

Cilt / Volume 54

Sayı / Number 1

Mart / March 2024

ISSN 0258-2171

e-ISSN 2458-7516



Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✓ Anaerob Bakteriler; İzolasyon, İdentifikasyon, Yeni Türlerin Oluşturduğu Hastalıklar
- ✓ Ticari Doğal Aktif Bileşenlerin Sıtma Tedavisindeki Etkinliğinin Araştırılması
- ✓ Yetişkinlerde Uzun Süren Öksürüğün *Bordetella pertussis* Enfeksiyonu ile İlişkisi: Kültür, PCR ve Serolojik Yöntemler ile Kesitsel Bir Değerlendirme
- ✓ Yoğun Bakım Ünitelerinde Trakeal Aspiratlardan İzole Edilen Bakteriyel Solunum Yolu Patojenleri ve Antimikrobiyal Direnç Profilleri

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY



Cilt / Volume 54
Sayı / Number 1
Mart / March 2024



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 54 Sayı / Number 1 Mart / March 2024

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, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 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; Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, 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.*

© 2024. 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.

© 2024. 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

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

Alper Akçalı, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Çanakkale
0000-0003-0325-886X

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

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

Ayşe Semra Güreser, Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Dr.Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve
Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara
0000-0002-6455-5932

Canan Eryıldız, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne
0000-0002-9095-4590

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

Deniz Gür, Ankara
0000-0002-7504-8450

Fahrettin Akay, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp
Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-9679-9379

Füsun Cömert, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak
0000-0003-0161-6897

Gülnaz Çulha, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hatay
0000-0003-1034-132X

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

Irmak Baran, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon
0000-0001-6729-948X

Mehmet Parlak, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van
0000-0001-6030-2244

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

Mustafa Özyurt, Demiroğlu Bilim Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul
0000-0002-6867-0073

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

Özlem Ulusan Bağcı, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-9695-5703

Rıza Adaleti, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haydarpaşa
Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji, İstanbul
0000-0001-9576-6794

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

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

Tuba Müderris, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0002-8538-5864

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

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

Yeşim Tuyji Tok, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Viroloji Bilim Dalı, İstanbul
0000-0003-4970-9216



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 54 Sayı / Number 1 Mart / March 2024

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

DERLEME / REVIEW

- **Anaerob Bakteriler; İzolasyon, İdentifikasyon, Yeni Türlerin Oluşturduğu Hastalıklar**
Anaerobic Bacteria; Isolation, Identification, Diseases Caused by New Species
Erdal Özbek, Selahattin Atmaca.....1

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / RESEARCH ARTICLES

- **Ticari Doğal Aktif Bileşenlerin Sıtma Tedavisindeki Etkinliğinin Araştırılması**
Investigation of the Efficacy of Commercial Natural Active Ingredients in Malaria Treatment
Ahmet Özbilgin, Yener Özel, İbrahim Çavuş.....15
- **MALDI-TOF MS İle Pozitif Kan Kültürü Şişelerinden Hızlı Bakteri Tanımlanması; Kan Dışı Steril Vücut Sıvıları İçin Tween 80 İle Ön Ekstraksiyon İşlemi Yarar Sağlar Mı?**
Rapid Bacterial Identification from Positive Blood Culture Bottles By MALDI-TOF MS; Is Pre-Extraction with Tween 80 Useful for Sterile Body Fluids Other Than Blood?
Fatih Çubuk, Mürşit Hasbek.....24
- **Nozokomial *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Virülans Genlerinin Araştırılması**
*Investigation of Virulence Genes of Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Isolates*
Yasemin Zer, Mahsun Akboru, Mustafa Sağlam, Ayşe Büyüktaş Manay.....32
- **Yetişkinlerde Uzun Süren Öksürüğün *Bordetella pertussis* Enfeksiyonu ile İlişkisi: Kültür, PCR ve Serolojik Yöntemler ile Kesitsel Bir Değerlendirme**
*The Association of Prolonged Cough in Adults with *Bordetella pertussis* Infection: A Cross-Sectional Assessment Using Culture, PCR, and Serological Methods*
Pınar Yürük Atasoy, Cumhur Artuk, Cemile Sönmez, Selin Nar Ötgün, Meral Turan, Selçuk Kılıç.....40
- **Genç Bireylerde Hepatit A Virüsü Seropozitifliği: Beş Yıllık Retrospektif Değerlendirme**
Hepatitis A Virus Seropositivity in Young Individuals: Five-Year Retrospective Evaluation
Pelin Özmen, Nazife Akman, Zeynep Akıdağı, Selma Gökahmetoğlu.....49
- **Yoğun Bakım Ünitelerinde Trakeal Aspiratlardan İzole Edilen Bakteriyel Solunum Yolu Patojenleri ve Antimikrobiyal Direnç Profilleri**
Bacterial Respiratory Pathogens and Antimicrobial Resistance Profiles Isolated from Tracheal Aspirates in Intensive Care Units
Elanur Deligöz, Osman Aktaş.....57

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- ***Scopulariopsis brevicaulis*'in neden olduğu fungal keratit olgusu**
*A Case of Fungal Keratitis Caused by *Scopulariopsis brevicaulis**
Melek Tikveşli, Rüveyde Garip, Mehmet Solak, Özlem Kaya, Hüseyin Güdücüoğlu.....68



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 54 Sayı / Number 1 Mart / March 2024

- **Mısır Püskülü İle Temas Sonrası Endoftalmiye İlerleyen *Fusarium* Keratiti: Olgu Sunumu**
Fusarium Keratitis Progressing to Endophthalmitis After Corn Tassel Contact: Case Report
Alperen Ceylan, Fatma Esenkaya Taşbent, Selman Belviranlı, Buse Uzunlu, Günhal Şatırtav, Refik Oltulu,
Hüma Gökmen..... 72

DÜZELTME / CORRIGENDUM

- **Düzeltilme: Aromaterapötik Gül Uçucu Yağının Bakteriyel Quorum Sensing ve Biyofilm Üretimine Karşı İnhibisyon Etkileri**
Corrigendum: Inhibitory Effects of Aromatherapeutic Rose Essential Oil Against Bacterial Quorum Sensing and Biofilm Formation 78

YAZARLARA BİLGİ VI-VII

ETİK POLİTİKALAR VIII-IX

HAKEMLERE BİLGİ X

Anaerob Bakteriler; İzolasyon, İdentifikasyon, Yeni Türlerin Oluşturduğu Hastalıklar

Anaerobic Bacteria; Isolation, Identification, Diseases Caused by New Species

Erdal Özbek[✉], Selahattin Atmaca[✉]

Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Atıf/Cite as: Özbek E, Atmaca S. Anaerob bakteriler; izolasyon, identifikasyon, yeni türlerin oluşturduğu hastalıklar. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):1-14.

Öz

Anaerob bakterilerin izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan yeni teknolojik gelişmeler bu bakterilere ilgiyi artırır da ülkemizde hala tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu bakteri grubu yeterli ilgiyi görmemektedir. Laboratuvara getirdiği fazla iş yükü, konu ile ilgili ara eleman eksikliği ve klinik yaklaşımda etiyolojisinde anaerob bakteri düşünülen enfeksiyonlarda ampirik tedavi yaklaşımı bu ilgisizliğin sebepleri arasında sayılabilir. Dünyada ve ülkemizde anaerob bakteri laboratuvarlarında süre gelen bir standardizasyon sorunu mevcuttur. Anaerob bakterilerin identifikasyonunda matris yardımcı laser desorbsiyon/ionizasyon kütle spektrometresi (MALDI-TOF/MS) yönteminin son yıllarda rutin laboratuvarlarda kullanıma girmesiyle birlikte anaerob bakterilerin tanımlanması kolaylaşmış ve sistemin kullanıldığı yerlerde standardizasyona katkı sağlamıştır. Ancak sınırlı ekonomik koşulların getirdiği zorluklar nedeniyle bu teknik yeterince yaygınlaşmamıştır. Bu nedenle anaerob bakteri laboratuvarlarında standardizasyon hala önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu derlemede; Anaerob bakteriyoloji laboratuvarında standardizasyona katkı sağlanması amacıyla, anaerob bakteri şüpheli materyallerin laboratuvara taşınması, izolasyon ve identifikasyon aşamalarında dikkat edilmesi gereken ve kabul gören kuralları özetlenmiş, anaerob bakteri izolasyonun ve identifikasyonunda kullanılan teknikler basitten karmaşığa doğru karşılaştırılarak özetlenmiştir. Ayrıca, kommensal mikrobiyotanın üyesi olan anaerob bakterilerden bilhassa yeni tanımlanan cins ve türlerin güncel klinik çalışmalarda ortaya çıkan özelliklerinin sunulması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Anaerob Bakteri, Tanımlama, Standardizasyon, Yeni türler

ABSTRACT

Although new technological developments used in the isolation and identification of anaerobic bacteria arouse interest, this bacterial group still does not receive sufficient attention in medical microbiology laboratories in our country.

The workload they bring to laboratory, lack of adequate staff and the empirical treatment applications in infections with anaerobic bacteria in the clinical approach, could all be the possible reasons of this insufficient attention.

There is an ongoing standardization problem in anaerobic bacteria laboratories in the world and in our country. With the introduction of the matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-TOF/MS) method in the identification of anaerobic bacteria in routine laboratories in recent years, the identification of anaerobic bacteria has become easier, and it contributed to standardization. However, due to the limitations of the economic standards, this technique is not common and therefore, standardization is still an important problem in laboratories for anaerobic bacteria detection.

In this review, the current transportation, isolation and identification procedures of anaerobic bacteria-suspect materials in the laboratory were summarized from simple to complex, with an aim to contribute to the standardization in anaerobic bacteriology laboratory. In addition, characteristics of the newly defined genera and species of anaerobic bacteria, which are the members of commensal microbiota mentioned in current clinical studies, was presented as well.

Keywords: Anaerobic Bacteria, Identification, Standardization, New species

Alındığı tarih / Received:

02.08.2023 / 02.August.2023

Kabul tarihi / Accepted:

10.11.2023 / 10.November.2023

Yayın tarihi / Publication date:

25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

E. Özbek 0000-0002-8593-224X

S. Atmaca 0000-0002-2730-5790

✉ erdalozbek@outlook.com

GİRİŞ

Yeni geliştirilen anaerob ortam yaratma teknikleri ve özel besiyerleri, anaerob kültür işlemlerini kolaylaştırmıştır. Bu sayede, günümüzde uygun alınmış klinik örneklerde anaerob bakterilerin üretilebilme olasılıkları, geçmişle kıyaslandığında önemli ölçüde artmıştır. Yanı sıra, yeni geliştirilen moleküler teknikler, örneğin 16S rRNA'yı hedefleyen polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tabanlı testler ile enfeksiyon etkeni olarak belirlenen birçok yeni cins ve türde anaerob bakterinin saptanmasına neden olmuştur. Üst düzey tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında, hızlı biyokimyasal testlere dayalı tanı yöntemlerinin yanı sıra, matris yardımcı laser desorbsiyon/ionizasyon gibi kütle spektrometresi (MALDI-TOF/MS) yönteminin kullanıma girmesiyle birlikte anaerob bakterilerin tanımlanması daha da kolaylaşmıştır. Bu teknikler sayesinde, yeni cins ve türde anaerob bakteriler hakkında kısa zamanda önemli ölçüde bilgi birikimi olmuştur. MALDI-TOF/MS yönteminde mikroorganizmalara ait biyomoleküllerin (protein, peptid, şeker) ve büyük organik moleküllerin (polimer, dimer, makromolekül) iyonize edildikten sonra elektrik ve/veya manyetik alandan geçirilmekte bu moleküllerin hareket hızlarına göre analizleri yapılmaktadır. Bu yöntemde, moleküllerin hareket hızlarındaki farklılıkların oluşturduğu spektrumlara ait grafiksel görüntüler elde edilir ve sistem entegre yazılımını kullanarak bu verileri veri tabanında yer alan mikroorganizmalar ile benzerliğine göre cins ve tür bazında tanımlar⁽¹⁻⁴⁾.

Ülkemiz de tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarının, anaerob bakterilerin izolasyon ve identifikasyonuna dair laboratuvar koşullarında hala bir standardizasyonun mevcut olmadığı bilinmektedir. Anaerob bakterilerle ilgili herhangi bir izolasyon ve identifikasyon yapmayan laboratuvarlar arasında, çok ileri teknik olanaklara sahip olanların da mevcut olduğu bilinmektedir.

Mikrobiyotamızda yerleşik kommensal anaerob bakterilerin bölgesel dağılımını bilmek, enfeksiyon

anında izole edilen anaeroplara en doğru şekilde tanımlayıp bildirilebilmesi açısından önemlidir.

Bu derlemenin yazılmasında amaçlar; insan mikrobiyotasında yer alan, önceden bilinen ve yeni tanımlanmış cins ve türde anaerob bakterilerin klinik önemine vurgu yapmak ve anaerob bakteri laboratuvarlarında anaerob ortamların yaratılması, materyallerin toplanması, taşınması ve etkenlerin doğru tanımlanması konusunda en basitten karmaşığa doğru bilgiler verilerek bu laboratuvarlarının yayınlştırılması ve standardizasyonuna katkı verilmesidir.

Genel Bilgiler

İnsan mikrobiyotasında anaerob bakteriler ilk olarak 19. yüzyılda tanımlanmıştır. O dönemin mevcut teknikleri ile ancak miks enfeksiyonlarda görülüp tanımlanan bu bakteriler uzun süre göz ardı edilmiştir. Anaerobik bakterilerin bugün bildiğimiz şekliyle tanımlanması, ilk olarak 1977 yılında Finegold tarafından yapılmış, araştırmacı oksijen konsantrasyonunun %18'in altında olduğu atmosferik koşullarda üreyebilen bakterileri anaerob olarak tanımlamıştır. Daha sonra havada serbest oksijen bulunmadığında ya da çok az bulunduğu üreyen mikroorganizmalar olarak bildirilen bu bakterilerin üretilme ortamındaki oksijeni gidermek için basitten karmaşığa doğru değişik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler, besiyerinin redüksiyon şiddetinin artırılması ve/veya atmosferdeki oksijenin etkisinin giderilmesini esas almaktadır. Bu ortamın sağlanabilmesi için de; biyolojik, kimyasal ve mekanik metodlar olarak tanımlanmış, bu sayede geliştirilen farklı uygulamalar ile anaerob bakterilerin üretilmesi mümkün kılınmıştır⁽⁵⁾.

Oksijenin anaerob bakteriler üzerine çeşitli olumsuz etkileri vardır. Bunlar büyümenin yavaşlaması, durması ve bakterinin ölümü şeklinde ortaya çıkar. Anaerob bakterilerin oksijenle karşılaştıklarında enzimsel faaliyetlerinin bloke olması gibi genel bir teori kabul görse de oksijene karşı bu duyarlılığın cins

ve tür düzeyinde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. *Clostridium novyi* gibi bazı türler ancak %0.5'ten daha az oksijen bulunan ortamlar da üreyebildikleri halde *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens* ve bazı *Provetalla* ve *Porphyromonas* türleri %2-8 gibi oksijen seviyesi bulunan ortamlarda bile üreyebilmektedirler^(6,7).

Anaerob bakterilerin oksijene karşı olan duyarlılıklarındaki bu farklılıkları açıklamak için çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Bir görüşe göre, bakteriyel oksijen metabolizmasının sonucu oluşan hidrojen peroksit bakterilerin ölümüne yol açmaktadır. Ancak başta *B. fragilis* olmak üzere en sık görülen patojen anaeroplara hidrojen peroksidi parçalayan katalaz enzimini üreterek kendilerini korudukları görülmüştür. Oksijene kısmi direnç gösteren ve aerotoleran grup olarak tanımlanan anaerob bakterilerin oksijen toleransını sağlayan bir diğer enzim ise süperoksit dismutaz (SOD) enzimidir. Bu enzim sayesinde anaerob bakteriler oksijen ve suyun oksijeni gibi süperoksit köklerini azaltarak bu maddelerin potansiyel öldürücü etkilerini zayıflatırlar. Yapılan çalışmalarda oksijen toleransı ile SOD konsantrasyonları arasında bir korelasyon olduğu görülmüştür⁽⁷⁻⁹⁾.

Anaerob bakterilerin tanımlanmasında son dönemlerde kullanılan kütle spektrometresine dayalı MALDI-TOF/MS cihazları bu bakterilerin hızlı ve doğru tanımlanmasına neden olmuştur. Tanımlamayı kolaylaştıran ve önemli ölçüde hızlandıran bu teknik sayesinde tıbbi önemi olan anaerob bakterilerin tür düzeyinde isimlendirilmesi, bu bakteriler ile olan enfeksiyonlara dair farkındalık ve ilgiyi artırmıştır. Örneğin kolon kansinoması ve sepsislerde *B. fragilis*, kronik tonsilitlerde *Fusobacterium necrophorum* diyabetli ve immun sistemi baskılanmış kişilerde diğer anaeroplara tanımlanması bu teknik sayesinde kolaylaşmıştır. Ne yazık ki cihazların maliyeti nedeniyle özellikle orta ve küçük ölçekli laboratuvarlarda yaygınlaşmamıştır. Bunun yanı sıra laboratuvarlarda farklı anaerob bakteri tanımlanmasının farklı düzeylerde ve farklı yöntemlerle yapılması gerek ülkemizde gerekse dünyada anaerob bakteri tanımlamasında ortak

standartların oluşumunu kısıtlamış ve laboratuvarlar arasında önemli farklılıklara neden olmuştur^(10,11).

Kommensal İnsan Mikrobiyota Üyesi Anaerob Bakteriler ve Anaerob Enfeksiyonlardaki Yeri

Mukokutanöz yüzeylerin çoğu anaerob ve aerob bakterilerden zengin mikrobiyota içerir. Anaerobik bakteriler, bazı vücut bölgelerinde çok yüksek yoğunlukta (kolon, gingiva çatlağı, anaerob/aerob oranı yaklaşık 1000/1'dir) olmakla birlikte mikrobiyotamızda bölgesel olarak farklı kantitatif oranlarda bulunurlar. Oral kavite, nazal geçişler, orofarinks ve nazofarinksten oluşan üst solunum yollarının değişik anatomik bölgelerinde kompleks bir mikrobiyota dağılımı vardır. Yanak mukozası, diş, diş eti, gingiva çatlakları, dil ya da tükürük sekresyonu birbiri ile karşılaştırıldığında hepsinin farklı yoğunlukta anaerob bakteri popülasyonlarına sahip oldukları görülmektedir. Anaerob mikrobiyota açısından beklenilmeyen bir şekilde dil papilla aralarındaki düşük oksidasyon-redüksiyon (OR) değeri (-30, -40 milivolt), bu bölgede anaerob kolonizasyona olanak verir. *Veillonella parvula* bu bölgede görülen anaerob gram negatif kok olup tükürükteki konsantrasyonu yaklaşık mililitrede 10⁸'e kadar çıkabilmekte ancak bu bakteriler yutulduklarında mide asiditesince parçalanırlar. Yine bu bölgedeki gingiva çatlaklarında OR değeri -300, -400 milivolt civarı olup kolon bölgesine benzer miktarda anaerob bakteri yoğunluğu mevcuttur⁽¹²⁾.

Deri mikrobiyotasında belirli bir oranda anaerob bakteri bandırır. Bunlar arasında en fazla miktarda bulunanı, gram pozitif anaerob bir basil olan *Cutibacterium acnes*'tir. Ayrıca perine ve alt ekstremitelerin bazı bölgelerinde *Bacteroides* spp. ve *Fusobacterium* spp. bakterilerinde bulunur. Deri yüzeyi hafif asidik ve ısısı 37°C'nin altındadır. Derideki doğal açıklıklar (porlar, saç folikülleri ve ter bezlerinden) salgılanan lizozim ve toksik lipidler bakteriler için öldürücüdür. Ancak bu sistem bir anlamda derideki bakteri kantitasyonunu belirler ve mikrobiyota için dengeleyici bir işlevi görür. Deride enfeksiyonlardan koruyan bir diğer mekanizma

SALT (Skin associated lymphoid tissue) sistemine ait hücrelerdir. SALT bakteriyel yayılmayı sınırlandıran ve bakterilerin dolaşıma geçmesini engelleyen immünolojik bir doku sistemidir. Bu iki mekanizmaya ek olarak, deri dokusu içerisinde yer alan keratinositler asidik bir ortam yaratarak sitokinlerle birlikte bakterilerin öldürülmesine ve sindirilmesine katkı sağlarlar⁽¹³⁾.

Gastrointestinal sistem, kadın genital organları, ürogenital sistem çeşitli düzeylerde ve konsantrasyonlarda anaerob mikrobiyotaya içeren bölgelerdir.

Anaerob bakteri enfeksiyonları, genellikle kendi mikrobiyotamız kaynaklı endojen kökenli enfeksiyonlardır. Enfeksiyona neden olan *F. necrophorum* gibi bazı anaerob bakteriler hasar görmüş mukozal ve kutanöz bölgeleri enfekte ederek steril dokulara doğru yayılırken, *Clostridium tetani* gibi bazı anaeroplara harap olmuş dokuda uygun OR değeri potansiyelinde ürer fakat dokuya yayılma yetenekleri olmadığından salgıladıkları toksin ile enfeksiyona neden olurlar.

Anaerob bakterilerin izolasyonunda ve tanımlanmasında gelişen teknikler ile birçok anaerob bakteri yeniden cins ve tür düzeyinde sınıflandırılmıştır. Ek olarak enfeksiyon etkenlerinin yeni özelliklerinin tanımlanmasına neden olmuştur. Örnek verecek olursak; *Robinsoniella peoriensis* gram pozitif sporlu hareketsiz bir bakteri olup, domuz gübresinde keşfedilmiştir. Bu bakteri antimikrobiyal duyarlılığı, epidemiyolojisi ve genel patolojisi tam bilinmese de yumuşak doku, protez eklem enfeksiyonları ve sepsiste etken olarak belirlenmiş, identifikasyonla ilgili biyoşimik testlerde, API 20A ve API Rapid ID 32A (bioMérieux Inc, Fransa) panellerinde *Clostridium clostridioforme* ile yüksek oranda (%88-%96) korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Son yıllarda *R. peoriensis*'in karın içi, kan dolaşımı, yumuşak doku ve protez eklem/donanım enfeksiyonları dahil olmak üzere insan enfeksiyonlarında giderek daha fazla izole edildiği bildirilmiştir. *Solobacterium moorei*, immün sistemi zayıf kişilerde bakteriyemi etkeni olarak izole

edilmiş olup, oksijene toleransı olmayan sporsuz ve insan dışısında da saptanabilen bir bakteridir. Kolonizasyonu yüksek olan kişilerde ağız kokusuna (halitosis) neden olan bir bakteri olarak da bazı çalışmalarda bildirilmiştir⁽¹⁴⁾. Yapılan çalışmalarda, *S. moorei*'nin neden olduğu enfeksiyon vakaları başlıca kan dolaşımı ve cerrahi yara enfeksiyonlarını içermektedir. Bu enfeksiyonlar, farklı kanser türleri, immün sistemin baskılanması, tromboz ve diğer bakteriyel ve viral enfeksiyonlar gibi hazırlayıcı faktörlerle ilişkilendirilmiştir^(15,16). *Turicibacter sanguinis*'in depresyon gelişimine katkıda bulunduğu bildirilen bir lipopolisakarit (LPS) endotoksini inhibe ederek barsakta serotonin salınımını artırdığı bu yolla depresyon gelişimi üzerine negatif etki gösterdiği bildirilmektedir. *T. sanguinis* bazı çalışmalarda da bakteriyemi etkeni olarak bildirilmiştir⁽¹⁷⁾.

İnsanlarda normal barsak mikrobiyotasının bir üyesi olan *Ruminococcus gnavus* zorunlu anaerob koşullarda üreyebilen gram pozitif bir koktur. *Ruminococcus* cinsi ilk olarak 1948'de tanımlanmış daha sonra gelişen teknoloji sayesinde 16S rRNA dizi analizi ile *Clostridiales* takımının bir parçası olan *Blautia* cinsine bağlanmıştır. Barsak mikrobiyotasından sıklıkla izole edilen bu kommensal bakteri glikosidaz aktivitesine sahiptir. Bu enzim bakteriye mukolitik özellik kazandırmakta bu da bakterinin barsak epiteli ile yakın temas kurmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda *R. gnavus*'un toksik ve muhtemelen kanserojen metabolik ara ürünler üreten ve bunun sonucu olarak da lokal enflamasyona neden olan beta-glukuronidase aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Bazı araştırmalar, barsak florasında *R. gnavus*'un kantitatif olarak fazla bulunmasını, enflamatuvar barsak hastalıkları (özellikle Crohn hastalığı), spondiloartrit, bebeklerde solunum allerjileri, yeni doğanlarda ekzama gibi hastalıklarla ilişkilendirmektedir⁽¹⁸⁾. İnsan enfeksiyonlarında ilişkisi çok nadir olarak bildirilen bir diğer anaerob bakteri cinsi *Oscillibacter*'dir. *Oscillibacter* cinsi 2007'den beri bilinmektedir. 16S rRNA dizi analizi yöntemi ile tanımlanan bu bakteri ile ilgili çok nadir araştırma bulunmakta olup, bunlardan bir tanesi Danimarka'da bir hastanede 2001'den 2010'a kadar olan zaman diliminde *Oscillibacter ruminantium*'nin etken olarak tanımlandığı dört bakteriyemi vakasını içermektedir⁽¹⁹⁾.

Anaerob Materyallerin Kabul Edilmesinde Temel Kurallar

Ülkemizde ve dünya da anaerob bakteri laboratuvarlarında önceden de belirttiğimiz gibi bir standardizasyonun olmaması ve uygulamadaki farklılıklar bir problemdir. Her klinisyenin konuya farklı yaklaşımı, materyalin alınması ve taşınması sırasındaki farklı uygulamalar ile izolasyon ve identifikasyondaki farklı teknikler enfeksiyon etkeni olarak kabul edilen anaerob bakterilerin raporlandırılmasında hastane ve Laboratuvarlar arasında belirgin bir farklılık göstermesine neden olmaktadır. Bunun yanı sıra izole edilen anaerob bakterinin antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında kullanılan farklı yöntemler ve in-vitro sonuçlarının klinik ile uyumsuzluğu ciddi problemler yaratmaktadır.

Tüm bu sorunların en aza indirilebilmesi için anaerob numunelerin toplanması, taşınması ve anaerobik mikrobiyolojide uyulması gereken en temel kurallar şöyle sıralanabilir;

- 1) Örnekler mutlaka antibiyotik kullanılmadan önce alınmalıdır.
- 2) Yara enfeksiyonlarında açık apselerden derin aspire sıvısı veya doku örneği tercih edilmelidir.
- 3) Aspire ve doku biyopsilerinde swap olarak tanımlanan pamuklu silgiçler yerine (bunlar kurumaya meyillidirler ve yağ asidi gibi inhibitör madde içerirler) uçlarında sentetik lifli iplikçiklerden yapılmış bezler olması tercih edilmelidir.
- 4) Örneklerin transferi için, oksijenle karşılaştığında renk veren inhibitörlerin (metilen mavisi, resazurin) olduğu Stuart's, Cary-Blair veya Amies besiyerleri gibi uygun taşıyıcı besiyerleri kullanılmalıdır.
- 5) Taşıyıcı besiyerleri bekletilirken buzdolabı gibi düşük ısı bir ortama konulmamalı (Düşük ısı oksitlenmeyi başlatır ve serbest oksijen miktarını artırır), oda ısısında bekletilmelidir.
- 6) Materyaller en geç iki saat içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır, ulaştırılamıyorsa uygun koşullarda bekletilmiş olmalıdır. Bu şekilde gelen örneklerden; transport besiyerinde renk değişimi olmayan ve bekleme süresi 8 ile 48 saat aralığında olanlar kabul edilmelidir. Gelen materyallerin bekleme süresi hacim ve volümleri ile doğru orantılıdır. Hacimleri ne

kadar büyük ve volümü yüksek ise bekleme süresi o kadar uzayabilir.

Anaerob bakteriyoloji laboratuvarında numune kabul ve ret kriterleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Tablo 2 anaerob bakterilerin klinik açıdan önemli enfeksiyonlarda yaygın saptanma oranlarını göstermektedir. Vücut bölgelerine göre sık rastlanan anaerob bakteriler Tablo 3'te verilmiştir.

Ağız boşluğu: Anaerob bakteriler ağız mikrobiyotasının %90'ını içerir. Tablo 3'te gösterilen anaerob bakteriler oral kavitede ve komşu dokulardaki enfeksiyonlar da çok sık olarak izole edilirler. Dental enfeksiyonların çoğunda bu bakteriler rol oynar. Bunlar pulpitis, peri apikal veya dental apse ve perimandibular bölge enfeksiyonlarıdır. Bu üç enfeksiyon, endodontik enfeksiyon olarak başlayıp periapikal bölgeye ve sonra da fasiaların mandibulaya bağlantılarının yarattığı potansiyel boşluklara ilerleme göstererek oluşurlar. Genellikle ağrı ve şişlikle kendini gösteren ve klinik olarak tanımlanması çok önemli olan bu enfeksiyonlardan en tipiği Ludwig anjini'dir. Piyore ve gingivitis gibi diğ eti enfeksiyonlarında da anaerob hakimiyeti yüksektir.

Nadir görülen bir gingivitis formu olan akut nekrotizan ülseratif gingivitis, bazen Vincent anjini ya da çukur ağız olarak da adlandırılır. Bu hastalık kısmen fulminant karakterli olup şiddetli ağrı, çürük kokusu, doku harabiyeti ve pseudomembran oluşumu ile karakterizedir.

Bir diğ ağız mukozası enfeksiyonu gangrenöz stomatittir. Bu enfeksiyon bazen yüzde ve kemik dokuda hızla ilerleyerek şekil bozukluklarına neden olabilirler.

Bu bölgede kolonize olup nadir görülen etkenler;

Tannerella forsythia; gram negatif, anaerob, hareketsiz, pigment oluşturmeyen bir bakteridir. Flamantöz görünümde, subgingival kavitede yerleşen bakteri, yaptığı periodontal hastalıklarda bağ dokusu yıkımı ve alveoler kemik rezorpsiyonunun neden olabilir.

Tablo 1. Anaerob mikrobiyolojide kabul edilme ve ret kriterleri (6 no.lu kaynaktan uyarlanmıştır)

Enfeksiyon Bölgesi	Kabul Edilebilenler	Ret Edilmesi Gerekenler
Kan	8-10 ml/standart kan kültür şişesi (vücut ağırlığına göre hesaplanarak) alınmış venöz kan	Kateter veya kateter ucu örnekleri
Merkezi Sinir Sistemi	Doku biyopsileri, iğne aspirasyonları	Yüzeyel sürüntüler
Periodontal Bölge	Apse aspiratları, Subgingival cep örnekleri (Periodontal küret ve kanaldan)	Yüzeyel gingival veya ağız sürüntüleri
Baş ve Boyun Bölgesi	Perkütan iğne aspiratları Cerrahi Örnekler Lemiere sendromu için alınan aspiratlar Aktinomyces sülfür granülleri için alınan örnekler Doku biyopsileri	Ağız, burun ve boğaz sürüntüleri (Lemiere sendromu için alınan sürüntüler hariç)
Kulak	Orta kulak iltihaplarından steril mikropipetlerle alınan aspire sıvılar	Yüzeyel materyaller
Göz	Korneal kazıma Vitreus sıvısı İğne aspiratları Konjonktival sürüntü	Yüzeyel materyaller
Apseler	Kapalı apseler (Kontamine olmayan dokudan ve cerrahi numunelerden aspire edilmiş sıvılar Fistül ve Sinüslerden elde edilen aspirasyon materyalleri	Cilt/Mukozal yüzeylerden alınmış sürüntü örnekleri ve irin
Akciğer Bölgesi	Plevral sıvı, Transtrekeal aspiratlar, Akciğer doku biyopsisi Derin bronşiyal sekresyonlar (Çift lümenli kateter ile çekilmiş)	Nazofaringeal bölgeden pamuklu silgiyle alınmış sürüntü Balgam
Karın Boşluğu	Periton ve asit sıvı aspiratlar, Cerrahi biyopsiler, Safra aspiratları	İleostomi/Kolostomi örnekleri
Dışkı	Sadece <i>Clostridium difficile</i> ve <i>Clostridium botulinum</i> için kullanılır	Diğer anaerob bakteriler aranmaz
Kadın Genital Yolları	Doku biyopsileri Pelvik enfeksiyonları aspiratları (Kuldosentez yoluyla) Peritoneal sıvı Endometriyal numuneler (Korumalı kateterle) Cerrahi numuneler	Servikal/Vajinal sürüntüler (Bakteriyel vajinoz hariç)
Kemik	Aspiratlar Kemik biyopsileri	Silgiyle alınmış yumuşak doku örnekleri
Eklem ve Protezler	Aspire edilmiş sinoviyal sıvılar (Kan kültür şişelerine) Anaerobik ortama bırakılmış periprostetik biyopsiler	Silgiyle alınmış yüzeyel yara ve sürüntüler
Yara ve Yumuşak doku örnekleri	Derin biyopsi örnekleri Derin yara örnekleri Yüzeyi steril tuzlu su ve alkolle temizlenmiş debridman edilmiş yaradan alınan aspirasyon sıvısı	Yüzey ve irin sürüntüleri
Dekübit veya Cilt Ülserleri	İğne ile alınmış aspire ve doku biyopsileri Derin lezyonlardan alınmış örnekler	Yüzeyel materyaller ve sürüntüler
Diyabetik Ayak Ülserleri	Kemik biyopsisi (Debride edilmiş veya cerrahi olarak alınmış)	Yüzeyel doku örnekleri
İdrar	Mesane idrarı (Suprapubik mesane aspiratları)	İdrar veya Kateter idrarı

Capnocytophaga türleri; gram negatif fusiform görünümde anaerob bakteriler olup oral bölgenin kommensal üyesidirler. Bu bakteri grubu, mikroskopik görünüm suş ve kültür koşullarına bağlı olarak boyut ve görünümü değişiklik gösterebilen “polimorfik” yapıdadırlar. Kolonilerinde turuncu renkli pigment oluşturabilen ve kapnofilik (üreme için

belirli bir CO₂ seviyesine ihtiyaç duyulması) özelliği olan *Capnocytophaga* türlerinin identifikasyonları güçtür. Tanımlama 16S rRNA dizi analizi veya kütle spektrometresine bağlı yöntemlerle (MALDI-TOF/MS) yapılabilir. Fırsatçı patojen olarak kabul edilen *Capnocytophaga* türleri, kişinin bağışıklık durumuna bağlı olarak farklı enfeksiyonlara da neden olabilirler.

Tablo 2. Anaerop bakterilerin klinik açıdan önemli enfeksiyonlarda yaygın saptanma oranları (6 no.lu kaynaktan uyarlanmıştır)

Bölge	En Yüksek (%70-100)	Yüksek (% 40-70)	Orta derece (% 13-45)	Düşük (% 4-10)	Çok Düşük (< %1)
Baş ve Boyun	• Diş ve ağız enfeksiyonlarının çoğu • Baş ve boyundaki apseler • Diş kökü ve kanal enfeksiyonları • Peritonsiller apseler • Kronik sinüzit	• Kronik otitis media • Mastoiditis	• Oküler enfeksiyonlar • Dakriyosistit • Travma sonrası endoftalmi • Perfore olmuş kornea ülserleri • Servikal lenfadenitler • Seröz otitis media • Tonsillit	• Akut sinüzitler • Akut otitis media	
Kan	• İntraabdominal sepsis • Septik abortus	• Bakteriyemi • (Ağız ameliyat sonrası ve diş çekimi)		• Bakteriyemi (Endokardit nedeni)	
Merkezi Sinir Sistemi	• Beyin apseleri • Subdural ampiyem			• Şant enfeksiyonları	• Menenjit
Deri ve Yumuşak Doku	• Gazlı gangren • Meme apseleri • Sinerjik nekrotizan selülit • Perianal ve perirektal apseler • Enfekte diyabetik gangren • Pilonidal apseler • Travma sonrası enfeksiyonlar • Akne vulgaris	• Yara enfeksiyonları • Apseler • Selülit • Nekrotizan fasciit • Isırık yaraları • Diyabetik ayak enfeksiyonları	• İmpetigo		
Karın	• Karın içi enfeksiyonların çoğu • Apendikuler apseler • Asit ve karaciğer hücre apseleri • Apandisit • Peritonit • Ameliyat sonrası karın enfeksiyonları	• Karaciğer apseleri	• Safra yolu enfeksiyonları		
Antibiyotiğe bağlı Diyareler	• Pseudomembranoz enterokolit (<i>Clostridium difficile</i>)		• <i>Clostridium difficile</i> ve <i>Clostridium perfringens</i> aranabilir		
Eklem bölgeleri ve Kemik		• Ortopedik cihazlara bağlı enfeksiyonlar	• Osteomyelitis ve Ortopedik cihaz dışı enfeksiyonlar	• Protetik kemik enfeksiyonları	
Ürogenital Bölge	• Kadın genital enfeksiyonları • Pelvik enflamatuvar hastalıkları • Pelvik apseler • Endometritis • Vajinal apseler • Bakteriyel vajinozis				• Üriner sistem enfeksiyonları
Akciğer	• Akciğer apseleri • Aspirasyon pnömonisi • Nekrotizan pnömoni • Plevral ampiyem		• Bronşektazi, Nazokomiyal pnömoni		

Tablo 3. Vücut bölgelerine göre sık rastlanan anaerob bakteriler

Vücut bölgesi	Sık rastlanan anaerob bakteriler
Ağız boşluğu	• <i>Actinomyces</i> spp., <i>Eubacterium</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp. • <i>Atopobium</i> spp. • <i>Parvimonas</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> spp. • <i>Provetalla</i> spp. (<i>Provetalla intermedia</i>, <i>Provetalla oralis</i>, <i>Provetalla melaninogenica</i>) • <i>Porphyromonas</i> spp. (<i>Porphyromonas gingivalis</i>) • <i>Fusobacterium</i> spp. (<i>Fusobacterium nucleatum</i>, <i>Fusobacterium necrophorum</i>) • <i>Veillonella</i> spp. • <i>Capnocytophaga</i> spp • <i>Tannerella forsythia</i>
Kadın Alt Genital Bölgesi	• <i>Lactobacillus</i> spp. • <i>Fingoldia</i> spp. • <i>Peptoniphilus</i> spp. • <i>Peptostreptococcus</i> spp. • <i>Cutibacterium</i> spp. • <i>Clostridium</i> spp. • <i>Actinomyces</i> spp. • <i>Eubacterium</i> spp. • <i>Provetalla</i> spp. • <i>Bacteroides</i> spp. • <i>Parabacteroides</i> spp. • <i>Fusobacterium</i> spp. • <i>Veillonella</i> spp. • <i>Atopobium</i> spp.
Kolon	• <i>Bacteroides</i> spp. (<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>) • <i>Parabacteroides</i> spp. • <i>Prevotella</i> spp. • <i>Porphyromonas</i> spp. • <i>Fusobacterium</i> spp. • <i>Veillonella</i> spp. • <i>Bilophila</i> spp. (<i>Bilophila wadsworthia</i>) • <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> • <i>Peptostreptococcus</i> spp. • <i>Blautia</i> spp. • <i>Coprococcus</i> spp. • <i>Clostridium</i> spp. (<i>Clostridium ramosum</i>, <i>Clostridium perfringens</i>) • <i>Eubacterium</i> spp. • <i>Eggerthella</i> spp. • <i>Collinsella</i> spp. • <i>Lactobacillus</i> spp. • <i>Bifidobacterium</i> spp.
Üretra	• Gram pozitif anaerob koklar • <i>Bacteroides</i> spp. • <i>Parabacteroides</i> spp. • <i>Prevotella</i> spp. • <i>Fusobacterium</i> spp.
Konjonktiva	• Gram pozitif anaerob koklar • <i>Cutibacterium</i> spp. (<i>Cutibacterium acnes</i>)
Üst Solunum Yolu	• Gram pozitif anaerob koklar • <i>Cutibacterium</i> spp. • <i>Actinomyces</i> spp. • <i>Provetalla</i> spp. • <i>Fusobacterium</i> spp. • <i>Veillonella</i> spp.
Deri Yüzeyi	• Gram pozitif anaerob koklar • <i>Fingoldia</i> spp. • <i>Cutibacterium</i> spp. • <i>Eubacterium</i> spp.

Bu bakteriler genellikle periodontal ceplerden apikal ve periodontal apselerden izole edilirler. Alveoler kemik kaybına ve diş hareketliliğinin artışıyla diş kaybına da neden olabilirler. Aynı zamanda kas iskelet sistemi enfeksiyonları, akciğer enfeksiyonları, maternal-fetal enfeksiyonlar, endokardit ve menenjit etkeni olabildiğini gösteren yayınlar da mevcuttur⁽²⁰⁾. Ayrıca bu bakteri türlerinin pediatrik, onkolojik ve hematolojik hastalarda klinik olarak önemlerini vurgulayan değişik çalışmalar mevcuttur. *Capnocytophaga* türlerinden, *Capnocytophaga canimorsus* ve *Capnocytophaga cynodegmi* köpek ısırıkları ile bulaşır ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda potansiyel olarak trombotik trombositopenik purpura ve hemolitik üremik sendrom ile komplike hale gelen sepsislere neden olabilirler⁽²¹⁾.

Atopobium türleri; oral kavite mikrobiyotasında bulunan ve daha önce laktobasilluslar içerisinde sınıflandırılan gram pozitif anaerob basillerdir. Son yıllardaki çalışmalarda en sık bakteriyel vajinozis (BV) etkeni olarak kabul edilmektedir. Özellikle laktobasillusların hidrojen peroksit üretimi, vajinal pH ve flora üzerinde etkileri sonucu olarak *Atopobium* kolonizasyonu ve buna bağlı bakteriyel vajinozis geliştiğini bildiren çalışmalar mevcuttur⁽²²⁾.

Kadın Alt Genital Bölgesi: Seksüel yolla geçenlerin dışındaki kadın genital organ enfeksiyonlarının çoğunda anaerob bakterilerin etken olduğu bildirilmektedir. Bu bölgede yoğun olarak mikrobiyotada bulunan ve herhangi bir nedenle endojen olarak enfeksiyon etkeni olabilecek anaerob bakteriler Tablo 3'te belirtilmiştir.

1970 yılları öncesi bu bölgede anaerob enfeksiyon etkeni olarak daha ziyade *Peptostreptococcus*'ların rolü vurgulanmıştır. Daha sonraları *B. fragilis*'in önemini vurgulayan çalışmalar öne çıkmışsa da potansiyel olarak yukarıda tanımlanan tüm anaerobların enfeksiyon etkeni olabileceğini bildiren yayınlar mevcuttur⁽²³⁾.

Kadın genital sistem enfeksiyonları Bartholin bezi apseleri, adnekslerdeki apseler, pyometrit, endometrit, pelvik selülit, salpanjit, pelvik tromboflebit, amniyonit ve jinekolojik cerrahi ile

obstetrik işlemleri izleyen enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonlarda anaerobların varlığını gösteren en önemli ip uçları kötü kokulu akıntı, yumuşak dokuda gaz oluşumu, materyallerden yapılan Gram boyamada poliyomikrobiyal görüntüdür. Bu bölgede anaerobik enfeksiyonların tanımlanmasında en büyük zorluk kültür için uygun materyalin elde edilebilmesidir.

Kolon: Kolon bağırsaktaki bakterilerin %99'unu anaerob bakteriler oluşturur (Tablo 3).

Collinsella türleri; barsakta aminoasit metabolizmasında rol aldığı bildirilmiş olup obezite ile ilgili tartışılmaktadır⁽²⁴⁾.

Eggerthella türleri; tek tek, çiftler veya zincirler halinde büyüyen hareketsiz, sporsuz, anaerob gram pozitif basillerdir. Karaciğer ve anal apseler, ülseratif kolit, sistemik bakteriyemi etkeni olarak tespit edilmiş vakalar mevcuttur. Bu bölgedeki vakaların büyük çoğunluğunun patofizyolojisinde kolon florasının mukoza bariyerini aşması söz konusudur⁽²⁵⁾.

Sarcina türleri; Clostrilaceae familyasına ait gram pozitif koklardır. Bu cinsin çeşitli türleri kalın barsak ve deri mikrobiyotasında yer almaktadır. Bölünme esnasında oluşturdukları küboidal hücreli birlikteliklerinden dolayı Latince palet anlamına gelen "*Sarcina*" adını almışlardır. En önemli türü *Sarcina ventriculi* olup düşük pH'da canlı kalması tipik özelliğidir. İlk olarak 1842'de tanımlanmış bir bakteridir. Çok nadir olarak sindirim sisteminde enfeksiyon yapabilmektedir. Hematoksilien-Eozin boyası ile boyanmış gastrik örneklerde gösterilmiştir⁽²⁶⁾.

Blautia cinsi; Ruminococcus cinsinden anaerob gram pozitif bir bakteri olup, en önemli türü *Blautia obeum*'dur. Bu türün çocuklarda *Vibrio cholera* enfeksiyonunun iyileşme sürecinde ve mikrobiyotanın normalleşmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. *V. cholera*'nın patojenitesini azalttığına yönelik bildirimlerde vardır. *B. obeum* hücre dışı bileşikleri algılayarak, barsak epitel hücrelerinde, hücre içi sinyal iletimi (transdüksiyon)

yollarını etkinleştirir. Bu etki G proteinlerin eşli reseptörleri üzerinden gerçekleşir. Buna bağlı olarak, butirik asit ve asetik asit üreterek obeziteyi azaltan bir etkisi olduğu da iddia edilmektedir⁽²⁷⁾.

Bilophila cinsi; gram negatif, zorunlu anaerob, katalaz pozitif, safra dirençli, asakorolitik (kompleks karbonhidratları hidrolize etmeyen bakteri grubu) basillerdir. En önemli türü *Bilophila wadsworthia* olup, zor tanımlanabilen bakterilerdir. Bu türün farklı enfeksiyonlarla bağlantılı olduğunu bildiren çalışmalar yayımlanmıştır. Katalaz pozitif olması ve sülfid türevi bir amino asit olan tuarini hidrojen sülfür üretiminde kullanması önemli özellikleridir. Bakteri aynı zamanda üreaz aktivitesi pozitifdir. Düzensiz hücre duvarlarından dolayı pleomorfiktir. Yavaş üreyen bir bakteri olduğundan tanısı güçtür. Esculin Agar'da merkezi siyah olan şeffaf koloniler oluşturur ve kolonilerin ortasının siyah olması bakterilerin ürettiği hidrojen sülfat tarafından oluşturulan demir sülfittir. Safra ve piruvat bakterinin büyümesini uyaran iki önemli faktördür. Katalaz deneyinde; çok hızlı katalaz aktivitesi göstermesi nedeniyle, reaksiyon esnasında hızlı bir şekilde kabarcık oluşturup patlar görünüm tipiktir. Bu bakteriyi tanımlamanın en iyi yolu gaz-likit kromotografisi ile ara ürünleri olan asetik asit ve butirik asidin belirlenmesidir. *B. wadsworthia*, ürerken meydana gelen ana süreçlerden biri bakterinin siyah koloni oluşturmada sorumlu hidrojen sülfür üretimidir. Hidrojen sülfid üretimi insan barsak mikrobiyotasına bağlıdır. Bağırsakta hidrojen sülfid üretiminin kardiyak sistemi korumaya yönelik bazı faydalarının olduğu ileri sürülse de bazı hastalıkların patolojisine katkıda bulunduğuna dair bilgiler vardır. Hidrojen sülfid üretimi bağırsak epitelinin mukus tabakasına zarar vererek irritabl bağırsak hastalığı (IBD) ve kolorektal kanserle ilişkilendirilmiştir⁽²⁸⁾.

Bilophila wadsworthi çoğunlukla alt gastrointestinal sistemde bulunur. Bu bakteri apandisit (apandisitli hastalarda sık izole edilen üçüncü), gangrenöz apandisit ve karaciğer apseli hastaların kan kültürlerinde yaygın olarak izole edildiğinden, öldürücü olarak kabul edilir. Bakterinin sağlıklı kişilerin dışkı örneklerinin yanı sıra, çok nadir de olsa tükürük ve vajinal örneklerden de izole edildiği bildirilmiştir. Enfeksiyon etkeni olarak mandibular osteomyelit,

aksiller hidroadenitis supurativa, sepsis kolesistit ve bartholinit'ten sorumlu olduğu görülmüştür⁽²⁹⁾.

Faecalibacterium cinsi; bilinen tek türü *Faecalibacterium prausnitzii* olup gram pozitif anaerob ve mezofilik özellikle basillerdir. İnsan barsak mikrobiyotasında önemli bir yer tutar. Hareketsizdir, spor oluşturmaz, asetatтан butirik asit ve anti-enflamatuvar etkili şikimik ve salisilik asit üretir. Farklı araştırmalar bağırsakta kantitatif olarak *F. prausnitzii* bakterisinin azalmasının enflamatuvar etkileşimlere karşı savunma mekanizmasını zayıflattığı, bu bakterinin proinflamatuvar sitokinlerin uyarılmasında önemli olduğunu göstermiştir⁽³⁰⁾.

Üretra: Anaerob bakteriler üriner sistem enfeksiyonlarında çok nadir izole edilirler. Anaeroplardan dahil olduğu üriner sistem enfeksiyonları, para-peri üretral selülit veya apse, akut veya kronik üretrit-sistit, akut veya kronik prostatit, prostatik ve skrotal apseler, periprostatik flegmon, üretrit, periüretrit, piyelit, piyelonefrit, böbrek apsesi gibi enfeksiyonlardır. Enfeksiyonun belirlenmesinde materyal idrar ise mutlaka subrapubik aspirasyon alınmalıdır. Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilebilen anaeroplardan Tablo 3'te belirtilmiştir.

Konjonktiva: En savunmasız ve en hassas vücut bölgesidir. Göz yaşı da tükürükte olduğu gibi, lizozim, laktoferrin, sIgA içerir. Göz kırpmaya refleksi de antibakteriyel bir koruyucu hareket olarak sayılabilir. Bu bölgede etken olabilecek anaerob bakteriler Tablo 3'te yer almaktadır.

Üst Solunum Yolu: Akciğer apseli hastalarda anaerob bakterilerin kaynağı olarak gingiva çatlakları çok önemlidir. Tükürük belirli bir anaerob bakteri içermesinden dolayı burada bulunan *Veillonella* türleri de potansiyel akciğer enfeksiyonu etkeni olarak akılda tutulmalıdır. Bu bölgede anaerobik enfeksiyonlara zemin hazırlayan bir başka kolaylaştırıcı faktör bronşektazidir. Yabancı cisimler, bronşiyal stenoza ya da neoplazm nedeniyle oluşan bronş obstrüksiyonu bu bölgede anaerob enfeksiyonlara zemin hazırlayabilir. Bu bölgedeki enfeksiyon etkeni olabilecek anaerob bakteriler Tablo 3'te gösterilmiştir.

Deri Bölgesi (Yüzeyi): Deri hafif asidik (pH 5.5) ve ısı 37°C nin altındadır. Bakterilerin çoğu metabolik faaliyetlerini sürdürebilmeleri için nötr pH ve 37°C gibi optimal koşullara gereksinim duyarlar. Derideki doğal açıklık olan porlar, saç folikülleri, ter bezleri ve buradan salgılanan lizozim ve toksik lipidler bakteriler için öldürücüdür.

Deride kommensal olarak bulunan önemli anaerob bakteri *Cutibacterium acnes*'tir. Akne vulgaris enfeksiyonuna neden olur. Bu bakteri "otoriter anaerob" olarak bilinmesine rağmen %100 oksijenli ortamları tolere edemediği ancak büyümesinde yavaşlama olduğu rapor edilmiştir. Deri aerob bakterilerin yanında belirli bölgelerde (Perine bölgesi, koltuk altı, kadınlarda göğüs altı) sınırlı da olsa *Cutibacterium (Propionibacterium)* türlerinin dışında anaerob bakterilerin oluşturduğu bir mikrobiyotaya sahiptir. Bu bölgedeki anaerob bakteriler Tablo 3'te belirtilmiştir.

Anaerob Kültürlerde Örneklerin İşlenmesi

Klinik mikrobiyoloji Laboratuvarlarının anaerob bakteri şüpheli örnekleri kabul edebilmesi için seviye 1 ve seviye 2 anlamında temel ekipmanlara sahip olması gerekir. Seviye 3 izole edilen bir bakterinin identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılabilmesi için laboratuvarların seviye 3'te olması gerekir. Laboratuvarın seviye 4 tanımlanmasına girmesi için MALDI-TOF/MS ve/veya 16S rRNA dizi analizi gibi moleküler testleri yapıp nihai tanıyı koyabilecek ekipman ve teçhizata sahip olmalıdır. Uygun koşullarda alınıp gönderilen numuneler tiyoglikolatlı ortamda homojenize edilmelidir.

Materyalin direk boyama ile birlikte bazen çok özel işlemlere tabi tutulması gerekebilir. Örneğin *Actinotignum schaalii* bir anaerob patojen olarak kısa bir sürede ancak Gram boyama ile belirlenebilir. Çünkü bu bakteri üreyebilmek için uzun süre anaerobik ortamda inkübasyona ihtiyaç duyar. Bazen Gram boyama hassasiyeti bir anaerob bakteriyi tanımlamada kültüre göre daha hassas ve belirleyici olabilir. Örneğin derin apse ve sinüs yollarından alınan materyallerde direk mikroskopi ve Gram boyamada görülen ipliksi görünüm veya gram pozitif

çubuk görünümü Actinomyceslerin tanısı anlamında önemlidir. Alınan bir materyal transport bir besi yeri ile anaerob bakteri izolasyonu amaçlı laboratuvara gönderildiğinde seçici olmayan kanlı ağara veya tekrar tiyoglikolatlı bir besiyerine ekilebilir. At veya koyun kanlı, K1 vitamini ve hemin bakımından zengin besiyerleri anaerob bakterilerin üremesi için uygundur. Ayrıca ilk materyalden elde edilen Gram boyama sonucuna göre, kanamicin, vankomisin safralı agar, fenil etil alkollü agar, yumurta sarısı agarı gibi gram negatif anaerob basillerin üremesini kolaylaştırıcı besiyerleri de kullanılabilir. Bunun yanı sıra örneğin bir dışkı örneğinden *Clostridioides difficile* izolasyonu gerekiyorsa dışkı örneği klasik sikloserin-sefoksitin-fruktoz agar gibi kromojenik ortamlara ekim yapılabilir. Anaerob bakterilerin koloni oluşturmada uzun inkübasyon süresine ihtiyaç duyması hem klinisyen hem de laboratuvar açısından sıkıntılı bir durumdur. Bu bazen 3 ile 5 gün arasında değişebildiği gibi, eklem protez enfeksiyonlarında izole edilebilen *Cutibacterium* türleri için sıvı ortamda 14 güne kadar inkübasyon süresi gerekebilir⁽³¹⁾.

Anaerob Bakteri Laboratuvarlarının Seviye Kategorileri⁽³¹⁾

Seviye 1: Laboratuvar anaerob kültür örneklerini kabul eder ve sadece anaerob bakterilerin var olup olmadığını belirler ve bildirir.

Seviye 2: Majör anaerob bakterileri gruplarını belirler. Kesin identifikasyon ve antibiyogram için izolatları referans laboratuvarlarına gönderir.

Seviye 3: Anaerob bakterileri fenotipik ve enzimatik düzeyde testler sonucunda tür ve cins düzeyinde identifiye eder, "bazen" antibiyogram sonuçlarını verir.

Seviye 4: Anaerob bakterilerin izolasyonundan sonra 16S rRNA gen sekansı veya MALDI-TOF-MS teknolojisi ile identifikasyon ve kantitatif düzeyde antibiyogram sonucu verir.

Anaerobik İnkübasyon Teknikleri

Anaerob rutin laboratuvarlarda Hungate tüpü yöntemi yerine anaerobik kavanozlar ve torbalar almıştır.

Değişik sistemlerin anaerob izolasyonda kendine ait avantaj ve dezavantajları vardır. Glove-box gibi ileri ve pahalı anaerobik ortam yaratılan sistemler yavaş üreyen anaerob bakterilerin günlük incelenmesine olanak sağlarken, anaerob kavanoz ve poşetler anaerob bakterilerin izolasyonunda daha fazla işlem gerektiren yöntemlerdir. Bu tip yöntemler de kavanoz ve poşetler 48 saat önceden açılmamalıdır. Aerotoleran olmayan anaeroplara en küçük bir oksijen seviyesine maruz kaldıklarında ölürler ve üreyemezler. Anoxomat gibi otomatik cihazlar oksijen maruziyetini kısıtlarlar ki bu da anaerob bakterilerin üreme şansını artırır. Eğer klinik veriler ve Gram boyama sonuçları *C. perfringens* gibi hızlı üreyen gazlı gangren etkenini işaret ediyorsa plaklar ayrı inkübe edilip erken açılmalarına imkan sağlanmalıdır⁽³²⁾.

Poşet ve kavanoz gibi yöntemlerde metilen mavisi ve resazurin emdirilmiş kağıtların kavanoz ve poşette görülebilecek bir ortama bırakılması oksijen konsantrasyonunun gözlemlenmesinde kullanılan en basit yöntemlerdendir. Bu boyalar oksijen seviyesi düştükçe yani redüklenme esnasında renk kaybederler ve en düşük oksijen konsantrasyonunda renksizleşirler. Bunun dışında ortamdaki oksijen seviyesinin düştüğünü veya ortamın redüklendiğini farklı yöntemlerle de deneyebiliriz. Örneğin Simon Sitrat besiyerlerine nonfermantatif bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* inkübasyonu yapıp üremeyi ve reaksiyonu takip etmekte temel bir yöntemdir. Bunun yanı sıra aerotoleran bir bakteri olan *C. perfringens*'in 5 mg metronidazol diski ile inkübasyonu sonucu ile de anaerob ortamın oluşup oluşmadığı tespit edilebilir. Anaerob ortamın yaratılmasında ayrıca oksiraz denilen oksijen giderici enzimlerde önerilmiştir. Oksiraz içeren plaklar 1990'lar da geliştirilmiş bu sayede daha az maliyetli bir ortam sağlanmıştır. Bu enzimin mevcut olduğu Oxyplaytler geleneksel anaerobik yöntemlere göre standart bir inkübasyon ortamında aerobik olarak inkübe edilme olanağı sağlar. Bu plaklarda materyalin inkübasyonundan sonra içindeki oxyrase enzimi oksijeni indirger ve anaerob bakterilerin üremesini sağlar. Anaerobik inkübasyon sistemlerinin kullanımını ortadan kaldırmak için başka bir yöntemde kullanılan besiyerine askorbik asit, glutatyon, ürik asit, gibi indirgeyici maddeleri katma yöntemidir. Diğer bir

yöntem de kimyasal metod olarak bilinen Burri-Wright metodunun petri kutusunda uygulanmasıdır. Prigallik asit (Pirogallol) alkali bir ortamda havanın oksijenini absorbe eder. Küçük bir zarf içerisine bırakılan pirogallik asit maddesine sodyum hidroksit çözeltisi damlatılır ve petri kutusunun kapak kısmı ters çevrilerek ortasına bu zarf yapıştırılır. Ekim yapılmış petri kutusunun kapağı ters çevrilir parafinlenir ve 37°C de inkübasyona bırakılır. Bu yöntemler anaerob bakteri prosedürlerini basitleştirse de izolasyon ve identifikasyon şansı gelişmiş yöntemlere göre daha azdır ve çok dikkat isteyen yöntemlerdir. Anaerob bakterilerin tanısında üreyen kolonilerin makroskobik olarak bir büyüteçle incelenmesi tanıda ilk aşamadır. Üreyen farklı koloni tipleri incelenir, her birinden Gram boyama incelenmesi yapıldıktan sonra ayrı plaklara pasajlanmalıdır. Anaerob ortamda saflaştırılan (1-6 gün inkübasyon) bu kolonilerin farklı karbonhidrat ve substratlarla olan ilişkileri, Gram boyama görünümündeki morfolojileri incelenerek ilk tanı kanaati oluşabilir. Bunun yanı sıra basitten karmaşığa doğru farklı tanı yöntemleri kullanılabilir. Basit disk yönteminde kullanılan kanamisin, vankomisin, kolistin ve safra disklerine olan duyarlılık örneğin gram negatif basil tarzı anaeroplara tanımlanmasında kullanılan en temel yöntemlerdendir. Bunun yanı sıra gaz-likit kromatografisi ile belirlenebilen ara ürün ve enzimler bu bakterilerin sınıflandırılmasında önemlidir. Ultraviyole ışınına maruz kalan kolonilerin renk vermesi, ayrıca bazı anaerob kolonilerin pigment oluşturmaları (*Prevotella*, *Porphyromonas* spp. siyah pigment oluşturmaları) bazen tanıda belirleyici faktörlerdir. Anaerob bakterilerin metabolik faaliyetlerinin yavaş olması, bazı biyokimyasal testlere karşı reaktif olmamaları bu tip tanı yöntemlerinde karşılaşılan sorunlardandır⁽³²⁾. Son yıllarda kullanılan MALDI-TOF/MS gibi cihazlar anaeroplara tanımlanmasında iyi bir performans göstermiştir. Bu yöntemle bakteri türlerinin belirlenen kütleleri referans suşlarla karşılaştırılarak tanımlama yapılır ve isimlendirilir. Ancak metodun pahalı olması en önemli dezavantajlardandır.

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. Li Y, Shan M, Zhu Z, et al. Application of MALDI-TOF MS to rapid identification of anaerobic bacteria. BMC Infect Dis. 2019;19(1):941. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4584-0>
2. Barba MJ, Fernández A, Oviaño M, Fernández B, Velasco D, Bou G. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of anaerobic bacteria. Anaerobe 2014;(30):126-8. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.09.008>
3. Biswas S, Rolain JM. Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. J Microbiol Methods. 2013;92(1):14-24. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.10.014>
4. Garner O, Mochon A, Branda J, et al. Multi-centre evaluation of mass spectrometric identification of anaerobic bacteria using the VITEK® MS system. Clin Microbiol Infect. 2014;20(4):335-9. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12317>
5. Finegold SM. Anaerobic Bacteria in Human Disease. New York, NY, USA: Academic Press; 1977.
6. Nagy E, Boyanova L, Justesen US, et al. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories. Clin Microbiol Infect. 2018;24(11):1139-48. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.02.008>
7. Saat N. Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin konvansiyonel yöntem ve MALDI-TOF MS ile tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıkları [Tıpta uzmanlık tezi]. Diyarbakır: Dicle Üniversitesi, 2018.
8. Uğraklı S. Anaerop bakterilerin tanımlanmasında çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması ve bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıkların araştırılması [Tıpta uzmanlık tezi]. Konya: Necmettin Erbakan Üniversitesi, 2020.
9. Tally FP, Goldin BR, Jacobus NV, Gorbach LV. Superoxide dismutase in anaerobic bacteria of clinical significance. Infect Immun. 1977;16(1):20-5. <https://doi.org/10.1128/iai.16.1.20-25.1977>
10. Botta GA, Arzese AR. Diagnostic anaerobic bacteriology in Italy: state of the art. Italian Anaerobic Study Group. Clin Infect Dis. 1997;25(Suppl 2):S246-48. <https://doi.org/10.1086/516213>
11. Peeters B, Magerman K, Waumans L, Cartuyvels R. Laboratory survey and literature review of anaerobic bacteriology: foundations of a clinically orientated and evidence-based workup for anaerobic cultures. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;86(1):15-22. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.06.004>
12. Weghoff M C, Bertsch J, Müller V. A novel mode of lactate metabolism in strictly anaerobic bacteria. Environ Microbiol. 2015;17(3):670-7. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12493>
13. Güvenir M, Kaptanoğlu A, Süer K. *Propionibacterium acnes*'in mikrobiyoloji dünyasındaki yeri ve önemi. Turk J Dermatol. 2018;12:183-6. <https://doi.org/10.4274/tdd.34>
14. Shen D, Chen R, Ye L, Luo Y, Tang YW. *Robinsoniella peoriensis* bacteremia in a patient with pancreatic cancer. J Clin Microbiol. 2010;48(9):3448-50. <https://doi.org/10.1128/JCM.00477-10>
15. Barrak I, Stajer A, Gajd M, Urban E. Small, but smelly: the importance of *Solobacterium moorei* in halitosis and other human infections. Heliyon. 2020;6(10):e05371. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05371>
16. Pedersen RM, Holt HM, Justesen US. *Solobacterium moorei* bacteremia: identification, antimicrobial susceptibility and clinical characteristics. J Clin Microbiol. 2011;49(7):2766-68. <https://doi.org/10.1128/JCM.02525-10>
17. Fung TC, Vuong HE, Luna CDG, et al. Intestinal serotonin and fluoxetine exposure modulate bacterial colonization in the gut. Nat Microbiol. 2019;4(12):2064-73. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0540-4>
18. Henke MT, Kenny DJ, Cassilly CD, Clardy J. *Ruminococcus gnavus*, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, produces an inflammatory polysaccharide. PNAS. 2019;116(26):12672-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1904099116>
19. Sydenham TV, Arpi M, Klein K, Justesen US. Four cases of bacteremia caused by *Oscillibacter ruminantium*, a newly described species. J Clin Microbiol. 2014;52(4):1304-07. <https://doi.org/10.1128/JCM.03128-13>
20. McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival. J Periodontol. 1996;67(7):666-74. <https://doi.org/10.1902/jop.1996.67.7.666>

21. Dal T, Dal MS. Akut myeloid lösemili hastada *Capnocytophaga ochracea* bakteremisi: Bir olgu sunumu. Van Tıp Derg. 2011;18(2):121-4.
22. Mendling W, Palmeira-de-Oliveira A, Biber S, Prasauskas V. An update on the role of *Atopobium vaginae* in bacterial vaginosis: what to consider when choosing a treatment? A mini review. Arch Gynecol Obstet. 2019;300(1):1-6.
<https://doi.org/10.1007/s00404-019-05142-8>
23. Sweet RL. Anaerobic infections of the female genital tract. Am J Obstet Gynecol. 1975;122(7):891-901.
[https://doi.org/10.1016/0002-9378\(75\)90736-x](https://doi.org/10.1016/0002-9378(75)90736-x)
24. Gomez-Arango LF, Barrett HL, Wilkinson SA, et al. Low dietary fiber intake increases *Collinsella abundance* in the gut microbiota of overweight and obese pregnant women. Gut Microbes. 2018;9(3):189-201.
<https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1406584>
25. Gardiner BJ, Tai AY, Kotsanas D, et al. Clinical and microbiological characteristics of *Eggerthella lenta* bacteremia. J Clin Microbiol. 2015;53(2):626-35.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02926-14>
26. Tuuminen T, Suomala P, Vuorinen S. *Sarcina ventriculi* in blood: the first documented report since 1872. BMC Infect Dis. 2013;(13):169.
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-169>
27. Liu X, Mao B, Gu J, et al. *Blautia*-a new functional genus with potential probiotic properties? Gut Microbes. 2021;13(1):1-21.
<https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1875796>
28. Peck SC, Denger K, Burrichter A, Irwin SM, Balskus EP, Schleheck D. A glycyl radical enzyme enables hydrogen sulfide production by the human intestinal bacterium *Bilophila wadsworthia*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019;116(8):3171-6.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1815661116>
29. Finegold S, Summanen P, Gerardo S H, Baron E. Clinical importance of *Bilophila wadsworthia*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1992;11(11):1058-63.
<https://doi.org/10.1007/BF01967799>
30. Parsaei M, Sarafraz N, Moaddab SY, Leylabadlo EH. The importance of *Faecalibacterium prausnitzii* in human health and diseases. New Microbes New Infect. 2021;43:100928.
<https://doi.org/10.1016/j.nmni.2021.100928>
31. CLSI. Principles and Procedures for Detection of Anaerobes in Clinical Specimens: Approved Guideline. M56. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
32. Willis AT. Anaerobic Bacteriology: Clinical and Laboratory Practice. 3rd ed. Butterworth-Heinemann, Elsevier; 1977.
<https://doi.org/10.1016/C2013-0-06208-1>

Ticari Doğal Aktif Bileşenlerin Sıtma Tedavisindeki Etkinliğinin Araştırılması

Investigation of the Efficacy of Commercial Natural Active Ingredients in Malaria Treatment

Ahmet Özbilgin*, Yener Özel**, İbrahim Çavuş*

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

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

Atıf/Cite as: Özbilgin A, Özel Y, Çavuş İ. Ticari doğal aktif bileşenlerin sıtma tedavisindeki etkinliğinin araştırılması. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):15-23.

Öz

Amaç: Bu çalışmada, çeşitli biyolojik aktiviteleri yanında, güçlü antimikrobiyal etkinlikleri gösterilmiş olan kafeik asit, oleik asit ve oleuropein'in in vitro sitotoksik aktivitesi ve in vivo antimalaryal etkinliğinin sıtma modelinde araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda, kafeik asit, oleik asit, oleuropein, klorokin ve tedavi almayan grup olmak üzere her bir grupta beşer fareden toplam beş grup oluşturulmuştur. Tüm farelere 2.5×10^7 parazit/mL Plasmodium berghei ile enfekte eritrosit süspansiyonu intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Belirlenen dozlardaki etken maddeler farelere oral yol ile dört gün testine uygun olarak verilmiş ve farelerdeki parazitemi durumu farelerin kuyruk ucundan alınan kandan yapılan yayma preparatları ile 27 gün boyunca kontrol edilmiştir.

Bulgular: Tedavi almayan gruptaki farelerin ortalama parazitemi yüzdesi dokuzuncu gün %33, kafeik asit grubu farelerin 25. gün %30.8, oleik asit grubu farelerin 11. gün %28.6, oleuropein grubu farelerin 11. gün %31.2 olarak saptanmıştır. Kafeik asit grubu farelerin tedavi almayan gruptaki farelere göre yaşam süresinin 16 gün uzadığı gözlenmiştir. Kontrol grubu farelerde deney süresi boyunca yapılan Giemsa boyalı ince yayma preparatlarında parazite rastlanmamıştır.

Sonuç: Özellikle kafeik asit olmak üzere üç etken maddenin de in vivo fare modelinde parazit gelişimini baskıladığı ve farelerin yaşam süresini uzattığı tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, söz konusu etken maddelerin yeni nesil antimalaryaller olarak daha kapsamlı çalışılması için literatüre önemli katkılar sunacaktır.

Anahtar kelimeler: Antimalaryal, kafeik asit, oleik asit, oleuropein, in-vivo, sıtma

ABSTRACT

Objective: In the present study, in vitro cytotoxic activities and in vivo antimalarial efficacies of caffeic acid, oleic acid, and oleuropein, which have shown strong antimicrobial activities, were aimed to be investigated in a malaria model, along with various biological activities.

Methods: We established five groups, each with five mice: first, second, third and the fourth groups were given caffeic acid, oleic acid, oleuropein, and chloroquine, respectively, while the fifth served as an untreated control. All mice were intraperitoneally infected with the suspension having 2.5×10^7 parasites/mL of Plasmodium berghei-infected erythrocytes, followed by oral administration of active substances at specified doses for four days. Parasitemia was monitored for 27 days through blood smears obtained from the tail-tip.

Results: The average rates of parasitemia in the group of mice that did not receive any treatment was 33% on day 9, 30.8% for the caffeic acid group on day 25, 28.6% for the oleic acid group on day 11, and 31.2% for the oleuropein group on day 11. It was observed that the life span of the mice in the caffeic acid group extended for 16 days compared to the untreated control group. No parasites were found in the blood smears stained with Giemsa during the experiment in the control group of mice.

Conclusion: It was found that all three active ingredients, especially the caffeic acid, suppressed parasite development and extended the lifespan of mice in vivo. The data obtained from this study will make significant contributions to the literature for more comprehensive research on these active substances as next-generation antimalarial agents.

Keywords: Antimalarial, caffeic acid, oleic acid, oleuropein, in-vivo, malaria

Alındığı tarih / Received:

16.06.2023 / 16.June.2023

Kabul tarihi / Accepted:

09.11.2023 / 09.November.2023

Yayın tarihi / Publication date:

25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

A. Özbilgin 0000-0003-3613-8741

Y. Özel 0000-0001-6618-8251

İ. Çavuş 0000-0002-3860-0146

✉ icvs26@yahoo.com

GİRİŞ

Sıtmanın destansı geçmişi, insanlık tarihinden eskiye dayanmaktadır⁽¹⁾. Bilim adamları, sıtmanın öncelikle Afrika'nın Etiyopya bölgesinde bulunan primatlarda ortaya çıktığını ve sonra insanlar arasında yayıldığını göstermiştir. Sıtma, Nil Vadisi'nden Akdeniz Bölgesi'ne, daha sonra Asya'ya ve kuzeyde Avrupa'ya yayılarak farklı uygarlıklar üzerinde önemli bir rol oynamıştır⁽¹⁻³⁾.

Her 30 saniyede bir çocuğun sıtma nedeniyle hayatını kaybettiği dünyamızda küresel olarak 92 ülkede tahminen 3.4 milyar insanın sıtma ile enfekte olduğu ve 1.1 milyar kişinin ise yüksek risk altında olduğu tahmin edilmektedir. 2022 Dünya Sıtma Raporu'na göre, 2021 yılında küresel olarak 247 milyon sıtma vakası ve yaklaşık 619.000 sıtma kaynaklı ölüm görülmüştür. Aynı raporda, Türkiye'de 2010 yılından 2019 yılına kadar yerli vaka görülmediği bildirilmiştir. Rapor edilen yurt dışı kaynaklı sıtma vakaları 2019 yılında 277 ve 2020 yılında 133 olarak belirtilmiştir⁽⁴⁾.

Antimalaryal ilaçlara karşı gelişmekte olan direnç sorunu, küresel sıtma kontrolü için tehdit olmaya devam etmektedir. Bu tehdit karşısında 2016 yılında Dünya Sağlık Örgütü, "Küresel Sıtmayı Ortadan Kaldırma Vizyonu"nu yeniden onaylamış ve 2016-2030 yılları arasında yerel, ulusal ve bölgesel çabalara rehberlik edecek Küresel Teknik Stratejiler adında bir çerçeve protokol yayınlamıştır⁽⁵⁾. Temel strateji; sıtma tanı ve tedavisine evrensel erişim, mümkün olduğunda ortadan kaldırmaya yönelik hızlandırma, gelişmiş gözetim, sürekli araştırma, yenilik, altyapı ve kapasite geliştirme yatırımlarına odaklanmıştır. "Küresel Teknik Stratejiler" protokolü, 2020 yılına kadar sıtma mortalitesi ve vaka insidansında %40, 2030 yılına kadar ise %90 oranında azalma hedeflemiştir⁽⁵⁾. Ancak son veriler, bu hedefin karşılanmayacağını göstermektedir^(6,7). Sıtma kontrolüne yönelik tehditler arasında, ilaca dirençli parazitlerin ortaya çıkması ve yayılması bulunmaktadır. Parazit genomu ve çoklu ilaca dirençli sıtmanın tanımlanması, ilaç geliştirilmesi, hastaların izlenmesi, kontrol altına alınması ve tedavi edilmesi için çok uluslu iş birliklerinden yararlanılması gerekmektedir^(8,9).

Özellikle artan direnç sorununa karşın alternatif ilaç adayı moleküllerin belirlenmesi ve bunların antimalaryal kapasitelerinin araştırılması zorunluluk arz etmektedir. Bu çalışmada, *Plasmodium berghei* ile oluşturulmuş *in vivo* fare modelinde ticari doğal aktif bileşenlerden kafeik asit (CAF), oleik asit (OLA) ve oleuropein (OLE)'in sitotoksik aktivitesi ve antimalaryal etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından (22.03.2022 tarih ve 77.637.435/227 sayı) onaylanmıştır.

Ticari doğal aktif bileşenler: Bu çalışmada, zeytin bitkisinin ana bileşenlerinden olan oleuropin (Sigma 12247) ve oleik asit (Sigma 01383) ile fenolik bileşenlerden biri olan kafeik asit (Sigma C0625) kullanıldı.

Sitotoksik aktivite testi: OLE, OLA ve CAF'ın sitotoksik aktivite testlerinde L929 fare fibroblast hücre hattı kullanıldı. Farklı konsantrasyonlarda kullanılarak MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromit] yöntemi ile sitotoksik aktiviteleri belirlendi⁽¹⁰⁾.

Deney hayvanları ve parazit: Erkek 20-25 g ağırlığında, 2-4 aylık Balb/C cinsi fareler kullanıldı. Deney hayvanları ortama alışmaları için oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüde bir hafta tutuldu. Antimalaryal testler için klorokine duyarlı *P. berghei* ANKA suşu kullanıldı.

Deney hayvanı grupları ve uygulanan dozlar: Deney hayvanları rastgele beş gruba (tedavi almayan, klorokin tedavisi alan ve üç test grubu) ayrıldı. Her grup beş deney hayvanından oluşturuldu. Kontrol gruplarından, tedavi almayan gruba serum fizyolojik, tedavi grubuna ise 50 mg/kg klorokin verilirken, etken madde gruplarına ön çalışmalar ile farelerin tolere edebildiği (kusma ve kasılmaların olmadığı) dozun yarısı tarama dozu olarak belirlenerek CAF grubuna 20 mg/kg, OLA grubuna 320 mg/kg ve OLE grubuna ise 2 mg/kg etken madde oral yoldan verildi^(11,12).

Deney hayvanlarının enfeksiyonu: Donör farelerdeki parazitemi oranı tespit edildikten sonra servikal dislokasyon yapılarak bu fareler sakrifiye edildi. Koltuk altı veni kesilerek %0.5 trisodyum sitrat içeren tüpe toplanan kanın parazitemi oranı serum fizyolojik ile 2.5×10^7 parazit/mL konsantrasyonda olacak şekilde ayarlandı. Daha sonra tüm farelere intraperitoneal (IP) olarak 0.1 mL verildi⁽¹³⁾.

Antimalaryal aktivitenin belirlenmesi

Dört gün testi: Etkin maddelerin *in vivo* antimalaryal etkinliği, Porter ve Peters tarafından tarif edilen "4 gün testi" ile araştırıldı. Farelere (0. gün) enfeksiyondan iki saat sonra ilk doz tedavileri verildi. Daha sonra 24., 48. ve 72. saatlerde diğer dozlar uygulandı. Son tedavinin verildiği günden itibaren farelerin kuyruk ucundan kan alındı ve ince yayma preparatlar yapılarak Giemsa ile boyandı⁽¹⁴⁾.

Parazitemi oranının belirlenmesi: Deney gruplarındaki farelerin parazitemi oranı, iki gün arayla farelerin kuyruk ucu veninden alınan kandan hazırlanan ince yayma preparatların mikroskop altında incelenmesi ile değerlendirildi. Parazitemi takibi 27 gün boyunca tarif edildiği şekilde hesaplanarak her gruptaki her bir fare için ayrı ayrı kaydedildi. Her bir ince yayma preparatında en az on farklı alanda enfekte eritrositler sayılarak % parazitemi oranları aşağıdaki formüle ile hesaplandı⁽¹⁵⁾.

$$\% \text{ Parazitemi (\% P)} = \frac{\text{Enfekte eritrosit (ERT) sayısı}}{\text{Enfekte ERT sayısı} + \text{enfekte olmayan ERT sayısı}} \times 100$$

İstatiksel analiz: İstatistiksel analizler Sidak's Multiple Comparisons yöntemi ile yapıldı. p değeri 0.05'ten küçük olduğunda yapılan istatistiksel değerlendirme anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

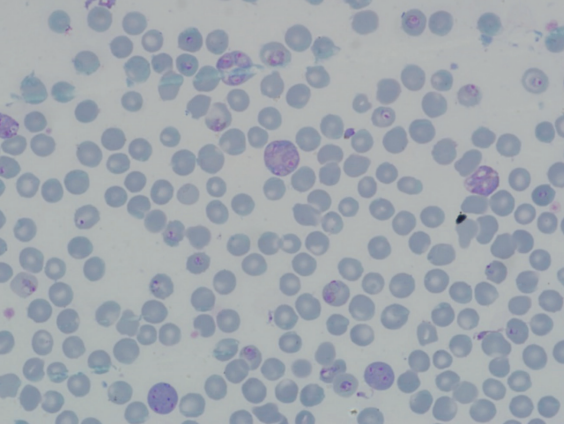
Sitotoksik aktivite: Sitotoksik aktivite testi sonucunda CAF için EC_{50} (Yarım maksimal etkili konsantrasyon) 70 μM , OLE için EC_{50} 149 μM ve OLA için EC_{50} >200 $\mu\text{g/mL}$ olarak saptanmıştır. Etkin maddelerin LC (öldürücü

konsantrasyon)'leri ise CAF ve OLE için >800 μM , OLA için ise >200 $\mu\text{g/mL}$ olarak değerlendirilmiştir.

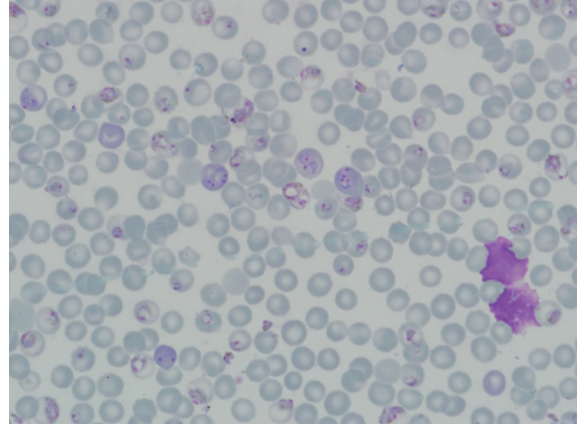
Antimalaryal aktivitenin belirlenmesi: Uygulanan dört gün testi sonucunda tedavi almayan gruptaki farelerin üçüncü gün yapılan ince yayma preparatlarında ortalama %5 oranında parazitemi tespit edilmiştir. Beşinci günde ortalama %7.4, yedinci günde %14.6 ve dokuzuncu günde ortalama %33 oranında parazitemi saptanmıştır. Tedavi almayan grupta yer alan farelerin dokuzuncu günde fiziksel durumlarının kötüleştiği gözlenmiştir. Bu gruptaki tüm farelerin tüylerinin dikensi ve kirli, kuyruk ve kulaklarının anemik, solunumlarının hızlı ve hareketlerinin yavaş olduğu görülmüştür. Dokuzuncu günün akşamında farelerin dördü, 10. günde ise sonuncusu ölmüştür. Klorokin tedavisi alan kontrol grubunda üçüncü günden itibaren 27. güne kadar yapılan incelemelerin hiçbirinde enfekte eritrosit görülmemiştir. Bu gruptaki farelerin tamamı deney süresi boyunca canlı kalmıştır.

CAF grubunda yer alan farelerin tamamında dokuzuncu güne kadar hiç enfekte eritrosit görülmemiştir. 11. gün yapılan yaymalarda tüm farelerde ortalama %1.6 (%1-3) oranında parazitemi tespit edilmiştir. Diğer günlerde yapılan ince yaymalarda parazitemi oranı giderek artmaya başlamış ve 13. günde ortalama %5.4, 15. günde ortalama %7.8, 17. günde ortalama %11.6, 19. günde ortalama %19, 21. günde ortalama %23.4 ve 25. günde ise ortalama %30.8 oranında parazitemi saptanmıştır. 25. günün akşamında grupta yer alan farelerin ikisi, 26. günde ise diğer üçü ölmüştür. Yaşam süresi açısından değerlendirildiğinde, CAF grubundaki farelerin yaşam süresinin tedavi almayan farelere göre 16 gün daha uzun olduğu görülmüştür.

OLA grubundaki farelerin ince yaymalarında üçüncü günde ortalama %2.6, beşinci günde ortalama %5.6, yedinci günde ortalama %9.6, dokuzuncu günde ortalama %17.2 ve 11. günde ise %28.6 enfekte eritrosit görülmüştür. 11. günün gecesinde fiziksel görünümü kötüleşen farelerden üç tanesi, 12. günde ise diğer ikisi ölmüştür. Grubun yaşam süresinin tedavi almayan gruba göre iki gün uzadığı saptanmıştır (Resim 1-2).



Resim 1. Kafeik asit grubu, Giemsa boyalı ince yayma preparatı (100X)



Resim 2. Oleik asit grubu, Giemsa boyalı ince yayma preparatı (100X)

OLE grubundaki farelerin ince yaymalarında üçüncü günde ortalama %4.8, beşinci günde ortalama %6.4, yedinci günde ortalama %14.4, dokuzuncu günde ortalama %21.8 ve 11. günde ise %31.2 oranında enfekte eritrosit görülmüştür. 11. günün gecesinde fiziksel görünümü kötüleşen farelerden dört tanesi, 12. günde ise sonuncusu ölmüştür. Grubun yaşam süresinin tedavi almayan grubuna göre iki gün daha uzundur (Tablo 1).

Tablo 1. Etken madde gruplarının ortalama % parazitemi oranları

Gün	CAF (%)	OLA (%)	OLE (%)	KG (%)	TAG (%)
3	0	2.6	4.8	0	5
5	0	5.6	6.4	0	7.4
7	0	9.6	14.4	0	14.6
9	0	17.2	21.8	0	33
11	1.6	28.6	31.2	0	Eks
13	5.4	Eks	Eks	0	Eks
15	7.8	Eks	Eks	0	Eks
17	11.6	Eks	Eks	0	Eks
19	19	Eks	Eks	0	Eks
21	23.4	Eks	Eks	0	Eks
23	27.2	Eks	Eks	0	Eks
25	30.8	Eks	Eks	0	Eks
27	Eks	Eks	Eks	0	Eks

CAF: kafeik asit, OLA: oleik asit, OLE: oleuropein, KG: kontrol grubu, TAG: tedavi alan grup.

İstatistiksel analiz: Klorokin tedavisi alan grup CAF grubunun paraziteminin görülmeyeceği ilk dokuz gün ile kıyaslandığında parazitemi oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Ancak CAF grubunun dokuzuncu günden ve OLA ve OLE gruplarının ise üçüncü günden sonraki parazitemi oranları klorokin tedavisi alan gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Tedavi almayan grup ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, klorokin tedavisi alan grup ile tüm günlerde parazitemi oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). CAF grubu ile dokuzuncu güne kadar parazitemi oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). OLA grubu ile üçüncü ve beşinci günde parazitemi oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değil iken ($p>0.05$), yedinci ve dokuzuncu günlerde ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). OLE grubu ile üçüncü, beşinci ve yedinci günlerde parazitemi oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değil iken ($p>0.05$), dokuzuncu günde ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Etken madde grupları birbiri ile kıyaslandığında, CAF grubundaki parazitemi oranı 11. güne kadar OLA ve OLE gruplarından farklı ($p<0.05$) bulunmuştur. OLA ve OLE gruplarının parazitemi oranları ise 11. güne kadar benzer bulunmuştur ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Geliştirilen ve kullanıma giren birçok ilaç doğal ürünlerden ve bunların türevlerinden elde edilmiştir^(16,17). Geçmişten günümüze bitkiler, hayvanlar ve mineraller hastalıkların tedavisinde önemli doğal bileşiklerin temeli olmuştur⁽¹⁷⁾. Çeşitli kültürlerde sıtma tedavisi için kullanılan bitkiler yeni ilaçların geliştirilmesi için önemli bilgilerin elde edilmesini sağlamıştır. Geleneksel tıptan kaynak alan ve geliştirilen kına ağacının kabuğundan elde edilen kinin ve ateş düşürücü olarak kullanılan *Artemisia annua*'dan elde edilen artemisinin, günümüzde kullanılmaya devam edilen en etkili sıtma ilaçlarından biridir⁽¹⁸⁾.

CAF literatürde sıklıkla çeşitli kanser hücre hatları üzerinde çalışılmış ve antikanser etkisine yönelik veriler elde edilmiştir⁽¹⁹⁾. OLA, tekli doymamış bir cis-9-oktadesenoik asittir⁽²⁰⁾. Birçok çalışma OLA'nın, sitotoksik ilaçlarla sinerjik etkileşim gösterdiği ve bu ilaçların antitümör etkisini artırdığını bildirmektedir^(21,22). OLE, hidroksitirozol, elenolik asit ve bir glikoz molekülünden oluşan fenolik bir bileşik olup zeytin yaprağında en yüksek oranda bulunan biyoaktif bileşendir⁽²³⁾. Bazı araştırmalarda OLE antibakteriyel etkinliği gösterilmiş olup gram pozitif bakteriler üzerindeki etkisinin, gram negatif bakteriler üzerindeki etkisinden daha güçlü olduğu bulunmuştur. Bu durum hücre yapılarındaki farklılıklarla ilişkilendirilmektedir^(24,25).

Suberu ve ark.⁽²⁶⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, *Artemisia annua* L. *aqueous* ekstratında bulunan bileşenlerin antimalaryal etkinliği *in vitro* olarak araştırılmıştır. Ekstratın GC-MS analizinde tespit edilen bileşenlerden biri de CAF'tır ve *Plasmodium falciparum*'un HB3 (klorokin duyarlı) ve Dd2 (klorokin dirençli) suşlarına karşı IC₅₀ (Yarım maksimum inhibitör konsantrasyonu) değeri sırasıyla 60.4 µM ve 47.5 µM olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada artemisinin ve CAF kombinasyonu dama tahtası (checkerboard) yöntemi ile araştırılmış ve iki bileşik arasında antagonistik bir ilişki tespit edilmiştir. Araştırmacılar, CAF'ın tek başına antimalaryal etkinlik göstermesine rağmen artemisinin ile antagonistik ilişki sergilemesini,

CAF'ın güçlü antioksidan özelliklere sahip olması ile açıklamış ve elde ettikleri bu verinin literatürde yer alan birkaç çalışma ile de desteklendiğini bildirmişlerdir^(27,28). Degotte ve ark.⁽²⁹⁾ tarafından *in vitro* ortamda yapılan benzer bir çalışmada, *P. falciparum*'a karşı, CAF ve ester türevlerinin IC₅₀ değerlerinin 16-241 µM arasında değiştiği, ester türevlerinin CAF'a kıyasla daha güçlü antimalaryal etkinlik ve insan hücrelerine karşı seçicilik gösterdiği bildirilmiştir. Denenen moleküllerin antimalaryal etkinlik göstermesi ve insan hücrelerine karşı seçici olması nedeniyle bu moleküllerin alternatif ilaç adayı olabileceği ifade edilmiştir. Fordjour ve ark.⁽³⁰⁾ *in vitro* kültür yöntemi ile CAF, rosmarinik asit, klorojenik asit, o-kumarik asit, ferulik asit, gallik asit ve protokatekuik asitin *P. falciparum*'un 3D7 suşuna karşı antimalaryal aktivitesini araştırmış ve test edilen fenolik asitler arasında, CAF ve gallik asitin, sırasıyla 17.73 µg/ml ve 26.59 µg/ml ortalama IC₅₀ değeri ile en güçlü etkinliğe sahip olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, doğal fenolik bileşiklerin, kayda değer düzeyde antimalaryal aktiviteye sahip olduğunu ve bu bileşikler açısından zengin doğal gıda ürünlerinin tüketilmesinin sıtma profilaktik etki sağlayabileceğini ifade etmiştir. Cardona-G ve ark.⁽³¹⁾ S-allylCysteine Ester ve CAF birleşimine dayalı hibrit moleküller sentezlemiş ve bunların dördünü *Trypanosoma cruzi* ve *P. falciparum*'a karşı etkinliğini *in vitro* ortamda araştırmışlardır. Hibrit 6 molekülü, 5.45 µM EC₅₀ değeri ile *T. cruzi*'ye karşı iyi aktivite sergilerken, hibrit üç molekülü, 18.08 µM EC₅₀ değeri ile *P. falciparum*'a karşı güçlü antimalaryal etkinlik göstermiştir. Alson ve ark.⁽³²⁾ CAF ve türevlerinin *in vitro* ve *in vivo* ortamda antimalaryal etkinliğini araştırmıştır. *P. falciparum* 3D7 (klorokin duyarlı) suşuna karşı *in vitro* ortamda CAF'ın etil, izopropil ve metil esterlerinin yaklaşık 20 µM IC₅₀ değerleri ile güçlü antimalaryal etkinliğe sahip olduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar, *P. berghei* ile oluşturulan sıtma modelinde ise en etkili bulunan bu üç molekülü araştırmış ve 100 mg/kg dozda %55 parazit inhibisyonu ile CAF'ın etil esterinin en güçlü antimalaryal etkinliğe sahip olduğunu ve şizogonik döngünün ilk altı saatinde, artemisine benzer şekilde parazitin halka ve genç trofozoit formlarına karşı etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Söz konusu çalışmada, etil ester türevinin CAF'tan daha güçlü antimalaryal aktivite göstermesinin, ester türevlerinin lipofilik

karacterinin yüksek olması ile ilişkili olarak hücre içi hedeflere ulaşma yeteneği ile açıklanabileceği ifade edilmiştir.

OLA'nın antiparaziter etkinliğine yönelik literatürde sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Anwar ve ark.⁽³³⁾ 2019 yılında oleik asit ve oleik asit-gümüş nanopartikül kompleksinin protozoon bir parazit olan *Acanthamoeba castellanii*'ye karşı güçlü anti-amibik etkinliği olduğu bildirilmiştir. OLA ile yapılan güncel bir çalışmada, anemi modeli oluşturularak OLA'nın eritrosit apoptozunu engellediği ve hemoglobini koruduğu bildirilmiştir⁽³⁴⁾. Sıtma enfeksiyonunda en çok etkilenen hücreler eritrositler olup, hastalığın en önemli klinik bulgusu parazitlerin eritrositleri parçalaması ile oluşan anemidir. Çalışmamızda OLA, TAG grubu ile kıyaslandığında parazite karşı etkili bulunmamıştır ancak TAG grubunda parazitemi seviyesinin en yüksek düzeye çıktığı dokuzuncu günde ortalama parazitemi %33 iken, OLA grubunda parazitemi oranı %17.2 olarak saptanmıştır. Farelerin yaşam süreleri de TAG grubuna göre iki gün uzamıştır. OLA'nın, kontrol grubu ile kıyaslandığında parazit gelişimini belirli bir süre baskıladığı gözlenmiştir. Bu durum OLA'nın parazite karşı direkt etkisinden ziyade anti-inflamatuar özelliğinin klinik sunuma yansımından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

OLE, zeytin (*Olea europaea* L.) ağacının farklı kısımlarındaki başlıca biyoaktif bileşendir. OLE'nin nöroprotektif rolü için apoptoz ve otofajinin indüklenmesi, serebral bölgenin antioksidan havuzunun artırılması, mikrogliya hücrelerini ve astrositleri deaktif ederek proinflamatuar sitokinlerin ve kemokinlerin gereksiz salınımının azaltılması ve böylece nöroinflamasyonun oluşumunun önlenmesi gibi çeşitli mekanizmalar bildirilmiştir. Düzenli OLE alımı, alzheimer, parkinson, felç, depresyon, anksiyete ve epilepsi dahil olmak üzere sinirsel bozukluk risklerinin azalması ile ilişkili görünmektedir⁽³⁵⁾. OLE, matriks metalloproteinazlar (MMP) adı verilen bir molekül sınıfının aktivitesini ve üretimini azaltır. Aşırı MMP aktivitesi, hücreleri birbirine kenetleyen jel benzeri matriksi sıvılaştırarak damar endotellerini plak hasarına karşı kademeli olarak savunmasız hale getirir. Zeytin bitkisinde

bulunan polifenol bileşikler arteriyel plak oluşumunu iki şekilde önler. İlk olarak, plak oluşumuna neden olan bir dizi "yapışma molekülünün" (beyaz kan hücreleri ve trombositler) aktivitesini ve üretimini azaltırlar⁽³⁶⁾. Bu maddeler arter duvarlarına yapışarak erken plak oluşumuna neden olur. İkinci olarak, trombosit agregasyonunu azaltırlar, bu da plak bölgelerinde kalp krizi veya felce neden olacak küçük pıhtıların oluşma olasılığını azaltır⁽³⁷⁾. Ayrıca OLE'nin antimikrobiyal etkinliğine yönelik literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır⁽³⁸⁾ ancak antimalaryal etkinliğine ilişkin veriler sınırlıdır. Ilıkçı Sağkan ve ark.⁽³⁹⁾ 2022 yılında yapılan bir çalışmada, OLE'nin protozoon bir parazit olan *Leishmania tropica* izolatına karşı etki mekanizması araştırılmış ve *L. tropica* promastigotlarında, proliferasyonu inhibe ettiği, apoptotik hücre ölümünü indüklediği, mitokondri membran potansiyelini değiştirdiği ve reaktif oksijen radikalleri salınımına sebep olduğu gösterilmiştir. OLE'nin plak oluşumunu engelleyici etkisi ve nöroprotektif özellikleri yanı sıra güçlü antioksidan ve antimikrobiyal etkinliklerinin de gösterilmesi antimalaryal etkinliğinin araştırılması açısından önemli bulunmuştur. Bu hipotezden yola çıkarak OLE'nin antimalaryal aktivitesi araştırılmıştır. Elde ettiğimiz veriler, OLE'nin farelerde antimalaryal aktivitesinin zayıf olduğunu göstermektedir. Ancak TAG grubunun dokuzuncu gününde ortalama parazitemi %33 iken, aynı gün OLE grubunda paraziteminin %21.8 olduğu ve farelerin yaşam süresinin de TAG grubuna kıyasla iki gün uzadığı gözlenmiştir. Bu açıdan, OLE, sıtma parazitine karşı güçlü etkinlik göstermese de parazitin neden olduğu klinik sunumu olumlu yönde etkilediği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, antimalaryal etkinliği *in vivo* sıtma modelinde araştırılan CAF, OLA ve OLE bileşenlerinden en güçlü antimalaryal etkinlik CAF için tespit edilmiştir. CAF grubunda 11. günde ortalama %1.6 oranında parazitemi görülmeye başlanmış, en yüksek parazitemi oranı 25. günde ortalama %30.8 olarak saptanmış ve 27. günde fareler ölmüştür. CAF grubunda bulunan farelerin yaşam süresinin tedavi almayan gruba göre 16 gün uzadığı görülmüş, CAF'ın parazitemi baskıladığı ve antimalaryal etkinliğe sahip olduğu saptanmıştır. Literatürde yer alan az

sayıdaki çalışma incelendiğinde bizim çalışmamızla da uyumlu sonuçlar alındığı görülmüş ve CAF'ın potansiyel bir antimalaryal ilaç adayı olabileceği kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak, yeni moleküllerin geliştirilmesi, mevcut moleküllerde yapısal değişimlerin yapılması, ilaç etki mekanizmasının daha net aydınlatılması, yeni kombinasyon tedavilerinin geliştirilmesi ve bitki bazlı doğal aktif bileşenlerden yeni antimalaryal ilaçların geliştirilmesi artan direnç nedeniyle büyük önem kazanmaktadır.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından (22.03.2022 tarih ve 77.637.435/227 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2022-078 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Manisa Celal Bayar University, Animal Research Ethics Committee (03.22.2022; 77.637.435/227).

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

Funding: Manisa Celal Bayar University Scientific Research Coordination Office with project number 2022-078.

KAYNAKLAR

- Schlagenhauf P. Malaria: From prehistory to present. Infect Dis Clin North Am. 2004;18(2):189-205. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2004.01.002>
- Cox FE. History of human parasitology. Clin Microbiol Rev. 2002;15(4):595-612. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.595-612.2002>
- Earle DP. Presidential address: a history of malaria and its ironies. Trans Am Clin Climatol Assoc. 1979;90:1-26.
- World Health Organization (WHO). World malaria report. WHO, 2022. [<https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>] (Erişim Tarihi: 15.Haziran.2023).
- World Health Organization (WHO). Global technical strategy for malaria 2016-2030. WHO, 2021. [<https://www.who.int/publications/i/item/9789240031357>] (Erişim Tarihi: 15.06.2023)
- Hogan AB, Jewell BL, Sherrard-Smith E, et al. Potential impact of the COVID-19 pandemic on HIV, tuberculosis, and malaria in low-income and middle-income countries: a modelling study. Lancet Glob Health. 2020;8(9):e1132-41. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30288-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30288-6)
- Sherrard-Smith E, Hogan AB, Hamlet A, et al. The potential public health consequences of COVID-19 on malaria in Africa. Nat Med. 2020;26(9):1411-6. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1025-y>
- Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, et al. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. N Engl J Med. 2014;371(5):411-23. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1314981>
- Abdulla S, Ashley EA, Bassat Q, et al. Baseline data of parasite clearance in patients with falciparum malaria treated with an artemisinin derivative: an individual patient data meta-analysis. Malar J. 2015;14(1):359. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0874-1>
- Güler E, Özbilgin A, Çavuş İ, ve ark. Kuzey Kıbrıs'ta yetişen bitkilerden elde edilen oçucu yağlarda *Leishmania tropica*'ya karşı in vitro anti-leishmanial etkinlik araştırması. Türkiye Parazitoloj Derg. 2021;45(2):101-7. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2021.6888>
- Ch'ng JH, Lee YQ, Gun S, et al. Validation of a chloroquine-induced cell death mechanism for clinical use against malaria. Cell Death Dis. 2014;5(6):1305. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.265>
- Melariri P, Campbell W, Etusim P, Smith P. In vitro and in vivo antimalarial activity of linoleic and linoleic acids and their methyl esters. Adv Stud Biol. 2012;4(7):333-49.
- Ryg-Cornejo V, Ioannidis LJ, Hansen DS. Isolation and analysis of brain-sequestered leukocytes from *Plasmodium berghei* ANKA-infected mice. J Vis Exp. 2013;71:50112. <https://doi.org/10.3791/50112>
- Porter M, Peters W. The chemotherapy of rodent malaria, XXV. Antimalarial activity of WR 122,455 (a 9-phenanthrenemethanol) in vivo and in vitro. Ann Trop Med Parasitol. 1976;70(3):259-70. <https://doi.org/10.1080/00034983.1976.11687122>
- Misganaw D, Engidawork E, Nedi T. Evaluation of the anti-malarial activity of crude extract and solvent fractions of the leaves of *Olea europaea* (Oleaceae) in mice. BMC Complement Altern Med. 2019;19(1):171. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2567-8>

16. Patwardhan B, Vaidya AD, Chorghade MS. Ayurveda and natural products drug discovery. *Cur Sci*. 2004;86(6):789-99.
17. Lahlou M. Screening of natural products for drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*. 2007; 2(5):697-705.
<https://doi.org/10.1517/17460441.2.5.697>
18. Rasoanaivo P, Ramanitrahasimbola D, Rafatro H, et al. Screening extracts of Madagascan plants in search of antiplasmodial compounds. *Phytother Res*. 2004;18(9):742-7.
<https://doi.org/10.1002/ptr.1533>
19. Hernandez LC, Machado ART, Tuttis K, et al. Caffeic acid and chlorogenic acid cytotoxicity, genotoxicity and impact on global DNA methylation in human leukemic cell lines. *Genet Mol Biol*. 2020;43(3):e20190347.
<https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0347>
20. Engelbrecht TN, Schroeter A, Hauss T, Neubert RH. Lipophilic penetration enhancers and their impact to the bilayer structure of stratum corneum lipid model membranes: neutron diffraction studies based on the example oleic acid. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1808(12):2798-806.
<https://doi.org/10.1016/j.bbammem.2011.08.012>
21. Menéndez JA, Barbacid MM, Montero S, et al. Effects of gamma-linolenic acid and oleic acid on paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells. *Eur J Cancer*. 2001;37(3):402-13.
[https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(00\)00408-1](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(00)00408-1)
22. Carrillo C, Cavia MM, Alonso-Torre SR. Antitumor effect of oleic acid; mechanisms of action: a review. *Nutr Hosp*. 2012;27(6):1860-5.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.04.040>
23. Hassen I, Casabianca H, Hosni K. Biological activities of the natural antioxidant oleuropein: Exceeding the expectation-A mini-review. *J Func Foods*. 2015;18:926-40.
<https://doi.org/10.1016/J.JFF.2014.09.001>
24. Liu Y, McKeever LC, Malik NSA. Assessment of the antimicrobial activity of olive leaf extract against foodborne bacterial pathogens. *Front Microbiol*. 2017;8:113.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00113>
25. Sanchez JC, Alsina MA, Herrlein MK, Mestres C. Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. *Colloid Polym Sci*. 2007;285(12):1351-60.
<https://doi.org/10.1007/s00396-007-1693-x>
26. Suberu JO, Gorka AP, Jacobs L, et al. Anti-plasmodial polyvalent interactions in *Artemisia annua* L. aqueous extract - Possible synergistic and resistance mechanisms. *PLoS One*. 2013;8(11):e80790.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080790>
27. Cui L, Wang ZL, Miao J, et al. Mechanisms of in vitro resistance to dihydroartemisinin in *Plasmodium falciparum*. *Mol Microbiol*. 2021;86(1):111-28.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2021.08180.x>
28. Sidhu ABS, Uhlemann AC, Valderramos SG, Valderramos JC, Krishna S, Fidock DA. Decreasing pfmdr1 copy number in *Plasmodium falciparum* malaria heightens susceptibility to mefloquine, lumefantrine, halofantrine, quinine, and artemisinin. *J Infect Dis*. 2006;194(4):528-35.
<https://doi.org/10.1086/507115>
29. Degotte G, Bernard P, Frederich M, Pierre F. Potential of caffeic acid derivatives as antimalarial leads. *Lett Drug Des Discov*. 2022;19(9):823-36.
<https://doi.org/10.2174/1570180819666220202160247>
30. Fordjour PA, Adjimani JP, Asare B, Duah-Quashie NO, Quashie NB. Anti-malarial activity of phenolic acids is structurally related. *Research Square* rs-21702 [Preprint]. 2020.
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-21702/v1>
31. Cardona-G W, Robledo SM, Prieto LJ, Yepes AF. S-allylCysteine ester/caffeic acid amide hybrids as promising antiprotozoal candidates: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies. *Braz J Pharm Sci*. 2022;58:e20822.
<https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e20822>
32. Alson SG, Jansen O, Cieckiewicz E, et al. *In-vitro* and *in-vivo* antimalarial activity of caffeic acid and some of its derivatives. *J Pharm Pharmacol*. 2018;70(10):1349-56.
<https://doi.org/10.1111/jphp.12982>
33. Anwar A, Abdalla SAO, Aslam Z, Shah MR, Siddiqui R, Khan NA. Oleic acid-conjugated silver nanoparticles as efficient antiamebic agent against *Acanthamoeba castellanii*. *Parasitol Res*. 2019;118(7):2295-304.
<https://doi.org/10.1007/s00436-019-06329-3>
34. Banerjee A, Dey T, Majumder R, et al. Oleic acid prevents erythrocyte death by preserving haemoglobin and erythrocyte membrane proteins. *Free Radic Biol Med*. 2023;202:17-33.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.03.019>
35. Butt MS, Tariq U, Ihtisham-UI-Haq, Naz A, Rizwan M. Neuroprotective effects of oleuropein: Recent developments and contemporary research. *J Food Biochem*. 2021;45(12):e13967.
<https://doi.org/10.1111/jfbc.13967>
36. Singh I, Mok M, Christensen AM, Turner AH, Hawley JA. The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2008;18:127-32.
<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2006.09.001>

37. Dell'Agli M, Maschi O, Galli GV, et al. Inhibition of platelet aggregation by olive oil phenols via cAMP-phosphodiesterase. Br J Nutr. 2008;99:945-51. <https://doi.org/10.1017/S0007114507837470>
38. Topuz S, Bayram M. Oleuropein extraction from leaves of three olive varieties (*Olea europaea* L.): antioxidant and antimicrobial properties of purified oleuropein and oleuropein extracts. J Food Process Preserv. 2022;46:e15697. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15697>
39. Ilıkçı Sağkan R, Kaya İ, Akın B, Özen H, Bulduk İ, Özlem Çalışkan S. Oleuropein'in *Leishmania tropica* promastigotları üzerinde mitokondri membran potansiyeli ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuna etkisi. Mikrobiyol Bul. 2022;56(4):692-705. <https://doi.org/10.5578/mb.20229607>

MALDI-TOF MS İle Pozitif Kan Kültürü Şişelerinden Hızlı Bakteri Tanımlanması; Kan Dışı Steril Vücut Sıvıları İçin Tween 80 İle Ön Ekstraksiyon İşlemi Yarar Sağlar Mı?

Rapid Bacterial Identification from Positive Blood Culture Bottles By MALDI-TOF MS; Is Pre-Extraction with Tween 80 Useful for Sterile Body Fluids Other Than Blood?

Fatih Çubuk*, Mürşit Hasbek**

* Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, Ankara, Türkiye

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

Atıf/Cite as: Çubuk F, Hasbek M. MALDI-TOF MS ile pozitif kan kültürü şişelerinden hızlı bakteri tanımlanması; Kan dışı steril vücut sıvıları için Tween 80 ile ön ekstraksiyon işlemi yarar sağlar mı? Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):24-31.

Öz

Amaç: Çalışmamızda Tween 80 ile ön ekstraksiyon işleminin kan dışı steril vücut sıvısı ekilen ve pozitif sinyal alınan kan kültürü şişeleri için uygulanabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada steril vücut sıvıları ekilmiş pozitif kan kültürü şişelerinden uygun agar besiyerine pasajlar alınmıştır. Bakteri kolonilerinden MALDI-TOF MS ile bakteri tanımlaması yapılmıştır. Ayrıca pozitif kan kültürü şişelerine Tween 80 ile ön ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır.

Bulgular: Tween 80 ile ön ekstraksiyon işlemi sonrası yapılan tanımlama çalışmalarında tür düzeyinde %53.6 ve cins düzeyinde ise %81.4 başarı elde edilmiştir. Ön ekstraksiyon işlemi sonrası gram pozitif ve gram negatif bakteriler için cins düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.808$). Bu ön işlem tür düzeyinde özellikle gram negatif bakterilerde daha başarılı sonuçlar sağlamıştır ($p=0.021$).

Sonuç: Ön ekstraksiyon işlemi gram negatif bakteriler için başarılı sonuçlar sağlamıştır. Bununla birlikte gram-pozitif bakteriler için tür düzeyinde sınırlı aktivite göstermiştir. Farklı Tween 80 konsantrasyonları veya başka kimyasallar kullanarak yeni protokoller geliştirmek, gram pozitif bakteri tanımlama verimliliğini artırmanın yararlı bir yolu olabilir.

Anahtar kelimeler: MALDI-TOF MS, Tween 80, ön ekstraksiyon, beyin omurilik sıvısı, eklem sıvısı

ABSTRACT

Objective: Our study aimed to investigate the feasibility of pre-extraction with Tween 80 for blood culture bottles in which a sterile body fluid, excluding blood, was added and a positive signal was received.

Methods: In the present study, passages were taken from positive blood culture bottles inoculated with sterile body fluids onto the appropriate agar media. Bacterial identification was made with MALDI-TOF MS from bacterial colonies. In addition, pre-extraction with Tween 80 was applied to positive blood culture bottles.

Results: In the identification studies carried out after the pre-extraction process with Tween 80, success rates of 53.6% and 81.4% were obtained at species and genus levels, respectively. After the pre-extraction process, no statistically significant difference was observed at the genus level for gram-positive and gram-negative bacteria ($p=0.808$). This pretreatment provided more successful results at the species level, especially in gram-negative bacteria ($p=0.021$).

Conclusion: The pre-extraction process provided successful results for gram-negative bacteria. However, it showed limited activity at the species level for gram-positive bacteria. Developing new protocols using different concentrations of Tween 80 or other chemicals may be a useful way to increase the efficacy of gram-positive bacteria identification.

Keywords: MALDI-TOF MS, Tween 80, pre-extraction, cerebrospinal fluid, synovial fluid

Alındığı tarih / Received:
27.09.2023 / 27.September.2023

Kabul tarihi / Accepted:
13.11.2023 / 13.November.2023

Yayın tarihi / Publication date:
25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

F. Çubuk 0000-0002-8976-7691
M. Hasbek 0000-0002-5217-8607

✉ fatih.cubuk.0587@gmail.com

GİRİŞ

Steril vücut boşluklarını etkileyen enfeksiyonlar, artan morbidite ve mortalite riski ile ilişkilendirilmektedir⁽¹⁻³⁾. Hızlı ve etkin mikrobiyolojik tanı yaklaşımı, bu tür enfeksiyonlarda etken bakterilerin belirlenmesini sağlamaktadır. Ayrıca antimikrobiyal seçimine rehberlik ederek tedaviyi ve ölüm veya komplikasyon riskini azaltmayı mümkün kılmaktadır^(1,2). Kültür işlemlerinin uzun zaman alması, özellikle hayatı tehdit eden enfeksiyonların mikrobiyolojik tanısında bakteriyel tanımlama süreçlerini hızlandıracak yaklaşımları önemli hale getirmektedir^(1,4,5).

Tanımlama işlemleri için Matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresinin (MALDI-TOF MS) kullanılmasıyla birlikte, birçok bakteri konvansiyonel yöntemlere kıyasla daha kısa bir sürede başarılı şekilde tanımlanabilmektedir⁽⁶⁾. MALDI-TOF MS temel olarak bakteri kolonilerinin analiz edilmesi şeklinde uygulanmaktadır. Otomatize kültür sistemleri kullanılması halinde, bakteriyel tanımlama için pozitif kan kültürü şişelerinden Gram boyama sonucuna göre uygun agar besiyerlerine pasaj yapılmaktadır. Bu işlem tanımlama prosedürüne yaklaşık 24 saatlik bir süre eklenmesini gerektirmektedir^(6,7).

Son dönemlerde ticari ekstraksiyon kitleri veya kurum içi protein ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak, MALDI-TOF MS ile doğrudan pozitif kan kültürü şişelerinden hızlı bakteri tanımlanmasını hedefleyen çalışmalarda başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir^(6,8-10). Bununla birlikte, beyin omurilik sıvısı (BOS), plevral sıvı ve eklem sıvısı gibi diğer steril vücut sıvısı kültürleri ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır^(7,11). Ayrıca bu çalışmalar ile elde edilen sonuçlarda çeşitli kısıtlılıklar olduğu bildirilmektedir^(7,11).

Pozitif kan kültürü şişelerine yönelik uygulanan kurum içi ekstraksiyon işlemleri için saponin, sodyum dodesil sülfat, trifloroasetik asit, Triton X-100 ve Tween 80 gibi çeşitli kimyasallar kullanılabilmektedir⁽¹²⁾. Tween 80 uygun maliyetli ve rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kolaylıkla bulunabilen bir

deterjandır. Tween 80 ile ekstraksiyon adımı içeren çalışmalarda pozitif kan kültürü şişeleri için başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir^(13,14).

Çalışmamızda Tween 80 ile ön ekstraksiyon işleminin kan dışı steril vücut sıvısı ekilen ve pozitif sinyal alınan kan kültürü şişeleri için uygulanabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (01.06.2021 tarih ve 2021-06/03 sayı) onaylanmıştır.

Bu çalışma Eylül 2021 ile Eylül 2022 tarihleri arasında prospektif olarak gerçekleştirilmiştir. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen steril vücut sıvısı örnekleri Gram boyalı preparat incelemesinin ardından 1-3 ml BACTEC Peds Plus/F (Becton Dickinson, ABD) içerisine ekilerek BACTEC FX otomatize kültür sistemi cihazında (Becton Dickinson, ABD) 5-7 gün inkübe edilmiştir. Aynı hastaya ait sadece ilk pozitif kültür şişesi çalışmaya alınmıştır. Pozitif sinyal alınan 32 BOS, 35 plevral sıvı ve 30 eklem sıvısı olmak üzere toplam 97 BACTEC Peds Plus/F kültür şişesi çalışmaya dâhil edilmiştir.

Rutin olarak, pozitif sinyal alınan kan kültürü şişelerinden kanlı agar, EMB agar ve çikolatamsı agar besiyerlerine pasaj çekilerek 37°C'de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. Kanlı agarda gelişen bakteri kolonilerinden MALDI-TOF MS ile bakteriyel tanımlama yapılmıştır⁽⁶⁾. Çalışmamızda bu uygulamaya ek olarak pozitif kan kültürü şişelerine Tween 80 ile ön ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan ön ekstraksiyon işleminin geliştirilmesinde Bishop ve ark.'nın⁽¹⁵⁾ çalışmasında kullanılan yöntem esas alınmıştır. Bu tür yöntemler geliştirilirken ekstraksiyon verimliliğini artırmak için çeşitli kimyasallar protokole dahil edilebilmektedir⁽¹²⁾. Tween 80 ile ekstraksiyon basamağını içeren çalışmalarda kan kültürü şişeleri için başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir^(13,14). Çalışmamızda

literatürden yararlanılarak, kan dışı steril vücut sıvısı kültür işlemlerinde kullanılmak üzere bir yöntem modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Özetle;

1. Pozitif kan kültürü şişesinden bir ml örnek alınarak eppendorf tüpüne aktarılmış ve üzerine 100 µl %10'luk Tween 80 çözeltisi eklenmiştir.
2. Karışım 2.000 rpm'de 30 sn santrifüj edildikten sonra, supernatant başka bir eppendorf tüpüne alınarak 13.000 rpm'de beş dk santrifüj edilmiştir.
3. Supernatant atılarak, pelet bir ml steril serum Fizyolojik ile üç kez yıkanarak süspanse hale getirilmiş ve vortekslenmiştir.
4. Süspansiyon 13.000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiş, supernatant atılarak pelet oda sıcaklığında kurutulmuştur.
5. Peletin üzerine eşit miktarda (peletin miktarına göre 20-50 µl) %70 formik asit ve asetonitril eklenerek, vortekslenildikten sonra 13.000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir.
6. Bir µl supernatant, metal plaka üzerine sürülmüş ve kuruduktan sonra üzerine bir µl matriks solüsyonu eklenerek kurumaya bırakılmıştır.
7. Plaka MALDI-TOF MS cihazına verilerek, lazer atışları yardımıyla tanımlama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Tanımlama işlemleri MALDI Biotyper Microflex LT (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Üretici firma önerileri doğrultusunda, tür düzeyinde güvenilir tanımlama (A grubu) için ≥ 2.000 skor değerleri, cins düzeyinde tanımlama (B grubu) için ise 1.700-1.999 aralığındaki skor değerleri kullanılmıştır. 1.700'ün altındaki skorlar güvenilir (C grubu) olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS sürüm 22.0 programı (IBM Corp., ABD) kullanılmıştır. Sayısal değişkenler frekans (yüzdelere) olarak verilmiştir. Verilerin değerlendirmesinde Ki-kare ve Fisher kesin Ki-kare testleri kullanılmış ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

BULGULAR

Bir yıllık dönemde kültür işlemleri için 304 BOS, 482 plevral sıvı ve 474 eklem sıvısı olmak üzere toplam 1260 steril vücut sıvısı örneği gönderilmiştir. İnkübasyon işlemleri sonrası 33 BOS, 35 plevral sıvı ve 31 eklem sıvısı olmak üzere toplam 99 kültür şişesinden pozitif sinyal alınmıştır.

Bu sürede steril vücut sıvısı kültürlerinde pozitiflik oranı %7.9 (99/1260) olarak tespit edilmiştir. Bu oran BOS kültürlerinde %10.9 (33/304), plevral sıvı kültürlerinde %7.3 (35/482) ve eklem sıvısı kültürlerinde ise %6.5 (31/474) saptanmıştır. Tekrar eden üreme olduğu tespit edilen birer BOS ve eklem sıvısı ekilmiş kan kültürü şişesi çalışma dışında bırakılmıştır. Sonuç olarak 32 BOS, 35 plevral sıvı ve 30 eklem sıvısı olmak üzere steril vücut sıvısı ekilmiş toplam 97 pozitif kan kültür şişesi çalışmaya dahil edilmiştir.

BOS, plevral sıvı ve eklem sıvısı kültürlerinde izole edilen bakterilerin dağılımları ve ön ekstraksiyon işlemi ve rutin MALDI-TOF MS prosedürü ile elde edilen tanımlama sonuçları Tablo 1'de sunulmuştur.

Çalışmamızda toplam 97 izolat için tanımlama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Rutin MALDI-TOF MS prosedürü ile bu isolatların 91'i (%93.8) tür düzeyinde (A) ve tamamı ise (A+B) cins düzeyinde tanımlanmıştır. Pozitif kan kültürü şişelerine yönelik yapılan ön ekstraksiyon işlemi sonrası ise bu isolatların 52'si (%53.6) tür düzeyinde (A) ve 79'u (%81.4) ise cins düzeyinde (A+B) tanımlanmıştır.

Bu çalışmada ön ekstraksiyon işlemi sonrası 41 *Staphylococcus* izolatının 36'sı (%87.8) için doğru şekilde tanımlama sağlanmıştır. Bu ön işlem, *Staphylococcus aureus* izolatlarında %76.5 (13/17) ve koagülaz negatif *Staphylococcus* izolatlarında %95.8 (23/24) oranında bir tanımlama başarısı göstermiştir.

Ön ekstraksiyon işlemi sonrası *Enterococcus* izolatlarında %83.3 (5/6) başarı elde edilmiştir.

Tablo 1. BOS, plevral sıvı ve eklem sıvısı kültürlerinde izole edilen bakterilerin dağılımları ve tanımlama sonuçları

Bakteriler	Ön Ekstraksiyon İşlemi Sonrası																Rutin MALDI-TOF MS protokolü		
	BOS				Plevral sıvı				Eklem sıvısı				Toplam				n	A	B
	n	A	B	C	n	A	B	C	n	A	B	C	n	A	B	C			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10	4	6		4	2	2		4	1	3		18	7	11		18	17	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1			2	1	1		14	6	4	4	17	8	5	4	17	17	
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	1											1	1			1	1	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1											1	1			1	1	
<i>Staphylococcus hominis</i>	2	1		1	1		1		1	1			4	2	1	1	4	3	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4	2	1	1									4	2	1	1	4	4	
<i>Streptococcus anginosus</i>					2			2					2			2	2	2	
<i>Streptococcus constellatus</i>					1			1					1			1	1	1	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>									1			1	1			1	1	1	
<i>Streptococcus oralis</i>									1		1		1		1		1		1
<i>Streptococcus salivarius</i>	1		1										1		1		1	1	
<i>Streptococcus vestibularis</i>	1	1											1	1			1	1	
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1			1		1		1		1		3	1	2		2	2	
<i>Enterococcus faecium</i>					3	1	1	1					3	1	1	1	4	3	1
<i>Micrococcus luteus</i>	1	1			1	1							2	2			2	2	
<i>Corynebacterium afermentans</i>	2			2									2			2	2		2
<i>Corynebacterium aurimucosum</i>	1	1			1	1							2	2			2	2	
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	1											1	1			1	1	
<i>Brucella species</i>									3	2	1		3	2	1		3	3	
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1											1	1			1	1	
<i>Escherichia coli</i>	1	1			3	2		1	2	2			6	5		1	6	6	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2			3	2		1					5	4		1	5	5	
<i>Citrobacter freundii</i>					2	2							2	2			2	2	
<i>Enterobacter cloacae</i>					1			1					1			1	1	1	
<i>Morganella morganii</i>									1		1		1		1		1	1	
<i>Proteus mirabilis</i>					2	2							2	2			2	2	
<i>Serratia marcescens</i>									1	1			1	1			1	1	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1			4	2	1	1	1	1			6	4	1	1	6	6	
<i>Acinetobacter baumannii</i>					2	1		1					2	1		1	2	2	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>					2	1	1						2	1	1		2	2	
Toplam	32	20	8	4	35	18	8	9	30	14	11	5	97	52	27	18	97	91	6
%		62.5	25	12.5		51.4	22.9	25.7		46.7	36.6	16.7		53.6	27.8	18.6		93.8	6.2

Bakteriyel isolatlar için elde edilen MALDI-TOF MS skor değerleri (A: ≥ 2.000 , B: 1.700-1.999 arası, C: <1.700)

Bu ön işlem ile 11 adet *Streptococcus* izolatının altısının (%54.5) doğru şekilde tanımlanması mümkün olmuştur. Diğer yandan, bu ön işlem

sonrası *Streptococcus pneumoniae* izolatlarında %75 (3/4) oranında tanımlama başarısı elde edilmiştir. Ön ekstraksiyon işlemi Enterobacterales takımı

Tablo 2. Bakteri morfolojilerine göre ön ekstraksiyon işleminin performansı

Gram özelliği	N	Tanımlanan izolat sayısı, n (%)		p
		Tür düzeyi	Cins düzeyi	
Gram pozitif	65	29 (44.6)	52 (80)	Tür düzeyi için 0.021 Cins düzeyi için 0.808
Gram negatif	32	23 (71.9)	27 (84.4)	
Toplam	97	52 (53.6)	79 (81.4)	

Tablo 3. Örnek türüne göre ön ekstraksiyon işleminin performansı

Örnek türü	N	Tanımlanan izolat sayısı, n (%)		p
		Tür düzeyi	Cins düzeyi	
BOS	32	20 (62.5)	28 (87.5)	Tür düzeyi için 0.435 Cins düzeyi için 0.362
Plevral sıvı	35	18 (51.4)	26 (74.3)	
Eklem sıvısı	30	14 (46.7)	25 (83.3)	
Toplam	97	52 (53.6)	79 (81.4)	

için %83.3 (15/18) ve nonfermentatif gram negatif bakteriler için ise %80 (8/10) tanımlama başarıları göstermiştir.

Bu çalışmada ön ekstraksiyon işlemleri sonrası gram pozitif ve gram negatif bakteriler için tür düzeyinde %44.6 ve %71.9; cins düzeyinde ise %80 ve %84.4 başarı elde edilmiştir (Tablo 2). Ön ekstraksiyon işlemi gram pozitif ve gram negatif bakteriler için cins düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.808$). Öte yandan bu ön işlem sonrası yapılan tanımlama çalışmalarında tür düzeyinde, özellikle gram negatif bakteriler için daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir ($p=0.021$) (Tablo 2).

Ön ekstraksiyon işlemi sonrası yapılan tanımlama çalışmalarında, her üç steril vücut sıvısı ekilen ve pozitif sinyal alınan kan kültürü şişeleri için tür ($p=0.435$) ve cins ($p=0.362$) düzeyinde tanımlama sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Tablo 3).

TARTIŞMA

Çalışmamızda ön ekstraksiyon işlemi için %10'luk Tween 80 solüsyonu kullanılmıştır. Literatürde bu kimyasalın farklı konsantrasyonlarda kullanıldığı çalışmalar yer almaktadır^(13,14). Süzük Yıldız ve ark.⁽¹³⁾

%10 Tween 80 kullanarak yaptıkları çalışmada tek bakteri üremesi olan kan kültürü şişelerinde %82.9 tanımlama başarıları bildirmiştir. Leli ve ark.⁽¹⁴⁾ ise ekstraksiyon için %0.1 Tween 80 konsantrasyonu kullandıkları çalışmada %91.7 başarı elde edildiğini bildirmiştir. Diğer yandan, pozitif kan kültürü şişelerine yönelik ekstraksiyon işlemleri için birçok farklı kimyasalın çeşitli konsantrasyonlarda kullanılabildiği bilinmektedir⁽¹²⁾. Faron ve ark.⁽¹²⁾ yaptığı derlemede ekstraksiyon işlemleri için %60-99 tanımlama başarıları rapor etmiştir.

Çalışmamızda kan dışı steril vücut sıvıları ekilen ve pozitif sinyal alınan kan kültürü şişeleri için ön ekstraksiyon işlemi sonrası tür düzeyinde %53.6 ve cins düzeyinde ise %81.4 başarı elde edilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarının pozitif kan kültürü şişeleri için Tween 80 veya diğer kimyasallar ile yapılan ekstraksiyon işlemleri sonrası elde edilen tanımlama sonuçları ile uyumlu olduğu düşünülmüştür⁽¹²⁻¹⁴⁾. Bununla birlikte, çalışmamızda farklı Tween 80 konsantrasyonlarının işlemin bakteri tanımlama başarıları üzerine etkisinin araştırılmamış olması sınırlayıcı bir durum olarak değerlendirilebilir.

Ekstraksiyon işlemleri sonrası MALDI-TOF MS ile doğrudan pozitif kan kültürü şişelerinden hızlı bakteri tanımlamayı amaçlayan çalışmalar, sepsis hızlı tanısı için umut verici olmuştur⁽¹⁶⁾. Otomatize

sistem kullanımının yaygınlaşması ile kan dışı steril vücut sıvısı örneklerinin kültür işlemleri için kan kültürü şişelerinden yararlanılabilmektedir. Bu durum, kan dışı steril vücut sıvısı ekilen ve pozitif sinyal alınan kan kültürü şişeleri için de benzer çalışmaların yapılmasını gündeme getirmiştir^(7,11,17). Ancak literatürde bu konuda yapılmış oldukça kısıtlı sayıda çalışma olduğu göze çarpmaktadır. Bizim çalışmamızın üç farklı steril vücut sıvısı örneği ile yapılmış olmasının önemli olduğunu ve literatüre katkı sunucu özellik gösterdiğini düşünmekteyiz.

Kuo ve ark.⁽¹¹⁾ tarafından yapılan bir çalışmada MALDI-TOF MS'nin periprostetik eklem enfeksiyonlarının hızlı tanısında kullanılabilirliği araştırılmıştır. Araştırmacılar kan kültürü şişelerine ekilen ve pozitif sinyal alınan 80 eklem sıvısı örneğini dahil ettikleri çalışmada ön ekstraksiyon işlemi sonrası gram pozitif bakteriler için %85.4 ve gram negatif bakteriler için ise %92.3 başarı elde edildiğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda eklem sıvısı kültürlerinde ön ekstraksiyon işlemi sonrası gram pozitif bakteriler için %77.3 (17/22) ve gram negatif bakteriler için ise %100 (8/8) tanımlama başarı elde edilmiştir.

Lallemend ve ark.⁽¹⁸⁾, kan kültürü şişelerine inoküle edilen 47 eklem sıvısı ve 66 ezilmiş kemik dokusu örneği ile yaptıkları çalışmada, bir ticari ekstraksiyon kitinin etkinliğini ve MALDI-TOF MS'nin performansını araştırmıştır. Araştırmacılar, bu çalışmada gram negatif basillerin tamamının tür düzeyinde doğru şekilde tanımlandığı; ancak *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinsi bakteriler için ekstraksiyon işleminin sınırlı başarı sağladığını bildirmiştir⁽¹⁸⁾.

Bizim çalışmamızda da ön ekstraksiyon işlemi sonrası tanımlama çalışmalarında *Streptococcus* cinsi bakteriler için sınırlı başarı (tür düzeyinde %27.3; cins düzeyinde %54.5) elde etmiştir. Diğer yandan, çalışmamızda altı *Enterococcus* izolatının beşi (%83.3) ön ekstraksiyon işlemi sonrası doğru şekilde tanımlanmıştır. Ayrıca, bu işlem sonrası önemli bir bakteriyel menenjit etkeni olan *Streptococcus pneumoniae* izolatlarında %75 (3/4) tanımlama başarı elde edilmiş olması bu tür çalışmalar için umut verici bir durum olmuştur.

Morgenthaler ve ark.⁽¹⁹⁾ pozitif kan kültürü şişeleri için bir ticari ekstraksiyon kitinin etkinliğinin incelendiği 21 farklı çalışmanın verilerini irdeledikleri çalışmalarında gram negatif bakterilerde (%89.6) gram pozitif bakterilere (%76.1) göre daha başarılı sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar hücre duvarındaki yapısal farklılıkların ekstraksiyon verimliliğini değiştirmesi ve bazı gram pozitif bakterilerin daha yavaş çoğalması sonucu ekstraksiyonla küçük pelet oluşması gibi nedenlerin bu duruma yol açabileceğini belirtmiştir⁽¹⁹⁾. Bizim çalışmamızda da ön ekstraksiyon işlemi sonrası gram pozitif bakteriler açısından daha sınırlı bir başarı elde edilmiştir. Bu durumun Morgenthaler ve ark.⁽¹⁹⁾'nın çalışmasında bildirilenlere benzer nedenlerden kaynaklanmış olabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda ön ekstraksiyon işlemi etkinliğinin üreme tespit edilen örnek tipi ile ilişkili olup olmadığı irdelenmiştir. Ön ekstraksiyon işlemi sonrası yapılan tanımlama çalışmalarında, her üç steril vücut sıvısı ekilen ve pozitif sinyal alınan kan kültürü şişeleri için tür ($p=0.435$) ve cins ($p=0.362$) düzeyinde tanımlama sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Tablo 3). Diğer yandan, steril vücut sıvılarının biyokimyasal içerikleri farklılıklar gösterebilmektedir. Çalışmamızda BOS, plevral sıvı ve eklem sıvısı örneklerinin biyokimyasal değişkenlerinin izolasyon oranı ve ön ekstraksiyon işlemi sonrası tanımlama başarıları üzerine etkisi detaylı olarak incelenmemiştir. Bu durum yaptığımız çalışmanın bir diğer sınırlılığıdır. Bu konuda yapılacak kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada BOS, plevral sıvı ve eklem sıvısı ekilen ve pozitif sinyal alınan kan kültürü şişelerine uygulanan %10 Tween 80 solüsyonu ile ön ekstraksiyon işlemi sonrası MALDI-TOF MS ile hızlı bakteri tanımlamasının mümkün olduğu gösterilmiştir. Bu yöntem gram negatif bakteriler için başarılı sonuçlar sağlarken; gram pozitif bakteriler için özellikle tür düzeyinde sınırlı aktivite göstermiştir. Farklı Tween 80 konsantrasyonlarını veya diğer kimyasalları kullanarak yeni yöntemler geliştirmek, Gram-pozitif bakteri tanımlama verimliliğini arttırmanın yararlı bir yolu olabilir. Farklı steril vücut sıvısı örnekleri ile yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma; Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (01.06.2021 tarih ve 2021-06/03 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Cumhuriyet University, Clinical Research Ethics Committee (06.01.2021; 2021-06/03).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

- Davis LE. Acute bacterial meningitis. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2018;24(5, Neuroinfectious Disease):1264-83. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000660>
- Elsissy JG, Liu JN, Wilton PJ, Nwachuku I, Gowd AK, Amin NH. Bacterial septic arthritis of the adult native knee joint: a review. *JBJS Rev*. 2020;8(1):e0059. <https://doi.org/10.2106/JBJS.RVW.19.00059>
- Addala DN, Bedawi EO, Rahman NM. Parapneumonic effusion and empyema. *Clin Chest Med*. 2021;42(4):637-47. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2021.08.001>
- Peri AM, Harris PNA, Paterson DL. Culture-independent detection systems for bloodstream infection. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(2):195-201. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.09.039>
- Gonzalez MD, Chao T, Pettengill MA. Modern blood culture: Management decisions and method options. *Clin Lab Med*. 2020;40(4):379-92. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2020.07.001>
- Tsuchida S, Umemura H, Nakayama T. Current status of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology. *Molecules*. 2020;25(20):4775. <https://doi.org/10.3390/molecules25204775>
- Tian Y, Zheng B, Wang B, Lin Y, Li M. Rapid identification and multiple susceptibility testing of pathogens from positive-culture sterile body fluids by a combined MALDI-TOF Mass Spectrometry and Vitek susceptibility system. *Front Microbiol*. 2016;7:523. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00523>
- Zengin Canalp H, Bayraktar B. Direct rapid identification from positive blood cultures by MALDI-TOF MS: specific focus on turnaround times. *Microbiol Spectr*. 2021;9(3):e0110321. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01103-21>
- Fang C, Zhou Z, Li J, Chen X, Zhou M. Rapid identification of microorganisms from positive blood cultures in pediatric patients by MALDI-TOF MS: Sepsityper kit versus short-term subculture. *J Microbiol Methods*. 2020;172:105894. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105894>
- Lin JF, Ge MC, Liu TP, Chang SC, Lu JJ. A simple method for rapid microbial identification from positive monomicrobial blood culture bottles through matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018;51(5):659-65. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2017.03.005>
- Kuo FC, Chien CC, Lee MS, Wang JW, Lin PC, Lee CH. Rapid diagnosis of periprosthetic joint infection from synovial fluid in blood culture bottles by direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One*. 2020;15(9):e0239290. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239290>
- Faron ML, Buchan BW, Ledebor NA. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for use with positive blood cultures: Methodology, performance, and optimization. *J Clin Microbiol*. 2017;55(12):3328-38. <https://doi.org/10.1128/JCM.00868-17>
- Süzük Yıldız S, Evren E, Hekimoğlu CH, et al. "In-House" Tween® 80 yöntemi ile pozitif kan kültürlerinden mikroorganizmaların MALDI-TOF MS yöntemi ile doğrudan tanımlanması: Deneyisel ve klinik çalışma. *Mikrobiyol Bul*. 2020;54(4):523-34. <https://doi.org/10.5578/mb.69849>
- Leli C, Cenci E, Cardaccia A, et al. Rapid identification of bacterial and fungal pathogens from positive blood cultures by MALDI-TOF MS. *Int J Med Microbiol*. 2013;303(4):205-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.03.002>
- Bishop B, Geffen Y, Plaut A, et al. The use of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid bacterial identification in patients with smear-positive bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(2):171-4. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.05.014>
- Luethy PM, Johnson JK. The use of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for the identification of pathogens causing sepsis. *J Appl Lab Med*. 2019;3(4):675-85. <https://doi.org/10.1373/jalm.2018.027318>

17. Tadros M, Petrich A. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry and Sepsityper Kit™ for the direct identification of organisms from sterile body fluids in a Canadian pediatric hospital. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2013;24(4):191-4.
<https://doi.org/10.1155/2013/701093>
18. Lallemand E, Arvieux C, Coiffier G, et al. Use of MALDI-TOF mass spectrometry after liquid enrichment (BD Bactec™) for rapid diagnosis of bone and joint infections. *Res Microbiol.* 2017;168(2):122-9.
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.09.005>
19. Morgenthaler NG, Kostrzewa M. Rapid identification of pathogens in positive blood culture of patients with sepsis: Review and meta-analysis of the performance of the sepsityper kit. *Int J Microbiol* 2015;2015:827416.
<https://doi.org/10.1155/2015/827416>

Nozokomial *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Virülans Genlerinin Araştırılması

Investigation of Virulence Genes of Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Isolates

Yasemin Zer[✉], Mahsun Akboru[✉], Mustafa Sağlam[✉], Ayşe Büyüktaş Manay[✉]

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

Atıf/Cite as: Zer Y, Akboru M, Sağlam M, Büyüktaş Manay A. Nozokomial *Acinetobacter baumannii* izolatlarının virülans genlerinin araştırılması. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):32-39.

Öz

Amaç: *Acinetobacter baumannii* cansız ortamlarda dahi aylarca canlı kalabilen önemli bir nozokomial patojendir. Son yıllarda *A. baumannii*'nin sahip olduğu birçok virülans faktörü tanımlanmıştır. Bu çalışma *A. baumannii*'nin çeşitli virülans faktörlerinin araştırılması ve bunların neden olduğu enfeksiyonlardaki klinik öneminin irdelenmesi amacı ile yapılmıştır.

Yöntem: Çalışma çeşitli klinik örneklerden izole edilerek bakteriyoloji arşivinde bulunmakta olan *A. baumannii* izolatları ile yapılmıştır. Bakterilerin EUCAST standartlarına uygun olarak disk-diffüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testleri çalışılmıştır. Daha sonra bu izolatların *cvaC*, *iutA*, *csg*, *cnf1* genleri gerçek zamanlı PCR yöntemi ile çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya 121 izolat dahil edilmiştir. İzolatlar en fazla endo-trakeal aspirat (54 örnek, %44.6) ve yara sürüntüsünden (42 örnek, %34.7) izole edildi. İzolatlara en etkin antibiyotik kolistin olarak bulunmuş olup dört izolatta (%3.3) kolistin direnci saptanmıştır. İzolatların tümünde en az bir virülans geni saptanırken, bir izolatta tüm virülans genleri saptanmıştır. En fazla 110 izolatta (%90.9) *iutA* geni, en az da dört izolatta (%3.3) *cnf1* geni saptanmıştır. *csgA* ve *cvaC* genleri de sırasıyla 15 izolat (%12.4) ve 81 izolat (%66.9) da tespit edilmiştir.

Sonuç: Siderofor ve bakteriosin genleri izolatların çoğunda izole edilmiş olmasına rağmen, kolonizasyondan ve direk hücrel sitotoksiteden sorumlu genlerin henüz daha az yaygın olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *A. baumannii*, virülans genleri, PCR

ABSTRACT

Objective: *Acinetobacter baumannii* is an important nosocomial pathogen that can survive for months even in inanimate environments. In recent years, many virulence factors of *A. baumannii* have been described. This study was conducted to investigate various virulence factors of *A. baumannii* and to examine their clinical importance.

Methods: The study was carried out with *A. baumannii* isolates of various clinical samples and the ones in the bacteriology archive. Antibiotic susceptibility tests of bacteria were done by disk-diffusion method in accordance with EUCAST standards. Then, *cvaC*, *iutA*, *csgA*, *cnf1* genes of these isolates were assessed with real time PCR.

Results: A total of 121 isolates were included in the study. Isolates were mostly obtained from endotracheal aspirates (n=54, 44.6%) and wound swabs (n=42, 34.7%). The most effective antibiotic was found to be colistin while colistin resistance was found in four isolates (3.3%). At least one virulence gene was detected in all isolates, while all virulence genes were detected together in one isolate. The *iutA* gene was found in at most 110 isolates (90.9%) and the *cnf1* gene was found in at least four isolates (3.3%). The *csgA* and *cvaC* genes were also detected in 15 isolates (12.4%) and 81 (66.9%) isolates, respectively.

Conclusion: Although siderophore and bacteriocin genes were isolated in most of the isolates, genes responsible for colonization and direct cellular cytotoxicity were found to be less common.

Keywords: *A. baumannii*, virulence genes, PCR

Alındığı tarih / Received:

07.07.2023 / 07.July.2023

Kabul tarihi / Accepted:

22.11.2023 / 22.November.2023

Yayın tarihi / Publication date:

25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

Y. Zer 0000-0002-9078-9900

M. Akboru 0000-0001-5875-3142

M. Sağlam 0000-0002-0479-3250

A. Büyüktaş Many 0000-0001-5790-3006

✉ yaseminzer@hotmail.com

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii en sık izole edilen *Acinetobacter* türüdür ve hastane enfeksiyonlarının en önemli etkenlerindendir⁽¹⁾. Toplum kökenli enfeksiyonlara da neden olmaktadır. *Acinetobacter* cinsi bakterilerin klinik önemleri son 30 yıl içinde belirgin olarak artmıştır. Bütün dünyada izolasyon sıklığında giderek artmakta olan nozokomiyal enfeksiyon etkeni *A. baumannii*'nin tedavi ve kontrolünde ciddi zorluklar yaşanmaktadır. Bu artışta bakterilerinin çevre şartlarına uyumu ile antibiyotiklere geliştirdikleri direnç rol oynamaktadır. *A. baumannii*'nin birincil antimikrobiyal tedavilere karşı gelişen direnci, yüksek bir patojenite ve antimikrobiyal direnç kombinasyonu yaratmış olup, ESKAPE patojeni olarak sınıflandırılmıştır (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri)⁽²⁾. Karbapenem dirençli *A. baumannii* 2018 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün acilen yeni terapötiklerin gerekli olduğu bir numaralı kritik öncelikli patojen olarak kabul edilmiştir⁽³⁾. Aslında bakteri çok sayıda virölans faktörüne sahip olmamakla birlikte, sahip olduğu özellikleri büyük bir verimlilikle kendi yararına kullanabilmektedir⁽²⁾.

Özellikle yoğun bakım ünitesindeki hastalarda komorbid faktörlere de bağlı olmakla beraber *A. baumannii* enfeksiyonlarına bağlı mortalite oranı %23-68'dir^(4,5). Toplumdan edinilmiş *A. baumannii* enfeksiyonları için ölüm oranları %64 kadar yüksek bildirilmiştir; bununla birlikte, toplum ve hastane enfeksiyonları arasındaki hastalık sunumundaki farklılıktan konakçının mı yoksa bakteriyel faktörlerin mi sorumlu olduğu halen araştırma konularının başında gelmektedir⁽⁶⁾.

Acinetobacter baumannii'nin en önemli virölans mekanizması, özellikle hastane ortamlarında cansız yüzeylerde biyofilm oluşturarak, aylarca canlılığını sürdürebilmesidir. Bunun yanı sıra özellikle son yıllarda patojenitesiden sorumlu ve genellikle kazanılmış çeşitli genler tanımlanmıştır. *A. baumannii* suşlarının önemli virölans genlerinden bazıları; bir bakteriyosin olan kolisin V üretimi (*cvaC*), bakterinin

non-fibrial adezyonundan sorumlu sirküler lifler (*csg*), demir sağlamadan sorumlu siderofor proteinleri olan aerobaktin (*iutA*) ve doğrudan insan hücrelerine sitotoksik etki gösteren bir ekzotoksin olan sitotoksik nekrotizan faktör (*cnf*)'dir^(7,8). Fofolipaz C (PLC'ler) ve D fosfolipidleri hidrolize eden ve dolayısıyla konakçılarda enfeksiyonun yayılmasını kolaylaştıran *A. baumannii*'deki önemli virölans faktörlerindendir. Ayrıca elastaz da elastinin bozulmasına ve konakçı dokuların veya savunma mekanizmalarının tahrip olmasına neden olan bir başka önemli virölans faktörüdür^(9,10).

Acinetobacter baumannii'nin klinik izolatlarında virölans genlerinin saptanması, bu bakterinin neden olduğu hastalıkların yayılmasını kontrol etmede yardımcı olabilecek epidemiyolojik sonuçlar sağlayabilir. Bu çalışma *A. baumannii*'nin önemli virölans faktörlerinden olan; *cnf1*, *csgA*, *cvaC*, *iutA* genlerinin hastanemizde yatmakta olan hastalardan izole edilen izolatlarda bulunma sıklığının saptanması ve klinik anlamda neden olduğu enfeksiyonlarla ilişkisinin araştırılması amacı ile yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.02.2022 tarih ve 2022-59 sayı) onaylanmıştır. Çalışma Helsinki Deklarasyonu'ndaki yönergelerle göre yapılmıştır.

Ağustos-Aralık 2022 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında, çeşitli klinik örneklerden izole edilerek bakteriyoloji arşivinde bulunmakta olan *A. baumannii* izolatları dahil edilmiştir.

Örneklerin toplanması: Çalışma hastanede yatan hastaların laboratuvarımıza gönderilen rutin kültürlerinden izole edilerek -20°C'de stoklanmış olan *A. baumannii* izolatları ile yapılmıştır. İzole edilen bakteriler, bakteri saklama boncukları (Microbank, Kanada) kullanılarak -20°C'de depolanmıştır. Çalışmada %5'lik bir prevelansın %5 kesinlik ve %95 güven aralığında tahmin edilebilmesi için çalışmaya dahil edilmesi gereken minimum bakteri sayısı 73

olarak tahmin edilmiştir. Çalışmaya 121 izolat dahil edilmiştir.

Bakterilerin tanımlanması: Çalışma kriterlerine uygun stok bakterilerin %5 koyun kanlı agar (BD, ABD) ve eosin metilen blue agara (EMB) (BD, ABD) pasajları yapılarak, 24 saat inkübasyon sonrası üreyen koloniler değerlendirilmiştir. Bakterilerin tanımlanması konvansiyel yöntemler (koloni morfolojisi, gram boyama) ve Phoenix (BD, ABD) tam otomatize bakteri tanımlama sistemi kullanılarak yapılmıştır.

Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması: Antibiyotik duyarlılıkları testleri disk difüzyon ve kolistin için sıvı disk elüsyon yöntemi kullanılarak EUCAST standartlarına uygun olarak çalışılmıştır⁽¹¹⁾.

Disk difüzyon yöntemi: Disk difüzyon yöntemi ile (Bioanalyse, Türkiye) EUCAST önerisine göre sınır değeri olan antibiyotikler (karbapenemler (meropenem (10 µg), imipenem (10 µg)), siprofloksasin (5 µg), levofloksasin (5 µg), amikasin (30 µg), gentamisin (10 µg), tobramisin (10 µg) ve trimetoprim-sülfametaksazol (1.25-23.75 µg)) test edilmiştir. Kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatları kullanılmıştır.

Kolistin Sıvı Disk Elüsyon (SDE) yöntemi: Katyon eklenmiş Mueller Hinton sıvı besiyeri (BD, USA) içeren dört adet tüpe sırası ile bir, iki ve dört adet kolistin diski (10 µg) eklenerek, birinci tüpte 1 µg/mL, ikinci tüpte 2 µg/mL ve üçüncü tüpte 4 µg/mL antibiyotik konsantrasyonu test edildi. Dördüncü tüp, antibiyotik diski içermeyen bakteri süspansiyonu olarak kontrol olarak kullanıldı⁽¹²⁾. EUCAST standartlarına göre kolistin minimal inhibitör konsantrasyon değeri *Acinetobacter* spp. için ≥ 2 µg/mL dirençli olarak kabul edildi⁽¹¹⁾.

Polimeraz Zincir reaksiyonu ile virülans genlerinin saptanması: Örnekler, QIASymphony SP/AS (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazında DSP Virüs/Pathogen Midi (Qiagen, Hilden, Almanya) kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer dizileri⁽¹³⁾

Gen hedefi	Primer dizisi (3'-5')
<i>cnf1</i>	F: AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG R: CATTGAGAGTCCTGCCCTCATTATT
<i>csgA</i>	F: ACTCTGACTTGACTATTACC R: A AGATGCAGTCTGGTCAAC
<i>cvaC</i>	F: CACACACAAACGGGAGCTGTT R: CTTCCCGCAGCATAGTTCCAT
<i>iutA</i>	F: GGCTGGACATCATGGGAAGTGG R: CGTCGGGAACGGGTAGAATCG

Tablo 2. Araştırmada kullanılan PCR aşamaları

	Zaman	Sıcaklık
	10 dakika	95°C
40 Döngü	15 saniye	95°C
	60 saniye	58°C

DNA izolasyonu tamamlanan örnekleri amplifikasyonu için Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) Real Time PCR cihazı kullanıldı. Amplifikasyon *kolisin V (cva C)*, *csgA erobactin (csgA)*, *feri caerobactin (iutA)*, *sitotoksik nekrozitan F (cnf)* gen bölgeleri için, literatürden belirlenen primerler (Macrogen, Kore) dizayn ettirildi ve RT2 SYBR (R) Green qPCR Mastermiks (Qiagen, ABD) Kiti ile kullanılarak yapıldı (Tablo 1)⁽¹³⁾.

Real Time PCR cihazında her izolat için dört farklı PCR tüpü kullanıldı ve 40 PCR döngüsü yapıldı (Tablo 2).

İstatistiksel yöntemler: Verilerin analizinde SPSS 21.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama, standart sapma ($\pm$) ve yüzdelik değerler verildi. İki parametrelili değişkenlere ilişkin karşılaştırmalarda bağımsız örneklem t testi, kategorik değişkenlere yönelik karşılaştırmalarda ki-kare analizi kullanılmıştır. Sonuçlar %95 ($p < 0.05$) anlamlılık düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Örneklem grubunun demografik özellikleri: Çalışmamıza 121 *A. baumannii* izolatı dahil edilmiştir. İzolatların hastane enfeksiyonu etkeni olup-

olmadıklarına dair bir irdelenme yapılmamış, tamamı yatan hastalardan izole edilen örneklerden alınmış, aynı hastaya ait, aynı örnek grubundan sadece ilk izolat çalışmaya alınmıştır.

İzolatların 65'i kadın (%53.7), 56'sı erkek (%46.3) hasta örneklerinden izole edilmiştir. Hastalar 1-92 yaş arasında (ortalama 58.47 ± 22.07) olarak bulunmuştur. Kadın hastaların yaş ortalaması 61.89 (± 21.13) ve erkek hastaların yaş ortalaması 54.51 (± 22.66) olarak tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen bakterilerin izole edildiği hastaların cinsiyet ve yaş dağılımı açısından istatistiksel fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

İzolatların klinik örneklerle göre dağılımı: Çalışmada yer alan örneklerin 54'ü (%44.6) endo trakeal aspirasyon örneğinden ve 65'i (%53.7) yoğun bakım ünitelerinden izole edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 4. Antibiyotik direnç oranları

Antibiyogram adı (disk; µg)	Duyarlı izolat n (%)
Amikasin (30)	22 (18.2)
Gentamisin (10)	9 (7.4)
İmipenem (10)	3 (2.5)
Kolistin (SDE)	117 (96.7)
Levofloksasin (5)	1 (0.8)
Meropenem (10)	3 (2.5)
Siprofloksasin (5)	1 (0.8)
Tobramisin (10)	26 (21.5)
Trimetoprim/Sülfometoksazol (1.25/23.75)	19 (15.7)

SDE: Sıvı disk elüsyon

Bakterilerin antibiyotik duyarlılık sonuçları: İzolatların antibiyotik duyarlılık testi sonucunda en etkin antibiyotik kolistin olarak bulunmuş olup, dört izolatta (%3.3) direnç saptanmıştır (Tablo 4).

Tablo 3. İzolatların izole edildikleri servis örneklere göre dağılımı

Klinik Sayı (%)	Örnek türü Sayı (%)								Toplam
	ETA ¹	Yara sürüntüsü	Kan	Balgam	İdrar	BOS ²	BAL ³	Plevra sıvısı	
Palyatif Bakım	1 (0.8)	36 (29.8)	2 (1.7)	1 (0.8)					40 (33.1)
Dahiliye YBÜ ⁴	15 (12.4)		2 (1.7)	2 (1.7)	1 (0.8)				20 (16.5)
Anestezi-reanimasyon YBÜ	18 (14.9)		1 (0.8)				1 (0.8)		20 (16.5)
Nöroloji YBÜ	8 (6.6)		3 (2.5)			1 (0.8)			12 (9.9)
Beyin cerrahi YBÜ	6 (5)				1 (0.8)				7 (5.8)
Pediyatri YBÜ	6 (5)								6 (5)
Enfeksiyon		3 (2.5)		3 (2.5)					6 (5)
Göğüs Cerrahisi							1 (0.8)	1 (0.8)	2 (1.7)
Ortopedi ve travmatoloji		3 (3.3)							3 (3.3)
Göğüs Hastalıkları				2 (1.7)					2 (1.7)
Onkoloji-hematoloji			3 (3.3)						3 (3.3)
Toplam	54 (44.6)	42 (34.7)	11 (9.1)	8 (6.6)	2 (1.7)	1 (0.8)	2 (1.7)	1 (0.8)	121

¹ETA: Endotrakeaspi, ²BOS: Beyin omurilik sıvısı, ³BAL: Bronko-alveolar lavaj, ⁴YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

Tablo 5. Virülans genlerinin örnek gruplara göre dağılımı

Örnek türü (İzolat sayısı)	Gen n (%)			
	<i>cnf1</i>	<i>csgA</i>	<i>cvaC</i>	<i>iutA</i>
ETA (54)	2 (50.0)	7 (13.0)	41 (75.9)	47 (87)
Yara sürüntüsü (42)	-	4 (9.5)	24 (57.1)	41 (97.6)
Kan kültürü (11)	-	2 (18.2)	7 (69.6)	11 (100.0)
Balgam (8)	2 (50.0)	1 (12.5)	5 (62.5)	6 (75.0)
İdrar (2)	-	-	1 (50)	1 (50.0)
BOS (1)	-	1 (100.0)	-	1 (100.0)
BAL (2)	-	-	2 (100.0)	2 (100.0)
Plevra sıvısı (1)	-	-	1 (100.0)	1 (100.0)
Toplam	4	15	81	110

Tablo 6. Sitoksik ekzotoksin (*cnf1* geni) saptanan hastaların özellikleri

Hasta No	Hasta özelliği	Örnek türü	Antibiogram sonuçları	Klinik
1	81, K ¹ , SVO ²	ETA	Kolistin S ³ , Diğer antibiyotikler R ⁴	Eksitus
2	60, E ⁵ , Ca-met ⁶	ETA	Kolistin S, Diğer antibiyotikler R	Eksitus
3	68, E, KOAH ⁷	Balgam	Kolistin S, Diğer antibiyotikler R	
4	64, E, KOAH	Balgam	Kolistin S, Diğer antibiyotikler R	

¹K: Kadın, ²SVO: Serebrovasküler olay, ³S: Duyarlı, ⁴R: Dirençli, ⁵E: Erkek, ⁶Ca-met: Kanser metastazı, ⁷KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı

PCR Sonuçları: İzolatların tümünde en az bir virülans geni saptanırken, bir izolatta tüm virülans genleri saptanmıştır. En fazla *iutA* geni saptanmıştır (Tablo 4).

Virülans genlerinin örnek gruplarına göre dağılımında *cnf1* geni saptanan dört izolatlardan ikisi balgam örneklerinde olduğu bulunmuştur (Tablo 5).

Siderofor proteinleri ile ilgili genlerin çoğu *A. baumannii* izolatlarında yaygın olarak bulunduğu (izolatların %90.9), bununla birlikte hücrel sitotoksiteden sorumlu olan ekzotoksinin sadece dört (%3.3) izolatta bulunduğu saptanmıştır (Tablo 6).

TARTIŞMA

Son yıllarda, *A. baumannii*'nin hastanede yatan hastalarda yayılan nozokomiyal bir patojen olduğu defalarca rapor edilmiştir. *A. baumannii*'nin çevrede uzun süre hayatta kalabilmesi ve çoklu ilaç direnci

kazanabilmesi ciddi anlamda endişe vericidir⁽¹⁾. Duyarlı *A. baumannii* izolatlarının tedavisinde karbapenemler (imipenem, meropenem ve doripenem) ilk tedavi seçeneğidir⁽²⁾. Bununla birlikte, karbapenemlere karşı direnç dünya çapında önemli ölçüde artmaktadır ve dirençte çeşitli mekanizmalar yer almaktadır. Karbapenemaz üretimi, özellikle β-Laktamazlar sınıf D ve sınıf B (Metallo-β-Laktamazlar), direncin ana mekanizmasıdır. *NDM-1*'in ortaya çıkışı, *A. baumannii*'de metallo-β-laktamazlara ait önemli bir direnç mekanizmasıdır. Plazmit kaynaklı bu beta-laktamaz özellikle kolay yayılması açısından endişe vericidir. β-Laktam antibiyotik direncinde yer alan diğer mekanizmalar arasında porin geçirgenliğinin azalması, penisilin bağlayıcı proteinlerin modifikasyonu ve akış pompalarının artan ekspresyonu yer alır⁽¹⁴⁾. *A. baumannii*'de diğer antimikrobiyal maddelere karşı direnç de yüksektir. DNA giraz ve DNA topoizomaz IV'ün mutasyonları, florokinolonların enzim-DNA kompleksine olan afinitesini azaltarak florokinolonlara dirençle sonuçlanır. Ek olarak, akış pompalarının artan

ekspresyonu ve plazmitle kodlanmış kinolon direnci belirleyicileri, florokinolon direncinde yer alır. Adeniltransferazlar, asetiltransferazlar ve fosfotransferazlar gibi enzimler aminoglikozit direncine yol açar. Ayrıca geçirgenlik kaybı, effluks pompalarının aktivitesinde artış ve ribozom modifikasyonu aminoglikozitlere karşı diğer direnç mekanizmalarıdır^(14,15). Yaygın ve çoklu antibiyotik direncindeki önemli artış nedeniyle *A. baumannii* enfeksiyonlarında kolistin bazlı tedavi rejimlerinin kullanılması önerilir⁽¹⁴⁾. Kombinasyon tedavisinin, çeşitli direnç belirleyicilerini hedeflemesi nedeniyle monoterapiden daha olumlu bir sonuca sahip olduğu unutulmamalıdır. Başarılı tedavi için kolistinle birlikte sulbaktam ve tigesiklin ile tedavi önerilmiştir⁽¹⁵⁾. Kolistin direncinin iki ana mekanizması, *pmrCAB* operonundaki değişiklikler ve lipit A biyosentezindeki mutasyonlardır; bu mekanizmaların her ikisi de lipit A'yı etkileyerek kolistine karşı dirence neden olur^(14,15). Bu çalışmada izolatların karbapenem, aminoglikozid ve kinolon grubu antibiyotiklere %78.5-99.2 oranında dirençli olduğu saptanmış, kolistine dört izolatta direnç bulunmuştur. Saptanmış olan yüksek direnç oranları etkenin tedavisindeki zorluğu yansıtmakta olup, aslında enfeksiyona yol açmaması açısından alınması gereken koruyucu önlemlerin daha önemli olduğunu göstermektedir.

Acinetobacter baumannii'nin klinik önemi, direnç genlerinin geniş genetik yayılımına ve hastanelerde, özellikle YBÜ'de bakteriyel kalıcılığa bağlıdır^(16,17). Ayrıca sahip olduğu çeşitli virölans genleri hastalık patogenezinde önemlidir⁽¹⁸⁾.

Acinetobacter baumannii'de *cvaC* geni bir bakteriyosin olarak görev almaktadır. Bu çalışmada izolatların %66.9'unda bu gen saptanmıştır. Abdullah ve ark.⁽¹⁹⁾ bu oranı %40 olarak bildirmiştir.

Biyofilm, *A. baumannii*'nin önemli bir virölans faktörüdür. *csaA* geni bakterinin non-fibrial adezyonundan sorumlu, dış membranda yer alan sirküler lifler olarak ifade edilen yapıların sentezinden sorumludur. Adezyon hem cansız (biyofilm oluşumu), hem de canlı ortama tutunması (kolonizasyon) ve kalıcılığında ilk aşama olarak kabul edilir⁽¹⁶⁾. Bu çalışmada 15 izolatta (%12.4) *csaA* geni saptanmıştır.

Momtaaz ve ark.⁽¹³⁾ laboratuarda çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* izolatlarında %12.39, Mohajeri ve ark.⁽²⁰⁾ klinik örneklerden izole edilen karbapenemaz üreten *A. baumannii* izolatlarında %54 olarak *csaA* geni saptadıklarını bildirmişlerdir. Oranlar arasındaki farkların farklı örnek gruplarının çalışılmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Acinetobacter baumannii'deki demir alma sistemi, düşük moleküler demire özgü şelatörlerin (sideroforlar) üretimine dayanır. *A. baumannii* suşları tarafından üretilen en iyi bilinen siderofor, acinetobactin'dir. Aerobactin, *A. baumannii*'de, siderofor-ferrik kompleks reseptörünü harekete geçiren bir dış zar proteindir^(21,22). Bu çalışmada 110 izolatta (%90.9) *iutA* geni saptanmıştır. Çeşitli çalışmalarda bu oran %19-23.8 olarak bildirilmiştir^(2,23,24). Bu çalışmada oranın çok yüksek olması tüm izolatların hastanede yatan hastalardan seçilmiş olması veya muhtemel benzer klonal dağılıma sahip olmasına bağlı olabilir. Aerobactinin özellikle antibiyotik direnci ile ilgili olabileceği bildirilmektedir⁽²⁵⁾. Saptanmış olduğumuz izolatlarda yaygın ilaç direncinin varlığının da bununla ilişkili olabilmesi mümkündür. Demir iyonu bakterinin antibiyotikleri etkisizleştiren litik enzimleri açısından ko-faktör olabileceğinden bu hipotezin daha detaylı irdelenmesinin faydalı olacağını, yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulmasında hedef alan oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

Sitotoksik nekrozitan faktör *cnf2*, *cnf3*, *cdt1*, *cdt2*, *cdt3* ve *cdt4* olarak gruplandırılan bir gen kümesinde bulunmaktadır. Bu gen kümesinin konak hücre fonksiyonlarında değişikliklere, epitel hücrelerinde hasara ve enflamatuar yanıtı uyarmak gibi doku patolojilerine yol açabilecek güçlü virölans faktörlerine neden olduğunu öne süren sınırlı sayıda klinik-epidemiolojik çalışma vardır^(2,26). Bu çalışmada sadece *cnf1* taranmış ve izolatların %3.3'ünde saptanmıştır. Literatürde %0-50 oranında genin varlığını bildiren veriler bulunmaktadır⁽²⁶⁻²⁸⁾. Sitotoksik nekrozitan gen saptanmış olduğumuz dört hastanın (Tablo 6) ikisinde mortalite olması, diğer iki hastada da KOAH varlığı, etkende bu gen varlığında oluşan enfeksiyonların seyrinde daha yıkıcı sonuçlara yol açabileceğini ve hastalık seyrinde önemli bir

virülans faktörü olabileceği düşünülmüş olup, daha geniş vaka serileri ile irdelenmelidir.

Çalışmada izolatların klonal analizinin yapılmaması ve *cnf* geninde tek alel taranması (*cnf1*) bu çalışmanın kısıtlılığıdır. Tedavi açısından en çok sorun yaşanan patojenlerden olan *A. baumannii* izolatlarına karşı özellikle esansiyel virülans genlerinin saptanması, yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulması açısından önemlidir. Bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede yeni geliştirilen antibiyotiklere bakterilerin kısa sürede direnç geliştirmesi, farklı stratejilerin uygulanmasını gerektirmektedir. Virülans genleri olarak ifade edilen nükleotid dizilerinin protein ürünlerinin oluşturulması ve bu yapılara karşı farmakolojik preparatların geliştirilmesi bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ilerde kullanılabilecek farklı yaklaşımlardan biri olabilir. Söz gelimi *A. baumannii* izolatlarında hücresel adezyondan sorumlu genin ürünü olan protein sentetik olarak sentezlenebilir ve bu proteine karşı geliştirilen moleküller ile etkenin hücresel adezyonu engellenebilir. Şimdilik uzak bir hedef gibi görünse de ilerde bu tür çalışmaların yaygınlaşacağını düşünmekteyiz.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma; Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.02.2022 tarih ve 2022-59 sayılı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Gaziantep University, Clinical Research Ethics Committee (02.07.2022; 2022-59).

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

Funding: Gaziantep University Scientific Research Coordination Office.

KAYNAKLAR

1. Harding CM, Hennon SW, Feldman, MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. Nat Rev Microbiol. 2017;16(2):91-102. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
2. Roca I, Espinal P, Vila-Farrés X, Vila J. The *Acinetobacter baumannii* oxymoron: Commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace. Front Microbiol. 2012;3:148. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00148>
3. Shlaes DM, Bradford PA. Antibiotics-From There to Where?: How the antibiotic miracle is threatened by resistance and a broken market and what we can do about it. Pathog Immun. 2018;3(1):19-43. <https://doi.org/10.20411/pai.v3il.231>
4. Morris FC, Dexter C, Kostoulas X, Uddin MI, Peleg AY. The mechanisms of disease caused by *Acinetobacter baumannii*. Front Microbiol. 2019;10:1601. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01601>
5. Dexter C, Murray GL, Paulsen IT, Peleg AY. Community acquired *Acinetobacter baumannii*: clinical characteristics, epidemiology and pathogenesis. Expert Rev Anti Infect Ther. 2015;13(5):567-73. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1025055>
6. Falagas ME, Karveli EA, Kelesidis I, Kelesidis T. Community acquired *Acinetobacter* infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2007;26(12):857-68. <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0365-6>
7. Eraç B, Yılmaz FF, Hoşgör Limoncu M, Öztürk İ, Aydemir Ş. Çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında virülans faktörlerinin araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2014;48(1):70-81. <https://doi.org/10.5578/mb.6981>
8. Eijkelkamp BA, Stroehrer UH, Hassan KA, Paulsen IT, Brown MH. Comparative analysis of surface-exposed virulence factors of *Acinetobacter baumannii*. BMC Genomics. 2014;15(1):1020. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1020>
9. Antunes LC, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. Pathog Dis. 2014;71(3):292-301. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12125>
10. Kareem SM, Al-Kadmy IMS, Al-Kaabi MH, Aziz SN, Ahmad M. *Acinetobacter baumannii* virulence is enhanced by the combined presence of virulence factors genes phospholipase C (*plcN*) and elastase (*lasB*). Microbial Pathog. 2017;110:568-72. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.001>

11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint interpretation of MICs and zone diameter. EUCAST. Version 4.0; 2016.10.
12. Simner PJ, Bergman Y, Trejo M, et al. Two-site evaluation of the colistin broth disk elution test to determine colistin in vitro activity against Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol.* 2019;30;57(2):e01163-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.01163-18>
13. Momtaz H, Seifati SM, Tavakol M. Determining the prevalence and detection of the most prevalent virulence genes in *Acinetobacter baumannii* isolated from hospital infections. *Int J Med Lab.* 2015;2(2):87-97.
14. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms pathogens. 2021;10(3):37. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>
15. Dehbanipour R, Ghalavand Z. *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, virulence factors, novel therapeutic options and mechanisms of resistance to antimicrobial agents with emphasis on tigecycline. *J Clin Pharm Ther.* 2022;47(11):1875-84. <https://doi.org/10.1111/jcpt.13787>
16. Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, Benade S. The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview. *Microbes Environ.* 2011;26(2):101-12. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me10179>
17. Asif M, Alvi IA, Rehman SU. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist.* 2018;11:1249-60. <https://doi.org/10.2147/IDR.S166750>
18. McConnell MJ, Actis L, Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Lett.* 2013;37(2):130-55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00344.x>
19. Abdullah RM, Ahmed RZT. Sequencing analysis of *cvaC* gene in *Acinetobacter baumannii* that isolates from different infections. *J Appl Sci Nanotech.* 2021;1(4):24-31. <https://doi.org/10.53293/jasn.2021.3782.1042>
20. Mohajeri P, Rezaei Z, Sharbati S, et al. Frequency of adhesive virulence factors in carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples in West of Iran. *Asian J Bio Sci.* 2014;7(4):158-64. <https://doi.org/10.3923/ajbs.2014158164>
21. Sefid F, Rasooli I, Jahangiri A. In silico determination and validation of baumannii acinetobactin utilization a structure and ligand binding site. *Biomed Res Int.* 2013;2013:172784. <https://doi.org/10.1155/2013/172784>
22. Luo TL, Rickard AH, Srinivasan U, Kaye KS, Foxman B. Association of *blaOXA-23* and *bap* with the persistence of *Acinetobacter baumannii* within a major healthcare system. *Front Microbiol.* 2015;6:182. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00182>
23. Ahmad NH, Mohammad GA. Detection of some virulence genes and variation of *Acinetobacter baumannii*. *Middle East J Sci.* 2021;7(1):64-79. <https://doi.org/10.51477/mejs.899167>
24. Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(2):233-8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp428>
25. Liu C, Chang Y, Xu Y, et al. Distribution of virulence-associated genes and antimicrobial susceptibility in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *Oncotarget.* 2018;9(31):21663-73. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24651>
26. Al-Falahat SY, Al-Draghi WA. Molecular identification of *rbIB*, *cnf1* and *csuE* genes *Acinetobacter baumannii* isolated from burn, wound infection and environmental samples. *HIV Nursing.* 2023;23(1):22-7. <https://doi.org/10.31838/hiv23.01.5>
27. Darvishi M. Virulence factors profile and antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from various infections recovered from immunosuppressive patients. *Biomed Pharm J.* 2016;9(3):1057-62. <https://doi.org/10.13005/bpj/1048>
28. Daryanavard R, Safaei HR. Virulence genes and antimicrobial resistance properties of *Acinetobacter baumannii* isolated from pediatrics suffered from UTIs. *Int J Adv Res Biol Sci.* 2015;2(11):272-9.

Yetişkinlerde Uzun Süren Öksürüğün *Bordetella pertussis* Enfeksiyonu ile İlişkisi: Kültür, PCR ve Serolojik Yöntemler ile Kesitsel Bir Değerlendirme

The Association of Prolonged Cough in Adults with Bordetella pertussis Infection: A Cross-Sectional Assessment Using Culture, PCR, and Serological Methods

Pınar Yürük Atasoy^{*ID}, Cumhuri Artuk^{**ID}, Cemile Sönmez^{***ID}, Selin Nar Ötgün^{****ID}, Meral Turan^{*****ID}, Selçuk Kılıç^{*****ID}

* Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara, Türkiye

** Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara, Türkiye

*** Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Aşı ile Önlenebilir Bakteriyel Hastalıklar Seroloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

**** Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

***** Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal Yüksek Riskli Patojenler Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

***** Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Savunma Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi, Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer Savunma Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Atıf/Cite as: Yürük Atasoy P, Artuk C, Sönmez C, Nar Ötgün S, Turan M, Kılıç S. Yetişkinlerde uzun süren öksürüğün *Bordetella pertussis* enfeksiyonu ile ilişkisi: Kültür, pcr ve serolojik yöntemler ile kesitsel bir değerlendirme. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):40-48.

Öz

Amaç: Boğmaca, *Bordetella pertussis*'in neden olduğu yaygın aşılamaya rağmen tüm yaş gruplarını etkileyebilen bulaşıcı bir solunum yolu enfeksiyonudur. Bu çalışmada 18 yaş ve üzeri bireylerde *B. pertussis* enfeksiyonuna bağlı uzamış öksürük şikayetlerinin kültür, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve serolojik testler kullanılarak değerlendirilmesi amaçlandı.

Yöntem: Bu çalışma, Ankara'da bir üçüncü basamak hastanede, 18 yaş ve üzeri yetişkinlerde iki hafta veya daha uzun süre öksürük şikayeti olan bireyler üzerinde yürütüldü. Çalışmaya iki haftadan uzun süre öksürük şikayeti olan 68 yetişkin ve öksürük semptomu olmayan 65 kontrol bireyi dahil edildi. Katılımcılardan alınan nazofaringeal sürüntü örnekleri, kültür ve PCR yöntemleri için kullanıldı. Ayrıca, hastalardan alınan kan örneklerinden elde edilen serumlar, *B. pertussis*'e karşı oluşmuş antikorların varlığını belirlemek için serolojik testlerle değerlendirildi.

Bulgular: Kültür yöntemi ile *B. pertussis* tespiti yapılamamıştır. Ancak hastaların %22'sinde PCR testi pozitif bulunmuş ve %13'ünde Anti-Pertussis Toksin IgG düzeyi pozitif olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Kültür yöntemi, boğmaca tanısında altın standart olarak kabul edilmesine rağmen, bu çalışmada PCR'nin kültüre göre daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Yetişkinlerde uzun süreli öksürük şikayetlerinin ayırıcı tanısında boğmaca enfeksiyonunun göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Ayrıca boğmaca konusunda daha fazla farkındalık yaratılması ve geniş kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Bordetella pertussis*, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Seroloji

ABSTRACT

Objective: Pertussis is a contagious respiratory tract infection caused by *Bordetella pertussis* that can affect all age groups despite widespread vaccination. The aim of this study was to evaluate the complaints of prolonged cough due to *B. pertussis* infection in individuals aged 18 years and older using culture, polymerase chain reaction (PCR) and serologic tests.

Methods: This study was conducted at a tertiary hospital in Ankara, focusing on individuals aged ≥ 18 years who reported coughing symptoms lasting for two weeks or longer. The study included 68 adults with coughing symptoms persisting for more than two weeks and 65 control individuals without coughing symptoms. Nasopharyngeal swab samples collected from the participants were used for culture and PCR. Additionally, sera derived from the blood samples of patients were evaluated using serological tests to ascertain the presence of antibodies against *B. pertussis*.

Alındığı tarih / Received:

18.10.2023 / 18.October.2023

Kabul tarihi / Accepted:

29.12.2023 / 29.December.2023

Yayın tarihi / Publication date:

25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

P. Yürük Atasoy 0000-0001-7769-247X
C. Artuk 0000-0003-0827-990X
C. Sönmez 0000-0002-3725-6451
S. Nar Ötgün 0000-0003-4762-1202
M. Turan 0000-0003-1414-231X
S. Kılıç 0000-0002-4993-650X

✉ pinaryuruk@windowslive.com

Results: Detection of *B. pertussis* in culture was not possible. However, 22% of the patients tested positive for PCR, and 13% were found to have positive Anti-Pertussis Toxin IgG levels. The average age of the patients with positive diagnostic test results was 38.5, while the average age was determined as 36.8.

Conclusion: Although the culture method is considered the gold standard for the diagnosis of pertussis, PCR was found to be more sensitive than culture in the present study. Pertussis should be considered in the differential diagnosis of prolonged cough symptoms in adults. Furthermore, there is a need to raise awareness regarding pertussis and conduct broader studies.

Keywords: *Bordetella pertussis*, Polymerase Chain Reaction (PCR), Serology

GİRİŞ

Boğmaca, *Bordetella pertussis* tarafından tetiklenen ve tüm yaş gruplarını etkileyebilen akut, bulaşıcı bir solunum yolu enfeksiyonudur. Hastalık, özellikle çocuklarda ciddi bir seyir izleyebilir⁽¹⁾. 1950'lerden itibaren uygulanan ulusal aşılama programı sayesinde boğmaca insidansı büyük ölçüde azalmıştır. Ancak, boğmaca endemik olarak döngüler halinde görülmeye devam etmektedir çünkü aşı veya doğal enfeksiyon sonucu oluşan immün yanıt ömür boyu koruma sağlamamaktadır. Bu durum, boğmacanın yalnızca çocukluk çağında değil, her yaş grubunda görülme potansiyelini artırmaktadır⁽²⁾.

Son on yılda, yeniden canlanan boğmaca özellikle genç yetişkin ve yetişkin grupları etkilemektedir ve bu hastalardaki yükü henüz tam olarak bilinmemektedir. Hastalık çocukluk çağına özgü bir hastalık olarak düşünüldüğünden, bu yaş gruplarında göz ardı edilebilmektedir. Sağlık çalışanlarının farkındalığını artırmak, gerçek epidemiyolojik durumu araştırmak, ülke çapında verileri paylaşmak ve halkı eğitmek ihtiyacı bulunmaktadır.

Aşılanmış çocuklar, gençler ve yetişkinlerde boğmaca genellikle atipik ve asemptomatik seyir izler. Uzun süreli öksürük şikâyeti olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda, boğmaca %13-20 gibi yüksek bir oranda tespit edilmiştir. Bu nedenle, iki haftadan uzun süre öksürük şikâyeti olan çocuk ve gençlerde *B. pertussis* enfeksiyonunun laboratuvar testleriyle araştırılması tavsiye edilmektedir^(1,3-9).

Ülkemizde boğmaca hastalığı “Genişletilmiş Bağışıklama Programı” kapsamında izlenmektedir⁽¹⁰⁾. “Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği”ne göre boğmaca; insandan insana bulaşabilen bildirimi zorunlu solunum yolu hastalıklarındandır⁽¹¹⁾. Bu çerçevede güncel vaka

klirik tanımlaması; en az iki hafta süren öksürüğü olan hastalarda, paroksizmal veya iç çekmeli öksürük, öksürük sonrası kusma, hekim tarafından boğmaca olduğunun düşünülmesidir. Özellikle bir yaş altındaki hastalarda siyanozun eşlik ettiği ya da etmediği apne görülür. Epidemiyolojik olarak laboratuvar tarafından doğrulanmış kesin insan vakası ile bulaşma olasılığı olacak şekilde temas etmek insandan insana bulaşı gösterir. *B. pertussis*’in laboratuvar tanısında; kültür izolasyonu ve identifikasyonu, nükleik asidinin saptanması, ELISA örneklerinde IgG de dört kat titre artışı veya tek serum örneğinde anti PT IgG titresinin ≥ 100 IU/ml saptanması olarak tanımlanır.

Sağlık Bakanlığı Rehberi’ne göre; “olası olgu”, iki haftadan uzun süren öksürük ile (özellikle paroksizmal öksürük), inspiratuvar whoop ve öksürük sonrası kusma belirtilerinden en az birini gösteren hastalardır. “Kesin olgu” ise, en az bir laboratuvar testi ile *B. pertussis* varlığının gösterilmesi ve kesin olgu ile epidemiyolojik bağlantısı olan hastalardır⁽¹²⁾. Ancak bu kriterlere rağmen, anamnez ve fizik muayene bulgularına dayanarak konulan tanılar yanıltıcı olabilir. Bu nedenle, klinik tanı mutlaka laboratuvar testleriyle doğrulanmalıdır.

Çalışmamız, laboratuvar testleri aracılığıyla yetişkinlerde boğmaca hastalığının varlığını belirlemek, kronik öksürüğün bir nedeni olarak boğmaca hastalığını gündeme getirmek ve *B. pertussis* enfeksiyonunu daha sık göz önünde bulundurmamızı teşvik etmeyi amaçlamaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; GATA Etik Kurulu tarafından (18.05.2015 tarih ve EĞT.ÖĞT.50687469-1491-375-15/1648.4-1000 sayı; 17.02.2016 tarih ve ETİK.KRL.50687469-1491-141-16/1648-450 sayı) onaylanmıştır.

Bu çalışma, Ankara'da bulunan bir üçüncü basamak hastanede, iki hafta veya daha uzun süre öksürük semptomları olan 18 yaş ve üzeri yetişkinler arasında gerçekleştirildi. *B. pertussis* enfeksiyonunun varlığı, kültür, PCR ve serolojik teknikler kullanılarak araştırıldı⁽¹³⁻¹⁵⁾. Çalışma, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları iş birliği ile yürütüldü.

Çalışmaya katılan hasta grubu, Şubat-Temmuz 2016 tarihleri arasında Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran ve iki haftadan uzun süre öksürük semptomları olan 68 yetişkin (49 erkek, 19 kadın) bireyden oluştu. Kontrol grubu ise, öksürük semptomu bulunmayan 65 yetişkin (45 erkek, 20 kadın) bireyden oluştu. Kronik öksürüğe neden olabilecek hastalıkları olan bireyler (astım, tüberküloz, kronik bronşit, reaktif hava yolu hastalığı, gastroözofageal reflü, ACE inhibitörü kullanımı, malignite vb.) çalışmaya dahil edilmedi.

Katılımcılardan nazofaringeal sürüntü örneği (NFS) ve kontrol amaçlı kan örnekleri alındı. NFS örnekleri, özel eküvyon çubukları (Transwab Pernasal, Medical Wire Equip Co Ltd, Birleşik Krallık) kullanılarak toplandı, Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarı'nda spesifik kültür ve PCR yöntemleri uygulandı⁽¹⁶⁾. *B. pertussis*'in kültür yöntemi ile primer izolasyonunda 10 mg/L sefalekssin ve %20 oranında at kanı içeren laboratuvar yapımı Bordet Gengou Agar (C-BGA) besiyeri kullanıldı. Ekim yapılan kültür plakları 36°C'de nemli ortamda, aerob koşullarda 7-10 gün inkübe edildi. İnkübasyon süresi boyunca, C-BGA plakları belirli özelliklere sahip şüpheli kolonilerin varlığı açısından dikkatlice incelendi. Düzgün kenarlı ve düz yüzeyli, yaklaşık 1 mm çapında transparan, konveks koloniler gözlenmesi durumunda bakterinin oksidaz, Gram boyanma, koyun kanlı agarda üreme, üre hidrolizi gibi özelliklerinin araştırıldığı temel tarama testleri uygulandı. Kesin tanımlama için *B. pertussis* faz I antiserumla (Becton Dickinson) lam aglütinasyonu yapıldı⁽¹⁶⁾.

Nazofaringeal sürüntü örnekleri, kültür için ekim yapıldıktan hemen sonra, PCR yöntemi için -20°C'de saklandı. Genomik DNA izolasyonu, QIAamp DNA

Blood Mini Kit (Qiagen, ABD) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Laboratuvar yapımı konvansiyonel PCR yönteminde *B. pertussis*'in pertussis toksin promoter (*ptxA-Pr*) gen bölgesine (191 bp) özgül PTP1 ve PTP2 primer çifti kullanıldı. Test, 50 mikrolitre reaksiyon karışımında (5 µl 10X PCR buffer, 2 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.26 pmol/µl primer ve 1.3 U polimeraz (5 U/µl, MBI Fermantas); 4 µl kalıp DNA bulunacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon; 95°C'de 5 dakikalık ilk denatürasyonu takiben, 94°C'de 45 sn denatürasyon, 57°C'de 45 sn bağlanma ve 72°C'de 45 sn uzama adımlarından oluşan 35 siklus ve 10 dk 72°C'de son uzama olacak şekilde (Touchgene Techne, İngiltere) gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünleri 0.5 µg/ml etidyum bromür eklenmiş %2.5'lik agaroz jel (3:1Nusieve agarose; FMC BioProducts, ABD; BioRad, İtalya) kullanılarak görüntüledi.

Laboratuvar yapımı konvansiyonel PCR yönteminin geliştirilmesi, optimizasyonu, geçerli kılınması aşamaları ulusal referans laboratuvarımız tarafından daha önce yayımlanan çalışmalarda tanımlanmıştır. Söz konusu çalışmalarda temsili nitelikteki klinik örneklerde PTP1/PTP2 primerleri ile en düşük saptanan sınır değeri 6.9×10^2 cfu/ml olarak bulunmuştur⁽¹⁷⁾.

Laboratuvar çalışmalarında yöntemlerin kalite güvencesinin sağlanması amacıyla kontrol suşları olarak *B. pertussis* Tohama I, *B. pertussis* ATCC 9797, *Bordetella parapertussis* ATCC 15311, *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617 kullanıldı⁽¹⁶⁾.

Hastalardan alınan kontrol amaçlı kan örneklerinden elde edilen serumlar -80°C'de saklandı. Pertussis Toksin (PT) IgG antikorları, daha önce standardize edilmiş olan "in-house" kantitatif indirekt ELISA testi ile incelendi⁽¹⁸⁾. Düz tabanlı 96 godeli mikropakların (Greiner, Almanya) antijenle kaplanması aşamasında, saflaştırılmış "Pertussis Toxin" (10 µg PN/ampul, Japonya) kullanıldı. Test günü %0.5 sığır serum albumini ile bloke edildi. Plaklar üç kez %0.05 Tween 20 içeren PBS ile yıkandı ve bu işlem her inkübasyondan sonra tekrarlandı. Referans serum ve hasta serumları iki kat artan sekiz seri dilüsyonda hazırlandı ve plaklar bu aşamada ve takip eden aşamalarda

22°C’de bir saat inkübe edildi. Konjugat aşamasında; “Fc-specific alkaline phosphatase-conjugated goat anti-human IgG” (Seikagaku, Kogyo, Japonya); substrat aşamasında dietanolamin tamponda 1 mg/ml, pH: 9.6 sulandırılmış “p-nitrophenyl phosphate” (Sigma N2765); durdurma aşamasında ise 3M NaOH uygulandı. Mikroplaklar ELISA okuyucusu (Labsystem, Finlandiya) kullanılarak 405/630 nm dalga boylarında okutuldu. Anti-PT IgG antikor seviyeleri “paralel line assay” ile boğmaca referans serum (anti-PT için 250 EU/ampul) ile karşılaştırma yapılarak hesaplandı ve ELISA ünitesi/ml (EU/ml) şeklinde ifade edildi. Bu testte saptanabilen en düşük anti-PT antikor düzeyi 1.0 EU/ml’dir⁽¹⁸⁾. Anti-PT için ≥ 100 EU/ml antikor düzeyi, akut/son zamanlarda geçirilmiş *B.pertussis* enfeksiyonu olarak değerlendirildi^(19,20).

Veri analizi, IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Ver 22.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler, veri sayısı, yüzdesi, ortalama, medyan, minimum ve maksimum değerler ile standart sapma olarak hesaplandı. Verilerin normal dağılım uyumluluğu, Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Gruplar arası karşılaştırmalar, kategorik değişkenlerde Pearson ki-kare testi ve sürekli değişkenlerde Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler arasındaki bağlantı, Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi, %95 güven aralığı ve %5 hata payı göz önünde bulundurularak, $p<0.05$ değeri ile belirlendi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hasta grubunda 68 kişinin nazofarengeal sürüntü örneklerinde *B. pertussis* enfeksiyonunun kültür yöntemi ile belirlenmesi mümkün olmamıştır. Ancak, 15 hastada (%22) PCR pozitifliği, dokuz (%13) hastada Anti-PT IgG 100 EU/ml üzerinde, dört hastada da PCR VE ELISA pozitif bulunmuştur. Bu laboratuvar sonuçlarına dayanarak, öksürük semptomu olan hastaların %29’unda (20 hasta) *B. pertussis* enfeksiyonu doğrulanmıştır.

Kontrol grubundaki bireylerin hiçbirinde pozitif tanısal test sonucu bulunmamıştır.

Hasta grubundaki 68 hastanın 49’u (%72) erkek, 19’u (%28) kadındı. Kontrol grubunda 65 kişinin 45’i (%69) erkek, 20’si (%31) bayandı. Hasta grubunun yaş ortalaması 35.3 ± 19.4 iken, kontrol grubunda ise yaş ortalaması 35 ± 17 idi. Gruplar arasında cinsiyet ve yaş yönünden dağılımı arasından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Hasta grubunun, %80’i evli, %20’si bekar ve %55’i ise sigara kullanıcısıdır.

Hastaların tümü yaşına uygun aşılama durumunu bilmemekteydi. Hasta grubunun 17’si başvuru öncesi antibiyotik tedavisi almıştı ve pozitif tanısal test sonuçlarına sahip hastaların antibiyotik kullanım hikayesi yoktu.

Pozitif tanısal test sonuçlarına sahip hastaların çoğunda paroksizmal öksürük, öksürük sonrası kusma, inspirasyonda hışıltı, nefes darlığı, ateş, burun akıntısı ve göz yaşarması gibi klinik bulgular gözlenmiştir. Bu bulguların oranları, negatif tanısal test sonuçlarına sahip vakalarda daha düşük bulunmuştur. Pozitif ve negatif tanısal test sonuçlarına sahip vakalar arasında klinik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$).

Hasta grubunda Anti-PT IgG düzeyi 0.38-209.6 EU/ml arasında olup ortalama 42.4 EU/ml iken; kontrol grubunda 0.53-56.2 EU/ml olup ortalama değer 16.6 EU/ml olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında Anti-PT IgG düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$).

Pozitif tanısal test sonuçlarına sahip hastaların öksürük süresi ortalaması 5.3 (± 2.1) hafta olarak bulunmuştur. Öksürük süresi ile Anti-PT IgG düzeyleri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p=0.004$). Ancak, öksürük süresi ile PCR sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0.149$; Tablo 1).

Tablo 1. Hasta grubunda öksürük süresi; PCR VE Anti-PT IgG düzeylerinin ilişkisi

Öksürük süresi	PCR* pozitif	PCR* negatif	Anti-PT IgG (EU/ml) ortalama**	Anti-PT IgG (EU/ml) ortanca**	Anti-PT IgG (EU/ml) en düşük – en yüksek
14-29 gün	10	25	16.7	13.0	0.38 – 144.0
30 gün ve üzeri	5	28	55.6	43.1	2.09 – 209.67
Toplam	15	53	-	-	-

* PCR için $\chi^2=2.02$, $p=0.149$; **: Anti-PT IgG için Mann-Whitney U $p=0.004$

Tablo 2. Hasta ve Kontrol Grubu Anti-PT IgG Düzeyleri

Grup (N)	Anti-PT IgG (EU/ml) ortalama**	Anti-PT IgG (EU/ml) ortanca**	Anti-PT IgG (EU/ml) en düşük – en yüksek
Hasta (68)	42.1	21.65	0.38 – 209.67
Kontrol (65)	16.69	11.67	0.53 – 56.51

Mann-Whitney U; $p=0.001$

Hasta ve kontrol grubu arasında, Anti-PT IgG düzeyleri açısından da anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.001$; Tablo 2).

Pozitif tanısal test sonuçlarına sahip vakaların %40'ı son bir ay içinde antibiyotik kullanıldığını, negatif tanısal test sonuçlarına sahip vakaların ise %20'si son bir ay içinde antibiyotik kullanıldığını belirtmiştir. Antibiyotik kullanımı açısından pozitif ve negatif tanısal test sonuçlarına sahip vakalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.071$). Yine herhangi bir tanısal test sonucu pozitif olan vakaların ikisinde aile içinde de benzer şikayetlerin olduğu, üçünde aynı koşutta kalma hikayesi olduğu saptandı. Hastaların yaşlarına uygun aşılama durumu bilinmemektedir.

TARTIŞMA

Boğmaca, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre aşı ile önlenirken, kontrolü en zor hastalıklardan biridir. Aşılamadan önce, boğmaca özellikle 10 yaş altı çocukları etkilerken, aşılamadan sonra adolesan ve yetişkinler arasında da görülmeye başlamıştır⁽¹³⁾. Özellikle hastalığın mortalite ve morbidite olarak ağır seyrettiği aşısız veya eksik aşıli infantlar için, enfekte adolesanlar ve yetişkinlerin taşıyıcı rol oynadığı düşünülmektedir.

Boğmaca enfeksiyonunun gerçek prevalansını belirlemek; hastalığın semptomlarının birçok solunum yolu enfeksiyonu ile benzerliği, patojenin kültürde üretilmesinin güçlüğü ve tanı testlerine erişim kısıtlılığı nedeni ile zordur. Çoğu ülkede, boğmaca için vaka tabanlı ulusal bir izleme sistemi mevcut olmasına rağmen, genel görüş bildirilen vaka sayısının gerçek vaka sayısından çok daha düşük olduğu yönündedir.

Boğmaca tanısında kültür yönteminin altın standart olduğu ancak duyarlılığının hastalığın evresi, hastanın yaşı, aşı ve bağışıklık durumu, uygulanan antimikrobiyal tedavi ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Kültür, *B. pertussis* tanısında en özgül (%100) yöntemdir fakat duyarlılık oranı değişkenlik göstermekle birlikte nispeten düşüktür^(9,13). Kültür pozitifliği; hastalığın asemptomatik olduğu inkübasyon periyodundan itibaren başlamaktadır. Bu pozitiflik semptomların gözlenmeye başladığı 1-2. haftalardan (kataral evre) öksürük nöbetlerinin yaygınlaştığı 4. haftaya (paroksizmal evre) kadar devam etmektedir⁽²¹⁾. Hasta grubumuz öksürük şikâyetinin başlamasından en az iki hafta sonra bize başvurmuş olup hastaların 17'si spesifik antimikrobiyal tedavi almıştır. Herhangi bir tanısal test sonucu pozitif gelen hastalarda antimikrobiyal tedavi hikayesi yoktu.

Bordetella pertussis tanısında, kültürün sınırlılıklarından dolayı hızlı, duyarlı ve güvenilir bir yöntem gerekmektedir. PCR metodları, DNA ekstraksiyonu ile hızlı sonuç verme ve hastalığın ilk dört haftasında yüksek özgüllük (%86-100) ve duyarlılık (%70-99) sağlama avantajları nedeniyle öne çıkmaktadır^(6,22).

PCR pozitifliği; hastalığın asemptomatik olduğu inkübasyon periyodundan itibaren başlamaktadır. Bu pozitiflik semptomların gözlenmeye başladığı 1-2. haftalardan (kataral evre) öksürük nöbetlerinin yaygınlaştığı 3-8.hafta sonuna (paroksizmal evre) kadar devam etmektedir⁽²¹⁾.

Çalışmamızda, 68 hastadan 15'inde (%22) PCR pozitifliği saptanmıştır. Bu bulgular, PCR'ın kültüre kıyasla daha duyarlı bir yöntem olduğunu göstermektedir. Öksürük süreleri ile PCR pozitifliği arasında istatistiksel anlamda bir fark bulunmadı ve PCR pozitif hastaların dokuzu ilk dört hafta içerisindeki başvurular arasından tespit edilmiştir. Yine ülkemizde uzamış öksürüğü olan hastalarda yapılan çalışmalarda; Yetişkinlerde yapılan bir çalışmada⁽³⁾ boğmaca seroprevalansı %9.7, adolesan ve yetişkinleri içeren bir diğer çalışmada⁽²³⁾ ise %7 olguda boğmaca PCR pozitif olduğu ileri sürülmüştür. Benzer bir çalışmada da 257 hastada semptomların ilk dört haftasında alınan 162 örneğin 41'inde; dört haftadan sonra alınan 95 örneğin 11'inde pozitiflik saptamışlardır⁽²⁴⁾. Çünkü hastaların öksürük süreleri uzadıkça, PCR ile pozitif hasta tespit etme olasılığımız azalmakta, fakat hastalar hala klinik olarak boğmaca hastası olabilmektedir.

Paroksizmal ve konvalesan dönemde, serolojik testler özellikle adolesan ve yetişkinlerde boğmaca tanısında avantajlı olmuştur. DSÖ boğmaca serolojisi için ELISA yöntemini önermektedir ve Anti-PT IgG seviyesinin 100-125 EU/ml üzerinde olmasını yakın zamanda bakteri maruziyeti açısından anlamlı kabul etmektedir^(3,15,25). Türkiye'de 6 ay-60 yaş üstü 2085 olguda yapılan çalışmada %12.5 hastada Anti-PT IgG düzeyini 100 EU/ml üzerinde bulmuş ve bunların çoğu 6-9 yaş ve 50-59 yaş arası

hastalarda saptanmıştır⁽²⁶⁾. Yine ülkemizden 0-85 yaş arası hastalarda seropozitivite oranı %39.5 bulunmuştur⁽²⁷⁾. Yine yetişkin yaş grubunda (18-87 yaş arası) 538 hastanın %9.7'de Anti-PT IgG düzeyini 100 EU/ml üzerinde, bu hastaların da %82.7'de Anti-FHA IgG düzeyini 100 EU/ml üzerinde bulmuşlardır⁽³⁾. Singapurda 18-45 yaş arası erişkinlerde yapılan bir çalışmada seropozitivite %97 gibi oldukça yüksek bir değer saptanmıştır⁽²⁸⁾. Bizim çalışmamızda ise serolojik tanı için "in-house" kantitatif Anti-PT IgG ELISA yöntemi kullanılarak, semptomatik hasta serum örneğinde 100 EU/ml'nin üzerinde Anti-PT IgG titresi *B. pertussis* enfeksiyonunun serolojik kanıtı olarak değerlendirilmiştir. Buna göre dokuz (%13) hastada serolojik olarak *B. pertussis* enfeksiyonu düşünülmüştür. Ayrıca bu hastaların dördüne (%6) aynı PCR pozitifliği de eşlik etmiştir.

Çalışmamızda serolojik testleri pozitif olan hastaların ortalama öksürük süreleri 52 gün, PCR testi pozitif olan hastaların ortalama öksürük süreleri ise 24-45 gün olarak tespit edilmiştir. Öksürük süresi uzun olan hastalarda sadece serolojik olarak *B. pertussis* saptanması, hastalığın ilerleyen dönemde serolojinin PCR göre üstün olduğu yönündeki literatür bilgilerini desteklemektedir^(29,30).

Çalışmamızda boğmaca prevalansı %29.4 olarak hesaplanmıştır. Literatürde dünyanın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, uzun süreli öksürüğü olan ergen ve yetişkinler arasında boğmaca prevalansı %5-32 arasında değişmektedir^(3,4,31-33). Çalışmalarda gözlenen prevalans farklılıklarının en önemli nedeni kullanılan tanı yöntemlerinin farklılıklarıdır.

Boğmaca aşısı ile önlenemeyen hastalıklardan birisi olmasına rağmen, aşısı veya doğal enfeksiyon ile gelişen immün yanıtın ömür boyu koruyuculuğu yoktur. Bu da hastalığın her yaşta ortaya çıkmasına neden olur. Bu yüzden yaygın aşılama rağmen rağmen *B. pertussis* elimine edilememiş ve özellikle yaş gruplarına göre olan insidansında değişiklik gözlemlenmiştir. Hastalığın adolesan ve yetişkin yaş grubunda oluşturduğu yük tam olarak

bilinmemektedir. Boğmaca ile ilişkili en önemli halk sağlığı sorunu, enfekte erişkinlerin henüz aşılanmamış bebekler için bulaş kaynağı olabilmesidir. Bu nedenle doktorların bu konudaki farkındalığını arttırmaya ve hastalığın gerçek epidemiyolojisini araştırmaya ihtiyaç vardır. Ülkeye ait süveyans verileri ülke çapında paylaşılarak, adolesan ve yetişkinlere boğmaca hakkında eğitimler verilerek, hastalığın tanınması ve farkındalığı artırılabilir. Tüm bunlar için *B. pertussis* seroprevalansını belirleyecek daha geniş kitleleri içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışma, yetişkin yaş grubunda boğmaca enfeksiyonunun sıklığı ve klinik özelliklerini araştıran nadir çalışmalardan biridir. Bulgularımız, yetişkinlerde boğmaca enfeksiyonunun yaygın olabileceğini, ancak tanısının zor olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, yetişkinlerde uzun süreli öksürüğün ayırıcı tanısında boğmacayı dikkate almak ve laboratuvar yöntemleri ile doğrulamak önemlidir. Ayrıca, yetişkinlerde boğmaca enfeksiyonunun bebek ve küçük çocuklara bulaşmasını önlemek için aşılama programlarının gözden geçirilmesi ve güncellenmesi gerekmektedir.

Çalışmanın sınırlılıkları arasında, örneklem büyüklüğünün ve kullanılan metotların genel boğmaca prevalansının tam olarak belirlenmesine izin vermemesi ve hastaların öksürük belirtilerinin başlamasından en az iki hafta sonra araştırmaya katılmış olmaları yer alır. Bu durum özellikle *B. pertussis* kültürünün duyarlılığını etkilemiş olabilir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma; GATA Etik Kurulu tarafından (18.05.2015 tarih ve EĞT.ÖĞT.50687469-1491-375-15/1648.4-1000 sayı; 17.02.2016 tarih ve ETİK.KRL.50687469-1491-141-16/1648-450 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of GATA Ethics Committee (05.18.2015; EĞT.ÖĞT.50687469-1491-375-15/1648.4-1000_02.17.2016; ETİK.KRL.50687469-1491-141-16/1648-450).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Gopal DP, Barber J, Toeg D. Pertussis (whooping cough). BMJ. 2019;364:l401. <https://doi.org/10.1136/bmj.l401>
2. World Health Organization (WHO). Pertussis vaccines: position paper. WHO. 2015. [http://www.who.int/publications/i/item/WHO-WER9035] (Erişim tarihi: 25. Temmuz. 2023).
3. Sönmez C, Çöplü N, Gözalan A, et al. Uzamış öksürüğü olan erişkinlerde *Bordetella pertussis* enfeksiyonunun serolojik olarak değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2016;50(3):361-70. <https://doi.org/10.5578/mb.27692>
4. Pimentel AM, Baptista PN, Ximenes RA, et al. Pertussis may be the cause of prolonged cough in adolescents and adults in the interepidemic period. Braz J Infect Dis. 2015;19(1):43-6. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2014.09.001>
5. Kafes Dindar F, Aslan G, Yarpuzlu M, Kuyucu N, Emekdas G. Adolesan ve genç erişkin bireylerde *Bordetella pertussis* seroprevalansının belirlenmesi. J Pediatr Inf. 2013;7(4):136-42. <https://doi.org/10.5152/ced.2013.1464>
6. Gürsel D, Aslan A, Sönmez C, et al. Uzamış öksürüğü olan çocuklarda kültür, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ve seroloji ile *Bordetella pertussis* enfeksiyonunun araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2012;46(2):211-24.
7. Kurugöl Z. Türkiye’de boğmaca epidemiyolojisi: Pekiştirme aşı dozları gerekli mi? J Pediatr Inf. 2009;3(1):14-8.
8. Harnden A, Grant C, Harrison T, et al. Whooping cough in school age children with persistent cough: prospective cohort study in primary care. BMJ. 2006;333(7560):174-7. <https://doi.org/10.1136/bmj.38870.655405.AE>
9. Cherry JD, Grimprel E, Guiso N, Heininger U, Mertsola J. Defining pertussis epidemiology: clinical, microbiologic and serologic perspectives. Pediatr Infect Dis J. 2005;24(5 Suppl):S25-34. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000160926.89577.3b>
10. T.C. Sağlık Bakanlığı. Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Genişletilmiş Bağışıklama Programı Genelgesi. 25.02.2008(2008/14). [https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/1117,gbp genelge2008.pdf.pdf] (Erişim Tarihi: 25. Haziran. 2023).

11. T.C. Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete. 25.07.2020(20200422-7). [https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2020/04/20200422-7.htm] (Erişim Tarihi: 10.Haziran.2023).
12. T.C. Sağlık Bakanlığı. Boğmaca Hastalığının Kontrolü İçin Saha Rehberi. TSHGM/RSHMB Aydoğdu Ofset, Ankara: 2003.
13. Mattoo S, Cherry JD. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. Clin Microbiol Rev. 2005;18(2):326-82. https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.326-382.2005
14. Zepp F, Heininger U, Mertsola J, et al. Rationale for pertussis booster vaccination throughout life in Europe. Lancet Infect Dis. 2011;11(7):557-70. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70007-X
15. Mertens PL, Stals FS, Steyerberg EW, Richardus JH. Sensitivity and specificity of single IgA and IgG antibody concentrations for early diagnosis of pertussis in adults: an evaluation for outbreak management in public health practice. BMC Infect Dis. 2007;7:53. https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-53
16. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Boğmacanın Mikrobiyolojik Tanısı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Ankara: 2014. [http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/bakteriyoloji/UMS-B-MT-01-Bogmaca.pdf] (Erişim Tarihi: 10.Haziran.2023).
17. Güldemir D, Akbaş E, Nar Ötgün S, Tekin A, Esen B. Boğmacanın moleküler tanısı için laboratuvar yapımı bir PCR yönteminin geliştirilmesi ve optimizasyonu. Mikrobiyol Bul. 2011;45(4):632-45.
18. Coplu N, Esen B, Kurtoglu D, Gozalan A, Miyamura K, Yoshida I. Laboratuvarımızda hazırlanan Elisa testinin boğmaca serolojisinde standardizasyonu ve seroepidemiolojik bir çalışmada kullanılması. Mikrobiyol Bul. 2005;39(3):281-9.
19. Fedele G, Bianco M, Ausiello CM. The virulence factors of *Bordetella pertussis*: Talented modulators of host immune response. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2013;61(6):445-57. https://doi.org/10.1007/s00005-013-0242-1
20. Strebel P, Nordin J, Edwards K, et al. Population-based incidence of pertussis among adolescents and adults, Minnesota, 1995-1996. J Infect Dis. 2001;183(9):1353-9. https://doi.org/10.1086/319853
21. Fry NK, Campbell H, Amirthalingam G. JMM Profile: *Bordetella pertussis* and whooping cough (pertussis): Still a significant cause of infant morbidity and mortality, but vaccine-preventable. J Med Microbiol. 2021;70(10):001442. https://doi.org/10.1099/jmm.0.001442
22. Kösters K, Reischl U, Schmetz J, Riffelmann M, Wirsing von König CH. Real-time LightCycler PCR for detection and discrimination of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*. J Clin Microbiol. 2002;40(5):1719-22. https://doi.org/10.1128/JCM.40.5.1719-1722.2002
23. Karagul A, Ogunc D, Midilli K, et al. Epidemiology of pertussis in adolescents and adults in Turkey. Epidemiol Infect. 2015;143(12):2613-8. https://doi.org/10.1017/S0950268814003483
24. Holberg-Petersen M, Jenum PA, Mannsåker T, Melby KK. Comparison of PCR with culture applied on nasopharyngeal and throat swab specimens for the detection of *Bordetella pertussis*. Scand J Infect Dis. 2011;43(3):221-4. https://doi.org/10.3109/00365548.2010.538855
25. Vatansever U, Cöplü N, Oner N, et al. Seroprevalance of *Bordetella pertussis* antibodies among healthy adolescent girls in Edirne. Swiss Med Wkly. 2005;135(35-36):531-6. https://doi.org/10.4414/smw.2005.11096
26. Esen B, Coplu N, Kurtoglu D, Gozalan A, Akin L. Prevalence of high antibody titers of pertussis in Turkey: reflection of circulating microorganism and a threat to infants. J Clin Lab Anal. 2007;21(3):154-61. https://doi.org/10.1002/jcla.20127
27. Türkoglu E, Sönmez C, Kurugöl Z, Çöplü N, Koturoğlu G. Pertussis serosurveillance study in Izmir, Turkey. J Trop Pediatr. 2015;61(1):32-6. https://doi.org/10.1093/tropej/fmu062
28. Wilder-Smith A, Ng S, Earnest A. Seroepidemiology of pertussis in the adult population of Singapore. Ann Acad Med Singap. 2006;35(11):780-2.
29. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund JA. Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. Pediatr Infect Dis J. 2005;24(5 Suppl):S58-61. https://doi.org/10.1097/01.inf.0000160914.59160.41
30. Birkebaek NH, Kristiansen M, Seefeldt T, et al. *Bordetella pertussis* and chronic cough in adults. Clin Infect Dis. 1999;29(5):1239-42. https://doi.org/10.1086/313448
31. Senzilet LD, Halperin SA, Spika JS, et al. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adults and adolescents. Clin Infect Dis. 2001;32(12):1691-7. https://doi.org/10.1086/320754

32. Gilberg S, Njamkepo E, Du Châtelet IP, et al. Evidence of *Bordetella pertussis* infection in adults presenting with persistent cough in a french area with very high whole-cell vaccine coverage. J Infect Dis. 2002;186(3):415-8.
<https://doi.org/10.1086/341511>
33. İlbaý A, Tanrıöver MD, Zarakol P, Güzelce EÇ, Bölek H, Ünal S. Pertussis prevalence among adult patients with acute cough. Turk J Med Sci. 2022;52(3):580-6.
<https://doi.org/10.55730/1300-0144.5349>

Genç Bireylerde Hepatit A Virüsü Seropozitifliği: Beş Yıllık Retrospektif Değerlendirme

Hepatitis A Virus Seropositivity in Young Individuals: Five-Year Retrospective Evaluation

Pelin Özmen^{*✉}, Nazife Akman^{**}, Zeynep Akıdağı^{**}, Selma Gökahmetoğlu^{***}

* Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Nevşehir, Türkiye

** Kapadokya Üniversitesi, Kapadokya Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Nevşehir, Türkiye

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

Atıf/Cite as: Özmen P, Akman N, Akıdağı Z, Gökahmetoğlu S. Genç bireylerde hepatit A virüsü seropozitifliği: Beş yıllık retrospektif değerlendirme. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):49-56.

ÖZ

Amaç: Hepatit A Virüsü (HAV), kişiden kişiye direkt temas veya fekal - oral yolla bulaşabilen akut viral hepatitlerin önemli etkenlerinden biridir. Farklı sosyodemografik tabakalarda HAV seroprevalansı değişkenlik gösterse de, her koşulda sağlık çalışanları risk grubunda yer alır. Bu çalışmada, rutin HAV aşılması kapsamına girmemiş sağlık stajyerlerinde HAV seropozitifliğinin beş yıllık retrospektif değerlendirmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Sağlık stajyerlerinde hepatit A serolojilerinin retrospektif olarak değerlendirildiği çalışmada, 733 öğrencinin serum HAV IgM ve HAV IgG verileri araştırmaya dahil edilmiştir. Sonuçların yorumlanmasında; 1.0 Sinyal/Cut-off (S/CO) altındaki değerlere sahip örnekler 'non-reaktif', ≥ 1.0 S/CO değerlerine sahip örnekler 'reaktif' olarak kabul edilmiştir. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS Ver.21 programından yararlanılmış, kategorik değişkenler arasındaki ilişki ki-kare testi ile saptanmış; $p < 0.001$ anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Tüm öğrencilerin HAV IgM değerleri negatif bulunmuştur. Seropozitif öğrencilerin oranı %20 ($n=147$); pozitifliğin en fazla saptandığı yıl 2019 (%26.9) olmuştur. Kadın öğrencilerdeki seropozitiflik oranı %57.8 (85/147), erkek öğrencilerde %42 (62/147) olup; kadın cinsiyet-seropozitiflik ilişkisinde anlamlı artış izlenmiştir ($p < 0.001$).

Sonuç: HAV seropozitifliğinin düşük saptandığı bu çalışmada, sağlık çalışanı erişkinlerin mesleki maruziyet riskleri sebebiyle mutlaka aşılanmaları gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Hepatit A Virüsü, sağlık stajyeri, seropozitiflik, HAV IgG, HAV IgM

ABSTRACT

Objective: Hepatitis A Virus (HAV) is one of the important factors of acute viral hepatitis that can be transmitted from person to person by direct contact or fecal-oral route. Although HAV seroprevalence varies in different sociodemographic layers, healthcare workers are in the risk group under all circumstances. The aim of this study is to conduct a five-year retrospective evaluation of HAV seropositivity in health trainees who were excluded in routine anti-HAV vaccination.

Methods: The HAV IgM and HAV IgG data of 733 students were included in the study. Serological rates with values below 1.0 Signal/Cut-off (S/CO) were considered 'non-reactive', the ones with S/CO values ≥ 1.0 were considered 'reactive'. SPSS Ver.21 program was used in the statistical analysis of the data; the relationship between categorical variables was determined by the chi-square test and $p < 0.001$ was considered significant.

Results: Anti-HAV IgM values were found to be negative in all students. The rate of seropositive students was 20% ($n=147$), while 2019 was found to be the year with the highest positivity rate (26.9%). The seropositivity rates of female and male students were 57.8% (85/147) and 42% (62/147), respectively, which indicated a significant increase for female sex ($p < 0.001$). In conclusion, HAV seropositivity was found to be low in the present study. Healthcare professionals should be vaccinated against HAV infection, due to occupational exposure risks.

Keywords: Hepatitis A virus, health intern, seropositivity, HAV IgG, HAV IgM

Alındığı tarih / Received:
06.09.2023 / 06.September.2023

Kabul tarihi / Accepted:
06.01.2024 / 06.January.2024

Yayın tarihi / Publication date:
25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

P. Özmen 0000-0001-9496-3032
N. Akman 0000-0001-7726-0968
Z. Akıdağı 0000-0002-8077-8079
S. Gökahmetoğlu 0000-0002-7747-6045

✉ pelin.ozmen@nevsehir.edu.tr

GİRİŞ

Hepatit A virüsü (HAV), *Picornavirales* takımında *Picornaviridae* ailesinden Hepatovirüs cinsinin bir üyesidir ve zarfsız tek sarmallı bir RNA virüsüdür⁽¹⁾. HAV ile enfekte 100 milyon kişinin 1,5 milyonunun semptomatik olduğu tahmin edilmektedir ve her yıl 15.000 ila 30.000 kişinin ölümünden HAV enfeksiyonu sorumludur⁽²⁾. Ancak bildirilmemiş vakalarla bu sayıların birkaç kat daha fazla olduğu kabul edilmektedir.

HAV, bulaştırıcı bir kişiyle doğrudan temas ya da fekal-oral yolla bulaşır. Gelişmiş ülkelerdeki salgınlardan kişiden kişiye bulaş zinciri sorumluyken, gıda kaynaklı enfeksiyonlar ise genellikle sporadik vakalar olarak ortaya çıkar. Bununla birlikte, gelişmiş ülkelerde bildirilen yeni birkaç salgında kontamine gıdaların rolü olduğu gösterilmiştir⁽³⁾. Viremik fazdaki enfekte hastalar, kan nakliyle hastalığı nadir de olsa bulaştırabilir⁽⁴⁾.

Virüs, düşük gelirli ülkelerde endemiktir. Gelişmiş ülkelerin popülasyonları ise HAV'a karşı oldukça hassastır. Bu bölgelerdeki duyarlı vakaların çoğu, yüksek risk grupları arasında kişiden kişiye bulaş nedeniyledir. HAV enfeksiyonunda risk grupları; uluslararası seyahat edenler, erkeklerle seks yapan erkekler, mesleki temas öyküsü olan bireyler, seronegatif sağlık çalışanları ve stajyer öğrenciler, gelişmemiş ve gelişmekte olan bölgelerden göç edenler ile bu kişilerle yakın temasta bulunan bireyler olarak sıralanabilir. Ayrıca kronik karaciğer hastalığı olan kişiler (Hepatit B Virüsü (HBV), Hepatit C Virüsü (HCV) enfeksiyonu, otoimmün hepatit, yağlı karaciğer hastalığı, alkolik karaciğer hastalığı, siroz vb.) ve Human Immunodeficiency Virus (HIV) pozitif hastalar da yüksek riskli grupta değerlendirilir.

Küreselleşme ve iyileştirilmiş sıhhi koşullar, HAV epidemiyolojisinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Günümüzde sosyoekonomik tabakalaşma sonucu evsizlerin ve mültecilerin nüfusundaki artış epidemiyolojik verilerin değişkenliğinde önemli

bir faktördür. Hijyen ve sanitasyon koşullarının iyileştirilmesi, toplumdaki el yıkama alışkanlığının artması ve riskli gruplarda HAV aşısı uygulaması enfeksiyonun yayılımını önlemektedir. Bununla beraber COVID-19 pandemisi ile toplumun günlük hijyen alışkanlıklarının artış yönünde değişmesi HAV gibi etkenlerin yayılımını azaltabilecek faktörlerden biri olabilir.

Hepatit A Virüsü (HAV) akut viral hepatite neden olur ve özellikle hijyen, sanitasyon bakımından yetersiz bölgelerde yaygın görülmektedir⁽⁵⁾. Ülkemizde HAV enfeksiyonunun orta derecede endemisitesi vardır fakat farklı sosyokültürel tabakalaşmaya sahip bölgelerde kendi içinde değişen bir epidemiyolojiye sahip olduğu bilinir⁽⁶⁾. Seropozitiflik; artan yaş, düşük sosyoekonomik statü, kalabalık aile ortamı, özbakım becerileri yönünden iyi eğitilememe, güvenli olmayan içme suyu kullanımı, zayıf altyapı ve eksik kentleşmeye sahip bölgelerde yaşamak ile ilişkilendirilmiştir⁽⁷⁾.

Bu çalışmada, ön lisans sağlık programlarında öğrenim gören stajyer sağlık teknikerlerinin HAV seropozitifliğinin son beş yıldaki verileri retrospektif olarak araştırılmış olup rutin aşı programına dahil olamamış stajyerlerde değişen HAV seroprevalansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; Nevşehir Hacı Bektaş Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Yayın Etik Kurulu tarafından (25.10.2021 tarih ve 9/322 sayı) onaylanmıştır.

Kapadokya Üniversitesi Kapadokya Meslek Yüksekokulu Sağlık ön lisans programlarında 2017-2020 ile 2021-2022 yılları arasında öğrenim gören ve stajyer sağlık teknikeri olarak hastane uygulamasına çıkan toplam 1075 öğrenci çalışmanın evrenini oluşturmuştur. HAV serolojilerinin çalışıldığı 733 öğrenci örneklem grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. COVID-19 pandemisi nedeniyle 2019-

2020 bahar dönemi ve 2020-2021 akademik yılında öğrenciler saha uygulamalarına gönderilmediğinden o tarihlerde veri elde edilememiştir. Veriler sağlık raporu dosyalarının retrospektif olarak taranması sonucu toplanmıştır. Sağlık taraması esnasında öğrencilerden istenen kan yoluyla bulaşan viral hepatit ve HIV serolojileri arasından HAV IgM ve HAV IgG değerleri değerlendirmeye alınmıştır. Bu veriler farklı merkezlerde, farklı kit ve cihazlarla çalışılan sonuçlardan elde edilmiştir. Sonuçların yorumu raporlarda belirtilen referans aralıkları göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Sinyal/Cut-off (S/CO) değeri 1.0 altında olan örnekler 'non-reaktif'; ≥ 1.0 S/CO değerlerine sahip örnekler 'reaktif' olarak değerlendirilmiştir. Demografik veriler öğrencilerin staj dosyalarından temin edilmiş olup öğrenim gördükleri bölümler sağlık programları başlığı altında toplanmış; ayrıca kategorize edilmemiştir.

Verilerin analizinde SPSS 21.0 programı kullanılmıştır ve değerlendirmede sayı, yüzde, ortalama ve standart sapma ölçütleri kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkileri analiz etmek için ki-kare (χ^2) testi yapılmış, istatistiksel anlamlılık $p < 0.001$ olarak kabul edilmiştir.

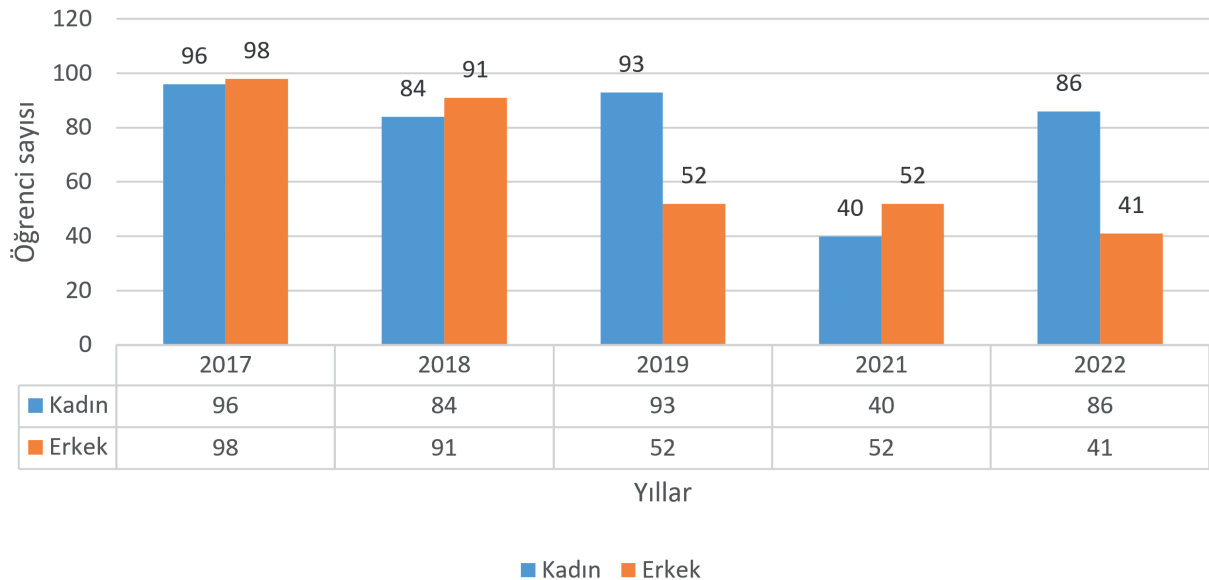
BULGULAR

Seroloji verileri taranarak çalışmaya dahil edilen 733 öğrencinin 399'u (%54.4) kadın, 334'ü (%45.5) erkektir. Çalışmaya dahil edilen öğrencilerin yıllara göre cinsiyet dağılım oranları Şekil 1'de gösterilmiştir.

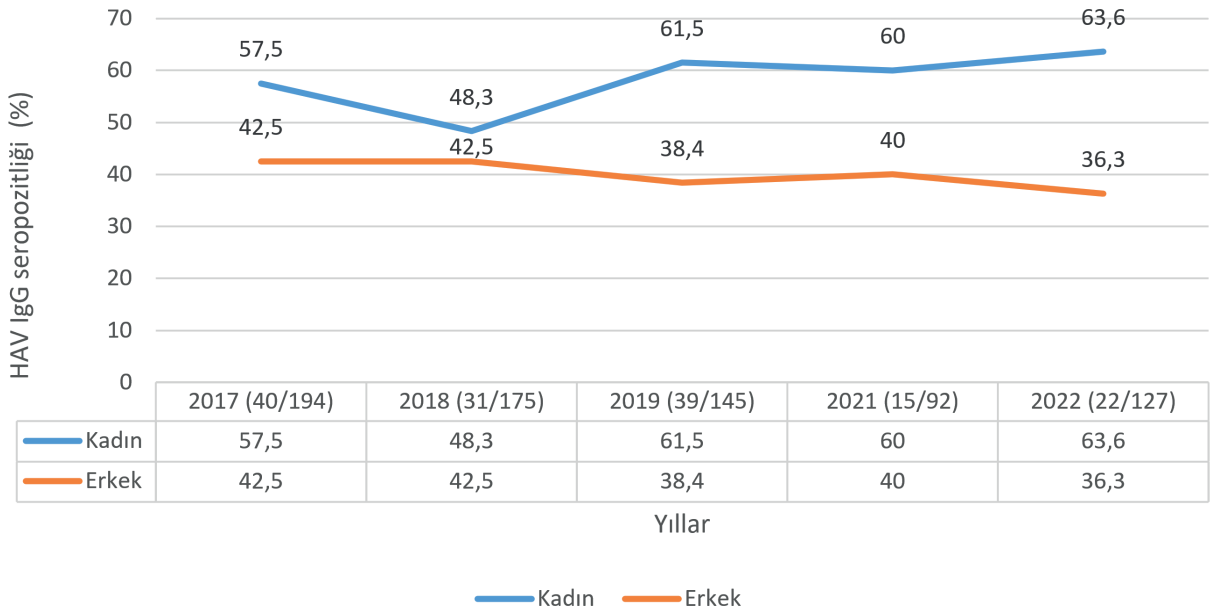
Öğrencilerin yaş ortalaması 20.55 yıl ve ortanca yaş 20 ± 2.24 yıldır. Tüm öğrencilerin HAV IgM değerleri negatif olarak bulunmuştur.

HAV IgG seropozitif olarak saptanan öğrencilerin oranı %20 ($n=147$)'dir. HAV IgG seropozitifliği en yüksek olarak 2019 yılında %26.9 oranıyla saptanmıştır. En düşük oran %16.3 ile 2021 yılına aittir. Kadın öğrencilerdeki seropozitiflik oranı %57.8 (85/147), erkek öğrencilerde %42 (62/147)'dir. Cinsiyetler arasında HAV IgG seropozitiflik oranlarının dağılımı incelendiğinde kadınlarda seropozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.001$).

Yaş ile seropozitiflik ilişkisi incelendiğinde, HAV IgG pozitif bireylerin yaş ortalaması 20.9 iken; HAV IgG negatif bireylerin yaş ortalamaları 21.16 yıl olarak



Şekil 1. Kadın ve erkek öğrencilerin yıllara göre dağılımı (N=733). Yıllara göre katılımcıların cinsiyete göre dağılımları izlenmekte olup, kadın öğrencilerin oranı %54.4 iken erkek öğrencilerin oranı %45.5'dir.



Şekil 2. Yıllara göre HAV IgG seropozitifliğinin dağılımı (n=147/733). HAV IgG seropozitifliği 2019 yılında %26.9 oranla en yüksek oranda olup, en düşük oran %16.3 ile 2021 yılına aittir.

bulunmuş ve her iki grup arasında istatistiksel bir fark saptanmamıştır (p=0.585) Yıllara göre HAV IgG değerlerinin pozitiflik oranlarının dağılımı Şekil 2’de görülmektedir.

TARTIŞMA

Dünya çapında hijyen ve sosyoekonomik koşullardaki iyileştirmeler, daha düşük hastalık insidansı ile sonuçlanmıştır. HAV enfeksiyonu insidansı açısından orta endemik düzeylere sahip ülkelerde kapsamlı aşılama çalışmalarının yararlı olduğu Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından vurgulanmaktadır⁽⁸⁾. HAV enfeksiyonu, çocukluk döneminde bağışıklama stratejileri ile geniş çapta aşılama ile önlenabilir bir hastalıktır. Ülkemizde HAV aşısı uygulaması 2012 yılında başlamış olup 1 Mart 2011 ve daha sonra doğan çocuklara 18. ve 24. ayda olmak üzere iki doz halinde aşı yapılmaktadır⁽⁵⁾. HAV öncelikle su, yiyecek ve enfekte bir kişiyle doğrudan temas yoluyla bulaşır. Teorik olarak, sağlık çalışanlarının hepatit A ile enfekte hastalarla doğrudan temas şansı daha yüksektir ve genel popülasyondan daha yüksek risk altındadır. HAV aşısı, Türkiye’deki sağlık çalışanları için Sağlık Bakanlığı tarafından önerilmektedir⁽⁹⁾. Haliyle

sağlık alanında eğitim almış ve saha becerilerini geliştirmek için hastanelere uygulama eğitimlerine giden öğrenciler de bulaşıcı hastalık taşıyan hastalarla temas etme potansiyeline sahiptir. Bu nedenle HAV enfeksiyonu için risk altında olan bu öğrencilerin ya eğitimlerinin başında ya da klinik eğitimlerinden önce, hepatit A için taranması gerekmektedir. Tüm bu veriler ışığında çalışmamızda stajyer sağlık teknikerlerindeki HAV seroepidemiolojisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, yaklaşık beş öğrenciden dördü HAV’a karşı bağışık değildi ve HAV IgG seropozitif olarak saptanan öğrencilerin oranı %20 (n=147) olarak bulundu. Türkiye’de yapılan benzer çalışmalarda anti-HAV IgG seropozitifliği %51⁽¹⁰⁾, %27.3⁽¹¹⁾ ve %15⁽¹²⁾ olarak bildirilmiştir. Kore’de⁽¹³⁾, tıp fakültesi 1. ve 3. sınıf öğrencileri arasında %11.4 olarak bildirilen anti-HAV seropozitifliği, başka bir çalışmada %34⁽¹⁴⁾ olarak bildirilmiştir. İtalya’da yapılan bir çalışmada, hemşirelik öğrencilerinin %3.16’sının HAV’a karşı bağışık olduğu görülmüştür⁽¹⁵⁾. Çalışmalar arasındaki bu farklılıklar katılımcıların sağlık davranışları, hijyen, sağlık koşulları, ülkenin ve hatta yaşadıkları ilin sosyoekonomik düzeyine bağlanabilir.

Çocuklarda ve ergenlerde HAV enfeksiyonu insidansı azalırken, yetişkinlerde HAV enfeksiyonu riski artmaktadır⁽⁸⁾. Anti-HAV IgG seropozitiflik oranının artan yaşla ilişkili olduğu bilinmektedir⁽¹⁶⁾. Çalışmamızda bulgularımız çok sayıda öğrencinin HAV enfeksiyonuna karşı doğal bağışıklığa sahip olmadığını ve virüse duyarlı olduğunu göstermiştir.

Araştırmada 1999 ve sonrasında doğan öğrenciler çalışmanın evrenini oluşturduğundan en küçük öğrencinin doğum tarihi dahi HAV aşısının rutin olarak uygulandığı tarihten öncedir. Bu bağlamda, HAV seropozitifliğinin %20 oranında bulunması anlamlıdır. Hijyen alışkanlıklarının artmaya başladığı, sosyoekonomik ve sosyokültürel düzeyin yükseldiği, gecekondulaşmadan şehirleşmeye geçişlerinin etkisiyle alt yapı eksikliklerinin azaldığı bir dönemin kuşağı olan 1996 sonrası doğan Z kuşağı, HAV bakımından seropozitifliğin azalıp değişen bir epidemiyolojiye sahip olduğu dönemin çocuklarıdır. Bu gerçekler, çalışmanın da örneklem grubunu oluşturan Z kuşağının seropozitiflik oranının %20 olarak saptanmasını açıklar. Sağlık çalışanları ve öğrencilerinin HAV IgG prevalansının değerlendirildiği bir çalışmada, personelin seropozitiflik oranı %92.2 iken öğrenci grubunda %57.5 bulunmuştur⁽¹⁷⁾. Sağlık programları öğrencileriyle yapılan bir başka seroprevalans çalışmasında ise Anti HAV IgG pozitifliği %15.9 bulunurken, artan yaşın seropozitiflikle korelasyon gösterdiği bildirilmiştir⁽¹⁸⁾. Ülkemizde giderek değişen yaşam standardı ile birlikte HAV enfeksiyonu ortalama yaşının daha ileri yaşlara kayacağını tahmin ediyoruz. Bu nedenle, önümüzdeki yıllarda duyarlı öğrenci sayısının artabileceği kanısındayız. Bu öğrenci grupları HAV enfeksiyonu için yüksek risk altında olduklarından stajları başlamadan önce iki doz olacak şekilde aşılanmalıdırlar.

Song ve ark.'nın⁽¹⁹⁾ çalışmasında, tek doz aşılanan bireylerde seropozitifliğin aşılamadan 11 ay ile iki yıl gibi bir süre aralığında azaldığı izlenmişti. Benzer bir çalışmada tek doz ve iki doz aşılanmış öğrenci gruplarının Anti-HAV IgG titreleri karşılaştırılmış ve iki doz aşılanan grubun 29.7 kat daha fazla antikor titresi oluşturduğu saptanmıştır⁽²⁰⁾. Bunlar ve

benzeri çalışmalarda da gösterildiği gibi; özellikle sosyoekonomik düzeyi düşük ve endemik bölgelerde aşı maliyetini düşürmek amacıyla tez doz aşılanan bireylerde bağışıklığın zamanla azalması, iki doz aşının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Apaydın ve ark.'nın⁽²¹⁾ sağlık çalışanlarında viral hepatit seropozitifliğini araştırdıkları bir çalışmada, çalışmaya dahil edilen tüm sağlık çalışanlarında HAV IgG seropozitifliği %58.8 iken yaş grubu olarak ele alındığında bu oran, 18-25 yaş grubu sağlık çalışanlarında %38 olarak saptanmıştır ve daha ileri yaş gruplarında doğal bağışıklık ile kazanılan seropozitifliğin baskın olduğu izlenmiştir. Bizim çalışmamızda seropozitifliğin düşük bulunması; verilerin öğrencilerin saha uygulamasına çıkmadan önce elde edilmesi dolayısı ile maruziyet yada aşılamanın henüz gerçekleşmemesi ile ilişkili olabilir.

Yaş grupları ve HAV IgG seropozitifliği üzerine yapılan çalışmalarda alfa kuşağı olarak tabir edilen 2010 ve sonrasında doğan bireylerde aşılama sebebiyle yüksek seropozitiflik saptanmaktadır. Yaş ortalaması beşinci ve altıncı dekadlarda olan X kuşağı ile üç ve dördüncü dekadlardaki Y kuşaklarında asemptomatik tablo ya da geçirilmiş akut viral hepatit öyküsü olan bireylerin seropozitifliği gözlenebilir. Erişkin yaş gruplarında HAV IgG seroprevalansının araştırıldığı bir çalışmada⁽²²⁾ %80 oranında pozitiflik görülürken, Ertürk ve ark.'nın⁽²³⁾ çalışmasında HAV seropozitifliği çocuklarda %29.5 ve yetişkinlerde %75 olarak saptanmıştır.

Anti-HAV IgG prevalansının yıllara göre dağılımı değerlendirildiğinde, özellikle rutin aşı takvimine HAV'ın dahil edilmesinden önceki dönemlere dek bir düşüş sergilediği; 2012 yılından sonra yüksek erişkin seropozitifliğinin yerini bağışık çocuklara bıraktığı ve yıllara göre bu oranın arttığı izlenmektedir. Rutin aşılanmanın henüz başlamadığı bir dönemde yapılan ve on bir yıllık epidemiyolojik değişimi inceleyen bir çalışmada; HAV IgG seropozitifliğinin okul çağı çocuklarında anlamlı ölçüde düştüğü belirlenmiştir⁽²⁴⁾. Çalışmamızda HAV IgG seropozitifliği 2019 yılında %26.9 oranla en yüksek olarak saptanırken diğer

yıllara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p<0.001$), 2021 yılı HAV IgG seropozitifliğinin %16.3 bulunması ile en düşük yıl olmuştur. Pandemi döneminde sağlık stajyerlerinin uzaktan eğitim ile öğrenim görmesi nedeniyle 2020 yılına ait veri bulunmamaktadır. 2021 yılında ise normalleşme sürecinin başlamasıyla kademeli olarak stajyer kabulü gerçekleşmiş olup o yıla ait düşük oranın sebebinin kısıtlı veriden kaynaklandığı aşikardır. Kadın öğrencilerdeki seropozitiflik oranı %57.8 (85/147), erkek öğrencilerde %42 (62/147)'dir. Samsun'da farklı yaş gruplarında HAV IgG seroprevalansının araştırıldığı bir çalışmada, bizim çalışmamızdaki sonuçlara benzer olarak 18-30 yaş grubundaki kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı yüksek seropozitiflik saptanmıştır⁽²⁵⁾. Bu durum, her iki çalışmanın örneklem grubunda yer alan kadın öğrenci sayısının erkek öğrenci sayısından fazla olmasından kaynaklı matematiksel bir sonuç olarak yorumlanabilir.

Ülkemizin çeşitli bölgelerinde, üniversite öğrencileri ve sağlık çalışanlarındaki HAV IgG seropozitifliğini araştıran birçok çalışma yer almaktadır. Aktaş ve ark.'nın tıp fakültesi üçüncü sınıf öğrencilerindeki viral hepatit serolojilerini araştırdıkları çalışmaları; bizim çalışmamızdaki yaş grubuna çok yakın bir grubu değerlendirmesi bakımından karşılaştırıldığında HAV IgG seroprevalansının (%97.6), bu çalışmadaki sonuçtan (%20) oldukça farklı olduğu dikkati çekmektedir⁽²⁶⁾. Benzer yaş gruplarında yapılmış farklı çalışmalarda HAV IgG seropozitifliği %77.5 ile %94 arasında değerler olarak değişmektedir⁽²⁷⁻³⁰⁾. Bu çalışmalarda seropozitiflik yönünden değerlendirilen öğrenciler devlet okullarında öğrenim görmekte iken; bizim çalışmamızın örneklem grubunu özel vakıf üniversitesi öğrencileri oluşturmaktadır. İki grup arasındaki seroprevalans değerlerindeki farklılıklar, sosyoekonomik ve sosyokültürel değişkenlerin birer sonucu olabilir. Brezilya'da özel ve devlet okullarında öğrenim gören 7-14 yaş grubu okul çocuklarında HAV IgG seroprevalansı araştırılmış ve özel okullarda HAV IgG prevalansı %36.5 olarak bulunurken, devlet okullarında %71.5 olarak saptanmıştır⁽³¹⁾. Öğrencilerin sosyoekonomik ve sosyokültürel özelliklerinin de değerlendirildiği bu çalışmada ebeveynlerin eğitim durumu, evdeki ortak kullanılan tuvalet sayısı, öğrenciye ait bir oda olup olmadığı gibi HAV bulaşını kolaylaştırıcı ve önleyici faktörler de araştırılmıştır.

Çalışmamızın sınırlılıkları temel olarak veri toplama ile ilgilidir. Katılımcılara anket uygulanmadığı için öğrencilerin yaşadıkları yerin sosyoekonomik durumu, ailelerinin eğitim durumu ve meslekleri, ailelerinin genel sağlık durumu, geçirilmiş akut viral hepatit öyküsünün varlığı, öğrencilerin yurtdışı veya ailelerinin yanında yaşayıp yaşamadıkları bilinmediği için sonuçlar epidemiyolojik olarak yeterince değerlendirilememiştir.

Bu çalışmada bağışıklık oranının düşük bulunması, akut viral hepatitler bakımından sağlık çalışanlarının ve stajyerlerinin mesleki maruziyet riski taşıması nedeniyle endişe vericidir ve iki doz aşı ile tam korunma sağlanması büyük önem arz etmektedir. Ayrıca sağlık önlemlerine, sağlıklı içme suyu erişimine, bireylerin özbakım ve hijyen kurallarına uyumuna bağlı olarak enfeksiyon riskinin azaltılabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Dünyayı tehdit eden kuraklık yakın zamanda temiz su kaynaklarına erişimi kısıtlayabilir ve HAV gibi fekal-oral yolla bulaşan ajanlar salgınlara yol açabilir. Bu nedenle, aşı ile önlenabilir enfeksiyonlarda erişkin aşılanmanın öneminin de vurgulanması gerekmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma; Nevşehir Hacı Bektaş Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Yayın Etik Kurulu tarafından (25.10.2021 tarih ve 9/322 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Nevşehir Hacı Bektaş University, Non-Invasive Clinical Research Publication Ethics Committee (10.25.2021; 9/322).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Yamamoto C, Ko K, Nagashima S, et al. Very low prevalence of anti-HAV in Japan: high potential for future outbreak. Sci Rep. 2019;9(1):1493. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37349-1>

2. World Health Organization (WHO). Immunological basis for immunization series, nodule 18: Hepatitis a update. WHO, Geneva, Switzerland; 2019.
3. La Bella G, Martella V, Basanisi MG, Nobili G, Terio V, Salandra GL. Food-borne viruses in shellfish: Investigation on norovirus and HAV presence in Apulia (SE Italy). *Food Environ Virol.* 2017;9(2):179-86. <https://doi.org/10.1007/s12560-016-9273-1>
4. Sulkowska E, Masny A, Kalińska A, et al. Hepatitis A virus (HAV) RNA detection in Polish blood donors and likely transmissions through blood components during the 2017-2019 epidemic. *Transfusion.* 2022;63(2):349-59. <https://doi.org/10.1111/trf.17225>
5. Jeong SH, Lee HS. Hepatitis A: Clinical manifestations and management. *Intervirology.* 2010;53(1):15-9. <https://doi.org/10.1159/000252779>
6. Tosun S. Viral hepatitlerin ülkemizdeki değişen epidemiyolojisi. *ANKEM Derg.* 2013;27(Ek 2):128-34.
7. Jung YM, Park SJ, Kim JS, et al. Atypical manifestations of hepatitis A infection: a prospective, multicenter study in Korea. *J Med Virol.* 2010;82(8):1318-26. <https://doi.org/10.1002/jmv.21822>
8. World Health Organization (WHO). Hepatitis A. [<https://www.who.int/en/newsroom/fact-sheets/detail/hepatitis-a>] (Erişim tarihi: 27.Ocak.2023).
9. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı. Türkiye viral hepatit önleme ve kontrol programı (2018–2023). [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/Yayinlarimiz/Programlar/Turkiye_Viral_Hepatit_Onleme_ve_Kontrol_Programi_2018-2023.pdf] (Erişim tarihi: 27.Ocak.2023)
10. Peker E. Sağlık meslekleri öğrencilerinde hepatit A seroprevalansı [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Hatay: Mustafa Kemal Üniversitesi, 2015.
11. Ergin A, Uzun SU, Bozkurt Aİ, et al. Hepatitis a seroprevalence and contributing factors in the sixth year medical faculty students. *TAF Prev Med Bull.* 2013;12(6):625-32.
12. Kader C, Yolcu S, Erbay A, Kilic Akca N, Yuzer S, Polat S. Bozok Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu öğrencilerinde Hepatit-B ve C seroprevalanslarının araştırılması. *Viral Hepat J.* 2013;19(2):49-53. <https://doi.org/10.4274/Vhd.70288>
13. Kim S, Lee JH, Hwang JH, Lee CS. Hepatitis A antibody seroprevalence among medical school students. *Am J Infect Control.* 2011;39(10):889-90. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2011.03.001>
14. Hosseini Shokouh SJ, Dadashi A, Abiri M, et al. HAV immunity in Iranian medical students. *Hepat Mon.* 2015;15(3):e26219. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.26219>
15. Campagna M, Maria Mereu N, Mulas L, et al. Pattern of hepatitis A virus epidemiology in nursing students and adherence to preventive measures at two training wards of a university hospital. *Hepat Mon.* 2016;16(2):e34219. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.34219>
16. Koroglu M, Jacobsen KH, Demiray T, Ozbek A, Erkorkmaz U, Altindis M. Socioeconomic indicators are strong predictors of hepatitis a seroprevalence rates in the Middle East and North Africa. *J Infect Public Health.* 2017;10(5):513-7. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.09.020>
17. Öncü S, Öztürk B, Aydemir M, Öncü S, Sakarya S. Sağlık çalışanları ve öğrencilerinde Anti HAV IgG prevalansı. *Viral Hepat J.* 2004;9(3):162-5.
18. Ödemiş İ, Köse Ş, Tatar BG, Akbulut İ, Albayrak H. Genç sağlık çalışanlarında hepatit A, B, C ve HIV seroprevalansının değerlendirilmesi; kesitsel çalışma. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları Dergisi.* 2018;8(1):8-14. <https://doi.org/10.5222/buchd.2018.008>
19. Song YJ, Lim J, Park WS, et al. Seropositivity among Korean young adults approximately 2 years after a single-dose vaccination against hepatitis A virus. *PLoS One.* 2015;10(11):e0142297. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142297>
20. Mayorga O, Bühler S, Jaeger VK, et al. Single-dose hepatitis A immunization: 7.5-year observational pilot study in Nicaraguan children to assess protective effectiveness and humoral immune memory response. *J Infect Dis.* 2016;214(10):1498-506. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw411>
21. Apaydın H, Demir Ş, Karadeniz A. Bir tıp fakültesi hastanesi sağlık çalışanlarında Hepatit A, Hepatit B, Hepatit C seroprevalansı ve aşılama durumu. *Sakarya Tıp Dergisi.* 2021;11(2):360-5. <https://doi.org/10.31832/smj.806090>
22. Iraz M, Gültepe B, Doymaz MZ. Erişkin yaş gruplarında Hepatit A seroprevalansı. *Abant Med J.* 2015;4(1):54-8. <https://doi.org/10.5505/abantmedj.2015.82473>
23. Ertürk A, Çiçek AÇ, Cüre E, Akdoğan RA, Öztürk Ç. Rize ilinde erişkin yaş gruplarında Hepatit A seroprevalansı. *Viral Hepat J.* 2013;19(2):85-8. <https://doi.org/10.4274/Vhd.79188>
24. Alhan E, Kozanoğlu B, Tümgör G, Çelik Ü, Akgün Y, Bozdemir N. Epidemiological shift of hepatitis A in central Adana, Turkey. *Turk J Gastroenterol.* 2014;25(Suppl. 1):S6-8. <https://doi.org/10.5152/tjg.2014.4163>

25. Çeviker SA, Günal Ö, Kılıç SS, Köksal E, Tahmaz A. Samsun ilinde farklı yaş gruplarında Hepatit A virüsü seroprevalansı. Balıkesir Sağlık Bil Derg. 2019;8(2):81-6.
26. Aktaş AE, Yiğit N, Ayyıldız A, Uslu H, Babacan M. Tıp fakültesi 3. sınıf öğrencilerinde HAV, HBV ve HCV enfeksiyonu ile karşılaşma durumu. Viral Hepat J. 2001;2(1):335-6.
27. Tosun S, Ertan P, Kasırga E, Atman U. Change in seroprevalence of hepatitis A in children and adolescents in Manisa, Turkey. Pediatr Int. 2004;46(6):669-72.
28. Tosun S, Kasırga E, Özbakkaloğlu B. Zihinsel engelli okulu öğrenci ve personeline hepatit A ve B virüsleri görülme sıklığı. Ondokuz Mayıs Ü Tıp Fak Derg. 2001;18(4):242-8.
29. Tosun S, Yıldız O, Tekin Koruk S. Kronik HBV ve HCV olgularının HAV ile karşılaşma durumlarını yeterince değerlendiriyor muyuz? XI. Ulusal Viral Hepatit Kongresi.12-15 Nisan 2012, Antalya, 2012; Kongre Kitabı, s. 80.
30. Kadanalı A, Balık Ö, Aliğaoğlu C, Özkurt Z. Akut ve kronik ürtikerli olgularda hepatit A, hepatit B ve hepatit C sıklığı. ANKEM Derg. 2004;18(Ek 1):29.
31. Gomes MA, Ferreira Ade S, da Silva AA, de Souza ER. Hepatitis A: seroprevalence and associated factors among schoolchildren of São Luís (MA), Brazil. Rev Bras Epidemiol. 2011;14(4):548-55.

Yoğun Bakım Ünitelerinde Trakeal Aspiratlardan İzole Edilen Bakteriyel Solunum Yolu Patojenleri ve Antimikrobiyal Direnç Profilleri

Bacterial Respiratory Pathogens and Antimicrobial Resistance Profiles Isolated from Tracheal Aspirates in Intensive Care Units

Elanur Deligöz*, Osman Aktaş**

* Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Erzurum, Türkiye

** Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

Atıf/Cite as: Deligöz E, Aktaş O. Yoğun bakım ünitelerinde trakeal aspiratlardan izole edilen bakteriyel solunum yolu patojenleri ve antimikrobiyal direnç profilleri. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):57-67.

Öz

Amaç: Solunum yolu enfeksiyonları mortalite, morbiditeye neden olan önemli sağlık sorunlarından biridir. Bu çalışma, yoğun bakım ünitelerindeki hastaların trakeal aspirat örneklerinde üreyen mikroorganizmaların belirlenmesi ve sıklıkla izole edilen bakterilerin antimikrobiklere direnç profillerinin tespiti amacıyla planlanmıştır.

Yöntem: Yoğun bakım ünitelerinden 2018–2020 yılları içinde mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen ve patojen pozitif olarak bulunan 14.144 trakeal aspirat örneğinden izole edilen bakteri çeşitliliği ve bu bakterilerin antimikrobiyal dirençleri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hasta bilgileri ve laboratuvar verileri Sisoft Sağlık Bilgi Sistemlerinden alınarak bilgisayar ortamından aktarılmıştır. Bakterilerin tanısı rutin yöntemlerle; antibiyotik dirençleri disk difüzyon yöntemi ya da VITEK® 2 cihazı ile otomatize duyarlılık test sistemiyle araştırılmıştır.

Bulgular: Trakeal aspiratların %66.0'ında gram negatif, %34.0'ünde gram pozitif bakteri üredi. Koagülaz negatif stafilokoklar (%20.1), en sık üreyen bakteriler olmuş bunu *Pseudomonas aeruginosa* (%19.2), *Klebsiella pneumoniae* (%17.5), *Acinetobacter baumannii* (%14.5) ve *Staphylococcus aureus* (%6.5) takip etmiştir. Gram negatif bakterilerde imipenem, meropenem, amikasin; gram pozitiflerde linezolid ve tetrasiklin en etkili antibiyotiklerdi. Gram negatif bakteriler en yüksek direnci amoksisilin/klavulonik asit, piperasilin ve seftazidime göstermiştir. Gram pozitiflerden stafilokoklar en yüksek direnci penisilin, eritromisin ve trimetoprim-sulfametoksazole; enterokoklar SXT'ye ve *S. agalactiae* tetrasiklin ve gentamisine karşı göstermişlerdir.

Sonuç: Trakeal aspiratlardan sık izole edile bakterilerin tedavide kullanılan antibiyotiklere yüksek oranda dirençli oluşu tedavi seçeneklerini kısıtlayan ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin dikkate alınmasını gerektiren bir sonuçtur.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal direnç, Trakeal aspirat kültürü, Solunum Yolu enfeksiyonları

ABSTRACT

Objective: Respiratory infections are important health problems that cause mortality and morbidity. This study was planned to determine the microorganisms growing in tracheal aspirate samples of patients in intensive care units and the antimicrobial resistance profiles of frequently isolated bacteria.

Methods: The bacterial diversity and antimicrobial resistance of bacteria isolated from 14,144 tracheal aspirate samples, which were sent to microbiology laboratory from intensive care units between 2018 and 2020 and found to be pathogen-positive, were evaluated retrospectively. Patient information and laboratory data were taken from Sisoft Health Information Systems and transferred to the computer environment. Diagnosis of bacteria is done by routine methods; antibiotic resistance was investigated using the disk diffusion method or the automated susceptibility testing system with the VITEK® 2 device.

Results: Gram-negative bacteria grew in 66.0% of tracheal aspirates, and gram-positive bacteria grew in 34.0%. Coagulase-negative staphylococci (20.1%) was the most frequently growing bacteria, followed by *Pseudomonas aeruginosa* (19.2%), *Klebsiella pneumoniae* (17.5%), *Acinetobacter baumannii* (14.5%), and *S. aureus* (6.5%). The most effective antibiotics were imipenem, meropenem, and amikacin in the gram-negatives, and linezolid and tetracycline in the gram-positives. Gram-negatives showed the highest resistance to amoxocillin/clavulanic acid, piperacillin, and ceftazidime. Among gram-positives, staphylococci have the highest resistance to penicillin, erythromycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole; enterococci against SXT; and *S. agalactiae* against tetracycline and gentamicin.

Conclusion: The high resistance of bacteria frequently isolated from tracheal aspirates to antibiotics used in treatment is a result that limits treatment options and requires infection control measures to be taken into consideration.

Keywords: Antimicrobial resistance, Tracheal aspirate culture, Respiratory infections

Alındığı tarih / Received:
07.11.2023 / 07.November.2023

Kabul tarihi / Accepted:
15.01.2024 / 15.January.2024

Yayın tarihi / Publication date:
25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

E. Deligöz 0000-0003-3945-2138
O. Aktaş 0000-0002-7762-4108

✉ osaktas@atauni.edu.tr

GİRİŞ

Solunum yolları enfeksiyonları (SYE) hastane ve toplumdan kazanılan morbidite ve mortalitesi yüksek hastalıklardır. Sağlık Hizmeti ilişkili Enfeksiyonlar (SHİE) en sık olarak, ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) gibi SYE'nin sık görüldüğü yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde gelişmektedir⁽¹⁾. SYE'ler sıklıkla virüsler ve *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* ve *Mycoplasma pneumoniae* gibi bakteriler nedeniyle ortaya çıkar⁽²⁾. İnsanda geniş bir yüzey alanına sahip solunum yollarının üst kısmı bakterilerin yoğun olduğu vücut bölgeleridir⁽³⁾. Önceleri steril kabul edilen akciğerlerin son 15 yılı aşkın süredir yeni mikrobiyal tekniklerinin kullanıma girmesiyle çeşitli mikrop topluluklarını barındırdığı ortaya çıkarılmıştır⁽⁴⁾. Nazofaringeal bölgeye bireyin yaşamı boyunca en az bir kez *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *Moraxella catarrhalis* gibi çeşitli patojenler kolonize olabilmektedir⁽⁵⁾. Solunum yollarının farklı nişlerindeki normal flora, patojenlerin kolonizasyonuna engel olan bir bariyer rolü oynamaktadır⁽⁶⁾.

Akciğer kanserleri dâhil solunum yolu hastalıklarını tanılamada nazofaringeal yıkama/aspirasyon örneklerinin yanı sıra balgam, orofaringeal sürüntüler, bronkoalveolar lavaj (BAL), bronşiyal fırça ve plevral mayiler sıklıkla kullanılan örneklerdir⁽⁷⁾. SYE tanısında, antijen ve antikor ve nükleik asit tespiti için serum, plazma, idrar, dışkı, gastrik lavaj gibi solunum dışı örnekler de kullanılmaktadır⁽⁸⁾. VİP gibi alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYE) şüphesinde, patojeni tanımlamak için hastanın bronkoskopik fırça, BAL veya endotrakeal aspirasyon ile alınan örneklerin kantitatif kültürünün gerektiği ifade edilmektedir⁽⁹⁾. SYE'li hastalardan trakeal salgıların elde edilmesi nispeten basit, minimal invaziv işlem gerektiren ucuz işlemlerdir. Buna rağmen, pozitif aspirat kültürlerinin entübe yenidoğanlarda klinik, laboratuvar veya radyografik bulgularıyla anlamlı bir ilişkisinin olmadığı; hastaların gereksiz ve uzun süreli antibiyotik etkisine maruz kalabileceği de belirtilmektedir⁽¹⁰⁾.

Trakeal aspirat kültürlerinden sıklıkla izole edilen gram negatif bakterilerin karbapenemlere; *Staphylococcus aureus* gibi gram pozitiflerin metisiline direnci günümüzde sorun olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, izole edilen bakterilerin yıllar içinde antibiyotik dirençlerindeki değişimlerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu çalışmasının amacı solunum yolu şikâyetleri ile YBÜ'lerinde tedavi gören olguların trakeal aspirat kültürlerinde üreyen mikroorganizma spektrumunu ve antimikrobiyal direnç profillerini belirlemek ve SYE etkenlerinden korunma ve sağlık tedbirleri hakkında öneriler sunmaktır.

GEREK VE YÖNTEM

Bu araştırma, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (04.03.2021 tarih ve 13 karar numarası) onaylanmıştır. Bu çalışma, Prof. Dr. Osman Aktaş danışmanlığında yürütülen yüksek lisans tezinden türetilmiştir.

Araştırmada, 2018-2020 yıllarını kapsayan üç yıllık sürede Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen ve üreme olan 14.144 trakeal aspirat kültürü değerlendirilmiştir. Hasta bilgileri ve laboratuvar verileri hastane Sisoft Sağlık Bilgi Sistemleri'nden bilgisayar ortamından aktarılmıştır.

Trakeal Aspirat Örneklerinin Kültürü: YBÜ'lerinde tedavi gören yetişkin ve çocuk hastalardan 2-3 mL alınarak vida kapaklı steril tüplere aktarılan trakeal aspirat örnekleri laboratuvarımıza ulaştığında standart halka öze ile alınan örnekten (~0.01 mL) EMB (Eosin Methylene Blue) ve kanlı agar plaklarına çizgi ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan EMB ve Kanlı agar plakları etüvde 35-37°C 18-24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

Kültürlerin Değerlendirilmesi: İnkübasyon bitiminde üreyen mikroorganizmaların kolonileri sayılmıştır. Laboratuvarımızda kantitatif kültür eşiği ≥ 105 cfu/ml anlamlı olarak kabul edilmektedir. Bu eşiğin altındaki

herhangi bir organizmanın üremesi kolonizasyon veya kontaminasyon kaynaklı olarak değerlendirilmiştir. Besiyerlerinde üreyen her bir koloni ml'de 100 koloniyi gösterdiği için trakeal aparatlarında 1000 koloni ve daha fazlası ($\geq 10^5$ cfu/ml) kültür pozitif olarak rapor edilmiştir^(11,12). Pozitiflik sınırına ulaşan kültürler üreyen bakteri türü dikkate alınarak antibiyogram işlemine geçilmiştir.

Mikroorganizmaların Tanısı: Etken kabul edilen mikroorganizmalar $\geq 10^5$ cfu/ml ya da daha fazla CFU/ml üreyen bütün mikroorganizmaların tür ya da cins seviyesinde tanısı bakteriler gram boyanma özelliği, besiyeri plaklarındaki koloni morfolojileri katalaz, oksidaz, koagülaz enzim aktiviteleri sonuçlarına göre rutin yöntemlerle konulmuştur. Bakterilerin tanısında BD Phoenix™ 100 (Becton Dickinson, ABD) otomatize tanı ve duyarlılık test sistemi cihazlarından da yararlanılmıştır.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri: Antibiyogram işlemleri çalışmayı kapsayan 5 yıllık süreçte genel olarak BD Phoenix™ cihazı ile çalışılmış ve duyarlılık sonuçları "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST)'e göre değerlendirilmiştir.

Üreyen bakterilerin gram pozitif veya gram negatif ayrımı yapıldıktan sonra gram pozitif bakteriler BD Phoenix™ PMIC/ID-600, gram negatif bakteriler ise BD Phoenix™ NMIC/ID-433 test paneli ile tür tanısı ve antibiyogram işlemi firmanın önerdiği cihazın talimatlarına göre gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analizler: Hasta bilgileri ve laboratuvar sonuçları Mac için Microsoft Excel (sürüm 16.70) programına girilerek tablo ve grafikler oluşturulmuş ve olguların tanımlayıcı analizleri bu programın veri çözümlemesi araçları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde ettiğimiz frekans verilerinin değişkenler arasındaki ilişkisi, "IBM SPSS Statistics 24.0" analiz programı kullanılarak χ^2 (Ki-kare) testi ile araştırılmış ve $p < 0.01$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir⁽¹³⁾.

BULGULAR

Yoğun bakım ünitelerinden gönderilen ve üreme pozitif 14.144 trakeal aspirat örneğinin yaş ve cinsiyete göre dağılımları Tablo 1'de verilmiştir. Olguların %62.4'ü 0-98 yaş aralığında ortalama yaşı 54.9 olan kadın; %37.6'sı ise 0-99 yaş aralığında ortalama yaşı 55.2 olan erkeklerden oluşmuştur. Hastaların 13.265 (%93.8)'i 18 ve üzeri yaşlarındaydı. Patojen pozitifliği erkeklere göre kadınlarda; çocuklara göre yetişkinlerde istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik göstermiştir ($SD=4$, $N=14.144$, $\chi^2=269.66$, $p<0.00001$).

Örneklerin gönderildikleri farklı YBÜ'lerinde cinsiyete göre dağılımları Tablo 2'de verilmiştir. Trakeal aspiratlarda patojen pozitifliği en fazla Dahili YBÜ'de tespit edilmiş, her iki YBÜ grubunda patojen pozitif kadınların sayısı erkek hastalara oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($SD=1$, $N=14.144$, $\chi^2= 45.20$, $p<0.00001$).

Tablo 1. Patojen saptanan trakeal aspirat örneklerinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş grupları (yıl)	N (%)	Kadın n (%)	Erkek n (%)	χ^2	p
0-5	742 (5.2)	322 (2.3)	420 (3.0)	269.66	< 0.01
6-17	137 (1.0)	118 (0.8)	19 (0.1)		
18-44	3.656 (25.8)	2.466 (17.4)	1.190 (8.4)		
45-64	4.782 (33.8)	3.156 (22.3)	1.626 (11.5)		
65 ve üzeri	4.827 (34.1)	2.759 (19.5)	2.068 (14.6)		
Toplam	14.144 (100.0)	8.821 (62.4)	5.323 (37.6)		

Tablo 2. Patojen pozitifliğinin cinsiyet veya yoğun bakım ünitesi (YBÜ) kliniklerine göre dağılımı

YBÜ Klinikleri	Kadın n (%)	Erkek n (%)	Toplam N (%)	χ^2	p
Dâhili YBÜ'ler	5618 (39.7)	3088 (21.8)	8706 (61.6)	45.20	< 0.00001
Cerrahi YBÜ'ler	3203 (22.6)	2235 (15.8)	5438 (38.4)		

Tablo 3. Trakeal aspirat örneklerinde üreyen bakteriler

Bakteriler	N	%
Gram pozitif bakteriler	4812	34.0
Koagülaz negative stafilokoklar	2843	20.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	919	6.5
<i>Enterococcus faecium</i>	337	2.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	304	2.1
Diğer <i>Enterococcus</i> spp.	36	0.3
<i>Streptococcus agalactiae</i>	146	1.0
<i>Streptococcus</i> spp.	227	1.6
Gram negatif bakteriler	9332	66.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2715	19.2
Diğer <i>Pseudomonas</i> spp.	30	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2476	17.5
Diğer <i>Klebsiella</i> spp.	389	2.8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2048	14.5
Diğer <i>Acinetobacter</i> spp.	35	0.2
<i>Escherichia coli</i>	407	2.9
<i>Proteus mirabilis</i>	331	2.3
Diğer <i>Proteus</i> spp.	95	0.7
<i>Enterobacter cloacae</i>	182	1.3
Diğer <i>Enterobacter</i> spp.	148	1.0
<i>Citrobacter</i> spp.	80	0.6
<i>Morganella morganii</i>	65	0.5
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	59	0.4
<i>Burkholderia</i> spp.	48	0.3
<i>Serratia marcescens</i>	25	0.2
<i>Providencia rettgeri</i>	14	0.1
Diğer gram negatifler*	185	1.3
Toplam	14.144	100.0

**Cedecea lapagei* (6); *Alcaligenes faecalis* (4); *Providencia stuartii* (3); *Pantoea agglomerans* (2); *Aeromonas caviae* (1); *Elizabethkingia meningoseptica* (1); *Serratia liquefaciens* (1); tanımlanmamış gram negatif bakteriler (167)

Trakeal aspiratlardan izole edilen bakteriler Tablo 3'te gösterilmiştir. Üç yıllık süreçte %34.0 gram pozitif, %66.0 gram negatif bakteri izole edilmiştir. Gram pozitif bakteriler içinde en çok üreyeni koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS) ve *Staphylococcus aureus*; gram negatif bakterilerden ise türü tanımlanmış olanlar içinde en fazla üreyenleri *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Acinetobacter baumannii* olmuştur.

Tablo 4, gram pozitif bakterilerin antimikrobiyal direnç profillerinin 2018-2020 yılları içinde değişimini vermektedir. KNS suşları linezolid dışında diğer antibiyotiklere yüksek oranda dirençli bulunmuştur. Total dirençleri dikkate alındığında tetrasiklin, gentamisin, klindamisin ve levofloksasine direnç %50'nin biraz altındayken (%37.4-49.8), siprofloksasin, sefoksitin, trimetoprim-sulfametoksazol (SXT), eritromisin ve penisilin direnç oranları %50.4-92.2 arasında olduğu görülmüştür. KNS suşlarının en dirençli olduğu antibiyotikler penisilin ve eritromisin olmuştur. Bütün yıllar dikkate alındığında *S. aureus* suşlarında en yüksek direnç penisilin ve SXT'ye karşı görülmüş; en etkili antimikrobikler linezolid ve tetrasiklin olmuştur. *S. aureus* için antibiyotik direnci 2020 yılına gelindiğinde genel olarak bir artış eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* suşları SXT ve siprofloksasine yüksek oranda direnç gösterirken linezolidde direnç oranlarının düşük olduğu görülmüştür. *Streptococcus agalactiae* suşlarında linezolid direnci saptanmamış; tetrasiklin ve gentamisine yüksek oranlarda direnç göstermiş; penisilin direncinin ise toplamda %2.3 olduğu görülmüştür.

Tablo 4. Trakeal aspiratlardan izole edilen gram pozitif bakterilerin antimikrobiyal direnç oranları (%)

Bakteri	Yıl	n	LZD	TET	GN	CLI	LEV	CIP	FOX	SXT	E	P
KNS	2018	767	2.9	33.7	34.4	38.9	45.1	46.1	54.2	56.4	70.1	90.8
	2019	1279	2.0	36.8	37.7	44.9	46.9	47.5	63.6	57.8	71.5	97.0
	2020	797	2.8	41.0	48.6	59.4	58.5	58.5	50.0	60.1	78.0	98.4
	Total	2843	2.6	37.4	39.4	47.5	49.8	50.4	54.4	57.3	72.5	92.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	2018	370	0.3	3.4	12.2	14.7	10.6	10.8	9.6	39.6	17.0	92.4
	2019	376	0.3	8.6	10.8	14.1	8.0	8.0	11.5	37.9	13.7	99.3
	2020	173	1.2	16.0	15.0	25.0	12.8	13.8	12.9	40.5	25.8	96.3
	Total	919	0.4	7.8	12.1	17.1	10.1	10.3	10.0	38.3	17.8	96.8
<i>Enterococcus faecium</i>	2018	120	1.7	-	54.0	-	78.6	81.3	-	100.0	-	-
	2019	143	3.5	-	44.9	-	86.5	86.1	-	97.7	-	-
	2020	74	5.4	-	56.3	-	78.9	78.9	-	DS*	-	-
	Total	337	3.3	-	49.6	-	80.0	84.3	-	98.8	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	2018	18	5.6	-	DS	-	33.3	57.1	-	100.0	-	-
	2019	161	0.0	-	22.1	-	17.6	13.6	-	100.0	-	-
	2020	125	0.0	-	16.7	-	19.7	20.5	-	DS	-	-
	Total	304	0.3	-	21.0	-	20.3	22.8	-	100.0	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2018	37	DS	DS	DS	17.4	20.8	0.0	-	0.0	13.3	5.7
	2019	77	DS	DS	DS	1.5	12.5	5.6	-	0.0	4.2	1.4
	2020	32	DS	DS	DS	6.9	9.1	0.0	-	0.0	6.9	0.0
	Total	146	0.0	66.7	51.9	6.0	14.3	2.9	-	0.0	6.9	2.3

KNS: Koagülaz negative stafilokok; LZD: Linezolid; TET: Tetrasiklin; GN: Gentamisin; CLI: Klindamisin; LEV: Levofloksasin; CIP: Siprofloksasin; FOX: Sefoksitin;

SXT: Sülfametoksazol/trimetoprim; E: Eritromisin; P: Penisilin

*DS, düşük sayı, antibiyogramı yapılan suş sayısı 10'dan az olduğu için oran verilmemiştir.

Tablo 5, gram negatif bakterilerin yıllara göre antimikrobiyal dirençlerindeki değişimi göstermektedir. *P. aeruginosa* suşlarında en yüksek antibiyotik direnci piperasilin, amoksisilin/klavulonik asit (AMC) ve seftazidime karşı gözlenmiş, en etkili antibiyotiklerin ise 2020 yılında dirençlerinde artışın gözlemlendiği imipenem, amikasin ve meropenem olduğu görülmüştür. *K. pneumoniae* suşlarının en yüksek direnci sırasıyla AMC ve piperasiline karşı tespit edilmiş; önceki yıllara oranla 2020 yılına göre tüm antimikrobiklere karşı daha yüksek bir direnç gösterdiği saptanmıştır. *A. baumannii* suşları en yüksek direnci AMC ve SXT'ye karşı göstermiş; önceki

yıllara oranla 2020 yılında piperasilin dışında diğer antibiyotiklere daha yüksek bir direnç gösterdiği belirlenmiştir. *Proteus mirabilis* suşları seftazidim ve meropeneme, *Escherichia coli* suşları imipenem, sefepim ve seftriaksona, *Enterobacter cloacae* suşları amikasin, sefepim, seftriakson, seftazidim ve siprofloksasine yıllar içinde kısmi bir direnç artışı göstermiş; bu üç bakteri için en etkili antibiyotik amikasin olmuştur. Diğer etkili antibiyotikler *P. mirabilis* için meropenem, sefepim, seftazidim ve AMC; *E. coli* ve *E. cloacae* için imipenem ve meropenem olduğu görülmüştür.

Tablo 5. Trakeal aspiratlardan izole edilen gram negatif bakterilerin antimikrobiyal direnç oranları (%)

Bakteri	Yıl	n	AN	IP	FEP	CRO	CAZ	MP	CIP	PIP	SXT	AMC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2018	1601	3.0	2.4	21.6	24.7	31.3	4.8	24.4	55.5	33.1	39.8
	2019	809	2.4	2.7	32.1	25.9	38.1	4.8	28	14.7	30.7	33.6
	2020	305	3.7	5.1	30.1	25.8	38.8	5.4	24.3	15.4	26.5	28.2
	Total	2715	3.0	2.9	24.2	25.2	34.3	4.9	25.6	39.2	31.7	36.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2018	750	3.7	2.8	34.8	37.8	31.8	4.9	23.9	62.8	35.8	51.0
	2019	1526	4.3	3.3	33.2	33.2	35.9	5.6	27.9	36.8	32.7	41.6
	2020	200	13.5	27.8	78.2	69.0	79.7	39.5	54.5	64.6	48.2	73.5
	Total	2476	4.9	5.1	36.8	37.3	38.0	8.3	28.6	47.3	35.0	47.5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2018	905	13.9	16.8	21.2	23.1	17.3	22.3	27.3	53.5	40.1	43.4
	2019	810	22.0	25.0	23.4	28.2	35.9	26.5	33.7	19.1	37.0	37.7
	2020	333	29.8	34.8	24.6	30.5	52.5	37.6	42.1	10.3	44.1	37.0
	Total	2048	19.8	23.1	22.1	26.2	27.4	26.8	32.3	33.0	39.5	40.3
<i>Proteus mirabilis</i>	2018	134	3.0	-	3.2	11.2	3.1	1.6	21.1	26.9	50.4	9.4
	2019	130	2.3	-	4.1	11.6	5.7	2.4	24.0	10.9	48.1	9.4
	2020	67	1.5	-	4.3	11.9	7.7	7.7	21.2	9.5	49.3	9.7
	Total	331	2.4	-	3.6	11.5	4.5	3.2	22.3	17.1	49.2	9.5
<i>Escherichia coli</i>	2018	89	4.8	1.7	16.0	19.6	27.8	6.8	17.4	23.5	30.1	45.6
	2019	111	4.5	1.9	43.8	31.7	56.3	3.8	34.2	23.7	30.3	53.6
	2020	207	5.3	2.9	45.7	32.9	51.2	9.2	33.4	22.3	33.8	50.6
	Total	407	5.0	2.4	38.4	30.7	48.1	7.5	30.2	22.8	32.1	50.6
<i>Enterobacter cloacae</i>	2018	64	1.6	3.2	18.0	21.3	17.2	3.3	7.9	32.8	17.2	100.0
	2019	64	3.1	9.8	33.3	44.3	41.2	10.0	22.2	26.2	14.1	100.0
	2020	54	3.7	3.7	51.6	53.7	62.8	9.4	38.9	39.6	37.0	100.0
	Total	182	2.7	5.6	30.6	39.2	37.3	7.5	22.2	32.4	22.0	100.0

AN: Amikasin (AN); IP: İmipenem; FEP: Sefepim; CRO: Seftriakson; CAZ: Seftazidim; MP: Meropenem; CIP: Siprofloksasin; PIP: Piperasilin; SXT: Sülfametoksazol/trimethoprim; AMC: Amoksosilin/Klavulonat

TARTIŞMA

YBÜ'ler yüksek mortalite oranıyla SHİE'nin en sık gözlemlendiği birimlerdir⁽¹⁾. Hastane kökenli pnömoninin, hastanelerdeki tüm enfeksiyonların yaklaşık %15-20'sini oluşturduğu ve üçte ikisinden fazlasının da mekanik ventilasyon kullanmayan hastalardan oluştuğu belirtilmektedir⁽¹⁴⁾. VIP'in hastaların %28'inde görüldüğü ve görülme oranının mekanik ventilasyonun süresine göre değiştiği ifade edilmektedir⁽¹⁵⁾. Solunum güçlüğü çeken YBÜ hasalarının önemli bir bölümü bu invaziv işleme tabi tutulmaktadır. Olgularımızın tümü farklı kliniklerin

YBÜ'lerde tedavi gören enfeksiyon riski altındaki hastalardan oluşmaktaydı. Bu çalışmadan trakeal aspirat örneklerinde SYE ajanlarının cins ve tür dağılımına ve antibiyotik dirençlerine ilişkin öne çıkan başlıca sonuçlar şunlardır: (1) Erzurum'da SYE enfeksiyonlarından 40'ın üzerinde cins ya da tür düzeyinde tanımlanmış geniş bir yelpazede patojen varlığı tespit edilmiştir. (2) Erzurum'da trakeal aspirat örneklerinde kültür pozitifliği kadınlarda erkeklere oranla anlamlı derece yüksek bulunmuştur. (3) YBÜ'lerde kültür pozitif yetişkin hastaların oranının 18 yaşından küçük yaştakilere göre 15 kattan daha fazla olduğu görülmüştür. (4) Patojen

pozitifliğinin yaş gruplarına göre anlamlı farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Öyle ki 65 yaş ve üzeri yaşlı gruptaki pozitifliğin, 0-5 yaş grubuna oranla 6.5 kattan daha fazla olduğu görülmüştür. (5) Dahili YBÜ'lerde cerrahi YBÜ'lerine göre patojen pozitifliği anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. (6) Erzurum bölgesindeki SYE'lerde en sık gözlenenleri gram negatifler içinde *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp., gram pozitiflerden ise KNS ve *S. aureus* olmuştur. İzole edilen bakterilerin 2/3'üne yakını gram negatifler oluşturmıştır. (7) Trakeal aspiratlarda üreyen ve antibiyogramları yapılan gram pozitif bakterilerin linezolid; gram negatif bakterilerin ise imipenem, amikasin ve meropenem dışında denenen antibiyotiklere karşı yüksek oranlarda dirençli oldukları görülmüştür. (8) Yukarıda sıralanan sonuçlar, Erzurum'da SYE'lerin mikrobiyolojik ve klinik açılardan dikkatle takibinin gerektiğini ortaya koymaktadır.

Günümüzden onlarca yıl öncesinde SYE'lerin hastanede yatan yaşlılar, kronik hastalığı olanlar, bağışıklığı baskılananlar ve antibiyotik kullananlarda hastane kaynaklı patojenlerin önemi üzerinde durulduğu, bu patojenler arasında *S. aureus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Pseudomonas* gibi bakteri cinslerinin ön plana çıktığı belirtilmiştir⁽¹⁶⁾. Bugüne gelindiğinde çok fazla bir değişimin olmadığı, bu patojenlerin her iki cinsiyette ve her yaş grubunda sorun olmaya devam ettiği ancak patojen spektrumuna yeni türlerin de katıldığı görülmektedir. YBÜ kliniklerine göre hastanede yatış ve invaziv işlemlere maruz kalma süresi değişmektedir. Cerrahi YBÜ'sinde tedavi gören hastaların, yoğun izleme gerektiren ancak daha az kritik durumlarla ilgilenen dahili YBÜ'lerine göre hastanede kalış ve mekanik ventilasyona bağlanma sürelerinin daha uzun olduğu bilinmektedir. Bu da cerrahi birim YBÜ'lerinde enfeksiyon riskinin yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Ancak, Kabak ve ark.⁽¹⁷⁾ her iki YBÜ grubunda benzer oranlarda *S. aureus* ve gram negatif bakterilerle gelişen VİP vakalarının bulunduğunu belirtmişlerdir. Bütün bunların aksine çalışmamızda patojen pozitif olguların çoğu (%61.6) dahili YBÜ'lerden oluşmuştur. Bu durum olasılıkla dahili birimlere başvuran hasta sayısının daha fazla olduğundan kaynaklanmaktadır.

Ülkemizde ve diğer ülkelerde YBÜ'lerinde trakeal aspiratlardan izole edilen bakteriler farklı oranlarda elde edilmiş olsalar da genellikle benzer bir bakteri çeşitliliği göstermektedir. Yurdumuzda: Uğur ve Genç⁽¹⁸⁾, 2019'da Giresun'da en sık olarak *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*; Caskurlu ve ark.⁽¹⁹⁾, 2020 yılında İstanbul'da *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*; Uluğ ve ark.⁽²⁰⁾ ise Diyarbakır'da 2011 yılında *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *Acinetobacter* spp. suşlarını izole etmişlerdir. Diğer ülkelerde de trakeal aspiratlarda üreyen bakteri spektrumunun büyük ölçüde benzer olduğu görülmüştür. Örneğin, Ahmed ve ark.⁽²¹⁾, 2015 yılında Pakistan'da *Acinetobacter* spp. suşlarını; bir yıl sonra 2016 yılı kayıtlı Pakistan'da diğer çalışmada Ejaz ve ark.⁽²²⁾, en sık olarak sırasıyla *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarını izole etmişlerdir. Sharma ve ark.⁽²³⁾, Kuzey Hindistan'da 2019 yılında en yüksek sıklıkta *Acinetobacter* spp.'nin ürettiği bildirilmiştir. Yine Hindistan'da 2014 yılında Vadivoo ve ark.⁽²⁴⁾, trakeal aspiratlardan en sık izole edilen bakterileri *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. olarak rapor etmişlerdir. Romanya'da 2019 yılında Golli ve ark.⁽²⁵⁾, Mısır'da 2017'de Mohsen ve ark.⁽²⁶⁾, İran'da 2020'de Nouri ve ark.⁽²⁷⁾, *Klebsiella* spp. suşlarını ilk sırada tespit eden diğer yazarlardır.

İran'da 2022 yılında sonuçları bildirilen çalışmada, çalışmamızla ortak olan antibiyotikler için gram pozitif bakterilerden KNS suşlarında en yüksek direnç sırasıyla levofloksasin, eritromisin, gentamisin, siprofloksasin ve penisiline; *S. aureus* izolatlarında penisilin, eritromisin, siprofloksasin, SXT ve klindamisin; *Enterococcus* spp. suşlarında siprofloksasine; *Streptococcus* spp. suşlarında penisilin, tetrasiklin, klindamisin ve levofloksasine karşı gözlemlendiği rapor edilmiştir⁽²⁸⁾. Bu çalışmada *Streptococcus* spp. dışında diğer bakteriler için benzer sonuçlar alınmıştır. *S. agalactiae* için penisilin direnç oranı çalışmamızda %2.3 bulunmuşken İran'da yapılan çalışmada *Streptococcus* spp. suşları için %81.6 gibi çok yüksek bir oran bildirilmiştir. Penisiline duyarlı olmayan Grup B streptokok (GBS) giderek daha fazla rapor edilmekte olup, çoklu ilaca dirençli GBS Japonya'dan bildirilmiştir⁽²⁹⁾. GBS hakkında kapsamlı bir araştırmanın henüz yapılmadığı; GBS izolatları arasında antibiyotik direncinin ortaya çıkması, direnç paternlerinin sürekli

izlenmesini gerekli kıldığı belirtilmektedir⁽³⁰⁾. Enfektif endokarditin ana nedenlerinden olan enterokoklar penisilin ve ampisilin gibi yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı kısmen dirençli olduğu ve çoğu sefalosporin ve bazen karbapenemlere karşı da düşük afiniteli penisilin bağlayıcı proteinler nedeniyle yüksek düzeyde direnç gösterdiği ve bu yüzden çok sayıda terapötik başarısızlığa yol açtığı ifade edilmektedir⁽³¹⁾. Son yıllarda enterokokların vankomisin ve aminoglikozidler dahil anti-enterokokal antibiyotiklere karşı dirençlerinde artış olduğu, çoklu ilaç direncinin endişe verici bir yaygınlık gösterdiği vurgulanmaktadır⁽³²⁾. Pakistan'da yapılan bir çalışmada solunum yolu örneklerinde gram negatif bakterilerden *Acinetobacter* spp, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* suşlarının en sık izole edildiğini; bu bakterilerin en fazla direnç gösterdiği antibiyotiğin sefepim, en etkili antibiyotiğin ise gentamisin olduğu; gram pozitifler arasında en sık *S. aureus*'un izole edildiği tüm gram pozitiflerin %50'sinden fazlasının levofloksasin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin ve ampisiline dirençli olduğu bildirilmiştir⁽³³⁾.

Ülkemizin çeşitli bölgeleri ve farklı ülkelerden SYE patojenleri için bildirilen dirençlerin yüksek olduğu görülmektedir: Uğur ve Genç⁽¹⁸⁾, Giresun'da YBÜ'lerdeki hastalardan izole ettikleri *A. baumannii* suşlarının üç yıllık ortalama direncini amikasin, imipenem, meropenem, siprofloksasin, seftazidime %75'in üzerinde bulmuşlardır. Aynı çalışmada *Pseudomonas aeruginosa*'nın ortalama direncinin amikasin, imipenem, meropenem, siprofloksasin, seftazidim için %20'nin üzerinde olduğu; *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarında en etkili antibiyotiklerin sırasıyla kolistin ve amikasin olduğu bildirilmiştir. Caskurlu ve ark.⁽¹⁹⁾ İstanbul'da *A. baumannii*'ye karşı en etkili antimikrobiklerin kolistin, tigesiklin, amikasin ve gentamisin olduğunu bildirmiş; beş yıl içerisinde meropenem direncinin *P. aeruginosa*'da %36.5-69.2 arasında, *E. coli*'de %2-8 arasında, *K. pneumoniae* izolatlarında %45.5-45.8 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Uluğ ve ark.⁽²⁰⁾ Diyarbakır'da *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. suşlarının en fazla imipenem, amikasin ve siprofloksasine duyarlı oldukları bildirilmiştir. Aydemir ve ark.⁽³⁴⁾, 2016 yılında YBÜ'de yatan hastaların endotrakeal aspirat örneklerinde üreyen *Acinetobacter* spp. izolatları

için karbapenem direncini %90'nın üzerinde saptamışlardır. Ayvalık ve ark.⁽³⁵⁾, 2022'de, YBÜ hastalarından izole edilen *A. baumannii* suşlarında kolistin dışında imipenem, siprofloksasin, gentamisin, SXT ve seftazidime yüksek oranlarda (%77'inin üzerinde) direnç saptamışlardır. Isparta ilinde yapılan bu çalışmada *P. aeruginosa*'ya kolistin, amikasin ve gentamisin; *K. pneumoniae*'ye kolistin ve amikasin, *E. coli*'ye amikasin, gentamisin ve imipenem olduğunu bildirmişlerdir. Diğer ülkelerden Pakistan'da Ahmed ve ark.⁽²¹⁾, trakeal aspirat örneklerinde üreyen *Acinetobacter* spp. suşlarının seftriakson, imipenem, meropenem ve siprofloksasin dahil yaygın olarak kullanılan tüm antibiyotiklere karşı yüksek direnç gösterdiğini bildirmişlerdir. Sharma ve ark.⁽²³⁾, Kuzey Hindistan'da *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. suşlarının SXT'ye %88'in üzerinde; *E. coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarının meropeneme %80'lerin üzerinde direnç gösterdiğini bildirilmişlerdir. Golli ve ark.⁽²⁵⁾ ise Romanya'da *Klebsiella* spp. suşlarının en yüksek direnci sefazoline en düşük direnci imipeneme gösterdiğini; Mısır'da 2017'de Mohsen ve ark.⁽²⁶⁾, gram negatiflerin en yüksek direnci ampisilin ve sefalosporinlere gösterdiğini; İran'da Nouri ve ark.⁽²⁷⁾, en yüksek antibiyotik direncinin *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* için seftazidime; *P. aeruginosa* için sefepime karşı gösterdikleri belirtilmiştir.

Antibakteriyel direnç günümüzde enfeksiyonların tedavisinde en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir. Antibiyotiklere dirençli bakteriler SHİE'lerin giderek artan bir küresel sağlık sorunu olup bu bakterilerin edinilmesinde önceden antibiyotiğe maruz kalma, yoğun bakımda uzun süre kalma gibi faktörler rol oynamaktadır⁽³⁶⁾. Trakeal aspirat örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi etkene yönelik tedavide, düşük maliyetlerin sağlanmasında ve hastanın zararlı antibiyotik etkisine maruz kalmasının önlenmesinde anahtar bir role sahiptir. Erzurum bölgesinde YBÜ'lerde tedavi gören hastaların trakeal örneklerinden izole edilen bakterilerin geniş bir tür spektrumuna sahip olduğu ve antibiyogramı yapılan bakterilerin tedavilerinde kullanılan antibiyotiklere karşı önemli ölçüde dirençli oldukları ve bu dirençlerinin 2020 yılında artmakta olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, Erzurum bölgesinde solunum yolu şikâyetleri ile YBÜ'lerde tedavi gören olguların trakeal aspirat kültürlerinde üreyen mikroorganizma spektrumu belirlenmiş; trakeal aspiratlardan sıklıkla izole edilen patojenlerin antibiyotik direnç profilleri tanımlanarak okuyucunun ilgisine sunulmuştur. Erzurum'da YBÜ'lerde tedavi gören hastaların solunum yolu enfeksiyonlarına iştirak eden bakteri spektrumunun geniş oluşu; bu bakterilerin tedavilerinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç oranlarının yüksek oluşu ve bu dirençlerinin son yıllarda artmakta oluşu önemli bir sağlık sorunuyla karşı karşıya olduğumuzu göstermektedir. Bu konuda klinisyenlere, diğer sağlık personeline ve sağlık politikaları uygulayıcılarına düşen öncelikli görev; toplumu antimikrobiyal direnç ve antibiyotiklerin bilinçli kullanılmaları konularında bilgilendirmektir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma; Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (04.03.2021 tarih ve 13 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Ataturk University, Faculty of Medicine, Clinical Research Ethics Committee (03.04.2021; 13).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. He Q, Wang W, Zhu S, et al. The epidemiology and clinical outcomes of ventilator-associated events among 20,769 mechanically ventilated patients at intensive care units: an observational study. *Crit Care*. 2021;25(1):44. <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03484-x>
2. Raina MacIntyre C, Chughtai AA, Zhang Y, et al. Viral and bacterial upper respiratory tract infection in hospital health care workers over time and association with symptoms. *BMC Infect Dis*. 2017;17(1):553. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2649-5>
3. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med*. 2016;8(1):51. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>
4. Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, Huffnagle GB. The microbiome and the respiratory tract. *Annu Rev Physiol*. 2016;78:481-504. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105238>
5. Bogaert D, de Groot R, Hermans PWM. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*. 2004;4(3):144-54. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(04\)00938-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(04)00938-7)
6. Man WH, de Steenhuijsen P, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15(5):259-70. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.14>
7. Gaur DS, Thapliyal NC, Kishore S, Pathak VP. Efficacy of broncho-alveolar lavage and bronchial brush cytology in diagnosing lung cancers. *J Cytol*. 2007;24(2):73-7.
8. Shenoy S. SARS-CoV-2 (COVID-19), viral load and clinical outcomes; lessons learned one year into the pandemic: A systematic review. *World J Crit Care Med*. 2021;10(4):132-50. <https://doi.org/10.5492/wjccm.v10.i4.132>
9. Niederman MS. The argument against using quantitative cultures in clinical trials and for the management of ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2010;51(Suppl. 1):S93-9. <https://doi.org/10.1086/653055>
10. Langston SJ, Pithia N, Sim MS, Garg M, de St Maurice A, Chu A. Lack of utility of tracheal aspirates in the management of suspected pneumonia in intubated neonates. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020;41(6):660-5. <https://doi.org/10.1017/ice.2020.57>
11. Mostafa Y, Elfattah NA, RM, Roshdy L, Ibrahim M. Value of broncho-alveolar lavage in diagnosis of newly developed lung infiltrates in mechanically ventilated patients. *Egypt J Hosp Med*. 2008;72(8):5099-105. https://doi.org/10.4103/ecdt.ecdt_94_22
12. Çelik D, Yıldız ŞT, Ilgazlı A, ve ark. Ventilator ilişkili pnömoni tanısında bronkoskopik ve bronkoskopik olmayan yöntemlerin tanılabilirliklerinin karşılaştırılması. *Solunum*. 2006;8:95-101.
13. Preacher KJ. Calculation for the chi-square test: An interactive calculation tool for chi-square tests of goodness of fit and independence. April, 2001. [http://quantpsy.org] (Erişim Tarihi: 05.Mayıs.2022).
14. Lukasewicz Ferreira SA, Hubner Dalmora C, Anzillero F, de Souza Kuchenbecker R, Klarmann Ziegelmann P. Factors predicting non-ventilated hospital-acquired pneumonia: systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect*. 2022;119:64-76. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.09.024>

15. Rao I, Cheema PK. Evidence based guidelines for prevention of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit staff nurses. *Int J Adv Nurs Manag.* 2019;7(4):301-4.
<https://doi.org/10.5958/2454-2652.2019.00070.2>
16. Finegold SM. Aspiration pneumonia. *Rev Infect Dis.* 1991;13:737-42.
https://doi.org/10.1093/clinids/13.supplement_9.s737
17. Kabak E, Hudcova J, Magyarics Z, et al. The utility of endotracheal aspirate bacteriology in identifying mechanically ventilated patients at risk for ventilator associated pneumonia: a single-center prospective observational study. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):756.
<https://doi.org/10.1186/s12879-019-4367-7>
18. Uğur M, Genç S. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının üç yıllık direnç profili. *Turk J Intensive Care.* 2019;17:130-7.
<https://doi.org/10.4274/tybd.galenos.2018.94103>
19. Caskurlu H, Davarci I, Kocoglu M, Cag, Y. Examination of blood and tracheal aspirate culture results in intensive care patients: 5-year analysis. *Medeniyet Med J.* 2020;35(2):128-35.
<https://doi.org/10.5222/MMJ.2020.89138>
20. Uluğ M, Çelen MK, Geyik MF, Hoşoğlu S, Ayaz C. T ventilatör ilişkili pnömoni tanısında endotrakeal aspirat kültürünün ve izole edilen bakterilerin değerlendirilmesi. *Düzce Tıp Dergisi.* 2011;13(1):21-5.
21. Ahmed AI, Zeb M, Jilani M, Tanvir SB, Shariq A, Farooqi BJ. Susceptibility pattern of *Acinetobacter* isolates in quantitative tracheal aspirates. *Eur J Biotech Biosci.* 2015;3(8):22-7.
22. Ejaz A, Tarar MR, Naeem T, Naeem MA, Ijaz S, Qureshi M. Frequency of multidrug resistant and extensively drug resistant organisms in tracheal aspirates – Experience at a tertiary care hospital. *Biomedica.* 2016;32(2):77-82.
23. Sharma K, Gupta S, Sharma S, Sharma P. Antibigram of bacterial isolates from endotracheal aspirates in a tertiary care hospital in North India. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2019;8(6):2562-7.
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.806.308>
24. Vadivoo NS, Santharam P, Sudha K, et al. Dynamic bacterial profile of endotracheal aspirates and its sensitivity pattern-a cause of concern. *Int J Cur Res Rev.* 2014;06(10):112-9.
25. Golli AL, Nitu FM, Balasoioiu M, et al. The characterization of antibiotic resistance of bacterial isolates from intensive care unit patient samples in a university affiliated hospital in Romania. *Rev Chim.* 2019;70(5):1778-83.
<https://doi.org/10.37358/RC.19.5.7214>
26. Mohsen L, Ramy N, Saied D, et al. Emerging antimicrobial resistance in early and late-onset neonatal sepsis. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2017;6:63.
<https://doi.org/10.1186/s13756-017-0225-9>
27. Nouri F, Karami P, Zarei O, et al. Prevalence of common nosocomial infections and evaluation of antibiotic resistance patterns in patients with secondary infections in Hamadan, Iran. *Infect Drug Resist.* 2020;13:2365-74.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S259252>
28. Dargahi Z, Hamad AA, Sheikh AF, et al. The biofilm formation and antibiotic resistance of bacterial profile from endotracheal tube of patients admitted to intensive care unit in southwest of Iran. *PLoS One.* 2022;17(11):e0277329.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277329>
29. Li C, Sapugahawatte DN, Yang Y, Wong KT, Lo NWS, Ip M. Multidrug-resistant *Streptococcus agalactiae* strains found in human and fish with high penicillin and cefotaxime non-susceptibilities [published correction appears in *Microorganisms.* 2021;9(6):1198]. *Microorganisms.* 2020;8(7):1055.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8071055>
30. Verma S, Kumari M, Pathak A, Yadav V, Johri AK, Yadav P. Antibiotic resistance, biofilm formation, and virulence genes of *Streptococcus agalactiae* serotypes of Indian origin. *BMC Microbiol.* 2023;23(1):176.
<https://doi.org/10.1186/s12866-023-02877-y>
31. Herrera-Hidalgo L, Fernández-Rubio B, Luque-Márquez R, López-Cortés LE, Gil-Navarro MV, de Alarcón A. Treatment of *Enterococcus faecalis* infective endocarditis: A continuing challenge. *Antibiotics (Basel).* 2023;12(4):704.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12040704>
32. Sengupta M, Sarkar R, Sarkar S, Sengupta M, Ghosh S, Banerjee P. Vancomycin and linezolid-resistant *Enterococcus* isolates from a tertiary care center in India. *Diagnostics (Basel).* 2023;13(5):945.
<https://doi.org/10.3390/diagnostics13050945>
33. Fatima A, Sajjad M, Dawood K, Gohar H, Iqbal S, Kouser S. Bacteriological trends, antibiotic sensitivity and resistance patterns of human respiratory tract samples from tertiary care hospital. *Rawal Med J.* 2023;48(2):458-63.
34. Aydemir Ö, Demiray T, Köroğlu M, Aydemir Y, Karabay O, Altındış M. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların endotrakeal aspirat örneklerinden izole edilen bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2016;1(4):1-8.

35. Ayvalık T, Sesli Çetin E, Şirin MC, Arıdoğan B, Yağcı S. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların endotrakeal aspirat örneklerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç oranları. SDÜ Tıp Fak Derg. 2022;29(3):398-404.
<https://doi.org/10.17343/sdutfd.1106325>
36. Priyal TP, Shahzad M, Nageswari GR, et al. Environmental colonization and transmission of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit. Med J DY Patil Vidyapeeth. 2023;16(5):761-6.
https://doi.org/10.4103/mjdrdypu.mjdrdypu_210_21

Scopulariopsis brevicaulis'in neden olduğu fungal keratit olgusu*

A Case of Fungal Keratitis Caused by Scopulariopsis brevicaulis

Melek Tikveşli*, Rüveyde Garip**, Mehmet Solak*, Özlem Kaya**, Hüseyin Güdücüoğlu*

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

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

Atıf/Cite as: Tikveşli M, Garip R, Solak M, Kaya Ö, Güdücüoğlu H. *Scopulariopsis brevicaulis*'in neden olduğu fungal keratit olgusu. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):68-71.

Öz

Scopulariopsis brevicaulis, çevrede ve yaygın olarak toprakta bulunan kozmopolit saprofitik bir küftür. Bu vakamızda travma öyküsü ile gelen hastalarda mantar izolatlarının ve özellikle *Scopulariopsis* türlerinin etiyolojik etken olarak karşımıza çıkabileceği gösterilmek istenmiştir.

Hastanemiz göz polikliniği; sol gözde ağrı, kızarıklık, görmeye azalma şikâyetleri ile başvuran 63 yaşındaki erkek hastadan, 10 gün önce bu göze inek ayağından toprak parçasının sıçraması sonucunda fungal keratit ön tanısı ile tedavisi yapıldı. Korneal kazıntı örneği laboratuvarında bakteriyolojik ve mikolojik olarak incelendi. Kültürde *Scopulariopsis* spp.'nin klasik yöntemle identifikasyonu yapıldı. Moleküler tanımlanmasında, göre izolatın *S. brevicaulis* olduğu doğrulandı.

Burada sunulan keratit vakası *S. brevicaulis*'in gözün toprakla teması sonrası fungal keratit etkeni olarak izole edildiği nadir olgulardan biridir. Bu yüzden travma öyküsü ile gelen göz hastalarında çevresel izolatların göze doğrudan bulaşıp arkasından enfeksiyon oluşturma potansiyeli unutulmayıp muhakkak mikrobiyolojik açıdan ileri tetkiklerinin yapılarak uygun tedaviye başlanması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Fungus, keratit, *Scopulariopsis brevicaulis*

ABSTRACT

Scopulariopsis brevicaulis is a cosmopolitan saprophytic mold commonly found in the environment and soil. The aim of this case presentation is to show that fungal isolates, and especially *Scopulariopsis* species, may be the etiological factor in patients who are admitted with a history of eye trauma. A 63-year-old male patient, who reported splashing of soil from a cow's foot 10 days before, was admitted to the Outpatient Clinic of Ophthalmology with pain, redness, and decreased vision in his left eye. He was treated with preliminary diagnosis of fungal keratitis. The corneal scraping sample was examined bacteriologically and mycologically in the laboratory. *Scopulariopsis* spp. was identified in culture, and the isolate was shown to be *S. brevicaulis* in molecular identification.

The keratitis case presented here is one of the rare cases in which *S. brevicaulis* was isolated as a fungal keratitis agent after contact with the soil. Therefore, it should not be forgotten that environmental isolates can directly infect the eye and cause infection in ophthalmological patients presenting with a history of trauma, and it is necessary to start appropriate treatment by performing advanced microbiological examinations.

Keywords: Fungi, Keratitis, *Scopulariopsis brevicaulis*

Alındığı tarih / Received:

22.12.2022 / 22.December.2022

Kabul tarihi / Accepted:

07.11.2023 / 07.November.2023

Yayın tarihi / Publication date:

25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

M. Tikveşli 0000-0001-5069-9479

R. Garip 0000-0003-2235-9017

M. Solak 0000-0002-6206-139X

Ö. Kaya 0000-0002-7137-2085

H. Güdücüoğlu 0000-0003-1101-9017

✉ meleklikvesli75@yahoo.com

XL. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Kongresi (16-22 Kasım 2022 - Granada Luxury Hotel Belek, Antalya)'nde özet biçiminde ön bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Scopulariopsis ve *Microascus* türleri hem hiyalin hem de dematiasöz küf formlarını içerir ve geniş bir coğrafi yayılım alanına sahiptir. Genellikle toprakta ve havada, bitki artıkları, kâğıt, tahta, gübre ve hayvan kalıntıları arasında bulunurlar^(1,2). *Scopulariopsis brevicaulis*, çevrede ve yaygın olarak toprakta bulunan kozmopolit saprofitik bir küftür⁽³⁾. İnvaziv enfeksiyonların nadir bir nedenidir, ancak yine de

keratit, onikomikoz ve otomikozun nispeten yaygın fırsatçı nedenleri olarak kabul edilmektedir⁽⁴⁻⁸⁾. Daha önce *S. brevicaulis*'in neden olduğu mantar dışı keratit vakaları, normalde sağlıklı bir korneayı enfekte etmeyecek bir fırsatçı patojen varlığını ve fungal bulaşın büyük olasılıkla korneal travmayı takip ettiğini göstermektedir⁽⁹⁾. Bu olgumuzda travma öyküsü ile gelen hastalarda mantar izolatlarının ve özellikle *Scopulariopsis* türlerinin etiyolojik etken olarak karşımıza çıkabileceği gösterilmek istenmiştir.

OLGU

Hastanemiz göz polikliniğe; sol gözde ağrı, kızarıklık, görmede azalma şikâyetleri ile başvuran 63 yaşındaki erkek hastadan, 10 gün önce bu göze inek ayağından toprak parçasının sıçradığı bilgisi alındı. Hastanın sol göz görme keskinliği 0.2 düzeyinde olup biyomikroskopik muayenesinde korneal epitelyum erozyon alanı ile birlikte stromal infiltrasyon tespit edildi ve fungal keratit şüphesi ile hastanın kliniğe yatırışı sağlandı. Vankomisin, seftazidim, flukonazol, polivinil alkol-povidon, dekspentanol-sodyum hiyalüronat tedavisine başlandı ve tam bir iyileşme sağlandı. Bilinen immünsüprese hastalığı yoktu. Alınan korneal kazıntı örneği laboratuvarında bakteriyolojik ve mikolojik olarak incelendi. Brain-Heart Infusion agarda 35°C'de, Sabouraud Dextroz agarda 25°C ve 35°C'de inkübe edildi. Aynı zamanda *S. brevicaulis*'in moleküler tanımlamasında, önce universal primer olarak ITS1-ITS4 primerleri kullanılarak tür tayini için hedeflenen gen bölgeleri çoğaltıldı. Daha sonra Sangers Sekansı yöntemi ile dizi analizi yapıldı ve türün tespiti gen bankasında (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezinde (NCBI)) doğrulandı (Genbank Numarası: SUB12195299 1 OP703323).



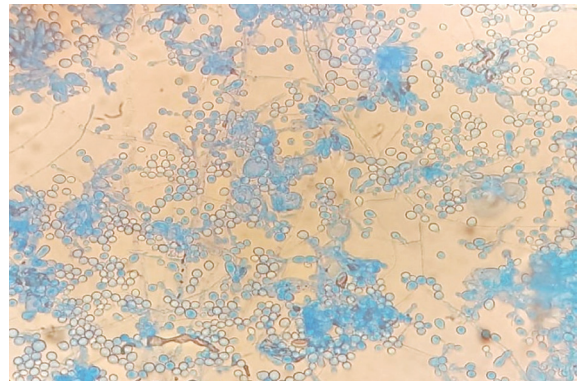
Şekil 1. *Scopulariopsis brevicaulis*, beyin-kalp infüzyon besiyeri, 35°C, 10. gün koloni morfolojisi

Kültürün yaklaşık üçüncü gününde besiyerlerinde makroskopik ve mikroskopik olarak *Scopulariopsis* izolatına benzer üremeler ve görüntüler elde edildi (Şekil 1 ve 2). *Scopulariopsis spp.*'nin klasik identifikasyonunda kolonilerin morfolojik ve mikroskopik (miselyal büyümesi, fırça benzeri gruplar ya da tek tek duran annelidik konidyojen hücreler ve yuvarlak, kalın duvarlı, olgunlaştıklarında dikenli özellik gösteren konidyalar) özelliklerinden yararlanıldı⁽¹⁰⁾. Elde edilen sekans dizileri ile DNA tabanında filogenetik veri analizi gerçekleştirilerek tür tayinine göre izolatın *S. brevicaulis* olduğu doğrulandı.

TARTIŞMA

Sunulan vakada, korneal kazıntı örneği uygun şartlarda alınmış, steril kültür ortamına ekimi yapılmıştır ve patojen olarak *S. brevicaulis* üremiştir. Uygulanan antifungal tedavinin de başarıyla sonuçlanmasıyla birlikte patojen etkenin saprofit fungus olduğu doğrulanmıştır.

Ragge ve ark.⁽⁹⁾, *S. brevicaulis*'in penetran göz yaralanması sonrasında fungal keratit vakası bildirmişlerdir. Bununda çürümüş, ıslak, tahta bir kalasa gömülü paslı çivinin gözü yaralanmasıyla birlikte gözün topraklı elin bulaşı sonucu olduğu gösterilmiştir. Diğer bir olguda ise, 41 yaşında bir



Şekil 2. *Scopulariopsis brevicaulis*'in 10. gün mikroskopik görünümü

erkek hasta 24 saat süre boyunca devam eden ağrılı sağ göz öyküsü ile hastaneye başvurmuştur. Erimiş kurşunun gözüne dokuz ay öncesinde sıçradığını belirtmiştir. Lotery ve ark.⁽¹¹⁾, bu hastanın korneal kazıntı örneğinde *S. brevicaulis*'in ürediğini göstermişlerdir.

Ragge ve ark.'nın⁽⁹⁾ sunduğu vakada yaralanma sonrasında korneadaki perforasyonunun dikilmesi ve tedavi başlanmasına rağmen gözde keratit geliştiği gözlenmiştir. Laboratuvarda göz sürüntü örneğinin incelenmesinden sonra *S. brevicaulis* üremesi olmuştur. Tedavide, kloramfenikol %0.5, prednizolon %0.5, amfoterisin B %0.5 ile başlangıçta iyileşme olmasına rağmen kornea nakli yapılmak zorunda kalınmıştır. Ancak gözde daha fazla kötüleşme meydana geldiği için greft temizlenerek tedavisi tekrar düzenlenip antifungallerin duyarlılıkları incelenmiştir. Amfoterisin B'ye dirençli, itrokonazole duyarlı olduğu tespit edilen *S. brevicaulis* için oral itrokonazol ile tedaviye devam edilmiştir⁽⁹⁾.

Baptista ve ark.⁽¹²⁾, bir lazer ameliyatı türü olan lazer in situ keratomileusis cerrahisi sonrası hastaya tek taraflı yaygın lamellar keratit tanısı konularak oral ve subkonjonktival kortikosteroid ile tedavi edilmiştir. Semptomların kötüleşmesi üzerine hasta muayenesinde kornea infiltrasyonu gözlenmiştir. Gözden alınan örneğin yapılan kültüründe *S. brevicaulis* izole edilmiş ve güçlendirilmiş vorikonazol (%1) ile tedaviye başlanarak hem topikal hem de oral kortikosteroidler azaltılmıştır. Altı haftalık topikal antifungal tedaviden sonra kornea infiltrasyonu düzeldiği gözlenmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak, *S. brevicaulis*, lazer sonrası in situ keratomileusis enfeksiyonu ile ilişkili olabileceği ve vorikonazol bu tür vakaların tedavisinde etkili olduğu sonucuna varmışlardır⁽¹²⁾.

Bunya ve ark.⁽⁵⁾ standart antifungallere direnç gösteren dokuz hastayı retrospektif olarak incelediler. Takibine devam edilemeyen iki kişi dışında, tedavisi devam eden yedi hastanın beşinde, ürettikleri funguslara karşı vorikonazol tedavisinde başarılı olduklarını göstermişlerdir. Dokuz hastanın birisinde *Scopulariopsis sp.* üretilmiştir. Bu hastanın

tedavisi topikal vorikonazol ile başlanıp oküler yanma gelişmesi nedeniyle tedavisine oral vorikonazol ile devam edilmiştir. Araştırmacılar tarafından retrospektif incelemede, fungal keratite tedavi sürecinde vorikonazolün etkili olduğu bildirilmiştir⁽⁵⁾.

Kaplan ve ark.⁽¹³⁾, 2021 yılında Ürdün'de *S. brevicaulis*'in neden olduğu ilk fungal keratit vakasını bildirmişlerdir. Kontakt lens kullanan 18 yaşında bir kadın sol gözünde ağrı, kızarıklık ve görme bulanıklığı ile hastaneye başvurdu. Hastanın gözünde santral kornea ülseri, görme keskinliğinde azalma ve apse tespit edilmiştir. Enfeksiyöz keratit ön tanısı ile kornea kazıntıları bakteri, mantar açısından kültüre edildi ve hastalığın ancak beşinci gününde *S. brevicaulis* üretilmiştir. Tedavi için topikal ve sistemik antibakteriyel ajanlara başlanmıştır ve sonuçta kullanılan antibakteriyel maddeler ile başarı elde edildiğini bildirmişlerdir. Başlangıç olarak, güçlendirilmiş amikasin ve güçlendirilmiş vankomisin içeren saatlik göz damlaları şeklinde ve sistemik olarak günde iki kez 750 mg oral siprofloksasin olarak uygulanmıştır. Hastanın beşinci günde görmeye hafif bozulma şikâyeti üzerine tüm göz damlaları kesilip günde dört defa moksifloksasin göz damlası ile değiştirilerek hastanın tedavisinin olumlu şekilde sonuçlanmış olduğunu bildirmişlerdir.

Sunduğumuz olguda Kaplan ve ark.'nın⁽¹³⁾ vankomisin ile tedavisi benzerlik göstermekte iken tartışmada sunulan diğer vakalarda kullanılan itrokonazol ve vorikonazol ile kullandığımız flukanazol ayrılmaktadır. Vakamızda, vankomisin, seftazidim, flukanazol, polivinil alkol-povidon, dekspentanöl-sodyum hiyalüronat tedavisi ile iki haftalık sürede tam bir iyileşme sağlandığı görülmüştür.

Burada sunulan keratit vakası *S. brevicaulis*'in gözün toprakla teması sonrası fungal keratit etkeni olarak izole edildiği nadir olgulardan biridir. Bu yüzden travma öyküsü ile gelen göz hastalarında çevresel izolatların göze doğrudan bulaşıp sonrasında enfeksiyon oluşturacağı unutulmayıp kesinlikle mikrobiyolojik açıdan ileri tetkiklerinin yapılarak uygun tedaviye başlanması gerekmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu olgu sunumu için hastadan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: For this case report, an informed consent form was obtained from the patient.

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Kirk PM, Cannon PF, David JC, Stalpers JA. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 9th ed. Wallingford: CAB International, 2001.
2. Von Arx JA, Figueras MJ, Guarro J. Sordariaceae ascomycetes without ascospore ejaculation. Beih Nova Hedvigia. 1988;94:100-4.
3. Ansari Z, Miller D, Galor A. Current thoughts in fungal keratitis: diagnosis and treatment. Curr Fungal Infect Rep. 2013;7(3):209-18. <https://doi.org/10.1007/s12281-013-0150-110.1007/s12281-013-0150-1>
4. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Buitrago MJ, Mellado E, Garcia-Effron G, Rodriguez-Tudela JL. In vitro activities of 10 combinations of antifungal agents against the multi resistant pathogen *Scopulariopsis brevicaulis*. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(6):2248-50. <https://doi.org/10.1128/AAC.00162-06>
5. Bunya VY, Hammersmith KM, Rapuano CJ, Ayres BD, Cohen EJ. Topical and oral voriconazole in the treatment of fungal keratitis. Am J Ophthalmol. 2007;143(1):151-3. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2006.07.033>
6. Issakainen J, Salonen JH, Anttila VJ, et al. Deep, respiratory tract and ear infections caused by *Pseudallescheria (Scedosporium)* and *Microascus (Scopulariopsis)* in Finland. A 10-year retrospective multi-center study. Med Mycol. 2010;48(3):458-65. <https://doi.org/10.1080/13693780903161208>
7. Steinbach WJ, Schell WA, Miller JL, Perfect JR, Martin PL. Fatal *Scopulariopsis brevicaulis* infection in a paediatrics tem-cell transplant patient treated with voriconazole and caspofungin and a review of *Scopulariopsis* infections in immunocompromised patients. J Infect. 2004;48(1):112-6. [https://doi.org/10.1016/s0163-4453\(03\)00134-8](https://doi.org/10.1016/s0163-4453(03)00134-8)
8. Sandoval-Denis M, Sutton DA, Fothergill AW, et al. *Scopulariopsis*, a poorly known opportunistic fungus: spectrum of species in clinical samples and in vitro response to antifungal drugs. J Clin Microbiol. 2013;51(12):3937-43. <https://doi.org/10.1128/JCM.01927-13>
9. Ragge NK, Hart JCD, Easty DL, Tyers AG. A case of fungal keratitis caused by *Scopulariopsis brevicaulis*: treatment with antifungal agents and penetrating keratoplasty. Br J Ophthalmol. 1990;74(9):561-2. <https://doi.org/10.1136/bjo.74.9.561>
10. Nuriyev K. Onikomikoz etkenlerinin retrospektif değerlendirilmesi [Tıpta Uzmanlık Tezi]. İstanbul: İstanbul Tıp Fakültesi Üniversitesi, 2018.
11. Lotery AJ, Jonathan RJ, Page BA. Fungal keratitis caused by *Scopulariopsis brevicaulis*: successful treatment with topical amphotericin B and chloramphenicol without the need for surgical debridement. Br J Ophthalmol. 1994;78(9):730. <https://doi.org/10.1136/bjo.78.9.730>
12. Baptista PM, Vieira R, Monteiro S, Abreu AC, Gomes M, Pinto Snr MC. Keratitis by *Scopulariopsis brevicaulis* fungus after LASIK – A case report. Int Med Case Rep J. 2021;14:107-10. <https://doi.org/10.2147/IMCRJ.S299454>
13. Kaplan NM, Al-Dwairi RA, AlRabadi NN. Fungal keratitis due to *Scopulariopsis brevicaulis* and a potential promising therapeutic effect of antibacterial agents. A case report. Medicine. 2021;100:49. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000028203>

Mısır Püskülü İle Temas Sonrası Endoftalmiye İlerleyen *Fusarium* Keratiti: Olgu Sunumu

Fusarium Keratitis Progressing to Endophthalmitis After Corn Tassel Contact: Case Report

Alperen Ceylan^{*✉}, Fatma Esenkaya Taşbent^{*✉}, Selman Belviranlı^{**✉}, Buse Uzunlu^{**✉}, Günhal Şatırtav^{**✉}, Refik Oltulu^{**✉}, Hüma Gökmen^{*✉}

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

** Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Atıf/Cite as: Ceylan A, Esenkaya Taşbent F, Belviranlı S, et al. Mısır püskülü ile temas sonrası endoftalmiye ilerleyen fusarium keratiti: Olgu sunumu. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):72-77.

Öz

Filamentöz bir mantar cinsi olan *Fusarium*, toprakta ve bitkiler üzerinde yaygın olarak bulunur. Çeşitli risk faktörlerinin kolaylaştırıcı etkisiyle *Fusarium* keratiti hızla ilerleyip kornea tahribatına ve endoftalmiye yol açabilir. Bu olguda, 50 yaşında erkek hasta, tarlada çalışırken gözüne mısır püskülü girmesi sonrası sol gözde ağrı ve görmede azalma gibi şikayetlerle bir göz kliniğine başvurmuş ancak verilen tedaviye rağmen şikayetlerinin gerilememesi üzerine üniversite hastanesi göz hastalıkları kliniğine yönlendirilmiştir. Sol gözde konjunktival hiperemi ve korneal opasite bulunan hastanın yapılan biyomikroskopik ön segment muayenesinde korneada inferior parasantral yerleşimli 5x5 mm genişlikte epitel defekti ve tüysü kenarlı sarı-beyaz renkli stromal infiltrat olduğu görülmüştür. İzole edilen suş, dizi analizi yöntemi ile tür düzeyinde tanımlanmış ve etkenin '*Fusarium solani* tür kompleksi' olduğu belirlenmiştir. Uygulanan tüm medikal tedavilere ve cerrahi müdahalelere rağmen gözün iç yapıları ilerlemiş olan enfeksiyon kontrol altına alınamamış ve evviserasyon ameliyatı yapılmıştır. Evviserasyon sonrası takiplerde herhangi bir enfeksiyon bulgusu ile karşılaşılmamıştır. *Fusarium solani*, literatürde antifungal direnç yüksek bir etken olarak bildirilmektedir. Nitekim bu olguda, sağlık kuruluşlarına başvurmada muhtemel gecikme ve *Fusarium solani* gibi dirençli bir küf mantarının etken olması; klinik bulguların ciddi seyretmesine ve uygulanan tedavi protokollerine rağmen endoftalmi sonucu gözün kaybedilmesine neden olmuştur. Bu olgunun, etkenin bulaş şekli ve klinik seyri açısından dikkate değer olduğu düşünülmektedir.

Alındığı tarih / Received:
13.09.2023 / 13.September.2023

Kabul tarihi / Accepted:
25.11.2023 / 25.November.2023

Yayın tarihi / Publication date:
25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

A. Ceylan 0000-0003-2039-0707
F. Esenkaya Taşbent 0000-0003-4190-5095
S. Belviranlı 0000-0003-0272-7345
B. Uzunlu 0009-0001-9410-5983
G. Şatırtav 0000-0003-4157-2876
R. Oltulu 0000-0003-2447-6524
H. Gökmen 0000-0002-9697-1949

✉ dralperenceylan7@gmail.com

Anahtar kelimeler: *Fusarium solani*, endoftalmi, mısır püskülü

ABSTRACT

Fusarium is a genus of mold fungi that is usually found in the soil and on plants. *Fusarium* keratitis may permeate rapidly with the facilitating effect of various risk factors and corneal destruction and endophthalmitis may develop eventually. In this report, we present a 50-year-old male patient, whose left eye was traumatized by a corn tassel while working in the farm and applied to an ophthalmology clinic with complaints of pain and decreased vision. As his complaints continued despite treatment, he was referred to ophthalmology clinic of a university hospital. Corneal opacity and conjunctival hyperemia were observed in the left eye. Possibility of a fungal infection was considered due to the presence of a 5x5 mm epithelial defect and a white stromal infiltrate with feathery edges in the inferior paracentral part of the cornea during biomicroscopic examination. Mold colonies grew in culture and were interpreted as *Fusarium* spp. with lactophenol cotton blue staining. The isolated strain was identified by sequence analysis, and the causative agent was determined as '*Fusarium solani* species complex'. Despite medical treatment and surgical operations, the infection spread to the intraocular structures, which obliged the evviseration of the eye. No signs of infection were found in the postoperative follow-up examinations. It is thought that this case report may contribute to the literature in terms of drawing attention to the transmission routes and clinical course of the causative agent.

Keywords: *Fusarium solani*, endophthalmitis, corn tassel

GİRİŞ

Fusarium, çok çeşitli bitki hastalıklarına neden olan, çok sayıda mikotoksin üreten ve önemli bir insan patojeni olarak giderek daha fazla tanınmaya başlayan karmaşık bir cinstir⁽¹⁾. Bu cins içerisinde yer alan diğer türlerle birlikte *Fusarium solani*; Ascomycota şubesi, Sordariomycetes sınıfı, Hypocreales takımı, Nectriaceae ailesi içerisinde bulunmaktadır⁽²⁾. İnsanlarda, yüzeysel ve lokal enfeksiyonlara (keratit ve onikomikoz), bağışıklığı baskılanmış hastalarda ise dissemine enfeksiyonlara yol açabilmektedir⁽³⁾.

Fungal keratitler içinde önemli bir yer tutan *Fusarium*'un etken olduğu vaka oranları ülkemizde %8 iken, bir Afrika ülkesi olan Gana'da bu oran %37.6, Brezilya'da %5.3 olarak bildirilmiştir⁽⁴⁾.

Fusarium solani ve *Fusarium oxysporum* türleri, şiddetli keratit ve endoftalmiye sebep olabilen etkenlerdir^(5,6). Özellikle bitkiler olmak üzere yabancı cisim travmaları, kontakt lens kullanımı, göz ameliyatı öyküsü, oküler yüzey bozuklukları, diabetes mellitus, antibiyotik ve steroid kullanımı; *Fusarium*'a bağlı göz enfeksiyonları için risk oluşturur⁽⁷⁾. Oküler yüzeydeki değişiklikler, enfeksiyöz keratitlere zemin hazırlayarak ciddi komplikasyonlara neden olmaktadır⁽⁸⁾. Gelişmiş ülkelerde artan kontakt lens kullanımı da bu enfeksiyonlar açısından giderek büyüyen bir sorun haline gelmektedir. Korneal perforasyon ve vitröz cismin tutulumu, ciddi görme bozukluğuna hatta göz küresinin tamamen kaybına yol açabilmektedir⁽⁹⁾.

Diğer mantar türlerinde olduğu gibi *Fusarium* keratitinde de kesin tanı kültür, in vivo lazer taramalı konfokal mikroskopi ve PCR ile konulur ve kültür altın standart olarak kabul edilir^(10,11).

Bu olgu sunumun amacı nispeten nadir izole edilen bir ajan olan *Fusarium solani*'nin etken olduğu, keratit sonrası endoftalmiye ilerleyen bir vakayı inceleyerek literatüre katkıda bulunmak, *Fusarium*'a bağlı gelişebilecek ciddi enfeksiyonlara dikkat çekmektir.

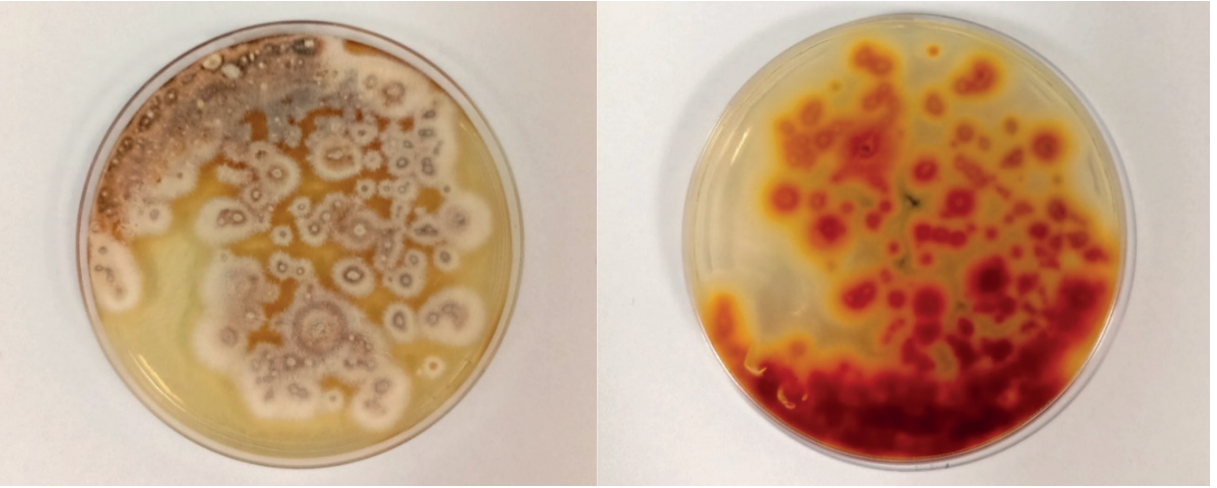
OLGU

Çiftçilikle uğraşan 50 yaşında erkek hasta, bir ay önce tarlada çalışırken sol gözüne mısır püskülü girmiş ve sonrasında sol gözde kızarıklık, ağrı ve görme azlığı şikayetleri gelişmiştir. Hasta şikayetlerinin gerilememesi üzerine bir göz kliniğine başvurmuştur. Burada topikal moksifloksasin %0.5 göz damlası (Moxai®) ve topikal flukanazol %0.3 göz damlası (Fluzamed®) başlanmış, fakat tedaviye yanıt alınamaması nedeniyle üniversite hastanesi göz kliniğine yönlendirilmiştir.

Özgeçmiş sorgulamasında hasta, herhangi bir sistemik veya oküler hastalığının olmadığını ve geçirdiği herhangi bir oküler cerrahi olmadığını belirtmiştir. Yapılan ilk muayenede en iyi düzeltilmiş görme keskinliği sağ gözde 10/10, sol gözde el hareketleri düzeyinde tespit edilmiştir. Biyomikroskopik ön segment muayenesinde sağ gözde herhangi bir patoloji tespit edilmemiştir. Sol gözde korneada inferior parasantral yerleşimli yaklaşık 5x5 mm genişlikte epitel defekti ve tüysü kenarlı sarı-beyaz renkli stromal infiltrat olduğu, ön kamarada ise belirgin bir hücre reaksiyonunun olmadığı görülmüştür. Fundus muayenesinde sol gözde fundus seçilememekle birlikte, B-tarama oküler ultrasonografide retina yatışık ve vitreus sakın izlenmiştir. Hasta mevcut bulgulara dayanılarak sol gözde mantar keratiti ön tanısı ile servise yatırılmıştır.

Hastadan mikrobiyolojik inceleme için korneal kazıntı örnekleri alınarak mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Ayrıca, mantar enfeksiyonu açısından kuvvetli klinik şüphe nedeniyle ampirik olarak topikal lipozomal amfoterisin B (2 mg/cc) göz damlası 12x1, topikal vorikonazol %1 göz damlası 12x1 ve topikal moksifloksasin %0.5 göz damlası (Moxai®) 12x1 tedavisi başlanmıştır.

Korneal kazıntı örneklerinden yapılan gram boyamada, herhangi bir patolojik bulgu tespit edilememiştir. Hastadan alınan örnekler aynı zamanda kanlı agar, Eosin Metilen Blue (EMB) ve Sabouraud



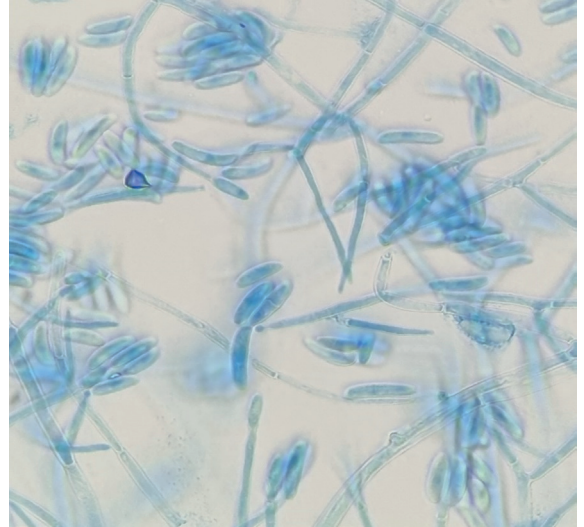
Şekil 1. Sabouraud Dekstroz Agar besiyerinde üreyen *Fusarium solani* kolonilerinin üstten ve alttan görüntüleri

Dekstroz Agar (SDA) besiyerlerine ekilmiştir. 36°C’de yapılan inkübasyon sonrası besiyerleri her gün kontrol edilmiş ve üçüncü günde kanlı agar, EMB agar ve SDA besiyerinde ek bir bakteri kolonisi olmaksızın küf mantarı üremesi olmuştur. SDA besiyerinde bu küf mantarı kolonilerinin, yüzeyinin beyaz-krem renkte pamuksu yapıya sahip olduğu, alt kısımda ise turuncu-kırmızı renk verdiği görülmüştür (Şekil 1).

Kolonilerden yapılan Laktofenol pamuk mavisi boyalı bakı incelemesinde *Fusarium* spp. ile uyumlu küf mantarı yapıları görülmüştür (Şekil 2).

İzole edilen suşun 5.8 rRNA gen bölgeleri, ITS 1 (5’-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’) ve ITS 4 (5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’) primerleri kullanılarak ‘The Applied Biosystems™ ProFlex Thermalcycler’ cihazında çoğaltılmıştır. Elde edilen diziler “BLAST” arama motoru üzerinden (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) veritabanı ile karşılaştırılmış (Atlas Biyoteknoloji, Ankara) ve etkenin ‘*Fusarium solani* tür kompleksi’ olduğu belirlenmiştir.

Hastanın topikal tedaviye klinik yanıtının yetersiz olduğu görülerek sistemik vorikonazol 2x400 mg yüklemeyi takiben 2x200 mg idame eklenmiştir.



Şekil 2. *Fusarium* yapılarının laktofenol pamuk mavisi boyasındaki görüntüsü (x400)

Ancak topikal ve sistemik tedaviye rağmen, infiltratın sebat etmesi ve ön kamarada da inflamasyon tespit edilmesi nedeniyle, intrastromal ve intrakamaral vorikonazol (100 µl/0.1 ml) enjeksiyonu yapılmış ve ikişer gün ara ile tekrar edilmiştir. Ancak hastanın göz ön kamarasındaki inflamasyonun arttığı görülmüştür. Hipopiyon ile birlikte inferiorda fungus topu benzeri beyaz-sarı renkli infiltrat oluşumu tespit edilmiş ve kornea infiltrasyonu alanında da desmatosel oluştuğu izlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Hastanın sol gözünde gelişen konjunktival hiperemi ve korneal opasite görünümü

Hastaya korneal infiltrasyon alanının makroskopik olarak tamamı uzaklaştırılarak sekiz mm çaplı greft ile penetran keratoplasti (PKP) yapılmıştır. Ayrıca operasyon esnasında lenste de destrüksiyon izlenmesi nedeniyle lensektomi yapılarak alıcı yatağa intrastromal ve ön kamaraya intrakamaral vorikonazol (100 µl/0.1 ml) enjeksiyonu yapılmıştır. PKP sonrasında topikal lipozomal amfoterisin B (2 mg/cc göz damlası 12x1) ve topikal vorikonazol (%1 göz damlası 12x1) ile tedavisine devam edilirken, yanıt alınmadığından sistemik vorikonazol tedavisi kesilerek sistemik lipozomal amfoterisin B (350 mg/gün) başlanmıştır. Post-PKP birinci günden itibaren ön kamarada tekrar yoğun bir inflamasyon olduğu görülmüştür. Post-PKP üçüncü günde B-tarama oküler USG'de vitreus içerisinde de inflamasyon tespit edilmiş ve fungal endoftalmi tanısı ile pars plana vitrektomi (PPV) ve intravitreal lipozomal amfoterisin B (5 mg/0.1 ml) enjeksiyonu yapılmıştır. Ancak hastanın böbrek fonksiyonlarında bozulma olması nedeniyle, sistemik lipozomal amfoterisin-B kesilerek oral posakonazol 2x300 mg yükleme ve ardından 1x300 mg idame başlanmıştır. PPV sonrasında ikişer gün ara ile intravitreal lipozomal amfoterisin B (5 mg/0.1 ml) enjeksiyonları tekrarlanmıştır. Ancak tüm bu tedavilere rağmen göz içerisindeki enfeksiyon kontrol altına alınamamış ve ağır silikon verilerek vitrektomi yapılmış beraberinde intravitreal lipozomal amfoterisin B (5 mg/0.1 ml) enjeksiyonu yapılmıştır. Öte yandan korneal greftte tekrar infiltrasyon olduğu ve hızla tüm grefte yayıldığı görülmüştür. Bu sebeplerle hasta tedaviye

yanıtsız kabul edilerek evisserasyon ameliyatı yapılmıştır. Evisserasyon sonrası takiplerde herhangi bir enfeksiyon bulgusu ile karşılaşmamıştır.

TARTIŞMA

Tek taraflı körlük gibi ciddi klinik sonuçları olabilen *Fusarium* keratiti, tropikal ve subtropikal bölgelerde daha sık karşılaşılan bir göz enfeksiyonudur⁽¹²⁾. Salgılanan karboksipeptidaz ve aminopeptidaz gibi enzimlerin yanı sıra fusarik asit ve fumonisin B1 gibi mikotoksinler *Fusarium*'un virülansında önemli rol oynamaktadır^(13,14).

Fusarium keratiti hızla ilerleyici korneal harabiyete yol açıp sağlam descemet membranını penetre ederek endoftalmi ile sonuçlanabilir. Görme kaybına hatta etkilenen gözün kaybedilmesine yol açabilir⁽⁷⁾. Keratitlerin endoftalmiye ilerlemesindeki en yaygın risk faktörleri; fungal etken sonucu gelişen keratit, topikal steroid kullanımı, geçirilmiş cerrahi, kornea perforasyonu, kuru göz, immün yetmezlik, organik madde travması ve kontakt lens kullanımıdır⁽¹⁵⁾. Bu olguda, enfeksiyonun organik madde travması sonucu başlaması ve keratitin bir fungal etkene bağlı olması, endoftalmiye gidiş açısından risk faktörleri olarak ifade edilebilir.

Edelstein ve ark.⁽¹⁶⁾ tarafından bildirilen bir *F. solani* keratiti olgusunda; keratit sonrasında endoftalmi gelişmiş ve ameliyat sırasında doğrulanmış skleral nekroz nedeniyle hastaya evisserasyon yerine enükleasyon yapılmıştır. Aynı şekilde bu olguda da *Fusarium* keratiti tablosu olarak başlayan enfeksiyon, antifungal tedavilere yanıt vermeyerek cerrahi müdahaleleri gerekli kılmış ve nihai olarak hastaya evisserasyon ameliyatı yapılmıştır.

Dursun ve ark.⁽⁷⁾ fungal keratit sonrası endoftalmi gelişen 10 hastadan ikisinde enükleasyon, dört hastada penetran keratoplasti gerektiği ve bir hastada ise enfeksiyonun fitizis ile sonuçlandığını bildirmişlerdir.

Türkiye’den bildirilen iki farklı olgudan birinde *F. oxysporum* ürerken diğesinde *F. solani* tespit edilmiş ve her ikisinin de başarıyla tedavi edildiği bildirilmiştir. *F. oxysporum* izole edilen olguda medikal tedavi ile başarı sağlanırken, *F. solani* izole edilen olguya ise iki kez amniyotik membran transplantasyonu yapılmıştır^(17,18).

Laboratuvarımızda rutinde kullanılan antifungal duyarlılık test kitinin küf mantarları için valide olmaması nedeniyle antifungal duyarlılık profili çalışılamamıştır. Ancak yapılan çok merkezli bir çalışmada 52 hasta örneğinden izole edilen *Fusarium* izolatlarına antifungal duyarlılık testleri uygulanmış ve *F. solani* izolatlarının, diğer *Fusarium* türlerine göre vorikonazol için daha yüksek minimum inhibitör konsantrasyonu değerine sahip olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca örneklerinde *F. solani* üreyen hastaların klinik sonuçlarının, diğer *Fusarium* türleriyle enfekte olan hastalara göre daha kötü olduğu bildirilmiştir⁽¹⁹⁾.

Literatür verilerine paralel olarak bu olguda tespit edilen *F. solani* keratiti, yapılan medikal ve cerrahi tedavilere rağmen hızla ilerlemiş ve klinik seyir evisserasyon ile sonuçlanmıştır. Bu olgunun, etkenin bulaş şekli ve hastanın klinik seyri açısından dikkate değer olduğu düşünülmüştür.

Göz enfeksiyonlarında fungal etken ihtimali her zaman akılda tutulmalı, şüphe durumunda hasta, detaylı fizik muayene ve ileri tetkiklerin yapılabileceği yetkin bir merkeze yönlendirilmeli, ampirik antifungal tedavi derhal başlanmalıdır. Hızlı ve doğru etken identifikasyonu için etkin bir klinik ve laboratuvar iletişimi sürdürülmelidir. Her örnekte olduğu gibi doğru alınmış, doğru taşınmış ve doğru işlenmiş örnekler, hızlı ve doğru bir laboratuvar sonucuna götürdüğü gibi klinik anlamda da başarı şansını yükseltecektir.

Etik Kurul Onayı: Bu olgu sunumu; Necmettin Erbakan Üniversitesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.04.2023 tarih ve 173 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This case report was conducted with the approval of Necmettin Erbakan University, Non-Pharmaceutical and Medical Device Research Ethics Committee (04.07.2023; 173).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Summerell BA, Leslie JF, Liew ECY, et al. *Fusarium* species associated with plants in Australia. Fungal Divers. 2011;46:1-27. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0075-8>
2. Coleman JJ. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. Mol Plant Pathol. 2015;17(2):146-58. <https://doi.org/10.1111/mpm.12289>
3. Nelson PE, Dignani MC, Anaissie EJ. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. Clin Microbiol Rev. 1994;7(4):479-504. <https://doi.org/10.1128/CMR.7.4.479>
4. Mahmoudi S, Masoomi A, Ahmadika K, et al. Fungal keratitis: An overview of clinical and laboratory aspects. Mycoses. 2018;61(12):916-30. <https://doi.org/10.1111/myc.12822>
5. Savir H. Anterior segment resection because of *Fusarium solani* keratitis and endophthalmitis. Arch Ophthalmol. 1984;102(6):824-5. <https://doi.org/10.1001/archophth.1984.01040030650008>
6. Rowsey JJ, Acers TE, Smith DL, Mohr JA, Newsom DL, Rodriguez J. *Fusarium oxysporum* endophthalmitis. Arch Ophthalmol. 1979;97(1):103-5. <https://doi.org/10.1001/archophth.1979.01020010043010>
7. Dursun D, Fernandez V, Miller D, Alfonso EC. Advanced *Fusarium* keratitis progressing to endophthalmitis. Cornea. 2003;22(4):300-3. <https://doi.org/10.1097/00003226-200305000-00004>
8. Arslan N, Bahar A, Sabur H. Effects of contact lens wearing habits on ocular surface and microbial flora. Selcuk Med J. 2023;39(2):57-61. <https://doi.org/10.30733/std.2023.01580>

9. Garg P, Roy A, Roy S. Update on fungal keratitis. *Curr Opin Ophthalmol*. 2016;27(4):333-9. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000272>
10. Sharma S. Diagnosis of infectious diseases of the eye. *Eye*. 2012;26(2):177-84. <https://doi.org/10.1038/eye.2011.275>
11. Chidambaram JD, Prajna NV, Larke NL, et al. Prospective study of the diagnostic accuracy of the in vivo laser scanning confocal microscope for severe microbial keratitis. *Ophthalmology*. 2016;123(11):2285-93. <https://doi.org/10.1016/j.opht.2016.07.009>
12. Brown L, Leck AK, Gichangi M, Burton MJ, Denning DW. The global incidence and diagnosis of fungal keratitis. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(3):49-57. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30448-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30448-5)
13. Madhu SN, Sharma S, Gajjar DU. Identification of proteases: Carboxypeptidase and aminopeptidase as putative virulence factors of *Fusarium solani* species complex. *Open Microbiol J*. 2020;14:266-77. <https://doi.org/10.2174/1874434602014010266>
14. Naiker S, Odhav B. Mycotic keratitis: profile of *Fusarium* species and their mycotoxins. *Mycoses*. 2004;47(1-2):50-6. <https://doi.org/10.1046/j.0933-7407.2003.00936.x>
15. Henry CR, Flynn HW Jr, Miller D, Forster RK, Alfonso EC. Infectious keratitis progressing to endophthalmitis: a 15-year study of microbiology, associated factors, and clinical outcomes. *Ophthalmology*. 2012;119(12):2443-9. <https://doi.org/10.1016/j.opht.2012.06.030>
16. Edelstein SL, Akduman L, Durham BH, Fothergill AW, Hsu HY. Resistant *Fusarium* keratitis progressing to endophthalmitis. *Eye Contact Lens*. 2012;38(5):331-5. <https://doi.org/10.1097/ICL.0b013e318235c5af>
17. Çorabatır C, Ülger M, Yıldırım Ö, Kuş N, Otağ F. Korneal abse kültüründen *Fusarium oxysporum* izole edilen bir olgu. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2013;6(1):26-9.
18. Berkem R, Türkoğlu G, Yılmaz S, Burcu A, Kalkancı A. *Fusarium solani*'nin etken olduğu fungal keratit olgusu. *Flora*. 2016;21(1):33-7.
19. Oechsler RA, Feilmeier MR, Miller D, Shi W, Hofling-Lima AL, Alfonso EC. *Fusarium* keratitis: genotyping, in vitro susceptibility and clinical outcomes. *Cornea*. 2013;32(5):667-73. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e318277ac74>

Düzeltilme: Aromaterapötik Gül Uçucu Yağının Bakteriyel Quorum Sensing ve Biyofilm Üretimine Karşı İnhibisyon Etkileri

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

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2021 yılı cilt 51 sayı 3, 245-253 sayfa numaraları arasında yayımlanan “Aromaterapötik Gül Uçucu Yağının Bakteriyel Quorum Sensing ve Biyofilm Üretimine Karşı İnhibisyon Etkileri” başlıklı makalenin 247, 249, 251 ve 253. sayfalarındaki üst bilgi bölümünde bulunan yazar adı sehven hatalı yazılmıştır. Doğru üst bilgi “Bali ve ark., Aromaterapötik Gül Yağının Biyolojik Aktiviteleri” şeklindedir.

YAZARLARA BİLGİ

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

Başvuru

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

Prof. Dr. Çağrı Ergin

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Kınıklı Kampüsü / Denizli

Tel: 0258 296 2491

E-posta: tmcdeditor@gmail.com

Metin Çeşitleri

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

Metin yazımı esnasında uyulacak kurallar

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

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

Örnekler

A. Makaleler

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

- **Standart Dergi Makalesi:** Courvalin P, Davies J. Mechanisms of resistance to aminoglycosides. Am J Med. 1977;62(6):868-72. <https://doi.org/.....>
- **Dergi Ekinde (Supplement) yer alan makale:** Snyderman DR. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial Candida infections. Chest. 2003;123(Suppl 5):S500-3. <https://doi.org/.....>
- **Elektronik dergi makalesi:** Lam PV, Tadros M, Fong IW. Mandibular osteomyelitis due to Raoultella species. JMM Case Rep. 2018;5. Internet adresi: <http://.....> Erişim tarihi: .././20.. <https://doi.org/.....>

B. Kitaplar

- **Kitap:** Appanna VD. Human Microbes - The Power Within Health, Healing and Beyond. Singapur: Springer Singapur; 2018.

- **e-kitap:** Appanna VD. Human Microbes - The Power Within Health, Healing and Beyond. Singapur: Springer Singapur; 2018. İnternet adresi: <http://.....> Erişim tarihi: .././20..
- **Kitap bölümü:** Piret J. Antiviral drug resistance in herpesviruses. In: Berghuis A, Matlashewski G, Sheppard D, Wainberg MA (Eds.) Handbook of antimicrobial resistance. New York: Springer-Verlag, 2017:87-122. (Türkçe kitaplar için; cümle sonuna kitabında ifadesini ekleyiniz.)
- **Kurumsal yayın:** CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard M27-A3. 3rd ed. CLSI, Wayne: ABD; 2008.
- **Sürelî resmi yayın:** TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 30.05.2007(26537).
- **Sürelî resmi yayın (internet):** TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 2007(26537). İnternet adresi: <http://.....> Erişim tarihi: .././20..
- **Kongre Bildiri Özeti:** Başustaoğlu AC, Süzük S, Mumcuoğlu İ, ve ark. Kan kültürü uygulamalarının değerlendirilmesi: EpiCenter verilerinin kullanımı. XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 16-20 Kasım 2016, Belek, Antalya; 2016:TPS-85.
- **Tez:** Öktem İMA. Endoservikal sürüntü örneklerinde Chlamydia trachomatis hücre kültürü sonuçlarının direk floreson antikor (DFA) ve enzim immunoassay (EIA) yöntemleri ile karşılaştırılması [Tıpta uzmanlık tezi]. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 1998.

C. Sanal Ortam

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

Şekil, Tablo, Fotoğraf, Resim, Grafik

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

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

ETİK POLİTİKALAR

Yayın Etiği

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

Yazarların Etik Sorumlulukları

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

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

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

Editörlerin Etik Sorumlulukları

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

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

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

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

Hakemlerin Etik Sorumlulukları

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

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

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

Yayının Etik Sorumlulukları

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

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

HAKEMLERE BİLGİ

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

Hakem daveti

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

Makalelerin genel değerlendirilmesi;

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

Derlemelerin değerlendirilmesi

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

Olgu sunumu değerlendirilmesi

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

Çevresel araştırmalar

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

Hakem raporu

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

