Turkey. *Biosci Biotech Res Asia.* 2016;13(2):609-14. <https://doi.org/10.13005/bbra/2076>
6. Balkis N, Balci M, Giannakourou A, Venetsanopoulou A, Mudie P. Dinoflagellate resting cysts in recent marine sediments from the Gulf of Gemlik (Marmara Sea, Turkey) and seasonal harmful algal blooms. *Phycologia.* 2016;55(2):187-209. <https://doi.org/10.2216/15-93.1>
7. Isidori M, Parrella A, Piazza CML, Strada R. Toxicity screening of surface waters in southern Italy with Toxkit microbiotests. In: *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring.* Boston, MA: Springer; 2000:289-93.
8. Niemiryecz E, Nichthausen J, Staniszevska M, Nałęcz-Jawecki G, Bolałek J. The Microtox® biological test: Application in toxicity evaluation of surface waters and sediments in Poland. *Oceanol Hydrobiol Stud.* 2007;36(4):151-63. <https://doi.org/10.2478/v10009-007-0030-5>
9. Radić S, Stipaničev D, Cvjetko P, et al. Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2011;74(2):182-7. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.06.011>
10. Ho KT, Konovets IM, Terletska AV, et al. Contaminants, mutagenicity and toxicity in the surface waters of Kyiv, Ukraine. *Mar Pollut Bull.* 2020;155:111153. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111153>
11. Sönmez VZ, Sivri N. Temporal changes in water quality index of polluted lagoon ecosystems: a case study on the Küçükçekmece Lagoon. *Environ Monit Assess.* 2022;194(1):16. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09632-8>
12. Yehia MR, Smolyarova TE, Shabanov AV, Sushko ES, Badun GA, Kudryasheva NS. Adaptation of a bacterial bioluminescent assay to monitor bioeffects of gold nanoparticles. *Bioengineering (Basel).* 2022;9(2):61. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9020061>
13. Farré M, García MJ, Tirapu L, Ginebreda A, Barceló D. Wastewater toxicity screening of non-ionic surfactants by Toxalert® and Microtox® bioluminescence inhibition assays. *Anal Chimica Acta.* 2001;427(2):181-9.
14. Parvez S, Venkataraman C, Mukherji S. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. *Environ Int.* 2006;32(2):265-68. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.08.022>
15. Sönmez VZ, Akarsu C, Sivri N. The ecotoxicological effects of microplastics on trophic levels of aquatic ecosystems. In: Hashmi MZ, editor. *Microplastic Pollution. Emerging Contaminants and Associated Treatment Technologies.* Springer, Cham; 2022:389-428.
16. Muneeswaran T, Kalyanaraman N, Vennila T. Rapid assessment of heavy metal toxicity using bioluminescent bacteria *Photobacterium leiognathi* strain GoMGM1. *Environ Monit Assess.* 2021;193:109. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-08860-2>
17. Ismailov AD, Aleskerova LE. Photobiosensors containing luminescent bacteria. *Biochemistry (Mosc).* 2015;80(6):733-44. <https://doi.org/10.1134/S0006297915060085>
18. Kudryasheva NS, Kovel ES. Monitoring of low-intensity exposures via luminescent bioassays of different complexity: Cells, enzyme reactions and fluorescent proteins. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4451. <https://doi.org/10.3390/ijms20184451>
19. Rozhko TV, Nogovitsyna EI, Badun GA, Lukyanchuk AN, Kudryasheva NS. Reactive oxygen species and low-dose effects of tritium on bacterial cells. *J Environ Radioact* 2019;208-209:106035. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2019.106035>
20. Yamauchi M, Sakuma S. Development of bioassay system for evaluation of materials for personal protective equipment (PPE) against toxic effects of ionizing radiations. *Ind Health.* 2017;55(6):580-3. <https://doi.org/10.2486/indhealth.2017-0128>
21. Sönmez VZ, Sivri N. The toxic effects of commonly used antibiotics in Turkey on aquatic organisms. *J Anatol Environ Animal Sci.* 2020;5(2):154-60. <https://doi.org/10.35229/jaes.687327>
22. Sönmez VZ, Sivri N. Change of acute toxicity of dyestuff wastewaters. *Pol J Environ Stud.* 2020;29(1):491-8. <https://doi.org/10.15244/pjoes/102371>
23. Yildiz S, Sönmez, VZ, Uğurlu Ö, Sivri N, Loughney S, Wang J. Modelling of possible tanker accident oil spills in the Istanbul Strait in order to demonstrate the dispersion and toxic effects of oil pollution. *Environ Monit Assess.* 2021;193:538 <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09339-w>
24. Amariei G, Jiménez-Jiménez S, García MÁ, Marina ML, Boltes K. First eco-toxicological evidence of ivabradine effect on the marine bacterium *Vibrio fischeri*: A chiral view. *Sci Total Environ.* 2022;838(Pt 4):156617. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156617>

25. Hu Y, Lei D, Wu D, Xia J, Zhou W, Cui C. Residual β -lactam antibiotics and ecotoxicity to *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* of pharmaceutical wastewater in the treatment process. J Hazard Mater. 2022;425:127840. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127840>
26. İstanbul Su ve Kanalizasyon İdaresi (İSKİ). Atık Su Aritma Tesisleri. 2022. [<https://www.iski.istanbul/web/tr-TR/kurumsal/iski-hakkinda1/iski-tesisleri/atik-su-aritma-tesisleri3>] (Erişim tarihi: 19.09.2022).
27. Microtox Kılavuzu. Microbics Corporation. Carlsbad, California. 1992.
28. Bond GP, Martin J. Microtox. In: Wexler P, editor. Encyclopedia of Toxicology. 2nd ed. New York: Elsevier; 2005:110-1.
29. Domínguez CM, Ventura P, Checa-Fernández A, Santos A. Comprehensive study of acute toxicity using Microtox® bioassay in soils contaminated by lindane wastes. Sci Total Environ. 2023;856(Pt 2):159146. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159146>
30. Qureshi AA, Bulich AA, Isenberg DL. Microtox® Toxicity Test Systems - Where they stand today. In: Wells PG, Cairns J Jr, Lee K, et al. editors. Microscale Testing in Aquatic Toxicology. Boca Raton: CRC Press; 2018:185-99. <https://doi.org/10.1201/9780203747193-13>
31. Sönmez VZ, Sivri N. Interlaboratory precision of acute toxicity tests using reference toxicant formaldehyde. J Anatol Environ Anim Sci. 2016;1(3):96-9. <https://doi.org/10.35229/jaes.277868>
32. Fulladosa E, Murat JC, Martínez M, Villaescusa I. Patterns of metals and arsenic poisoning in *Vibrio fischeri* bacteria. Chemosphere. 2005;60(1):43-8. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.12.026>
33. Turek M, Różycka-Sokołowska E, Owsianik K, Marciniak B, Bałczewski P. Modification of the Microtox® Basic Solid Phase Test: A new application for the ecotoxicological studies on poorly soluble antihypertensive drugs. J Hazard Mater. 2020;399:122839. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122839>
34. Echols BS, Smith AJ, Gardinali PR, Rand GM. Acute aquatic toxicity studies of Gulf of Mexico water samples collected following the Deepwater Horizon incident (May 12, 2010 to December 11, 2010). Chemosphere. 2015;120:131-7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.048>
35. Mattson MP. Hormesis defined. Ageing Res Rev. 2008;7(1):1-7. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2007.08.007>
36. Kaiser J. Hormesis: Sipping from a poisoned chalice. Science. 2003;302(5644):376-9. <https://doi.org/10.1126/science.302.5644.376>
37. Calabrese EJ. Hormetic mechanisms. Crit Rev Toxicol. 2013;43(7):580-606. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.808172>
38. Phyu YL, Warne MSJ, Lim RP. Effect of river water, sediment and time on the toxicity and bioavailability of molinate to the marine bacterium *Vibrio fischeri* (Microtox). Water Res. 2005;39(12):2738-46. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.04.051>
39. Cao SDS, Fontoura GAT, Dezotti M, Bassin JP. Combined organic matter and nitrogen removal from a chemical industry wastewater in a two-stage MBBR system. Environ Technol. 2016;37(1):96-107. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1063708>
40. Zadorozhnaya O, Kirsanov D, Buzhinsky I, et al. Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of *Vibrio fischeri* bacteria. Sens Actuators B Chem. 2015;207:1069-75. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.08.056>
41. Ramírez-Morales D, Masís-Mora M, Beita-Sandí W, et al. Pharmaceuticals in farms and surrounding surface water bodies: Hazard and ecotoxicity in a swine production area in Costa Rica. Chemosphere. 2021;272:129574. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129574>
42. Boluda R, Quintanilla JF, Bonilla JA, Sáez E, Gamón M. Application of the Microtox® test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). Chemosphere. 2002;46(2):355-69.
43. Öztürk İ, Şeker M. Marmara Denizi'nin ekolojisi: Deniz salyası oluşumu, etkileşimleri ve çözüm önerileri. Ankara: TUBA; 2021.
44. Sönmez VZ, Cumbul Altay M. Mikroplastik sıcak noktalarına (Hot-Spots) atıksu arıtma tesislerinin potansiyel etkisi: İstanbul örneği. İstanbul, Türkiye: TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı; 2022.
45. Gámez OR, Laffont-Schwob I, Prudent P, et al. Assessment of water quality from the Blue Lagoon of El Cobre mine in Santiago de Cuba: A preliminary study for water reuse. Environ Sci Pollut Res. 2019;26(16):16366-77. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05030-3>
46. Wallin J, Karjalainen AK, Schultz E, Järvisjö J, Leppänen M, Vuori KM. Weight-of-evidence approach in assessment of ecotoxicological risks of acid sulphate soils in the Baltic Sea river estuaries. Sci Total Environ. 2015;508:452-61. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.073>
47. Wei CJ, Li XY, Xie YF, Wang XM. Direct photo transformation of tetracycline and sulfanamide group antibiotics in surface water: kinetics, toxicity and site modeling. Sci Total Environ. 2019;686:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.041>

48. Chen L, Wang Z. Effects of chlorination, ultraviolet and ozone disinfection on the biotoxicity of triclosan. *Water Supply*. 2019;19(4):1175-80. <https://doi.org/10.2166/ws.2018.175>
49. Li L. Toxicity evaluation and by-products identification of triclosan ozonation and chlorination. *Chemosphere*. 2021;263:128223. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128223>
50. Yu Y, WY Mo, Luukkonen T. Adsorption behaviour and interaction of organic micropollutants with nano and microplastics – A review. *Sci Total Environ*. 2021;797:149140. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149140>
51. Sönmez VZ, Akarsu C, Cumbul Altay M, Sivri N. Extraction, enumeration, and identification methods for monitoring microplastics in the aquatic environment. In: Hashmi MZ, editor. *Microplastic Pollution. Emerging Contaminants and Associated Treatment Technologies*. Springer, Cham; 2022:21-66.
52. Ntajal J, Falkenberg T, Kistemann T, Evers M. Influences of land-use dynamics and surface water systems interactions on water-related infectious diseases - A systematic review. *Water*. 2020;12(3):631. <https://doi.org/10.3390/w12030631>
53. Pogorzelec M, Piekarska K. Toxicity assessment of water at different stages of treatment using Microtox assay. In: *E3S Web of Conferences, EDP Sciences*, 2017;17:00076.
54. Araújo CV, Nascimento RB, Oliveira CA, Strotmann UJ, da Silva EM. The use of Microtox to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camaçari (BA, Brazil). *Chemosphere*. 2005;58(9):1277-81. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.036>
55. Rodríguez-Loaiza DC, Ramírez-Henao O, Peñuela-Mesa GA. Assessment of toxicity in industrial wastewater treated by biological processes using luminescent bacteria. *Act Biol*. 2016;38(105):211-6. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v37n105a08>

İzmir'den İlk *Candida auris* İzolasyonu: Amputasyon İle Sonuçlanan Polimikrobiyal Diyabetik Ayak Enfeksiyonu

First *Candida auris* Infection Case from İzmir: Polymicrobial Diabetic Foot Infection Resulting in Amputation

Kübra Kulaklı*, Nazlı Arslan**, Onur Gürsan***, Aydan Özkütük*

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

** Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

*** Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Atıf/Cite as: Kulaklı K, Arslan N, Gürsan O, Özkütük A. İzmir'den ilk *Candida auris* izolasyonu: Amputasyon ile sonuçlanan polimikrobiyal diyabetik ayak enfeksiyonu. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(1):47-54.

ÖZ

Candida auris, yüksek virülansı, çoklu ilaç direnci, ciddi hastane enfeksiyonuna neden olması ve laboratuvar tanımlamasındaki zorluklar nedeniyle küresel bir tehdit oluşturmaktadır. İlk tanımlandığı 2009 yılından bu yana birçok ülkeden olgular rapor edilmiştir. Son zamanlarda ülkemizden de *C. auris* enfeksiyon olguları bildirilmektedir. Olgu, İzmir'den bildirilen ilk olgu olup ortopedi bölümünde yatan ileri diyabetik ayak enfeksiyonu olan 59 yaşındaki erkek hastadır. Dış merkezde bilateral femoropopliteal bypass operasyonu uygulanan hasta diyabetik ayak tanısını almıştır. İyileşmeyen nekrotik yaralar nedeniyle ortopedi bölümüne başvuran hastanın özgeçmişinde Tip 1 diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi ve koroner arter hastalığı mevcuttur. Hastaya uygulanan operasyonda sağ 2. metatars ve falanks çıkarılarak nekrotik doku debride edilmiştir. Yaradan alınan doku örneklerinin mikrobiyolojik değerlendirmelerinde maya ve gram negatif bakteri hücreleri görülmüş, kültür ve MALDI-TOF MS ile tanımlama yapılmıştır. Hastaya ampirik tazocin ve linezolid tedavisi başlanmıştır. Ameliyat sonrası dönemde devam eden yara akıntısı ve nekroz görünümü nedeniyle hasta diz eklemine yaklaşık 15 cm distalinden ampute edilmiştir. Kültürde üreyen maya ve bakteri kolonileri MALDI-TOF MS ile sırasıyla *C. auris* ve *Klebsiella aerogenes* ve *Pseudomonas aureginosa* olarak tanımlanmıştır. *C. auris*, ITS bölgesi sekans analizi sonucunda %99 homoloji ile doğrulanmıştır. Yapılan antifungal duyarlılık çalışmasında MİK değerleri fluconazol, amfoterisin B ve kaspofungin için sırasıyla >64 µg/ml, 2 µg/ml ve 0.25 µg/ml olarak saptanmıştır. İkinci amputasyondan sonra yara çevresindeki dokudan alınan sürüntü örnekleri ve nazal sürüntü örneğinde *C. auris* üremesi saptanmamıştır. Diz altı amputasyon ile bu hasta için muhtemel iyileşme olduğu düşünülmüştür. Ülkemizde artık *C. auris* enfeksiyonları aklı getirilmelidir. *C. auris*'in doğru tanımlanması ve gerçek prevalansının belirlenmesinde MALDI-TOF MS büyük kolaylık sağlamaktadır. *C. auris* enfeksiyonunda diyabetin en önemli predispozan faktörlerden biri olması nedeniyle diyabetik ayak enfeksiyonlarında etken olarak akılda tutulmalıdır.

Anahtar kelimeler: *Candida auris*, diyabetik ayak, İzmir

ABSTRACT

Candida auris is a rare yeast species with a global threat due to its high virulence, multi-drug resistance, serious nosocomial infections and difficulties in laboratory identification. Cases from many countries have been reported since it was first described in 2009. Recently, *C. auris* infections have been reported from our country. This is the first case reported from İzmir in a 59-year-old male patient with advanced diabetic foot infection, hospitalized in the department of orthopedics. The patient who underwent bilateral femoropopliteal bypass operation in another center was diagnosed with diabetic foot. The patient had non-healing necrotic wounds, and has a history of Type 1 diabetes, hypertension, hyperlipidemia, and coronary artery disease. In the surgical operation, the right 2nd metatarsal and phalanx of the patient were removed and the necrotic tissue was debrided. Yeast and gram negative bacterial cells were observed in the microbiological evaluation of tissue samples taken from the wound, and the species identification was made with culture and MALDI-TOF MS. Empirical tazocin and linezolid therapy were given to patient. The patient was amputated approximately 15 cm distal to the knee joint due to the ongoing wound discharge and necrosis in the postoperative period. Yeast and bacterial colonies grown in culture were identified by MALDI-TOF MS as *C. Auris*, *Klebsiella aerogenes* and *Pseudomonas aureginosa*. *C. auris* was confirmed with 99% homology as a result of ITS region sequence analysis. In the antifungal susceptibility study, MIC values for fluconazole, amphotericin B and caspofungin were >64 µg/ml, 2 µg/ml and 0.25 µg/ml respectively. *C. auris* growth was not detected in the swab samples taken from the tissue around the wound where the knee joint was amputated approximately 15 cm distal and in the nasal swab sample. Possible improvement was considered for this patient with below-knee amputation. From now on, *C. auris* infections should be kept in mind in our country. MALDI-TOF-MS provides great convenience in accurate identification and determination of the true prevalence of *C.auris*. Since diabetes is one of the most important predisposing factors in *C. auris* infection, it should be kept in mind as a factor in diabetic foot infections.

Alındığı tarih / Received:

04.03.2022 / 04.March.2022

Kabul tarihi / Accepted:

24.08.2022 / 24.August.2022

Yayın tarihi / Publication date:

24.03.2023 / 24.March.2023

ORCID Kayıtları

K. Kulaklı 0000-0001-5852-485X

N. Arslan 0000-0002-5782-9288

O. Gürsan 0000-0002-6356-3834

A. Özkütük 0000-0002-1710-2287

✉ kubrakulakli@gmail.com

Keywords: *Candida auris*, diabetic foot, İzmir

GİRİŞ

Son yıllarda, nadir görülen *Candida* türleri, çoklu antifungal ilaçlara karşı potansiyel dirençleri ve dünyanın birçok coğrafi bölgesinde prevalanslarının artması nedeniyle endişe uyandırmaktadır⁽¹⁾. Diğer nadir *Candida* türlerine benzer şekilde, *Candida auris* fırsatçı, çok ilaca dirençli bir mantar olarak öne çıkmaktadır^(1,2). Bunlar arasında *C. auris*, hızlı küresel yayılımı ve yüksek virülans özellikleri ile sağlık merkezlerinde ortaya çıkan en ciddi patojen olarak görünmektedir⁽²⁾. Ayrıca *C. auris* aylarca süren hastane salgınlarına neden olma özelliği, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında tanımlama güçlükleri, yüksek mortalite ve morbidite oranı nedeniyle de küresel bir tehdit olarak bildirilmektedir⁽¹⁾.

İlk bildirildiği 2009 yılından son günlere kadar, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) tarafından yaklaşık 47'den fazla ülkede *C. auris*'in neden olduğu birçok hastane kaynaklı sporadik vaka veya salgın rapor edilmiştir⁽¹⁾. Ancak, dünya çapındaki *C. auris*'in kesin sayısı, tanımlanmasındaki zorluklar nedeniyle belirlenememiştir^(3,4). Matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) gibi otomatize sistemler, *C. auris* ve diğer birçok patojenin tanımlanması için güvenilir ve hızlı yöntemlerdir. Bu tür yöntemlerin yaygınlaşmasıyla birlikte birçok ülkede *C. auris* ile ilgili başlangıç vaka raporları giderek artmaktadır. *C. auris*'in prevalansı, bu yöntemlerin kullanılması ile daha doğru şekilde belirlenebilir⁽⁵⁾.

Son günlerde, ülkemizde İstanbul'dan *C. auris* enfeksiyon olguları bildirilmektedir⁽⁶⁻¹¹⁾. Bu çalışmada İzmir'de saptanan ilk *C. auris* enfeksiyonu olgusunun bildirilmesi ve ülkemiz için yaklaşan bir tehdit olan *C. auris* enfeksiyonlarının önemine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır. Bu verilerin bildirilmesi yerel *C. auris* epilemiyolojisine katkı sağlaması açısından önemlidir.

OLGU

Olgumuz, tip 1 diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi, koroner arter hastalığı olan 59 yaşında erkek hastadır. Hasta sağ ayak 3., 4. ve 5. falankslarında

iyileşmeyen nekrotik yaralar nedeniyle ortopedi bölümüne başvurmuş olup diyabetik ayak tanısı ile operasyon planlanması amacıyla ortopedi servisine yatırılıp yapılmıştır. Operasyon öncesinde COVID PCR testi yapılmış ve negatif olması üzerine operasyon gerçekleştirilmiştir. Operasyonda sağ 2. metatars ve falanks çıkarılarak nekrotik doku debride edilmiştir. Sağ topuk medialindeki enfekte yumuşak dokular debride edilip kemiğe ulaşıldığında, kemik dokusunda osteomyelit ile uyumlu görünüm saptanmıştır. Yara bölgesinden alınan doku örnekleri, kültür için mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Debridman sonrası genel durumu iyi olan hasta (ateş, nabız, bilinç koopere) bakımına serviste devam edilmiştir.

Yara bölgesinden alınan doku örneğinin direkt mikroskopik bakısında mantar elemanları görülmemiştir. Örnek Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) ve antibiyotikli beyin kalp infüzyon (BHI) agarlara ekilmiştir. Örneklerin SDA'da 30°C, antibiyotikli BHI agarda 37°C'lik inkübasyonu sonucunda üremeler olmuş, kolonilerden yapılan Gram boyalı incelemelerde maya hücreleri görülmüştür. Konvansiyonel tanımlama yöntemleri olarak germ tüp (çimlenme borusu) testi, Chrom Agar *Candida* ve Mısır Unu Tween 80 agardaki morfolojiler değerlendirilmiştir. Germ tüp (çimlenme borusu) testi negatif, Chrom Agar *Candida* besiyerinde pembe koloniler, Mısır Unu Tween 80 agarda yalancı hif oluşturmayan basidosporlar görülmüştür. İleri tanımlama yöntemi olarak laboratuvarımızda konvansiyonel yöntemlerle birlikte eş zamanlı kullanılan MALDI-TOF MS (MALDI Biotyper CA System, Bruker, Billerica, Massachusetts, ABD) kullanılmış, maya kolonileri ≥ 2 log (skor) değerinde yüksek güven aralığıyla *C. auris* olarak tanımlanmıştır. İvedilikle enfeksiyon kontrol komitesine bildirim yapılarak gerekli izolasyonun yapılması sağlanmıştır.

Debridman operasyonu sonrası hastaya enfeksiyon hastalıkları konsültasyonu sonucunda ampirik tazobaktam+pierasilin ve linezolid tedavisi başlanmıştır. Bakteriyoloji laboratuvarına da gelen yara bölgesinden alınan doku örneklerinin mikroskopik direkt bakısında 1-2 lökosit ve Gram (-) basil görülmüş, yara kültüründe *Klebsiella aerogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* üremesi saptanmıştır.

Sonuç Ortopedi Bölümü ve Enfeksiyon Hastalıkları Bölümüne bildirilmiştir. Yapılan antibiyotik duyarlılık testinde indüklenebilir β -laktamaz direnci saptanmıştır. İndüklenebilir β -laktamaz dirençli *Klebsiella aerogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* saptanması üzerine tekrar enfeksiyon konsültasyonu sonrası siprofiloksasin ve tazobaktam+piperasilin olarak tedavi değiştirilmiştir. Aynı örneğin SDA kültüründe maya kolonisi MALDI-TOF MS ile *C. auris* olarak tanımlanmıştır ve enfeksiyon komitesine bildirilmiştir.

Candida auris tanımlanmasında MALDI-TOF MS doğru sonuç veren iyi bir yöntem olsa da, genellikle sonuçların Sanger sekans analizi ile doğrulanması önerilmektedir. Özellikle ülkemiz ve ilimiz gibi bu etkenin henüz görülmediği bölgelerde sonuçların doğrulanması gereklidir. *C. auris* sonucunun moleküler doğrulaması için ITS sekans analizi yapılmıştır. ITS1/2 gen bölgesine ait ITS 1 (5' TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3') ve ITS 4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3) primerleri ile PZT gerçekleştirilmiştir. Total reaksiyon hacmi 20 μ l; 2 μ l 10X Taq Buffer, 1.6 μ l 2.5 mM dNTP, 1 μ l forward and reverse Primer, 1-2 μ l Template DNA (20 ng), 0.2 μ l Taq (2.5 U/ μ l) ve kalanı distile su olacak şekilde hazırlanmıştır. PZT döngü koşulları; 95°C'de 5 dakika başlangıç; 95°C'de 0.5 dakika denatürasyon, 55°C'de 2 dakika bağlanma ve 68°C'de 1.5 dakika uzamadan oluşan 30 döngü; 1 döngü 68°C'de 10 dakika son uzama olarak uygulanmıştır. PZT ürünleri, Montage PCR Cleanup (Millipore) kiti ile saflaştırılmıştır. Saflaştırılan PZT ürünleri aynı primerler kullanılarak çift yönlü sekanslanmıştır. Sekans reaksiyonları Big Dye terminator cycle sekans kiti v.3.1 (Applied Biosystems, ABD) kullanarak yapılmıştır. BlastN veritabanı ile sekans analizi yapılmış, izolatın %99 homoloji ile *C. auris* olduğu saptanmıştır (Erişim Numarası KP326383).

CLSI M27-A3 yönergelerine uygun olarak antifungal duyarlılık testi mikrodilüsyon yöntemi ile çalışarak flukonazol, amfoterisin B ve kaspofungin için MİK değerleri belirlenmiştir⁽¹²⁾. Flukonazol, amfoterisin B MİK ve kaspofungin için MİK değerleri sırasıyla >64 μ g/ml, 2 μ g/ml ve MİK 0.25 μ g/ml olarak saptanmıştır.

İlk amputasyon operasyonundan bir hafta sonra, ameliyat sonrası dönemde devam eden yara akıntısı ve nekroz görünümü nedeniyle hastaya yeniden amputasyon planlanmıştır. Gram negatif bakteri üremeleri için antibiyotik tedavisi devam ederken aynı zamanda diz ekleminin yaklaşık 15 cm distalinden bacak ampute edilmiştir. Hastanın İki hafta sonra yapılan poliklinik kontrolünde ampute yara bölgesinden alınan sürüntü örneklerine ek olarak nazal sürüntü örneği de alınarak kolonizasyon açısından da inceleme yapılmış, alınan örneklerde bakteri veya maya üremesi saptanmamıştır. Hastanın genel durumunun da ameliyat sonrası iyi olması, diz altı amputasyonu ile iyileşmenin sağlandığını düşündürmüştür. Amputasyon sonrası genel durumunun iyi olması üzerine üç gün sonra hasta taburcu edilmiştir.

Bu olgu sunumu için hastadan aydınlatılmış onam formu alınmıştır.

TARTIŞMA

Candida auris, bulaşıcılığı, çoklu antifungallere karşı yüksek direnç oranları ve yüksek mortalite ve morbidite oranları nedeniyle yeni bir "süper ajan" olarak düşünülen maya patojenidir⁽¹³⁾. Ayrıca, dezenfektanlara karşı dirençli olabilmesiyle ekipman ve yüzeyin kalıcı kontaminantı olarak dikkat çekici bir enfeksiyöz ajandır⁽¹⁴⁾. Bu nedenle hastanede yatan kritik hastalar arasında hızla yayılma özelliğine sahiptir ve kontrol edilemez hale gelebilir⁽¹⁵⁾. Kısa bir süre içinde, çeşitli bölgelerden *C. auris* kaynaklı birçok tekrarlanan salgınlar rapor edilmiştir. 2020 yılında yayınlanan sistematik bir derleme ve meta-analizde, çoğunluğu Güney Afrika, Amerika Birleşik Devletleri, Hindistan, İspanya, İngiltere, Güney Kore, Kolombiya ve Pakistan olmak üzere 33'ten fazla ülkede 4000'den fazla vakanın bildirildiği belirlenmiştir⁽¹³⁾.

Türkiye'de 2019 yılına kadar herhangi bir *C. auris* vakası saptanmamıştır. Türkiye'ye komşu ülkelerden biri olan Yunanistan'da, *C. auris* ilişkili ilk vaka 2019 yılında kistik fibrozisli hastada rapor edilmiştir⁽¹⁴⁾. Bunun nedeni, tanı araçlarının sınırlı kapasitesi olabilir, çünkü rutin laboratuvar tekniklerine dayalı tanımlamada *C. auris* gözden kaçabilir. *C. auris*

genellikle bazı otomatize yöntemlerle *Candida haemulonii*, *Candida famata*, *Candida sake*, *Candida lusitaneae*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Rhodotorula glutinis* olarak yanlış tanımlanabilmektedir. *C. auris*'i diğer mayalardan ayıran en güvenilir tanımlama yöntemleri MALDI-TOF MS ve ribozomal DNA dizi analizidir⁽¹⁶⁾. Özellikle MALDI-TOF MS, hızlı ve ucuz bir yöntem olmasının yanı sıra güvenilirliğinden dolayı Türkiye'de rutin mikrobiyolojik tanımlama laboratuvarlarında giderek daha fazla uygulamaya girmektedir. Bu sayede *C. auris* artık Türkiye'de fark edilir hale gelmiştir. Bizim olgumuz dışında 2021 yılında ülkemizden *C. auris* enfeksiyonu olgularını içeren beş adet makale ve iki bildiri bulunmaktadır⁽⁶⁻¹¹⁾.

İlk *C. auris* enfeksiyon olgusu, Kurt ve ark.⁽⁶⁾ tarafından Mart 2021'de bildirilmiştir. *C. auris*, ileri aort stenoza tanısı konan 81 yaşındaki hastanın kanından izole edilmiştir ve MALDI-TOF MS ile tanımlanmış, sonuçlar dizi analizi ile doğrulanmıştır⁽⁶⁾. Haziran 2021 yılında yayınlanan diğer bir makalede *C. auris* ilişkili üç olgu bildirilmektedir. Kasım 2020-Ocak 2021 tarihleri arasında yoğun bakım ünitesinde yatan üç hastanın kan, kateter ve idrar örneklerinden *C. auris* izole edilmiştir. Bu çalışmada, koloniler MALDI-TOF MS yönteminin yanı sıra API 20C AUX (API; bioMérieux, Fransa) ve API ID 32C (API; bioMérieux, Fransa) ile tanımlanmıştır. Üç izolat, API 20C AUX tarafından *Rhodotorula glutinis* ve API ID 32C tarafından *Lachancea kluyverii* olarak tanımlanmış, ancak MALDI-TOF MS ile yapılan tanımlamada bu üç izolatin *C. auris* olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar dizi analizi ile de doğrulanmıştır⁽⁷⁾. Temmuz 2021'de bir başka merkezden bir *C. auris* enfeksiyonu olgusu yayımlanmıştır. Bu olguda *C. auris*, SARS-CoV-2 pozitif ilişkili ciddi sol akciğer tutulumu olan, 71 yaşındaki erkek hastanın kan kültüründen izole edilmiştir. İzolat önce API ID 32C (bioMérieux, Fransa) ile *Saccharomyces kluyveri*, *C. sake* olarak tanımlanmış, sonra VITEK MALDI-TOF MS (bioMérieux, Fransa) yöntemiyle *C. auris* olarak tanımlanmış ve dizi analizi ile sonuç doğrulanmıştır⁸. İstanbul Gaziosmanpaşa Eğitim Araştırma hastanesi'nden Teke ve ark.⁽⁹⁾ tarafından Haziran 2021 de beyin tümörü olan 18 yaşında erkek bir hastada *C. auris* kaynaklı sepsis bildirilmiştir. Vitek 2 sistemi ile tanımlanan kan ve kateter kültüründe üreyen izolatların sırasıyla *C. auris* ve *Cryptococcus laurentii* saptanmıştır. MALDI-

TOF MS ile yapılan tanımlamada her iki izolat *C. auris* olarak saptanmış ve sonuçlar dizi analizi ile doğrulanmıştır. İstanbul, Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi'nden Mayıs 2020-Ağustos 2021 tarihleri arasında yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların kan kültüründen izole edilen 157 mayanın %6.3 (10 izolat)'ünün *C. auris* olduğu bildirilmiştir⁽¹⁰⁾. Ülkemizden bir diğer *C. auris* enfeksiyonunun, 2021 yılında artan solunum sıkıntısı ile İstanbul, Haydarpaşa Numune hastanesinin acil servisine başvuran ve entübe edilerek yoğun bakımda yatan 89 yaşındaki kadın hastanın kanında MALDI-TOF MS ve sanger sekansı ile saptandığı bildirilmiştir⁽¹¹⁾. Ülkemizden bildirilen yayınlarda ilk *C. auris* olgusunun 2020 yılında izole edildiği anlaşılmakta, ancak *C. auris* enfeksiyonlarını tanımlayan uluslararası çok merkezli bir çalışmada da Pendik Hastanesi ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nden 2019 yılına ait *C. auris* izolatları yer aldığı görülmektedir⁽¹⁷⁾.

Bildirilen tüm *C. auris* enfeksiyonu olgularının hepsi İstanbul ile sınırlıdır. Bu güncel raporda ise İzmir'den ilk *C. auris* olgusu bildirilmektedir. Bu olgu da ülkemizde ilk olguların bildirilmeye başlandığı tarihe yakın bir zamanda, Nisan 2021'de görülmüştür. Bildirilen yayınların çoğunda *C. auris* kan kültüründen izole edilmiştir. Bu olguda ise *C. auris*, diyabetik ayak tanısı olan 59 yaşındaki erkek hastanın perioperatif yarısından alınan doku kültüründen izole edilmiştir. Laboratuvarımızda rutin işlemlerde konvansiyonel yöntemlerle birlikte eş zamanlı olarak kullanılmakta olan MALDI-TOF MS ile izolat *C. auris* olarak tanımlanmıştır.

Altta yatan hastalıkların varlığı ve hastanede yatıyor olmak maya mantarı enfeksiyonlarının gelişimi için önemli predispozan faktörlerdir. Hu ve ark.⁽¹⁸⁾, 2009-2020 yılları arasında dünya çapında *C. auris* enfeksiyonlarının klinik özelliklerini retrospektif olarak analiz etmişlerdir. 748 *C. auris* enfeksiyonuna sahip hastada en önemli komorbid hastalık incelenmiş ve en yüksek komorbid faktörün % 20 ile diabetes mellitus olduğu belirlenmiştir. Bu oranları karaciğer hastalıkları, travma ve kulak hastalıkları takip etmiştir. *C. auris* enfeksiyonu gelişiminde en önemli risk faktörünün ise geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı olduğu bildirilmiştir⁽¹⁸⁾. Benzer

şekilde, *C. auris* enfeksiyonlarını içeren uluslararası çok merkezli çalışmada, 54 olgu içerisinde, diyabetin en yaygın komorbid hastalık olduğu saptanmıştır⁽¹⁷⁾. Bu olgu raporunda da diğer çalışmalarda bildirildiği üzere, hastada *C. auris* enfeksiyonu gelişiminde baskın bir komorbid hastalık olan diyabet öyküsü yaklaşık 20 yıldır bulunmaktadır ve diyabetin kronik bir makrovasküler komplikasyonu olan periferik vasküler hastalık gelişmiştir. Bu hastalığın da diyabetik ayağa progrese olması nedeniyle vaka amputasyon ile sonuçlanmıştır.

Diabetes mellitus, kronik hiperglisemi ve ciddi komplikasyonlarla karakterize metabolik bir hastalıktır. Diyabetik ayak ülseri, diabetes mellitus'un en yaygın komplikasyonlarından biridir ve hastaneye yatışların ve travma dışı alt ekstremitte amputasyonlarının önde gelen nedenidir. Hastaların %10-15'ini yaşamlarının bir döneminde ayak ülseri gelişimi riski taşımaktadır^(19,20). Diyabetik ayak ülseri, mikrobiyal enfeksiyonlar için önemli bir predispozan faktördür. Diyabetik ayak enfeksiyonları (DFI'ler) önemli bir morbidite nedenidir ve diyabetle ilişkili en sık hastaneye yatış nedenleri arasındadır. Enfeksiyon alttaki kemik de dahil olmak üzere daha derin yapılara ilerlerse diyabetik ayak osteomyeliti (DFO) gelişebilmektedir. Hastaneye başvuran diyabetik ayak enfeksiyonlu hastaların %44-68'inde DFO gelişmektedir⁽²¹⁾. Diyabetik ayak ülserleri ve osteomyelit olgularında sıklıkla etken bakterilerdir. Hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler sıklıkla izole edilmektedir. Coğrafik bölgelere göre diyabetik ayak enfeksiyonlarından izole edilen etkenlerde farklılıklar görülmektedir. Ülkemizde sıklıkla Gram negatif etkenler (*Pseudomonas* spp, *Escherichia coli*) bildirilmektedir. İleri evre diyabetik ayak enfeksiyonlarında da Gram negatif etkenlerin görülme sıklığı daha fazladır. Orta ve şiddetli diyabetik ayak enfeksiyonları genellikle polimikrobiyaldir^(19,22). Bu diyabetik ayak enfeksiyon olgusunda yara bölgesinden alınan doku örneklerinde iki indüklenebilir Beta laktamaz dirençli Gram negatif etken (*P. aureginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) ve *C. auris* birlikte saptanmıştır. Bu iki antimikrobiyal dirençli bakteri ve mantar birlikte saptanması enfeksiyonun kemik dokuya ilerleyerek amputasyona varmasına neden olmuştur. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında mantar türleri daha az sıklıkla

görülmemekte ve bu nedenle mantar etyolojilerinin belirlenmesi sıklıkla ihmal edilmektedir. Mantar etkenleri arasında, *Candida* türleri diyabetik ayak enfeksiyonlarında en yaygın fırsatçı patojenlerdir⁽²³⁾. Diyabetik ayak enfeksiyon olgularından *Candida* sp. izole edilme sıklığı %5-21 arasında değişmektedir⁽²⁴⁾. En sık saptanan etken *C. albicans* olmakla birlikte, *albicans* dışı *Candida* türleri de diyabetik ayak enfeksiyonlarından izole edilen önemli patojenler olarak ortaya çıkmaktadır. Ülkemizde diyabetik enfeksiyonunda mantar etkenlerini araştıran güncel bir yayında, *C. albicans* dışında en sık *Candida glabrata* saptanmıştır⁽²³⁾. Sunulan diyabetik ayak enfeksiyon olgusunda flukonazol ve amfoterisin B ye dirençli *C. auris* saptanmıştır. Çok ilaca dirençli bu tür mantar ve bakteri etkenleri diyabetli hastaların enfekte doku örneklerinde giderek artan sıklıkla bildirilmektedir. Dirençli bakteriyel ve mantar etkenleri iyileşmeyen enfeksiyonlara neden olabilmekte ve amputasyon riskini arttırmaktadır. Bu nedenle saptanan tüm olguların ve antimikrobiyal duyarlılık verilerinin bildirilmesi enfeksiyon kontrolü açısından önemlidir.

Candida auris'in en korkutucu özelliği, birçok antifungal sınıfına karşı direnç geliştirmeye potansiyeline sahip olmasıdır. 2019 yılında New York'ta yapılan bir çalışmada azoller, polienler ve ekinokandinler olmak üzere üç sınıf antifungale dirençli olarak tanımlanan pan-dirençli izolatlar rapor edilmiştir⁽²⁵⁾. Türkiye'den *C. auris* izolatlarını içeren uluslararası çok merkezli çalışmada 54 *C. auris* izolatının antifungal duyarlılığı incelenmiş olup flukonazol ve amfoterisin B'ye karşı duyarlı izolat sayısının düşük olduğu saptanmıştır (%22 ve %48 sırasıyla); en duyarlı ilaçların sırasıyla mikafungin, kaspofungin ve anidulafungin olduğu belirlenmiştir⁽¹⁷⁾. İstanbul'dan bildirilen çalışmalarda⁽⁶⁻¹¹⁾, flukonazol için yüksek MİK değeri (> 32 µg/mL ve > 256 µg/mL arasında) saptanırken diğer azollerin (vorikonazol, itrakonazol ve posakonazol) MİK değerleri düşük bulunmuştur. Ayrıca ekinokandinler (anidulafungin ve kaspofungin) için düşük MİK değeri bildirilmiştir. Bu çalışmalarda amfoterisin B için MİK değerinin 1 ile 2 arasında değiştiği görülmüştür. Amfoterisin B ve/veya ekinokandinler (anidulafungin veya kaspofungin) dahil edilerek tedavi sağlanabildiği görülmüştür⁽⁶⁻¹¹⁾. Bu olgu sunumunda flukonazol, amfoterisin B ve kaspofungin'in antifungal duyarlılıkları CLSI M27A3

rehberine göre belirlenmiştir. Benzer şekilde ekinokandinler (kaspofungin) en duyarlı ilaçlar iken, flukonazol (>64 µg/mL) ve amfoterisin B için yüksek MİK değeri (2 µg/mL) elde edilmiştir. Hasta üreyen Gram negatif bakterileri için kombine antibiyotik tedavisi almış, bu süreçte henüz maya üremesi görülmediği için antifungal tedavi uygulanmamıştır. Doku örneğinin gönderildiği operasyondan yedi gün sonra, doku kültüründeki maya üremesinin *C. auris* olarak doğrulanması sürecinde, post-operatif dönemde gelişen ve ilerleyen nekroz nedeniyle hastaya diz eklemine yaklaşık 15 cm distalinden yeniden amputasyon uygulanması gerekmiştir. Vital bulguları stabil, genel durumu iyi olan ve takiplerinde herhangi bir problem görülmeyen hasta ortopedi poliklinik kontrolü önerilerek operasyondan üç gün sonra taburcu edilmiştir. Olgumuzda *C. auris* enfeksiyonu kaynak bölgenin cerrahi olarak çıkarılması nedeniyle yayılmadan kontrol altına alınmış, etkenin kolonizasyon mu enfeksiyon etkeni mi ayrımı tam olarak yapılamamış, bununla birlikte alınan kontrol örneklerinde tekrar üremenin olmaması kolonizasyon başlangıçta olsa dahi bu süreçte devam etmediğini düşündürmüştür.

Enfeksiyon kaynaklarının analizi, bulaşın izlenmesi ve enfeksiyon kontrol önlemleri, bulaş dinamiklerini anlamak ve salgınları önlemek için çok önemlidir. *C. auris* hızla yayılabileceğinden temas önlemleri, tek kişilik oda izolasyonu, kolonize veya enfekte hastaların takibini içeren enfeksiyon kontrol önlemleri hızlıca alınmalıdır⁽³⁾. İstanbul'dan Kurt ve ark.⁽⁶⁾ kaynak araştırmasında çevresel yüzeylerden (mekanik ventilatör ekipmanı, hasta yatakları, ortak nesneler, destekleyici bakım ekipmanları, telefonlar, kapı kolları, bilgisayar klavyeleri vb.) ve hastaların nasal, inguinal ve aksiller bölgelerinden sürüntü örnekleri almışlar, aynı bölümdeki bir hastanın sadece aksiller sürüntü örneğinde *C. auris* tespit etmişlerdir. Bu hasta da tek kişilik odada izole edilerek enfeksiyon kontrol önlemleri alınmıştır. Ancak, çevresel örneklerden *C. auris* izole edilmemiş, bu nedenle kaynak tam olarak belirlenememiştir⁽⁶⁾. İlk temas veya enfeksiyon kaynağı birçok raporda tanımlanamamıştır^(1,6). *C. auris* tanımlanması için geçen sürede çevreye ve hastaya yapılan müdahalelerin (temizlik uygulama yöntemleri, hastane personellerinin sürekli değişmesi, hastaya yapılan müdahaleler vb.) çok

çeşitli olması kaynak araştırmalarında karıştırıcı faktör olarak etki gösterebilir. Olgumuzda *C. auris* izolasyonu enfeksiyon kontrol komitesine derhal bildirilse de kaynak taraması açısından olgumuz bazı kısıtlılıklara sahiptir. Hastalık Önleme ve Koruma Merkezi (CDC) kolonizasyon kaynağının belirlenmesi için hastanın iki taraflı aksilla ve inguinal bölge taramasını önermektedir. Bu bölgeler en yaygın ve duyarlı bölgeler olmakla birlikte burun, ağız, dış kulak kanalları, idrar, yara ve rektum bölgelerinin de kolonizasyon taraması için kullanıldığı bilinmektedir. Bu olguda kaynak analizi için hastanın aksiller ve koltuk altı bölgelerinden örnek alınmasını hastanın kabul etmemesi nedeniyle daha az duyarlı bölgeler olan nazal sürüntü ve amputasyon yara bölgesinden sürüntü örnekleri alınmıştır. Örneklerde maya üremesi saptanmamıştır. Hastayla yapılan görüşmede yurt dışı bağlantısı olmadığı ancak kısa süre önce bir dış merkezde ameliyat öyküsü olduğu öğrenilmiştir. Bu süreçte enfeksiyon tek bir olgu ve yara bölgesi ile sınırlı kalmış, hastanın *C. auris* saptanan doku bölgesi tamamen çıkarıldıktan kısa süre sonra, yoğun bakım ihtiyacı olmaması ve genel durumunun iyi olması üzerine hasta taburcu edilmiştir.

Son olarak, Türkiye'deki klinisyenler ve mikrobiyologlar artık *C. auris* enfeksiyonları ile karşı karşıyadır ve olası salgınların ve enfeksiyonun yayılımının önlenmesi için gerekli kontrol önlemlerinin alınması konusunda birlikte etkileşim halinde olmalıdırlar. Özellikle, tedaviye dirençli bir maya enfeksiyonu görüldüğünde *C. auris* mutlaka akla getirilmelidir. *C. haemulonii* veya *C. famata* tespit edildiği durumda izolatların MALDI-TOF MS tarafından doğrulanması önemlidir. *C. auris* enfeksiyonunun MALDI-TOF MS gibi yöntemlerle doğru ve hızlı tanımlanması, enfeksiyona hızlı müdahalede ve uygun tedavinin belirlenmesinde kritiktir. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında olduğu gibi özellikle diyabet varlığında bu etken için uyanık olunmalıdır. Tanımlama yapılır yapılmaz *C. auris*'in enfeksiyon kontrol komitesine bildirilmesi ve kontrol önlemlerinin alınması hastane ilişkili enfeksiyonun ve salgınların önlenmesi açısından şüphesiz büyük önem taşımaktadır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Ahmad S, Alfouzan W. *Candida auris*: Epidemiology, diagnosis, pathogenesis, antifungal susceptibility, and infection control measures to combat the spread of infections in healthcare facilities. *Microorganisms*. 2021;9(4):807. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040807>
2. Arastehfar A, Fang W, Badali H, et al. Low-cost tetraplex PCR for the global spreading multi-drug resistant fungus, *Candida auris* and its phylogenetic relatives. *Front Microbiol*. 2018;9:1119. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01119>
3. Ayhanci T, Altındış M. Hızla yayılan çoklu ilaca dirençli maya mantarı: *Candida auris*. *Türk Hij Den Biyol Derg*. 2020;77(1):123-36. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2019.26879>
4. Iguchi S, Itakura Y, Yoshida A, et al. *Candida auris*: A pathogen difficult to identify, treat, and eradicate and its characteristics in Japanese strains. *J Infect Chemother*. 2019;25(10):743-9. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.05.034>
5. Irinyi L, Serena C, Garcia-Hermoso D, et al. International Society of Human and Animal Mycology (ISHAM)-ITS reference DNA barcoding database - The quality controlled standard tool for routine identification of human and animal pathogenic fungi. *Med Mycol*. 2015;53(4):313-37. <https://doi.org/10.1093/mmy/myv008>
6. Kurt AF, Kuskucu MA, Balkan II, et al. *Candida auris* Fungemia and a local spread taken under control with infection control measures: First report from Turkey. *Indian J Med Microbiol*. 2021;39(2):228-30. <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2021.03.007>
7. Kömeç S, Karabıçak N, Ceylan AN, Gülmez A, Özalp O. Türkiye İstanbul'dan bildirilen üç *Candida auris* olgusu. *Mikrobiyol Bul*. 2021;55(3):452-60. <https://doi.org/10.5578/MB.20219814>
8. Bölükbaşı Y, Erköse Genç G, Orhun G, et al. Türkiye'de ilk COVID-19 pozitif *Candida auris* fungemi olgusu. *Mikrobiyol Bul*. 2021;55(4):648-55. <https://doi.org/10.5578/mb.20219716>
9. Teke L, Sargin Altunok E, Genç Moralar D. The second case of *Candida auris* candidemia from Turkey: An impending threat to the global health. *Mediterr J Infect Microbes Antimicrob*. 2021;10:48. <https://doi.org/10.4274/mjima.galenos.2021.2021.48>
10. Öncel B, Ceylan AN. Yoğun bakım ünitelerindeki tehdit; İnvaziv maya enfeksiyonları ve çoklu ilaca dirençli *C. auris*. 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi, 20-24 Ekim 2021, Online; 2021:SS-025.
11. Aslan M, Turan D, Altunal L N, Aksaray S. Laboratuvarımızda izole edilen ilk *C. auris* olgusu. 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi, 20-24 Ekim 2021, Online; 2021:SS-026.
12. Rex JH, Alexander BD, Andes D, et al. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved standard - Third edition; 2008.
13. Chen J, Tian S, Han X, et al. Is the superbug fungus really so scary? A systematic review and meta-analysis of global epidemiology and mortality of *Candida auris*. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1):827. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05543-0>
14. Stathi A, Loukou I, Kirikou H, et al. Isolation of *Candida auris* from cystic fibrosis patient, Greece, april 2019. *Eurosurveillance*. 2019;24(29):1900400. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.29.1900400>
15. Ninan MM, Sahni RD, Chacko B, Balaji V, Michael JS. *Candida auris*: Clinical profile, diagnostic challenge and susceptibility pattern: Experience from a tertiary-care centre in South India. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;21:181-5. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.10.018>
16. Chakrabarti A, Sood P. On the emergence, spread and resistance of *Candida auris*: Host, pathogen and environmental tipping points. *J Med Microbiol*. 2021;70(3):001318. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001318>
17. Pandya N, Cag Y, Pandak N, et al. International multicentre study of *Candida auris* infections. *J Fungi*. 2021;7(10):878. <https://doi.org/10.3390/jof7100878>
18. Hu S, Zhu F, Jiang W, et al. Retrospective analysis of the clinical characteristics of *Candida auris* infection worldwide from 2009 to 2020. *Front Microbiol*. 2021;12:658329. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.658329>
19. Utlı Y, Başak O, Bozkurt-Kozan F, Bülent Ertuğrul M. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında etkenler ve çoğul dirençli patojenlerle ilişkili faktörler. *Klinik Derg*. 2019;32(1):84-9. <https://doi.org/10.5152/kd.2019.18>
20. Musyoki VM, Mutai W, Ngugi N, Otieno F, Masika MM. Speciation and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from diabetic foot ulcer patients in a tertiary hospital in Kenya. *Pan Afr Med J*. 2022;41:34. <https://doi.org/10.11604/pamj.2022.41.34.30815>

21. Pitocco D, Spanu T, Di Leo M, et al. Diabetic foot infections: A comprehensive overview. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019;23(2 Suppl):26-37. https://doi.org/10.26355/eurrev_201904_17471
22. Taori SK. Infected diabetic foot including osteomyelitis. In: Edmonds EE, Sumpio BE, editors. Limb Salvage of the Diabetic Foot. Springer Cham; 2019: 389-516. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-17918-6>
23. Öztürk AM, Taşbakan MI, Metin DY, et al. A neglected causative agent in diabetic foot infection: A retrospective evaluation of 13 patients with fungal etiology. Turkish J Med Sci. 2019;49(1):81-6. <https://doi.org/10.3906/sag-1809-74>
24. Manikandan J, Jaikumar S. Prevalence and characterization of opportunistic candidal infection among diabetic foot ulcer patients, Puducherry. Ann Rom Soc Cell Biol. 2021;25(2):3490-500.
25. Ostrowsky B, Greenko J, Adams E, et al. *Candida auris* isolates resistant to Three classes of antifungal medications - New York, 2019. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2020;69(1):6-9. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6901a2>

Nadir Görülen Bir İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkeni: *Myroides odoratimimus*

A Rare Caused of Urinary Tract Infection: *Myroides odoratimimus*

Makbule Hilal Yıldırım*, Fulya Bayındır Bilman**, Selçuk Kaya*, Süreyya Gül Yurtsever*, Tuba Müderris*

* İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

** İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir, Türkiye

Atıf/Cite as: Yıldırım MH, Bayındır Bilman F, Kaya S, Yurtsever SG, Müderris T. Nadir görülen bir idrar yolu enfeksiyonu etkeni: *Myroides odoratimimus*. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(1):55-59.

Öz

Myroides cinsi, daha önce *Flavobacterium odoratum* olarak sınıflandırılan aerobik, hareketsiz, sarı pigmentli, karakteristik meyvemsi kokuya sahip, oksidaz-pozitif, Gram-negatif çubuk şeklinde bakterilerdir. Su ve toprak gibi çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunurlar. *Myroides* düşük seviyeli bir patojen olarak kabul edilse de, immün yetmezliği olan hastalarda hayatı tehdit edebilecek menenjit, zatürre, idrar yolu ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Birçok antibiyotiğe dirençli olmaları nedeniyle tedavileri zordur. Hastane enfeksiyonlarına ve ölümlere neden olabilirler. *Myroides* spp. olgularının gittikçe artan sayıda bildirilmeye başlanması dikkat çekmiştir. Bu çalışmada altta yatan hastalıkları bulunmayan ve idrar kültüründe *Myroides odoratimimus* üreyen 46 yaşındaki kadın hasta sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: İdrar yolu enfeksiyonu, *Myroides*, antibiyotik direnci

ABSTRACT

Myroides is a type of bacteria that was previously classified as *Flavobacterium odoratum*. It is aerobic, immobile, yellow-pigmented, oxidase positive and gram-negative rod with a characteristic fruity smell. They are commonly found in environmental resources such as water and soil. Although *Myroides* is considered a low-level pathogen, it can cause life-threatening meningitis, pneumonia, urinary tract and soft tissue infections in immunocompromised patients. They are difficult to treat because of the resistance to many antibiotics. They can cause hospital infections and deaths. *Myroides* spp. has drawn attention with the increasing number of cases reported. This study presents a 46-year-old female patient with no underlying diseases and *Myroides odoratimimus* growth in urine culture.

Keywords: Urinary tract infection, *Myroides*, antibiotic resistance

Alındığı tarih / Received:

05.10.2022 / 05.October.2022

Kabul tarihi / Accepted:

06.01.2023 / 06.January.2023

Yayın tarihi / Publication date:

24.03.2023 / 24.March.2023

ORCID Kayıtları

M. H. Yıldırım 0000-0002-6424-822X
F. Bayındır Bilman 0000-0001-7962-6134
S. Kaya 0000-0002-8637-6345
S. G. Yurtsever 0000-0002-4421-230X
T. Müderris 0000-0002-8538-5864

✉ mhilalergin@gmail.com

GİRİŞ

Myroides cinsi bakteriler ilk olarak 1923'te izole edilmiş olup, 1996 yılına kadar *Flavobacterium* cinsi içerisinde yer almıştır⁽¹⁾. 1996 yılında *Flavobacterium* cinsinden ayrılarak *Myroides* cinsi olarak yeniden adlandırılmış bu cinsi içerisinde *Myroides odoratus* ve *Myroides odoratimimus* olmak üzere insanda patojen özellik gösteren iki tür tanımlanmıştır⁽²⁾. *Myroides* cinsinin genel özellikleri aerobik, hareketsiz, sarı pigmentli, oksidaz pozitif olup gram negatif çubuk şeklindeki bakterilerdir. Çilek benzeri meyvemsi koku karakteristik özelliği olarak bilinir⁽³⁾. Su ve toprak gibi çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan *Myroides* cinsi, normal insan florasında yer almaz ve insanlarda

nadiren enfeksiyona neden olur^(4,5). *Myroides* türleri, daha çok fırsatçı patojen özelliğe sahiptirler⁽¹⁾. İmmün yetmezliği olan hastalarda hayatı tehdit edebilecek menenjit, pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olmaktadır⁽⁶⁾. Birçok antibiyotik tedavisine direnç gösterirler. Hastane enfeksiyonlarına ve ölümlere neden olabilirler⁽⁷⁾.

OLGU

Özgeçmişinde bilinen hastalığı olmayan 46 yaş kadın hasta Mayıs 2022'de tam senkop ile acil servise başvurmuştur. Acil serviste nabızsız polimorfik

ventriküler taşikardi gelişmesi üzerine defibrile edilmiştir. Hastada nabızsız polimorfik ventriküler taşikardilerin tekrarlaması üzerine 100'ün üstünde kardiyoversiyon uygulanmıştır. Saturasyon düşüklüğü görülen hasta elektif entübe edilmiştir. Hastaya kardiyoloji tarafından ablasyon ve çift odacıklı implante edilebilir kardiyak defibrilatör implantasyonu uygulanmıştır. Hastanın sedatif desteğin kesilmesine rağmen bilinci açılmamış olup kasılmalarının olduğu görülmüştür. Çekilen beyin tomografisinde akut patoloji saptanmamıştır. Hastanın kardiyak ritminin asistoli olması üzerine 2-3 dakika kardiyopulmoner resusitasyon uygulanmıştır. Sonrasında çekilen beyin tomografisinde ödem izlenmiştir. Hipoksik iskemik ensefalopati tanısı konulmuştur ve mannitol tedavisi uygulanmıştır. Koroner yoğun bakımda takip edilen hastaya, sol bacakta akut femoral emboli gelişmesi üzerine acil embolektomi yapılmıştır ve hastanın koroner yoğun bakımdan anestezi yoğun bakıma nakli sağlanmıştır. Yapılan tetkiklerinde; hemoglobin (Hb) 7.4 g/dl, hematokrit (Hct) %23.4, beyaz küre 11.050/ml, C Reaktif Protein (CRP) 142.5 mg/L, prokalsitonin (PCT) 1.24 ug/L olduğu görülmüştür. Takibi sürecinde kan, idrar, trakeal aspirat kültürleri alınmıştır. Trakeal aspirat kültüründe üreme olmamıştır. İdrar kültüründe *Pseudomonas putida* üremesi olması üzerine piperasilin/tazobaktam tedavisine başlanmıştır. Sonra alınan iki kan kültürün birinde metisilin dirençli *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), diğerinde *Staphylococcus hominis* üremesi üzerine teikoplanin 400 mg (4x1) başlanmıştır. Bir hafta sonra alınan kan kültürlerinde yine MRSE üremesi olması üzerine teikoplanin tedavisine devam edilmiştir. Takibinde alınan yeni kan kültüründe *Acinetobacter baumani* üremesi olduğu için teikoplanin kesilerek meropenem 1 gr IV (1x1) ve polimiksin-B 500.000 IU IV (1x1) tedavisi başlanmıştır. Bu dönemde yapılan kan tetkiklerinde Hb 9.1 g/dl, Hct %30.2, beyaz küre 3.810/ml, PCT 0.08 µg/L olduğu; tam idrar tetkikinde 35 lökosit, 23 bakteri, +1 protein olduğu saptanmıştır, pH:8.5'dur. Bu klinik bulguların olduğu dönemde hastanın sondasından alınan idrar örneği koyun kanlı (Beslab, Türkiye) ve EMB (GBL, Türkiye) agara kantitatif olarak ekilmiştir. Aerobik koşullarda 24 saatlik inkübasyonun ardından agarlarda 10⁵ cfu/ml Gram negatif basil üremiştir. Kolonileri yuvarlak, mukoid, sarı pigmentli görünümde (Resim 1) ve meyveli bir kokuya sahiptir. Aynı tarihlerde başka bir

kültüründe üreme olmadığı ve klinik bulguların (ateş, CRP ve prokalsitonin değerlerindeki yükseklik ve tam idrar tetkiki bulgularındaki enfeksiyon lehine artışlar) desteklemesi nedeniyle üreyen bakteri etken kabul edilmiştir. Hastanın, hastaneye yatışının üzerinden 72 saatten daha uzun süre geçmiş olması üzerine etkenin hastane kaynaklı olduğu düşünülmüştür.

İzolat, matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş kütle spektrometrisi süresi (MALDI-TOF MS, Bruker, Almanya) kullanılarak *Myroides odoratimimus* olarak tanımlanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testi (ADT) hem BD-Phoenix (7 Loveton Circle, Sparks, MD 21152 ABD) otomatize sistemi kullanılarak hem de standart disk difüzyonu yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Otomatize sistem ile çalışılan antibiyogram sonucunda amikasin, tobramisin, seftazidim, seftriakson, imipenem, piperasilin/tazobaktam, nitrofurantoin, siprofloksasin, levofloksasin dirençli olarak raporlanmıştır (Tablo 1). Standart disk difüzyon yöntemine göre antibiyogram sonucu kullanılan amikasin (30 µg), gentamisin (10 µg), tobramisin (10 µg), sefazolin (30 µg), sefiksime (5 µg), seftazidim (30 µg), seftriakson (30 µg), ertapenem (10 µg), imipenem (10 µg), ampicillin (2 µg), amoksisilin/klavulonat (20/10 µg), piperacillin/tazobaktam (30/6 µg), trimetoprim/sülfametoksazol (25 µg), fosfomisin (50 µg), nitrofurantoin (300 µg), siprofloksasin (5 µg), levofloksasin (5 µg), tigesiklin (15 µg) disklerinin çevresinde inhibisyon zonu görülmediği için dirençli olarak raporlanmıştır.



Resim 1. *Myroides odoratimimus* kolonileri

Tablo 1. İzole edilen M. odoratimimus kökenine ait antimikrobiyal duyarlılık testi sonucu

İlaç adı	MİK düzeyi	Rapor
Amikasin	MİK >32 µg/ml	R (dirençli)
Gentamicin	MİK >8 µg/ml	
Tobramycin	MİK >8 µg/ml	R (dirençli)
Cefazolin	MİK >32 µg/ml	
Cefixime	MİK >4 µg/ml	
Ceftazidim	MİK >16 µg/ml	R (dirençli)
Ceftriakson	MİK >4 µg/ml	R (dirençli)
Ertapenem	MİK >2 µg/ml	
Imipenem	MİK >8 µg/ml	R (dirençli)
Ampicilin	MİK >16 µg/ml	
Amoksisilin/klavulonat	MİK >32/2 µg/ml	
Piperacillin-Tazobactam	MİK >32/4 µg/ml	R (dirençli)
Trimetoprim/sülfametoksazol	MİK <=2/38	
Fosfomisin	MİK >64 µg/ml	
Nitrofurantoin	MİK >128 µg/ml	R (dirençli)
Ciprofloxacin	MİK >1 µg/ml	R (dirençli)
Levofloksasin	MİK >4 µg/ml	R (dirençli)
Tigesiklin	MİK 4 µg/ml	

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon; Klinik sınır değeri yoktur. MİK değeri çalışılıp bildirilmiştir.

Bu sırada verilen antibiyotik tedavisi polimiksin-B 500.000 IU IV (1x1) ve meropenem 1 gr IV (1x1) kullanılmıştır. Kontrol amaçlı alınan idrar ve kan kültürlerinde üreme olmadığı dönemde antibiyotik tedavisi kesilmiştir.

Hasta trakeostomili, mekanik ventilasyona bağlı ve midazolam ile sedatize şekilde dış merkez 3.basamak yoğun bakıma sevk edilmiştir. Hastanın, dış merkezde takip edildiği dönemde sepsis nedeniyle hayatını kaybettiği öğrenilmiştir.

Bu olgu sunumu için hastadan aydınlatılmış onam formu alınmıştır.

TARTIŞMA

Su ve toprak gibi çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan *Myroides* cinsi, normal insan florasında

yer almaz ve insanlarda nadiren enfeksiyona neden olur^(4,5). *Myroides* türleri nadir görülen bir fırsatçı patojen olmakla birlikte enfeksiyonları, çoğunlukla antibiyotiklere karşı yüksek direnç göstermesi nedeniyle tedavi başarısızlıklarına ve ölümlere neden olabilmektedir⁽⁸⁾. *Myroides* türleri, önceden bildirilmiş yayınlarda^(3,9,10) antibiyotiklere oldukça dirençli rapor edilmiştir. Türlerinin bazı antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır, beta-laktamlara olan direncin kromozom kodlu metallo-beta-laktamaz enzimlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu direncin gen bölgelerinin, *M. odoratus* için *TUS-1*, *M. odoratimimus* için *MUS-1* olduğu gösterilmiştir⁽¹¹⁾.

Lorenzin ve ark.'nın⁽¹⁰⁾ raporunda *M. odoratimimus*'a bağlı idrar yolu enfeksiyonu bulunan erkek hasta sunulmaktadır. Olgunun üç gündür devam eden hematüri şikayeti ile başvurduğu ve tip II diyabetes mellitus, hipertansiyon, iskemik kardiyomiyopati, hafif kronik miyelomonositik lösemi, dislipidemi ve obezitesinin olduğu bildirilmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık testlerine bakıldığında sadece trimetoprim/sulfametoksazole duyarlı olduğu görülmüştür⁽¹⁰⁾. Bizim olgumuzda da benzer şekilde antibiyotiklerin tamamına direnç tespit edilmiştir.

Licker ve ark.'nın⁽³⁾ raporunda *M. odoratimimus*'a bağlı idrar yolu enfeksiyonu bulunan üçü erkek, biri kadın dört hasta sunulmaktadır. Hastaların birinin böbrek transplantasyonu geçirdiğini ve immünsupresif tedavi altında olduğunu, birinde kronik obstrüktif akciğer hastalığı ile birlikte diyabeti bulunduğunu ve ayrıca yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinoma bağlı radikal sistektomi, sonuncunun ise transüretal rezeksiyon operasyonu (benign prostat hiperplazisine bağlı) geçirdiğini bildirmişlerdir. Antimikrobiyal duyarlılık testlerine bakıldığında ise mikroorganizmanın dört hastada da sadece minosikline duyarlı olduğu görülmüştür. Bizim olgumuzda bu bildirilerden farklı olarak hastanın altta yatan başka bir hastalığı ve immünsupresif bir durumu olmadığı tespit edilmiştir.

Türkiye'den yapılan çalışmalarda, Küçük ve ark.⁽⁹⁾ 56 yaşında idrar kültüründe *M. odoratimimus* üreyen kadın hasta bildirmişlerdir. Bu hastada bilinç

değişikliği şikâyetiyle başvurma hikayesi vardır. Hasta akut iskemik serebrovasküler hastalık tanısı almıştır ve özgeçmişinde diyabetes mellitus, hipertansiyon, romatoid artrit ile koroner arter hastalıkları bulunduğunu bildirmişlerdir. İzole edilen bakteri test edilen tüm antimikrobiyallara dirençlidir.

Myroides türleri idrar yolu enfeksiyonları dışında da etken olarak bildirilmiştir. Beharrysingh ve ark.⁽¹²⁾ diyabetik ayak enfeksiyonuna bağlı parmak amputasyonları bulunan, Merkel hücreli karsinoma bağlı kemoterapi alan 64 yaşındaki erkek hastada *Myroides* türlerine bağlı bakteriyemi olgusunu raporlandırımlardır. Willems ve ark.⁽¹³⁾ 77 yaşındaki erkek hastada *M. odoratimimus*'a bağlı sepsisli fulminan erizipel olgusu bildirmişlerdir.

Prateek ve ark.⁽¹⁴⁾ kronik böbrek hastalığı olan ve idame hemodiyalizi uygulanan 69 yaşındaki erkek hastada *M. odoratus*'a bağlı perikardiyal efüzyon vakasını bildirmişlerdir. Mahapatra ve ark.⁽¹⁵⁾ karaciğer apsesi olan kronik alkol bağımlısı 43 yaşında erkek hastada *M. odoratimimus*'un neden olduğu ampiyem olgusunu raporlamışlardır.

Ciddi morbidite/mortalite seyirli olgularda nadir görülmekle birlikte, antibiyotik direncinin yüksek olması, *Myroides* türlerinin klinik değerlendirmelerde akılda tutulmasının önem taşıdığını düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Yang S, Liu Q, Shen Z, Wang H, He L. Molecular epidemiology of *Myroides odoratimimus* in nosocomial catheter-related infection at a general hospital in China. *Infect Drug Resist.* 2020;25(13):1981-93. <https://doi.org/10.2147/IDR.S251626>
2. Vancanneyt M, Segers P, Torck U, et al. Reclassification of *Flavobacterium odoratum* (Stutzer 1929) strains to a new genus, *Myroides*, as *Myroides odoratus* comb. nov. and *Myroides odoratimimus* species nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 1996;46(4):926-32. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-4-926>
3. Licker M, Sorescu T, Rus M, et al. Extensively drug-resistant *Myroides odoratimimus* – a case series of urinary tract infections in immunocompromised patient. *Infect Drug Resist.* 2018;11:743-9. <https://doi.org/10.2147/IDR.S161069>
4. Kara I, Kalem F, Unaldı O, Arslan U. *Myroides* species, a rare opportunistic infective agent, at a hospital in Turkey. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2019;50(2):248-57.
5. Rusu D. Urinary tract infection with *Myroides* species, multidrug resistant strain – A case presentation . *Acta Medica Transilvanica.* 2018;23(4):32-4.
6. Sharma S, Gupta A, Rao D. *Myroides* species: a rare cause of endocarditis. *IJSS Case Reports Rev.* 2016;2:15-6
7. Hu SH, Yuan SX, Qu H, et al. Antibiotic resistance mechanisms of *Myroides* species. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2016;17(3):188-99. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1500068>
8. Schröttner P, Rudolph WW, Eing BR, Bertram S, Gunzer F. Comparison of VITEK2, MALDI-TOF MS, and 16S rDNA sequencing for identification of *Myroides odoratus* and *Myroides odoratimimus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;79(2):155-9. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.02.002>
9. Küçük B, Yıldız BT, Uğurlu H, Aral M. *Myroides odoratus/odoratimimus*'a bağlı idrar yolu enfeksiyonu: olgu sunumu. *KSI Tip Fak Der.* 2021;16(3):463-5. <https://doi.org/10.17517/ksutfd.655652>
10. Lorenzin G, Piccinelli G, Carlassara L, et al. *Myroides odoratimimus* urinary tract infection in an immunocompromised patient: an emerging multidrug-resistant micro-organism. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2018;6(7):96. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0391-4>
11. Mammeri H, Bellais, S, Nordmann P. Chromosome-encoded β -lactamases TUS-1 and MUS-1 from *Myroides odoratus* and *Myroides odoratimimus* (formerly *Flavobacterium odoratum*), new members of the lineage of molecular subclass B1 metalloenzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(11):3561-7. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.11.3561-3567.2002>
12. Beharrysingh R. *Myroides* bacteremia: a case report and concise review. *IDCases.* 2017;28(8):34-36. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2017.02.012>

13. Willems P, Muller J, Verhaegen J, Saegeman V, Desmet S. How to treat a fulminant erysipelas and sepsis caused by *Myroides odoratimimus*: case report and literature review. Acta Clin Belg. 2017;72(5):331-5. <https://doi.org/10.1080/17843286.2016.1245173>
14. Prateek S, Gupta P, Mittal G, Singh AK. Fatal case of pericardial effusion due to *Myroides odoratus*: A rare case report. J Clin Diagn Res. 2015;9(11):DD01-2. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/15120.6740>
15. Mahapatra A, Mohapatra PR, Choudhury S, Deep N. Empyema caused by *Myroides odoratimimus* in a patient with liver abscess. Lung India. 2019;36(5):459-60. https://doi.org/10.4103/lungindia.lungindia_42_19

