

Cilt / Volume 53

Sayı / Number 2

Haziran / June 2023

ISSN 0258-2171

e-ISSN 2458-7516



Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

- ✓ Ekstraintestinal Patojenik *Escherichia coli*: Virölans Faktörleri
- ✓ Tüberkülozlu Hastalara Ait *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks İzolatlarının MIRU-VNTR ve Spoligotiplendirme Yöntemleri ile Genotiplendirilmesi
- ✓ Boğmaca Tanısında *IS481* Genini Hedefleyen İki Ticari Kitin Performansının Değerlendirilmesi
- ✓ Kuzey Kıbrıs'ta Hamilelikle İlişkili Bir İmporite Sıtma Olgusu

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY



Cilt / Volume 53

Sayı / Number 2

Haziran / June 2023



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 53 Sayı / Number 2 Haziran / June 2023

Editör / Editor in Chief

Çağrı Ergin

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

Bölüm Editörleri / Section Editors

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. Candan Çiçek

Yazışma Adresi / Correspondence Address

Prof. Dr. Çağrı Ergin
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Morfoloji Binası
Kınıklı / Denizli
Orcid no: 0000-0001-7783-8723
Tel: 0258 296 24 91
E-posta: tmcdeditor@gmail.com
www.tmc-online.org

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

© 2023. Bu dergide yer alan yazı, makale, fotoğraf ve illüstrasyonların elektronik ortamlarda dahil olmak üzere kullanma ve çoğaltılma hakları Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derneği'ne aittir. Yazılı ön izin olmaksızın materyallerin tamamının ya da bir bölümünün çoğaltılması yasaktır. Dergi Basım Meslek İlkeleri'ne uymaktadır.

© 2023. Rights to the use and reproduction, including in the electronic media, of all communications, papers, photographs and illustrations appearing in this journal belong to Turkish Society of Microbiology. Reproduction without prior written permission of part or all of any material is forbidden. The journal complies with the Professional Principles of the Press.

Yayın Türü: Yaygın Süreli

Yayınçılık Hizmetleri / Publishing Services

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

Baskı / Printing

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

Danışmanlar Kurulu / Advisory Board

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

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

Hikmet Eda Aışkan, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana Dr. Turgut Noyan Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana
0000-0001-9060-3195

Alpaslan Alp, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-7856-7590

Mustafa Altındış, Sakarya Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya
0000-0003-0411-9669

Arzu Funda Bağcıgil, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul
0000-0002-8838-7291

Ahmet Celal Başustaoglu, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-2571-0637

Orhan Baylan, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-6529-7824

Yeşim Beşli, VKV Amerikan Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul
0000-0003-4574-6036

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

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

Emel Sesli Çetin, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta
0000-0001-5231-3824

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

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

Ayşe Erbay, Yozgat Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yozgat
0000-0001-8882-4124

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

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

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

Arzu İlki, Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0003-3887-7003

Nuran Karabulut, Başakşehir Çam ve Sakura Hastanesi, Tıbbi Viroloji Laboratuvarı, İstanbul
0000-0003-3550-2599

Aynur Karadenizli, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli
0000-0002-8267-5284

Bilge Alpaslan Kocamemi, Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-6798-2032

Selçuk Kılıç, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Yüksek Riskli Patojenler Referans Laboratuvarı, Ankara
0000-0002-4993-650X

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

Duygu Öcal, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-9929-267X

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

Gözde Öngüt, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya
0000-0003-2808-1829

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

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

Ahmet Özbilgin, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa
0000-0003-3613-8741

Melda Özdamar, Anadolu Sağlık Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kocaeli
0000-0003-3532-9255

Emrah Ruh, Yakın Doğu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, KKTC
0000-0003-4741-9450

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

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

Gülgün Yenişehirli, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tokat
0000-0001-7030-0752

Atilla Yıldız, Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara
0000-0003-3940-9199

Fadile Yıldız Zeyrek, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa
0000-0001-7386-9944



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 53 Sayı / Number 2 Haziran / June 2023

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

DERLEME / REVIEW

- **Ekstraintestinal Patojenik *Escherichia coli*: Virülans Faktörleri**
Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli: Virulence Factors
Hüseyin Akdoğan, Nezahat Akpolat61

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / RESEARCH ARTICLES

- **Karbapeneme Dirençli *Klebsiella* spp. ve *Escherichia coli* İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu β -laktamaz, Karbapenemaz ve AmpC β -laktamaz Varlığının Fenotipik Yöntemlerle Araştırılması**
*Investigation of Extended Spectrum β -lactamase, Carbapenemase and AmpC β -lactamase by Phenotypic Methods in Carbapenem-resistant *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli* Isolates*
Filiz Orak, Esra Kaya, Murat Aral, Adem Doğaner75
- **Tüberkülozlu Hastalara Ait *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks İzolatlarının MIRU-VNTR ve Spoligotiplendirme Yöntemleri ile Genotiplendirilmesi**
Genotyping of Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates from Patients with Tuberculosis by MIRU-VNTR and Spoligotyping Methods
Nurcihan Biltekin, Mahmut Ülger, Mediha Begüm Kayar, Gülfer Yakıcı, Seda Tezcan Ülger, Gönül Aslan, Nuran Delialioğlu, Fatih Köksal84
- **Ankara Bölgesindeki Hepatit Delta Virüs Seroprevalansının Retrospektif Değerlendirilmesi**
Retrospective Evaluation of Hepatitis Delta Virus Seroprevalence in Ankara Region
Fusun Kırca, Sibel Aydoğan, Firdevs Güvenç, Ezgi Güler, Emrah Salman, Bedia Dinç93
- **Boğmaca Tanısında IS481 Genini Hedefleyen İki Ticari Kitin Performansının Değerlendirilmesi**
Evaluation of the Performance of Two Commercial Kits Targeting the IS481 Gene in Pertussis Diagnosis
Hatice Yazısız, Aydan Karagül, Özlem Koyuncu Özyurt, Betil Özhak, Kenan Midilli, İmran Sağlık, Gözde Öngüt, Mert Ahmet Kuşkucu, Dilara Ögünç99
- **Bazı Çevresel İzolatların Yağ/Su Ara Yüzü Etkileşimlerinin İncelenmesi Üzerine Bir Ön Çalışma**
A Preliminary Study on the Investigation of Oil/Water Interface Interactions of Some Environmental Isolates
Tuğçe Yağmur Orhan, Caner Vural107
- **Dışkıda *Helicobacter pylori* Pozitifliğinin Araştırılması: 5 Yıllık İzlem**
Investigation of Helicobacter pylori Positivity in Stool: 5-year Follow-up
Bahar Akgün Karapınar, Cihan Yeşiloğlu, Aygün Mehdiyeva, Betigül Öngen118
- **Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne Başvuran Hastalarda HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV ve Anti-HIV Seroprevalansı**
HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV, and Anti-HIV seroprevalence among patients admitted to Kafkas University Health Research and Training Hospital
Didem Özgür124
- **Sifiliz Seroprevalansı Artıyor Mu?**
Is Syphilis Seroprevalence Increasing?
Caner Yürüyen, Yasemin Uzunöner, Sebahat Aksaray133



TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / Volume 53 Sayı / Number 2 Haziran / June 2023

OLGU SUNUMU / CASE REPORT

- **Kuzey Kıbrıs'ta Hamilelikle İlişkili Bir İmporte Sıtma Olgusu**
An Imported Malaria Case Associated With Pregnancy in Northern Cyprus
Emrah Güler, Ulaş Hürdoğanoglu, Kaya Süer138
- YAZARLARA BİLGİVI-VII
- ETİK POLİTİKALARVIII-IX
- HAKEMLERE BİLGİ X

Ekstraintestinal Patojenik *Escherichia coli*: Virülans Faktörleri

Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors

Hüseyin Akdoğan[✉], Nezahat Akpolat[✉]

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

Atıf/Cite as: Akdoğan H, Akpolat N. Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli*: Virülans faktörleri. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):61-74.

ÖZ

Escherichia coli insanlarda hem mikrobiyota hem de patojenite açısından en önemli bakterilerden biridir. *E. coli* ekstraintestinal ve intestinal gruplarda yer alan farklı patolojik etkilere gösteren farklı patotiplere sahiptir. Ekstraintestinal *E. coli* grubunda üropatojenik *E. coli*, sepsis ilişkili *E. coli* ve neonatal menenjit ilişkili *E. coli* yer almaktadır. Bunlar arasında en sık enfeksiyon etkeni üropatojenik *E. coli*'dir. Farklı patolojik etkilere sahip enfeksiyonlara neden olması ekstraintestinal *E. coli*'de çeşitli virülans faktörlerinin varlığına bağlıdır. Bu faktörler arasında başlıca adezinler, invazinler, sideroforlar, protektinler/serum direnci ve toksinler yer almaktadır. Bu derlemede ekstraintestinal patojenik *E. coli* enfeksiyonlarının patogeneğinde rol alan bu virülans faktörleri ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: ExPEC, virülans faktörleri, ekstraintestinal, *E. coli*

ABSTRACT

Escherichia coli is one of the most important bacteria in humans in terms of both microbiota and pathogenicity. *E. coli* has different pathotypes with different pathological effects in the extra-intestinal and intestinal groups. The extra-intestinal *E. coli* group includes uropathogenic *E. coli*, sepsis-associated *E. coli* and neonatal meningitis-associated *E. coli*. Among them, the most common infectious agent is uropathogenic *E. coli*. Cause of infections with different pathological effects depends on the presence of various virulence factors in extra-intestinal *E. coli*. These factors include mainly adhesins, invasins, siderophores, protectins/serum resistance and toxins. In this review, these virulence factors that play a role in the pathogenesis of extra-intestinal pathogenic *E. coli* infections were discussed.

Keywords: ExPEC, virulence factors, extra-intestinal, *E. coli*

Alındığı tarih / Received:

29.10.2022 / 29.October.2022

Kabul tarihi / Accepted:

02.03.2023 / 02.March.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

H. Akdoğan 0000-0002-0536-4300

N. Akpolat 0000-0002-8653-6046

✉ akdoganh@outlook.com

GİRİŞ

Escherichia coli [(Migula 1985) Castellani and Chalmers 1919)]; Enterobacteriaceae ailesi içerisinde yer alan gram negatif, fakültatif anaerob, hareketli, spor oluşturmeyen ve laktozu fermente edebilen basil yapısında bir bakteridir⁽¹⁻³⁾. *E. coli*, insanlarda intestinal sistem mikrobiyotasının kommensal flora üyeleri olarak bulunurken aynı zamanda insanlarda çeşitli hastalıklara neden olabilen önemli bir patojendir⁽⁴⁾.

Escherichia coli'ye ait farklı serolojik özelliklere sahip çok sayıda alt tür bulunmaktadır. Bu alt türlerin tanımlanmasında, bakterinin yüzeyinde bulunan O polisakkarit antijenleri, flagellar H antijenleri ve kapsüler K antijenleri kullanılmaktadır. Bu

antijenlerden O ve H antijenlerine dayalı serotipleme *E. coli* tiplendirmesi için altın standart kabul edilmektedir⁽⁵⁾. Bu antijenik yapılara göre tanımlama sonucunda yaklaşık 186 farklı *E. coli* O grubu, 53 H tipi mevcuttur⁽⁶⁾.

Escherichia coli'nin insanlarda hastalığa neden olan farklı patojenik grupları bulunmaktadır. Bu patojenik gruplar intestinal sistemde hastalık yapan diyarejenik *E. coli* (DEC) ve intestinal sistem dışından hastalık yapan ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) olarak ayrılmaktadır⁽⁷⁾. DEC grubu içerisinde; enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve diffüz aderent *E. coli* (DAEC) yer almaktadır. ExPEC grubu içerisinde ise üropatojenik *E. coli* (UPEC),

neonatal menenjit ilişkili *E. coli* (NMEC) ve sepsis ilişkili *E. coli* (SePEC) yer almaktadır. ExPEC içerisinde en sık görülen enfeksiyon etkeni olan ise UPEC'tir⁽⁷⁻⁹⁾.

Ekstraintestinal Patojenik *Escherichia coli*: Genel Bilgiler

ExPEC, tüm yaş gruplarında etki gösteren ve çeşitli klinik tablolara neden olan en yaygın gram negatif bakteriyel patojendir⁽¹⁰⁾. ExPEC, başta yaşlıları etkileyen bakteriyeminin ve sağlıklı kişilerde ortaya çıkan idrar yolu enfeksiyonlarının en yaygın nedenidir⁽¹¹⁾. Yenidoğanlarda ortaya çıkan bakteriyel menenjitte ise en sık görülen etkenler arasında ikinci sırada yer almaktadır⁽¹⁰⁾. Ayrıca *E. coli* intraabdominal enfeksiyonlara ve nozokomiyal pnömoniye neden olurken, osteomyelit, selülit ve yara enfeksiyonları gibi diğer ekstraintestinal enfeksiyonlarda da etken olabilir⁽¹²⁾.

DEC suşlarının aksine ExPEC suşları, kommensal *E. coli* suşları gibi genellikle normal bağırsak florasında bulunur ve insanlarda gastroenterite neden olmaz⁽¹¹⁾. ExPEC içerisinde yer alan patojenlerin çoğu fonksiyonel olarak benzer virülans faktör profilleri ve klonal özellikler gösterirken, kommensal *E. coli* ve DEC patojenlerinden farklı özellikler taşımaktadır⁽¹¹⁾.

Kommensal *E. coli* suşları tipik olarak *E. coli* filogenetik grupları A veya B1'de yer alırken çoğu virülans faktörden yoksundur^(13,14). Kommensal ve DEC grubundan farklı olarak ExPEC, ağırlıklı olarak *E. coli* filogenetik grubu B2'den ve daha az oranda grup D'den ve bu gruplar içindeki karakteristik O:K:H serotipleriyle tanınabilen spesifik klonlardan oluşur⁽¹³⁾. DEC grubu ise A, B1, D veya gruplanmamış soylar içerisinde yer alır⁽¹⁵⁾.

Ekstraintestinal Patojenik *Escherichia coli*: Virülans Faktörleri

ExPEC suşları, hem sağlıklı hem de zayıflamış konaklarda gastrointestinal sistem dışı enfeksiyonlara neden olmalarını sağlayabilen çeşitli ekstraintestinal virülans faktörlerini kodlayan genlere sahiptir^(16,17). Bu

virülans genleri DEC suşlarının bağırsak hastalığına neden olmasını sağlayanlardan farklıdır. Bu duruma patogeneze açısından bakıldığında mantıklı bir evrimsel gelişme olarak olarak görülmüştür. Çünkü konak ortamı ve ilişkili savunma mekanizmaları gastrointestinal sistemin içinde ve dışında önemli ölçüde farklılıklar göstermektedir⁽¹¹⁾.

ExPEC önemli ölçüde genom çeşitliliğine sahiptir; patojenite adaları (PAIs, pathogenicity islands) ve diğer hareketli DNA'lar tarafından kodlanan toksinler, adezinler, konak savunmadan kaçışı sağlayan polisakkarit kapsül, konak savunmasını bozabilen lipopolisakkarit (LPS), invazinler ve demir alım mekanizmaları (sideroforlar) gibi birçok karakteristik virülans faktörlerine sahiptir^(11,18).

Adezinler: Konak doku hücrelerine spesifik adezyon, çoğu bakteriyel patojen için temel bir virülans faktörüdür. Bakterilerin konak doku yüzeylerine tutunmasını etkileyen temel süreçlere adezinler aracılık eder⁽¹⁹⁾. Birçok yüzey yapısı, ExPEC için spesifik adezyon sürecinde önemli bir rol oynar. Bunlar içerisinde; tip 1 fimbria, afimbrial adezin, Dr fimbria, P fimbria, S fimbria, F1C fimbria, Iha, Mat, curli ve antijen43 sayılabilir⁽²⁰⁾.

Yüzey adezyonlarının ekspresyonu, bakterilerin konak hücresi ile temasını başlatarak patojenik *E. coli*'nin virülansını artırır. Bakteri hücrelerinin yüzeyinde fimbria varlığını belirleyen çoğu gen, kromozomal olarak veya daha az sıklıkla plazmit DNA içinde kodlanır⁽²¹⁾.

Tip 1 fimbria, mannoza karşı duyarlı olan fimbrialar, tip 1 olarak sınıflandırılmıştır. Tip 1 fimbria ekspresyonunun kontrolünden *fimB* ve *fimE* genleri sorumludur⁽²¹⁾. Tip 1 fimbria hem abiyotik hem de biyotik yüzeylere bağlanmada ve biyofilm oluşumunun erken döneminde rol alır^(22,23). *E. coli*'de tip 1 fimbria, üroepitelyum üzerindeki mannoz içeren reseptörlere tutunmaya aracılık ederek ve hücre içi bakteri topluluklarının (IBC, intracellular bacterial community) oluşumunu sağlayarak idrar yolu enfeksiyonları sırasında çok önemli bir rol oynar⁽²⁴⁻²⁶⁾. Tip 1 fimbriaların aracılık ettiği IBC oluşumu,

bakterinin böbreklere ulaşımına destekler ve bu nedenle UPEC patogenezinde önemli bir rol oynar⁽²⁷⁾. Tip 1 fimbriaların rolü ağırlıklı olarak UPEC’de gösterilmiş olmasına rağmen, fimbriyal adezinlerin ayrıca insan beyni mikrovasküler endotel hücrelerinin (HBMEC, human brain microvascular endothelial cells) adezyonu ve invazyonu aracılığı ile NMEC patogenezinde katkıda bulunduğu gösterilmiştir⁽²⁸⁾.

Afimbrial adezinler, mannoz dirençli hemagglütinasyon (MRHA, mannose resistant hemagglutination) olarak da tanımlanan, insan eritrositlerini D-mannoz varlığında hemagglütine eden *E. coli* suşlarının bir kısmının herhangi bir fimbriaya sahip olmadığı ancak üroepitelyal hücrelere tutunabildiği görülmüş ve bu durum afimbrial adezinlerin varlığını düşündürmüştür⁽²⁹⁾. Afimbrial adezinler, lokalize ve aynı transkripsiyonel birime ait *afaA*, *afaB*, *afaC*, *afaD* ve *afaE* genleri tarafından kodlanır⁽³⁰⁾. *afaE* geni adezin veya hemagglütinin AFA-I polipeptidini kodlar, *afaB* geni ise MRHA ekspresyonunda gereklidir⁽³⁰⁾. Afimbrial adezinler, piyelonefrit ve tekrarlayan sistit oluşumu ile ilişkili önemli bir virülans faktörü grubu olan hem fimbrial bir adezin olan Dr fimbria hem de Afa afimbrial adezinleri içeren Afa/Dr adezin ailesi esas olarak UPEC suşlarında bulunur⁽³¹⁾. Tüm aile için ortak reseptör, eritrositlerin ve idrar yolu epiteli gibi hücrelerin yüzeyinde eksprese edilen bozulma hızlandıran faktördür (DAF, decay accelerating factor). Dr adezinin iki reseptörü daha bulunur. Bunlardan biri idrar yolu enfeksiyonlarında önemli bir faktör olan bazal membran tip IV kollajen diğeri ise fizyolojik değişimleri düzenleyen bir sinyal reseptörü görevi gören hücre adezyon molekülleri ile ilgili karsinoembriyonik antijendir. Bu reseptöre bağlanma intraepitelyal hücrelere bakteri invazyonunu kolaylaştırır⁽³²⁾.

Dr fimbria, tipik olarak *E. coli* fimbrialarından morfolojik olarak farklıdır ve bobin benzeri bir yapıda görülür⁽³³⁾. Dr adezini kodlayan gen operonu *dra* olarak adlandırılır ve dört gen (*draA*, *draC*, *draD* ve *draE*) mannoza dirençli hemagglütinin fenotipinin tam ekspresyonu için gereklidir⁽³⁴⁾. Dr adezin ilk olarak O75 serogrubuna ait bir dizi UPEC suşu tarafından eksprese edilen mannoza dirençli P kan grubundan bağımsız bir hemagglütinin olarak tanımlanmış ve

adezin O75X olarak tanımlanmıştır^(34,35). Ardından IFC (Inab-Freiberger Cromer) kan grubu kompleksinin bir bileşeni olan Dr kan grubu antijeninin, O75X fimbrial benzeri adezin için reseptör olduğunu ve Dr hemagglütinin tarafından tanınan molekülün kloramfenikol benzeri bir yapı olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, O75X fimbrial benzeri adezin için Dr hemagglütinin ismi önerilmiştir⁽³⁶⁾. Dr kan grubu maddesinin tübüler bazal membranda ve insan böbreğinin Bowman kapsülünde bulunduğu ve Dr adezinlerin böbrek bazal membranına, Bowman kapsülüne ve daha az düzeyde mesane epiteline tutunduğu gösterilmiştir^(34,36). Dr fimbria taşıyan *E. coli*’nin böbrek dokularında kalıcı olduğu ve önemli tübülointerstisyel nefrit ile ilişki olduğu ancak Dr fimbria taşımayan *E. coli*’nin daha az patoloji gösterdiği ve böbrek dokusundan kademeli şekilde temizlendiği bildirilmiştir⁽³⁷⁾.

P fimbria, insan eritrositlerini aglütine edebilme kabiliyetine sahip mannoza dirençli bir fimbriadır. P fimbria olarak adlandırılmasının sebebi özgül olarak eritrosit ve üroepitelyal hücrelerdeki P kan grubu antijenlerine bağlanmasıdır⁽³⁸⁾. UPEC için en yaygın ikinci virülans faktörüdür⁽³⁹⁾. P fimbriayı kodlayan genlere *pap* genleri veya piyelonefrit ilişkili pili genleri olarak adlandırılmaktadır⁽⁴⁰⁾. Yapısal olarak, majör (PapE) ve minör (PapF, PapK, PapG) bileşenleri içeren bir uç fibriline bağlı majör alt birim proteininin (PapA) çoklu kopyalarından oluşur⁽⁴¹⁾. PapA bağlanma için gerekli değilken papF ve papG’nin adezyon için gerekli olduğu gösterilmiştir⁽⁴²⁾. P fimbriaların, PapGI, PapGII ve PapGIII isimli üç moleküler varyantta ortaya çıkan PapG adezinleri aracılığıyla bir rol oynadığı düşünülmektedir⁽⁴⁰⁾. Sınıf II ve sınıf III PapG varyantları en yaygın olarak insan ExPEC suşları ile ilişkilidir⁽⁴¹⁾. PapG, piyelonefritik *E. coli* izolatlarının %80’inde ve komplike faktörleri olmayan bakteriyemili piyelonefrit hastalarının kan kültürlerinden elde edilen izolatlarda %100 oranında *pap* gen varlığı gösterilmiştir^(43,44). Ek olarak P fimbria böbrek nakli hastalarında ve akut böbrek yetmezliği olan hastalarda görülen yaygın virülans faktörleridir⁽²¹⁾.

S fimbria, insan eritrositleri üzerinde mannozitler veya P antijenleri dışındaki yapıları içeren nöraminik

asit (sialik asit) tanıyan bir fimbria grubudur⁽⁴⁰⁾. Reseptör özgüllüklerine, yani sialil galaktozidlere özgül bağlanmalarına dayalı olarak S fimbria olarak adlandırılmıştır⁽⁴⁵⁾. S fimbria *sfa* genleri tarafından kodlanır⁽²¹⁾. S fimbria, ExPEC'in neonatal menenjitte ve İYE (idrar yolu enfeksiyonu)'ye neden olması ile ilişkilidir. İYE kökenli ExPEC suşları arasında, S fimbriae en yaygın olarak sistit etkeni isolatlar tarafından eksprese edilir, bu da alt üriner sistemde selektif bir avantaj sağladıklarını düşündürür⁽⁴¹⁾.

F1C fimbria, *foc* geni tarafından ifade edilir ve renal epitelyal hücrelere ve mesane ve böbrek endotelial hücrelere adezyonda görev alır⁽²¹⁾. Yapılan bir çalışma İYE kökenli ExPEC suşlarının %14'ünde ve fekal suşların %7'sinde F1C fimbria bulunduğunu gösterirken, farklı bir çalışmada ise yine ExPEC suşlarında %14 oranında F1C fimbria bulunduğu belirtilirken fekal suşlarda F1C fimbria saptanmadığı belirtilmiştir^(46,47). F1C fimbria bir ana alt birim proteini (FocA), küçük alt birimler (FocF ve FocG) ve uç yerleşimli bir adezin (FocH) içerir⁽⁴¹⁾. F1C aracılı bakteriyel adezyon, doğuştan gelen bağışıklık sistemini tetikler ve böylece insan böbrek epitel hücreleri, F1C aracılı bağlanmaya yanıt olarak proinflatuar sitokin IL-8'i üretir⁽⁴⁸⁾. Ek olarak F1C fimbrianın inert bir yüzeyde biyofilm oluşumu için gerekli olduğu belirtilmiştir⁽⁴⁹⁾.

Iha (iron-regulated gene homologue adhesin), *iha* geni tarafından kodlanır⁽²¹⁾. Iha'nın idrar yolu enfeksiyonlarının patogeneizindeki rolü bilinmemektedir ancak fekal ve diyarejenik suşlara kıyasla üropatojenik suşlarda daha fazla bulunduğu gözlemlenmiştir^(50,51).

Mat (meningitis-associated and temperature-regulate), *mat* geni tarafından kodlanan ve NMEC suşlarında bulunan bir adezindir⁽²¹⁾. İlk olarak Pouttu ve ark.⁽⁵²⁾ tarafından tanımlanmış ve fimbria ekspresyonu, düşük sıcaklıkta ürettiğinde yenidoğan menenjitine ve sepsisemiye neden olan *E. coli*'nin O18ac:K1:H7 klonal grubu ile ilişkilendirilmiştir; bu nedenle, Mat fimbria olarak adlandırılmıştır.

Curli, birçok Enterobacteriaceae üyesi tarafından üretilen karmaşık bir hücre dışı matrisin ana proteinli bileşenidir. Curli fiberler yüzeylere yapışma, hücre

agregasyonu ve biyofilm oluşumunda rol oynar. Curli ayrıca konak hücreye adezyon ve invazyonuna aracılık eder ve bunlar konak inflamatuvar yanıtının güçlü indükleyicileridir. Yapısal ve biyokimyasal olarak curli, amiloidler olarak bilinen bir fiber sınıfına aittir⁽⁵³⁾. Curli fiberler, esas olarak CsgA ana bileşeninin alt birimlerinden oluşur. Küçük bir bileşen olan CsgB, hücre dışı bir nükleasyon polimerizasyon işlemi yoluyla CsgA polimerizasyonunu başlatır⁽⁵⁴⁾. Dış zara lokalize CsgB proteini, amiloid oluşturan protein CsgA ile yaklaşık %30 sekans benzerliği paylaşır, bu durum CsgB'nin amiloidojenik özelliklere sahip olabileceğini düşündürmektedir⁽⁵⁵⁾.

Antijen43 (Ag43), *flu* (*agn43*) geni tarafından kodlanmaktadır⁽²¹⁾. Ag43 çoğu *E. coli* suşunda bulunan, kendi kendini tanıyan bir yüzey adezinidir. Ag43'ün ekspresyonu, hücrelerin toplanmasını sağlar, biyofilm oluşumunu destekler ve antimikrobiyal ajanlara karşı artan direnç ile ilişkilidir. Ag43 bir ototransportör proteindir ve β -modülü ve α -modülü olmak üzere iki kısımdan oluşur. *flu* geni çeşitli *E. coli* alt tiplerinde farklı özelliklere sahip varyant proteinleri kodladığı bulunmuştur. Ancak tüm Ag43 varyantlarının abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşumunu desteklediği gösterilmiştir⁽⁵⁶⁾. UPEC'deki Ag43, murin mesanesinde hücre içi biyofilm benzeri toplulukların oluşumundan sorumlu olduğu belirtilmiş ve bu durum, hem abiyotik biyofilm oluşumunda hem de konak dokuda biyofilm benzeri yapı gelişimindeki rolünü ortaya koymaktadır^(57,58).

İnvazinler: İnvazinler, patojen yapıların konak hücrelere invaze olması ile ilişkili protein yapılarıdır. ExPEC virülansında rol alan traJ, aslA, ompA selüler invazyonda görevlidir, nlpI ve lbeA, B, C ise beyin endoteliumuna invazyonda rol alır⁽⁵⁹⁾. lbeA, Rac1 aktivasyonu yoluyla HBMEC invazyonuna katkıda bulunabilir⁽⁶⁰⁾. lbeA, B, C NMEC ve SEPEC patotiplerinin virülansında yer alır⁽²¹⁾.

Sideroforlar: Demir (Fe) elementi çoğu mikroorganizma için temel bir yapıdır ve biyokatalizör veya elektron taşıyıcı olarak proteinlerle birleşen prostetik bir bileşendir⁽⁶¹⁾. Demir hücrelerde ferritin isimli protein kompleksleri tarafından depolanır veya eritrositlerde hemoglobin ile kompleks oluşturan

hem gibi proteinlere bağlanır. Ayrıca serumda transferrin veya süt ve lökositlerde laktoferrin gibi demir taşıyıcı proteinler tarafından sekestre edilir. Memeli konaklarda vücut demirinin üçte ikisi hem proteinlerine bağlanır ve yaklaşık üçte biri ferritin tarafından depolanır⁽⁶²⁾. İnsanda demirin çok sınırlı bir kısmı transferrinlerde dolaşmaktadır ve serbest serum demir konsantrasyonu yaklaşık 10^{-24} M'dir⁽⁶³⁾. Bir bakteri hücresi, hücre içi demir konsantrasyonlarını 10^{-6} M değerinde tutmak için bakteri hücrelerinin her jenerasyonda 10^5 - 10^6 demir iyonuna ihtiyacı vardır⁽⁶⁴⁾.

ExPEC'de demire erişim çok önemlidir çünkü demir varlığı çok düşük olan çeşitli organlarda sepsis ve enfeksiyonlara neden olabileceğinden, enfekte ettiği bölgelerde demire ulaşmak amacıyla çeşitli stratejiler geliştirmiştir⁽²⁰⁾. Sideroforlar, yüksek bağlanma güçleri nedeniyle ferritin ve transferrinlerden ferrik demiri (Fe^{+3}) yakalayabilen yüksek afiniteli ferrik şelatörlerdir⁽⁶⁵⁾. Sideroforlar: katekolatlar, fenolatlar, hidroksamik asitler, α -hidroksikarboksilatlar ve farklı sideroforlar içeren karışık tip olarak beş ana sınıfa ayrılabilir. ExPEC'ler, virülanslarını artıran sideroforlara sahiptir; enterobaktin ve salmochelin (katekolat sideroforlar), aerobaktin (karma tip siderofor) ve yersiniabactin (fenolat siderofor) bunlar arasında yer alır⁽²⁰⁾. Bu sideroforlar arasındaki kimyasal farklılıklara rağmen, her sistem ferrik demir alımı için gerekli spesifik adımlara aracılık eden bileşenlerden oluşur. Bu adımlar (a) sitoplazmada siderofor sentezi, (b) siderofor salgılaması, (c) dış zar yüzeyinde ferri-sideroforun alınması, (d) internalizasyon ve (e) sitoplazmada demir salınımından meydana gelir⁽⁶²⁾.

Enterobactin, hemen hemen tüm *E. coli* suşları ve *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp. gibi diğer birçok enterik bakteri tarafından üretilir^(65,66). Salmochelin, enterobaktinin glikozillenmiş formlarıdır. ExPEC'de salmochelin biyosentezinden ve taşınmasından sorumlu genler genellikle *ColV* veya *ColBM* virülans plazmitlerinde kodlanmıştır, ancak bazı suşlarda kromozomal patojenite ile ilişkili adalarda kodlanmış oldukları da bulunmuştur^(67,68). Aerobaktin, salmocheline benzer şekilde biyosentezi ve taşınmasından sorumlu genler *ColV* veya *ColBM* virülans plazmitlerinde bulunur, ancak bazı suşlarda kromozom üzerinde de yer alabilir⁽⁶⁸⁾. Kommensal

suşlarla karşılaştırıldığında, aerobaktin biyosentetik genleri çiftlik hayvanlarından izole edilen patojenik *E. coli* suşlarında daha sık saptanır ve insidansı yüksek patojenik suşlarla ilişkilidir⁽⁶²⁾. Aerobaktinin bir İYE modelinde *in vivo* demir alımına katkıda bulunduğu da gösterilmiştir⁽⁶⁹⁾. Enterobaktin ile karşılaştırıldığında, çok düşük aerobaktin konsantrasyonları bakteri üremesini uyarmak için yeterlidir. Ayrıca, serumda albümine bağlanan hidrofobik enterobaktinin aksine, aerobaktin tarafından demir alımı, enterobaktine kıyasla transferrinden daha fazla demir elde edebildiği serum varlığında daha etkilidir⁽⁶²⁾. Yersiniabaktin, esas olarak *Yersinia pestis* virülansında kritik bir rol oynar⁽⁷⁰⁾. *In vivo* demir alımında önemli bir rol oynadığından ve idrarda biyofilm oluşumunu desteklediğinden İYE'nin oluşumunda rol oynar^(69,71). Ek olarak Haber-Weiss reaksiyonlarını önleyerek polimorfonükleer lökositler, monositler ve makrofajlardan reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azaltır⁽⁷²⁾. Böylece, konak yanıtı ve doğuştan gelen bağışıklık sistemi üzerinde etki ederek virülans için önemli bir rol oynayabilir⁽⁷⁰⁾.

Protektinler/Serum Direnci: Protektinler, ExPEC içerisinde yer alan bakterilerin karakteristik serum direncinden sorumlu olan ExPEC'in virülans faktörleri arasında yer alan bir gruptur⁽²⁰⁾. Serumun bakterisidal etkisinden sağkalım yeteneği, kan dolaşımına geçebilen ExPEC için önemlidir. Kompleman ve antimikrobiyal peptitler gibi serumda bulunan ve doğuştan gelen savunmalardan kaçınma, farklı faktörleri içerir. *E. coli* tarafından kullanılan serum direnç mekanizmaları, koruyucu hücre dışı polisakarit kapsüllerinin üretimini ve kompleman sistemini engelleyen veya müdahale eden faktörlerin ekspresyonunu içerir⁽⁷³⁾.

Kompleman etkisini engelleyen bazı faktörler plazmitler tarafından kodlanır ve bu genlerin aktarılabilmesi nedeniyle gelişmiş serum direnci gösteren bakteriler üzerinde etkileri bulunmaktadır⁽⁷³⁾. TraT bu şekilde bir faktördür ve bazı *ColV* plazmitleri ve uyumsuzluk grubu F plazmitleri tarafından kodlanan bir dış zar lipoproteindir⁽⁷⁴⁾. Plazmit uyumsuzluğu, aynı bakteri hücre dizisinde birkaç nesil boyunca iki plazmitin stabil bir şekilde bir arada bulunamaması anlamına gelir ve genel olarak, yakından ilişkili plazmitler uyumsuz olma eğilimindeyken, uzaktan

ilişkili plazmitler uyumlu olma eğilimindedir⁽⁷⁵⁾. TraT etki mekanizması tam olarak bilinmese dahi komplemanın litik etkisine direnci arttırmaktadır⁽⁷⁶⁾. Ek olarak komplemanın yapılarından biri olan MAK'ı (membran atak kompleksi) etkileyerek etki gösterdiği düşünülmektedir⁽⁷⁷⁾. Ayrıca TraT proteininin muhtemelen C5b6 kompleksinin oluşumunu inhibe ettiğini veya kompleksin fonksiyonel olmayan bir forma yapısal olarak dönüşümüne neden olduğu ileri sürülmüştür⁽⁷⁸⁾. TraT varlığı, *E. coli* hücrelerinin makrofajlar tarafından fagositoza duyarlılığını azalttığı ve bu etkinin bakteriyel kapsülden bağımsız ve adsorbe edilmiş normal insan serumu varlığında daha belirgin olduğu bildirilmiştir⁽⁷⁹⁾. Ek olarak TraT'nin fagositozun pasif bir inhibitörü olduğu belirtilmiştir⁽⁷⁹⁾. Fagositoz inhibisyonun, TraT'nin kompleman tarafından opsonizasyonu antagonize ettiği için olduğu ve C3 birikiminde azalma ve dağılımda değişim olduğu bildirilmiştir⁽⁷⁹⁾. *TraT* geni, düşük kopya sayılı bir plazmit üzerinde bulunduğu ve *TraT* ekspresyon düzeyi düşük olduğunda, serum direnci sağlar ve kapsülsüz *E. coli* suşlarında fagositoza karşı bir miktar koruma sağlar⁽⁷⁹⁾.

Dış membran proteinlerinin (OMP, outer membrane protein), pasif taşıma, aktif taşıma, kataliz, patogeneze ve sinyal iletimi dahil olmak üzere çeşitli işlevlere sahiptir. Ek olarak, çeşitli bakteriyosinler ve bakterifajlar için reseptör görevine sahiptir^(80,81). Bu OMP'ler içerisinde yer alan OmpA'nın ExPEC virülansında önemli bir yeri bulunmaktadır. OmpA; adezin ve invazin olarak işlev görebilir, biyofilm oluşumuna katılabilir, hem bir bağışıklık hedefi hem de bağışık yanıttan koruyucu olarak hareket edebilir⁽⁸²⁾. 1991'de Weiser ve Gotschlich tarafından *E. coli* K1'in patogeneğinde OmpA'nın artan serum direncini sağlayan bir mekanizma ile katkısı olduğu gösterilmiştir⁽⁸³⁾. *E. coli*'nin menenjitte neden olma yeteneğinin temeli, kan-beyin bariyerini geçme kapasitesine bağlıdır. Kan-beyin bariyeri, sıkı bağlantılara ve düşük geçirgenliğe sahip beyin mikrovasküler endotel hücrelerinden (BMEC, brain microvascular endothelial cells) oluşur; epitel hücrelerinin aksine bu hücreler nispeten az sayıda mikrobiyal tür tarafından invaze edilir⁽⁸²⁾. *E. coli*'nin menenjitik suşları hem epitelyal hem de endotelial hücreleri istila edebilir⁽⁸⁴⁾. Yapılan bir çalışmada *OmpA* pozitif suşlarının invaziv kapasitesini,

OmpA negatif suşlara göre 25 ile 50 kat daha fazla bulunmuştur⁽⁸⁵⁾. Konak savunmasından kaçışın temeli çok yönlüdür ve kompleman aktivasyonu ile etkileşimi, sitokin indüksiyonunun inhibisyonunu ve makrofajlar içinde çoğalma yeteneğini içerir⁽⁸²⁾. OmpA, bir kompleman sıvı faz düzenleyicisi olan C4b bağlayıcı proteine (C4bp) bağlanarak serum direncine katkıda bulunduğunu bildirilmiştir⁽⁸⁶⁾. C4bp, C3b aktivasyonunun bir inhibitörüdür ve sekiz farklı kompleman kontrol proteininden (CCP, complement control protein) oluşur. CCP3, OmpA ile ana etkileşim bölgesidir⁽⁸⁶⁾. Böylece bakteri kompleman aracılı bakteriyolize karşı direnç sağlar. OmpA'yı eksprese eden *E. coli* K1 suşları, makrofajlar ve monositler içinde hücre içi olarak canlılığını sürdürebilir. *OmpA*'ya sahip bakterinin tek bir fagozomda aşırı çoğaldığı ve hücreyi parçaladığı gösterilmiştir⁽⁸⁷⁾. Bakteri hücrenin fagositik hücrelerde intrasölüler olarak canlılığını koruması kan-beyin bariyerini geçmesi için çok önemli bir tablo olan bakteriyemiyenin gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir⁽⁸⁷⁾. *OmpA* pozitif *E. coli* ile enfekte monositler sitokin ve kemokin üretimini baskıladığı, monositlerin *OmpA* negatif olan mutant *E. coli* ile enfeksiyonunda ise güçlü bir sitokin ve kemokin üretimi ile sonuçlandığı gözlenmiştir⁽⁸⁸⁾. Ek olarak moleküler düzeyde *OmpA* pozitif *E. coli*'nin, κ B inhibitörünün fosforilasyonunu ve bozulmasını önleyerek NF- κ B'nin çekirdeğe translokasyonunu bloke ettiği belirtilmiştir⁽⁸⁸⁾.

Kapsül, bakteri hücre duvarının dışındaki ve bakteri hücreni saran tabakadır. Yapısal olarak kapsüller polisakkaritler olarak bilinen ve tipik olarak negatif yüklü uzun polisakkarit zincirlerinden oluşur⁽⁸⁹⁾. Kapsül yapısı, enfeksiyon sürecinde bağışıklık sisteminin karşılaştığı ilk bakteriyel yapıdır. Bu nedenle, çoğu bakteride, konak bağışıklık sisteminden korunmak için gereklidir ve genellikle kapsülsüz suşlar patojen değildir⁽⁸⁹⁾. Fagositoz, fagositik hücreler tarafından gerçekleştirilen ve bakteri hücrenin fagositlere bağlanmasıyla başlayan çok aşamalı bir süreçtir. Kapsülün yapısının varlığı, Gram negatif bakteriler tarafından fagositozdan kaçınmak için kullanılan kilit bir mekanizmadır⁽⁸⁹⁾. Kapsüller hücre yüzeyi ile sıkı bir şekilde ilişkili içerisindedir ve çoğu zaman kapsüller (K) antijeninden oluşur⁽⁷³⁾. *E. coli*'deki kapsül yapısı kapsül sentezleyen genlerin organizasyonuna, biyosentez mekanizmasına ve regülatör özelliklerine

göre dört gruba ayrılmıştır ve bu dört farklı gruba ait 80'den fazla serolojik olarak farklı K antijen polisakkarit tanımlanmıştır⁽⁹⁰⁾. Grup 1 ve 4 kapsülleri intestinal enfeksiyona neden olan *E. coli* izolatlarında bulunurken, Grup 2 ve 3 kapsülleri ekstraintestinal enfeksiyona etkeni olan *E. coli* izolatlarında bulunur⁽⁹⁰⁾. Neonatal menenjitte neden olan *E. coli* suşları ile ilişkili K1 ile K2 serum direncinin ana belirleyicileridir^(91,92). Fizyolojik koşullar altında, *E. coli* antikor yokluğunda fagosite edilmez veya öldürülmez, *E. coli* kapsülü, kompleman yolunu aktive edebilen lipopolisakarit gibi yüzey bileşenlerini muhtemelen maskeleyerek bakteriyel yüzeye kompleman fiksasyonunu bloke eder⁽⁹³⁾. *E. coli* K1 suşları, konak savunma mekanizmalarından kaçma kapasiteleri sayesinde meningeal invazyona yol açan yüksek düzeyde bakteriyemiye neden olabilir^(94,95). K1'den yoksun olan mutantların, yenidoğan rat modelinde yüksek dereceli bakteriyemiye neden olamadığı ve kan-beyin bariyerine ulaşamadığı gözlemlenmiştir⁽⁹⁵⁾. Yapılan bir çalışma serumla lizise karşı korunma sağlanması için gerekli bir K1 kapsüle polisakkarit eşik düzeyi olduğunu ve bu düzeyin standart üreme koşulları altında geçildiğini göstermiştir⁽⁹⁶⁾. K1 ekspresyonunun serum direnci için bir ön koşul olduğu ve K1 sentezleme yeteneğinin kaybının, serum direncinin kaybına yol açtığı gösterilmiştir⁽⁹¹⁾. K2 varlığının ise İYE patogeneğinde önemli bir rolü olduğu, idrar ve böbreklerde serum direncini ve bakteriyel sağkalımı arttırdığı bildirilmiştir⁽⁹²⁾.

Toksinler: ExPEC; HlyA ve CNF1 gibi salgılanan toksinlere ve ototransporter olarak da bilinen Gram negatif bakterilerin dış zarında yer alan tip V salgılama sisteme sahiptir. Bu ototransporterler çeşitli fonksiyonlara sahiptir ve lipazlar, esterazlar, adezinler ve proteazlar olarak hareket edebilirler⁽⁹⁷⁾. Ototransporter alt ailesi olan SPATE (Serine protease autotransporters of Enterobacteriaceae, Enterobacteriaceae serin proteaz ototransporterleri), Enterobacteriaceae'nin salgılanan serin proteazlarının bir grubudur⁽⁹⁸⁾. SPATE, filogenetik olarak domain 2 olarak adlandırılan bir alanın varlığına ve yokluğuna göre sınıf I ve sınıf II olmak üzere iki gruba ayrılır⁽⁹⁷⁾. Sınıf I SPATE proteinleri, domain 2'den yoksundur ve sitotoksiktir, buna karşın Sınıf II SPATE'lerde, domain 2 varlığı mevcuttur, çeşitli hücre içi ve hücre dışı proteolitik hedeflere sahiptir

ve sitopatiktir⁽⁹⁷⁾. ExPEC için önemli yapılardan Sat (Salgılanan ototransporter toksin, Secreted autotransporter toxin) Sınıf I içerisinde yer alırken, PicU (Kolonizasyon ilişkili protein, Protein involved in colonization) ve Vat (Vakuolasyon ototransporter toksin, Vacuolating autotransporter toxin) sınıf II içerisinde yer alır⁽⁹⁹⁾.

Sat, ilk olarak akut piyelonefritli bir kadının kanından ve idrarından izole edilen bir UPEC'de (CFT073) tanımlanmıştır⁽¹⁰⁰⁾. Yapılan farklı çalışmalarda Sat'ın UPEC ve diğer ExPEC patotipleri ile ilişkisi gösterilmiştir. Bu çalışmalardan biri UPEC, APEC, DEC ve referans *E. coli* suşlarında SPATE'ler dahil olmak üzere 13 ototransporter genin dağılımını araştırmış ve özellikle Sat'ın, diğer izolat gruplarına kıyasla UPEC izolatları ile daha anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir⁽¹⁰¹⁾. Başka bir çalışmada, İYE'ye neden olan *E. coli* izolatları arasında Sat'ın oldukça yüksek prevalansa (%75) sahip olduğu tespit edilmiş ve araştırmacılar UPEC moleküler tanımlanmasında bir belirteç olabileceğini belirtmiştir⁽¹⁰²⁾. Sat, SPATE homologu Pet'e benzer serin proteaz aktivitesi sergilediği ve aktivitenin proteaz inhibitörlerinin varlığında bastırıldığı gösterilmiştir⁽¹⁰⁰⁾. Sat'ın sitotoksik olduğu ayrıca böbrek, mesane ve diğer hücre hatlarında morfolojik değişimleri indükleyebildiği ve İYE patogeneğine katkıda bulunduğu bildirilmiştir⁽¹⁰³⁾.

Vat, ilk olarak bir APEC'de bir patojenite adasından (VAT-PAI) tanımlanmıştır ve Vat'ın tavuk embriyo fibroblastlarında vakuolasyonu indükleyebileceğini gösterilmiştir⁽¹⁰⁴⁾. Vat varlığının İYE ile ilişkisi farklı çalışmalarda ele alınmıştır. Vat varlığının özellikle kommensal ve DEC suşlarına kıyasla İYE izolatlarıyla daha ilişkili olduğu saptanmıştır⁽¹⁰¹⁾. Farklı bir çalışma ise sistit ve piyelonefrit izolatlarında Vat varlığının benzer oranlarda olduğunu ancak prostatitte daha yüksek prevalansa sahip olduğunu bildirmiş, fakat sistit ve piyelonefrit ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış olmadığı bildirilmiştir⁽¹⁰⁵⁾. Ürosepsisi olan hastalar (Vat pozitif UPEC ile enfekte olan, Vat negatif UPEC ile enfekte olan olmak üzere iki gruba ayrılan) ve kontrol grubu içeren bir çalışmada Vat'a karşı antikor yanıtı ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlarda anti-Vat IgG titresinin Vat pozitif UPEC ile enfekte olan grupta, diğer iki gruba kıyasla yüksek olduğu bildirilmiştir⁽¹⁰⁶⁾.

PicU, EAEC ve *Shigella flexneri* (Castellani and Chalmers 1919)'de bulunan SPATE üyesi olan Pic'in bir varyantıdır ve Pic ile %96.7 oranında homolog olduğu belirtilmiştir. Ayrıca diğer SPATE üyeleriyle %39.9 ile %97.5 arasında benzerlik gösterdiği bildirilmiştir⁽¹⁰⁷⁾. PicU'nun müsin, spektrin, pepsin ve koagülasyon faktör V gibi yapılara karşı proteaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir⁽¹⁰⁷⁾. PicU'nun idrar yolu mukoza yüzeyini aşarak kolonizasyonda rol aldığı düşünülmektedir⁽¹⁰⁷⁾. Ayrıca pepsin ve koagülasyon faktör V yapılarına karşı proteaz aktivitesinin bulunmasının UPEC'in böbrek veya mesane enfeksiyonuna katkıda bulunması için çok önemli olabileceği belirtilmiştir⁽¹⁰⁷⁾. Spektrin, hücre zarının stabilitesini, yapısını ve bir hücrenin şeklini korumak için çok önemlidir. Ayrıca hücre adezyonu, hücre yayılması ve hücre döngüsü gibi çeşitli hücre fonksiyonlarına katkıda bulunur⁽¹⁰⁸⁾. Spektrine karşı oluşan proteaz aktivitesi hücrenin yapısal olarak bozulmasına neden olabilir, böylece enfeksiyon sürecine katkıda bulunabilir.

HlyA (hemolizin), RTX (repeat-intoxin) ailesinin prototipik üyesi olan güçlü ve her yerde bulunan bir sitolizindir. Operon *hlyCABD* tarafından eksprese edilir⁽²⁰⁾. HlyA, eritrositleri parçalama özelliğinden dolayı tanımlanmış ve adlandırılmıştır. Aynı zamanda çok çeşitli türlere ve hücre tiplerine karşı sitotoksik aktiviteye sahiptir⁽¹⁰⁹⁾. Yüksek dozlarda HlyA'nın hedef hücre zarında porlar oluşturduğu ve hücrenin parçalanmasına yol açtığı düşünülmektedir. Daha düşük HlyA konsantrasyonlarında, konak hücrelerde sinyal yollarının farklı hücre ölümüne yol açması veya daha derin dokulara erişim sağlamak için mesane epitel hücrelerinin ekfoliasyonuna yol açması gibi toksinin aktiviteleri belirtilmiştir⁽¹⁰⁹⁾. HlyA'nın hücre iskeleti iskele proteini paxillin ve diğer konak düzenleyici proteinlerin yanı sıra proinflatuar NF-κB sinyal kaskadı bileşenlerinin bozulmasını tetiklediği gösterilmiş. Ek olarak konak proteinlerin HlyA ile indüklenen proteolizinin, muhtemelen UPEC'te sadece epitel hücre fonksiyonlarını modüle etmesine değil, aynı zamanda makrofajları devre dışı bırakmasına ve inflammatuar yanıtı bastırmasına da neden olduğu bildirilmiştir⁽¹¹⁰⁾. Renal komplikasyonlara yol açan tüm piyelonefrit olgularının yaklaşık %50'sine HlyA neden olduğu bildirilmiştir⁽¹¹¹⁾.

CNF1, Rho GTPaz'ları aktive eder⁽¹¹²⁾. CNF1 115 kDa'lık bir toksindir. UPEC için tanımlanmış önemli virülans faktörlerinden biridir. Genel olarak CNF1 ekspresyonu idrar yolu enfeksiyonunu tetiklemekte, ek olarak konak hücre fonksiyonlarında ve yapısında bozukluklara, hücre döngüsünün durdurulmasına ve hücre lizisine neden olmaktadır⁽¹¹³⁾. CNF1 üretimi daha sık olarak daha şiddetli İYE'lerden sorumlu olan UPEC suşları ile ilişkilidir ve prostatit, piyelonefrit ve sistit gruplarında için sırasıyla %63, %48 ve %44 oranında CNF1 varlığı tespit edilmiştir⁽¹¹⁴⁾.

Biyofilm Oluşumu: Biyofilm oluşumu, *E. coli* gibi tıbbi açıdan önemli birçok bakteriyel patojenin patogeneğinde önemli bir virülans mekanizmasıdır⁽¹¹⁵⁾. Bakteriyel biyofilmler, bir yüzeye veya birbirine yapışmış ve kendi ürettikleri bir matrikse yerleşmiş bakteri kümeleridir. Biyofilm matriksi, ekstrasellüler DNA, fibrin gibi proteinler ve aljinat gibi polisakkaritlerden oluşur⁽¹¹⁶⁾.

UPEC'te üroepitelyuma invazyon, üreme, artış ve orada kalma yeteneği, biyofilm oluşturma ve farklı virülans faktörlerini kullanma yeteneğine bağlıdır. Biyofilm oluşturan UPEC, komplike ve/veya tekrarlayan İYE'lere yol açan persistan ve kronik inflamasyon ile ilişkilidir. Ek olarak, zayıf antibiyotik penetrasyonu ve çoklu ilaca dirençli organizmaların gelişimini destekleyen virülans genlerinin horizontal transferi için bir ortam sağlar⁽¹¹⁷⁾. Biyofilm oluşturan ve oluşturmayan UPEC'te sırasıyla %64 ve %36 oranlarında çoklu ilaç direnci görülmüştür⁽¹¹⁷⁾.

NMEC suşlarının, Luria Bertani sıvı besiyerinde fekal *E. coli*'lere kıyasla %79.2'ye karşılık %39.9 oranında daha fazla biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğu ve biyofilm üretiminin NMEC virülansında önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir⁽¹¹⁸⁾.

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. NCBI. Taxonomy Browser. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=562] (Erişim Tarihi: 04.05.2022).
2. Liu D. *Escherichia coli*. In: Schmidt T, editor. Encyclopedia of Microbiology (Volume 2). 4th ed. Elsevier; 2019:171-82.
3. Ryan KJ, editor. Sherris Medical Microbiology. 7th ed. McGraw-Hill; 2018:618-30.
4. De Sousa CP. *Escherichia coli* as a specialized bacterial pathogen. Rev Biol Cienc Terra. 2006;2(2):341-52.
5. DebRoy C, Roberts E, Frataimico PM. Detection of O antigens in *Escherichia coli*. Anim Health Res Rev. 2011;12(2):169-85. https://doi.org/10.1017/S1466252311000193
6. Frataimico PM, DebRoy C, Liu Y, Needleman DS, Baranzoni GM, Feng P. Advances in molecular serotyping and subtyping of *Escherichia coli*. Front Microbiol. 2016;7:644. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00644
7. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2004;2(2):123-40. https://doi.org/10.1038/nrmicro818
8. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 1998;11(1):142-201. https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142
9. Russo TA, Johnson JR. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. J Infect Dis. 2000;181(5):1753-4. https://doi.org/10.1086/315418
10. Poolman JT, Wacker M. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, a common human pathogen: Challenges for vaccine development and progress in the field. J Infect Dis. 2016;213(1):6-13. https://doi.org/10.1093/infdis/jiv429
11. Russo TA, Johnson JR. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. Microbes Infect. 2003;5(5):449-56. https://doi.org/10.1016/s1286-4579(03)00049-2
12. Johnson JR, Russo TA. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: "the other bad E coli". J Lab Clin Med. 2002;139(3):155-62. https://doi.org/10.1067/mlc.2002.121550
13. Johnson JR, Delavari P, Kuskowski M, Stell AL. Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. J Infect Dis. 2001;183(1):78-88. https://doi.org/10.1086/317656
14. Herzer PJ, Inouye S, Inouye M, Whittam TS. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. J Bacteriol. 1990;172(11):6175-81. https://doi.org/10.1128/jb.172.11.6175-6181.1990
15. Pupo GM, Karaolis DK, Lan R, Reeves PR. Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and mdh sequence studies. Infect Immun. 1997;65(7):2685-92. https://doi.org/10.1128/iai.65.7.2685-2692.1997
16. Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. J Infect Dis. 2000;181(1):261-72. https://doi.org/10.1086/315217
17. Picard B, Garcia JS, Gouriou S, et al. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. Infect Immun. 1999;67(2):546-53. https://doi.org/10.1128/IAI.67.2.546-553.1999
18. Pitout JD. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: A combination of virulence with antibiotic resistance. Front Microbiol. 2012;3:9. https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00009
19. Klemm P, Schembri MA. Bacterial adhesins: function and structure. Int J Med Microbiol. 2000;290(1):27-35. https://doi.org/10.1016/S1438-4221(00)80102-2
20. Sora VM, Meroni G, Martino PA, Soggiu A, Bonizzi L, Zeconi A. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: Virulence factors and antibiotic resistance. Pathogens. 2021;10(11):1355. https://doi.org/10.3390/pathogens10111355
21. Sarowska J, Futoma-Koloch B, Jama-Kmiecik A, et al. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. Gut Pathog. 2019;11:10. https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0
22. Pratt LA, Kolter R. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. Mol Microbiol. 1998;30(2):285-93. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.01061.x
23. Schembri MA, Hjerrild L, Gjermansen M, Klemm P. Differential expression of the *Escherichia coli* autoaggregation factor antigen 43. J Bacteriol. 2003;185(7):2236-42. https://doi.org/10.1128/JB.185.7.2236-2242.2003
24. Connell I, Agace W, Klemm P, Schembri M, Märrild S, Svanborg C. Type 1 fimbrial expression enhances *Escherichia coli* virulence for the urinary tract. Proc Natl Acad Sci USA. 1996;93(18):9827-32. https://doi.org/10.1073/pnas.93.18.9827

25. Hung CS, Bouckaert J, Hung D, et al. Structural basis of tropism of *Escherichia coli* to the bladder during urinary tract infection. *Mol Microbiol.* 2002;44(4):903-15.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02915.x>
26. Wright KJ, Seed PC, Hultgren SJ. Development of intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* depends on type 1 pili. *Cell Microbiol.* 2007;9(9):2230-41.
<https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.00952.x>
27. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13(5):269-84.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro3432>
28. Teng CH, Cai M, Shin S, et al. *Escherichia coli* K1 RS218 interacts with human brain microvascular endothelial cells via type 1 fimbria bacteria in the fimbriated state. *Infect Immun.* 2005;73(5):2923-31.
<https://doi.org/10.1128/IAI.73.5.2923-2931.2005>
29. Labigne-Roussel AF, Lark D, Schoolnik G, Falkow S. Cloning and expression of an afimbrial adhesin (AFA-I) responsible for P blood group-independent, mannose-resistant hemagglutination from a pyelonephritic *Escherichia coli* strain. *Infect Immun.* 1984;46(1):251-9.
<https://doi.org/10.1128/iai.46.1.251-259.1984>
30. Labigne-Roussel A, Schmidt MA, Walz W, Falkow S. Genetic organization of the afimbrial adhesin operon and nucleotide sequence from a uropathogenic *Escherichia coli* gene encoding an afimbrial adhesin. *J Bacteriol.* 1985;162(3):1285-92.
<https://doi.org/10.1128/jb.162.3.1285-1292.1985>
31. Frömmel U, Lehmann W, Rödiger S, et al. Adhesion of human and animal *Escherichia coli* strains in association with their virulence-associated genes and phylogenetic origins. *Appl Environ Microbiol.* 2013;79(19):5814-29.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01384-13>
32. Servin AL. Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(2):264-92.
<https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.264-292.2005>
33. Nowicki B, Barrish JP, Korhonen T, Hull RA, Hull SI. Molecular cloning of the *Escherichia coli* O75X adhesin. *Infect Immun.* 1987;55(12):3168-73.
<https://doi.org/10.1128/iai.55.12.3168-3173.1987>
34. Kist ML, Salit IE, Hofmann T. Purification and characterization of the Dr hemagglutinins expressed by two uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect Immun.* 1990;58(3):695-702.
<https://doi.org/10.1128/iai.58.3.695-702.1990>
35. Väisänen-Rhen V. Fimbria-like hemagglutinin of *Escherichia coli* O75 strains. *Infect Immun.* 1984;46(2):401-7.
<https://doi.org/10.1128/iai.46.2.401-407.1984>
36. Nowicki B, Moulds J, Hull R, Hull S. A hemagglutinin of uropathogenic *Escherichia coli* recognizes the Dr blood group antigen. *Infect Immun.* 1988;56(5):1057-60.
<https://doi.org/10.1128/iai.56.5.1057-1060.1988>
37. Goluszko P, Moseley SL, Truong LD, et al. Development of experimental model of chronic pyelonephritis with *Escherichia coli* O75:K5:H-bearing Dr fimbriae: mutation in the dra region prevented tubulointerstitial nephritis. *J Clin Invest.* 1997;99(7):1662-72.
<https://doi.org/10.1172/JCI119329>
38. Tunçkanat F. Üriner sistem infeksiyonu patogeneğinde bakteriyel virulans faktörleri. *Klinik Derg.* 1993;6(1):3-5.
39. Kucheria R, Dasgupta P, Sacks SH, Khan MS, Sheerin NS. Urinary tract infections: new insights into a common problem. *Postgrad Med J.* 2005;81(952):83-6.
<https://doi.org/10.1136/pgmj.2004.023036>
40. Antão EM, Wieler LH, Ewers C. Adhesive threads of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Pathog.* 2009;1(1):22.
<https://doi.org/10.1186/1757-4749-1-22>
41. Klemm P, Hancock V, Schembri MA. Fimbrial adhesins from extraintestinal *Escherichia coli*. *Environ Microbiol Rep.* 2010;2(5):628-40.
<https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00166.x>
42. Lund B, Lindberg F, Marklund BI, Normark S. The PapG protein is the alpha-D-galactopyranosyl-(1---4)-beta-D-galactopyranose-binding adhesin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987;84(16):5898-902.
<https://doi.org/10.1073/pnas.84.16.5898>
43. Plos K, Connell H, Jodal U, et al. Intestinal carriage of P fimbriated *Escherichia coli* and the susceptibility to urinary tract infection in young children. *J Infect Dis.* 1995;171(3):625-31.
<https://doi.org/10.1093/infdis/171.3.625>
44. Otto G, Sandberg T, Marklund BI, Ulleryd P, Svanborg C. Virulence factors and pap genotype in *Escherichia coli* isolates from women with acute pyelonephritis, with or without bacteremia. *Clin Infect Dis.* 1993;17(3):448-56.
<https://doi.org/10.1093/clinids/17.3.448>
45. Korhonen TK, Väisänen-Rhen V, Rhen M, Pere A, Parkkinen J, Finne J. *Escherichia coli* fimbriae recognizing sialyl galactosides. *J Bacteriol.* 1984;159(2):762-6.
<https://doi.org/10.1128/jb.159.2.762-766.1984>

46. Siitonen A, Martikainen R, Ikäheimo R, Palmgren J, Mäkelä PH. Virulence-associated characteristics of *Escherichia coli* in urinary tract infection: a statistical analysis with special attention to type 1C fimbriation. *Microb Pathog.* 1993;15(1):65-75.
<https://doi.org/10.1006/mpat.1993.1057>
47. PereA, LeinonenM, Väisänen-RhenV, RhenM, Korhonen TK. Occurrence of type-1C fimbriae on *Escherichia coli* strains isolated from human extraintestinal infections. *J Gen Microbiol.* 1985;131(7):1705-11.
<https://doi.org/10.1099/00221287-131-7-1705>
48. Bäckhed F, Alsén B, Roche N, et al. Identification of target tissue glycosphingolipid receptors for uropathogenic, F1C-fimbriated *Escherichia coli* and its role in mucosal inflammation. *J Biol Chem.* 2002;277(20):18198-205.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M111640200>
49. Lasaro MA, Salinger N, Zhang J, et al. F1C fimbriae play an important role in biofilm formation and intestinal colonization by the *Escherichia coli* commensal strain Nissle 1917. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(1):246-51.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01144-08>
50. Johnson JR, Jelacic S, Schoening LM, et al. The IrgA homologue adhesin Iha is an *Escherichia coli* virulence factor in murine urinary tract infection. *Infect Immun.* 2005;73(2):965-71.
<https://doi.org/10.1128/IAI.73.2.965-971.2005>
51. Hagan EC, Mobley HL. Uropathogenic *Escherichia coli* outer membrane antigens expressed during urinary tract infection. *Infect Immun.* 2007;75(8):3941-9.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00337-07>
52. Pouttu R, Westerlund-Wikström B, Lång H, et al. *matB*, a common fimbriin gene of *Escherichia coli*, expressed in a genetically conserved, virulent clonal group. *J Bacteriol.* 2001;183(16):4727-36.
<https://doi.org/10.1128/JB.183.16.4727-4736.2001>
53. Barnhart MM, Chapman MR. Curli biogenesis and function. *Annu Rev Microbiol.* 2006;60:131-47.
<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.60.080805.142106>
54. Bian Z, Normark S. Nucleator function of CsgB for the assembly of adhesive surface organelles in *Escherichia coli*. *EMBO J.* 1997;16(19):5827-36.
<https://doi.org/10.1093/emboj/16.19.5827>
55. Hammer ND, Schmidt JC, Chapman MR. The curli nucleator protein, CsgB, contains an amyloidogenic domain that directs CsgA polymerization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(30):12494-9.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0703310104>
56. Klemm P, Hjerrild L, Gjermansen M, Schembri MA. Structure-function analysis of the self-recognizing Antigen 43 autotransporter protein from *Escherichia coli*. *Mol Microbiol.* 2004;51(1):283-96.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03833.x>
57. Anderson GG, Palermo JJ, Schilling JD, Roth R, Heuser J, Hultgren SJ. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science.* 2003;301(5629):105-7.
<https://doi.org/10.1126/science.1084550>
58. Ulett GC, Valle J, Beloin C, Sherlock O, Ghigo JM, Schembri MA. Functional analysis of antigen 43 in uropathogenic *Escherichia coli* reveals a role in long-term persistence in the urinary tract. *Infect Immun.* 2007;75(7):3233-44.
<https://doi.org/10.1128/IAI.01952-06>
59. Johnson JR, Russo TA. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *EcoSal Plus.* 2018;8(1).
<https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0004-2017>
60. Maruvada R, Kim KS. IbeA and OmpA of *Escherichia coli* K1 exploit Rac1 activation for invasion of human brain microvascular endothelial cells. *Infect Immun.* 2012;80(6):2035-41.
<https://doi.org/10.1128/IAI.06320-11>
61. Andrews SC, Robinson AK, Rodríguez-Quiriones F. Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol Rev.* 2003;27(2-3):215-37.
[https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00055-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00055-X)
62. Garénaux A, Caza M, Dozois CM. The Ins and Outs of siderophore mediated iron uptake by extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Vet Microbiol.* 2011;153(1-2):89-98.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.05.023>
63. Miethke M, Marahiel MA. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2007;71(3):413-51.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.00012-07>
64. Raymond KN, Dertz EA, Kim SS. Enterobactin: an archetype for microbial iron transport. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(7):3584-8.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0630018100>
65. Ratledge C, Dover LG. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2000;54:881-941.
<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.881>
66. Crosa JH, Walsh CT. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2002;66(2):223-49.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.66.2.223-249.2002>
67. Fischbach MA, Lin H, Liu DR, Walsh CT. In vitro characterization of IroB, a pathogen-associated C-glycosyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(3):571-6.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0408463102>

68. Johnson TJ, Siek KE, Johnson SJ, Nolan LK. DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid-encoded virulence genes among avian *Escherichia coli* strains. *J Bacteriol.* 2006;188(2):745-58.
<https://doi.org/10.1128/JB.188.2.745-758.2006>
69. Garcia EC, Brumbaugh AR, Mobley HL. Redundancy and specificity of *Escherichia coli* iron acquisition systems during urinary tract infection. *Infect Immun.* 2011;79(3):1225-35.
<https://doi.org/10.1128/IAI.01222-10>
70. Fetherston JD, Kirillina O, Bobrov AG, Paulley JT, Perry RD. The yersiniabactin transport system is critical for the pathogenesis of bubonic and pneumonic plague. *Infect Immun.* 2010;78(5):2045-52.
<https://doi.org/10.1128/IAI.01236-09>
71. Hancock V, Ferrières L, Klemm P. The ferric yersiniabactin uptake receptor FyuA is required for efficient biofilm formation by urinary tract infectious *Escherichia coli* in human urine. *Microbiology (Reading).* 2008;154(Pt 1):167-175.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/011981-0>
72. Paauw A, Leverstein-van Hall MA, van Kessel KP, Verhoef J, Fluit AC. Yersiniabactin reduces the respiratory oxidative stress response of innate immune cells. *PLoS One.* 2009;4(12):e8240.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008240>
73. Miajlovic H, Smith SG. Bacterial self-defence: how *Escherichia coli* evades serum killing. *FEMS Microbiol Lett.* 2014;354(1):1-9.
<https://doi.org/10.1111/1574-6968.12419>
74. Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev.* 1991;4(1):80-128.
<https://doi.org/10.1128/CMR.4.1.80>
75. Thomas CM. Plasmid Incompatibility. In: Bell E. editor. *Molecular Life Sciences.* New York, NY: Springer; 2014.
76. Sukupolvi S, O'Connor CD. TraT lipoprotein, a plasmid-specified mediator of interactions between gram-negative bacteria and their environment. *Microbiol Rev.* 1990;54(4):331-41.
<https://doi.org/10.1128/mr.54.4.331-341.1990>
77. Montenegro MA, Bitter-Suermann D, Timmis JK, et al. *traT* gene sequences, serum resistance and pathogenicity-related factors in clinical isolates of *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria. *J Gen Microbiol.* 1985;131(6):1511-21.
<https://doi.org/10.1099/00221287-131-6-1511>
78. Pramoontjago P, Kaneko M, Kinoshita T, et al. Role of TraT protein, an anticomplementary protein produced in *Escherichia coli* by R100 factor, in serum resistance. *J Immunol.* 1992;148(3):827-36.
79. Agüero ME, Aron L, DeLuca AG, Timmis KN, Cabello FC. A plasmid-encoded outer membrane protein, TraT, enhances resistance of *Escherichia coli* to phagocytosis. *Infect Immun.* 1984;46(3):740-6.
<https://doi.org/10.1128/iai.46.3.740-746.1984>
80. Khalid S, Bond PJ, Carpenter T, Sansom MS. OmpA: gating and dynamics via molecular dynamics simulations. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1778(9):1871-80.
<https://doi.org/10.1016/j.bbame.2007.05.024>
81. Krishnan S, Prasadara NV. Outer membrane protein A and OprF: versatile roles in Gram-negative bacterial infections. *FEMS J.* 2012;279(6):919-31.
<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2012.08482.x>
82. Smith SG, Mahon V, Lambert MA, Fagan RP. A molecular Swiss army knife: OmpA structure, function and expression. *FEMS Microbiol Lett.* 2007;273(1):1-11.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00778.x>
83. Weiser JN, Gotschlich EC. Outer membrane protein A (OmpA) contributes to serum resistance and pathogenicity of *Escherichia coli* K-1. *Infect Immun.* 1991;59(7):2252-8.
<https://doi.org/10.1128/iai.59.7.2252-2258.1991>
84. Meier C, Oelschlaeger TA, Merkert H, Korhonen TK, Hacker J. Ability of *Escherichia coli* isolates that cause meningitis in newborns to invade epithelial and endothelial cells. *Infect Immun.* 1996;64(7):2391-9.
<https://doi.org/10.1128/iai.64.7.2391-2399.1996>
85. Prasadara NV, Wass CA, Weiser JN, Stins MF, Huang SH, Kim KS. Outer membrane protein A of *Escherichia coli* contributes to invasion of brain microvascular endothelial cells. *Infect Immun.* 1996;64(1):146-53.
<https://doi.org/10.1128/iai.64.1.146-153.1996>
86. Prasadara NV, Blom AM, Villoutreix BO, Linsangan LC. A novel interaction of outer membrane protein A with C4b binding protein mediates serum resistance of *Escherichia coli* K1. *J Immunol.* 2002;169(11):6352-60.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.11.6352>
87. Sukumaran SK, Shimada H, Prasadara NV. Entry and intracellular replication of *Escherichia coli* K1 in macrophages require expression of outer membrane protein A. *Infect Immun.* 2003;71(10):5951-61.
<https://doi.org/10.1128/IAI.71.10.5951-5961.2003>
88. Selvaraj SK, Prasadara NV. *Escherichia coli* K1 inhibits proinflammatory cytokine induction in monocytes by preventing NF-kappaB activation. *J Leukoc Biol.* 2005;78(2):544-54.
<https://doi.org/10.1189/jlb.0904516>
89. Willis LM, Whitfield C. Structure, biosynthesis, and function of bacterial capsular polysaccharides synthesized by ABC transporter-dependent pathways. *Carbohydr Res.* 2013;378:35-44.
<https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.05.007>

90. Whitfield C. Biosynthesis and assembly of capsular polysaccharides in *Escherichia coli*. *Annu Rev Biochem*. 2006;75:39-68.
<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142545>
91. Leying H, Suerbaum S, Kroll HP, Stahl D, Opferkuch W. The capsular polysaccharide is a major determinant of serum resistance in K-1-positive blood culture isolates of *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 1990;58(1):222-7.
<https://doi.org/10.1128/iai.58.1.222-227.1990>
92. Buckles EL, Wang X, Lane MC, et al. Role of the K2 capsule in *Escherichia coli* urinary tract infection and serum resistance. *J Infect Dis*. 2009;199(11):1689-97.
<https://doi.org/10.1086/598524>
93. Horwitz MA, Silverstein SC. Influence of the *Escherichia coli* capsule on complement fixation and on phagocytosis and killing by human phagocytes. *J Clin Invest*. 1980;65(1):82-94.
<https://doi.org/10.1172/JCI109663>
94. Robbins JB, McCracken GH Jr, Gotschlich EC, Orskov F, Orskov I, Hanson LA. *Escherichia coli* K1 capsular polysaccharide associated with neonatal meningitis. *N Engl J Med*. 1974;290(22):1216-20.
<https://doi.org/10.1056/NEJM197405302902202>
95. Kim KS, Itabashi H, Gemski P, Sadoff J, Warren RL, Cross AS. The K1 capsule is the critical determinant in the development of *Escherichia coli* meningitis in the rat. *J Clin Invest*. 1992;90(3):897-905.
<https://doi.org/10.1172/JCI115965>
96. Vermeulen C, Cross A, Byrne WR, Zollinger W. Quantitative relationship between capsular content and killing of K1-encapsulated *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 1988;56(10):2723-30.
<https://doi.org/10.1128/iai.56.10.2723-2730.1988>
97. Tapader R, Basu S, Pal A. Secreted proteases: A new insight in the pathogenesis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol*. 2019;309(3-4):159-168.
<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2019.03.002>
98. Henderson IR, Nataro JP. Virulence functions of autotransporter proteins. *Infect Immun*. 2001;69(3):1231-43.
<https://doi.org/10.1128/IAI.69.3.1231-1243.2001>
99. Pokharel P, Habouria H, Bessaiah H, Dozois CM. Serine protease autotransporters of the Enterobacteriaceae (SPATEs): Out and about and chopping it up. *Microorganisms*. 2019;7(12):594.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms7120594>
100. Guyer DM, Henderson IR, Nataro JP, Mobley HL. Identification of sat, an autotransporter toxin produced by uropathogenic *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*. 2000;38(1):53-66.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.02110.x>
101. Restieri C, Garriss G, Locas MC, Dozois CM. Autotransporter-encoding sequences are phylogenetically distributed among *Escherichia coli* clinical isolates and reference strains. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(5):1553-62.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01542-06>
102. Saraylu J, Fallah-Mehrabadi J, Imani-Fooladi AA, Sabbaghi A, Molla-Aghamirzaei H, Hasankhani M. Prevalence and evaluation of toxin genes among uropathogenic *Escherichia coli* clinical isolates by duplex PCR. *J Med Bacteriol*. 2015;1(1-2):17-22.
103. Guyer DM, Radulovic S, Jones FE, Mobley HL. Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*, is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. *Infect Immun*. 2002;70(8):4539-46.
<https://doi.org/10.1128/IAI.70.8.4539-4546.2002>
104. Parreira VR, Gyles CL. A novel pathogenicity island integrated adjacent to the thrW tRNA gene of avian pathogenic *Escherichia coli* encodes a vacuolating autotransporter toxin. *Infect Immun*. 2003;71(9):5087-96.
<https://doi.org/10.1128/IAI.71.9.5087-5096.2003>
105. Parham NJ, Pollard SJ, Desvaux M, et al. Distribution of the serine protease autotransporters of the Enterobacteriaceae among extraintestinal clinical isolates of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*. 2005;43(8):4076-82.
<https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.4076-4082.2005>
106. Nichols KB, Totsika M, Moriel DG, et al. Molecular characterization of the vacuolating autotransporter toxin in uropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 2016;198(10):1487-98.
<https://doi.org/10.1128/JB.00791-15>
107. Parham NJ, Srinivasan U, Desvaux M, Foxman B, Marrs CF, Henderson IR. PicU, a second serine protease autotransporter of uropathogenic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett*. 2004;230(1):73-83.
[https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00862-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00862-0)
108. Zhang R, Zhang C, Zhao Q, Li D. Spectrin: structure, function and disease. *Sci China Life Sci*. 2013;56(12):1076-85.
<https://doi.org/10.1007/s11427-013-4575-0>
109. Ristow LC, Welch RA. Hemolysin of uropathogenic *Escherichia coli*: A cloak or a dagger? *Biochim Biophys Acta*. 2016;1858(3):538-45.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.08.015>
110. Dhakal BK, Mulvey MA. The UPEC pore-forming toxin α -hemolysin triggers proteolysis of host proteins to disrupt cell adhesion, inflammatory, and survival pathways. *Cell Host Microbe*. 2012;11(1):58-69.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.12.003>

111. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. *Int J Nephrol*. 2012;2012:681473. <https://doi.org/10.1155/2012/681473>
112. Boquet P. The cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1) from *Escherichia coli*. *Toxicon*. 2001;39(11):1673-80. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(01\)00154-4](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(01)00154-4)
113. Omerovic M, Müştak HK, Kaya İB. *Escherichia coli* patotiplerinin virülens faktörleri. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*. 2017;28(1):1-6.
114. Andreu A, Stapleton AE, Fennell C, et al. Urovirulence determinants in *Escherichia coli* strains causing prostatitis. *J Infect Dis*. 1997;176(2):464-9. <https://doi.org/10.1086/514065>
115. Verderosa AD, Totsika M, Fairfull-Smith KE. Bacterial biofilm eradication agents: A current review. *Front Chem*. 2019;7:824. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00824>
116. Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(2):59. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>
117. Katongole P, Nalubega F, Florence NC, Asiimwe B, Andia I. Biofilm formation, antimicrobial susceptibility and virulence genes of Uropathogenic *Escherichia coli* isolated from clinical isolates in Uganda. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1):453. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05186-1>
118. Wijetunge DS, Gongati S, DebRoy C, et al. Characterizing the pathotype of neonatal meningitis causing *Escherichia coli* (NMEC). *BMC Microbiol*. 2015;15:211. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0547-9>

Karbapeneme Dirençli *Klebsiella* spp. ve *Escherichia coli* İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu β -laktamaz, Karbapenemaz ve AmpC β -laktamaz Varlığının Fenotipik Yöntemlerle Araştırılması

Investigation of Extended Spectrum β -lactamase, Carbapenemase and AmpC β -lactamase by Phenotypic Methods in Carbapenem-resistant *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli* Isolates

Filiz Orak*, Esra Kaya*, Murat Aral*, Adem Doğaner**

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

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

Atf/Cite as: Orak F, Kaya E, Aral M, Doğaner A. Karbapeneme dirençli *Klebsiella* spp. ve *Escherichia coli* izolatlarında genişlemiş spektrumlu β -laktamaz, karbapenemaz ve AmpC β -laktamaz varlığının fenotipik yöntemlerle araştırılması. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):75-83.

Öz

Amaç: Karbapenem direnci, yüksek mortalitesi ve sınırlı tedavi seçenekleri nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bu nedenle karbapenem direnç mekanizmasını kısa sürede saptayan güvenilir ve basit testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmanın amacı, karbapenem dirençli *Klebsiella* spp. ve *E. coli* izolatlarında karbapenemaz, GSBL ve AmpC varlığını aynı plak üzerinde disk difüzyon, kombine disk ve disk antagonizma test yöntemleri ile belirlemektir.

Yöntem: Çalışmaya Aralık 2017 ile Aralık 2018 tarihleri arasında bir üniversite hastanesinde rutin hasta kültür örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli *Klebsiella* spp. ve *Escherichia coli* izolatları dahil edildi. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing önerileri doğrultusunda GSBL, KPC-tip ve metallo-beta-laktamaz için doğrulama testi olarak kombine disk yöntemi ve OXA-48 tipi karbapenemaz için temocillin disk difüzyon testi uygulandı. Plazmit aracılı AmpC beta-laktamaz tanımlaması için disk difüzyon testi ve indüklenebilir (kromozomal) AmpC beta-laktamaz için disk antagonizma testi kullanıldı. Kontrol suşu olarak KPC-2 tipi karbapenemaz üreten BAA-1705 *K. pneumoniae* kullanıldı.

Bulgular: Karbapenem direnci 56'sı (%74,6) *Klebsiella pneumoniae*, 17'si (%22,6) *E. coli*, biri (%1,3) *Klebsiella ozonae* ve biri (%1,3) *Klebsiella aerogenes* olmak üzere toplam 75 izolatta tespit edildi. Metallo-beta-laktamaz tipi karbapenemaz ile ilişkili direnç 24 (%31,5) izolatta, GSBL 17 (%22,3) izolatta, AmpC 4 (%5,2) izolatta ve OXA-48 ile ilişkili direnç 31 (%40,7) izolatta belirlendi.

Sonuç: Direnç mekanizmalarının hızlı tespiti uygun antimikrobiyal tedavi ve enfeksiyon kontrol önlemleri açısından önemlidir. Çalışmada uyguladığımız yöntem, kolay ve uygulanabilir bir algoritma oluşturmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., beta-laktamaz

ABSTRACT

Objective: Carbapenem resistance has become an important public health problem due to its high mortality and limited treatment options. Therefore, there is a need for reliable and simple tests that detect the carbapenem resistance mechanism in a short time. The aim of this study was to determine the presence of carbapenemase, ESBL, and AmpC in carbapenem-resistant *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli* isolates using disc diffusion, combined disc and disc antagonism test methods on the same plate.

Methods: Carbapenem-resistant *Klebsiella* spp. and *E. coli* isolates routinely isolated from patient culture samples in a university hospital between December 2017 and December 2018, were included in the study. Combined disk method was used as confirmatory test for ESBL, KPC type and metallo-beta-lactamase, and temocillin disk diffusion test was used for OXA-48 type carbapenemase in line with the recommendations of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. The disk diffusion test was used for plasmid-mediated AmpC beta-lactamase identification and the disk antagonism test for inducible (chromosomal) AmpC beta-lactamase. BAA-1705 *K. pneumoniae* producing KPC-2 type carbapenemase was used as the control strain.

Results: Carbapenem resistance was detected in a total of 75 isolates, of which 74.6% (n=56) were *Klebsiella pneumoniae*, 22.6% (n=17) *Escherichia coli*, 1.3% (n=1) *Klebsiella ozonae* and 1.3% (n=1) were *Klebsiella aerogenes*. Metallo-beta-lactamase type carbapenemase-associated resistance was determined in 24(31,5%) isolates, ESBL in 17(22,3%), AmpC in 4 (5,2%) isolates, and OXA-48-related resistance in 31(40,7%) isolates.

Conclusion: Rapid detection of resistance mechanisms is important for appropriate antimicrobial therapy and infection control measures. The method we used in the study creates an easy and applicable algorithm.

Keywords: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., beta-lactamase

Alındığı tarih / Received:

27.05.2022 / 27.May.2022

Kabul tarihi / Accepted:

02.08.2022 / 02.August.2022

Yayın tarihi / Publication date:

01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

F. Orak 0000-0001-5153-7391

E. Kaya 0000-0002-0732-6471

M. Aral 0000-0002-3576-4380

A. Doğaner 0000-0002-0270-9350

✉ drfilizorak@hotmail.com

GİRİŞ

Enterobacterales suşlarında karbapenem direncinin gelişimi çoğunlukla karbapenamaz özelliği olan beta-laktamaz üretimi ile meydana gelir. Karbapenamazlar, karbapenemlerin hidrolizine ve bunun sonucunda karbapenemlerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinde yükselmeye neden olan beta-laktamazlardır. Diğer mekanizmalar ise porin üretiminde azalma veya aktif dışarı pompalama (eflüks) görevi gören proteinlerin aşırı üretimi ve buna eşlik eden AmpC veya genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimidir⁽¹⁾. Fonksiyonel ve yapısal olarak çeşitli sınıflandırmaları olan karbapenamazlar, karbapenem direncinin başlıca sorumlusudur. Sıklıkla moleküler Ambler sınıflaması ile sınıflandırılırlar. Ambler sınıflamasında karbapenamazlar geniş bir gruptur ve A, B ve D sınıfı beta-laktamazları içermektedir. A ve D sınıfı beta-laktamazlar aktif bölgesinde serin içerirken, B sınıfı beta-laktamazlar aktif bölgesinde çinko (Zn) içerir ve metallo-beta-laktamaz (MBL) olarak adlandırılırlar^(1,2).

Karbapenemlere karşı azalmış duyarlılık fenotipi gösteren suşların belirlenmesi karbapenamaz üretiminin saptanmasında ilk basamaktır. Bu durum rutin çalışmalar dışında özel laboratuvar disiplini ve prosedürlerini gerektirmektedir. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)⁽³⁾ ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M100-S24)⁽⁴⁾ kılavuzunda da bu izolatlarla ilgili eşik değerlerine ve laboratuvar uygulamalarına yer verilmiştir⁽¹⁾.

Bazı durumlarda mikroorganizma karbapenamaz üretse de düşük karbapenem MİK değeri nedeniyle gözden kaçabilir ve yalancı negatif olarak kabul edilir. Bunun yanında, AmpC aşırı üretimi ve daha az ölçüde, CTX-M tipi GSBL'lerin neden olduğu porin kaybı veya porin mutasyonları nedeniyle yüksek oranda yanlış pozitif sonuç bildirilmiştir. Bu durum karbapenamaz pozitif olarak değerlendirilerek karbapenem tedavisinden gereksiz yere kaçınılmasına da yol açabilmektedir^(5,6).

Karbapenamaz üreten izolatların saptanması; yayılmasının önlenmesi ve tedavinin doğru yönlendirilmesi açısından önemlidir.

Moleküler yöntemler, Gram negatif mikroorganizmalara ait sınırlı sayıda karbapenamaz genini analiz eder ve diğer bazı karbapenamazları kodlayan genler tanınmadığından moleküler yaklaşımlarla gözden kaçabilir. Ayrıca moleküler yöntemler rutin laboratuvar kullanımı için pratik değildir⁽⁷⁾. Bu nedenle genellikle fenotipik testler tercih edilmektedir.

GSBL'yi saptamak için genellikle çift disk sinerji testi (ÇDST) ve kombine disk testi (KDT) gibi fenotipik yöntemler tercih edilmektedir. Yapısal ve indüklenebilir AmpC aktivitesi ise Kirby-Bauer tarafından geliştirilen basit bir disk yöntemi ile saptanabilmektedir. Bu yöntemde bir indükleyici substrat (seftazidim ve imipenem gibi) ve bir ikinci haberci substrat (sefoksitin) varlığında disk zon bölgelerinde düzleşme veya girinti AmpC üretimi olarak değerlendirilir. Plazmid aracılı AmpC tanısında ise disk antagonizma testi (DAT) ve AmpC disk testi uygulaması kolay ve ucuz yöntemlerdir⁽⁸⁾.

Bu çalışmada, karbapenem dirençli *Klebsiella* spp. ve *Escherichia coli* izolatlarında aynı plak üzerinde disk difüzyon, kombine disk ve disk antagonizma test yöntemleri birlikte kullanılarak karbapenamaz, GSBL ve AmpC varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREKÇİ ve YÖNTEM

Bu araştırma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurul tarafından (21.03.2018 tarih ve 15/2018-06 karar numarası) onaylanmıştır.

Bakteriyel izolatlar ve antibiyotik duyarlılık testleri: Çalışmaya, Aralık 2017 ile Aralık 2018 tarihleri arasında BD Phoenix 100 (BD, ABD) otomatize bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık sistemiyle karbapenemlerden (imipenem, meropenem ve ertapenem) bir ve/veya birden fazlasına direnç tespit edilen 75 izolat (17 *E. coli*, 56 *Klebsiella pneumoniae*,

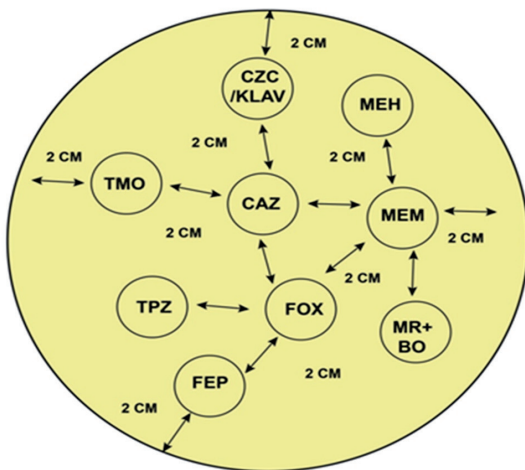
bir *Klebsiella ozaenae* ve bir *Klebsiella aerogenes*) dahil edildi.

Antibiyotik disk inhibisyon zon çapı ve MİK sınır değerleri EUCAST standartlarına göre değerlendirildi⁽³⁾. Mueller-Hinton agar (RTA,Türkiye) içeren 120 mm çaplı plak kullanılarak diskler arası ve kenarlardan 20 mm mesafe olacak şekilde yerleştirildi. Kirby Bauer disk difüzyon, kombine disk ve disk antagonizma testleri birlikte uygulandı (Şekil 1). Çalışmada kontrol suş olarak KPC karbapenemaz pozitif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 kullanıldı.

GSBL tanısının doğrulanması: Seftazidim (10 µg, Bioanalyse,Türkiye) inhibisyon zon çapının < 22 mm olması GSBL açısından gösterge kabul edildi.

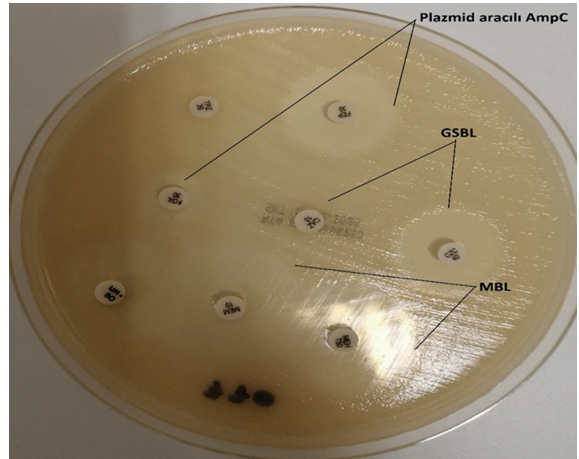
KDT ile 20 mm aralıklarla yerleştirilen seftazidim (10 µg, Bioanalyse, Türkiye) disk ile seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg, Bioanalyse, Türkiye) kombine disk arasında 5 mm veya daha fazla inhibisyon zon farkı GSBL üretimini doğrulamak için kullanıldı⁽³⁾.

Karbapenemazların saptanması: BD Phoenix 100 otomatik tanımlama sistemine göre karbapenemlere

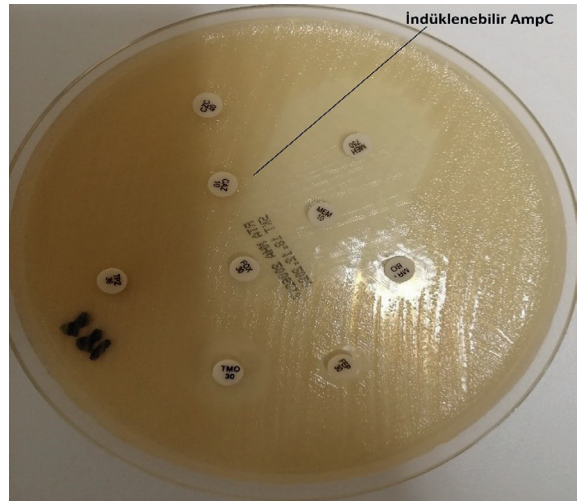


Şekil 1. Aynı plakta GSBL, karbapenemaz ve AmpC varlığını tanımlamak için kullanılan disklerin şematik resmi.

MEM: Meropenem, MEH: Meropenem+EDTA kombine disk, MR+BO: Meropenem+ Boronik asit kombine disk, CAZ: Seftazidim, FEP: Sefepim, TPZ: Piperasilin/tazobaktam, CZC/KLAV: Seftazidim/klavulanik asit, TMO: Temosilin.



Şekil 2. GSBL, AmpC (plazmid aracılı) ve metallo-beta laktamazın aynı plak üzerinde gösterilmesi. Seftazidim (CAZ) ile seftazidim/klavulanik asit (CZC) arasındaki sinerjiye göre GSBL üretimi, seoksitin (FOX) direnci ve sefepim (FEP) duyarlılığına göre AmpC tanısı ve meropenem (MEM) ile meropenem+EDTA (MEH) arasındaki sinerjiye göre metallo-beta-laktamaz tanımlanmıştır.



Şekil 3. İndüklenebilir (kromozomal) AmpC tipi beta laktamazın disk antagonizma testine göre tanısı. Şekilde sefoksitin (FOX) ve seftazidim (CAZ) zonları arasında düzleşme görülmektedir.

dirençli izolatlar için fenotipik doğrulama testleri uygulandı. Meropenem (10 µg, Bioanalyse, Türkiye) zone çapının <28 mm olması durumunda; meropenem (10 µg) ve meropenem+boronik asit (10/600 µg, Bioanalyse, Türkiye) (kombine disk zon çapı) arasında 5 mm veya daha fazla inhibisyon farkı KPC tipi karbapenemaz (Ambler sınıf A) olarak, meropenem (10 µg) ve meropenem+EDTA (10/750 µg Bioanalyse, Türkiye) kombine disk zon çapı arasında 5 mm veya daha fazla inhibisyon farkı metallo-beta-laktamaz (Ambler sınıf B) olarak tanımlandı⁽⁹⁾.

Temosilin duyarlılığına göre (30 µg, Bioanalyse, Türkiye) inhibisyon zon çapının 11mm'nin altında olması durumunda OXA-48 olarak değerlendirildi⁽³⁾.

Meropenem için direnç sınır değerlerinin dışında kalan zon çaplarında (25-27 mm= I/S) piperasilin/tazobaktam (30/6 µg, Bioanalyse, Türkiye) diski kullanılarak, duyarlı bulunması durumunda karbapenem direnci dışlandı⁽³⁾.

Plazmid aracılı (dereprese) ve indüklenebilir (kromozomal) Ampc beta-laktamaz ve /porin kaybı tanısı: Plazmid aracılı (dereprese) AmpC β – laktamazların tespitinde Kirby Bauer disk difüzyon testi (DDT), yapısal (indüklenebilir) AmpC β-laktamaz tespitinde disk antagonizma testi (DAT) kullanıldı^(3,10).

DDT ile; inhibisyon zon çaplarının; sefoksitin için (30 µg Bioanalyse, Türkiye) < 19 mm ve/ veya seftazidim için < 22 mm olması durumunda sefepim (30 µg Bioanalyse, Türkiye) duyarlılığı dikkate alındı. Sefepim zon çapının ≥ 27 mm (duyarlı) olması ve izolatın seftazidim/klavulanik asit ile inhibe olmaması durumu plazmid kaynaklı (dereprese) AmpC ve/veya porin kaybı olarak değerlendirildi⁽³⁾.

Sefoksitin duyarlılığında azalma AmpC ve/veya dış membran porinlerinin kaybı durumlarında görülebilmektedir⁽³⁾.

Daha önce Sanders ve ark.⁽⁹⁾ tarafından DAT yönteminde belirtildiği gibi; seftazidim ve meropenem (20 mm aralıklı) gibi indükleyici bir antibiyotiğin

yakınında sefoksitin inhibisyon bölgesinin düzleşmesi veya girintili olması indüklenebilir (kromozomal) AmpC; her iki diskin zon bölgelerinde bozulmama durumunda direnç geni negatif olarak değerlendirildi.

AmpC üreten suşlar klavulanik asit ile indüklenebildiğinden, bu beta-laktamaz inhibitörü varlığında duyarlılıkta azalma gözlenmesi ve GSBL varlığının baskılanması nedeniyle GSBL tespiti için piperasilin/tazobaktam duyarlılığı da değerlendirildi⁽¹¹⁾.

BULGULAR

BD Phoenix 100 otomatik tanımlama ve antibiyotik duyarlılık sistemine göre karbapenem direnci saptanan 75 izolatın 56'sı (%74.6) *K. pneumoniae*, 17'si (%22.6) *E. coli*, biri (%1.3) *K. ozaenae* ve biri (%1.3) *K. aerogenes* olarak tanımlandı. Bu izolatlar, 19 endotrakeal aspirat, 27 idrar, 2 balgam, 16 kan, dokuz yara, bir plevral sıvı ve bir bronşiyal lavaj sıvısının kültürlerinden elde edildi. Kombine disk testine göre izolatların hiçbirinde KPC tipi karbapenemaz bulunmazken, 24 (%31.5) izolatla MBL tipi karbapenemaz saptandı. MBL, *K. pneumoniae* izolatlarının 20 (% 35.7)'sinde, *E. coli* izolatlarının 3 (%17.6)'ünde ve *K. aerogenes* izolatlarının birinde (%100) tespit edildi.

Fenotipik olarak temosilin direnci bulunan toplam 31 (%40.7) izolatın 25'i (%44.6) *K. pneumoniae* ve altısı (%35.2) *E. coli* idi ve bunlar OXA-48 tipi karbapenemaz olarak tanımlandı. Yine kombine disk ve disk difüzyon yöntemlerine göre dokuzu (%16.0)

Tablo 1. β-laktamaz türlerinin mikroorganizmalara göre dağılımı

Mikroorganizma	β-laktamaz						Tanımlanamayan Tip n (%)	Negatif n (%)
	GSBL n (%)	KPC n (%)	MBL n (%)	AmpC n (%)	OXA-48 n (%)			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=56)	9 (16.0)	-	20 (35.7)	1 (1.3)	25 (44.6)	1 (1.7)		2 (3.5)
<i>Escherichia coli</i> (n=17)	7 (41.1)	-	3 (17.6)	3 (17.6)	6 (35.2)	1 (5.8)		1 (5.8)
<i>Klebsiella ozaenae</i> (n=1)	1 (100)	-	-	-	-	-		-
<i>Klebsiella aerogenes</i> (n=1)	-	-	1 (100)	-	-	-		-
Toplam	17 (22.3)	0	24 (31.5)	4 (5.2)	31 (40.7)	2 (2.6)		3 (4)

KPC: *Klebsiella pneumoniae*'de tespit edilen Ambler sınıf A tipi karbapenemaz; MBL: Metallo-beta-laktamaz.

K. pneumoniae, yedisi (%41.1) *E. coli* ve biri (%100) *K. ozaenae* olmak üzere toplam 17(%22.3) izolatta GSBL saptandı (Tablo 1).

DDT ve DAT yöntemlerine göre biri GSBL ile birlikte olmak üzere izolatların dördünde (%5.2) AmpC tipi beta-laktamaz saptandı. İdrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarında üç plazmit aracılı AmpC tipi beta-laktamaz saptanırken, kandan izole edilen *K. pneumoniae* izolatında indüklenebilir AmpC tipi beta-laktamaz belirlendi.

GSBL ve AmpC tipi beta-laktamaz izolatlarının karbapenemlere duyarlılıkları Tablo 2’de verildi. GSBL ve AmpC üreten izolatların tamamı meropeneme dirençli iken, bazı izolatlar diğer karbapenemlere duyarlı bulundu.

TARTIŞMA

Dünyada karbapenemlerin artan kullanımı hemen hemen tüm beta-laktamlara karşı direnç gelişmesine yol açmıştır⁽¹²⁾. Bu tip antimikrobiyal direnç, özellikle transfer edilebilir karbapenemaz kodlayan genlerin aracılık ettiği durumlarda, hızla yayılarak ciddi salgınlara neden olmakta ve tedavi seçeneklerini önemli ölçüde sınırlandırmaktadır^(3,13). Özellikle KPC ve MBL genleri sıklıkla plazmit aracılı GSBL, florokinolon ve aminoglikozit direnç genleri ile birlikte transfer edilmekte ve bu muhtemelen MBL ve/veya KPC üreticileri arasında ek direnç mekanizmalarının yayılmasına katkıda bulunmaktadır⁽⁶⁾.

Karbapenemaz üretiminin saptanmasında kullanılan yöntemler genotipik ve fenotipik tanı yöntemleridir.

Tablo 2. GSBL ve/AmpC tipi beta-laktamaz üreten izolatlarda karbapenem duyarlılığı

İzolat No	β-laktamaz	Karbapenem		
		İmipenem	Ertapenem	Meropenem
12 (<i>K. pneumoniae</i>)	GSBL	I	R	R
20 (<i>K. pneumoniae</i>)	GSBL	R	R	R
22 (<i>K. pneumoniae</i>)	GSBL	I	R	R
23 (<i>K. pneumoniae</i>)	İnd. AmpC	R	R	R
25 (<i>E. coli</i>)	GSBL+AmpC	S	R	R
26 (<i>E. coli</i>)	GSBL	S	R	R
27 (<i>K. pneumoniae</i>)	GSBL	R	R	R
28 (<i>K. pneumoniae</i>)	GSBL	S	R	R
30 (<i>E. coli</i>)	GSBL	R	R	R
31 (<i>K. ozaenae</i>)	GSBL	S	S	R
32 (<i>K. pneumoniae</i>)	GSBL	S	S	R
34 (<i>K. pneumoniae</i>)	GSBL	S	R	R
38 (<i>K. pneumoniae</i>)	GSBL	I	R	R
39 (<i>E. coli</i>)	GSBL	S	R	R
42 (<i>E. coli</i>)	GSBL+AmpC	I	S	R
43 (<i>E. coli</i>)	GSBL	I	S	R
44 (<i>E. coli</i>)	AmpC	S	S	R

R: Dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı, İnd. AmpC: İndüklenebilir AmpC, GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz.

Fenotipik tanı yöntemlerinden biri olan KDT, test edilen bakterinin karbapenem direnç mekanizması ve genotipi hakkında fikir verebilecek, erişilebilir, ucuz bir testtir^(2,3).

Karbapenemazların tanımlanması için multipleks PCR yönteminin kullanıldığı bir çalışmada 155 izolattan 136'sında (OXA-48=%84.6; NDM=%6.3; VIM=%2.8; IMP=%1.4) karbapenemaz alt tipleri tek başına saptanmış ve karbapenemaz varlığının doğrulanması için yapılan KDT ile moleküler test arasında %100 uyum bulunmuştur⁽¹⁴⁾.

Çalışmamızda KDT ile karbapenem direnci olan *K. pneumoniae* izolatlarının 20'sinde (%35.7), *E. coli* izolatlarının üçünde (%17.6) ve *K. aerogenes* izolatlarının birinde (%100) MBL saptanmıştır. Temosilin direncine göre 25'i (%44.6) *K. pneumoniae* ve altısı (%35.2) *E. coli* olmak üzere toplam 31 (%40.7) örnekte OXA-48 tipi karbapenemaz tespit edildi. Ancak temosilin direnci sadece OXA-48 tipi karbapenemaz için spesifik bir test olmayıp, direnç mekanizması genotipik yöntemlerle doğrulanmalıdır⁽³⁾.

Genel olarak, temosilin duyarlılık testi, Ambler sınıf tip A ve B karbapenemaz inhibitörlerinden etkilenmeyen suşlarda ESBL+porin kaybı ile OXA-48 benzeri enzimleri ayırt etmek için kullanılmaktadır⁽³⁾. Bunun yanında OXA-48'in endemik olduğu ülkelerde, meropenem sınır değerlerinin tarama amacıyla kullanılabileceği ancak özgüllüğünün düşük olduğu bildirilmiştir⁽³⁾.

EUCAST, karbapenemaz tarama testlerinden sonra fenotipik değerlendirme yöntemi olan Rosco'nun KPC, MBL ve OXA-48 kiti ile doğrulama yapılmasını önermektedir. Bu testin karbapenemazları tanımlamada genotipik testlere göre duyarlılık ve özgüllüğü %95-100 arasında bulunmuştur⁽³⁾.

Baykal ve ark.⁽¹⁵⁾ kan izolatu *E. coli* ve *K. pneumoniae* türlerinde GSBL, AmpC ve KPC-tip karbapenemaz için tarama testlerini aynı plakta değerlendirmiş ve KPC-tip karbapenemaz için modifiye Hodge testi (MHT),

plazmid kökenli AmpC beta-laktamaz tanısında boronik asitli inhibisyon test yöntemini uygulamıştır. Çalışmada *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında beta-laktamaz oranları sırasıyla GSBL için %26.2 ve %61.4; AmpC için %1 ve %0.9; GSBL + AmpC için %6 ve %3.5 olarak belirlenmiştir. Ayrıca ertapeneme dirençli üç izolat boronik asitli inhibisyon testi ile pozitif bulunmasına karşın, MHT ile negatif saptanmıştır⁽¹⁵⁾. Çalışmamızda benzer şekilde karbapeneme dirençli izolatlarda GSBL oranı %22.3 (n=17), AmpC oranları *E. coli* izolatlarında %17.6 (n=3) ve *K. pneumoniae* izolatlarında %1.3 (n=1) bulunmuştur.

Kumar ve ark.⁽¹⁶⁾ yaptıkları çalışmada *Enterobacterales* izolatlarında KPC ve MBL tipi karbapenemaz üretiminin saptanmasında KDT yönteminin MHT'ye göre daha üstün olduğunu belirtmişlerdir.

MHT yöntemi ile karbapenemazların tanısında yüksek oranda yanlış pozitif sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir. Bunlar esas olarak CTX-M tipi GSBL'lerin neden olduğu ve daha az ölçüde indüklenebilir AmpC ve porin kaybıyla birlikte GSBL üretimi veya porin mutasyonlarının bulunduğu durumlardır⁽¹⁶⁾.

AmpC tipi beta laktamazlara sıklıkla çoklu ilaç direnci eşlik etmekte ve dünya çapında prevalansı artmaktadır⁽¹⁷⁾. Sefoksitin duyarlılığı fenotipik bir tarama testi olarak AmpC ve GSBL üretimini doğru bir şekilde ayırt edebilmektedir.

Plazmit aracılı AmpC beta-laktamazlar esas olarak kromozomal olarak kodlanmış genlerden türemiştir ve sefepim ve karbapenemler hariç tüm beta-laktam antibiyotikleri hidroliz etmektedir. Bu tip direnç fenotipine çoğunlukla *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* türlerinde rastlanmaktadır^(17,18).

Ashok ve ark.⁽⁸⁾ Gram negatif bakterilerde DAT ve AmpC disk testini birlikte kullanarak sefoksitin dirençli izolatlarda %4 oranında plazmid aracılı ve %4.8 oranında indüklenebilir AmpC bulmuşlardır. Yine DAT ve AmpC disk testi birlikte kullanarak yapılan bir çalışmada, *E. coli* ve *K. pneumoniae*

izolatlarında indüklenabilir AmpC β -laktamaz saptanmazken, *Enterobacter* izolatlarının %20 'sinde indüklenebilir AmpC ve yüksek oranda GSBL birlikteliği belirlenmiştir⁽¹⁸⁾.

Akiyemi ve ark.⁽¹⁷⁾ DDT ile sefoksitine %80 direnç saptadıkları *Salmonella* izolatlarında ÇDS ve DAT kullanarak GSBL ve AmpC'yi sırasıyla %25 ve %40 oranında bulmuşlardır. Bu durum *Salmonella* ile ilişkili enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri açısından endişe verici bulunmuştur.

Sefoksitin direnci AmpC üretimini düşündürse de, sefoksitin direncine bazı A sınıfı beta-laktamazların ve dış membran porinlerinin üretimindeki azalmanın aracılık edebileceği ve spesifik bir test olmadığı belirtilmektedir⁽¹⁹⁾.

AmpC fenotipik doğrulama testleri genellikle AmpC'nin kloksasilin veya boronik asit türevleri ile inhibisyonuna dayanmaktadır. Ancak bunlar A sınıfı karbapenemazları da inhibe etmektedir⁽³⁾. Çalışmamızda plazmit türevi AmpC'nin saptanması için sefoksitin ve/veya seftazidim direnci ile sefepim duyarlılığı birlikte değerlendirilmiştir.

Plazmid kökenli AmpC enzimleri, üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı *in vitro* dirençleri nedeniyle kolayca saptanabilir olsa da, indüklenabilir AmpC içeren suşlar, bir indükleyici ajanın yokluğunda yanlış duyarlılık değerlendirmelerine neden olabilirler.

Çalışmamızda bazı izolatlarda AmpC ile birlikte GSBL'nin bulunması, sinerjik bir etki ile MİK değerlerini artırdığını düşündürmektedir.

Dördüncü kuşak sefalosporinler sadece AmpC taşıyan *Enterobacterales* üyeleri için bir tedavi seçeneği olsa da GSBL üreten suşların neden olduğu enfeksiyonlarda önerilmemektedir. Ayrıca mutasyonlar nedeniyle, AmpC beta-laktamazı kodlayan bir kromozomal genin ifadesi, üçüncü kuşak sefalosporin ile tedavi sırasında artabilmektedir⁽²⁰⁾.

Ertapenem duyarlılığının büyük ölçüde AmpC/ESBL birlikteliği ve porinlerdeki değişikliklerle ilişkili olduğu bildirilmektedir⁽¹¹⁾. Ertapenem *Enterobacter* spp. türlerinde GSBL ve AmpC ve porin kaybı ile sonuçlanan karbapenem direncinde duyarlılığı oldukça iyi fakat özgüllüğü göreceli olarak düşüktür. Öte yandan, vahşi tip ve diğer karbapenemaz türleri arasında yetersiz ayırım gücü nedeniyle karbapenem tarama testinde imipenem kullanılması önerilmez. EUCAST, tarama testlerinde yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü nedeniyle meropenemi önermektedir⁽³⁾.

Çalışmamızda KDT yöntemi ile hem KPC hem de MBL tanısında meropenem tercih edilmiştir.

Karbapenemazların genotipik ve fenotipik çeşitliliği, bu enzimlerin tanımlanmasında zorlukları da beraberinde getirmektedir. Her ne kadar bu testlerin standardize edilmesi için ek çalışmalara gereksinim olsa da, fenotipik ve genotipik yöntemlerin arasından laboratuvarın sahip olduğu olanaklara uygun bir algoritma oluşturulması mümkündür.

Çalışmanın sınırlılığı; fenotipik yöntemlerle saptanamayan karbapenemazların, OXA-48 tipi karbapenemazların doğrulanmasında olduğu gibi genotipik yöntemlerle doğrulanmasının gerekliliğidir. Moleküler tanı yöntemleri ile aynı gün içinde sonuç almak mümkün olsa da rutin çalışmalarda uygulanması zordur. Bundan dolayı moleküler testlerin yapılamadığı laboratuvarlarda kombine disk, disk antagonizma testi ve çift disk sinerji testinin rutin antibiyograma entegrasyonu, çoklu direnç mekanizmalarını izlemek için kolay ve basit bir yaklaşım gibi görünmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmamıza çizimleriyle teknik destek sağlayan Mustafa Toker'e ve makalenin düzenlenmesinde yardımcı olan Kezban Tülay Yalçinkaya'ya teşekkür ederiz.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik

Kurulu tarafından (21.03.2018 tarih ve 15/2018-06 karar numarası) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Sütçü İmam University, Clinical Research Ethics Committee (03.21.2018; 15/2018-6).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Kılıç Ü, Demiray T, Altındış M. Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarının saptanmasında fenotipik ve genotipik metotlar. *Ankem Derg.* 2016;30(2):62-75.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2016.062>
2. Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, et al. Acquired carbapenemases in gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(2):112-22.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03116.x>
3. Leclercq R, Cantón R, Brown DF, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect.* 2017;19(2):141-60.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x>
4. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI document M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, ABD: 2017.
5. Pasteran F, Mendez T, Rapoport M, Guerriero L, Corso A. Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class A carbapenemase in species of *Enterobacteriaceae* by incorporating boronic acid. *J Clin Microbiol.* 2010;48(4):1323-32.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01771-09>
6. Carvalhaes CG, Picão RC, Nicoletti AG, Xavier DE, Gales AC. Cloverleaf test (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive results. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(2):249-51.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkp431>
7. Milillo M, Kwak YI, Snedrud E, Waterman PE, Lesho E, McGann P. Rapid and simultaneous detection of blaKPC and blaNDM by use of multiplex real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2013;51(4):1247-9.
<https://doi.org/10.1128/JCM.03316-12>
8. Ashok AK, Jaryal SC, Thakur K, Sood A, Gupta PK, Thakur S. Detection of inducible and non-inducible (constitutive) AmpC β -lactamase producing Gram-Negative bacteria among family *Enterobacteriaceae* by two phenotypic methods - Disk Antagonism Test (DAT) and AmpC disk test at a tertiary care hospital, Himachal Pradesh, India. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2016;5(4):133-9.
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.504.018>
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0, valid from 2022-01-01 [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf] (Erişim tarihi: 20.06.2022).
10. Sanders CC, Sanders WE Jr, Goering RV. In vitro antagonism of beta-lactam antibiotics by cefoxitin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1982;21(6):968-75.
<https://doi.org/10.1128/AAC.21.6.968>
11. Cheng L, Nelson BC, Mehta M. Piperacillin-tazobactam versus other antibacterial agents for treatment of bloodstream infections due to ampc β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(6): e00276-17.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00276-17>
12. Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem resistance: A review. *Med Sci.* 2018;6(1):1-28.
<https://doi.org/10.3390/medsci6010001>
13. Meletis G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis.* 2016;3(1):15-21.
<https://doi.org/10.1177/2049936115621709>
14. Akar A. Türkiye’de 2014 yılı içinde izole edilen karbapeneme dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz varlığının araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2016;50(1):21-33.
<https://doi.org/10.5578/mb.10695>
15. Baykal A, Çöplü N, Şimşek H, Esen B, Gür D. Kan izolatı *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, KPC-tip karbapenemaz ve plazmid aracılı AmpC beta-laktamaz varlığının araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2012;46(2):159-69.
16. Kumar S, Mehra SK. Performance of modified Hodge test and combined disc test for detection of carbapenemases in clinical isolates of *Enterobacteriaceae*. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2015;4(5):255-61.

17. Akinyemi KO, Iwalokun BA, Oyefolu AO, Fakorede CO. Occurrence of extended-spectrum and AmpC beta-lactamases in multiple drug resistant *Salmonella* isolates from clinical samples in Lagos, Nigeria. *Infect Drug Resist.* 2017;10:19-25.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S123646>
18. Black JA, Moland ES, Thomson KS. AmpC disk test for detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Enterobacteriaceae* lacking chromosomal AmpC β -lactamases. *J Clin Microbiol.* 2005;43(7):31103.
<https://doi.org/10.1128/JCM.43.7.3110-3113.2005>
19. Manobalan K, Menezes GA, Harish BN. Study of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and AmpC β -lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp. in a tertiary care hospital. *Res J Pharmaceut Biol Chem Sci.* 2014;5869:184-9.
20. Apfalter P, Assadian O, Daxböck F, Hirschl AM, Rotter ML, Makristathis A. Extended double disc synergy testing reveals a low prevalence of extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacter* spp. in Vienna, Austria. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(5):854-9.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkm060>

Tüberkülozlu Hastalara Ait *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks İzolatlarının MIRU-VNTR ve Spoligotiplendirme Yöntemleri ile Genotiplendirilmesi[§]

Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Isolates from Patients with Tuberculosis by MIRU-VNTR and Spoligotyping Methods

Nurcihan Biltekin*, Mahmut Ülger*, Mediha Begüm Kayar**, Gülfer Yakıcı**, Seda Tezcan Ülger***, Gönül Aslan***, Nuran Delialioğlu***, Fatih Köksal****

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

** Gaziantep İslam Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

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

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

Atıf/Cite as: Biltekin N, Ülger M, Kayar MB, et al. Tüberkülozlu hastalara ait *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izolatlarının MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemleri ile genotiplendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):84-92.

ÖZ

Amaç: Tüberküloz, tüm dünyada görülen önemli mortalite ve morbidite ile sonuçlanan, tek bir enfeksiyöz ajanının neden olduğu bakteriyel bir hastalıktır. Tüberküloz basili ile dünya nüfusunun neredeyse dördte biri enfektir ve bu hastalıktan dolayı her yıl yaklaşık iki milyon kişi ölmektedir. Bu çalışmada ilimizdeki *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTK) izolatlarının genotiplendirilmesi ve bu izolatlarla ait moleküler epidemiyolojik verilerinin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'ndaki 103 MTK izolatının MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemleri ile genotiplendirilmesi yapıldı.

Bulgular: Moleküler genotiplendirme sonucunda 103 izolatın 10 spoligotiplendirme kümesi içerisinde dağıldığı görüldü. T ailesinin 48 (%46.6) izolat ile en büyük kümeyi oluşturduğu belirlendi. Bunu 16 (%15.5) izolat ile Haarlem ailesinin, 13 (%12.6) izolat ile TUR ailesinin, 10 (%9.7) izolat ile S ailesinin, dörder (%3.9) izolat ile Beijing ve LAM ailelerinin, üçer (%2.9) izolat ile Bovis ve NEW-1 ailelerinin, birer (%0.9) izolat ile Delhi/CAS ve H37Rv ailelerinin izlediği görüldü.

Sonuç: Çalışma sonucunda, en yaygın görülen ailenin %46.6 oranıyla T ailesi olduğu tespit edildi. Daha önce yapılan çalışmalarda özellikle çok ilaca dirençli tüberküloz ile ilişkili olduğu bildirilen Beijing ailesi de artık bölgemizde saptanmıştır. MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemlerinin kombinasyonu ile *M. tuberculosis*'in, moleküler epidemiyolojik çalışmaların yapıldığı bölgedeki hareketliliğinin izlenmesi ile o bölgedeki popülasyonda tüberkülozun kontrolünde ve eliminasyonunda yararlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Spoligotiplendirme, MIRU VNTR, *Mycobacterium tuberculosis*

ABSTRACT

Objective: Tuberculosis is a bacterial disease caused by a single infectious agent, resulting in significant mortality and morbidity worldwide. Almost a quarter of the world's population is infected with tuberculosis bacillus, and about two million people die each year from this disease. In this study, it was aimed to genotyping *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MT) isolates in our province and to obtain molecular epidemiological data of these isolates.

Methods: In the study, genotyping of 103 MTK isolates in the Mersin University Faculty of Medicine Department of Medical Microbiology Mycobacteriology Laboratory was performed using spoligotyping and MIRU-VNTR methods.

Results: As a result of molecular genotyping, it was observed that 103 isolates were distributed in 10 spoligotyping clusters. It was determined that the T family constituted the largest cluster with 48 (46.6%) isolates. This was followed by 16 (15.5%) isolates of the Haarlem family, 13 (12.6%) isolates of the TUR family, 10 (9.7%) isolates of the S family, four (3.9%) isolates of the Beijing and LAM families, three (2.9%) isolates of the Bovis and NEW-1 families were followed by Delhi/CAS and H37Rv families, with one (0.9%) isolate.

Conclusion: As a result of the study, it was determined that the most common family was the T family with a rate of 46.6%. The Beijing family, which was reported to be associated with multi-drug resistant tuberculosis in previous studies, has now been identified in our region. It is thought that the combination of MIRU-VNTR and spoligotyping methods will be useful in the control and elimination of tuberculosis in the population in that region by monitoring the motility of *M. tuberculosis* in the region where molecular epidemiological studies are carried out.

Keywords: Spoligotyping, MIRU VNTR, *Mycobacterium tuberculosis*

Alındığı tarih / Received:

26.07.2022 / 26.July.2022

Kabul tarihi / Accepted:

06.01.2023 / 06.January.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

N. Biltekin 0000-0002-7165-9385

M. Ülger 0000-0001-6649-4195

M. B. Kayar 0000-0002-9657-5970

G. Yakıcı 0000-0001-6486-3209

S. Tezcan Ülger 0000-0002-0823-3680

G. Aslan 0000-0002-1221-7907

N. Delialioğlu 0000-0001-8535-3291

F. Köksal 0000-0003-0790-1525

[§]Bu çalışma, Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu'nda (Mersin, 28-30 Kasım 2019) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

✉ nur.biltekin@hotmail.com

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), tüm dünyada görülen önemli mortalite ve morbidite ile sonuçlanan, tek bir enfeksiyöz ajanının neden olduğu bakteriyel bir hastalıktır⁽¹⁾. TB basili ile dünya nüfusunun neredeyse dörtte biri enfektedir ve bu hastalıktan dolayı her yıl yaklaşık iki milyon kişi ölmektedir⁽²⁾.

Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTK) üyeleri yavaş üredikleri için moleküler yöntemler ile tanı ve tiplendirilmeleri hızlı bir şekilde yapılabilmekte ve basilin popülasyonlar arasındaki yayılımı, ilaca karşı direnç gelişimi ve spesifik genotipler arasındaki ilişki saptanabilmektedir^(3,4). Bir bölgedeki baskın izolatın bulunması ve farklı bölgelerde salgınlara sebep olan MTK izolatlarının kökenini araştırmak için son yıllarda "Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable Number of Tandem Repeat" (MIRU-VNTR) tiplemesi, "Polymerase Chain Reaction (PCR)-Restriction Fragment Length Polymorphism" (RFLP) ve "Spacer oligonucleotide typing" (spoligotyping-spoligotiplendirme) gibi çeşitli moleküler yöntemler kullanılmaktadır⁽⁵⁾. *Mycobacterium tuberculosis*'in genotiplendirilmesinde MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemleri birlikte kullanıldığında hızlı ve güvenilir sonuçların elde edildiği kabul edilmektedir⁽⁴⁾.

MTK izolatlarının genotiplerini belirlemek için sıklıkla kullanılan ve PCR-bazlı reverse dot blot temeline dayanan spoligotiplendirme yöntemi, izolatlardaki kromozomal Direct Repeat (DR) lokusunda bulunan polimorfizmlerin gösterilmesine dayanmaktadır⁽⁶⁾. MIRU-VNTR yönteminde MTK izolatlarının genotiplerinin belirlenmesinde 41 farklı değişken sıralı tekrar (VNTR) bölgesi tespit edilmiş ve bunlara MIRU denilmiştir⁽⁷⁾.

Bu çalışmada, MTK izolatlarının MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemleri ile genotiplendirilmesinin yapılması ve ilimizde bu izolatların moleküler epidemiyolojik verilerinin elde edilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma, Mersin Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurul tarafından (04.09.2019 tarih ve 2019/355 karar numarası) onaylanmıştır.

Mycobacterium tuberculosis izolatları: Çalışmaya, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'nda 01.01.2016-31.12.2017 tarihleri arasında, klinik materyalinin kültüründe (Löwenstein-Jensen [LJ] katı besiyeri ve/veya BACTEC MGIT 960 sıvı besiyeri) MTK üremesi tespit edilen 103 klinik izolat dâhil edildi. Çalışmada her bir hastaya ait bir izolat kullanıldı. BACTEC MGIT 960 sistemi ile izolatların birinci seçenek anti-TB ilaçlara karşı duyarlılıkları belirlendi.

DNA Ekstraksiyonu: Çalışmaya dâhil edilen 103 MTK izolatının DNA'sı, +4°C'de saklanan BACTEC MGIT 960 sıvı besiyeri şişelerinden Mickle cihazı (Mickle tissue disintegrator) kullanılarak elde edildi. Ekstraksiyon ardından spektrofotometre (CHEBIOS) ile 260 nm'de ölçüm yapılarak DNA miktarı tespit edildi. Ekstrakte edilen DNA'lar moleküler işlemler yapılncaya kadar -20°C'de saklandı.

Spoligotiplendirme: Ekstraksiyon sonrası spoligotiplendirme yöntemi ile 36 bp uzunluğundaki DR bölgelerini hedef alan DRa ve DRb primerleri kullanılarak bu bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleştirildi⁽⁸⁾.

M. bovis BCG, *M. tuberculosis* H37Rv veya genotipi bilinen klinik izolat pozitif kontrol, nükleaz içermeyen distile su ise negatif kontrol olarak kullanıldı. Her bir izolat için PCR 25 µl'lik hacimde [12.5 µl 2X PCR karışımı (Fermentas) (1.6 mM dNTP karışımı [her bir dNTP'den 0.4 mM], 4 mM MgCl₂, 0.05 U/µl Taq DNA polimerazdan oluşmaktadır), 0.25 µl DRa ve DRb primerleri (0.25 pmol/µl), 9.5 µl nükleaz içermeyen distile su ve 2.5 µl kalıp DNA] gerçekleştirildi. Spoligotiplendirme için ısı döngü cihazında (Applied Biosystem AB) amplifikasyon koşulları; 95°C'de beş dakika başlangıç denatürasyonu, 40 döngü 94°C'de bir dakika denatürasyon, 55°C'de bir dakika

bağlanma, 72°C'de 45 saniye uzama ve 72°C'de 10 dakika son uzama şeklinde uygulandı. Elde edilen sonuçlar Oktal kodlama anahtarı kullanılarak 0-7 arasında 15 rakamdan oluşan "Oktal kod" formatına çevrilerek kümelerin ve ailelerin belirlenmesi için SpolDB4 veri tabanı kullanıldı.

MIRU-VNTR: Çalışmada her bir izolata özgü 15 MIRU (424, 577, 580, 802, 960, 1644, 1955, 2163b, 2165, 2401, 2996, 3192, 3690, 4052, 4156)⁽⁹⁾ lokusunun VNTR sayısının belirlenmesi için 15 PCR reaksiyonu gerçekleştirildi.

Her bir izolat için 12.5 µl 2X PCR karışımı (Fermentas) (1.6 mM dNTP karışımı [her bir dNTP'den 0.4 mM], 4 mM MgCl₂, 0.05 U/µl Taq DNA polimerazdan oluşmaktadır), 1 µl DMSO (Sigma), 2 µl primer karışımı (2163b, 2165, 3690, 4156 ve 4052 için 3 µl) kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma, son hacmi 20 µl'ye tamamlanacak şekilde nükleaz içermeyen distile su ile her bir örneğe ait 5 µl kalıp DNA ilave edildi.

Hazırlanan reaksiyon karışımı Termal Cyler (Applied Biosystem AB) ısı döngü cihazında ilk denatürasyona takiben (95°C'de 5 dakika), 94°C'de 30 saniye, 61°C'de 30 saniye (1955 ve 3690 lokusları için bağlanma sıcaklığı 55°C'dir), 70°C'de bir dakika (toplam 35 döngü), son uzama için 72°C'de 7 dakika ve 4°C'de ∞ bekleme şeklinde uygulandı.

PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde (150 Voltta, 180 dakika) elektroforezi yapıldı ve jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, Fransa) ile görüntülendi. Elde edilen bant büyüklüklerine göre 15 MIRU lokusundaki allel tekrar sayıları miruvntrplus veritabanı (www.miruvntrplus.org) kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR

Hastaların %71.9 (74/103)'ü erkek, %28.1 (29/103)'i kadın ve yaş ortalamaları 47.35'dir (min: 6, maks: 92). Hastaların %88.3 (91)'ü akciğer TB'si, geri kalan %11.7 (12)'si ise akciğer dışı TB olarak tespit edilmiştir.

Tablo 1. Birinci seçenek anti-TB ilaçlara dirençli olduğu belirlenen 43 izolatın direnç profili

Birinci seçenek anti-TB ilaç	Dirençli (%)
SM	27 (62.8)
INH	19 (44.2)
RIF	7 (16.3)
EMB	4 (9.3)
SM + INH	7 (16.3)
SM + RIF	4 (9.3)
SM + EMB	3 (7.0)
INH + RIF	3 (7.0)
SM + INH + RIF	3 (7.0)

TB: Tüberküloz, SM: Streptomisin, INH: İzoniazid, RIF: Rifampisin EMB: Etambutol

Çalışmada birinci seçenek anti-TB ilaçlardan en az birine dirençli 43 (%41.7) izolat, bu ilaçlara duyarlı 60 (%58.3) izolat olduğu belirlenmiştir. Dirençli 43 izolatın direnç profilleri Tablo 1'de verilmiştir.

15 lokus MIRU-VNTR yöntemi ile tiplendirmesi yapılan 103 MTK izolatına ait 12 izolat beş farklı küme (Küme 1: 13 ve 14; Küme 2: 10, 95 ve 100; Küme 3: 44, 49 ve 50; Küme 4: 40 ve 52; Küme 5: 23 ve 24) içerisinde dağılmış ve 91 özgün profil tespit edilmiştir.

Spoligotiplendirme ve 15 lokus MIRU-VNTR yöntemlerinin birlikte analizi sonucunda spoligotiplendirme sonuçlarına göre; 103 izolatın 10 spoligotiplendirme kümesi içerisinde dağıldığı, 48 (%46.6) izolat ile T ailesinin en büyük kümeyi oluşturduğu tespit edilmiştir. Bunu 16 (%15.5) izolat ile Haarlem ailesinin, 13 (%12.6) izolat ile TUR ailesinin, 10 (%9.7) izolat ile S ailesinin, dörder (%3.9) izolat ile Beijing ve LAM ailelerinin, üçer (%2.9) izolat ile Bovis ve NEW-1 ailelerinin, birer (%0.9) izolat ile Delhi/CAS ve H37Rv ailelerinin izlediği görülmüştür. T ailesinin T1 (n=47, %98) ve T4 (n=1, %2) olmak üzere 2 farklı spoligotip paterni gösterdiği belirlenmiştir. 103 izolata ait spoligotiplendirme aileleri, görülme oranları ve ailelere ait SIT gruplarının dağılımları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. 103 izolata ait spoligotiplendirme aileleri, görülme oranları ve SIT grupları

Spoligotiplendirme kümesi	İzolot sayısı (n)	Görülme oranı (%)	SIT Grupları
T ailesi	48	46.6	
T1 alt ailesi	47		SIT53 n=24 SIT284 n=15 SIT7 n=3 SIT102 n=2 SIT205 n=2 SIT86 n=1
T4 alt ailesi	1		SIT40 n=1
Haarlem	16	15.5	SIT50 (H3) n=4 SIT127 (H4) n=3 SIT2 (H2) n=2 SIT2077 (H3) n=2 SIT47 (H1) n=2 SIT1735 (H3) n=1 SIT1593 (H3) n=1 SIT62 (H1) n=1
TUR	13	12.6	SIT41 n=12 SIT367 n=1
S	10	9.7	SIT34 n=6 SIT784 n=4
Beijing	4	3.9	SIT1 n=4
LAM	4	3.9	SIT42 (LAM9) n=3 SIT254 (LAM-RUS) n=1
Bovis	3	2.9	SIT1118 n=2 SIT685 n=1
NEW-1	3	2.9	*
Delhi/CAS	1	0.9	SIT25 n=1
H37Rv	1	0.9	H37Rv n=1
Toplam	103	100	

*Çalışmanın yapıldığı tarihte NEW-1 ailesi olarak bulunan 3 izolatin SIT numaraları, daha sonra NEW-1 ailesinin URAL-2 ailesi olmasından dolayı verilememiştir.

Çalışmaya dâhil edilen 91 akciğer TB hastasına ait izolatların 41'inin T, 16'sının Haarlem, 11'inin TUR, sekizinin S, dördünün Beijing, dördünün LAM, üçünün Bovis, üçünün New-1, birinin Delhi/CAS ailesine; 12 akciğer dışı TB hastasına ait izolatların yedisinin T,

Tablo 3. Birinci seçenek anti-TB ilaçlara dirençli 43 izolatın spoligotiplendirme küme dağılımı

Spoligotiplendirme kümesi	Dirençli izolat sayısı	
T kümesi	19	Bir ilaca dirençli: 16 İki ilaca dirençli: 3 Bir ilaca dirençli: 6 İki ilaca dirençli: 2 Üç ilaca dirençli: 2 Bir ilaca dirençli: 4 İki ilaca dirençli: 2 Bir ilaca dirençli: 2 Üç ilaca dirençli: 1
Haarlem	10	SM: 8 INH: 5 RIF: 2 EMB: 1 SM+INH: 2 SM+EMB: 1 SM: 1 INH: 4 RIF: 1 SM+INH: 1 SM+RIF: 1
S	6	SM+INF+RIF: 2 SM: 4 SM+EMB: 2
Beijing	3	SM: 2 SM+INF+RIF: 1
LAM	3	SM: 1 INH: 2
TUR	1	SM+INH: 1
H37Rv	1	INH: 1
Toplam	43	

ikisinin TUR, ikisinin S ve birinin de H37Rv ailesine ait olduğu tespit edilmiştir.

Beijing izolatının birinde üçlü ilaç direnci, ikisinde ise tekli ilaç direnci tespit edilmiştir (Tablo 3). Bu dört hastanın birinin Rusya, birinin Kırgızistan ve ikisinin Türk vatandaşı olduğu belirlenmiştir. Türk vatandaşı olan iki hastanın dosyaları incelendiğinde bu hastaların herhangi bir yurt dışı çıkış öyküleri veya yabancı uyruklu kimselerle temas öykülerinin olmadığı saptanmıştır.

Çalışmaya dâhil edilen 43 dirençli izolatın spoligotiplendirme küme dağılımları Tablo 3'te verilmiştir.

TARTIŞMA

Tüberküloz dünya çapında, özellikle gelişmekte olan ülkelerde morbidite ve mortalitenin başlıca nedenidir⁽¹⁰⁾. Dünya Sağlık Örgütü 2020 yılında, 9.9 milyon yeni TB olgusunun görüldüğünü, 1.3 milyon TB'li hastanın ve 214.000 HIV (+) hastanın TB nedeniyle öldüğü bildirilmiştir⁽²⁾. Günümüzde TB salgınında, ÇİD oranının artması ve HIV/AIDS ile ko-enfeksiyon mevcudiyeti, bu hastalığın artmasına ve buna bağlı olarak tedavi edilmemesindeki en önemli sorunlar olarak kabul edilmektedir^(11,12).

Günümüzde yaygın bir şekilde kullanılan moleküler tiplendirme yöntemleri ile genomik polimorfizmlerin doğrudan analizi yapılabilmektedir. Çeşitli epidemiyolojik yöntemler; *M. tuberculosis*'in popülasyonlar arasındaki geçişinin ölçülmesi, basilin moleküler tiplendirilmesi ve spesifik genotipler ile ilaca karşı dirençli izolatlar arasındaki ilişkiyi saptamak için kullanılmaktadır⁽⁴⁾. İnsanlar da dâhil çeşitli konakçı türlerine *M. tuberculosis*'in adaptasyonunda, bakterinin coğrafi kökeni ile bağıntılı olan genetik çeşitliliği önemli bir rol oynamaktadır. Bir izolatın mutasyon oranları, ilaç direnci, soy bilgisi, bulaşıcılık ve virülans özellikleri, o izolatın filocoğrafik kaynağı hakkında bilgi sahibi olmamıza yardımcı olmaktadır. Moleküler süveyans programının temelini, epidemiyolojik veya klinik veriler ile soy sınıflandırmasının birleştirilmesi sonucu elde edilen veriler oluşturmaktadır⁽¹³⁾.

Bu çalışmada, TB'li hastalardan izolen edilen MTK izolatlarında 15 lokus MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemleri kullanılarak moleküler epidemiyolojik veri elde edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya 103 MTK izolatı dâhil edilmiş, dirençli 43 izolatın farklı ilaç direnç profillerine sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 1). 15 lokus MIRU-VNTR yöntemi ile tiplendirmesi yapılan 103 MTK izolatına ait 12 izolat beş farklı küme içerisinde dağılmış ve 91 özgün profil tespit edilmiştir. Bu sonuçlara kıyasla, spoligotiplendirme yöntemi ile izolatların 10 spoligotiplendirme küme dağılımı göstermesi, izolatların MIRU-VNTR yöntemi ile daha az kümeye

ayrıldığını bu da MIRU-VNTR'nin ayırım gücünün daha yüksek olduğunu göstermektedir (Tablo 2). Dirençli 43 izolatın spoligotiplendirme küme dağılımı ise Tablo 3'te verilmiştir.

Oudghiri ve ark.⁽¹⁴⁾ 2021 yılında Fas'ta dört yıl süre boyunca (2010-2013) toplam 70 ÇİD izolatının dâhil edildiği ve spoligotiplendirme ile 15 lokus MIRU-VNTR yöntemlerini kullandıkları çalışma sonucunda, en yaygın ailelerin sırasıyla LAM (%57.4); T (%18.5); Haarlem (%7.1); S (%7.1); SITVIT2 veritabanında tanımlanamayan (%5.6) ve Beijing (%4.3) olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın, Fas'ta TB'nin sıcak noktası olarak tanınan Kazablanka'daki ÇİD ve YİD öncesi MTK popülasyon yapısı hakkında fikir sahibi olmak için yapılan ilk moleküler karakterizasyon çalışması olduğunu bildirmişlerdir.

İran'da 162 MTK izolatının dâhil edildiği bir çalışmada, 15 lokuslu MIRU-VNTR sonuçlarına göre NEW-1 (%22.2) ve Beijing (%13.6) ailelerinin en sık görülen aileler olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre Beijing izolatlarının tedavilerinde sorunlar yaşandığı ve diğer ilaçlarla göre SM direncinin hâlâ yüksek olduğu ifade edilmiştir⁽¹⁵⁾.

Spoligotiplendirme yöntemi ile 234 MTK izolatının genotip analizinin yapıldığı bir çalışmada, LAM (%37.2) ailesinin en yaygın görülen aile olduğu, bunu sırasıyla Haarlem (%15.8), T (%8.1), U (%3.4), S (%2.6), X (%2.1) ve Beijing (%0.9) ailelerinin izlediği belirtilmiştir. Bu çalışma sonucunda Beijing ailesinin Kolombiya'da varlığının tespit edildiği bildirilmiştir⁽¹⁶⁾.

Li ve ark.⁽¹⁷⁾ Çin'de 251 MTK izolatını dâhil ettikleri çalışmada MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemleri ile, izolatların 49 farklı spoligotip paterni gösterdiği, Beijing (%62.2) ailesinin en yaygın görülen aile olduğu ifade edilmiştir. Beijing ailesine ait izolatların, Kuzey Çin bölgesinde daha baskın olduğu ve buna da ülkenin coğrafyası, iklimi ve nüfusu gibi çeşitli faktörlerin etki edebileceği vurgulanmıştır⁽¹⁷⁾.

Vluggen ve ark.⁽³⁾ Brüksel'de 2010-2013 yıllarını kapsayan bir çalışmalarında, 945 hasta örneğinin

spoligotiplendirme ve MIRU-VNTR yöntemleri ile çalışıldığı, elde edilen sonuçlara göre LAM (%16.7) ve Haarlem (%15.7) ailelerinin en sık görülen aileler olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen ÇİD-TB izolatlarının ayrıntılı analizi sonucunda, Beijing (%39.9) izolatları ile Doğu Avrupa'nın yerli halkı (%40.7) arasında bir ilişkinin olduğu vurgulanmıştır⁽³⁾. Yurt dışında yapılan çalışmaların aksine bizim çalışmamızda en sık T ailesi (%46.6) daha sonra ise Haarlem (%15.5) ve TUR (%12.6) aileleri tespit edilmiştir. Çalışmamızda LAM ailesi ise %3.9 oranı ile altıncı en sık tespit edilen aile olmuştur. Çalışmamızda tespit edilen dört (%3.9) Beijing izolatının birinde üçlü ilaç direnci, ikisinde ise tekli ilaç direnci tespit edilmiştir (Tablo 3). Bu dört hastadan ikisinin eski Sovyetler Birliği ülkelerinden oldukları belirlenmiştir.

Karagöz ve ark.⁽¹⁸⁾ tarafından 2020 yılında Sivas ve Konya illerinde yapılan bir çalışmada, 200 MTK izolatının 86 (%43.0)'ünün T, 52 (%26.0)'ünün ise Latin Amerika-Akdeniz (LAM) ailesinden olduğunu, ayrıca 16 (%8.0) izolatın Haarlem, 24 (%12.0) izolatın X ve S ailelerinden, 12 (%6.0) izolatın Beijing ve 10 (%5.0) izolatın da U ailesine ait olduğunu bildirmişlerdir. Spoligotiplleme sonuçlarına göre, Türkiye'de heterojen bir *M. tuberculosis* popülasyonunun bulunduğunu; MIRU-VNTR verilerine göre ise Türkiye'de ÇİD *M. tuberculosis* izolatları arasında gözlenen çapraz kontaminasyonun kontrol edilebilir olduğunu belirtmişlerdir⁽¹⁸⁾.

Oral Zeytinli ve ark.⁽¹⁹⁾ Çukurova bölgesinde 467 MTK izolatını dâhil ettikleri çalışma sonucunda, T1 (%51.9) ailesinin en yaygın, LAM7 TUR (%11.5) ailesinin ise ikinci en yaygın görünen aile olduğu vurgulanmıştır. 103 MTK izolatını dâhil ettiğimiz bu çalışmada, izolatların 10 küme içerisinde dağıldığı ve T (%46.6) ailesinin en yaygın kümeyi oluşturduğu, Haarlem (%15.5) ailesinin ise ikinci sırada yer aldığı görülmüştür. Oral Zeytinli ve ark.⁽¹⁹⁾ çalışmalarındaki sonuçlara göre Mersin'de sadece T1 ve LAM7 TUR ailelerinin tespit edilmesine rağmen, yaptığımız bu çalışmada değişen sayılarda olmak üzere Haarlem, TUR, S, Beijing, LAM, Bovis, NEW-1, Delhi/CAS ve H37Rv ailelerinin varlığı da gösterilmiştir.

Türkiye'nin farklı TB laboratuvarlarından gönderilen 63 ÇİD-TB'li izolatın ikinci seçenek anti-TB ilaç duyarlılıkları ve bu izolatların moleküler epidemiyolojik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada IS6110-RFLP ve spoligotiplleme yöntemleri kullanılmıştır. Spoligotiplendirme sonuçlarına göre, beş küme oluşturan 52 izolattan 42'sinin önceden tanımlanmış spoligotipler (LAM7-TUR, LAM9, T) olduğu ifade edilmiştir. 10 izolatın U spoligotip ailesinin özelliklerini gösterdiği, 11 farklı patern oluşturan 11 izolattan sekizinin Haarlem ve T ailesi, ikisinin Orphan, birinin BOV ailesine ait özellikler taşıdığının tespit edildiği vurgulanmıştır. Çalışma sonucunda LAM7-TUR, LAM9 ve T ailelerinin ülkemizde ve dünyada en yaygın olan aileler olduğu belirtilmiştir⁽²⁰⁾. Bizim çalışmamızda ise sırasıyla T, Haarlem ve TUR aileleri en yaygın aileler olarak bulunmuştur.

Ege bölgesinde 470 *M. tuberculosis* izolatının dâhil edildiği bir çalışmada, izolatların 132 değişik spoligopaternaları gösterdiği ve 384 izolatın 46 değişik kümede dağıldığı belirtilmiştir. Çalışma sonucunda en baskın spoligotiplerin ST53 (n=116; %24.7) ve ST41 (n=38; %8,1) olduğu ve bunu sırasıyla ST50 (%5.7), ST284 (%4.7) ve ST4 (%4.3)'ün izlediği vurgulanmıştır. En baskın spoligotipin T ailesi (n=219; %46.6) olduğu, bunu Haarlem (n=75; %16), LAM (n=58; %12.3), bilinmeyen (n=30; %6.4), S (n=14; %3), Beijing (n=11; %2.3), CAS (n=4; %0.9) ve X (n=4; %0.9) ailelerinin izlediği ifade edilmiştir. Altısı ST1 olmak üzere 12 izolatın ÇİD-TB'li olduğu bildirilmiştir. Artan eğilimi ile ST284 (T1)'ün bu bölgede ilerleyen yıllarda ST41 (LAM7-TUR)'in yerini alabileceği vurgulanmıştır. Çalışmaya dâhil edilen 288 (%68.7) izolatın akciğer TB'li hastalara ait olup bu izolatlarda en sık görülen ailelerin sırasıyla T1 (n=69), LAM7-TUR (n=20) ve Haarlem (H3, n=20) ailelerinin, 131 (%31.3) izolatın ise akciğer dışı TB'li hastalara ait olup bu izolatlarda en sık görülen ailelerin sırasıyla T1 (n=36), LAM7-TUR (n=9) ve Haarlem (H1, n=6) ailelerinin olduğu belirtilmiştir⁽²¹⁾. Bizim çalışmamıza dâhil edilen 91 akciğer TB hastasına ait izolatlarda en sık görülen ailelerin T (n=41), Haarlem (n=16) ve TUR (n=11) aileleri; 12 akciğer dışı TB hastasına ait izolatlarda ise T (n=7), TUR (n=2) ve S (n=2) ailelerinin olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da en baskın

görülen spoligotip ailesi %51.1 oranı ile SIT53 (n=24) olarak bulunmuş, bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda ikinci sırada %31.9 ile SIT284 (n=15) ailesinin geldiği belirlenmiştir. Yine bu çalışmaya benzer olarak bizim çalışmamızda da en baskın olarak T ailesinin (n=48, %46.6) daha sonra da Haarlem ailesinin (n=16, %15.5) geldiği tespit edilmiştir.

Otlu ve ark.⁽²²⁾ 2009'da yaptıkları çalışmada toplam 220 *M. tuberculosis* izolatının spoligotipleme ile tiplendirildiği ve çalışma sonucuna göre, ST küme dağılımına bakıldığında en fazla ST53 (T1; n=55, %25), ST41 (LAM7-TUR; n=19, %8.6) ve ST284 (T1; n=15, %6.8) kümelerinin olduğu belirtilmiştir. En sık görülen ailelerin sırasıyla T (n=112, %50.9); Latin-Amerikan-Akdeniz (LAM; n=33, %15); Haarlem (n=24, %10.9) ve S (n=9, %4.1) ailelerinin olduğu, Beijing ailesinde ise üç izolatın bulunduğu ifade edilmiştir. Malatya'daki *M. tuberculosis* izolatlarının, hem dünya çapında yaygın bir dağılım gösteren ST'lere, hem de bu şehirle sınırlı olan ST'lere sahip olduğu ve bu sonuçların da TB'nin oldukça çeşitli genotip dağılımını doğruladığı vurgulanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, ÇİD-TB ve isoniazid direnci olan izolatlar arasında daha yaygın olan Beijing ailesinin Doğu Türkiye'de bir sorun olmadığını bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışma sonucunda en fazla SIT53 (T1, n=24, %51.1) kümesinin tespit edilmesine karşılık ikinci sırada SIT284 (T1, n=15, %31.9) kümesi tespit edilmiş, 12 (%11.6) izolatın ise SIT41 (TUR) kümesinde olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda T ailesini (%46.6) Haarlem ailesi (%15.5) takip etmekte, LAM ailesi (%3.9) ise altıncı sırada gelmektedir (Tablo 2). Yaptığımız çalışmada bölgemizde Beijing ailesinin varlığı gösterilmiş ve dört Beijing izolatından birinde üçlü ilaç direnci, bir tanesinde ise tek ilaca direnç tespit edilmiştir (Tablo 3).

Ülkemizde bu konu ile ilgili değişik tarihlerde yapılan çalışmalarda bakıldığında SIT53 kümesinin %27.2-16.3⁽²³⁻²⁶⁾ arasında değişen oranlarda tespit edildiği belirtilmektedir. Bu çalışmaların ikisinde SIT53 kümesinin en yaygın küme olduğu ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızda da SIT53 kümesi %51.1 ile en yaygın küme olarak tespit edilmiştir (Tablo 2).

Yine ülkemizde yapılan çalışmalara baktığımızda SIT41 kümesi %23.9-7.9⁽²³⁻²⁸⁾ arasında değişen oranlarda saptanmıştır. SIT41 kümesinin üç çalışmada en yaygın, iki çalışmada ise ikinci sıklıkla tespit edilen küme olduğu vurgulanmıştır. Yaptığımız çalışmada ise SIT41 kümesi %11.6 oranında tespit edilmiş ve bu oran ile üçüncü en sık küme olarak bulunmuştur. Yapılan bu çalışmalarda Haarlem ailesi üçüncü ve dördüncü en sık tespit edilen aile olarak bildirilirken⁽²³⁻²⁸⁾, bizim çalışmamızda ise bu aile ikinci en sık tespit edilen aile olmuştur (Tablo 2).

Köksalan ve ark.⁽²⁹⁾ Beijing ailesinin İstanbul'daki prevalansını belirlemek için 4069 *M. tuberculosis* izolatını dâhil ettikleri çalışmalarında spoligotiplendirme yöntemi ile 46 (yaklaşık %1.13) Beijing izolatının saptandığını belirtmişlerdir. Yapılan çalışma ile bu izolatların eski Sovyetler Birliği ülkelerinden taşındığını göstermişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada, daha önce yapılan çalışmalarda özellikle ÇİD-TB ile ilişkili olduğu bildirilen Beijing ailesinin varlığı ilimizde belirlenmiştir. Dört Beijing izolatında SM direnci iki izolatta, SM+INH+RIF direnci ise bir izolatta görülmüştür (Tablo 3). Bu dört izolata ait hastaların uyruklarına baktığımızda birinin Kırgızistan diğeri ise Rusya vatandaşı olduğu, diğer iki hastanın ise Türk vatandaşı olduğu belirlenmiştir.

İlimizde yapılan bu çalışma sonucunda, ülkemizde yapılan diğer çalışma sonuçlarına benzer şekilde en yaygın görülen ailenin %46.6 oranıyla T ailesi olduğu, T ailesinin T1 (n=47, %98) ve T4 (n=1, %2) olmak üzere 2 farklı spoligotip paterni gösterdiği belirlenmiştir. MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemlerinin kombinasyonu ile *M. tuberculosis*'in, moleküler epidemiyolojik çalışmaların yapıldığı bölgedeki hareketliliğinin izlenmesi ile o bölgedeki popülasyonda TB'nin kontrolünde ve eliminasyonunda yararlı olacağı düşünülmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Mersin Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurul tarafından (04.09.2019 tarih ve 2019/355 karar numarası) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Mersin University, Clinical Research Ethics Committee (04.09.2019; 2019/355).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Sia JK, Rengarajan J. Immunology of *Mycobacterium tuberculosis* infections. *Microbiol Spectr*. 2019;7(4):7.4.6. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0022-2018>
2. World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. [<https://www.who.int/publications/item/9789240037021>] (Erişim tarihi: 10/04/2022).
3. Vluggen C, Soetaert K, Groenen G, et al. Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* complex in Brussels 2010-2013. *PLoS One*. 2017;12(2):e0172554. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172554>
4. Ei PW, Aung WW, Lee JS, Choi GE, Chang CL. Molecular strain typing of *Mycobacterium tuberculosis*: a review of frequently used methods. *J Korean Med Sci*. 2016;31(11):1673-83. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.11.1673>
5. Chemed A, Mihret A, Abebe T, Worku A, Ameni G. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from pulmonary tuberculosis patients among people living with HIV in Addis Ababa: Cross-sectional study. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*. 2018;19(12):34-7. <https://doi.org/10.1016/j.jctube.2018.06.004>
6. Zeng X, Li H, Zheng R, et al. Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates by use of ligation-based amplification and melting curve analysis. *J Clin Microbiol*. 2016;54(9):2384-87. <https://doi.org/10.1128/JCM.00857-16>
7. National TB Controllers Association / CDC Advisory Group on Tuberculosis Genotyping. Guide to the application of genotyping to tuberculosis prevention and control. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC; June 2004. [https://www.cdc.gov/tb/programs/genotyping/images/tbgenotypingguide_june2004.pdf] (Erişim tarihi: 20/04/2022).
8. Kremer K, Bunschoten A, Schouls L, Soolingen VD, Embden VJ. "Spoligotyping" a PCR-based method to simultaneously detect and type *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands Version November 2002. [<https://www.rivm.nl/sites/default/files/2018-11/protocol%20spoligotyping.pdf>] (Erişim tarihi: 22/03/2022).
9. Supply P, Allix C, Lesjean S, et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*. 2006;44(12):4498-510. <https://doi.org/10.1128/JCM.01392-06>
10. Mousavi SMJ, Amini S, Mirsaedi M, et al. Genotyping and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in Iran: a multi-centre study. *New Microbes New Infect*. 2020;37:100729. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100729>
11. Stavrum R, Mphahlele M, Ovreås K, et al. High diversity of *Mycobacterium tuberculosis* genotypes in South Africa and preponderance of mixed infections among ST53 isolates. *J Clin Microbiol*. 2009;47(6):1848-56. <https://doi.org/10.1128/JCM.02167-08>
12. Ravansalar H, Tadayon K, Ghazvini K. Molecular typing methods used in studies of *Mycobacterium tuberculosis* in Iran: a systematic review. *Iran J Microbiol* 2016;8(5):338-46.
13. Thain N, Le C, Crossa A, et al. Towards better prediction of *Mycobacterium tuberculosis* lineages from MIRU-VNTR data. *Infect Genet Evol*. 2019;72:59-66. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.06.029>
14. Oudghiri A, Momen G, Aainouss A, et al. Genotypic diversity of multi-and pre-extremely drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Morocco. *PLoS One*. 2021;16(7):e0253826. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253826>
15. Kochkaksaraei MB, Kaboosi H, Ghaemi EA. Genetic variation of the *Mycobacterium tuberculosis* in north of Iran; the Golestan Province. *Iran Red Crescent Med J*. 2019;21(8):e91553. <https://doi.org/10.5812/ircmj.91553>
16. Puerto D, Erazo L, Zabaleta A, Murcia MI, Llerena C, Puerto G. Characterization of clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from indigenous peoples of Colombia. *Biomedica*. 2019;39(Supl.2):78-92. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i3.4318>
17. Li B, Wang Z, Ma Y, et al. Molecular typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Qinghai Province of Northwest China by spoligotyping and 15-locus MIRU-VNTR. *J Microbiol Biotechnol Rep*. 2018;2(1):1-4.
18. Karagoz A, Tutun H, Altintas L, Alanbayi U, Yildirim D, Kocak N. Molecular typing of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Turkey. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;23:130-4. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.08.012>

19. Oral Zeytinli Ü, Köksal F. Çukurova Bölgesinde akciğer tüberkülozlu hastalardan izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının spoligotiplendirme ve MIRU-VNTR yöntemiyle tiplendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2012;46(2):202-10.
20. Tarhan G, Ceylan İ, Durmaz R, Cesur S. The evaluation of second line drug susceptibilities and molecular epidemiological profiles of multidrug resistance *Mycobacterium tuberculosis* isolates isolated from different region of Turkey. Anatolian Curr Med J. 2022;4(1):81-8.
<https://doi.org/10.38053/acmj.1018648>
21. Çavuşoğlu C, Yılmaz FF, Onmuş İRD, Bozdemir T, Taşlı H, Limoncu MH. Genotype distribution of *Mycobacterium tuberculosis* in the Aegean Region and associated demographic factors. Turk J Med Sci. 2017;47(5):1593-601.
<https://doi.org/10.3906/sag-1607-115>
22. Otlu B, Durmaz R, Günel S, Sola C, Zozio T, Rastogi, N. Beijing/W and major spoligotype families of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from tuberculosis patients in Eastern Turkey. New Microbiol. 2009;32(3):255-63.
23. Aktaş E, Zozio T, Cömert FB, et al. A first insight into the genetic diversity and population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Zonguldak, Turkey. Clin Microbiol Infect. 2008;14(1):55-9.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01882.x>
24. Kisa O, Albay A, Baylan O, Tozkoparan E, Acikel CH, Doganci L. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates at the Military Medical Academy in Ankara, Turkey. Res Microbiol. 2007;158(4):318-23.
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2007.01.004>
25. Zozio T, Allix C, Gunal S, et al. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in two cities of Turkey: description of a new family of genotypes that is phylogeographically specific for Asia Minor. BMC Microbiol. 2005;5:44.
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-5-44>
26. Durmaz R, Zozio T, Gunal S. Genetic diversity and major spoligotype families of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from different regions of Turkey. Infect Genet Evol. 2007;7(4):513-9.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2007.03.003>
27. Durmaz R, Zozio T, Gunal S, Allix C, Fauville-Dufaux M, Rastogi N. Population-based molecular epidemiological study of tuberculosis in Malatya, Turkey. J Clin Microbiol. 2007;45(12):4027-35.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01308-07>
28. Sürücüoğlu S, Günel S, Özkütük N. Molecular diversity of drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in Western Turkey. Balkan Med J. 2012;29(2):160-5.
<https://doi.org/10.5152/balkanmedj.2012.012>
29. Koksalan OK, Kilicaslan Z, Zanlier G, Guzel R, Seber E. Prevalence of Beijing genotype *Mycobacterium tuberculosis* strains in Istanbul. Int J Tuberc Lung Dis. 2006;10(4):469-72.

Ankara Bölgesindeki Hepatit Delta Virüs Seroprevalansının Retrospektif Değerlendirilmesi[§]

Retrospective Evaluation of Hepatitis Delta Virus Seroprevalence in Ankara Region

Fusun Kırca[®], Sibel Aydoğan[®], Firdevs Güvenç[®], Ezgi Güler[®], Emrah Salman[®], Bedia Dinç[®]

Ankara Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Atıf/Cite as: Kırca F, Aydoğan S, Güvenç F, Güler E, Salman E, Dinç B. Ankara bölgesindeki hepatit delta virüs seroprevalansının retrospektif değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):93-98.

Öz

Amaç: Hepatit delta virüsü, hepatit B virüsü varlığında enfeksiyon yapabilen defektif bir RNA virüsüdür. Bu virüs, yakın zamanda Kolmioviridae ailesi içinde yeniden sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada, Ankara bölgesinde HBsAg pozitif hastalarda hepatit delta virüs seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya Ankara Şehir Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Gastroenteroloji polikliniklerine Şubat 2019-Eylül 2022 tarihleri arasında başvuran ve anti-HDV çalışmak üzere Mikrobiyoloji Laboratuvarına kan örneği gönderilen toplam 6817 HBsAg pozitif hasta retrospektif olarak dâhil edilmiştir. Hastaların demografik verileri ve hepatit B serolojik belirteçleri (HBsAg, anti-HBc IgM) hastane bilgi sisteminden alınarak analiz edilmiştir. HBsAg, anti-HBc IgM testleri kemilüminesans yöntemi ile ve anti-HDV total mikro-ELISA yöntemi ile, üretici firmaların talimatlarına uygun olarak çalışılmıştır. HDV RNA testi ise plazma örneklerinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Hepatit B enfeksiyonu olan hastaların 186'sında (%2.7) anti-HDV total pozitif bulunmuştur. Bu hastaların 108'inde polimeraz zincir reaksiyonu çalışılmış ve HDV RNA 54 hastada pozitif saptanmıştır. HDV RNA ve anti-HDV total, birlikte 54 hastada pozitif bulunmuştur.

Sonuç: Ankara merkezli çalışmamızda hepatit delta virüs seroprevalansı %2.7 bulunmuştur. Delta hepatitinin morbidite ve mortalitesi göz önüne alındığında, HBsAg pozitif bulunan tüm hastalara klinik durumuna bakılmaksızın refleks test olarak anti-HDV çalışılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Hepatit Delta Virüs, Anti-HDV, Delta Hepatiti, Hepatit B Virüs

ABSTRACT

Objective: Hepatitis delta virus is a defective RNA virus that can cause infection in the presence of hepatitis B. This virus has recently been reclassified into Kolmioviridae family. In this study, it was aimed to investigate the seroprevalence of hepatitis delta virus in HBsAg positive patients in Ankara region.

Methods: A total of 6817 HBsAg positive patients who applied to Infectious Diseases and Gastroenterology clinics between February 2019 and September 2022 and whose blood samples were sent to Microbiology Laboratory for anti-HDV study were retrospectively included in this study. The demographic data and hepatitis B serological markers (HBsAg, anti-HBc IgM) were obtained from the hospital information system. HBsAg and anti-HBc IgM tests were studied by the chemiluminescence method, and anti-HDV total test by the micro-ELISA method, in accordance with the manufacturer's instructions. HDV RNA was analyzed by real-time PCR.

Results: Total Anti-HDV was positive in 186 (2.7%) patients with hepatitis B infection. PCR was studied in 108 patients and HDV RNA was positive in 54 patients. HDV RNA and anti-HDV total together were positive in 54 patients.

Conclusion: In our Ankara-based study, the seroprevalence of hepatitis delta virus was found to be 2.7%. Considering the morbidity and mortality of delta hepatitis, all patients with positive HBsAg should be tested for anti-HDV as a reflex test, regardless of the clinical status of patients.

Keywords: Hepatitis Delta Virus, Anti-HDV, Delta Hepatitis, Hepatitis B Virus

Alındığı tarih / Received:

20.10.2022 / 20.October.2022

Kabul tarihi / Accepted:

12.02.2023 / 12.February.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

F. Kırca 0000-0003-0959-9091
S. Aydoğan 0000-0001-8820-032X
F. Güvenç 0000-0002-3522-3293
E. Güler 0000-0002-3317-4096
E. Salman 0000-0002-5293-0803
B. Dinç 0000-0001-8318-2556

[§]Bu çalışma, XL. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (16-20 Kasım 2022, Belek, Antalya) poster olarak sunulmuştur.

✉ fnddmr@gmail.com

GİRİŞ

Hepatit delta virüsü (HDV), 1977’de Rizetto ve ark.⁽¹⁾ tarafından ağır hepatit B enfeksiyonu olan hastaların karaciğerinde yeni bir antijenin görülmesiyle keşfedilmiştir. Bu antijen, ağır hastalık formunun bir belirtici olan hepatit B virüsü (HBV) proteini olarak kabul edilmiştir. Başlangıçta deltavirüs (Deltaviridae ailesi) cinsinin tek üyesi olarak adlandırılmışken yakın zamanda diğer HDV benzeri virüslerle birlikte Kolmioviridae ailesinde yeniden sınıflandırılmıştır^(1,2). HDV genomu, HBsAg ile kaplanmış bir partikül içinde yaklaşık 1700 nükleotitten oluşan dairesel, tek iplikli RNA’dan oluşur ve replikasyon için HBV’nin yüzey antijenine ihtiyaç duyar⁽³⁾. Her iki virüs de karaciğer hücrelerine girişte hücre reseptörü “sodyum taurokolat kotransporting polipeptidine”ne bağlanmak için HBV zarf proteinlerini kullanır⁽⁴⁾. HDV de HBV gibi en sık parenteral yoldan bulaşır. Daha az sıklıkla, horizontal, vertikal ve nadiren de cinsel yolla bulaşma olmaktadır⁽⁵⁾. HDV süperenfeksiyon veya koenfeksiyon olarak iki klinik formda görülür. Koenfeksiyonda HBV ve HDV kişide eş zamanlı olarak akut enfeksiyon oluşturur. Olguların %95’inde spontan iyileşme görülür. Süperenfeksiyon, önceden enfekte olmuş HBsAg-pozitif kişide gelişen HDV enfeksiyonudur. Fulminan hepatite neden olabilir ve kronikleşme oranı %80’in üzerindedir^(6,7). Kronik HDV enfeksiyonu siroz ve hepatoselüler karsinom gelişimi riskini artırmaktadır. HDV tanısında ilk adım, HBsAg pozitif bireylerde hepatit delta antijenine (HDAg) karşı antikorların (anti-HDV) taranmasıdır. Anti-HDV reaktif olan hastalarda bir sonraki adım aktif enfeksiyonu gösteren HDV RNA çalışmasıdır⁽⁷⁾. Yapılan araştırmalara göre, HBsAg-pozitif kişiler arasında anti-HDV prevalansının tüm dünyada %4.5 olduğu; genel dünya nüfusunun %0.16’sının; yani toplam 12 milyon insanın HDV antikorunun pozitif olduğu tahmin edilmektedir⁽⁸⁾. Türkiye, orta endemik bölgeler arasında yer almakta ve bölgelere göre değişen HDV prevalansı saptanmaktadır. Türkiye genelinde son yıllarda delta hepatitinde azalma olmakla birlikte, doğu bölgelerimizde delta hepatiti hâlâ önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir⁽⁹⁾. Bu çalışmada, metropol bir şehir olan iç ve dış göç alan Ankara bölgesinde HBsAg pozitif hastalarda, HDV seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ankara Şehir Hastanesi, 2 No.lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (12.10.2022 tarih ve E2-22-2598 karar numarası) onaylanmıştır.

Çalışmaya Ankara Şehir Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Gastroenteroloji polikliniklerine Şubat 2019-Eylül 2022 tarihleri arasında başvuran ve anti-HDV çalışılmak üzere Mikrobiyoloji Laboratuvarına kan örneği gönderilen toplam 6817 HBsAg pozitif hasta retrospektif olarak dâhil edilmiştir. Hastaların eş zamanlı incelenen hepatit B serolojik belirteçleri (HBsAg, anti-HBc IgM) ve demografik verileri hastane bilgi sisteminden alınarak analiz edilmiştir.

HBsAg, anti-HBc IgM testleri Atellica®IM Analyzer (Siemens, Almanya) cihazında kemilüminesans yöntemi ile; Anti-HDV total (IgM+IgG) ELISA cihazında (Triturus, Grifols, İtalya) HDV antikor kiti ile (Dia.Pro Diagnostic, İtalya) üretici firmaların talimatlarına uygun olarak çalışılmıştır. HDV RNA Real-TM Quant (Sacace Biotechnologies, İtalya) kiti kullanılarak RotorgeneQ (Qiagen, Almanya) cihazında gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile (lineer aralık 30-10⁸ kopya/ml) analiz edilmiştir.

BULGULAR

Hastanemize başvuran 6817 hastanın 186’sında (%2.7) anti-HDV total pozitif bulunmuştur. Bu hastaların 108’inde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu çalışılmış ve HDV RNA 54 hastada pozitif saptanmıştır. HDV RNA ve anti-HDV total birlikte 54 hastada pozitifken 54 hastada HDV RNA negatif fakat anti-HDV total pozitif bulunmuştur.

HDV RNA düzeyleri hastaların altısında 10¹ kopya/ml, onunda 10² kopya/ml, 16’sında 10³ kopya/ml, yedisinde 10⁴ kopya/ml, 11’inde 10⁵ kopya/ml, üçünde 10⁶ kopya/ml ve birinde 10⁷ kopya/ml olarak tespit edilmiştir. Hastaların %53’ü erkek, %47’si kadın ve yaş aralığı 22-89 olup, ortalama yaş 52.5 olarak bulunmuştur. HDV pozitif hastaların yaş grubunda dağılımı; 20-30 yaşta %7, 31-40 yaşta %13, 41-50 yaşta %23, 51-60 yaşta %26, 61-70 yaşta %24, 71 ve üzeri yaşta

%7 olarak saptanmıştır. Hastaların %8.6'sı yabancı uyrukludur. HBsAg, karaciğer transplantasyonu olan üç hasta dışında hepsinde pozitif bulunmuştur. Anti-HDV total pozitifliği saptanan hastaların %75'inin kronik viral hepatit, %5'inin HBV taşıyıcısı, %8'inin karaciğer sirozu, %5'inin hepatoselüler karsinom (HCC) tanılı olduğu, %6'sına ise karaciğer nakli yapıldığı belirlenmiştir. Hastaların tümünde anti-HBc IgM negatif bulunmuştur.

TARTIŞMA

Kronik delta hepatiti, viral hepatitlerin en şiddetli formu olup, siroz ve hepatoselüler karsinom gelişimini hızlandırmaktadır⁽¹⁰⁾. Yapılan klinik çalışmalar, HDV enfeksiyonundan 5-10 yıl sonra vakaların yaklaşık %70'inde karaciğer sirozu geliştiğini bildirmişlerdir⁽³⁾.

HDV tüm dünyada görülmekle beraber Güney Avrupa, Balkanlar, Ortadoğu ve Kuzey Afrika'da endemiktir. Dünya genelinde HDV endemisite haritaları, HBV taşıyıcılığı ve kronik HBV enfeksiyonuna göre sınıflandırılarak çok düşük, düşük, orta ve yüksek olarak dört gruba ayrılmıştır. Bu haritalamaya göre, asemptomatik HBV taşıyıcılarında %10-19 ve kronik hepatit B hastalarında %30-60 HDV pozitiflik oranı orta endemisite olarak sınıflandırılmaktadır. Buna göre, Türkiye orta endemisite alanında sayılmaktadır⁽¹¹⁾.

Ülkemizde anti-HDV pozitiflik oranları bölgesel farklılıklar göstermektedir. Değertekin ve ark.⁽¹²⁾ 1980-2005 yılları arasında ülkemizdeki genel anti-HDV seroprevalansını kronik hepatit B (KHB)'li hastalarda %20 oranında tespit etmişlerdir. Ancak bölgeler arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermişlerdir. Buna göre, KHB hastalarında anti-HDV oranlarını İstanbul (%16.5) ve İzmir (%14) gibi Batı Anadolu illerinde birbirine yakın ve ülke ortalamasının altında tespit ederken Orta Anadolu ili olan Ankara'da %28, Doğu illerimizden Van'da %33.3 ve Diyarbakır'da %38 olarak Türkiye ortalamasının üzerinde bulmuşlardır. KHB hastalarında 1980'lerde %31 olan prevalans tüm bölgelerde azalarak 2005'de %11'e düşmüştür. Ülke genelinde HDV enfeksiyonunun azaldığı ancak özellikle Doğu bölgesindeki illerimizde ciddi bir sorun olmaya devam ettiğini bildirmişlerdir⁽¹²⁾.

Tablo 1. Türkiye'deki bölgesel HDV prevalans araştırmaları

Bölge	Yıl	Araştırmacı	Hasta sayısı	Anti HDV (%)
Batı Anadolu				
Afyon	2009	Demirdal ve ark. ⁽²¹⁾	251	2.9
İzmir	2012	Köse ve ark. ⁽²²⁾	3094	2.5
İstanbul	2013	İnci ve ark. ⁽²³⁾	1339	3.4
İzmir	2014	Uzun ve ark. ⁽²⁴⁾	88	3.4
İstanbul	2019	Yolcu ve ark. ⁽²⁵⁾	2089	4.1
İzmir	2019	Kaya ve ark. ⁽²⁶⁾	3257	5.2
Sakarya	2019	Aydemir ve ark. ⁽²⁷⁾	740	1.4
İstanbul	2020	Ergen ve ark. ⁽²⁸⁾	2548	2.9
İstanbul	2021	Ziver Sarp ve ark. ⁽¹⁰⁾	1374	7.9
Edirne	2022	Eryıldız ve ark. ⁽⁶⁾	1831	3.6
Orta Anadolu				
Ankara	2006	İskender ve ark. ⁽¹⁵⁾	86	2.3
Ankara	2012	Altınbaş ve ark. ⁽¹⁶⁾	348	2
Ankara	2013	Gürkan ve ark. ⁽¹⁷⁾	2119	4.2
Eskişehir	2014	Korkmaz ve ark. ⁽¹⁸⁾	547	0.9
Samsun	2014	Karadağ ve ark. ⁽¹⁹⁾	2314	1.56
Konya	2021	Kepenek Kurt ve ark. ⁽²⁰⁾	1829	1.53
Ankara	2022	Bu çalışma	6817	2.7
Doğu Anadolu				
Diyarbakır	2006	Celen ve ark. ⁽²⁹⁾	88	27.5
Van	2006	Güdücüoğlu ve ark. ⁽³⁰⁾	184	19.5
Van	2009	Kurtoğlu ve ark. ⁽³¹⁾	955	5.8
Elazığ	2011	Bahçecioğlu ve ark. ⁽³²⁾	282	45.5
Malatya	2013	Duman ve ark. ⁽³³⁾	2093	15
Van	2012	Berktaş ve ark. ⁽³⁴⁾	145	10.3
Adıyaman	2013	Kölgelir ve ark. ⁽³⁵⁾	462	3.2
Ağrı	2013	Doğan ve ark. ⁽³⁶⁾	787	9.7
Erzurum	2015	Parlak ve ark. ⁽³⁷⁾	1556	4.05
Elazığ	2018	Şahin ve ark. ⁽³⁸⁾	554	9.6
Elazığ	2019	Eser Karlıdağ ⁽⁵⁾	455	8.8
Siirt	2021	Bal ⁽³⁹⁾	462	27.8
Diyarbakır	2022	Bekçibaşı ve ark. ⁽⁴⁰⁾	306	14.1

Tözün ve ark.⁽¹³⁾ 2015 yılında ülke genelini kapsayan (TURHEP) çalışmalarında, HBsAg pozitif hastalarda anti-HDV'yi %2.7 olarak tespit etmişlerdir. Ülkemizde

2006-2022 yılları arasında yapılan bölgesel HDV prevalans araştırmaları Tablo 1’de sunulmuştur.

Son 20 yılda, HDV enfeksiyonu prevalansı başta İtalya, İspanya, Tayvan ve Türkiye gibi dünyanın bazı bölgelerinde önemli ölçüde azalmıştır. Bu azalmanın nedenleri arasında tek kullanımlık enjektörlere geçiş, HBV’ye karşı yürütülen aşı kampanyaları, kan ve kan ürünleri ile hamile kadınların sistematik taranması, sağlık çalışanlarına yönelik kan yoluyla bulaşan enfeksiyonlara karşı güvenlik prosedürlerinin uygulanması, sosyoekonomik koşulların iyileşmesi ve toplumun cinsel yolla bulaşan etkenler konusunda artan farkındalığı sayılabilir⁽¹⁴⁾.

Orta Anadolu bölgesi, Ankara merkezli araştırmalar; HDV prevalansını 1995-2005 yılları arasında %28, 2006 yılında %2.3, 2012 yılında %2, 2013 yılında %4.2 oranlarında tespit etmişlerdir^(12,15-17). Bizim çalışmamızda, HBsAg pozitif hastalarda %2.7 oranında anti-HDV pozitif bulunmuştur. Bu prevalans değeri, Değertekin ve ark.’nın⁽¹²⁾ bildirdiği %28 oranına göre ciddi bir azalmaya işaret etmekle beraber, son üç çalışma ile karşılaştırıldığında ise HDV prevalansının Ankara’da sabit kaldığını göstermektedir. Hastalığın bölgemizde düşük bir oranda da olsa halen görülmesinin başlıca nedenleri olarak Ankara’nın son yıllarda iç ve dış göç alan kozmopolit bir başkent olması, damar içi madde bağımlılığı veya dövme gibi alışkanlıklarda artış olasılığı gösterilebilir. HDV seropozitifliğinin en fazla kümelenildiği yaş grubu %26 oranı ile 51-60 yaş grubu bulunmuştur. HBV aşısı, ülkemizde çocuklarda rutin aşı programına 1998 yılında dâhil olmuştur. Çalışmamızda, HDV seropozitif grupta en küçük hasta yaşı 22 olup, daha küçük yaşta hastanın olmayışı HBV aşısının hastalığı önlemedeki rolünün göstergesidir.

2009-2022 yıllarında Batı Anadolu Bölgesi merkezli çalışmaların sonuçları birbirine yakın bulunmakla birlikte, 2021 yılında Ziver Sarp ve ark.’ları⁽¹⁰⁾ İstanbul’da anti-HDV prevalansının az da olsa yükselme eğiliminde olduğunu tespit etmişlerdir^(6,21-28).

Doğu Anadolu Bölgesinde 2006-2021 yıllarında yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu değerin %3.2-

%45.5 gibi geniş bir aralıkta olduğu; bununla birlikte, son çalışma verilerine göre doğu bölgelerimizde HDV’nin halen büyük bir sağlık sorunu olmaya devam ettiği anlaşılmaktadır^(5,29-40). Ailelerin zorlu iklim ve coğrafi koşullar gibi nedenlerle aşı konusunda gereken hassasiyeti gösterememesi, kalabalık aile yapısı nedeniyle aile içi bulaş, düşük sosyoekonomik düzey, bölgenin dış göç alması HDV prevalansının yüksek seyretmesinin nedenleri arasında olabilir.

HDV enfeksiyonunun hızlı laboratuvar tanısı, hastalığın teşhisi, izlenmesi ve yayılmasını kontrol etmek için büyük önem taşımaktadır. Hastalığın morbidite ve mortalitesi göz önüne alındığında klinik durumundan bağımsız olarak HBsAg pozitif bulunan tüm kişilere refleks test olarak anti-HDV bakılmalıdır⁽³⁾. Hastalığın tanısında ilk adım anti-HDV testidir; pozitif bulunan hastalarda bir sonraki adım moleküler yöntemlerle replikasyonu gösteren HDV RNA çalışmasıdır⁽⁷⁾. HDV-RNA, HDV prevalansının doğru belirlenmesinde önemli bir parametredir çünkü anti-HDV antikorları enfeksiyonun pencere döneminde saptanamayabilir⁽²⁵⁾. Bu çalışmada, eş zamanlı HDV RNA ve anti-HDV istenen hastalar incelendiğinde aktif enfeksiyonu gösteren HDV RNA pozitif hastaların tamamında antikor da pozitif bulunmuştur. Kalan 54 hastada antikor pozitif olmasına rağmen HDV RNA negatif saptanmıştır. Koenfeksiyon ve süperenfeksiyon klinikleri birbirinden farklı değildir, ancak prognozları farklı olduğundan ayırt edilmeleri gerekir⁽¹¹⁾. Bu çalışmadaki tüm hastaların anti-HBc IgM testleri negatif olduğundan hastaların hepsi süperenfeksiyon olarak tanımlanmıştır.

Sonuç olarak, ülkelerdeki HDV prevalansının takip edilmesi, sağlık politikalarının belirlenmesi ve etkin müdahalelerin planlanması açısından önemlidir. Ankara merkezli geniş hasta gruplu bu çalışmamızda %2.7 oranında anti-HDV pozitif bulunmuştur. Delta hepatitinin morbidite ve mortalitesi göz önüne alındığında, HBsAg pozitif bulunan tüm hastalara klinik durumuna bakılmaksızın refleks test olarak anti-HDV çalışılmalıdır. Hastalıktan korunma için toplumun bilinçlendirilmesi, bulaşma yolları ile ilgili farkındalığın artırılması ve duyarlı bireylere aşı yapılması giderek artan sayıda iç ve dış göç alan ülkemiz için önem taşımaktadır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Ankara Şehir Hastanesi, 2 No.lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (12.10.2022 tarih ve E2-22-2598 karar numarası) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Ankara City Hospital, No.2 Clinical Research Ethics Committee (10.12.2022; E2-22-2598).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Rizzetto M. The adventure of delta. *Liver Int.* 2016;36(Suppl S1):135-40. <https://doi.org/10.1111/liv.13018>
2. Taylor JM. Infection by hepatitis delta virus. *Viruses.* 2020;12(6):648. <https://doi.org/10.3390/v12060648>
3. Caviglia GP, Ciancio A, Rizzetto M. A review of HDV infection. *Viruses.* 2022;14(8):1749. <https://doi.org/10.3390/v14081749>
4. Yan H, Zhong G, Xu G, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *eLife.* 2012;1:e00049. <https://doi.org/10.7554/eLife.00049>
5. Eser Karlıdağ GE. Prevalence of hepatitis delta in chronic Hepatitis B patients. *Klinik Derg.* 2019;32(3):281-4. <https://doi.org/10.5152/kd.2019.75>
6. Eryıldız C, Özgün E, Yuluğkural Z, Tezel A, Şakru N. HBsAg pozitif hastalarda hepatit delta virüsü seroprevalansının retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2022;52(3):232-9. <https://doi.org/10.54453/TMCD.2022.32448>
7. Botelho-Souza LF, Vasconcelos MPA, Dos Santos AO, Salcedo JMV, Vieira DS. Hepatitis Delta: Virological and clinical aspects. *Virology J.* 2017;14(1):177. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0845-y>
8. Stockdale AJ, Kreuels B, Henrion MYR, et al. The global prevalence of Hepatitis D virus infection: Systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2020;73(3):523-32. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.04.008>
9. T.C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye Viral Hepatit Önleme ve Kontrol Programı 2018-2023. Ankara; 2018:13. [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Bulasici-hastaliklar-db/duyurular/Turkiye_Viral_Hepatit_Onleme_ve_Kontrol_Programi/Turkiye_Viral_Hepatit_Onleme_ve_Kontrol_Programi_TR.pdf] (Erişim tarihi: 5.12.2022).
10. Ziver Sarp T, Dinç HÖ, Özbey D, et al. Hepatit Delta Virüsü enfeksiyonu seroprevalansının retrospektif olarak değerlendirilmesi. *CBU-SBED.* 2021;8(3):495-502. <https://doi.org/10.34087/cbusbed.901563>
11. Çelen MK, Kandemir Ö. Hepatit delta virüsü enfeksiyonunun epidemiyolojisi. Hepatit B'den D'ye Hep Güncel Klinik El Kitabı. İstanbul: Content Ed Net Türkiye; 2015:257-86. [https://www.vhsd.org/editor_files/Hepatit_B_D_Hep_Guncel/files/assets/common/downloads/publication.pdf] (Erişim tarihi: 1.10.2022).
12. Değertekin H, Yalçın K, Yakut M. The prevalence of Hepatitis Delta virus infection in acute and chronic liver diseases in Turkey: An analysis of clinical studies. *Türk J Gastroenterol.* 2006;17(1):25-34.
13. Tozun N, Ozdogan O, Cakaloglu Y, et al. Seroprevalence of Hepatitis B and C virus infections and risk factors in Turkey: A fieldwork. *TURHEP study. Clin Microbiol Infect.* 2015;21(11):1020-6. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.06.028>
14. Pascarella S, Negro F. Hepatitis D virus: An update. *Liver Int.* 2011;31(1):7-21. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2010.02320.x>
15. İskender G, Oğan MC, Sayılır K, et al. Hepatit B Virüsü enfeksiyonlu olgularda Anti-HDV Sıklığı. *Acta Oncologica Turcica.* 2006;39(1):99-100.
16. Altınbaş A, Yılmaz B, Ekiz F, Aktaş B, Çoban Ş, Başar Ö. HBsAg pozitif hastalarda delta hepatit seropozitiflik sıklığı. *Cumhuriyet Tıp Derg.* 2012;34(1):56-9. <https://doi.org/10.7197/1305-0028.1034>
17. Gürkan Y, Toyran A, Aksoy A, Coşkun FA, Çetin F. Evaluation of HBsAg and anti-HDV seroprevalance of patients who admitted to Ankara Numune Training and Research Hospital between 2010-2013. *Viral Hepatitis J.* 2013;19(3):148-51. <https://doi.org/10.4274/Vhd.08108>
18. Korkmaz P, Aykın N, Çağlan Çevik FC, Güldüren HM, Alpay Y. Seropositivity of delta hepatitis in HBsAg positive patients in Eskişehir province. *Viral Hepat J.* 2014;20(2):72-4. <https://doi.org/10.4274/vhd.47966>
19. Karadağ A, Yılmaz H, Gören I, Acuner İC, Eroğlu C, Günaydın M. Defining the delta virus positivity in Hepatitis B virus infections. *Viral Hepat J.* 2014;20(2):64-6. <https://doi.org/10.4274/vhd.63935>

20. Kepenek Kurt E, Bulut R, Kandemir B, Erayman İ, Bitirgen M, Taşbent FE. Investigating Hepatitis C, D and HIV prevalence in cases with positive Hepatitis B Virus antigen in a tertiary hospital and examining Anti-HDV positive cases. *Viral Hepat J.* 2021;27(1):31-5. <https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2020.2020.0014>
21. Demirdal T, Demirtürk N, Aşçı Z. Afyonkarahisar ilinde Hepatit Delta virüsü seroprevalansı. *Viral Hepat J.* 2009;14(3):104-7.
22. Köse S, Ece G, Gozaydin A, Turken M. Study on seroprevalence of Hepatitis Delta in a regional hospital in Western Turkey. *J Infect Dev Ctries.* 2012;6(11):782-5. <https://doi.org/10.3855/jidc.1749>
23. İnci A, Fincancı M, Müderrisoğlu C. Kronik Hepatit B'li olgularda anti hepatit delta virüs (anti HDV), anti hepatit C virus (anti-HCV) antikorları sıklığının araştırılması. *Istanbul Med J.* 2013;14:109-12. <https://doi.org/10.5152/imj.2013.30>
24. Uzun B, Şener AG, Güngör S, Afşar I, Demirci M. Evaluation of Hepatitis Delta virus (HDV) infection in blood donors in western Turkey. *Transfus Apher Sci.* 2014;50(3):388-91. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2014.03.005>
25. Yolcu A, Karabulut N, Alaçam S, et al. Frequency of hepatitis delta virus in hepatitis B surface antigen-positive patients. *Viral Hepat J.* 2019;25(1):14-8. <https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2018-0018>
26. Kaya S, Karabey M, Güngör S, Baran N, Şener AG, Afşar İ. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hepatit D virus seroloji sonuçlarının değerlendirilmesi. *J Immunol Clin Microbiol.* 2019;4(3):91-6.
27. Aydemir Ö, Terzi HA, Karakeçe E, Köroğlu M, Altındış M. Hepatit B virüsü ile infekte hastalarda delta hepatit pozitifliği: Koinfeksiyon mu, süperinfeksiyon mu? *Flora.* 2019;24(2):131-5. <https://doi.org/10.5578/flora.67957>
28. Ergen P, Yılmaz Karadağ F, Aydın Ö. Investigating the prevalence of hepatitis delta and assessment of treatment response. *Viral Hepat J.* 2020;26(3):135-40. <https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2020.2020.0025>
29. Celen MK, Ayaz C, Hosoglu S, Geyik MF, Ulug M. Anti-hepatitis delta virus seroprevalence and risk factors in patients with Hepatitis B in Southeast Turkey. *Saudi Med J.* 2006;27(5):617-20.
30. Güdücüoğlu H, Altunbaş S, Bozkurt H, Baykal S, Berktaş M. Van Askeri Hastanesinde HBsAg pozitif askerlerde delta antikorunun araştırılması. *Van Tıp Derg.* 2006;13(4):118-20.
31. Kurtoğlu MG, Üstün C, Bozkurt H, Tuncer O, Berktaş M. Hepatitis D virus seroprevalence determined during periods of Hepatitis B virus infections in Eastern Turkey. *Viral Hepat J.* 2009;14(1):27-32.
32. Bahcecioglu IH, Aygun C, Gozel N, Poyrazoglu OK, Bulut Y, Yalniz M. Prevalence of Hepatitis Delta virus (HDV) infection in Chronic Hepatitis B patients in eastern Turkey: Still a serious problem to consider. *J Viral Hep.* 2011;18(7):518-24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2010.01329.x>
33. Duman Y, Tekerekoğlu MS, Selma A. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, 2012 yılında, HBsAg, AntiHBs, Anti-HDV ve HDVAg seroprevalansı. *Med Sci Int Med J.* 2014;3(1):982-90. <https://doi.org/10.5455/medscience.2013.02.8096>
34. Berktaş M, Parlak M, Çıkman A, Yüce M, Yaman G. HBV-DNA pozitif olgularda HDV-RNA sıklığı. *Viral Hepat J.* 2012;18(1):34-6. <https://doi.org/10.4274/Vhd.18.09>
35. Kölgelir S, Demir NA, Özçimen S. Adıyaman'da HBsAg pozitif kişilerde delta hepatit seropozitifliği. *Viral Hepat J.* 2013;19(1):8-10. <https://doi.org/10.4274/Vhd.13008>
36. Doğan M, Güneş H, Mete R, Taş T, Mengeloğlu FZ, Küçükbayrak A. Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda Anti-HDV ve HDVAg prevalansı. *Dicle Med J.* 2013;40(1):50-3. <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2013.01.0223>
37. Parlak E, Erturk A, Parlak M, et al. Assessment of patients with hepatitis D. *Viral Hepat J.* 2015;21(3):80-4. <https://doi.org/10.4274/vhd.40469>
38. Sahin A, Gurocak S, Tunc N, Demirel U, Poyrazoglu OK, Akbulut H. Anti-HDV seroprevalance among patients with previous HBV infection. *North Clin Istanbul.* 2018;5(2):132-8. <https://doi.org/10.14744/nci.2018.01328>
39. Bal T. Siirt ilinde yüksek Hepatit Delta antikor sıklığı. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi.* 2021;11(1):45-9. <https://doi.org/10.33631/duzcesbed.740550>
40. Bekçibaşı M, Arslan E. Anti-HDV seroprevalence among patients with chronic Hepatitis B infection in Diyarbakır. *Viral Hepat J.* 2022;28(2):89-93. <https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2022-2021-8-1>

Boğmaca Tanısında IS481 Genini Hedefleyen İki Ticari Kitin Performansının Değerlendirilmesi

Evaluation of the Performance of Two Commercial Kits Targeting the IS481 Gene in Pertussis Diagnosis

Hatice Yazısız*, Aydan Karagül**, Özlem Koyuncu Özyurt*, Betil Özihak*, Kenan Midilli***, İmran Sağlık****, Gözde Öngüt*, Mert Ahmet Kuşkucu****, Dilara Ögünç*

* Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

** Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Antalya, Türkiye

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

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

Atıf/Cite as: Yazısız H, Karagül A, Koyuncu Özyurt Ö, et al. Boğmaca tanısında IS481 genini hedefleyen iki ticari kitin performansının değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):99-106.

Öz

Amaç: Boğmaca karakteristik öksürük ile ayırt edilen oldukça bulaşıcı akut solunum yolu hastalığıdır. Vakaların çoğunda Bordetella pertussis etkindir. Kültür, antijen saptama, polimeraz zincir reaksiyonu ve serolojik yöntemler tanıda kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı boğmaca teşhisi için IS481 genini hedefleyen iki ticari polimeraz zincir reaksiyonu testinin performansını değerlendirmektir.

Yöntem: Bu çalışmaya klinik olarak pertussis düşünülen 77 hastanın nazofaringeal aspirat örneği alındı. Numuneler uygun besiyerlerine ekildi. Bordetella pertussis tespiti için örnekler üç farklı polimeraz zincir reaksiyonu testi ile değerlendirildi: Diagenode Bordetella pertussis ve parapertussis gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu kiti (Diagenode Diagnostics, Liège, Belçika), BORDETELLA R-gene™ kiti (Argene, Verniolle, Fransa) ve konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu testi. Gerçek pozitif ve gerçek negatif sonuçlar ile iki gerçek zamanlı polimeraz zincir sonuçları karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya katılanların yaşları 10-50 arasında (Ortalama yaş 26.5±9.2 yıl) değişmekteydi. Boğmacalı hastalarda paroksizmal öksürük ve kusma sıklığı istatistiksel olarak daha yüksekti. Bordetella pertussis kültürü üç örnekte (%3.9) pozitifti. BORDETELLA R-gene™ kitinin pozitif yüzde uyumu ve negatif yüzde uyumu sırasıyla %100 ve %97 idi. Diagenode Bordetella pertussis ve parapertussis gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu kitinin pozitif yüzde uyumu ve negatif yüzde uyumu sırasıyla %91 ve %100 olarak hesaplandı.

Sonuç: Her iki gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ticari kitinin Bordetella pertussis tanısında duyarlılığı ve özgüllüğü literatürde bildirilen oranlarla benzerdir. Testler arasındaki uyum ve korelasyon katsayısı da yüksektir.

Anahtar kelimeler: Boğmaca, Bordetella pertussis, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

ABSTRACT

Objective: Pertussis is a highly contagious acute respiratory disease distinguished by its characteristic cough. Bordetella pertussis is the causative agent in most of the cases. Culture, antigen detection, polymerase chain reaction and serological methods are used in diagnosis. The aim of this study was to evaluate the performance of two commercial polymerase chain reaction tests targeting the IS481 gene for the diagnosis of pertussis.

Methods: Nasopharyngeal aspirate samples of 77 patients with clinically suspected pertussis were included in this study. The samples were cultivated in appropriate media and assessed with three different polymerase chain reaction tests for the detection of Bordetella pertussis: Diagenode Bordetella pertussis and parapertussis real-time polymerase chain reaction kit (Diagenode Diagnostics, Liège, Belgium), BORDETELLA R-gene™ kit (Argene, Verniolle, France) and conventional polymerase chain reaction test. The true positive and true negative results were compared with the results of two real-time polymerase chain reaction.

Results: The ages of the study participants ranged from 10-50 years (Mean age 26.5±9.2 years). The frequencies of paroxysmal cough and vomiting were statistically higher in patients with pertussis. Bordetella pertussis culture were positive in three (3.9%) samples. The positive and negative percent agreements of BORDETELLA R-gene™ kit were 100% and 97%, respectively. The positive and negative percent agreements of Diagenode Bordetella pertussis and parapertussis real-time polymerase chain reaction kits were calculated as 91% and 100%, respectively.

Conclusion: The sensitivity and specificity of both real-time polymerase chain reaction commercial kits in the diagnosis of Bordetella pertussis are similar to the rates reported in the literature. The agreement and correlation coefficient between the tests are also high.

Keywords: Pertussis, Bordetella pertussis, real-time polymerase chain reaction

Alındığı tarih / Received:

21.07.2022 / 21.July.2022

Kabul tarihi / Accepted:

07.03.2023 / 07.March.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

H. Yazısız 0000-0002-7285-4764

A. Karagül 0000-0002-2276-4648

Ö. Koyuncu Özyurt 0000-0003-1260-0671

B. Özihak 0000-0001-5224-1824

K. Midilli 0000-0003-3007-3422

İ. Sağlık 0000-0003-0864-4989

G. Öngüt 0000-0003-2808-1829

M. A. Kuşkucu 0000-0001-8735-5725

D. Ögünç 0000-0001-6669-6811

✉ betilozhak@yahoo.com

GİRİŞ

Boğmaca karakteristik öksürük ile ayırt edilen oldukça bulaşıcı akut solunum yolu hastalığıdır. Vakaların çoğuna *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*) neden olurken, bazılarında *Bordetella parapertussis* neden olur⁽¹⁾. *B. pertussis* küçük, aerobik, gram negatif kokobasil yapısında boğmaca hastalığına neden olan bir bakteridir. Her yaştaki duyarlı bireyleri etkilemekle beraber, özellikle yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde ağır seyreden akut, bulaşıcı bir solunum sistemi hastalığıdır⁽²⁾.

Aşılama sonrasında boğmaca hastalığı önemli derecede azalmış olmasına rağmen, halen tüm dünyada, özellikle de gelişmekte olan ülkelerde, önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir⁽²⁾. WHO verilerine göre 2018 yılında dünya genelinde 151.000'den fazla boğmaca vakası görülmüştür. Boğmacalı kişilerin, öksürük başladıktan yaklaşık üç hafta sonrasına kadar en bulaştırıcı oldukları dönemdir ve enfeksiyona yakalanan çocukların çoğunda 4-8 hafta süren öksürük nöbetleri olmaktadır⁽³⁾.

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'na göre bir kişide en az iki hafta süren öksürüğe; şiddetli öksürük nöbetleri, iç çekmeli solunum, öksürükten hemen sonra kusma olması ve öksürüğe neden olabilecek başka bir sorun (pnömoni, plörezi, sinüzit gibi) bulunmaması kriterlerinden birinin eşlik etmesi olası vaka olarak tanımlanırken; olası vaka kriterlerine ek olarak nazofaringeal örneklerden *B. pertussis* izolasyonu veya polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile *B. pertussis* geninin saptanması durumunda kesin vaka olarak tanımlanmaktadır⁽⁴⁾. Boğmaca hastalığında klinik özellikler tipik olduğunda dikkatli anamnez ve fizik muayene ile tanı konabilir ama atipik olgularda klinik tanıda güçlükler vardır. Erişkinler ve adolesanlarda boğmaca hastalığı atipik semptomlar ve uzun süren öksürükle birlikte olduğunda bulaştırmada etkili olduklarından, bu grupta erken tanı koymak önemlidir. Uzun öksürüğü olan olgularda tanıyı doğrulamak için de laboratuvar testleri yapılmalıdır. Laboratuvar testleri; karakteristik semptomları ve bulguları olmayan vakalarda, sporadik olgularda ve epidemiyolojik araştırmalarda yararlı olmaktadır⁽⁵⁾.

Boğmaca tanısında kullanılan testler; kültür, antijen saptama, PZR ve serolojik yöntemlerdir. Bu testler arasında yalnızca kültür ve PZR, ulusal bildirim için bir vakanın laboratuvar doğrulaması kriterlerini karşılar⁽⁴⁾. Kültür %100 spesifik bir yöntem olmasına karşın rutin uygulamada genellikle yerini PZR yöntemine bırakmıştır. Kültürün ve PZR yönteminin duyarlılığı hastanın yaşı, semptomlarının süresi, aşılama durumu ile ilişkilidir. Üç haftadan fazla öksürüğü olan adolesan ve erişkinlerde kültür duyarlılığı %1'in altında iken birkaç gün süreyle semptomu bulunan aşısız infantlarda duyarlılık yaklaşık %60'dır. PZR yönteminin duyarlılığı kültürden 2-6 kat fazladır⁽⁵⁾. Yakın zamana kadar boğmaca tanısında altın standart yöntem *B. pertussis*'in solunum kültüründe pozitif saptanmasıydı. PZR testi "yeni" altın standarttır ve özellikle hafif semptomatik olan, antibiyotik almış bireylerde daha hızlı sonuç vermesi ve kültürden daha duyarlı görünmesi nedeniyle boğmaca tanısında artık daha yaygın olarak kullanılmaktadır⁽⁶⁾. Konvansiyonel PZR, seminested PZR, gerçek zamanlı PZR ve loop-mediated isothermal amplification (LAMP) testleri dahil olmak üzere *Bordetella*'yı tespit etmek için çok sayıda PZR testi bulunmaktadır. Birçok çalışma, *Bordetella* genomlarında çoklu kopyaların bulunması nedeniyle, IS (Insertion sequence) elementlerini hedefleyen PZR'lerin oldukça duyarlı olduğunu göstermiştir⁽⁷⁾. IS elementleri genellikle genomlarda çok sayıda kopya halinde bulunur ve PZR için mükemmel hedeflerdir. *IS481 B. pertussis* için spesifik olduğu varsayılrsa da *Bordetella holmesii* izolatlarında ve bazı *Bordetella bronchiseptica* izolatlarında da bulunur. *IS1001 B. parapertussis* suşlarının tümünde, bazı *B. bronchiseptica* suşlarında bulunurken *B. pertussis* bu geni içermez. *IS481 B. pertussis*'in PZR ile saptanması için en çok kullanılan hedeflerdir⁽⁸⁾.

Bu çalışmada boğmaca tanısı için *IS481* genini hedefleyen iki ticari PZR testinin performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından (21.09.2010 tarih ve 84-121 karar numarası) onaylanmış ve Helsinki Deklarasyonu Kuralları'na uygun olarak yapılmıştır.

Hasta Seçimi ve Örnek Alınması: Çalışmaya Ekim 2010-Mayıs 2011 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Hastalıkları ve Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları polikliniklerine başvuran iki haftadan uzun süren öksürük şikâyeti bulunan ve aşı takvimine uygun boğmaca aşılı yapılan 77 hasta dahil edilmiştir. Astım, tümör, pasif sigara içiciliğine bağlı öksürük, kistik fibrozis, sinüzite bağlı öksürük, apse, bronşektazi ve ilaç alımına bağlı ve iki haftadan az süren öksürüğü olan hastalar çalışmaya alınmamıştır. Hastalardan nazofarengeal sürüntü (Copan Eswab, İtalya) örneği alınarak içinde modifiye amies medium olan hazır taşıma besiyerine konularak laboratuvara ulaştırılmıştır.

Laboratuvar Testleri: Tüm testlerde kalite kontrol suşu olarak *Bordetella pertussis* ATCC 9797 kullanılmıştır.

Kültür: Laboratuvara gelen örneklerin Charcoal agar (Oxoid, Birleşik Krallık) besiyerine kültür ekimi yapılan plaklar nemli atmosferde 37°C'de inkübe edilerek 72 saatlik inkübasyonun ardından toplam yedi gün boyunca her gün agar plakları incelenmiş ve süre sonunda üreme gözlenmediyse "üreme olmadı" şeklinde kaydedilmiştir. Üreyen şüpheli kolonilerin sefalekssin içermeyen Charcoal agara pasajları yapılmıştır. Kolonilerin Gram boyama ile morfolojik özellikleri, katalaz, oksidaz, üreaz reaksiyonları, Mac Conkey agarda üreme, sitrat kullanımı, hareket, *B. pertussis* antiserum (Remel *Bordetella Pertussis* Agg. Sera) ile aglütinasyon verme özellikleri ve direkt floresan antikor (DFA) testi kullanılarak tanımlamaları yapılmıştır.

PZR: Örnekler PZR testleri için çalışma zamanına kadar -80°C'de saklanmıştır. Örnekler BD Max sisteminde (Becton, Dickinson, Franklin Gölü, ABD) çalışılan Diagenode *Bordetella pertussis* ve *parapertussis* gerçek zamanlı PZR kit (Diagenode Diagnostics, Liège, Belçika), *BORDETELLA* R-gene™ kit (Argene, Verniolle, Fransa) ve *B. pertussis*'in saptanmasında ayrı bir konvansiyonel PZR olmak üzere üç farklı PZR testi ile değerlendirilmiştir.

Örneklerin DNA izolasyonu MagNA Pure LC DNA Isolation Kit I (Roche Diagnostics, Almanya) ile MagNA Pure LC otomatize izolasyon sisteminde yapılmıştır.

BORDETELLA R-gene™ gerçek zamanlı PZR kiti: *BORDETELLA* R-gene™ kit (Argene, Verniolle, Fransa) solunum yolu doku örneklerinde (nazofarenks aspirasyonu ve balgam) çalışılan *B. pertussis*'de bulunan *IS481* dizisi içeren *Bordetella* bakterilerinin saptanmasını sağlayan bir kittir. Rotor-Gene 6000 (Corbett research, Avusturalya) cihazında PZR işlemi yapılmıştır. Validasyon için gerekli koşulların yerine gelmesi ile test geçerli sayılmıştır. Testinin sonucu, döngü eşiği (Ct) değerlerine göre değerlendirilmiştir. Bir numune, Ct değeri <35 ise pozitif, 35 ile 40 arasında ise intermediate, ≥ 40 ise negatif olarak kabul edilmiştir.

Diagenode *Bordetella pertussis* ve *parapertussis* gerçek zamanlı PZR kit (Diagenode Diagnostics, Liège, Belçika): BD MAX™ sisteminde çalışılan nazofaringeal aspiratlarda ve boğaz sürüntülerinden direkt kalitatif *B. pertussis* tespiti için kullanılan gerçek zamanlı PZR kitidir. Test, sırasıyla *IS481* ve *IS1001* dizilerinde *B. pertussis* ve *B. parapertussis* genlerinin amplifikasyonu için gerçek zamanlı PZR kullanır. Bu kit nazofaringeal aspiratlarda *B. parapertussis*'in saptanmasına da izin verir ancak tanı amaçlı kullanılmaz, boğmaca tanısında yardımcı olarak tasarlanmıştır.

Konvansiyonel PZR yöntemi: PZR çalışması için literatürde bildirilen ve *B. pertussis* *IS481* bölgelerine ait primer çiftleri kullanılmıştır⁽⁹⁾. Liyofilize halde ticari olarak temin edilen primer dizileri Tablo 1'de, kullanılan PZR karışımı Tablo 2'de verilmiştir. PZR ürünleri yatay %1.5 agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir. Amplifikasyon, PTC-200 Peltier Thermal Cycler (MJ Research, Inc., MA, ABD)'da gerçekleştirilmiştir (Tablo 3).

İki farklı ticari gerçek zamanlı PZR kitleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde, konvansiyonel PZR testi İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde çalışılmıştır.

Tablo 1. Konvansiyonel PZR yönteminde kullanılan primerler

Gen	İsmi	Dizisi	Ürün boyutu
IS481	BP1	5- GAT TCA ATA GGT TGT ATG CAT GGT T-3	215 bp
	BP2	5- ACA GTC GGC GCG GTG ACC CC-3	

Tablo 2. *Bordetella pertussis* IS481 için PZR karışımı (kullanılan reaktifler ve miktarları)

Bileşen	Miktar (µl)	Konsantrasyon
DNaz-RNaz içermeyen su	14.375	25 ml (son reaksiyon hacmini tamamlamak için)
10X-PCR Buffer	2.5	1x
MgCl ₂	1.5	
dNTP	0.5	200 mM
BP1	0.5	
BP2	0.5	Primerin son konsantrasyonu 25 mM
Taq-Polimeraz	0.125	0.625 U
Toplam Mix	20	
Örnek DNA'sı	5	
Toplam reaksiyon hacmi	25	

Tablo 3. Amplifikasyon aşamaları

Aşama	Sıcaklık	Süre (Dakika)	Tanım
1. Bekleme	94°C	05.00	Denatürasyon
	95°C	0.30	
2. PZR Aşaması	55°C	1.00	45 Döngü, PZR ile çoğaltma
	72°C	01.00	
3. Bekleme	72°C	02.00	Uzaması tamamlanmamış ürünlerin tamamlanması
4. Bekleme	4°C	Sonsuz	Yürütme aşamasına kadar saklamak için

Çalışmaya alınan 77 hasta örneği her iki ticari kit ile çalışılmıştır. Bu iki kit ile intermediate veya pozitif sonuçlanan örneklerle (n=43) konvansiyonel PZR testi çalışılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi: Kültürde üreme olması veya üç moleküler testten ikisinde test pozitifliği gerçek pozitiflik olarak kabul edilmiştir. Üç moleküler testten ikisinin negatif olması durumunda sonuç negatif olarak kabul edilmiştir. Çalıştığımız hasta grubunda kültürün duyarlılığı düşük olduğu için FDA'nın önerileri doğrultusunda "pozitif yüzde uyum" ve "negatif yüzde uyum" değerleri hesaplanmıştır⁽¹⁰⁾.

İstatistiksel Değerlendirme: İstatistiksel değerlendirme için PASW Statistics for Windows, version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, ABD) versiyonu kullanılmıştır. Değişkenleri değerlendirmek için ortalama, standart sapma, sıklık ve yüzde gibi tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır. "Pozitif yüzde uyum" (Positive percent agreement, PPA) ve "negatif yüzde uyum" (Negative percent agreement, NPA) değerleri hesaplanmıştır. Kategorik verileri karşılaştırmak için ki-kare testi kullanılmıştır. Tanı testleri arasındaki uyum kappa değeri ile, korelasyonlar Spearmen's korelasyon testleri ile karşılaştırılmıştır. P değeri <0.05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya katılan hasta ve temaslıların yaşları 10-50 yaş arasında (Ortalama yaş 26.5 ± 9.2 yıl) değişmekteydi. Hastaların % 17.1'si çocuk; % 82.9'u yetişkin yaş grubunda idi. Olguların 38 (%49.4)'i erkek, 39 (%50.6)'u kadındı. Paroksizmal öksürük 37 (%48.1) hastada, kusma 22 (%28.6) hastada, antibiyotik kullanımı 49 (%63.6) hastada vardı. Örnekler hastaların çoğunda (n=69, %89.6) 2-4 haftalarda alınmış olup sadece bir hastada semptomların 12. haftasında örnek alınmıştı.

Bir hasta üç PZR testi ve kültür sonuçlarına göre karşılaştırmalı tanı doğruluğu ve gerçek pozitiflerin belirlenmesi kriterlerini karşılamadığı için analizlere dahil edilmedi. Kalan 76 hastanın 32'si (%42.1) (çocuk hastaların %0.4'ü; yetişkin hastaların % 42.9'u) belirlenen kriterlere göre *B. pertussis* pozitif olarak kabul edilmiştir. *B. pertussis* pozitif olarak kabul edilen hastalarda cinsiyet ($p=0.509$) antibiyotik kullanım sıklığı ($p=0.507$) ve numune alım haftaları ($p=0.493$) açısından fark saptanmamıştır. Bu hastalarda paroksizmal öksürük sıklığı [%62.5 (20/32) karşın %38.6 (17/44), ($p=0.04$)] ve kusma sıklığı [%50 (16/32) karşın %13.6 (6/44), ($p=0.001$)] istatistiksel olarak daha yüksekti.

Örneklerin sadece üçünde (%3.9) kültürde üreme saptanmıştır. Konvansiyonel PZR çalışılan toplam 43 örneğin 33'ü pozitif 10'u negatif olarak saptanmıştır. *BORDETELLA* R-gene™ kiti ile örneklerin %33'ü pozitif, %46'sı negatif ve %21'i intermediate olarak; Diagenode *Bordetella pertussis* ve *parapertussis* gerçek zamanlı PZR kiti ile %38'i pozitif ve %62'si negatif olarak saptanmıştır. Bu iki testin uyumu (Kappa değeri 0.55), korelasyon katsayısı ($r=0.586$, $p<0.001$) yüksek bulunmuştur.

BORDETELLA R-gene™ kitinin pozitif yüzde uyum ve negatif yüzde uyum değerleri %100 ve %97 iken bu değerler Diagenode *Bordetella pertussis* ve *parapertussis* gerçek zamanlı PZR kiti için %91 ve %100 olarak saptanmıştır (Tablo 4).

TARTIŞMA

Bordetella pertussis saptanması için kültür altın standart olarak kabul edilmiştir, özgüllüğü yüksek ancak genellikle duyarlılığı düşüktür ve sonuç vermek için 4-5 gün gerekli olur. Kültürün bu dezavantajları nedeniyle boğmaca tanısında daha hızlı güvenilir tanı yöntemleri araştırılmıştır⁽¹¹⁾.

Yapılan çalışmalarda PZR yöntemlerinin boğmaca tanısında kültürden daha duyarlı olduğu

Tablo 4. BORDETELLA R-gene™ kit ve Diagenode Bordetella pertussis ve parapertussis gerçek zamanlı PZR kiti sonuçlarının karşılaştırılması

	Toplam (n=76)	Hasta (n=32)	Hasta değil (n=44)	Pozitif yüzde uyum (PPA)	Negatif yüzde uyum (NPA)
PZR 1					
Pozitif	25 (%33)	24 (%75)	1 (%2.3)		
Intermediate	16 (%21)	8 (%25)	8 (%18.2)	%100	%97
Negatif	35 (%46)	0 -	35 (%79.5)		
PZR 2					
Pozitif	29 (%38)	29 (%91)	0 -		
Negatif	47 (%62)	3 (%9)	44 (%100)	%91	%100

PZR 1: BORDETELLA R-gene™ kit

PZR 2: Diagenode Bordetella pertussis ve parapertussis gerçek zamanlı PZR kit

bildirilmiştir^(12,13). Templeton ve arkadaşlarının 57 klinik örnekte gerçek zamanlı PZR, konvansiyonel PZR ve kültür yöntemleri kullanılarak yaptıkları çalışmada %14 kültür, %33 konvansiyonel PZR, %39 gerçek zamanlı PZR ile pozitiflik bulunmuş; *B. pertussis* enfeksiyonu için bir klinik standartla karşılaştırıldığında, kültür, konvansiyonel PZR ve gerçek zamanlı PZR için duyarlılık sırasıyla %38, %83 ve %100 ve özgüllük %100, %97 ve %97 saptanmıştır. Bu çalışmada, gerçek zamanlı PZR'nin geleneksel PZR'den daha fazla duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir⁽¹²⁾. Nazofaringeal sürüntü örneklerinde *B. pertussis*'in saptanması için gerçek zamanlı PZR testinin konvansiyonel PZR ile karşılaştırıldığı çalışmada iki testin pozitiflik oranlarında önemli ölçüde fark saptanmadığı bildirilmiştir ($p=0.0654$)⁽¹⁴⁾. Simplex™ Bordetella Direct assay (DiaSorin Molecular) ile 1103 nazofaringeal sürüntü örneğinde yapılan çalışmada *B. pertussis* için genel pozitif yüzde uyumu ve negatif yüzde uyumu sırasıyla %98.7 ve %97.3 olarak bildirilmiştir⁽¹⁵⁾. Nazofaringeal aspirat ($n=128$) ve boğaz sürüntü örneklerinde ($n=162$) BD Max sistemi üzerinde Diagenode multipleks PZR testiyle yapılan çalışmada, nazofaringeal aspirat için sırasıyla duyarlılık ve özgüllük %97.3 ve %100 ve boğaz sürüntü örnekleri için %88.3 ve %98 olarak saptanmıştır⁽¹⁶⁾. Yapılan çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda da *BORDETELLA* R-gene™ ve Diagenode *Bordetella pertussis* ve *parapertussis* PZR testlerinin performansının (pozitif yüzde uyum ve negatif yüzde uyum sırasıyla %100, %97; %91, %100) yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu iki testin uyumu (Kappa değeri 0.55) ve korelasyon katsayısı ($r=0.586$, $p<0.001$) yüksek bulunmuştur.

Bordetella pertussis'in PZR yöntemiyle saptanmasında hedef olarak bir dizi kromozomal bölge kullanılmaktadır. *B. pertussis*'in saptanmasında en sık kullanılan hedef olan *IS481* her hücrede çok kopya halinde bulunduğundan, bu hedefin kullanılması tek kopya halinde bulunan hedeflerin kullanılmasına göre PZR'in analitik duyarlılığının daha yüksek olmasını sağlar. Ancak bu bölgenin kullanılması ile ilgili sorun özgüllüğü ve kontaminasyon ile ilgilidir. *IS481* *B. parapertussis* dışında diğer *Bordetella* türlerinde de bulunur; *B. holmesii* ve *B. brochiseptica*'nın insan izolatlarından bazılarında saptanmıştır⁽⁸⁾. Sloan ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ görüşüne göre *IS481* tarafından sağlanan

B. pertussis tespitine yönelik duyarlılığın yüksek olması özgüllükle ilgili sınırlılıklarından daha ağır basmaktadır. PZR ile *B. pertussis* *IS481* DNA'sı için pozitif olan numuneler, pertussis toksin gen (PTG) gibi başka bir hedefi kullanan ikinci bir PZR analizine tabi tutulabilir; ancak, PTG hedefinin daha az duyarlı bir hedef olduğu göz önüne alındığında, bu yaklaşımın kullanımı sınırlıdır⁽¹⁴⁾. Bazı çalışmalar *IS481*'e ek olarak PTG kullanarak sonuçları yorumlamıştır^(17,18). Bizim çalışmamızda kullanılan iki ticari kit ve bir konvansiyonel yöntemde *IS481* kullanılmış, ek olarak başka hedefi kullanan bir PZR testi çalışılmamıştır.

Ülkemizde boğmaca tanısında kullanılan testler ile ilgili daha çok serolojik çalışmalar bulunmakla beraber moleküler çalışmalar da bulunmaktadır. Özbek ve ark.'nın⁽¹⁹⁾ Manisa ilindeki pertussis toksin antikor seroprevalansını araştırdıkları ergen (≥ 10 yaş) ve erişkin yaştaki toplam 1116 katılımcının 21 (%1.8)'i olası akut enfeksiyon veya son zamanlarda geçirilmiş enfeksiyon tanımına (anti-PT IgG >100 IU/ml) uygun olarak saptanmıştır. Olguların iki farklı yaş grubunda yoğunlaştığı gözlenmiştir. Tüm ergen ve erişkinler arasında 15 yaş %13.6'lık olgu ve %77.3'lük seropozitiflik düzeyi ile antikor varlığı değerlendirmesinde ilk sırada tespit edilmiştir. Tanıma uygun olguların ikinci kez ileri yaşlarda (60-69) yoğunlaştığı görülmüştür⁽¹⁹⁾. Öksüz ve ark.'nın⁽²⁰⁾ 410 çocuk hastada yaptığı çalışmada *Bordetella* PZR pozitiflik oranları 2010 yılında %36, 2011 yılında %29, 2012 yılında %15 ve 2013 yılında %15 olarak bildirilmiştir. Kültürle pozitiflik oranı düşük olmasına rağmen (%1.4), PZR yöntemiyle %26 oranında pozitif saptanmıştır⁽²⁰⁾. Tamburacı Uslu ve ark.'nın⁽²¹⁾ yaptığı boğmacanın ev içi bulaşını tespit etmenin amaçlandığı ve gerçek zamanlı PZR ile boğmaca şüphesi olan 173 bebek ve 107 ailenin test edildiği çalışmada sırasıyla %27.7, %39.3 oranında pozitiflik saptanmıştır. Akut bronşiolit nedeniyle hastaneye yatırılan, 6 aylıktan küçük toplam 172 bebeğin gerçek zamanlı PZR ile yapılan çalışmada %25.6 oranında pozitiflik saptanmıştır. *B. pertussis* enfeksiyonun akut bronşiolit nedeniyle hastaneye yatırılan küçük bebeklerde, yaygın olduğu ve bebeklerde boğmacanın klinik özellikleri karakteristik olmadığı belirtilmiştir⁽²²⁾. Bölgemizde 214 ergen ve yetişkinin alındığı çalışmada %7 ve %5 oranında pozitiflik saptanmıştır⁽¹⁷⁾.

Sonuç olarak %17.1'si çocuk; %82.9'u yetişkin yaş grubunda olan 77 hastada yapılan çalışmada 32'sine belirlenen kriterlere göre *Bordetella* teşhisi konulmuştur. *Bordetella* teşhisi konulan hastalarda paroksizmal öksürük ve kusma sıklığı istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır. Kültür ekimi yapılan örneklerin sadece üçünde (%3.9) üreme saptanmıştır. BORDETELLA R-gene™ kit ve Diagenode *Bordetella pertussis* ve *parapertussis* gerçek zamanlı PZR testlerinin pozitif yüzde uyum ve negatif yüzde uyum değerleri sırasıyla; %100, %97; %91, %100 olarak saptanmıştır. Ayrıca bu iki testin uyumunun da yüksek olduğu belirlenmiştir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından (21.09.2010 tarih ve 84-121 karar numarası) onaylanmış ve Helsinki Deklarasyonu Kuralları'na uygun olarak yapılmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Akdeniz University, School of Medicine Ethics Committee (09.21.2010; 84-121). It was conducted in accordance with the Rules of the Declaration of Helsinki.

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Nieves DJ, Heininger U. *Bordetella pertussis*. Microbiol Spectr. 2016;4(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EI10-0008-2015>
2. Long SS. Pertussis. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. 17th ed. Philadelphia: Saunders Company; 2004:908-12.
3. World Health Organization. [https://www.who.int/health-topics/pertussis#tab=tab_1] (Erişim tarihi: Haziran 2022).
4. T.C. Sağlık Bakanlığı. Boğmaca hastalığının kontrolü için saha rehberi. Ankara: 2003. [<https://denizliism.saglik.gov.tr/Eklenti/9563/0/bogmaca-saha-rehberipdf.pdf>] (Erişim tarihi: Haziran 2022).
5. Kilgore PE, Coenye T. *Bordetella* and Related Genera. In: Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, McAdam AJ, Patel R, Richter SS, Warnock DW, editors. Manual of Clinical Microbiology. 12th ed. Washington, DC: ASM Press; 2019:858-70.
6. Daniels HL, Sabella C. *Bordetella pertussis* (Pertussis). Pediatr Rev. 2018;39(5):247-57. <https://doi.org/10.1542/pir.2017-0229>
7. van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory diagnosis of pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015; 28(4):1005-26. <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-15>
8. Leber AL, Salamon DP, Prince HE. Pertussis diagnosis in the 21st Century: Progress and pitfalls, Part II. Clin Microbiol Newslett. 2011;33:119-26. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2011.07.005>
9. Matthews RC, Golbang N, Bruck WM, et al. Semiquantitative polymerase chain reaction enzyme immunoassay for the diagnosis of pertussis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1999;18(10):748-50. <https://doi.org/10.1007/s100960050392>
10. U.S. Food and Drug Administration. Statistical guidance on reporting results from studies evaluating diagnostic tests - guidance for industry and FDA staff. [<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/statistical-guidance-reporting-results-studies-evaluating-diagnostic-tests-guidance-industry-and-fda>] (Erişim tarihi: Haziran 2022).
11. Dragsted DM, Dohn B, Madsen J, Jensen JS. Comparison of culture and PCR for detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* under routine laboratory conditions. J Med Microbiol. 2004; 53(Pt 8):749-54. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.45585-0>
12. Templeton KE, Scheltinga SA, van der Zee A, et al. Evaluation of real-time PCR for detection of and discrimination between *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, and *Bordetella holmesii* for clinical diagnosis. J Clin Microbiol. 2003;41(9):4121-6. Erratum in: J Clin Microbiol. 2004;42(4):1860. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.9.4121-4126.2003>
13. Tilley PA, Kanchana MV, Knight I, Blondeau J, Antonishyn N, Deneer H. Detection of *Bordetella pertussis* in a clinical laboratory by culture, polymerase chain reaction, and direct fluorescent antibody staining; accuracy, and cost. Diagn Microbiol Infect Dis. 2000;37(1):17-23. [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(00\)00117-6](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(00)00117-6)
14. Sloan LM, Hopkins MK, Mitchell PS, et al. Multiplex LightCycler PCR assay for detection and differentiation of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* in nasopharyngeal specimens. J Clin Microbiol. 2002;40(1):96-100. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.1.96-100.2002>

15. Chow SK, Arbefeville S, Boyanton BL Jr, et al. Multicenter performance evaluation of the Simplexa Bordetella Direct Kit in nasopharyngeal swab specimens. J Clin Microbiol. 2020;59(1):e01041-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.01041-20>
16. Kenicer J, Hardie A, Hamilton F, Gadsby N, Templeton K. Comparative evaluation of the Diagenode multiplex PCR assay on the BD max system versus a routine in-house assay for detection of *Bordetella pertussis*. J Clin Microbiol. 2014;52(7):2668-70. <https://doi.org/10.1128/JCM.00212-14>
17. 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>
18. Tatti KM, Wu KH, Tondella ML, et al. Development and evaluation of dual-target real-time polymerase chain reaction assays to detect *Bordetella* spp. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008;61(3):264-72. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.02.017>
19. Özbek ÖA, Öktem İMA, Hekimoğlu CH, et al. Hücre içermeyen boğmaca aşısı uygulamasının altıncı yılında Türkiye'nin Manisa ilindeki pertussis toksin antikor seroprevalansı. Mikrobiyol Bul. 2018;52(2):180-9. <https://doi.org/10.5578/mb.57534>
20. Öksüz L, Hançerli S, Somer A, Salman N, Gürler N. Pertussis in children in the İstanbul Faculty of Medicine: results for four years. Turk J Pediatr. 2014;56(6):632-7.
21. Tamburacı Uslu ZD, Ceyhan M, Dinleyici EÇ, et al. Detection of the presence of *Bordetella pertussis* by real-time polymerase chain reaction in children diagnosed with pertussis and among their household contacts. J Vaccines Vaccin. 2013;4;6 <https://doi.org/10.4172/2157-7560.1000199>
22. Gökçe Ş, Kurugöl Z, Aydemir Ş, Çiçek C, Aslan A, Koturoğlu G. *Bordetella pertussis* infection in hospitalized infants with acute bronchiolitis. Indian J Pediatr. 2018;85(3):189-93. <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2480-4>

Bazı Çevresel İzolatların Yağ/Su Ara Yüzü Etkileşimlerinin İncelenmesi Üzerine Bir Ön Çalışma

A Preliminary Study on the Investigation of Oil/Water Interface Interactions of Some Environmental Isolates

Tuğçe Yağmur Orhan[✉], Caner Vural[✉]

Pamukkale Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye

Atıf/Cite as: Orhan TY, Vural C. Bazı çevresel izolatların yağ/su ara yüzü etkileşimlerinin incelenmesi üzerine bir ön çalışma. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):107-117.

Öz

Amaç: Bu çalışmada, çeşitli çevresel örneklerden n-dekan yüzeyine en iyi şekilde adsorbe olan bakterilerin izolasyonu, biyodegradasyon yetenekleri ile çeşitli fizyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve yağ/su ara yüzü ile bakteriyel etkileşimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmanın amacına uygun olarak çevresel örneklerden bakteri izolasyonları yapılmıştır. İzolatlar koloni ve hücre morfolojileri ile Gram reaksiyonları bakımından incelenmiştir. İzolatların yağ/su ara yüzü etkileşimleri ve yağa tutunma durumları hidrokarbona bakteriyel adezyon (HBA) testi ile belirlenmiştir. Ayrıca, izolatların n-dekan giderim yetenekleri kantitatif olarak yağ parçalama oranı (YPO) analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: n-dekan içeren besiyeri kullanılarak n-dekan parçalanması ve yağ/su ara yüzü etkileşimleri ile ilgili yapılan çalışmalardan 12 bakteriyel izolat elde edilmiştir. İzolatların agar petri üzerinde farklı koloni morfolojileri sergiledikleri gözlenmiştir. Hücre boyama sonucu, izolatların çoğunluğunun çubuk morfolojide olduğu ve Gram reaksiyonlarının değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Yağ/su ara yüzüne adsorpsiyon analizlerinde, izolatların çoğunun değişen oranlarda (%3-25) yağ/su ara yüzüne tutunduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, bazı izolatların ise hidrofobik özellik sergilemediği saptanmıştır. Çalışmadan elde edilen izolatların %48-97 oranında n-dekan giderimi yapabildikleri tespit edilmiştir.

Sonuç: Ön çalışma niteliğinde yapılan yağ/su ara yüzü çalışmalarından elde edilen mevcut verilere göre, bakteriyel hidrofobisite/adsorpsiyon ile biyofilm oluşumu arasında doğrudan bir ilişki kurulamasa da, hidrofobik özellikteki bakterilerin yağ/su ara yüzünde iyi derecede biyofilm yapısı oluşturduğu söylenebilir. Ayrıca, n-dekana iyi adsorbe olan izolatların aynı zamanda yüksek bir n-dekan giderim yeteneğine sahip oldukları gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Hidrokarbon giderimi, yağ/su arayüzü, biyofilm, hidrofobisite

ABSTRACT

Objective: This study aimed to isolate bacteria capable of adsorbing to the n-decane surface from various environmental samples, determine their biodegradation abilities, and study the bacterial interactions with the oil/water interface.

Methods: In accordance with the purpose of the study, bacterial isolations were made from environmental samples. The isolates were examined for colony and cell morphologies and Gram reactions. The oil/water interface interactions of the isolates and their adhesion to the oil were determined by the bacterial adhesion to hydrocarbon (BATH) test. In addition, the n-decane removal ability of the isolates was quantitatively determined by oil degradation rate analysis.

Results: Twelve bacterial isolates were obtained from the studies related to n-decane degradation and interactions of oil/water interface using n-decane-containing media. The isolates exhibited different colony morphologies on the agar media. It was determined that the isolates were mostly in rod shape and Gram reactions were variable. In the adsorption analysis to the oil/water interface, most of the isolates adhered to the oil/water interface at varying rates (3-25%). It was determined that some isolates did not exhibit hydrophobic properties. n-decane removal rates of the isolates were 48-97%.

Conclusion: According to the results of this study, although a direct relationship cannot be established between bacterial hydrophobicity/adhesion and biofilm formation, it can be commented that hydrophobic bacteria form a good biofilm structure at the oil/water interface. It was observed that isolates that adsorb well to n-decane also had a high n-decane removal ability.

Keywords: Hydrocarbon removal, oil/water interface, biofilm, hydrophobicity

Alındığı tarih / Received:
23.12.2022 / 23.December.2022

Kabul tarihi / Accepted:
10.03.2023 / 10.March.2023

Yayın tarihi / Publication date:
01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

T. Y. Orhan 0000-0003-4588-4754
C. Vural 0000-0003-1400-6377

✉ canerv@pau.edu.tr

GİRİŞ

Petrol ürünleri, ağırlıklı olarak ham petrolden elde edilir ve dünyada en yaygın kullanılan birincil enerji kaynaklarından birisidir⁽¹⁾. Ham petrol ve türevlerinin rafineri faaliyetleri sırasında toprağa dökülmesi, tanker ve gemilerle taşınması sırasında kazara salınması, depolanması, yanlış kullanılması ve tahrip edilmesi sonucu çevresel kirlilik ortaya çıkmaktadır⁽²⁾. Bu tarz çevresel kirliliklerin giderilmesinde kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemler oldukça karmaşık ve pahalı olabilmektedir. Bu nedenle, fiziksel ve kimyasal yöntemler petrol türevi kirleticilerin çevresel sistemlerden tamamen bertaraf edilmesinde etkili bir şekilde kullanılamaz. Ancak, bu tarz kimyasallar, biyolojik yollarla ucuz ve etkili bir şekilde giderilebilmektedir. Çünkü mikroorganizmalar hidrokarbonu hücrel metabolizmalarında enerji elde etmede kullanabildiklerinden dolayı, hidrokarbon kirleticileri için güçlü ayrıştırıcılar olarak iş görebilmektedir⁽³⁾. Genellikle petrol hidrokarbonlarının çeşitli bakteriler, filamentöz funguslar, mayalar ve mikroalgler tarafından parçalanabildiği, ancak bakterilerin biyoremediyasyon çalışmalarında daha yoğun olarak kullanıldığı bilinmektedir^(4,5).

Kirleticilerin biyolojik giderimi açısından değerlendirildiğinde biyoremediyasyon kavramı ortaya çıkmaktadır. Biyoremediyasyon, çevreden kirleticileri uzaklaştırmak için mikroorganizmaların kullanıldığı⁽⁶⁾, petrol giderimi ve kazanımında faydalı olabilecek çevre dostu bir yöntem olarak tercih edilebilir^(7,8).

Bakteriler katı-sıvı, sıvı-sıvı ve sıvı-hava ara yüzeylerde biyofilm olarak bilinen mikrobiyal topluluklar oluştururlar. Biyofilmler, mikroorganizmaların kendi ürettikleri hücre dışı polimerik maddeler olan ekzopolisakkaritler (EPS) içerisinde mikrobiyal topluluklar olarak tanımlanabilir. Biyofilmler birçok bakteri türünün çoğalması, canlılıklarının korunması ve çevreye dağılması için önemli role sahiptir⁽⁹⁾. Sıvı/sıvı (yağ/su) ara yüzeylerde adsorpsiyon ve biyofilm oluşumu, katı ara yüzeylerdekinden daha farklı süreçler içermektedir^(10,11). Sıvı-sıvı ara yüzeylerde yapışmayı sağlayan fiziksel etkileşimler

mikroorganizmaların organizasyonunu, bir araya gelerek toplanmasını, çoğalmasını ve biyofilmin nihai yapısını etkilemektedir. Bunun yanında, EPS'nin absorbe edebilme, sabitleyebilme ve parçalayabilme gibi özelliklere sahiptir. Bu sayede, EPS çevresel kirleticilerin biyoremediyasyonunda önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir⁽¹²⁾. *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Paenibacillus*, *Alcaligenes*, *Sporosarcina*, *Lysinibacillus*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Cycloclastic* ve *Alcanivorax* gibi birçok bakteri cinsine ait türlerin biyofilm oluşturdıkları ve çeşitli kirli ortamlarda kirleticileri parçaladıkları ya da mineralize edebildikleri bildirilmiştir⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Petrol ve türevleri gibi hidrofobik karakterdeki sıvı organik kirleticiler sulu yüzeylerde kümelenmektedir. Bu nedenle, bu maddelerin sulu sistemlerde oluşturduğu çevresel kirliliklerin bakteriler aracılığıyla giderilmesi için bakterilerin yağ/su ara yüzü etkileşimlerinin anlaşılması önem taşımaktadır. Bu çalışmada, hidrokarbonlarca kirlenmiş çeşitli çevresel örneklerden on karbonlu alifatik bir hidrokarbon olan *n*-dekanın en iyi şekilde biyotransformasyonunu sağlayan bakterilerin izolasyonu, bu bakterilerin *n*-dekan/su ara yüzü etkileşimlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Besiyerleri: *n*-dekan ortalama bir karbon zincir uzunluğuna sahip, suda çözünmeyen ve düşük yoğunluğundan dolayı su yüzeyinde faz oluşturan, oda sıcaklığında buharlaşmayan özelliktedir. Ayrıca, *n*-dekan bakteriyel biyofilmlerin gözlemlenebildiği bir emülsiyon ara yüz oluşturduğu ve yağ/su ara yüzü oluşturmak için çalışmalarda tercih edilebilen^(16,17) bir hidrokarbon olduğundan dolayı, bu çalışmada yağ/su ara yüzü oluşturmak için *n*-dekan (%>99 saflık, TCI, Japonya) kullanılmıştır. Çalışmada *n*-dekan besiyerlerine eklenmeden önce 0.45 µm por çapına sahip filtreden geçirilerek steril edilmiştir. *n*-dekan bulunan ortamlarda üreyebilen bakterilerin izolasyonu için Bushnell Haas (BH) sıvı besiyeri (HiMedia, Hindistan) kullanılmıştır. Bakterilerin izolasyonu, saflaştırılması ve çoğaltılması için Nutrient Broth (NB) ve Nutrient Agar (NA) besiyerleri (Biokar Diagnostics, Fransa)

kullanılmıştır. Besiyerinden *n*-dekan ekstraksiyonu için Hekzan (Merck, Amerika Birleşik Devletleri) ve Sikloheksan (Isolab, Almanya) kullanılmıştır.

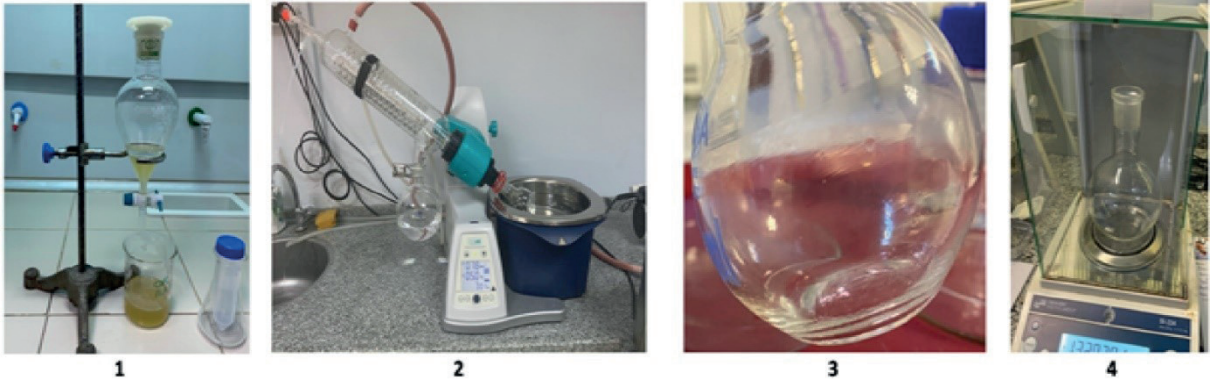
Bakterilerin Çoğaltılması ve İzolasyonu: Çalışmada yağ/su ara yüzünde biyofilm oluşturma ve sıvı hidrokarbon parçalama yeteneği olan bakterilerin izolasyonu amacıyla göl suyu, evsel atık su, petrokimya endüstrisi atık suyu olmak üzere çeşitli çevresel kaynaklardan örneklemeler yapılmıştır. Steril koşullarda laboratuvara getirilen örnekler Li ve ark.⁽¹⁸⁾ tarafından tarif edilen yöntemde bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. Her bir örnekten %5 (v/v) *n*-dekan içeren steril BH sıvı besiyeri ortamlarına %5 (v/v) olacak şekilde inokülasyon yapılarak durağan koşulda 30°C'de 14 gün inkübasyona bırakılmıştır. Ortamlar her 48 saatte bir kontrol edilerek mikrobiyal büyümeler takip edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, BH sıvı besiyerinde çoğalan bakterilerin saflaştırılması için her bir örneği içeren BH sıvı besiyeri ortamlarından %0.85'lik NaCl içeren Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) kullanılarak bir seri seyreltmeler yapılmıştır. Seyreltme tüplerinden 0.1'er mL alınarak tek karbon kaynağı olarak %1 (v/v) *n*-dekan içeren BH agar besiyeri yüzeylerine yayma plaka yöntemiyle ekimler yapılarak 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında BH agar yüzeyinde tek düşen kolonilerden NA besiyerine çizgi ekim yöntemiyle ekimler yapılarak bakteri kolonileri saflaştırılmıştır.

İzolatların Yağ/Su Ara yüzü ile Etkileşimlerinin Belirlenmesi: Saflaştırılan bakteriyel izolatların yağ/su ara yüzünde biyofilm oluşturma davranışlarının incelenmesi ve *n*-dekanı parçalama yeteneklerinin belirlenmesi için BH sıvı besiyeri ve NB besiyeri kullanılmıştır. BH besiyeri hidrokarbon parçalayabilen heterotrof bakterilerin izolasyonu için tercih edilen bir besiyeridir. BH besiyerine sadece parçalanması istenen hidrokarbonlar eklenerek bakteriyel degradasyon ve izolasyon çalışmaları yapılabilir. NB besiyeri ise heterotrof bakterilerin büyümesi için zengin ek besin maddeleri içeren genel bir besiyeridir. Çalışmada, sadece tek karbon kaynağı olarak *n*-dekan varlığında ve zengin organik karbonlu bileşiklere ek olarak *n*-dekan varlığında izolatların davranışlarının gözlenmesi amacıyla bu iki besiyeri kullanılmıştır. Li ve ark.⁽¹⁸⁾ tarafından kullanılan yöntem çalışmamıza uyarlanarak uygulanmıştır. Öncelikle, her bir izolata

ait taze kültürlerinden %0.85'lik NaCl içeren FTS ile 1 McFarland (3.0×10^8 kob/mL) olacak şekilde hücre süspansiyonları hazırlanmıştır. Daha sonra, her bir bakteri izolatına ait hücre süspansiyonlarından 100'er µL alınarak %5 (v/v) *n*-dekan içeren BH sıvı besiyeri ve %5 (v/v) *n*-dekan içeren NB besiyerine pasajlandıktan sonra durağan koşulda 30°C'de 14 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bakterilerin besiyerlerindeki üreme durumları her 24 saatte bir kontrol edilerek yağ/su ara yüzüne en hızlı tutunma, biyofilm oluşturma ve *n*-dekan emülsifiye etme özelliklerinden en az birine sahip 12 izolat seçilmiştir.

Bakteriyel Hidrofobisite ve Hidrokarbona Bakteriyel Adsorpsiyon Testi: Bakteri izolatlarının hidrofobisite ve yağ/su ara yüzüne tutunma özellikleri, hidrokarbona bakteriyel adsorpsiyon (HBA) testi ile belirlenmiştir. HBA testi genellikle bakterilerin hidrofobik özelliğinin bir ölçüsü olarak tanımlanmakla birlikte, çalkalama sonucunda mikroorganizmaların bilinen bir konsantrasyondaki polar olmayan faz yüzeyine yapışma yeteneğini ölçen bir test olarak bilinmektedir⁽¹⁹⁾. HBA testinde yağ/su iki fazlı sıvı sistemlerin belirli bir süre kuvvetli bir şekilde karıştırılması sonucu bakterilerin yağ fazı içerisine absorbe olma durumuna göre, alttaki sulu fazda kalan bakteri miktarının spektrofotometrik ölçümü yapılır. Bu sayede, ne kadar bakterinin su fazında kaldığı tespit edilir. Çalışmada Rosenberg⁽²⁰⁾ tarafından geliştirilen HBA testinde bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. Bakteri izolatları NB besiyerine pasajlanarak 30°C'de 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında izolatların hücre süspansiyonları Fosfat Tamponlu Tuz (PBS) çözeltisi ile 0.2 OD (2 McFarland) olacak şekilde spektrofotometre vasıtasıyla 600 nm dalgaboyunda ayarlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonları *n*-dekan ile 1:3 (nonpolar (v): polar (v)) oranında karıştırıldıktan sonra vorteks cihazı ile 2 dakika boyunca tam hızda karıştırılmıştır. Oluşan emülsiyonların ayrılması için oda sıcaklığında 15 dakika beklendikten sonra, her bir örneğin alttaki sulu fazı yine spektrofotometre vasıtasıyla 600 nm'de ölçülmüştür. Bakterileri yağ fazına yapışması, karıştırma öncesi ve sonrası optik yoğunluk arasındaki oran aşağıdaki formüle göre hesaplanarak ölçülmüştür.

$$\text{HBA (\%)} = 100 \times [1 - (\text{OD}_{600} \text{ karıştırma sonrası} / \text{OD}_{600} \text{ karıştırma öncesi})]$$



Şekil 1. Hidrokarbon ekstraksiyon aşamaları: 1- Ayırma hunisi ile fazın ayrılması, 2- Döner buharlaştırıcı, 3- Evaporasyon sonrası organik fazın kazanımı, 4- Tartım işlemi.

İzolatların *n*-dekan Parçalama Kapasitelerinin Belirlenmesi: Bakteriyel isolatlar tarafından gerçekleştirilen *n*-dekan parçalama oranları gravimetrik analiz yöntemi⁽²¹⁾ ile belirlenmiştir. Bu analiz için, isolatlar öncelikle NB ortamına pasajlanarak 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Taze kültürden PBS çözeltisi ile 1 McFarland (3.0×10^8 kob/mL) olacak şekilde bakteri hücre süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan her bir bakteri süspansiyonundan 200 µL alınarak %5 *n*-dekan (v/v) içeren 20 mL NB besi ortamına inoküle edilerek 30°C'de 150 rpm'de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Ayrıca, bakteri inoküle edilmemiş bir adet aynı besiyeri ortamı ise kontrol olarak kullanılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda, ortamdaki yağ ekstraksiyonu yapılabilmesi için öncelikle tüm örnekler 6000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatantlar alınarak her bir süpernatant üzerine eşit hacimde hekzan/sikloheksan (2:1) ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Elde edilen karışımlar 5 dakika çalkalandıktan sonra, ayırma hunisi kullanılarak her bir örnek için organik faz toplanmıştır. Bu ekstraksiyon işlemi iki kez tekrarlanmıştır (Şekil 1). Ekstraksiyonla elde edilen organik faz darası alınmış bir evaporatör balonuna aktararak, bir döner buharlaştırıcı vasıtasıyla organik fazda bulunan çözgen (hekzan/sikloheksan) karışımı buharlaştırılmıştır. Evaporasyon sonrasında balonda kalan organik madde tartımları yapılarak bakteriler tarafından parçalanmış olan hidrokarbon yüzdesi hesaplanmıştır. Kalan hidrokarbon yüzdesi için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$YPO = (KBYA - ÖKYA) \times 100 / KBYA$$

YPO: Yağ parçalanma oranı; KBYA: Kontrol besiyerindeki yağın ağırlığı; ÖKYA: Örnekte kalan yağın ağırlığı.

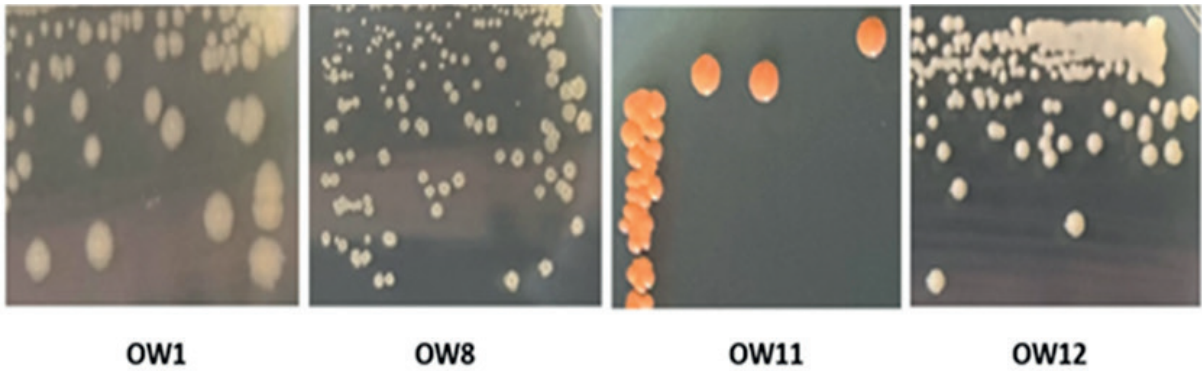
BULGULAR

Çevresel kaynaklardan yapılan bakteriyel izolasyon işlemleri ile yağ/su ara yüzüne en hızlı tutunma, biyofilm oluşturma ve *n*-dekan emülsifiye etme özelliklerine göre 12 bakteriyel izolat seçilmiştir. Bakteri izolatlarının NA besiyerinde genellikle krem ve beyaz renkli koloniler oluşturdıkları gözlemlenmiştir. Sadece OW11 kodlu izolatta turuncu renkli pigmentasyon olduğu görülmüştür (Şekil 2). İzolatların Gram boyama özelliklerinin ve ışık mikroskobu altında hücre morfolojilerinin değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 3). İzolatların ön tanılamaları için NA besiyeri üzerindeki koloni şekli, koloni rengi gibi özellikler ile Gram reaksiyonları, mikroskop morfolojileri, referans hidrokarbon (*n*-dekan) içeren BH ve NB besiyerlerinde üreme durumları, izolatlara verilen bakteri kodları ile birlikte Tablo 1'de verilmiştir.

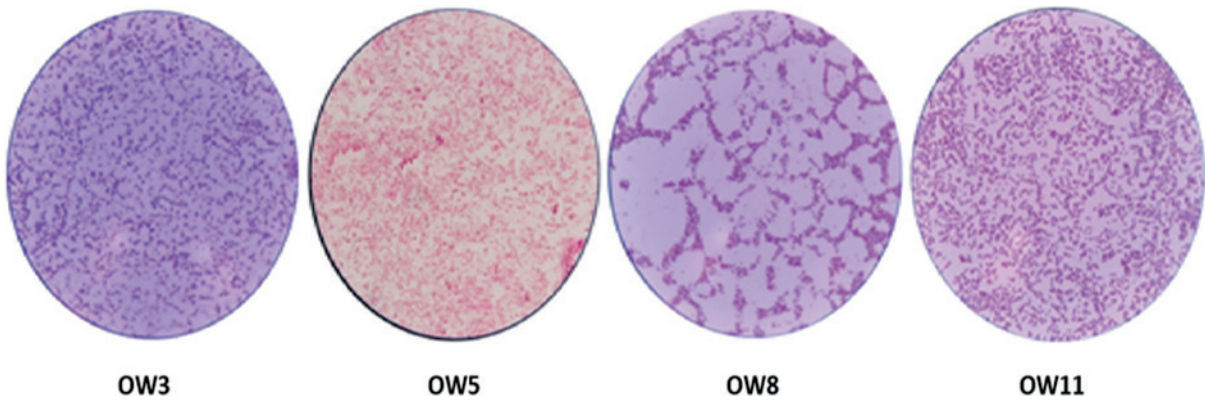
Bakteri izolatlarının %5 (v/v) *n*-dekan içeren NB ve BH besiyerlerinde 1-5 gün arasında üredikleri gözlenmiştir. OW1, OW2, OW4, OW5 ve OW7 kodlu izolatlarda 24 saat sonrasında üremeler gözlenirken; OW11 kodlu izolat 2. günde, OW12 kodlu izolat ise 3. günde üremiştir. Ayrıca, OW3, OW6, OW8, OW9 ve OW10 kodlu izolatlarda üremenin 5. günde gerçekleştiği görülmüştür. NB ve BH besiyerinde inkübasyon sonrasında OW5, OW6 ve OW11 kodlu

Tablo 1. Bakteri izolatlarının genel özellikleri

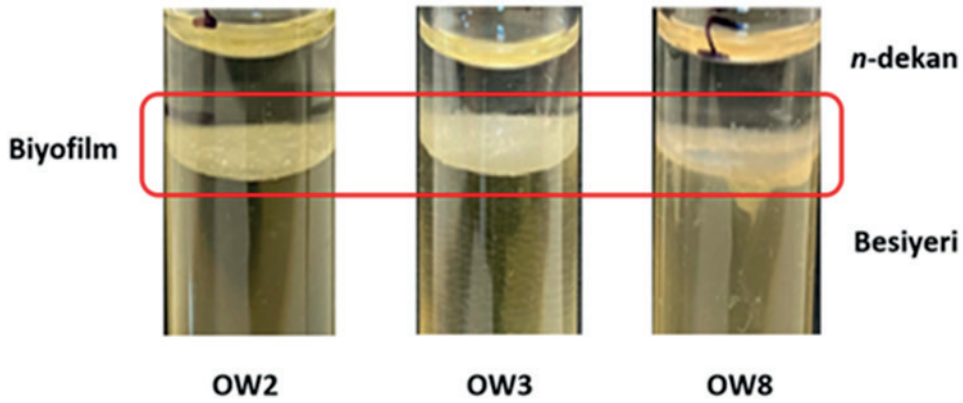
Bakteri Kodları	Genel bakteriyel karakteristikler				
	NA besiyerindeki koloni morfolojisi	Gram özelliği	Mikroskopik morfoloji	%5 <i>n</i> -dekan içeren NB'da üreme (30°C)	%5 <i>n</i> -dekan içeren BH'de üreme (30°C)
OW1	Krem	Gram negatif	Kokobasil	1 gün	1 gün
OW2	Krem-mukoid	Gram negatif	Kokobasil	1 gün	1 gün
OW3	Koyu krem	Gram pozitif	Kok	5 gün	5 gün
OW4	Beyaz	Gram negatif	Çomak	1 gün	1 gün
OW5	Şeffaf	Gram negatif	Çomak	1 gün	1 gün
OW6	Şeffaf	Gram pozitif	Çomak	5 gün	5 gün
OW7	Beyaz/küçük	Gram pozitif	Kokobasil	1 gün	1 gün
OW8	Krem/orta	Gram pozitif	Çomak	5 gün	5 gün
OW9	Krem/orta	Gram pozitif	Çomak	5 gün	5 gün
OW10	Krem/küçük	Gram negatif	Çomak	5 gün	5 gün
OW11	Turuncu	Gram pozitif	Çomak	2 gün	2 gün
OW12	Beyaz/mukoid	Gram negatif	Çomak	3 gün	3 gün



Şekil 2. İzolatlardan bazılarının NA besiyerindeki koloni görünüşleri



Şekil 3. İzolatlardan bazılarının Gram özellikleri ve mikroskop morfolojileri

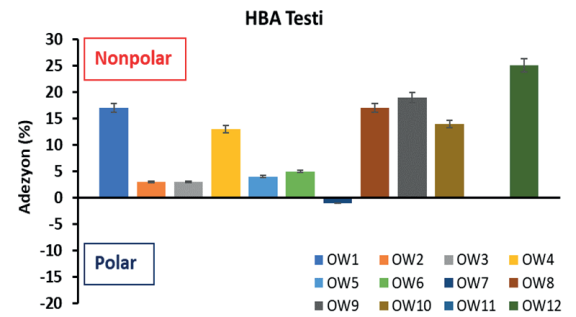


Şekil 4. Bakteri izolatlarının *n*-dekan/su ara yüzünde oluşturdukları biyofilm örnekleri

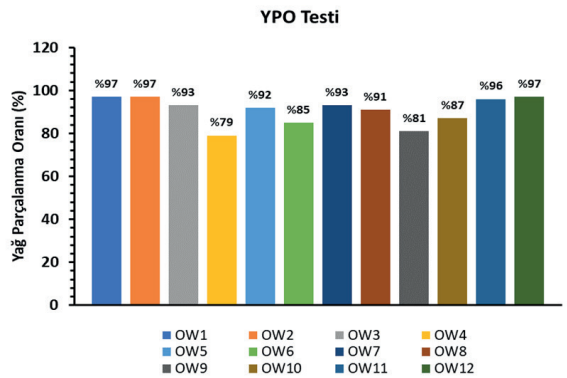
izolatlar dışında diğer izolatların çoğunun *n*-dekan/su ara yüzünde biyofilm tabakası oluşturdukları ancak bu tabakaların yapısının (kalınlık, tekstür, stabilite vb.) değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. NB besiyerinde yağ/su ara yüzüne tutunan ve biyofilm oluşumu iyi olan izolatlardan bazıları Şekil 4'te gösterilmiştir.

HBA testi sonuçlarına göre polar olmayan faza (*n*-dekan)%13,%14,%17,%17,%19 ve %25 oranlarıyla en fazla tutunan izolatların sırasıyla OW4, OW10, OW1, OW8, OW9 ve OW12 olduğu belirlenmiştir. Polar olmayan faza en az tutunan izolatlar ise, %3, %3, %4 ve %5 ile sırasıyla OW2, OW3, OW5 ve OW6 olarak belirlenmiştir. Bunun yanında, OW11 izolatının polar fazdaki bakteri yoğunluğunda herhangi bir değişiklik olmazken, OW7 izolatının polar yüzeye eğilimi olduğu gözlenmiştir (Şekil 5). OW7 ve OW11 hariç diğer bakteri izolatlarının hidrofobik karakterde olduğu görülmüştür.

Hidrokarbon giderim testinden elde edilen bulgulara göre, izolatların çoğunun yüksek hidrokarbon giderimine sahip olduğu görülmektedir. OW1, OW2, ve OW12 kodlu izolatların %97 ile, OW11 izolatının ise %96 ile en yüksek *n*-dekan giderim oranına sahip oldukları gözlenmiştir. Ayrıca en düşük *n*-dekan giderimi yapan izolatların ise sırasıyla %79 ve %81 giderim oranıyla OW4 ve OW9 oldukları saptanmıştır (Şekil 6).



Şekil 5. HBA (%) testi sonuçları



Şekil 6. İzolatlara ait hidrokarbon (*n*-dekan) giderim testi sonuçları

TARTIŞMA

Bu çalışmada, farklı çevresel örneklerden izole edilen bakterilerin *n*-dekan/su ara yüzüne en iyi şekilde tutunma, *n*-dekan parçalama ve yağ/su ara yüzü etkileşimleri incelenmiştir. Bu doğrultuda yapılan izolasyon çalışmaları sonucu çalışmaya 12 izolat dahil edilmiştir. İzolatların koloni morfolojileri, mikroskopik morfolojileri, Gram özellikleri ve *n*-dekan içeren ortamda üreme durumları incelenmiştir. İzolatların 30°C sıcaklıkta üremelerinin 1 ila 5 gün arasında olduğu ve yağ/su ara yüzüne tutunmalarının ise 2 ila 5 gün arasında gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda, biyofilm oluşumu ve hidrokarbon giderimi için inkübasyon sıcaklığının çoğunlukla 30-37°C olarak seçildiği, inkübasyon süresinin ise 48 saat ile 21 gün arasında değiştiği görülmüştür^(22,23). Basumatary ve ark.⁽²⁴⁾ hidrokarbonlarca kirletilmiş topraktan elde ettikleri izolatların 37°C'de 7 günde 135 rpm'de ürediklerini bildirmiştir. Hossain ve ark.⁽¹⁾ ise petrolle kirletilmiş topraktan elde ettikleri izolatların üremesi için optimum koşulların 37°C'de 180 rpm'de 48 saat olduğunu bildirmiştir. Onur⁽²⁵⁾ ve Aydın⁽²⁶⁾ petrolle kirletilmiş nehir suyundan aldıkları örneklerden elde ettikleri izolatları 30°C'de sırasıyla yedi gün⁽²⁵⁾ ve üç hafta⁽²⁶⁾ inkübasyona bıraktıklarını bildirmişlerdir. Li ve ark.⁽¹⁸⁾ ise petrolle kirletilmiş deniz kenarındaki topraktan elde ettikleri izolatların 30°C'de beş günde ürediğini bildirmiştir. Laothamteep ve ark.'nın⁽²⁷⁾ yaptıkları bir çalışmada, poliaromatik hidrokarbon (PAH) parçalanması için kullandıkları *Bacillus subtilis*'i 30°C'de beş gün boyunca inkübe etmiş ve 30°C sıcaklıkta PAH (Poliaromatik Hidrokarbon) parçalanmasının yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarda da görüldüğü gibi örnekleme yapılan alan veya mikroorganizma değişikçe inkübasyon koşulları da değişmektedir. Ayrıca yüksek sıcaklıkta sudaki oksijen çözünürlüğü azaldığı için aerobik mikrobiyal bozunma sınırlanabilirken, düşük sıcaklıkta ise hidrokarbon degradasyonu gerçekleşmeyebilir⁽²⁸⁾. Bu çalışmada ise, kullanılan bakteriyel izolatlar farklı çevresel kaynaklardan elde edildikleri için çalışma sıcaklığı 30°C olarak tercih edilmiştir.

Çalışmada bakterilerin çoğunun farklı yapılarda (tekstür, kalınlık vb.) biyofilm tabakası oluşturdukları gözlemlenmiştir (Şekil 4). Ayrıca NB besiyerinde biyofilm oluşumunun BH besiyerine göre daha önce gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu durumun NB besiyerindeki besin içeriklerinin daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Biyofilm, bakterilerin stres koşulları altında oluşturdukları mikrobiyal topluluklardır. Biyofilm oluşumunu yüzey yapısı⁽²⁹⁾, ortamdaki klor ve besin (karbon) miktarı⁽³⁰⁾ vb. faktörlerden etkilenebilmektedir. Chandy ve Angles⁽³⁰⁾, düşük seviyede organik karbon içeren klorlu içme sularında biyofilm oluşumunun gözlemlenmediği ve organik karbonun uzaklaştırılmasının klorun daha uzun süre ortamda kalmasına yol açtığından dolayı biyofilm oluşumunu engellediğini tespit etmişlerdir. Literatürde, bakterilerin yağ/su ara yüzünde tutundukları ve biyofilm oluşturdukları çalışmalar mevcuttur^(16,31). Bu doğrultuda petrol-su ara yüzünde oluşan mikrobiyal biyofilmin dağılmış petrol damlacıklarının stabilizasyonu ve suya dökülen petrolün giderilmesinde çevresel yönden iyi ve sürdürülebilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir⁽³²⁾. Ayrıca Mishra ve ark.⁽³³⁾ derleme olarak hazırladıkları çalışmalarında biyofilmlerde quorum sensing ve kemotaksi genlerinin kontrol edilmesiyle organik kirleticilerin ve ağır metallerin biyoremediyasyon kinetiğinin geliştirilebileceğini belirtmişlerdir. Mangwani ve ark.⁽¹⁴⁾, hidrokarbonca kirletilmiş deniz ortamından izole ettikleri polisiklik aromatik hidrokarbon (fenantren ve piren) parçalayıcı bakterilerin her iki aromatik hidrokarbona büyüydiklerini ve izolatların %75'nin biyofilm oluşturduğu tespit etmişlerdir. Ayrıca bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneğinin organik kirleticilerin biyoremediyasyon etkinliğini artırdığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde, iyi biyofilm oluşturan *Bacillus*, *Halomonas* gibi cinslerin petrol degradasyonunda kullanılabileceği bildirilmiştir⁽³⁴⁾. Lahiri ve ark.⁽¹²⁾, biyofilmin çeşitli fizikokimyasal parametrelerinin PAH gideriminin etkinliğini düzenlediğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise, OW5, OW6 ve OW11 kodlu izolatların biyofilm oluşturmada tespit edilmekle birlikte, bu izolatların sırasıyla %92, %85 ve %96 oranında *n*-dekan parçalayabildikleri gözlenmiştir (Şekil 6).

Bu sonuçlara göre, bakterilerin sulu sistemlerde yağ parçalaması için her zaman ara yüzde biyofilm oluşturmadıkları; aynı şartlar altında yağ/su ara yüzünde biyofilm oluşturma bakteriden bakteriye farklılık gösterebildiği söylenebilir.

HBA testi sonuçlarına göre izolatlardan 10 tanesinin %3-25 oranında yağ/su ara yüzüne tutundukları gözlemlenmiştir. OW7 ve OW11 izolatlarının ise yağ/su ara yüzüne tutunmadığı tespit edilmiştir. Bu durumda OW7 ve OW11 dışında kalan tüm izolatların hidrofobik özellikte olduğu tespit edilmiştir. Koolivand ve ark.⁽³⁵⁾, petrol hidrokarbonlarınca zenginleştirilmiş çamurdan izole ettikleri *Sphingomonas olei* ve *Acinetobacter radioresistens* bakterilerinin karıştırılmasıyla oluşturulan kompostun petrol giderimi özellikleri araştırmışlardır. Bu amaçla petrol giderimi, emülsifikasyon indeksi, HBA testi vb. testleri gerçekleştirmişlerdir. Her iki bakterinin karışımı ile oluşturulan kompostun HBA değerini %15.25 olarak tespit etmişlerdir. Bulgularımız genellikle literatür ile uyumlu olmasına rağmen daha yüksek HBA değerine sahip çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin, Poddar ve ark.⁽³⁶⁾ araç tamir istasyonları, garajlardan ve benzin depolarında zenginleştirme kültür ile izole ettikleri bakterilerden konsorsiyum oluşturmuşlar ve hidrokarbon giderimi, HBA testi vb. testleri gerçekleştirmişlerdir. İzolatların HBA testi sonuçlarına göre en yüksek %72.9 ile *Pantoea sp.*, en düşük %49.2 ile *Klebsiella sp.* olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi bakteriyel adhezyon değerlerinin bakteriye, ürettiği bileşenlere (EPS, biyosüfaktan vb.) göre değiştiği söylenebilir. Wang ve ark.⁽³¹⁾ yaptıkları bir çalışmada, EPS'nin moleküler bileşimindeki proteinlerin bakteriyel adhezyonu etkileyen bir faktör olduğu bildirilmiştir. Subbiahdoss ve Reimhult⁽¹⁶⁾, bakterilerin hidrofobik özellikleri ile *n*-dekan/su ara yüzünde biyofilm oluşturma durumlarını ilişkilendirmiştir. Bakterilerin hidrokarbona tutunma durumlarının biyofilm oluşumuna etkisi olsa da, ürettikleri biyosüfaktanların biyofilm yapılarına etki ettiğini bildirmişlerdir. Rodrigues ve ark.⁽³⁷⁾, hidrofobik karbon kaynağı varlığında bakterilerin hidrofobik özellikler kazandığını ve bu nedenle bakterilerin hidrofobik kirleticilerle (örneğin ham petrol) kirlenmiş ortamlarda kullanılabileceğini bildirmiştir.

Çalışmada elde edilen çevresel izolatların hidrokarbon (*n*-dekan) giderimi yetenekleri incelendiğinde, bakteri izolatlarının *n*-dekanı %79 ila %97 arasında değişen oranlarda parçalayabildikleri görülmüştür. Literatürde farklı kaynaklardan elde edilen mikroorganizmalarla değişen oranlarda hidrokarbon parçalanabildiği bildirilmiştir. Örneğin, Basumatary ve ark.⁽²⁴⁾, *Bacillus vallismortis* DU12 ve *B. vallismortis* DU14 suşları ile yaptıkları bir çalışmada, *in vitro* koşullarda motor yağının bu suşlar tarafından %26.34 ve %53.85 oranında parçalanabildiğini tespit etmişlerdir. Ansari ve ark.⁽³⁸⁾, Basra Körfezi'ndeki mercanlardan izole ettikleri *Cobetia*, *Shewanwlla*, *Alcanivorax* ve *Cellulosimicrobium* cinslerine ait suşların yüksek ham petrol giderimine sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Çalışmada IAU3568, IAU3568, IAU3502, IAU3531 ve IAU3552 suşlarının ham petrolü sırasıyla %93.5; %88.13; %87.24; %85.17 ve %77.3 oranlarında parçaladıklarını belirlemişlerdir. Bulgularımız literatürdeki çalışmalarla genel olarak uyumludur. Ayrıca hidrokarbon gideriminin zaman, mikroorganizma türü vb. faktörlerden etkilendiğini rapor eden araştırmalar da bulunmaktadır. Titah ve ark.⁽²³⁾, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas putida* ile yaptıkları bir çalışmada, bu bakterilerin zaman geçtikçe toplam petrol hidrokarbon (TPH) giderimini maksimuma ulaştırdıklarını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise, *Pseudomonas aeruginosa*'nın iki suşunun (PP3 ve PP4) yüksek moleküler ağırlıklı hidrokarbonları (>C40) parçalama yetenekleri incelenmiştir. PP3 ve PP4 suşları için ham petrol giderimi sırasıyla %50 ve %86, alkan gideriminin sırasıyla %46 ve %47, PAH gideriminin sırasıyla %22 ve %48 olarak tespit edilmiştir. PP4 suşunun PP3 suşuna göre daha etkili olduğu ve biyodegradasyon süresince tüm hidrokarbonların bakteriler tarafından biyosüfaktan üretimi için karbon kaynağı olarak kullanıldığı ve ayrıca yüksek molekülü hidrokarbonların biyosüfaktan üretimi için daha fazla kullanıldığı bildirilmiştir⁽³⁹⁾. Eze ve ark.⁽⁴⁰⁾ dizel ile kirlenmiş topraklardan rizoremediyasyon için *Medicago sativa* ve *Paraburkholderia tropica* bakterilerini izole etmişlerdir. *M. sativa* ve *P. tropica* türleri birlikte bitki toprağına aşılandığında %96 oranında C10-C25 *n*-alkan giderimini yaptığı ve ayrıca bitki biyokütlesinde %99'luk bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada izole edilen bakterilerin farklı koloni ve mikroskop morfolojisine sahip, yağ/su ara yüzüne tutunma, biyofilm oluşturma ve hidrokarbon degradasyonu gibi yeteneklerinin değişiklik gösterdiği görülmektedir. Bakterilerin hidrokarbon giderme ve biyofilm oluşturma özellikleri arasında doğrudan bir ilişki olmamasına rağmen *n*-dekana yüksek oranda tutunan izolatların hidrokarbon parçalama yeteneklerinin de yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca, bazı izolatların hidrokarbona tutunmadan parçalama yapabildikleri saptanmıştır. Petrol sızıntıları, insanlar ve hayvanlar için birçok sağlık, çevresel ve ekonomik sorunu da beraberinde getirir⁽¹⁵⁾. Bu tür çevresel problemlerin aşılabilmesi için geleneksel yöntemler yerine, sürdürülebilir teknolojik yöntemlerin tercih edilmesi zaman, maliyet ve verilen zararın en aza indirilmesi açısından önem taşımaktadır. Biyoremediyasyon çalışmaları geniş ölçeklerde uygulanabilirliği açısından umut vadeden çalışmalardır. Bu açıdan değerlendirildiğinde, mikroorganizmaların kirlenici yüzeyler ile etkileşimlerinin incelenmesi oldukça önem arz etmektedir. Özellikle, mikroorganizmaların yağ/su ara yüzüne adezyon mekanizmalarının belirlenmesi, petrol ve türevi gibi suda çözünmeyen ve su yüzeyinde faz oluşturan hidrokarbonlar ile kirlenmiş suların kirleticilerden temizlenmesi için yeni ve etkili biyoremediyasyon stratejilerinin geliştirilebilmesi açısından önemlidir. Yapılan bu çalışma bir ön araştırma niteliği taşımaktadır. Bu nedenle, bu çalışmadan elde edilen bulgular hidrokarbonlarca kirlenilmiş çevresel kaynaklardan izole edilen bu bakterilerin yağ/su ara yüzü etkileşimleri ve hidrokarbon giderimi özellikleri hakkında bir ön bilgi sağlamaktadır. Bakterilerin tür bazında tanımlanması sonraki araştırmaların konusu olabilir. Bu doğrultuda bu alanda yapılacak olan biyoremediyasyon çalışmalarına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Bu çalışma, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından 2022FEBE014 Nolu Yüksek Lisans Tez Projesi olarak desteklenmiştir.

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

Funding: This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordinatorship as BAP Project No. 2022FEBE014.

KAYNAKLAR

1. Hossain MF, Akter MA, Sohan MR, Sultana DN, Reza MA, Hoque KMF. Bioremediation potential of hydrocarbon degrading bacteria: isolation, characterization, and assessment. *Saudi J Biol Sci.* 2022;29(1):211-6. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.069>
2. Keta MN, Bello IM, Bazata YA, et al. Biodegradation of crude oil contaminated soils using fungal species. *Int J Sci Res Biol Sci.* 2021;8(4):35-41.
3. Abbasian F, Lockington R, Mallavarapu M, Naidu R. A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. *Appl Biochem Biotechnol.* 2015;176(3):670-99. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1603-5>
4. Wang HP. The study on oil pollution environmental treatment based on micro-biological degradation. *Adv Mater Res.* 2012;490-495:1743-7. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.490-495.1743>
5. Liu QY, Zhang YB, Zhao DF, Zhao CC. Bioremediation condition optimization of hydrocarbon in soil using response surface methodology by microbial consortium KL9-1. *Adv Mater Res.* 2012;518-523:2073-8. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.2073>
6. Alharbi NK, Alzaban MI, Albarakaty FM, et al. Transcriptome profiling reveals differential gene expression of laccase genes in *Aspergillus terreus* KC462061 during biodegradation of crude oil. *Biology (Basel).* 2022;11(4):564. <https://doi.org/10.3390/biology11040564>
7. Ambaye TG, Chebbi A, Formicola F, et al. Remediation of soil polluted with petroleum hydrocarbons and its reuse for agriculture: Recent progress, challenges, and perspectives. *Chemosphere.* 2022;293:133572. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133572>
8. Liang K, Gao R, Wang C, Wang W, Yan W. Chemotaxis toward crude oil by an oil-degrading 6-1B strain. *Pol J Microbiol.* 2021;70(1):69-78. <https://doi.org/10.33073/pjm-2021-006>
9. Donlan R. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(9):881-90. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>

10. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(9):563-75. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>
11. Macedo AJ, Kuhlicke U, Neu TR, Timmis KN, Abraham WR. Three stages of a biofilm community developing at the liquid-liquid interface between polychlorinated biphenyls and water. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(11):7301-9. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7301-7309.2005>
12. Lahiri D, Nag M, Dey A, et al. Biofilm mediated degradation of petroleum products. *Geomicrobiol J*. 2022;39(3-5):389-98. <https://doi.org/10.1080/01490451.2021.1968979>
13. Kostka JE, Prakash O, Overholt WA, et al. Hydrocarbon-degrading bacteria and the bacterial community response in gulf of mexico beach sands impacted by the deepwater horizon oil spill. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(22):7962-74. <https://doi.org/10.1128/AEM.05402-11>
14. Mangwani N, Kumari S, Das S. Taxonomy and characterization of biofilm forming polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria from marine environments. *Polycycl Aromat Compd*. 2021;41(6):1249-62. <https://doi.org/10.1080/10406638.2019.1666890>
15. Rahmati F, Asgari LB, Shadfar N, van Bodegom PM, van Hullebusch ED. A review on biotechnological approaches applied for marine hydrocarbon spills remediation. *Microorganisms*. 2022;10(7):1289. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071289>
16. Subbiahdoss G, Reimhult E. Biofilm formation at oil-water interfaces is not a simple function of bacterial hydrophobicity. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2020;194:111163. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111163>
17. Subbiahdoss G, Osmen S, Reimhult E. Cellulosic biofilm formation of *Komagataeibacter* in kombucha at oil-water interfaces. *Biofilm*. 2022;26(4):100071. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2022.100071>
18. Li C, Zhou ZX, Jia XQ, Chen Y, Liu J, Wen JP. Biodegradation of crude oil by a newly isolated strain *Rhodococcus* sp. JZX-01. *Appl Biochem Biotechnol*. 2013;171(7):1715-25. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0451-4>
19. Rosenberg M. Basic and applied aspects of microbial adhesion at the hydrocarbon: water interface. *Crit Rev Microbiol*. 1991;18(2):159-73. <https://doi.org/10.3109/10408419109113512>
20. Rosenberg M. Microbial adhesion to hydrocarbons: twenty-five years of doing MATH. *FEMS Microbiol Lett*. 2006;262(2):129-34. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00291.x>
21. Diallo MM, Vural C, Cay H, Ozdemir G. Enhanced biodegradation of crude oil in soil by a developed bacterial consortium and indigenous plant growth promoting bacteria. *J Appl Microbiol*. 2021;130(4):1192-207. <https://doi.org/10.1111/jam.14848>
22. Ehmedan SS, Ibrahim MK, Azzam AM, Hamedo HA, Saeed AM. Acceleration the bacterial biodegradation of crude oil pollution using Fe₂O₃ and ZnO nanoparticles. *Environ Nanotechnol Monit Manag*. 2021;16:100613. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100613>
23. Titah HS, Pratikno H, Purwanti IF, Wardhani WK. Biodegradation of crude oil spill using *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas putida* in sequencing method. *J Ecol Eng*. 2021;22(11):157-67. <https://doi.org/10.12911/22998993/142913>
24. Basumatary M, Das S, Gogoi M, Das I, Charingia D, Borah D. Evaluation of pilot scale in-vitro and ex-situ hydrocarbon bioremediation potential of two novel indigenous strains of *Bacillus vallismortis*. *Bioremediat J*. 2020;24(2-3):190-203. <https://doi.org/10.1080/10889868.2020.1799928>
25. Onur G. Screening of biosurfactant producing and diesel oil degrading bacteria from petroleum hydrocarbon contaminated surface waters [master's thesis]. Ankara: Middle East Technical University, 2015.
26. Aydın DC. Indigenous hydrocarbon degraders further evaluated for their kerosene degradation and biosurfactant production potentials [master's thesis]. Ankara: Middle East Technical University, 2018.
27. Laothamteep N, Kawano H, Vejarano F, et al. Effects of environmental factors and coexisting substrates on PAH degradation and transcriptomic responses of the defined bacterial consortium OPK. *Environ Poll*. 2021;277:116769. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116769>
28. Sharma N, Lavania M, Lal B. Microbes and their secondary metabolites: Agents in bioremediation of hydrocarbon contaminated site. *Arch Pet Environ Biotechnol*. 2019;4:151. <https://doi.org/10.29011/2574-7614.100051>
29. Lee SW, Phillips KS, Gu H, Kazemzadeh-Narbat M, Ren D. How microbes read the map: Effects of implant topography on bacterial adhesion and biofilm formation. *Biomaterials*. 2021;268:120595. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120595>
30. Chandy JP, Angles ML. Determination of nutrients limiting biofilm formation and the subsequent impact on disinfectant decay. *Water Res*. 2001;35(11):2677-82. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(00\)00572-8](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(00)00572-8)

31. Wang J, Liu Q, Dong D, Hu H, Wu B, Ren H. In-situ monitoring of the unstable bacterial adhesion process during wastewater biofilm formation: A comprehensive study. *Environ Int.* 2020;140:105722. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105722>
32. Omarova M, Swientoniewski LT, Mkam Tsengam IK, et al. Biofilm formation by hydrocarbon-degrading marine bacteria and its effects on oil dispersion. *ACS Sustainable Chem Eng.* 2019;7(17):14490-9. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b01923>
33. Mishra S, Huang Y, Li J, et al. Biofilm-mediated bioremediation is a powerful tool for the removal of environmental pollutants. *Chemosphere.* 2022;294:133609. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133609>
34. Elumalai P, Parthipan P, AlSalhi MS, et al. Characterization of crude oil degrading bacterial communities and their impact on biofilm formation. *Environ Poll.* 2021;286:117556. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117556>
35. Koolivand A, Abtahi H, Parhamfar M, Didehdar M, Saeedi R, Fahimirad S. Biodegradation of high concentrations of petroleum compounds by using indigenous bacteria isolated from petroleum hydrocarbons-rich sludge: Effective scale-up from liquid medium to composting process. *J Environ Manage.* 2019;248:109228. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.129>
36. Poddar K, Sarkar D, Sarkar A. Construction of potential bacterial consortia for efficient hydrocarbon degradation. *Int Biodeterior Biodegradation.* 2019;144:104770. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104770>
37. Rodrigues EM, Cesar DE, Santos OR, de Paula ST, Tótola MR. Hydrocarbonoclastic bacterial species growing on hexadecane: Implications for bioaugmentation in marine ecosystems. *Environ Poll.* 2020;267:115579. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115579>
38. Ansari N, Rokhbakhsh-Zamin F, Hassanshahian M, Hesni MA. Biodegradation of crude oil using symbiont crude-oil degrading bacteria isolated from corals collected at the Persian Gulf. *J Chem Technol Biotechnol.* 2021;96(7):1882-92. <https://doi.org/10.1002/jctb.6707>
39. Muthukumar B, Parthipan P, AlSalhi MS, et al. Characterization of bacterial community in oil-contaminated soil and its biodegradation efficiency of high molecular weight (>C40) hydrocarbon. *Chemosphere.* 2022;289:133168. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133168>
40. Eze MO, Thiel V, Hose GC, George SC, Daniel R. Bacteria-plant interactions synergistically enhance biodegradation of diesel fuel hydrocarbons. *Commun Earth Environ.* 2022;3:192. <https://doi.org/10.1038/s43247-022-00526-2>

Dışkıda *Helicobacter pylori* Pozitifliğinin Araştırılması: 5 Yıllık İzlem^s

Investigation of *Helicobacter pylori* Positivity in Stool: 5-year Follow-up

Bahar Akgün Karapınar[®], Cihan Yeşiloğlu[®], Aygün Mehdiyeve[®], Betigül Öngen[®]

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

Atıf/Cite as: Akgün Karapınar B, Yeşiloğlu C, Mehdiyeve A, Öngen B. Dışkıda *Helicobacter pylori* pozitifliğinin araştırılması: 5 yıllık izlem. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):118-123.

Öz

Amaç: *Helicobacter pylori* kronik gastrit, dispepsi, peptik ülser, gastrik kanser, mukoza ile ilişkili lenfoid doku kökenli lenfomayla olan ilişkisi ortaya konmuş bir enfeksiyon etkenidir. Non-invaziv bir yöntem olan dışkıda antijen testi rutin laboratuvar tanısında en sık kullanılan yöntemdir. Bu çalışmada 5 yıllık süre boyunca dışkıda *H. pylori* antijen testi sonuçlarının değerlendirilmesi ve ülkemizde yapılan prevalans çalışmalarına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda 2014-2018 yılları arasında dışkıda *H. pylori* antijen testi sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. *H. pylori* antijen testi için immunokromatografik yöntemle çalışan kit kullanılmıştır.

Bulgular: Laboratuvarımıza dışkıda *H. pylori* antijen testi isteğiyle gönderilen toplam örnek sayısı tekrarlayan testler hariç 9766'dır. Pozitif sonucu olup tekrarlayan testlerde sonucu değişen hastalara ait veriler ayrıca değerlendirilmiştir. Toplam pozitiflik oranı %31.1 olup 2014-18 arası yıllara göre pozitiflik oranları sırasıyla %14.9, %37.2, %35.9, %29.6, %34.9'dur. Toplam pozitiflik oranı sırasıyla kadın ve erkeklerde %31.9 ve %29.9, çocuk ve erişkinlerde ise sırasıyla %27.1 ve %33.5'tir. Pozitif sonucu olan hastalara ait tekrarlayan testlerde sonuçların değişimi incelendiğinde eradikasyon oranı %14.4, rekürrens oranı %2.2 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç: *H. pylori* pozitifliği dünya geneline benzer şekilde ülkemizde de yüksektir. Dışkıda antijen tespiti yöntemi tedavi sonrası eradikasyon ve rekürrensi göstermek için kullanılabilir. *H. pylori* pozitifliğinin yıllar içindeki değişimini anlayabilmek için daha uzun süreli ve devam çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ülkemizde bu kapsamda yürütülecek çalışmalar toplumda *H. pylori* prevalansının belirlenmesi ve izlemi açısından önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: *Helicobacter pylori*, dışkıda antijen testi, prevalans, yaş, cinsiyet

ABSTRACT

Objective: *Helicobacter pylori* is a causative agent of chronic gastritis, dyspepsia, peptic ulcer, gastric cancer, mucosal and lymphoid tissue-derived lymphoma. Stool antigen test, which is a non-invasive method, is the most frequently used test in the routine laboratory diagnosis. This study aims to determine the prevalence of *H. pylori* by analyzing stool antigen test results over a 5-year period and contributing to studies in Turkey that have been conducted on the topic.

Methods: We analyzed retrospectively the results of *H. pylori* stool antigen test between 2014 and 2018. Immunochromatography based assay was used for the detection of *H. pylori* antigen.

Results: The number of samples submitted to our laboratory for *H. pylori* stool antigen test within the five-year period was 9766; repetitive tests were excluded. If any positive results changed in subsequent tests, they were assessed separately. Total positivity rate was 31.1%, positivity rates according to years were 14.9%, 37.2%, 35.9%, 29.6%, 34.9% respectively from 2014 to 2018. Total positivity rates were 31.9% in females, 29.9% in males, and 27.1% and 33.5% in children and adults, respectively. Based on the changes in the repetitive tests that were positive at first, eradication rate was 14.4%, and the recurrence rate was 2.2%.

Conclusion: *H. pylori* positivity rate is high, which is in line with the rest of the world. As well as proving post-treatment eradication, stool antigen tests could be used to detect recurrent infections. In order to understand the change in *H. pylori* positivity rates over time, it is necessary to conduct long-term and extension studies. Studies in this context to be carried out in our country are essential for the determination and follow-up of *H. pylori* prevalence in the population.

Keywords: *Helicobacter pylori*, stool antigen test, prevalence, age, gender

Alındığı tarih / Received:
16.02.2022 / 16. February.2022

Kabul tarihi / Accepted:
10.03.2023 / 10. March.2023

Yayın tarihi / Publication date:
01.06.2023 / 01. June.2023

ORCID Kayıtları

B. Akgün Karapınar 0000-0002-3470-5346
C. Yeşiloğlu 0000-0002-1972-2738
A. Mehdiyeve 0000-0002-0879-762X
B. Öngen 0000-0001-9320-590X

^sBu çalışma XL. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (16-20 Kasım 2022, Belek, Antalya) sunulmuştur. Sözel sunum no: SS-117.

✉ akgund@yahoo.com

GİRİŞ

Helicobacter pylori ilk olarak 1982 yılında Barry Marshall ve Robin Warren tarafından gastrit ve peptik ülseri olan hastaların biyopsi örneklerinden izole edilmiş, kültürde üreme özellikleriyle *Campylobacter* cinsi ile ilişkili olduğu düşünülmüş ve identifiye edilememiş kıvrık, gram negatif çomak olarak tanımlanmıştır⁽¹⁾. Keşfiyle araştırmacılarına 2005 yılında Nobel fizyoloji ve tıp ödülünü kazandıran⁽²⁾, üreaz pozitif, hareketli bu bakteri takip eden yıllarda çok sayıda çalışmanın odağı olmuş; kronik gastrit, dispepsi, peptik ülser, gastrik kanser, mukoza ile ilişkili lenfoid doku kökenli (MALT) lenfomayla olan ilişkisi ortaya konmuş hatta mide dışı hastalıklara da yol açabileceği bildirilmiştir^(3,4). *H. pylori* enfeksiyonlarının tanısında histolojik tanı, kültür, hızlı üreaz testi, moleküler temelli testler gibi endoskopik girişim gerektiren invaziv yöntemler veya üre-nefes testi, dışkıda antijen testi gibi invaziv olmayan yöntemler kullanılabilir. Tanı için yöntem seçiminin hastanın yaşı, klinik belirtileri, antibiyotik kullanımı, teste ulaşım, testin güvenilirliği ve maliyeti gibi birçok faktörün göz önünde bulundurularak yapılması önerilmektedir⁽³⁾. Dışkıda antijen testi tanıda ve tedavi sonrası eradikasyonun tespiti için yaygın olarak kullanılan, maliyet etkin, invaziv olmayan tanı yöntemlerinden biridir⁽⁵⁾. Farklı ticari kitlerle yapılan çalışmalarda yüksek duyarlılık ve özgüllük oranları bildirilmiştir⁽⁶⁾. Prevalans çalışmalarından yapılan tahminlere göre 2015 yılı itibarıyla 4.4 milyar insan *H. pylori* ile enfektedir⁽⁷⁾. Bu çalışmada beş yıllık süre boyunca gaitada *H. pylori* antijen testi sonuçlarının değerlendirilmesi ve ülkemizde yapılan prevalans çalışmalarına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurul tarafından (08.11.2019 tarih ve 2046 karar numarası) onaylanmıştır.

Çalışmamızda Ocak 2014-Aralık 2018 tarihleri arasındaki beş yıllık sürede laboratuvarımıza dışkıda *H. pylori* antijeni testi isteğiyle gönderilen hastalara ait sonuçlar retrospektif olarak incelenmiştir.

Örnekler monoklonal antikorların kullanıldığı immunokromatografik kit (Lungene, Hangzhou Clongene Biotech Co. Ltd, Çin) ile kullanım talimatlarına uygun şekilde çalışılmıştır. Sonuçlar yıl ve hastaların yaş grupları ve cinsiyet özellikleri gibi demografik özelliklerine göre gruplandırılmıştır. Her hastanın ilk başvuru yaptığı testi çalışmaya alınmış, tekrarlayan testler sonucun aynı kalması durumunda çalışma dışı bırakılmıştır. Pozitif sonucu olan hastalara ait tekrarlayan testlerde sonuçların değişimi ayrıca incelenmiştir.

Tanımlayıcı istatistikler sayımla belirlenen veriler için yüzde oranlarla birlikte sunulmuştur. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında, kategorik veriler için ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için %95 güven aralığında 0.05'in altında bulunan p değerleri anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler için İstanbul Üniversitesi tarafından lisanslı olan "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS) programı, 15.0 sürümü kullanılmıştır.

BULGULAR

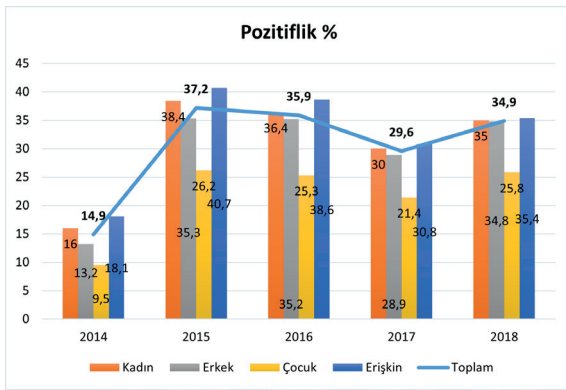
Laboratuvarımıza 2014-2018 yılları arasında dışkıda *H. pylori* antijen testi isteğiyle gönderilen toplam örnek sayısı 10.292 olup tekrarlayan testler hariç örnek sayısı 9766'dır. Örneklerin %62.4'ü kadın (n=6099), %37.6'sı erkek hastalara (n=3667), %18.7'si (n=1835) 18 yaş altı, %81.2'si (n=7931) ise 18 yaş üstü hastalara aittir. Örnek sayılarının yıllara göre dağılımı 2014'ten 2018'e sırasıyla 1680, 1763, 2131, 1857, 2335'tir (Tablo 1).

Toplam pozitiflik oranı %31.1 olup (n=3039) yıllara göre pozitiflik oranları Şekil 1'de verilmiştir. Kadın ve erkeklerde toplam pozitiflik oranı sırasıyla %31.9 ve %29.9'dur. Yıllara göre pozitiflik oranı 2014'ten 2018'e sırasıyla kadınlarda %16, %38,4, %36,4, %30, %35 olup erkeklerde yine sırasıyla %13,2, %35,3, %35,2, %28,9 ve %34,8'dir (Şekil 1).

Çocuk ve erişkinlerde toplam pozitiflik oranları sırasıyla %27.1 ve %33.5'tir. Çocuklarda 2014-2018 yılları arasındaki pozitiflik oranları sırasıyla

Tablo 1. Hastaların yaş grubu, cinsiyet ve yıllara göre dağılımı

	Cinsiyet n (%)		<18 yaş n (%)		≥18 yaş n (%)	Toplam
	Kadın	Erkek	0-5 yaş	6-17 yaş		
2014	992 (59.0)	688 (41.0)	128 (7.6)	503 (29.9)	1049 (62.4)	1680
2015	1084 (61.5)	679 (38.5)	71 (4.0)	352 (19.9)	1340 (76.0)	1763
2016	1319 (61.9)	812 (38.1)	81 (3.8)	338 (15.8)	1712 (80.3)	2131
2017	1182 (63.6)	675 (36.4)	42 (2.2)	196 (10.5)	1619 (87.1)	1857
2018	1522 (65.2)	813 (34.8)	24 (1.0)	100 (4.2)	2211 (94.6)	2335
Toplam	6099 (62.4)	3667 (37.6)	1835 (18.7)	7931 (81.2)		9766



Şekil 1. Pozitiflik oranlarının yaş, cinsiyet ve yıllara göre dağılımı

%9.5, %26.2, %25.3, %21.4, %25.8; erişkinlerde ise bu oranlar sırasıyla %18.1, %40.7, %38.6, %30.8, %35.4'tür (Şekil 1).

Pozitif sonucu olup tekrarlayan testlerde sonucu değişen hatalara ait sonuçlar şu şekildedir:

- İlk testi pozitif- ikinci testi negatif olan 452,
- İlk testi pozitif, ikinci testi pozitif, üçüncü testi negatif 62,
- İlk testi pozitif, ikinci testi negatif, üçüncü testi pozitif olan 12 hastaya ait veri mevcuttur.

TARTIŞMA

Tüm dünyadan bildirilen prevalans çalışmaları, ülke ve kıta bazlı yapılan analizler *H. pylori*'nin global bir enfeksiyon etkeni olduğu göstermektedir⁽⁸⁾. Bildirilen prevalanslar geniş bir aralıkta değişmekte olup Hooi ve ark.⁽⁷⁾ 62 ülkeden yayınlanmış çalışmayı derledikleri meta-analizde global *H. pylori* prevalansını %48,5, Zamani ve ark.⁽⁸⁾ ise 73

ülkeden yapılmış çalışmayı dahil ettikleri sistematik derleme ve meta-analizlerinde bu oranı %44.3 olarak bildirmiştir. Avrupa'dan bildirilen çalışmalarda da *H. pylori* prevalansı %11-84 arasında değişmektedir⁽⁹⁾. Bu araştırmalarda dikkat çeken ortak özellik dahil edilen çalışmalarda bildirilen prevalansların farklı bölgelerde büyük değişiklik göstermesidir⁽⁷⁻⁹⁾. Aynı zamanda gelişmiş ülkelerde bildirilen oranlar gelişmekte olan ülkelere göre daha düşüktür hatta *H. pylori* enfeksiyonu oranının toplumların sosyoekonomik ve sağlık durumlarını gösterir bir kriter olarak değerlendirilmesi önerilmiştir. Ülkemizde yürütülmüş en kapsamlı prevalans çalışmalarından biri ülke çapında yürütülmüş toplum bazlı TURHEP çalışmasıdır. Üre-nefes testi kullanılarak 18 yaş üstü bireylerin dahil edildiği bu çalışmada prevalans %82.5 olarak bildirilmiştir⁽¹⁰⁾. Bunun yanında farklı illerde yürütülmüş birçok prevalans çalışması mevcuttur. Bu çalışmalardan 2015 ve sonrasına ait verileri içeren çalışmaların bazılarında Tablo 2'de yer verilmiş olup bildirilen prevalanslar %8.9-41 aralığında değişmektedir⁽¹¹⁻¹⁶⁾. Bizim çalışmamızda prevalans %31.1 olarak saptanmıştır. Her ne kadar bildirilen oranlar büyük değişkenlik gösterse de çalışmamızda belirlenen prevalansın hem dünyadan hem de ülkemizden bildirilen alt ve üst sınırlar göz önüne alındığında literatürle uyumlu olduğu düşünülmüştür. Çalışmamız 5 yıllık bir süreyi kapsamaktadır ve 10.292 hastaya ait örnek dahil edilmiştir. Bu sayı ülkemizde yürütülmüş çalışmalar arasında en yüksek örneklem sayılarından biri olup çalışmamızın güçlü yanlarından biri olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda yıllara göre pozitiflik oranları karşılaştırıldığında 2014 ve 2017 yıllarına ait pozitiflik oranları diğer yıllara göre istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 2. Ülkemizde *Helicobacter pylori* pozitifliğini belirlemeye yönelik bazı çalışmalar

İl	Yıl	Örnek sayısı	Pozitiflik yüzdesi (%)	Kaynak no
Rize	2013-2019	8551	8.9	11
Konya	2013-2018	4857	10.8	12
İzmir	2014-2018	1142	10.9	13
Samsun	2016-2019	3349	16.9	14
İstanbul	2015-2019	4696	25.0	15
Van	2016-2017	318	41.0	16

olacak şekilde düşüktür ($p<0.001$). Özellikle 2014 yılındaki pozitiflik oranının diğer yıllara göre daha düşük oluşu, 2014 yılında incelenen hastalar içinde <18 yaş çocukların oranının diğer yıllara göre daha yüksek oluşuna ve/veya klinik test isteminin uygunluğuna bağlı olabilir. Farklı coğrafyalardan⁽¹⁷⁾ ve ülkemizden⁽¹⁵⁾ *H. pylori* prevalansının yıllar için düşüş gösterdiği yönünde bildiriler mevcuttur. Ancak çalışmamıza ait sonuçlar kapsadığı süre boyunca kendi içinde ve bildirilen diğer çalışmalarla kıyaslandığında bu görüşü desteklememektedir. *H. pylori* prevalansının zaman içindeki değişimini daha net belirleyebilmek için uzun dönemli veya devam çalışmalarına ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

İbrahim ve ark.⁽¹⁸⁾ *H. pylori* pozitifliğinin tüm yaş gruplarında erkeklerde daha fazla olduğunu belirtse de Zamani ve ark.⁽⁸⁾ bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmiştir. Ülkemizden bildirilen çalışmalarda Ozyayın ve ark.⁽¹⁰⁾ *H. pylori* pozitifliğinin erkeklerde daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Buna karşın bildirilen birçok çalışmada bazılarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da^(15,16) pozitiflik oranı kadınlarda daha yüksek bulunmuştur⁽¹²⁻¹⁶⁾. Çalışmamızda tüm yıllarda örnekleri değerlendirilen hastalarda kadın cinsiyet oranı istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksektir ($p=0.001$). Pozitiflik oranı kadınlarda tüm yıllarda daha yüksek olmakla birlikte cinsiyetler arasında pozitiflik oranı açısından istatistiksel anlamlı fark yoktur ($p>0.05$).

Helicobacter pylori'nin çocukluk çağına kazanıldığı ve tedavi edilmediği sürece pozitifliğin hayat boyu sürdüğü düşünülmektedir⁽¹⁷⁾. *H. pylori* prevalansının erişkinlerde çocuklara göre daha yüksek olmasının ise

doğum kohortu etkisi veya yaşla birlikte enfeksiyon etkenine artan maruziyet riskiyle açıklanabileceği öngörülmektedir⁽⁸⁾. Çalışmamızda da yaşla birlikte artan pozitiflik oranları dikkat çekici olup 18 yaş ve üstü bireylerdeki pozitiflik oranı çocuklara kıyasla 2014-2016 yıllarında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı ($p<0.01$), diğer yıllarda ise anlamlı olacak şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Dışkıda *H. pylori* antijen testi tanısal doğruluğu yüksek bir tanı yöntemidir. Gisbert ve ark.⁽⁵⁾ 89 çalışmayı dahil ettikleri derlemelerinde dışkıda antijen testinin ortalama duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif öngörü değerlerini sırasıyla %91, %93, %92 ve %87 olarak hesaplamıştır. Bunun yanında dışkıda antijen testi tedavi sonrası eradikasyonu göstermek için de kullanılmaktadır⁽⁵⁾. Çalışmamızın güçlü yanlarından biri tekrarlayan testlerin takibinin ayrıca yapılarak *H. pylori* eradikasyonun gösterilmesi ve rekürrens oranının belirlenmiş olmasıdır. Çalışmamızda pozitif sonucu olup tekrarlayan testlerinde sonucu pozitiften negatife dönen hasta sayısı 526'dır. Bu hastaların herhangi bir testi pozitif tespit edilen hastalar ($n=3565$) içindeki oranı %14.4'tür. Hu ve ark.⁽¹⁹⁾ küresel yıllık rekürrens oranını %4.3 olarak hesaplamıştır. Bizim çalışmamızda tekrarlayan testi pozitiften negatife dönen 526 hastadan 12'sinin takip eden testi pozitif tespit edilmiş ve rekürrens oranı %2.2 olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada *H. pylori* pozitifliğinin dünya geneline benzer şekilde ülkemizde de yüksek olduğu, pozitiflik oranının erişkinlerde çocuklardan daha sık olduğu, cinsiyetler arasında ise anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir. *H. pylori* tanısında

kullanılan dışkıda antijen tespiti yönteminin tedavi sonrası eradikasyon ve rekürrensi göstermek için de kullanılabileceği görülmektedir. Çalışmamızın sonuçları ve mevcut literatür göz önünde bulundurulduğunda ülkemizde *H. pylori* pozitifliğinin yıllar içindeki değişimini anlayabilmek için daha uzun süreli ve devam çalışmaları gerektiği sonucuna varılmıştır. Ülkemizde yürütülecek çalışmaların toplumda *H. pylori* sıklığının belirlenmesi ve izlemi için önem taşıdığı düşünülmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurul tarafından (08.11.2019 tarih ve 2046 karar numarası) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Health Sciences University, İstanbul Research and Education Hospital, Clinical Research Ethics Committee (11.08.2019; 2046).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984;1(8390):1311-5. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(84\)91816-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(84)91816-6)
2. Pincock S. Nobel prize winners Robin Warren and Barry Marshall. *Lancet*. 2005;366(9495):1429. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67587-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67587-3)
3. Guevara B, Cogdill AG. *Helicobacter pylori*: a review of current diagnostic and management strategies. *Dig Dis Sci*. 2020;65(7):1917-31. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06193-7>
4. Malfertheiner P, Link A, Selgrad M. *Helicobacter pylori*: perspectives and time trends. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11(10):628-38. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.99>
5. Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter*. 2004;9(4):347-68. <https://doi.org/10.1111/j.1083-4389.2004.00235.x>
6. Godbole G, Megraud F, Bessede E. Review: Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2020;25(Suppl 1):e12735. <https://doi.org/10.1111/hel.12735>
7. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, et al. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017;153(2):420-9. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.022>
8. Zamani M, Ebrahimitabar F, Zamani V, et al. Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018;47(7):868-76. <https://doi.org/10.1111/apt.14561>
9. Venneman K, Huybrechts I, Gunter MJ, Vandendaele L, Herrero R, Van Herck K. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in Europe and the impact of lifestyle on its natural evolution toward stomach cancer after infection: a systematic review. *Helicobacter*. 2018;23(3):e12483. <https://doi.org/10.1111/hel.12483>
10. Ozaydin N, Turkyilmaz SA, Cali S. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* in Turkey: a nationally-representative, cross-sectional, screening with the ¹³C-Urea breath test. *BMC Public Health*. 2013;13:1215. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-1215>
11. Bahçeci İ, Yıldız İE. İlimizde *Helicobacter pylori* sıklığının değerlendirmesi: yedi yıllık çalışma. *Türk J Clin Lab*. 2021;12(3):260-4. <https://doi.org/10.18663/tjcl.954009>
12. Maçın S, Çiftçi N, Başer S. Türkiye’de bir üniversite hastanesi’ndeki *Helicobacter pylori* enfeksiyon sıklığı. *Genel Tıp Derg*. 2021;31(1):45-9.
13. Bilman FB, Yetik M. Dispeptik yakınmaları olan hastaların dışkı örneklerinde *Helicobacter pylori* antijen pozitifliğinin değerlendirilmesi. *Klinik Tıp Bilimleri Derg*. 2018;6(2):5-8.
14. Gür Vural D, Karacan G, Tanrıverdi Çaycı Y, Bilgin K, Birinci A. *Helicobacter pylori* enfeksiyonu tanısında gaitada antijen arama test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Sağlık Bil Değer*. 2022;12(2):246-9. <https://doi.org/10.33631/sabd.1113235>
15. Sarp TZ, Dinç HÖ, Özbey D, et al. Gastroduodenal yakınmaları olan hastaların dışkı örneklerinde *Helicobacter pylori* antijen pozitifliğinin retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2021;51(1):61-9. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2021.85856>

16. Sakman A, Bayram Y, Parlak M, GÜDÜCÜOĞLU H. Aile sağlığı merkezine başvuran hastalarda *Helicobacter pylori* sıklığı. TJFMP. 2021;15(3):418-23. <https://doi.org/10.21763/tjfmpe.813379>
17. Nagy P, Johansson S, Molloy-Bland M. Systematic review of time trends in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in China and the USA. Gut Pathog. 2016;8:8. <https://doi.org/10.1186/s13099-016-0091-7>
18. Ibrahim A, Morais S, Ferro A, Lunet N, Peleteiro B. Sex-differences in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in pediatric and adult populations: systematic review and meta-analysis of 244 studies. Dig Liver Dis. 2017;49(7):742-9. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2017.03.019>
19. Hu Y, Wan JH, Li XY, Zhu Y, Graham DY, Lu NH. Systematic review with meta-analysis: the global recurrence rate of *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther. 2017;46(9):773-9. <https://doi.org/10.1111/apt.14319>

Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne Başvuran Hastalarda HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV ve Anti-HIV Seroprevalansı

HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV, and Anti-HIV seroprevalence among patients admitted to Kafkas University Health Research and Training Hospital

Didem Özgür[®]

Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

Atıf/Cite as: Özgür D. Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne başvuran hastalarda HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV ve Anti-HIV seroprevalansı. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):124-132.

Öz

Amaç: Viral hepatitler ve HIV önemli bir halk sağlığı problemidir. Bu çalışmada, Kars ilinde HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV seropozitifliklerinin belirlenmesi, yaş gruplarına ve cinsiyetlere göre dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Ocak 2020 ve Aralık 2022 yılları arasında, hastanemize çeşitli nedenlerle başvuran hastalara ait HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV test sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hasta örnekleri, kemiluminesans mikropartikül immuno assay yöntemiyle ELISA cihazında çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda, HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV seropozitiflikleri sırasıyla %1.6 (355/22.635), %26.8 (5.455/20.381), %0.1 (33/22.176) ve %0.03 (6/21.801) oranlarında tespit edilmiştir. HbsAg pozitif saptanan hastaların %5.6 (20/355)'sında ve anti-HCV pozitif saptanan hastaların %45.4 (15/33)'ünde anti-HBs pozitifliği; HIV pozitif saptanan hastaların %16.7 (1/6)'sinde HBsAg pozitifliği tespit edilmiştir. HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV pozitif saptanan hastaların sırasıyla %60.8 %60.6 ve %100'ünün erkek; anti-HBs pozitif saptanan hastaların %51.6'sının kadın olduğu görülmüştür. HBsAg, anti-HBs ve anti-HIV pozitif saptanan hastaların cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0.001$, $p<0.001$ ve $p=0.022$). HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV testleri için, en fazla pozitiflik saptanan hastaların sırasıyla 51-64 (%34.4), 19-30 (%44.3), 19-30 (%36.3) ve 31-50 (%50) yaş aralıklarında olduğu tespit edilirken, en düşük seropozitiflik oranlarının 18 yaş altında olduğu görülmüştür. HBsAg ve anti-HBs pozitif saptanan hastaların yıllara göre, yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0.001$).

Sonuç: Ülkemizdeki viral hepatit ve HIV seropozitifliklerinin belirlenmesi, tanı ve tedavinin yanı sıra korunma ve kontrol stratejilerinin de geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Hepatit B virüsü, Hepatit C virüsü, HIV

ABSTRACT

Objective: Viral hepatitis and HIV are important public health problems. This study was aimed to determine the seropositivity of HBsAg, anti-HBs, anti-HCV, and anti-HIV and investigate the distribution according to age groups and genders in Kars province.

Methods: HBsAg, anti-HBs, anti-HCV and anti-HIV test results of patients who applied to our hospital for various reasons between January 2020 and December 2022 were evaluated retrospectively. Patient samples were studied by the chemiluminescence microparticle immunoassay method in ELISA device.

Results: In our study, HBsAg, anti-HBs, anti-HCV and anti-HIV seropositivity rates were 1.6% (355/22.635), 26.8% (5.455/20.381), 0.1% (33/22.176), and 0.03% (6/21.801), respectively. Anti-HBs positivity was found in 5.6% (20/355) of HBsAg positive patients and 45.4% (15/33) of anti-HCV positive patients; HBsAg positivity was detected in 16.7% (1/6) of HIV-positive patients. It was observed that 60.8%, 60.6% and 100% of the HBsAg, anti-HCV and anti-HIV positive patients were male, respectively, and 51.6% of the anti-HBs positive patients were female. A statistically significant difference was found between the genders of the patients who were found to be positive for HBsAg, anti-HBs and anti-HIV ($p<0.001$, $p<0.001$ and $p=0.022$, respectively). HBsAg, anti-HBs, anti-HCV and anti-HIV positivity were highest in 51-64 (34.4%), 19-30 (44.3%), 19-30 (36.3%) and 31-50 (50%) age groups, respectively, and the lowest seropositivity rates were among the group under 18 years. There was a statistically significant difference between the age groups and years of HBsAg and anti-HBs positive patients ($p<0.001$).

Conclusion: The determination of viral hepatitis and HIV seropositivity in our country will contribute to the development of prevention and control strategies as well as diagnosis and treatment.

Keywords: Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, HIV

Alındığı tarih / Received:
28.12.2022 / 28.December.2022
Kabul tarihi / Accepted:
14.03.2023 / 14.March.2023
Yayın tarihi / Publication date:
01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

D. Özgür 0000-0002-8320-9453

✉ dido-ozgur@hotmail.com

GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV), Hepatit C virüsü (HCV) ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) özellikle gelişmekte olan ülkelerde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan önemli halk sağlığı problemleridir⁽¹⁻³⁾.

HBV ve HCV; enfeksiyöz kan ve vücut sıvılarıyla (semen ve vajinal salgılar gibi) mukozal temas ile, parenteral ve deri bütünlüğünün bozulduğu durumlarda perkütan yolla bulaşabilmektedir⁽²⁾. HBV ve HCV enfeksiyonuna bağlı olarak akut veya kronik hepatit tablosu (fibrozis, siroz, hepatoselüler karsinoma [HSK] ve karaciğer yetmezliği) geliştirebilmektedir⁽⁴⁾. Ülkemizde HBV enfeksiyonunun siroz olgularının %30–40'ından, HSK olgularının %40–50'sinden; HCV enfeksiyonunun ise siroz olgularının %25'inden ve HSK olgularının %25–30'undan sorumlu olduğu bildirilmiştir⁽⁵⁾. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 2019 yılında 296 milyon kişinin kronik HBV enfeksiyonu, 58 milyon kişinin de HCV enfeksiyonu ile yaşadığını ve viral hepatitlerden kaynaklı 1.1 milyon ölümün %96'sından HBV ve HCV'nin sorumlu olduğunu tahmin etmektedir⁽⁶⁾. DSÖ verilerine göre Türkiye; HCV için düşük, HBV için orta düzeyde endemik bölgeler arasında yer almaktadır⁽⁷⁾.

İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü temel olarak CD4+ T lenfositlerini hedef alarak immün sistemin baskılamasına ve Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu (AIDS)'na neden olmaktadır⁽⁸⁾. İlk AIDS vakaları 1981 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde tanımlandıktan sonra, ülkemizde 1985 yılında ilk vaka tespit edilmiştir ve bildirimi zorunlu hastalıklar listesinde yer almaktadır^(9,10). İnsan immün yetmezlik virüsü, en sık intravenöz ilaç uygulamalarında ortak iğne kullanımı, korunmasız heteroseksüel ve homoseksüel cinsel aktiviteler yoluyla bulaşmaktadır⁽⁹⁾. DSÖ'nün 2021 raporuna göre; tüm dünyada tahmini HIV ile enfekte 37.7 milyon (30.2–45.1 milyon) insan bulunmaktadır. Dünya genelinde 2020 yılı içinde 1.5 milyon [1.0 milyon–2.0 milyon] kişide yeni HIV enfeksiyonu geliştiği ve 680.000 (480.000–1.0 milyon) insanın HIV ile ilgili bir nedenden öldüğü bildirilmiştir⁽⁶⁾. Türkiye'de 2022 yılında doğrulanmış 2901 HIV ve 70 AIDS vakası tespit edilmiştir⁽¹⁰⁾.

DSÖ ve Birleşmiş Milletler HIV/AIDS Ortak Programı, 2030 yılına kadar bu virüslerin küresel olarak ortadan kaldırılmasına yönelik çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Belirlenen stratejilerin başarılı olabilmesi; HBV, HCV ve HIV enfeksiyonları ile yaşayan tüm kişilerin en az %90'ının test edilmesine ve tanı konulmasına bağlıdır⁽¹¹⁾.

Ülkemizde viral hepatitler ve HIV seropozitifliği ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle kan donörlerini veya spesifik bir hasta grubunu içermektedir. Bu çalışmalar toplumdaki seropozitiflik oranlarını net bir biçimde yansıtmamaktadır. Bu nedenle belirli hasta grubunu içeren çalışmaların yanı sıra, genel popülasyonu kapsayacak şekilde yapılan daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmada, hastanemize çeşitli sebeplerle başvuran kişilerde hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit B yüzey antikoru (anti-HBs), HCV antikoru (anti-HCV) ve HIV antikoru (anti-HIV) seropozitifliklerinin belirlenmesi, yaş ve cinsiyete göre dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma, Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Etik Kurulu tarafından (30.11.2022 tarih ve 09 karar numarası) onaylanmıştır.

Çalışmamızda 1 Ocak 2020 ve 1 Aralık 2022 tarihleri arasında, Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne çeşitli nedenlerle başvuran hastalara ait HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV test sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Her bir test için, bir hastaya ait yalnızca tek bir test sonucu çalışmaya dahil edilmiştir. Aynı yıl içinde ve yıllar arasında tekrarlayan hasta sonuçları çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır.

Hasta serumlarında HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV seropozitifliği Architect i2000 (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Almanya) cihazında kemiluminesan mikropartikül immunoassay (CMIA) yöntemiyle üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılmıştır. Hastalara ait serumlarda HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV için ≥ 1.0 S/CO [örnekte tespit edilen sinyal/cut-off (kesme değeri)]; anti-

HBs için ise ≥ 10 IU/ml tespit edilen sonuçlar pozitif olarak kabul edilmiştir. Anti-HIV pozitifliği saptanan hastaların serumları, doğrulama testi için Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Ulusal AIDS Doğrulama Merkezi ve Viral Hepatitler Laboratuvarına gönderilmiş ve pozitif çıkan örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastalar yaşlarına göre 18 yaş ve altı, 19–30, 31–50, 51–64, 65 yaş ve üzeri olmak üzere beş gruba ayrılmıştır.

Pozitif saptanan hastalar arasında yıllara, cinsiyete ve yaş gruplarına göre anlamlı bir farklılık olup olmadığı analiz edilmiştir. İstatistiksel analizlerde tanımlayıcı istatistikler, kategorik değişkenler için yüzde ve frekanslar belirlenmiştir. Kategorik değişkenlerin analizinde ki-kare (χ^2) testi ve ikiden fazla grubun karşılaştırıldığı durumlarda post-hoc analizleri uygulanmıştır. Post-hoc analizinde Benfori düzeltmesi kullanılmıştır. Tüm analizlerde istatistiksel olarak anlamlılık düzeyi (p değeri) < 0.05 olarak kabul edilmiş ve analizler IBM SPSS 24.0 istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Hastanemize çeşitli sebeplerle başvuran, yaşları 1 ay ile 100 yıl arasında değişen toplam 23.630 hastaya ait test sonuçları değerlendirilmiştir. Hastaların %55 ($n=12.996$)'inin kadın, %45 ($n=10.634$)'inin ise erkek olduğu görülmüştür. Çalışmaya dahil edilen hastalara ait test sonuçları incelendiğinde; HBsAg

testinin toplam 22.625 hastanın 355 (%1.6)'inde pozitif olduğu, anti-HBs testinin 20.381 hastanın 5.455 (%26.8)'inde, anti-HCV testinin 22.176 hastanın 33 (%0.1)'ünde ve anti-HIV testinin 21.801 hastanın 6 (%0.03)'sında pozitif olduğu görülmüştür. HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV testleri için sırasıyla, 2020 yılında %1.5, %27.3, %0.1 ve %0.05 oranlarında; 2021 yılında %1.6, %26.7, %0.2 ve %0.03 oranlarında; 2022 yılında %1.6, %26.4, %0.1 ve %0.01 oranlarında seropozitiflik belirlenmiş olup, yıllara göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır (Tablo 1). Ayrıca HbsAg pozitif saptanan hastaların %5.6 (20/355)'sında ve anti-HCV pozitif saptanan hastaların %45.4 (15/33)'ünde anti-HBs pozitifliği birlikte tespit edilmiştir.

Cinsiyetlere göre bakıldığında kadınların %1.1 (139/12496) 'inin HBsAg, %25.2 (2816/11.161)'sinin anti-HBs, %0.1 (13/12.173)'inin anti-HCV pozitif; erkek hastaların da %2.1 (216/10.129) 'inin HBsAg, %28.6 (2.639/9.220)'sinin anti-HBs, %0.2 (20/10.003)'sinin de anti-HCV ve %0.006 (6/9.858)'sinin de anti-HIV pozitif olduğu tespit edilmiştir. HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV pozitif saptanan hastaların sırasıyla %60.8 %60.6 ve %100'ünün erkek olduğu görülmüştür. Anti-HBs pozitif saptanan hastaların dağılımına bakıldığında %51.6'sının kadın olduğu saptanmıştır. HBsAg, anti-HBs ve anti-HIV pozitif saptanan hastaların cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p = 0.022$) (Tablo 2).

Tablo 1. HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV testlerinde yıllara göre pozitif ve negatif hasta sayıları (n) ve oranları (%).

		2020	2021	2022	2020-2022	p
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
HBsAg	Pozitif	92 (1.5)	131 (1.6)	132 (1.6)	355 (1.6)	0.57
	Negatif	6175 (98.5)	8044 (98.4)	8051 (98.4)	22270 (98.4)	
Anti-HBs	Pozitif	1462 (27.3)	1977 (26.7)	2016 (26.4)	5455 (26.8)	0.56
	Negatif	3897 (72.7)	5420 (73.3)	5409 (73.6)	14926 (73.2)	
Anti-HCV	Pozitif	8 (0.1)	14 (0.2)	11 (0.1)	33 (0.1)	0.72
	Negatif	6124 (99.9)	7924 (99.8)	8095 (99.9)	22143 (99.9)	
Anti-HIV	Pozitif	3 (0.05)	2 (0.03)	1 (0.01)	6 (0.03)	0.42
	Negatif	6032 (99.95)	7814 (99.97)	7949 (99.99)	21795 (99.97)	

HBsAg: Hepatit B yüzey antijeni; anti-HBs: Hepatit B yüzey antikoru; anti-HCV: Hepatit C virüsü antikoru; anti-HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü antikoru.

Tablo 2. HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV pozitif hastaların cinsiyete ve yıllara göre dağılımı.

	2020		p	2021		p	2022		p	2020-2022		p
	Kadın n (%)	Erkek n (%)		Kadın n (%)	Erkek n (%)		Kadın n (%)	Erkek n (%)		Kadın n (%)	Erkek n (%)	
HBsAg	36 ^a (39.1)	56 ^b (60.9)	0.002	52 ^a (39.7)	79 ^b (60.3)	0.001	51 ^a (38.6)	81 ^b (61.4)	<0.001	139 ^a (39.2)	216 ^b (60.8)	<0.001
Anti- HBs	734 ^a (50.2)	728 ^b (49.8)	0.006	1041 ^a (52.7)	936 ^b (47.3)	0.018	1041 ^a (51.6)	975 ^b (48.4)	<0.001	2816 ^a (51.6)	2639 ^b (48.4)	<0.001
Anti-HCV	5 ^a (62.5)	3 ^a (37.5)	0.664	4 ^a (28.6)	10 ^a (71.4)	0.057	4 ^a (36.4)	7 ^a (63.6)	0.191	13 ^a (39.4)	20 ^a (60.6)	0.073
Anti-HIV	0 ^a (0.0)	3 ^a (100.0)	0.183	0 ^a (0.0)	2 ^a (100.0)	0.415	0 ^a (0.0)	1 ^a (100.0)	0.908	0 ^a (0.0)	6 ^a (100.0)	0.022

HBsAg: Hepatit B yüzey antijeni; anti-HBs: Hepatit B yüzey antikoru; anti-HCV: Hepatit C virüsü; anti-HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü antikoru.

*: Hasta sayılarının yanında harf işaretleyicileri (a,b) kullanılmıştır. Her bir satır için aynı türden harflerin bulunduğu değerler arasında farklılık yoktur.

Tablo 3. HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV pozitif hastaların yaş gruplarına ve yıllara göre dağılımı.

	Yaş Grubu	2020 n (%)	p	2021 n (%)	p	2022 n (%)	p	2020-2022 n (%)	p
HBsAg	≤18	1 ^{a,b} (1.1)	<0.001	1 ^{a,b} (0.8)	<0.001	1 ^{a,b} (0.8)	<0.001	3 ^a (0.8)	<0.001
	19-30	13 ^b (14.1)		14 ^b (10.7)		4 ^b (3.0)		31 ^a (8.7)	
	31-50	30 ^a (32.6)		42 ^{a,c} (32.0)		40 ^{a,c} (30.3)		112 ^b (31.6)	
	51-64	32 ^c (34.8)		47 ^d (35.9)		43 ^d (32.6)		122 ^c (34.4)	
	≥65	16 ^{a,c} (17.4)		27 ^{c,d} (20.6)		44 ^{c,d} (33.3)		87 ^b (24.5)	
Anti- HBs	≤18	80 ^{a,b} (5.5)	<0.001	131 ^a (6.6)	<0.001	115 ^a (5.7)	<0.001	326 ^a (6.0)	<0.001
	19-30	679 ^c (46.5)		927 ^b (46.9)		812 ^b (40.3)		2418 ^b (44.3)	
	31-50	284 ^d (19.4)		386 ^c (19.5)		418 ^c (20.7)		1088 ^c (19.9)	
	51-64	180 ^b (12.3)		247 ^d (12.5)		251 ^c (12.5)		678 ^d (12.4)	
	≥65	239 ^a (16.3)		286 ^{a,d} (14.5)		420 ^a (20.8)		945 ^a (17.4)	
Anti-HCV	≤18	0 ^{a,b,c} (0.0)	0.034	0 ^{a,b} (0.0)	0.131	1 ^a (9.1)	0.426	1 ^{a,b,c} (3.0)	0.005
	19-30	2 ^{b,c} (25.0)		7 ^b (50.0)		3 ^a (27.3)		12 ^c (36.3)	
	31-50	0 ^c (0.0)		1 ^a (7.2)		1 ^a (9.1)		2 ^b (6.1)	
	51-64	2 ^{a,b} (25.0)		3 ^{a,b} (21.4)		2 ^a (18.2)		7 ^{a,c} (21.2)	
	≥65	4 ^a (50.0)		3 ^{a,b} (21.4)		4 ^a (36.3)		11 ^{a,c} (33.4)	
Anti-HIV	≤18	0 ^a (0.0)	0.319	0 ^a (0.0)	0.523	0 ^a (0.0)	0.665	0 ^a (0.0)	0.330
	19-30	0 ^a (0.0)		1 ^a (50.0)		0 ^a (0.0)		1 ^a (16.7)	
	31-50	2 ^a (66.7)		0 ^a (0.0)		1 ^a (100.0)		3 ^a (50.0)	
	51-64	1 ^a (33.3)		1 ^a (50.0)		0 ^a (0.0)		2 ^a (33.3)	
	≥65	0 ^a (0.0)		0 ^a (0.0)		0 ^a (0.0)		0 ^a (0.0)	

HBsAg: Hepatit B yüzey antijeni, anti-HBs: Hepatit B yüzey antikoru, anti-HCV: Hepatit C virüsü antikoru, anti-HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü antikoru.

*: Hasta sayılarının yanında harf işaretleyicileri (a, b, c, d) kullanılmıştır. Her bir sütun için aynı türden harflerin bulunduğu değerler arasında farklılık yoktur.

HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV testleri için, en fazla pozitiflik saptanan hastaların sırasıyla 51-64 (%34.4), 19-30 (%44.3), 19-30 (%36.3) ve 31-50 (%50) yaş aralıklarında olduğu tespit edilirken, en düşük seropozitiflik oranlarının 18 yaş altında olduğu görülmüştür. HBsAg ve anti-HBs pozitif saptanan hastaların yıllara göre, yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$) Anti-HCV pozitif saptanan hastaların yaş gruplarında yıllara göre anlamlı değişim, tüm yıllar boyunca saptanmamış olup, belli yıllar arasında saptanmıştır ($p = 0.005$). Anti-HIV pozitifliğine ≤ 18 ve ≥ 65 yaş gruplarında rastlanmamış ve HIV pozitif saptanan tüm hastaların erkek olduğu tespit edilmiştir. HIV pozitif saptanan hastalarda, yıllara göre yaş grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p = 0.33$) (Tablo 3).

TARTIŞMA

HBV, dünya çapında 296 milyondan fazla kişinin kronik olarak enfekte olduğu ve her yıl 820.000'den fazla ölüme neden olan önemli bir küresel halk sağlığı problemleridir⁽⁶⁾. HBV enfeksiyonu, görülme sıklığı bakımından düşük, orta ve yüksek endemik bölgeler şeklinde sınıflandırılmaktadır⁽¹²⁾. Ülkemiz, HBsAg seropozitifliği %2–10 olarak belirtilen orta endemik bölgede bulunmaktadır. Türkiye'de 2009–2010 yıllarında EUROSTAT NUTS 2 bölgesinde yer alan ve 23 ili kapsayan TURHEP saha çalışmasında Türkiye genelinde HBsAg pozitifliği %4 oranında saptanmıştır. Türkiye'nin coğrafi bölgelerine göre; Ege'de %2.3, Akdeniz'de %3.1, Doğu Anadolu %3.4, Marmara'da %3.8, Orta Anadolu'da %4.3 Karadeniz %6.1 ve Güneydoğu Anadolu'da %7.3 şeklinde batıdan doğuya doğru gittikçe artan HBsAg pozitifliği olduğu görülmüştür⁽¹³⁾. Ülkemizde ilerleyen tarihlerde yapılan çalışmalarda HBsAg pozitifliği %1 ile %5.9 arasında değişen oranlarda saptanmıştır (Tablo 4)^(7,13-28). Çalışmamızın gerçekleştirildiği Kars ilinin bulunduğu Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan Tunceli, Elazığ, Van, Erzurum ve Ardahan'da HBsAg pozitifliği sırasıyla %4.2, %5.7, %1.7, %2 ve %3.2 oranlarında saptanmıştır⁽²³⁻²⁷⁾. Ayrıca Çetinkol'un⁽²⁸⁾ 2007-2008 tarihleri arasında Kars ilinde yaptığı

çalışmada 12.965 hastada HBSAg pozitifliğini %4.6 olarak bildirmiştir. Çalışmamızda tespit edilen %1.6'lık HBsAg pozitifliği bölgemizde bir azalmanın gerçekleştiğini ve bölgemizdeki veriler ile uyumlu olduğunu göstermektedir. HBsAg pozitif tespit edilen hastalarımızın %60.8'inin erkek olduğu, en fazla pozitifliğin %34.4 ile 51–64 yaş grubu arasında görüldüğü ve istatistiksel olarak cinsiyet ve yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır. Bozok ve Bozok'un⁽¹²⁾ Niğde'de yaptıkları çalışmada HBsAg pozitif hastaların %53'ünün erkek olduğu, en yüksek pozitifliğin 50-59 yaş grubunda görüldüğü ve ilerleyen yaş gruplarında seropozitifliğin düştüğü belirtilmiştir. Çalışmamızda da, pozitiflik oranlarının yaş ile doğru orantılı olarak arttığı ve benzer şekilde 65 yaş ve üzerinde giderek azalmaya başladığı görülmüştür. Bunun nedeni, HBV enfeksiyonuna bağlı olarak hastaların ileri yaşlara kadar hayatta kalamamalarından kaynaklı olabilir.

HBV aşısı, enfeksiyonunun önlenmesinde en etkili yol olmakla birlikte, %98–100 oranında enfeksiyona karşı koruma sağlamaktadır. Türkiye'de, HBV aşısı ulusal aşılama programına 1998'de dahil edilmiştir. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun verilerine göre aşılanma oranı 1999'da %64 iken, 2018'de %98'e kadar yükselmiştir⁽²⁹⁾. Viral Hepatitle Savaşım Derneği (VHSD) tarafından 2008–2011 yılları arasında ülke genelini kapsayacak şekilde gerçekleştirilen çalışmada anti-HBs pozitifliğinin %4.6–%10 arasında değiştiği bildirilmiştir⁽¹⁴⁾. Anti-HBs pozitifliği bakımından sonuçların oldukça düşük oranlarda olduğu gözlenmektedir. 2008 tarihinden sonra Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda anti-HBs pozitifliğinde %26.8 ile %51.8 arasında değişen oranlarda bir artış olduğu tespit edilmiştir^(7,13,15,17,19-25,27). Hem toplumda HBV'ye karşı bağışıklığın yükselmesi hem de diğer çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda da anti-HBs pozitifliği saptanan hastaların yarısının 30 yaş ve altında olması; ülkemizde uygulanan aşılama programının olumlu etkisinin bir sonucu olarak kabul edilebilir^(27,29). Ayrıca Anti-HBs pozitif tespit edilen hastalarımızın %51.6'sının kadın olduğu ve cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır. Demirpençe ve ark.'nın⁽²³⁾ Kars

Tablo 4. Türkiye’de yapılan farklı çalışmalarda tespit edilen HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV pozitiflik oranları.

Araştırmacı	Yıl	İl	HbsAg (%)	Anti-HBs (%)	Anti-HCV (%)	Anti-HIV (%)
Tabak ve ark. ⁽¹⁴⁾	2008-2011	Türkiye geneli	1.9–3	4.6–10	0.4–0.7	-
Tozun ve ark. ⁽¹³⁾	2009-2010	EUROSTAT NUTS 2	4	31.9	1	-
Avcıküçük ve ark. ⁽⁷⁾	2015-2019	Ankara	2.3	46.6	0.6	0.05
İnci ve ark. ⁽¹⁵⁾	2013-2014	İstanbul	4	38.4	0.7	-
Bilman ⁽¹⁶⁾	2014-2018	İzmir	4.7	-	0.7	0.02
Gencer ⁽¹⁷⁾	2016-2017	Bursa	4.5	43.9	0.4	-
Aynalı ve ark. ⁽¹⁸⁾	2013	Isparta	5.9	-	0.3	0.01
Çömez ve ark. ⁽¹⁹⁾	2011-2021	Hatay	1.9	42.5	1.1	0.005
Ege ve ark. ⁽²⁰⁾	2017-2018	Adıyaman	4.6	51.8	0.2	0
İnci ve ark. ⁽²¹⁾	2016-2018	Karabük	1	45	0.8	-
Güngör S. ⁽²²⁾	2009-2017	Uşak	2.5	44.6	1.4	-
Demirpençe ve ark. ⁽²³⁾	2013-2015	Tunceli	4.2	46.4	1	-
Denk ve ark. ⁽²⁴⁾	2011-2012	Elazığ	5.7	45.7	1	0.021
Tuna ve ark. ⁽²⁵⁾	2016-2018	Van	1.7	30.6	0.3	0.005
İgan ve ark. ⁽²⁶⁾	2017-2018	Erzurum	2	-	0.7	0
Güçlü ve ark. ⁽²⁷⁾	2009-2010	Ardahan	3.2	36.2	1	-
Çetinkol Y. ⁽²⁸⁾	2007-2008	Kars	4.6	-	1.5	0.009
Bu çalışma	2020-2022	Kars	1.6	26.8	0.1	0.03

HBsAg: Hepatit B yüzey antijeni, anti-HBs: Hepatit B yüzey antikor, anti-HCV: Hepatit C virüsü antikor, anti-HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü antikor.

gibi Türkiye’nin doğusunda yer alan Tunceli’de 2013-2015 tarihleri arasında yaptıkları çalışmada, anti-HBs pozitifliği saptanan 1.829 hastanın %53’ünün kadın olduğu ve istatistiksel olarak da çalışmamıza benzer şekilde anlamlı bir farklılık bulunduğu bildirilmiştir.

HBV enfeksiyonlarının serolojik tanısında, HBsAg ve anti-HBs’nin birlikte pozitifliği şeklinde farklı profiller karşımıza çıkmaktadır. Bu durum HBsAg pozitifliği bilinmeden aşı yapılan kişilerde, farklı suşlarla enfekte olan bireylerde ve özellikle de immün sistemden kaçan HBV Pre S ve S geni delesyon mutasyonuna sahip mutant HBV suşlarına bağlı olarak kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda görülmektedir⁽³⁰⁻³²⁾. Ülkemizden yapılan çalışmalarda HBsAg ve anti-HBs’nin birlikte pozitifliği %2.2–6.9 arasında değişen oranlarda bulunmuştur⁽³¹⁻³³⁾. Bizim çalışmamızda da tespit edilen %5.6’lık HBsAg ve anti-HBs’nin birlikte pozitifliğinin, ülkemizdeki verilerle uyumlu olduğu görülmüştür.

Türkiye HCV açısından yaklaşık %1’lik enfeksiyon oranı ile düşük endemik ülkeler arasında bulunmaktadır⁽¹³⁾. Ülkemizde yapılan çalışmalarda anti-HCV pozitifliği %0.2–1.5 arasında değişen oranlarda saptanmıştır (Tablo 4)^(7,13-28). Bizim çalışmamızda tespit edilen %0.1’lik anti-HCV pozitifliğinin, Türkiye ortalamasından düşük olduğu; VHSD’nin yaptığı çalışmada bildirilen %0.4-0.7 arasında değişen anti-HCV pozitiflik oranlarına yakın olduğu görülmüştür⁽¹⁴⁾. Çalışmamızda HCV pozitif saptanan hastaların %60.6’sının erkek olduğu ve %32.3 ile en fazla pozitiflik oranının 19-30 yaş grubunda görüldüğü saptanmıştır. Demirci ve ark.⁽³⁴⁾ çalışmasında, anti-HCV seropozitifliği saptanan hastaların %79.8’inin erkek ve en yüksek pozitiflik oranının 20-30 yaş grubunda olduğu belirlenmiştir. Aydemir ve ark.⁽³⁵⁾ yaptığı çalışmada, pozitif saptanan hastalar arasında en yüksek anti-HCV seropozitifliği %74.5 ile 50 yaş üzeri grupta tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da 50 yaş ve üzeri şeklinde farklı bir yaş gruplandırılması yapıldığında, HCV pozitif hastaların

%57.6'sının bu grupta yer aldığı görülmüştür. Şenol ve ark.'nın⁽³⁶⁾ kronik HCV tanısı alan 821 hastada, anti-HBs seropozitifliği %28.13; Karadağ'ın⁽³⁷⁾ yaptığı çalışmada 92 hastada anti-HBs seropozitifliği %29.3 oranında tespit edilmiştir. Bu çalışmada HCV pozitif hastaların %45.4'ünde saptanan anti-HBs pozitifliğinin, ülkemizde tespit edilen pozitiflik oranlarından yüksek olduğu görülmüştür. Fakat HCV pozitif hastalarda tespit ettiğimiz HBV'ye karşı gelişen bağışıklığın aşından kaynaklı mı, yoksa HBV ve HCV'nin ortak bulaş yollarını kullandıkları göz önüne alındığında kişinin önceden geçirdiği enfeksiyonun sonucu mu olduğu belirlenememiştir.

Türkiye Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü'nün HIV/AIDS verilerine göre 2018–2022 yılları arasında bildirilen vaka sayılarında, diğer yıllara oranla 2020 ve 2022 tarihlerinde bir azalma olduğu görülmüştür. Doğrulama testi sonucuna göre; 2020 yılında 3025, 2021 yılında 3974 ve 2022 yılında 2.091 kişide HIV pozitifliği tespit edilmiştir. 2022 yılında doğrulanmış vakaların %82.9'unun erkek olduğu ve en fazla 25-29 (%17.5) ve 30-34 (%14.5) yaş grubunda görüldüğü bildirilmiştir⁽¹⁰⁾. Ülkemizde 2017–2018 tarihleri arasında Adıyaman ve Erzurum ilinde gerçekleştirilen iki farklı çalışmada HIV pozitifliği saptanmazken, yapılan farklı araştırmalarda %0.005 ile %0.25 arasında değişen oranlarda seropozitiflikler saptanmıştır^(7,16,18-20,24-26,28). Çalışmamızda da ülkemizdeki veriler ile uyumlu bir şekilde %0.03 oranında anti-HIV seropozitifliği saptanmış olup, pozitif saptanan hastaların tamamının erkek olduğu ve %50'lik oran ile en fazla 31-50 yaş grubunda görüldüğü belirlenmiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Avcıküçük ve ark.'nın⁽⁷⁾ yaptığı çalışmada %0.05'lik anti-HIV seropozitifliği saptanan hastaların tamamının erkek olduğu; Dinç ve ark.'nın⁽³⁸⁾ yaptığı çalışmada ise %0.25 oranında HIV pozitifliği tespit edilen hastaların en fazla 25-49 yaş grubunda yer aldığı bildirilmiştir. HIV pozitif hastalar, HBV ve/veya HCV koenfeksiyonu açısından yüksek risk altındadır. Düşük CD4+ T hücre sayısı veya intravenöz ilaç kullanımı gibi yaygın bulaş yolları, koenfeksiyonun en önemli risk belirteçleridir⁽³⁹⁾.

Hastanemiz, ülkemizin Kuzey Doğu Anadolu Bölgesinde yer alan Kars ve Ardahan başta olmak üzere çevre illerden gelen hasta potansiyeli olan

bir sağlık merkezidir. HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV ve Anti-HIV seropozitiflik oranları ülkelere, bölgelere ve şehirlere göre değişiklik gösterebilmektedir. Her ilde genel popülasyonu kapsayacak şekilde seropozitiflik oranlarının tespit edilmesi, ülkemizdeki prevalansın belirlenmesine faydalı olacaktır. Çalışma sonucunda bölgemize/ülkemize ait epidemiyolojik verilerin ortaya konulmasının, tanı ve tedavinin yanı sıra korunma ve kontrol stratejilerinin de geliştirilmesi konusunda katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Etik Kurulu tarafından (30.11.2022 tarih ve 09 karar numarası) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Kafkas University, School of Medicine, Ethics Committee (11.30.2022; 09).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Blum HE. Global epidemiology of acute viral Hepatitis A-E. In: Ozaras R, Arends JE, editors. Viral Hepatitis: Acute Hepatitis. Switzerland: Springer-Cham; 2019:1-16.
2. Lanini S, Ustianowski A, Pisapia R, Zumla A, Ippolito G. Viral hepatitis: Etiology, epidemiology, transmission, diagnostics, treatment, and prevention. Infect Dis Clin North Am. 2019;33(4):1045-62. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.08.004>
3. Mdodo R, Kim AA, De Cock KM. Epidemiology of HIV infection. In: Cohen J, Powderly WG, Opal SM, editors. Infectious diseases. United States: Elsevier; 2016:812-23.
4. Razavi H. Global epidemiology of viral hepatitis. Gastroenterol Clin. 2020;49(2):179-89. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.01.001>
5. T.C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye viral hepatit önleme ve kontrol programı 2018-2023. 2018. [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Bulasici-hastaliklar_db/duyurular/Turkiye_Viral_Hepatit_Onleme_ve_Kontrol_Programi/Turkiye_Viral_Hepatit_Onleme_ve_Kontrol_Programi_TR.pdf] (Erişim tarihi: 01.11.2022).

6. WHO. Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021: accountability for the global health sector strategies 2016-2021: actions for impact: web annex 2: data methods. World Health Organization, 2021. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/342813/9789240030992-eng.pdf] (Erişim tarihi: 01/11/2022).
7. Avcıküçük H, Dülger D, Aydın F, Sarı ÜS. Hastanemize başvuran hastalarda HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV ve Anti-HIV seroprevalansı: 5 yıllık retrospektif veri. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 2022;79(3):397-408. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2022.67355>
8. Baleanu D, Mohammadi H, Rezapour S. Analysis of the model of HIV-1 infection of CD4+ T-cell with a new approach of fractional derivative. *Adv Differ Equ.* 2020;71. <https://doi.org/10.1186/s13662-020-02544-w>
9. Lansky A, Brooks JT, DiNenno E, Heffelfinger J, Hall HI, Mermin J. Epidemiology of HIV in the United States. *JAIDS.* 2010;55:64-8.
10. T.C. Sağlık Bakanlığı. HIV-AIDS istatistik. 2022. [https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/bulasici-hastaliklar/hiv-aids/hiv-aids-liste/hiv-aids-istatistik.html] (Erişim tarihi: 01.11.2022).
11. World Health Organization (WHO). Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022-2030. World Health Organization; 2022. [https://www.who.int/publications/i/item/9789240053779] (Erişim tarihi:08/02/2023).
12. Bozok TŞ, Bozok T. Niğde ilinde yaş gruplarına göre Hepatit A, B ve C seroprevalansı. *Flora.* 2021;26(3):537-44. <https://doi.org/10.5578/flora.20219722>
13. Tozun N, Ozdogan O, Cakaloglu Y, et al. Seroprevalence of hepatitis B and C virus infections and risk factors in Turkey: a fieldwork TURHEP study. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(11):1020-26. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.06.028>
14. Tabak F, Tosun S, Balık İ, et al. Ülkemizde HBV ve HCV seroprevalansı değişiyor mu? XI. Ulusal Viral Hepatit Kongresi, Antalya; 2012: P01-29.
15. İnci A, Çavuş E, Altay G, et al. İstanbul'da bir eğitim ve araştırma hastanesi'ne başvuran hastalarda HBsAg, anti-HBs, anti-HCV seroprevalansı. *İKSST Derg.* 2015;7(1):22-5. <https://doi.org/10.5222/iksst.2015.022>
16. Bayındır Bilman F. HBsAg, anti-HCV and anti-HIV seroprevalence among patients admitted to state hospital between 2014 and 2018. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob.* 2019;8:14. <https://doi.org/10.4274/mjima.galenos.2019.2019.14>
17. Gencer SK. Comparison of Hepatitis B and Hepatitis C seropositivity of the Syrian immigrant and Turkish local people. *Viral Hepat J.* 2022;28(1):32-7. <https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2022.2020-12-5>
18. Aynalı A, Arıdoğan BC, Temel EN, Çarsancaklı SA, Çetin ES. Bir üniversite hastanesinde çalışılan örneklerde HBs Ag, Anti-HCV, Anti-HIV seropozitiflik oranları. *Genel Tıp Derg.* 2016;26(4):106-8.
19. Çömez MS, Bal T, Çabalak M. What is the current situation of HBV, HCV and HIV seroprevalence among Syrian refugees? Patients evaluated preoperatively over ten years. *Viral Hepat J.* 2022;28(2):55-60. <https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2022.2021-9-1>
20. Ege B, Kucuk AO, Koparal M. Investigation preoperative seroprevalence of HBsAg, anti-HBs, anti-HCV, anti-HIV and vaccination level of patients undergoing dental surgical procedure under local anesthesia. *Ann Med Res.* 2019;26(8):1503-7. <https://doi.org/10.5455/annalsmedres.2019.04.208>
21. İnci H, Aşgın N, Harman E, İnci F, Adahan D. Bir üniversite hastanesi aile hekimliği polikliniğine başvuran bireylerde yaş gruplarına göre viral hepatit seroprevalansı. *Konuralp Med J.* 2020;12(1):34-8. <https://doi.org/10.18521/ktd.567599>
22. Güngör S. Status of viral hepatitis in Uşak province, Turkey: A 9-year retrospective analysis. *Acta Medica Mediterranea.* 2021;37:2089-95. https://doi.org/10.19193/0393-6384_2021_4_326
23. Demirpençe Ö, Şahin H, Gümüş A, Korkmaz E, Hakim F, Uysal F. HbsAg and antiHCV seroprevalence in an Eastern province of Turkey. *Cumhuriyet Med J.* 2016;38(1):29-34. <https://doi.org/10.7197/cmj.v38i1.5000156049>
24. Denk A, Demircan F, Özden M, Kılınç F. Elazığ ilinde özel bir hastaneye başvuran kişilerde HBsAg, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV seropozitifliklerinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi.* 2014;28(2):51-4.
25. Tuna DK, Dicle Y, Aydın, E. Birinci basamak sağlık kuruluşlarına başvuran hastalardan alınan kan örneklerinde iki yıllık hepatit ve HIV seroprevalansı. *Van Tıp Derg.* 2021;28(3):404-11. <https://doi.org/10.5505/vtd.2021.04468>
26. İgan H, Hancı H. Hastanemiz cerrahi kliniklerine başvuran hastalarda preoperatif HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV seroprevalansı. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 2021;78(4):487-92. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2021.61214>
27. Guclu E, Ogutlu A, Karabay O. A study on the age-related changes in Hepatitis B and C virus serology. *Eurasian J Med.* 2016;48(1):37-41. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2015.85>

28. Çetinkol Y. Kars Devlet Hastanesi'ne başvuran hastalarda HBsAg, Anti-HCV ve Anti-HIV seroprevalansı. *Viral Hepat J.* 2012;18(2):76-80. <https://doi.org/10.4274/Vhd.98608>
29. Kaya SY, Kaya A. Age specific Hepatitis B surface antigen (HBsAg) and Anti-HBs seroprevalence among patients admitted to a state hospital. *Viral Hepat J.* 2020;26(2):85-7. <https://doi.org/10.4274/vhd.galenos.2020.2020.0001>
30. Karataş E, Erensoy S, Akarca US, Sertöz R. Hepatit B Virüsü (HBV) genotip D ile enfekte hasta gruplarında HBV preS1, preS2 ve S gen bölgelerinin analizi. *Mikrobiyol Bul.* 2018;52(1):23-34. <https://doi.org/10.5578/mb.61909>
31. Çetinkol Y, Yıldırım AA, Çalgın M, Altındış M. Atipik hepatit B serolojileri; retrospektif bir değerlendirme. *Turkish J Clin Lab.* 2015;6(4):112-5. <https://doi.org/10.18663/tjcl.04885>
32. Aydın N, Kırdar S, Uzun N, Eyigör M, Sayan M. Hepatit B enfeksiyonunda atipik serolojik profiller: HBsAg ve Anti-HBs birlikte pozitif olgularda S geni mutasyonlarının araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2016;50(4):535-43. <https://doi.org/10.5578/mb.32197>
33. Eryıldız C, Özgün E, Yuluğkural Z, Tezel A, Şakru N. HbsAg pozitif hastalarda Hepatit Delta virüsü seroprevalansının retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2022;52(3):232-9. <https://doi.org/10.54453/TMCD.2022.32448>
34. Demirci M, Çınar C, Eslek A, Orhan M, Akar ŞŞ. Evaluation of Anti-HCV positivity in patients receiving inpatient treatment in a mental health hospital in Turkey. *J Tepecik Educ Res Hosp.* 2022;32(2):279-82. <https://doi.org/10.4274/terh.galenos.2022.96992>
35. Aydemir Ö, Demiray T, Köroğlu M, Ciftci IH, Özbek A, Altındış M. Hepatitis C prevalence in different age groups; people over 50 years of age may receive one-time testing for anti-HCV. *Viral Hepat J.* 2015;21(2):40-3. <https://doi.org/10.4274/vhd.35220>
36. Şenol FF, Bahçeci İ, Arslan N, et al. Investigation of Anti-HBs, HBsAg Positivity in patients infected with Hepatitis C Virus. *J Immunol Clin Microbiol.* 2021;6(2):90-6.
37. Karadağ FY. Hepatit C Virüsü ile enfekte hastalarda Hepatit B seroprevalansının araştırılması. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2017;74(4):287-92. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2017.32748>
38. Dinç H, Özbey D, Sirekbasan S, Gareayaghi N, Kocazeybek B. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi 2015-2018 dönemi HIV tarama ve doğrulama verilerinin seroepidemiolojik değerlendirilmesi. *ANKEM Derg.* 2019;33(3):89-94. <https://doi.org/10.5222/ankem.2019.089>
39. Shrestha LB, Yadav GK, Pradhan S, et al. Co-infection of Hepatitis B and Hepatitis C among HIV-infected patients: A cross-sectional study from tertiary care hospital of eastern Nepal. *PLoS One.* 2022;17(3):e0264791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264791>

Sifiliz Seroprevalansı Artıyor Mu?

Is Syphilis Seroprevalence Increasing?

Caner Yürüyen*, Yasemin Uzunöner**, Sebahat Aksaray**

* Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

** Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

Atıf/Cite as: Yürüyen C, Uzunöner Y, Aksaray S. Sifiliz seroprevalansı artıyor mu? Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):133-137.

Öz

Amaç: Covid'in etkisinin azaldığı, hastaneye başvuruların ve test sayılarının arttığı bu dönemde sifiliz seropozitif vaka sayısındaki artış göze çarpmıştır. Bu durum sifiliz seroprevalans artışına bağlı gerçek bir artış mı olduğu sorusunu gündeme getirmiştir. Bu amaçla son iki yıldaki sifiliz test sonuçları değerlendirilmiştir.

Yöntem: Ocak 2021 ve Eylül 2022 arasında sifiliz taraması amacıyla elektrokemilüminesans ve RPR yöntemi ile elde edilen sonuçlar incelenmiştir. Öncelikle aylık olarak çalışılan örnek sayısı, pozitif örnek sayısı ve aylık ortalama pozitif örnek sayısı belirlenmiştir. Ardından her ay içinde çalışılan günlük toplam ve pozitif örnek sayı ortalamaları hesaplanmıştır. Elde edilen aylık pozitif örnek oranları ki kare testi ile karşılaştırılmıştır. Pozitif örneklerden elde edilen RPR test titrasyon sonuçlarının medyan değerleri karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Çalışma dönemi boyunca günde ortalama 539 ve toplamda 233779 örnek çalışılmıştır. Çalışmanın başından sonuna ortalama aylık pozitif örnek oranı %1.82 olsa da başlangıç dönemindeki %1.5'dan son dönemdeki %2.5 seviyesine artış görülmüştür. RPR sonuçları aylık olarak incelendiğinde normal olmayan sağa çarpık dağılıma sahip oldukları görülmüştür. İki ay dışında bütün aylarda RPR titrasyon sonucunun ortanca değeri 1/2 olarak bulunmuştur. Gözlem döneminin sonuna doğru titrasyon sonucu negatif ve 1/1 olan örneklerin sayısı artmıştır.

Sonuç: İncelediğimiz dönem içinde sifiliz seroprevalansı daha önce aynı bölgede saptanan %2 oranı ile benzerlik göstermektedir. Ancak son 3 aylık dönemde önceki dönemlere göre artış gözlenmiş olup, ileri aylarda sonuçların takip edilmesi gerekliliğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Sifiliz, seroprevalans, elektrokemilüminesans

ABSTRACT

Objective: The increase in the number of syphilis seropositive cases was striking in this period when the effect of Covid decreased and the number of hospital admissions and tests increased. This raises the question whether this increase is a real increase due to the increase in syphilis seroprevalence.

Methods: The results of syphilis screening obtained by electrochemiluminescence and RPR method between January 2021 and September 2022 were examined. The number of samples, and positive samples per month were determined. Then, the daily averages of the total and positive sample numbers per month were calculated. Monthly positive sample rates were compared with the chi-square test. The median values of the RPR test results from the positive samples were compared.

Results: An average of 539 samples per day and a total of 233779 samples were studied. The average monthly positive sample rate was 1.82%, but an increase was observed from 1.5% in the initial period to 2.5% in the last period. The RPR results had a non-normal right-skewed distribution. The median value of the RPR titration results in all months except two months was found to be 1/2. Towards the end of the observation period, the number of samples with negative and 1/1 titration results increased.

Conclusion: The seroprevalence of syphilis within the period we examined is similar to the 2% rate previously detected in the same region. However, an increase has been observed in the last 3 months compared to previous periods, indicating the need to follow up the results in the following months.

Keywords: Syphilis, seroprevalence, electrochemiluminescence

Alındığı tarih / Received:

16.12.2022 / 16.December.2022

Kabul tarihi / Accepted:

11.04.2023 / 11.April.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

C. Yürüyen 0000-0001-5164-5296

Y. Uzunöner 0000-0002-9540-1565

S. Aksaray 0000-0002-0552-1337

✉ cyuruyen@gmail.com

GİRİŞ

Treponema pallidum subsp. pallidum'un yol açtığı sifiliz, tedavisi mümkün olsa da günümüzde tüm dünyada varlığını sürdüren cinsel yolla bulaşan bir enfeksiyon hastalığıdır. Günümüzde treponemal ve non-treponemal testlerin kombine kullanılması ile eski ve yeni sifiliz enfeksiyonları tespit edilebilmekte ve sifiliz prevalansı yakından izlenebilmektedir.

Çalışma on iki hastane ve Aile Sağlığı Merkezlerinden gelen yüksek örnek akışı olan bir laboratuvarla yapılmıştır. Laboratuvarda sifiliz serolojik tanısında ters algoritma kullanılmaktadır. Ters tanı algoritmasında tarama aşamasında treponemal testler kullanılır ve otomatize cihazların tercih edildiği yüksek iş hacmi olan laboratuvarlara uygundur. Bu yöntem hem tedavi edilmiş hem de tedavisiz kalmış vakaları yakaladığı gibi erken dönem vakaların tespitinde daha duyarlıdır⁽¹⁾. Covid'in etkisinin azaldığı, hastaneye başvuruların ve test sayılarının artarak normale döndüğü bu dönemde pozitif vaka sayısındaki artış göze çarpmıştır. Bu artışın sifiliz seroprevalansında gerçek bir artış mı yoksa test edilen örnek sayısındaki artışa paralel olarak meydana gelen bir artış mı olduğu sorusunu araştırma gereği ortaya çıkmıştır. Bu amaçla son iki yıldaki sifiliz test sonuçları değerlendirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma, Sağlık Bakanlığı, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (12.09.2022 tarih ve HNEAH-KAEK 2022-177 karar numarası) onaylanmıştır.

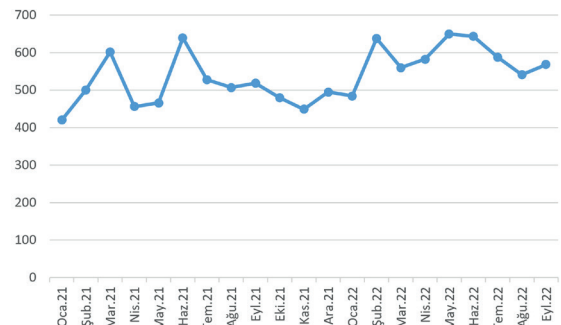
Sifiliz tanısında tarama amaçlı elektrokemilüminesans yöntemi ile çalışan Roche Elecsys Syphilis (Mannheim, Almanya) kiti kullanılmıştır. Bu aşamada pozitif bulunan hastalara Rapid Plasma Reagin (RPR) testi yapılmıştır. RPR testi için Plasmatec marka (Camberley, Birleşik Krallık) kit kullanılmıştır. Klinik olarak gereklilik mevcutsa ek olarak *Treponema pallidum* Hemaglutinasyon Assay (TPHA) testi de eklenmiştir.

Çalışmaya Ocak 2021- Eylül 2022 arasında test edilen örneklerin sonuçları dahil edilmiştir. Bu dönemdeki veriler laboratuvar bilgi yönetim sisteminden elde edilmiş ve Microsoft Excel® programına aktarılmıştır. Öncelikle aylık olarak çalışılan örnek sayısı, pozitif örnek sayısı ve aylık ortalama pozitif örnek sayısı belirlenmiştir. Ardından her ay içinde çalışılan günlük toplam ve pozitif örnek sayı ortalamaları hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar yapılmadan önce aynı hastadan tekrar alınan örnekler listeden çıkarılmıştır. Her ay için pozitif saptanan hastaların RPR test sonuçları aynı Excel® dosyasına eklenmiştir. Elde edilen aylık pozitif örnek oranları ki kare testi ile karşılaştırılmıştır. Pozitif örneklerden elde edilen RPR test titrasyon değerlerinin medyan değerleri de karşılaştırılmıştır.

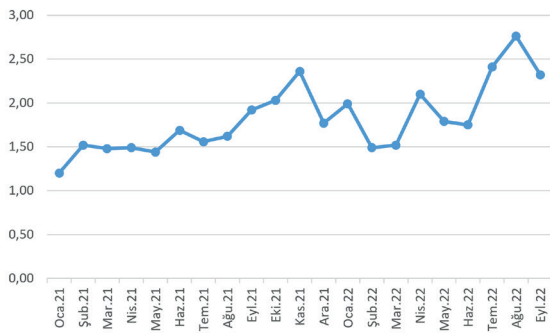
BULGULAR

Ocak 2021 başından Eylül 2022 sonuna kadar geçen 21 aylık sürede toplam 233779 örnekte sifiliz tarama testi çalışılmıştır. Aylık çalışılan örnek sayısı Mayıs 2021'deki minimum değer 8397 ile Mart 2022'deki maksimum değer olan 12881 arasında değişmiştir. Mevcut dönem içindeki iş günleri hesaba katılarak elde edilen ortalama günlük çalışılan örnek sayısının değişimi Şekil 1'de görülmektedir.

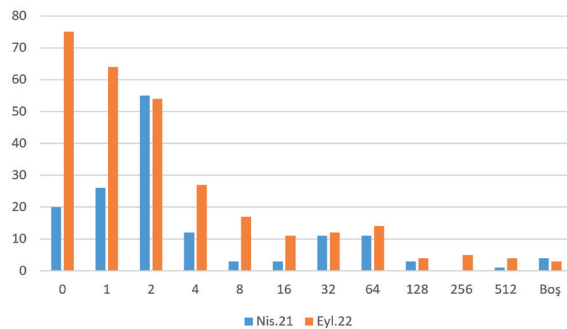
Aylık olarak çalışılan örneklerde elde edilen pozitif sonuçların oranı incelediğinde Ocak 2021'deki en düşük %1.2 ile Ağustos 2022'de gözlenen en yüksek %2.76 arasında değiştiği görülmüştür. Aylar içinde izlenen artış Şekil 2'de görülebilmektedir. Şekil 2 incelediğinde oranları benzer üç grup görülmektedir. Birinci grup olarak Ocak 2021-Ağustos 2021 arasında



Şekil 1. Ocak 2021-Eylül 2022 arası çalışılan sifiliz tarama testi ortalama günlük örnek sayısı



Şekil 2. Ocak 2021-Eylül 2022 arası aylık ortalama sifiliz seropozitif örnek oranları



Şekil 3. Nisan 2021 ve Eylül 2022 RPR testi yapılan örneklerdeki titrasyon değerleri

elde edilen oranlar ki kare testi ile incelendiğinde aralarında anlamlı fark olmadığı saptanmıştır ($p=0.22$). İkinci grup olarak Eylül 2021-Haziran 2022 arası saptanan oranlar Kasım, Şubat ve Mart ayları hariç tutulursa kendi arasında anlamlı fark olmadan kümelenmektedir ($p=0.31$). Son üç aydan oluşan üçüncü grup oranları ise yaklaşık aynı grupta yer almaktadır ($p=0.09$). Çalışmanın başından sonuna ortalama aylık pozitif örnek oranı %1.82 olsa da %1.5'dan %2.5 civarına çıkış net olarak izlenebilmektedir.

Günlük olarak pozitif örneklerle çalışılan RPR testi sayısı da aylar içinde artış göstermiştir. Sonuçları incelenen dönemin başında RPR testi çalışılan örnek sayısı günlük olarak yaklaşık 8'den dönemin sonunda 14'e çıkmıştır. RPR sonuçları aylık olarak incelendiğinde normal olmayan sağa çarpık dağılıma sahip oldukları görülmüştür. İki ay hariç bütün aylarda RPR titrasyon sonucunun ortanca değeri 1/2 olarak bulunmuştur. Gözlem döneminin sonuna doğru titrasyon sonucu negatif ve 1/1 olan örneklerin sayısı artmıştır. Örnek teşkil etmesi açısından gözlem

döneminin ilk yarısından (Nisan 2021) ve sonundan (Eylül 2022) iki aya ait titrasyon değerlerinin değişimi Şekil 3'te görülmektedir.

TARTIŞMA

Sifiliz tanısında hastalık öyküsü ve klinik bulgular ile birlikte en çok başvuru alan yöntem serolojik testlerdir. Otomasyonun yaygınlaşması ve günlük örnek sayısı fazla olan merkezi laboratuvarların artması ile sifilizin serolojik tanısında ters tanı algoritmasının kullanımı artmıştır^(1,2). Çalışmanın yapıldığı laboratuvar da aynı şekilde ters tanı algoritmasını izleyerek öncelikle treponemal test ve sonra pozitif çıkan hastalarda non-treponemal test yapılmaktadır. Ters tanı algoritmasının hem avantajı hem de dezavantajı sayılabilecek bir durum eski sifiliz vakalarını da yakalamasıdır. Tedavi sürecini bitirmiş olanlar için test süresini uzatan ve ek test yapılmasına sebep olan bir durum olsa da tanısız kalmış vakaları yakalaması ve ayrıca hastalığın erken döneminde tanıda yol gösterici olması büyük avantaj sağlamaktadır^(1,2). Test tanı algoritmasının bu özelliklerinden ötürü sonuçlarda elde edilen düşük RPR titrelili çok sayıda örneğin çoğunlukla eski vakaları gösterdiğini ve erken evre sifiliz araştırması yerine sağlık raporu vb. gibi farklı sebeplerle istenen test sonuçlarından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Ülkemizde sifiliz görülme sıklığı ile ilgili yapılan çalışma sayısı ve istatistik bilgisi sınırlıdır. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü sifiliz istatistik verilerine göre bildirilen vaka sayısı 2015'deki 502'den 2021 yılında 2801'e çıkmıştır⁽³⁾. Yıllık yüz binde 3.35'lik insidansın, sifiliz vakalarının farklı tanımlar ile tedavi edilmesi ve bildirimin kısıtlı olmasından etkilendiği için düşük seviyede kaldığını düşünmekteyiz. Ülkemizden yapılan ters tanı algoritması kullanılan yakın tarihli bir çalışmada yaklaşık %4'lük bir seropozitiflik oranı saptanmıştır⁽⁴⁾. Taranan örnek sayısının görece kısıtlı olması elde edilen oranın çalışmamızda elde edilen orandan yüksek çıkmasını açıklayabilir. Nitekim daha önce yüksek örnek sayısına sahip sifiliz tanı algoritması ile ilgili yapılan bir çalışmada %1.8 ile şu anki çalışmaya benzer bir seroprevalans bulunmuştur⁽⁵⁾.

Avrupa'dan bildirilen en yeni epidemiyolojik veriler 2019 yılı ECDC raporuna aittir⁽⁶⁾. Bu raporda özellikle erkekler arasında 2017 yılında izlenen vaka sayısı artışının 2018'den beri durduğu ve plato şeklinde devam ettiği bildirilmiştir. Doğrulanmış sifiliz vaka insidansı 2019 yılı için yüz binde 7.4 vaka olarak açıklanmıştır. ABD'de 2010'lu yılların başından hastalık görülme sıklığında başlayan yukarı yönlü eğilim devam etmektedir. 2021 yılında insidans bir yıl öncesine göre %27.5 artarak yüz binde 51.5'a çıkmıştır⁽⁷⁾.

Çalışmanın yapıldığı zaman aralığı Covid pandemisi etkisinde olan bir dönemdi. Pandemi boyunca diğer hastalıklar için hastane başvurular ülkemizde ve tüm dünyada azalmıştır. Bu konuda covid harici hastalıklarda acil durumlar dışında hastaneye başvuruların azaltılması için alınan önlemler ve bulaşıcı hastalık korkusu olarak etken olmuştur⁽⁸⁻¹⁰⁾. Özellikle 2021 yılının ilk yarısında daha virulan varyantların etkisi altında iken Covid dışı hastalıklar için sağlık kuruluşlarına başvuruların azalması kendini sifiliz tanısı için gönderilen örnek sayılarının az olması ile göstermiştir. Bu dönemde elde edilen aylık pozitif örnek oranlarının çalışmanın kalan kısmından düşük olmasını geç dönem sifiliz ve tedavi olmuş eski vakalardan örnek gelmemesi ile açıklayabiliriz. 2021 yılı yaz aylarından itibaren normalleşme süreci ile pozitif örnek oranı hafif oranda yükselmiş ve Covid öncesi bölgemizde yapılan bir çalışmada bulunan değere ulaşmıştır⁽¹¹⁾.

Esas dikkat çekici olan ise 2022 yaz ayları ile tespit edilmeye başlanan pozitif vaka sayılarındaki artıştır. Bu dönemde aylık pozitif örnek oranı %2.5'i geçmiştir. Bu değişimi büyük oranda alınan örneklerle geç dönem sifiliz ve tedavi olmuş eski vakaların eklenmesi ile açıklayabiliriz. Nitekim Şekil 3'te Eylül 2022'ye ait RPR titrasyonlarında elde edilen negatif ve 1/1 sonuçlarının sayıca artmış olduğu görülmektedir.

Çalışmanın laboratuvar verileri ile yapılması, klinik muayene bulguları ve kesin tanıya erişiminin kısıtlı olması çalışmanın sınırlı yönünü oluşturmaktadır. Seroprevalans verisi, güncel sifiliz vakalarını izlemeye

doğrulanmış sifiliz vaka insidansı gibi etkili olmasa da örneklem büyüklüğü ve verinin izlendiği sürenin uzunluğunun sağladığı avantaj elde edilen sonuçları değerli kılmaktadır.

Sonuç olarak araştırma dönemi içinde saptanan sifiliz seroprevalansı daha önce aynı bölgede saptanan %2 oranı ile benzerlik göstermektedir. Ancak son 3 aylık dönem, gözlenen pozitif örneklerin oranının artışı ile önceki dönemlerden ayrılmakta ve ileri aylarda sonuçların takip edilmesi gerekliliğini göstermektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Sağlık Bakanlığı, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (12.09.2022 tarih ve HNEAH-KAEK 2022-177 karar numarası) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Ministry of Health, Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital, Clinical Research Ethics Committee (09.12.2022; HNEAH-KAEK 2022-177).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Janier M, Unemo M, Dupin N, Tiplica GS, Potočník M, Patel R. 2020 European guideline on the management of syphilis. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2021;35(3):574-88. <https://doi.org/10.1111/jdv.16946>
2. Sonmez C, Demir T, Uzunmehmetoglu T, Maden H, Kilic S. Serological diagnosis of syphilis: Preliminary study searching for an algorithm in Turkey. Acta Dermatovenerol Croat. 2018;26(2):146-52.
3. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar ve Erken Uyarı Dairesi Başkanlığı. Sifiliz İstatistik. 2021. [<https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/bulasici-hastaliklar/sifiliz/sifiliz-liste/sifiliz-istatistik.html>] (Erişim Tarihi: 14.12.2022).

4. Evren K, Berkem R, Yücel M. Evaluation of the diagnostic algorithms for serodiagnosis of syphilis. *Jpn J Infect Dis.* 2022;75(1):70-5. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2021.164>
5. Yürüyen C, Aksaray S. Is the second treponemal test necessary in the reverse algorithm for the diagnosis of syphilis? *Clin Lab.* 2020;66(6):1033-7. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2019.191001>
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Syphilis. In: Annual epidemiological report for 2019. Stockholm: ECDC; 2022.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance: Preliminary 2021 Data. Atlanta: US Department of Health and Human Services; 2022.
8. Pujolar G, Oliver-Anglès A, Vargas I, Vázquez ML. Changes in access to health services during the COVID-19 pandemic: A scoping review. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(3):1749. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031749>
9. Howarth A, Munro M, Theodorou A, Mills PR. Trends in healthcare utilisation during COVID-19: a longitudinal study from the UK. *BMJ Open* 2021;11:e048151. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-048151>
10. Akozlu Z, Ozturk Sahin O. COVID-19 pandemisinde sağlık hizmetlerine erişim: Çocuk sağlığı nasıl etkilendi? *Çocuk Dergisi.* 2021;21(2):149-56. <https://doi.org/10.26650/jchild.2021.953569>
11. Adaleti R, Kansak N, Aslan M, et al. İstanbul'un Anadolu yakasında yerli halk ve göçmenler arasında sifiliz seropozitifliğinin karşılaştırılması: Beş yıllık retrospektif çalışmanın sonuçları. *North Clin İstanb.* 2022;9(6):590-4. <https://doi.org/10.14744/nci.2021.80688>

Kuzey Kıbrıs'ta Hamilelikle İlişkili Bir İmporte Sıtma Olgusu

An Imported Malaria Case Associated With Pregnancy in Northern Cyprus

Emrah Güler***[✉], Ulaş Hürdoğanoglu***[✉], Kaya Süer****[✉]

* Lefke Avrupa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Lefke, Kuzey Kıbrıs

** Yakın Doğu Üniversitesi, DESAM Araştırma Enstitüsü, Tropikal ve Vektörel Hastalıklar Araştırma Grubu, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs

*** Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs

**** Yakın Doğu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs

Atıf/Cite as: Güler E, Hürdoğanoglu U, Süer K. Kuzey Kıbrıs'ta hamilelikle ilişkili bir importe sıtma olgusu. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(2):138-142.

Öz

İnsan sıtması, insanlık tarihini derinden etkileyen en önemli enfeksiyon hastalıklarından biridir ve halen tüm dünya genelinde sağlık sorunlarına ve mortaliteye neden olmaktadır. Hamile kadınlarda ciddi sıtma, dolayısıyla ciddi komplikasyonlar gelişme riski daha yüksektir. Çalışmamızda, sıtma tanısı almış 22 yaşında Demokratik Kongo Cumhuriyeti uyruklu 6 aylık hamile kadın hasta sunulmuştur. Yüksek ateş, baş ağrısı, iştahsızlık ve ishal semptomları bulunan hastamızın ikinci kez ateş nöbeti geçirdiği tespit edilmiştir. Kan yaymalarında Plasmodium parazitlerine ait genç trofozoit (taşlı yüzük) formlarının görülmesi üzerine, sıtma hızlı antijen testi yapılmış ve Plasmodium falciparum açısından pozitif saptanmıştır. On dört (14) gün önce ülkesinden Kuzey Kıbrıs'a gelmiş olan hastamız, artemeter/lumefantrin ile tedavi edilmiş ve doğru tedavi ile ciddi komplikasyonların gelişmesi önlenmiştir. Tedavi seçiminde, CDC (Centers for Disease Control and Prevention)/Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nin 'Sıtma Tedavi Rehberi'ndeki kriterler göz önüne alınmıştır. Bu olgu, sıtmanın eradike edildiği bölgelerde bile hastalığı akıldan tutmanın ve doğru tedavinin önemini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Sıtma, hamilelik, Kuzey Kıbrıs

ABSTRACT

Human malaria is a very important infectious disease that has deeply affected human history and still causes health problems and mortality worldwide. Pregnant women are at high risk of developing severe malaria, and therefore serious complications. In our study, a 22-year old, 6 months pregnant woman from the Democratic Republic of Congo who was diagnosed with malaria is presented. It was determined that our patient, who had symptoms of high fever, headache, loss of appetite, and diarrhea, had a fever attack for the second time. Upon detection of young trophozoite (ring) forms of Plasmodium parasites in blood smears, malaria rapid antigen test was performed and it was found to be positive for Plasmodium falciparum. Our patient, who came to Northern Cyprus from her country fourteen days ago, was treated with artemether/lumefantrine and development of serious complications was prevented with the right treatment. In the selection of treatment, the criteria in the 'Malaria Treatment Guide' of CDC (Centers for Disease Control and Prevention) were taken into consideration. This case demonstrates the importance of recognizing and treating malaria even in regions where malaria was eradicated.

Keywords: Malaria, pregnancy, Northern Cyprus

Alındığı tarih / Received:

09.08.2022 / 09.August.2022

Kabul tarihi / Accepted:

01.03.2023 / 01.March.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

E. Güler 0000-0002-1635-0051

U. Hürdoğanoglu 0000-0002-0182-674X

K. Süer 0000-0002-2565-3425

✉ eguler@eul.edu.tr

GİRİŞ

Sıtma, tüm dünyada yaygın olarak görülmekle birlikte, tropikal ve subtropikal bölgelerde endemik olarak seyreden ve en sık ölüme neden olan parazit kaynaklı bir enfeksiyon hastalığıdır. Hastalık, enfekte dişi *Anopheles* cinsi sivrisineklerin ısırması yoluyla bulaşan *Plasmodium* türü parazitlerden kaynaklanmaktadır. Dünya genelinde, 97 ülke ve bölgede bulunan toplam 3.2 milyar insanın

sıtmaya yakalanma riski bulunmakta ve bunların 1.2 milyarı yüksek risk altında yaşamlarına devam etmektedirler^(1,2).

İnsanlarda enfeksiyona neden olan beş *Plasmodium* türü bulunmaktadır. Bunlar; *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* ve *Plasmodium knowlesi*'dir. Afrika kıtasındaki ölümlerin büyük çoğunluğu *P. falciparum* kaynaklı olsa da diğer bölgelerde *P. vivax*

enfeksiyonları daha sık görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2020 sıtma raporuna göre dünya çapında tahmini 241 milyon sıtma vakası ve 627,000 sıtma kaynaklı ölüm meydana gelmiştir. Dünyada sıtma vaka insidansı 2010 yılından itibaren düşüş göstermekte iken, bu durumun 2014'ten sonra bazı bölgelerde geçerli olmadığı raporlanmaktadır⁽²⁻⁴⁾.

Sıtmanın en belirgin semptomu ateş olup aralıklı ya da devamlı olmak üzere kendini göstermektedir. Sıtma olgularının büyük bir bölümünde periyodik olarak görülen ve 10-12 saat arasında devam eden bu ateş nöbetlerine üşüme, titreme, terleme ve baş ağrısı gibi diğer birçok hastalıkta görülen semptomlar eşlik edebilmektedir. Bunun yanında anemi, splenomegali gibi kronikleşme eğilimi gösteren belirtilerle de karşılaşılabilenekte, ayrıca karın ağrısı, kusma ve ishal de görülebilmektedir^(5,6).

Sıtma tanısının ve dolayısıyla tedavinin gecikmesi sıtma kaynaklı ölümlere katkı sağlayan kritik bir faktördür⁽⁷⁾. Bu sebeple, tanıdaki en önemli adım, özellikle sıtmanın eradike edildiği bölgelerde, hastalığın akılda tutulmasıdır. Endemik bölgeden olduğu bilinen ateşli bireylerde farklı bir tanı konulana kadar ilk tanı olarak sıtma düşünülmelidir. Tanı için kan örneğinden hazırlanan kalın damla veya ince yaymalar Giemsa ile boyanmaktadır. Ardından bu yaymalar mikroskopta incelenerek parazit saptanmaya çalışılmaktadır. Kalın yayma daha duyarlı bir yöntem olmasına rağmen tecrübe gerektirdiği için yorumlanması zordur. Türler arası ayırım yapmak için genellikle ince yayma ile hazırlanan örnekler incelenmektedir⁽⁶⁾.

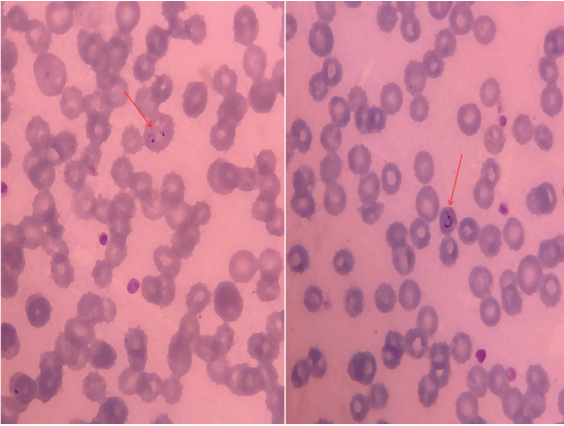
Dünya çapında, yaklaşık olarak 125 milyon hamile kadının, hamilelik sırasında sıtmaya yakalanma olasılığı olan bölgelerde yaşadığı düşünülmektedir. Özellikle hamile kadınlar sıtma enfeksiyonlarına karşı duyarlıdır ve hamilelik sırasında sıtmaya maruz kalan kadınların fetüsleri büyük risk altına girmektedir. İnsanları enfekte eden beş sıtma türü olmasına rağmen, özellikle *P. falciparum* ve *P. vivax* türleri gebelikte olumsuz maternal ve fetal sonuçlara katkıda bulunmaktadır. Hamilelikte sıtma, anne ve

fetüsün ölümü, anemi ve düşük doğum ağırlığı ile ilişkilidir⁽⁸⁾. Çalışmamızda, sıtma tanısı almış yabancı uyruklu hamile bir kadın olgusu sunulmuştur.

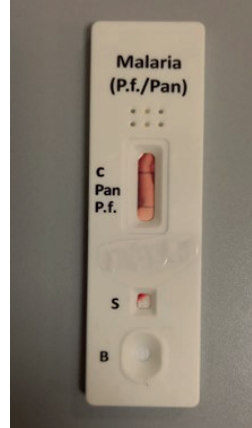
OLGU

Yirmi iki yaşında Demokratik Kongo Cumhuriyeti (DKC) uyruklu altı aylık hamile kadın hasta 28 Şubat 2022 tarihinde yüksek ateş (38.5°C), baş ağrısı, iştahsızlık ve ishal semptomları ile Yakın Doğu Üniversitesi (YDÜ) Hastanesi acil servisine başvurmuştur. Yapılan ilk tetkikler sonucunda kan sayımında hemoglobin (8.8 g/dL) ve trombosit ($74 \times 10^3/\mu\text{L}$) miktarlarının düşmüş olduğu görülmüştür. Bunun yanında yüksek C-reaktif protein (CRP) (18.10 mg/dL) ve hafif AST (aspartate aminotransferaz) (35 U/L) artışı tespit edilmiştir. Yapılan anamnez sonucunda hastanın 14 gün önce ülkesinden Kuzey Kıbrıs'a öğrenim görmek amacıyla geldiği ve hastaneye başvurusundan üç gün önce de ateşlendiği anlaşılmıştır.

Tanı konulamayan hastamız, hastanemiz Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanına yönlendirilmiştir. Ertesi gün yapılan tetkiklerde karaciğer enzimleri normal seyrederken CRP 21.31 mg/dL ve total bilirubin 1.90 mg/dL olarak saptanmıştır. Hastanın kısa bir süre öncesinde sıtmanın endemik olarak görüldüğü bir ülkeden gelmiş olması ve üç gün önce yine ateş atağı geçirmiş olmasından dolayı sıtma enfeksiyonu akla gelmiştir. Bu sebeple, Giemsa boyalı kalın damla ve ince yayma kan preparatları istenmiş ve yapılan incelemeler sonrasında *Plasmodium* parazitlerine ait genç trofozoit (taşlı yüzük) formları görülmüştür (Resim 1). Kan yaymalarının incelenmesi deneyimli personel ve enfeksiyon hastalıkları uzmanı tarafından yapılmıştır. Ardından, hastadan alınan tam kan örneği Malaria Pf/Pan hızlı kaset testi (Acro Biotech, Inc., ABD) ile çalışılmış ve *Plasmodium falciparum* bandında pozitiflik tespit edilmiştir (Resim 2). Çalışılan hızlı test kitinin mikroskopiye göre doğruluk oranı %99.8 olarak üretici firma tarafından belirtilmiştir. Tespit ettiğimiz *Plasmodium* spp. için moleküler yöntemlerle tür tayini yapılamaması, çalışmamızın kısıtlılığı olarak görülmektedir.



Resim 1. Olguya ait Giemsa boyalı ince yaymada tespit edilen *Plasmodium falciparum* genç trofozoit (taşlı yüzük) formları



Resim 2. Olgumuza ait sıtma antijen testi

Tüm bu veriler ışığında ve DKC'ndeki *Plasmodium* parazitlerinin klorokin direnci göz önünde bulundurularak⁽⁹⁾, hastamıza CDC (Centers for Disease Control and Prevention/Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri)'nin 'Sıtma Tedavi Rehberi'ndeki⁽¹⁰⁾ öneriler doğrultusunda artemeter/lumefantrin (AL) (40/480 mg) ilk gün sekiz saat ara ile birer tablet, 2. ve 3. günler ise birer tablet (toplam 3 gün 4 tablet) olacak şekilde tedavi başlanmıştır. Hastanın 15. gündeki kontrollerinde kan yaymalarının sıtma açısından negatif olduğu, şikayetlerinin kaybolduğu, gebeliğin normal seyrettiği ve diğer laboratuvar tetkiklerinin de normal sınırlarda olduğu saptanmıştır.

TARTIŞMA

Sıtma tüm dünyada yaygın olarak görülen enfeksiyon hastalıklarından bir tanesi olarak önemini korumaktadır. Dünya genelindeki tür dağılımına bakıldığında *P. vivax*'ın başta geldiği fakat ölümlerle sonuçlanan olguların çoğuna *P. falciparum*'un neden olduğu bildirilmektedir⁽³⁾.

Akdeniz'in birçok bölgesine benzer olarak Kıbrıs adası da yüzyıllar boyunca sıtmadan en çok etkilenen bölgeler arasında yer almaktaydı. Fakat 1946-1950 yılları arasında adada 'Sıtma Eradikasyon Projesi' gerçekleştirilmiş ve *Plasmodium* parazitlerinin taşıyıcısı olan *Anopheles* cinsi sivrisineklerin tümüyle ortadan kaldırılması ve bataklık alanların kurutulması sağlanarak sıtma eradikasyonunda başarı sağlanmıştır. Günümüzde Kuzey Kıbrıs'ta yerli sıtma

olgusu görülmemektedir. Ancak, hastalığın endemik olduğu bölgelerden özellikle öğrenim görmek ve/veya çalışmak amacıyla adaya gelen kişilerin artması sonucu importe olgular görülmeye başlanmıştır. Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (KKTC) Sağlık Bakanlığı verilerine göre KKTC'de 2014-2018 yılları arasında toplam 39 importe sıtma olgusu bildirilmiştir⁽¹¹⁾.

Sıtma tanısı alan hastalarda tedavinin gecikmesi, aksaması ya da takibi yapılmadığı durumlarda; trombositopeni, ağır anemi, akut böbrek yetmezliği, serebral tutulum, hipoglisemi, laktik asidoz ve ölüm gibi pek çok ciddi klinik sonuçlar oluşabilmektedir. *P. falciparum* kaynaklı sıtma olgularındaki klinik seyir diğer *Plasmodium* türlerinden daha ağır şekilde seyretmektedir^(5,12).

Hamile kadınların sıtmaya karşı artan duyarlılığı, plasantanın maternal kan boşluklarında *Plasmodium* ile enfekte eritrositlerin sekestrasyonundan kaynaklanmaktadır. *P. falciparum*'da plasental sekestrasyon yaygındır. *P. vivax* ile ilgili yapılan çalışmaların bazılarında plasental değişiklikler görülmüştür. *P. falciparum* enfeksiyonundaki sekestrasyona, enfekte eritrositlerin yüzeyinde eksprese edilen ve syndecan-1 üzerindeki plasental kondroitin sülfat A'ya (CSA) bağlanan parazit türevli protein VAR2CSA aracılık etmektedir⁽¹³⁾.

Sahraaltı Afrika gibi sıtmanın yüksek oranda bulaştığı coğrafi bölgelerdeki hamile kadınlar için sıtma enfeksiyonu riski artmakta ve dolayısıyla anne

ve çocuk için potansiyel olarak olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Sıtma prevalansı gebeliğin birinci ve ikinci trimesterlerinde en yüksek seviyededir ve doğumdan sonra risk hemen hamilelik öncesi seviyelere dönmeyebilir. Çevresel faktörlerin yanında parazit ve anneye ait faktörler de gebelikte enfeksiyonun şiddetini etkilemektedir. Sıtma bulaşının yüksek olduğu bölgelerde tüm gebelikler risk altındadır. Genel olarak, düşük insidanslı bölgelerde yaşayan hamile kadınların sıtmaya karşı bağışıklığı daha azdır veya hiç yoktur ve hamile olmayanlara kıyasla iki ile üç kat daha yüksek ciddi sıtma riski taşımaktadırlar. *P. falciparum*, *P. vivax*'a göre hamilelikte daha şiddetli sıtma ile ilişkilendirilmiştir. Fakat *P. vivax*'ın edinilmiş bağışıklığı az olan bir annede ortaya çıkması daha yüksek olasılıktır. Annenin yaşı ve hamilelik sayısı da gebelikte sıtmanın şiddetinde önemli rol oynamaktadır. Daha genç anneler, ciddi hastalıklardan daha az korumaya sahip gibi görünen ileri yaşlı annelere nazaran ciddi sıtma enfeksiyonu için daha büyük risk altındadırlar^(8,14).

Maternal anemi, hamilelik sıtması sırasında en sık görülen semptomlarından biridir. Hamilelik esnasında görülen şiddetli anemi (hemoglobin <7 g/dL) genellikle beslenme yetersizliklerinden kaynaklanırken, sıtma da bu komplikasyonda önemli bir rol oynayabilmektedir. Şiddetli aneminin görülebileceği endemik alanlar için, epidemiyolojik modeller, sıtmaya bağlı aneminin 100,000 canlı doğumda dokuz anne ölümüne yol açabileceğini öngörmektedir⁽⁸⁾. Hamile kadınların şiddetli sıtmadan etkilenme olasılığı üç kat daha fazladır. Şiddetli sıtmanın mevcut özellikleri arasında şiddetli anemi, hipoglisemi, akut solunum sıkıntısı sendromu, böbrek yetmezliği ve serebral sıtma sayılabilir. Sıtma, endemik bölgelerde ölü doğumun ciddi nedenlerinden biridir. Düşük ve orta düzeyde endemik olan bölgelerde, yüksek düzeyde endemik alanlara göre ölü doğum riski daha yüksektir. Uygun sıtma tedavisiyle ölü doğum riski azaltılabilmektedir. Hamilelikte sıtma durumunda düşük doğum ağırlığı riski artmakta ve sıtmanın endemik olduğu bölgelerdeki düşük doğum ağırlığına sahip vakaların yaklaşık %20'si plasental sıtma enfeksiyonu ile ilişkilendirilmektedir. Şiddetli sıtma, mortaliteyi azaltmak için yoğun bakım ve parenteral antimalaryal ilaçlarla hızlı bir şekilde tedavi edilmelidir⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Hamilelik esnasında birinci trimesterde kazanılan komplike olmayan *P. falciparum* enfeksiyonlarında DSÖ, yedi gün boyunca klindamisin ile kinin (veya klindamisin mevcut değilse tek başına kinin) önermektedir. Söz konusu ilaçların bulunmaması veya tedavi başarısızlığı durumlarında, artemisinin bazlı kombinasyon tedavisi (AKT) veya yedi gün boyunca klindamisin ile oral artesunat önerilmektedir. İkinci ve üçüncü trimesterde ise *P. falciparum* sıtmasının tedavisine yönelik kılavuzlar, hamile olmayan yetişkinlerle aynıdır. Yani birinci basamak tedavi olarak önerilen herhangi bir AKT'nin (artemeter-lumefantrin, artesunat-amodiyakin, artesunat-meflokin, dihidroartemisinin-piperakinin veya artesunat artı sulfadoksin-primetamin) hamilelikte kullanılabileceği anlamına gelmektedir⁽¹⁶⁾. Hamilelik sırasında sıtmadan korunmak adına DSÖ tarafından 'Hamilelikte Aralıklı Koruyucu Tedavi' ifadesi ortaya atılmıştır. Mevcut kanıtlar, sulfadoksin-primetamin (SP) ile hamilelikte aralıklı koruyucu tedavinin gebelikte hastalık yükünün yanı sıra olumsuz gebelik ve doğum sonuçlarını azaltmak için güvenli ve oldukça uygun maliyetli bir strateji olduğunu göstermeye devam etmektedir^(18,19). Hastamız koruyucu tedavi amacıyla SP tedavisi almamıştı.

Sunduğumuz olguda AKT tedavisi (artemeter-lumefantrin) uygulanmış ve başarı sağlanmıştır. Yapılan kontrol testlerinde *Plasmodium* parazitleri açısından negatif saptanması, tedavi başarısını göstermekte ve sonuç olarak hastamız Haziran 2022 tarihinde sağlıklı bir doğum gerçekleştirmiştir.

Sonuç olarak, sıtmanın eradike edildiği bölgelerde hastalığın akılda tutulması ve sıtma tedavisinin özellikle hamilelerde hızlı ve doğru bir şekilde yapılmasının kritik öneme sahip olduğu açıktır. Tüm bu uygulamaların zamanında ve doğru bir şekilde yapılması, mortalite oranlarını azaltacağı gibi sıtmanın eradike edildiği bölgelerde hastalığın yeniden ortaya çıkmasını da engelleyecektir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Yakın Doğu Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 29.09.2022 tarihli toplantısında YDU/2022/106-1596 karar numarası ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: The study was approved by the Near East University (NEU) Scientific Research Ethics Committee at the meeting dated 29.09.2022 with the decision number NEU/2022/106-159.

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Diker A. Sıtma hastalığının sınıflandırılmasında evrimsel sinir ağlarının performanslarının karşılaştırılması. BEÜ Fen Bilimleri Dergisi. 2020;9(4):1825-35. <https://doi.org/10.17798/bitlisfen.783031>
2. Keskin BH, Tunca B, İnce N, Öztürk CE, Gökçe Ö, Dönmez B. Düzce ilinde son bir yılda görülen yurt dışı kaynaklı dört sıtma olgusu. DÜ Sağlık Bil Enst Derg. 2020;10(2):235-40. <https://doi.org/10.33631/duzcesbed.660371>
3. Sümer Ş, Aktuğ Demir N, Ural O, Çimen G, Yalçinkaya E. Relaps ile izlenen bir sıtma olgusu. Türkiye Parazitol Derg. 2018;42(2):161-3. <https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5588>
4. World Health Organization (WHO). World Malaria Report 2021. [https://www.who.int/publications/i/item/9789240040496] (Erişim tarihi: 05.05.2022).
5. Öncel K, Şahin A, Esmer F. Şanlıurfa'da iki import *Plasmodium falciparum* sıtma olgusu. Türkiye Parazitol Derg. 2021;45(2):153-6. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2021.6669>
6. Budan Çalışkan B, Somer A. Sıtma (Malarya) ve tedavisi. Klinik Tıp Pediatri Dergisi. 2018;10(6):35-40.
7. Ülçay A, Karaahmetoğlu G, Turhan V, et al. Falsiparum sıtmalı bir vakada oral artemisin-lümeфанtrin tedavi başarısızlığının yönetimi. Türkiye Parazitol Derg. 2014;38(1):61-7. <https://doi.org/10.5152/tpd.2014.3169>
8. Bauserman M, Conroy AL, North K, Patterson J, Bose C, Meshnick S. An overview of malaria in pregnancy. Semin Perinatol. 2019;43(5):282-90. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2019.03.018>
9. Deutsch-Feldman M, Aydemir O, Carrel M, et al. The changing landscape of *Plasmodium falciparum* drug resistance in the Democratic Republic of Congo. BMC Infect Dis. 2019;19(1):872. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4523-0>
10. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Treatment of Malaria: Guidelines for Clinicians (United States). [https://www.cdc.gov/malaria/diagnosis_treatment/clinicians1.html] (Erişim tarihi: 08.05.2022).
11. Güler E, Şanlıdağ T, Özbilgin A, Çavuş İ, Süer K. Kuzey Kıbrıs'ta 2016-2019 yılları arasındaki import sıtma olgularının değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg. 2020;44(3):126-31. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2020.6834>
12. İnan AS, Erdem I, Engin DO, et al. Sıtma: 40 olgunun değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg. 2010;34(3):147-51.
13. Desai M, Hill J, Fernandes S, et al. Prevention of malaria in pregnancy. Lancet Infect Dis. 2018;18(4):e119-32. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30064-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30064-1)
14. Rogerson SJ, Desai M, Mayor A, Sicuri E, Taylor SM, van Eijk AM. Burden, pathology, and costs of malaria in pregnancy: new developments for an old problem. Lancet Infect Dis. 2018;18(4):e107-18. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30066-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30066-5)
15. Brabin BJ, Hakimi M, Pelletier D. An analysis of anemia and pregnancy-related maternal mortality. J Nutr. 2001;131(2S-2):604S-15S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.2.604S>
16. D'Alessandro U, Hill J, Tarning J, et al. Treatment of uncomplicated and severe malaria during pregnancy. Lancet Infect Dis. 2018;18(4):e133-46. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30065-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30065-3)
17. Gamble C, Ekwaru JP, ter Kuile FO. Insecticide-treated nets for preventing malaria in pregnancy. Cochrane Database Syst Rev. 2006;2006(2):CD003755. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003755.pub2>
18. World Health Organization (WHO). Updated WHO recommendations for malaria chemoprevention among children and pregnant women. Updated recommendation: intermittent preventive treatment in pregnancy (IPTp). [https://www.who.int/news/item/03-06-2022-Updated-WHO-recommendations-for-malaria-chemoprevention-among-children-and-pregnant-women] (Erişim tarihi: 11.12.2022).
19. Al Khaja KAJ, Sequeira RP. Drug treatment and prevention of malaria in pregnancy: a critical review of the guidelines. Malar J. 2021;20(1):62. <https://doi.org/10.1186/s12936-020-03565-2>

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 kullanılmalıdır. Negatif / pozitif kelimeleri açık olarak yazılmalı; (-) veya (+) kısaltmaları kullanılmamalıdır.

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

Örnekler

A. Makaleler

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

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

B. Kitaplar

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

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

C. Sanal Ortam

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

Şekil, Tablo, Fotoğraf, Resim, Grafik

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

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

ETİK POLİTİKALAR

Yayın Etiği

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

Yazarların Etik Sorumlulukları

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

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

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

Editörlerin Etik Sorumlulukları

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

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

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

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

Hakemlerin Etik Sorumlulukları

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

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

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

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.

