

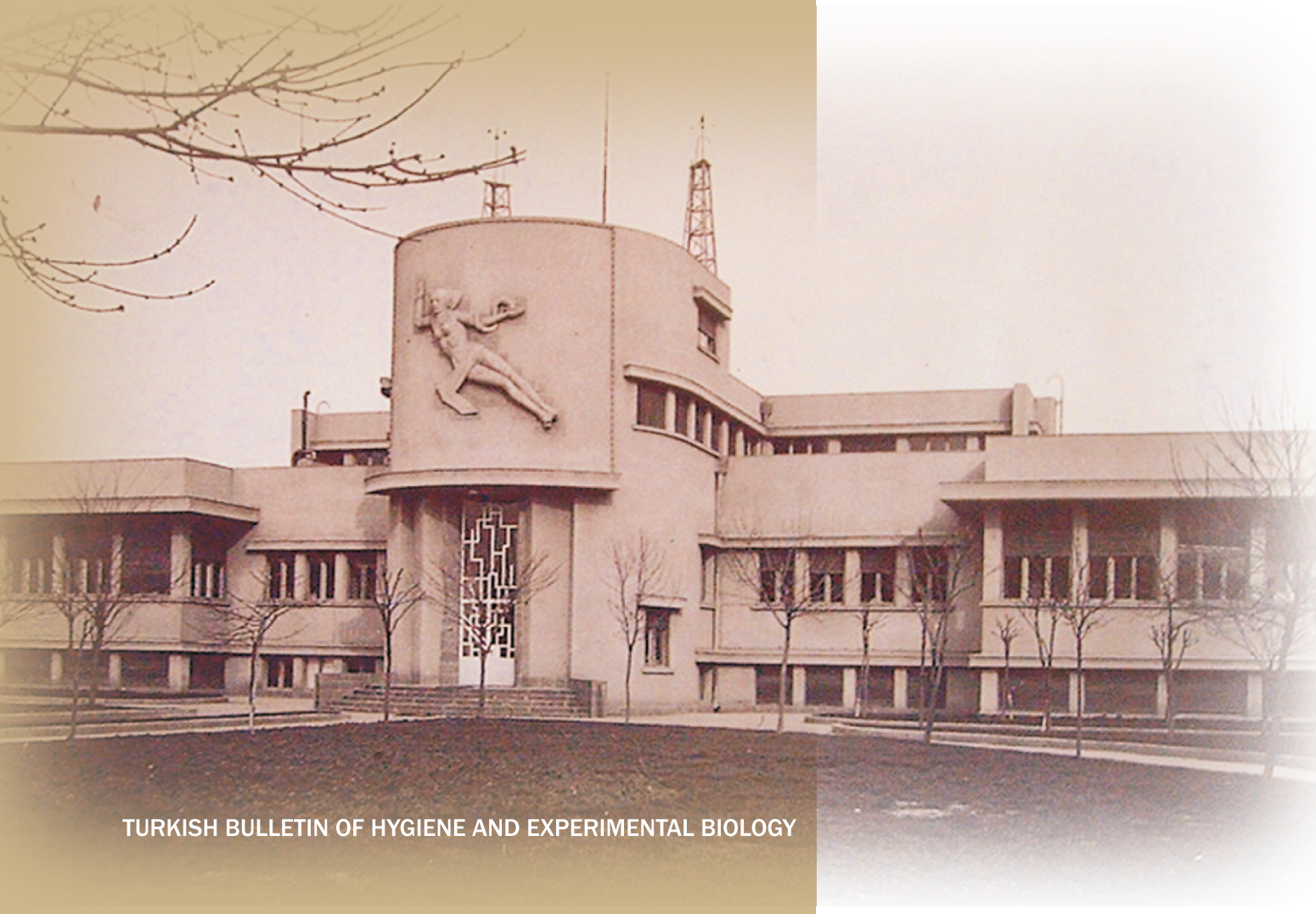


T.C. Sağlık Bakanlığı  
Türkiye Halk Sağlığı  
Kurumu

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 73 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2016







T.C. Sağlık Bakanlığı  
Türkiye Halk Sağlığı  
Kurumu

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

T.R.  
THE MINISTRY OF HEALTH  
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)

ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 73 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2016

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND  
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg



# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

**Türkiye Halk Sağlığı Kurumu adına**

On behalf of Public Health Institution of Turkey

**İrfan ŞENCAN, Başkan (President)**

### EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

### EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Yavuz UYAR

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Demet CANSARAN-DUMAN

Nurhan ALBAYRAK

Pınar KAYNAR

### YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Fatih BAKIR

Mehmet Kürşat DERİCİ

Mestan EMEK

Şule ŞENSES-ERGÜL

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Selin NAR-ÖTGÜN

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

Dilek DİKMEN

Gülsen TOPAKTAŞ

Sinan BULUT

### TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Ahmet Murad BAYRAM

Murat DUMAN

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

## TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY  
ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayınlanır / Published four times per year

Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

#### Tasarım - Dizgi / Design - Editing :

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu / Public Health Institution of Turkey

Destek Hizmetleri / Supportive Services

Satınalma ve İdari İşler Daire Başkanlığı /

Purchasing and Administrative Affairs Department

#### Baskı ve Cilt / Press and Binding :

**Azim Matbaacılık**

Büyük Sanayi 1. Cad. No: 99/33 İskitler-ANKARA

Tel: +90 312 342 03 71-72

e-posta: info@azimmatbaacilik.com

#### Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

#### Basım Tarihi / Date of Publication :

2016

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, Sweden

Anna PAPA, Greece

Aziz SANCAR, USA

Cristina DOMINGO, Germany

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, USA

Isme HUMOLLI, Kosovo

Isuf DEDUSHAJ, Kosovo

Iva CHRISTOVA, Bulgaria

Johan LINDH, Sweden

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Israel

Manfred WEIDMANN, U.Kingdom

Paul HEYMAN, Belgium

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Cuba

Sıraç DİLBER, Sweden

Susana RODRIGUEZ-COUTO, Spain

Takashi AKAMATSU, Japan

Varalakshmi ELANGO, India

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADİLOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Arsun ESMER, Ankara

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Ayhan FİLAZİ, Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bayram ŞAHİN, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek DİKMEN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İstanbul

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Duygu TUNCER, Ankara

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fatih KÖKSAL, Adana

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

Gülnur TARHAN, Adıyaman

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TRKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Hakan ABACIOĞLU, İzmir  
Hakan LEBLEBİCİOĞLU, Samsun  
Haluk VAHABOĞLU, İstanbul  
Hasan IRMAK, Ankara  
Hasan TEZER, Ankara  
Hilal ÖZDAĞ, Ankara  
Hürrem BODUR, Ankara  
Işıl MARAL, İstanbul  
İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir  
İrfan EROL, Ankara  
İrfan ŞENCAN, Ankara  
İsmail CEYHAN, Ankara  
Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara  
Koray ERGÜNAY, Ankara  
Levent AKIN, Ankara  
Mahinur AKKAYA, Ankara  
Mehmet Ali ONUR, Ankara  
Mehmet Kürşat DERİCİ, Çorum  
Mestan EMEK, İzmir  
Metin KORKMAZ, İzmir  
Mithat ŞAHİN, Kars  
Muhsin AKBABA, Adana  
Murat DİZBAY, Ankara  
Murat GÜNAYDIN, İstanbul  
Murat HÖKELEK, İstanbul  
Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara  
Mustafa KAVUTÇU, Ankara  
Mutlu ÇELİK, Kocaeli  
Mükerrem KAYA, Erzurum  
Nazmi ÖZER, Ankara  
Nilay ÇÖPLÜ, Ankara  
Nur AKSAKAL, Ankara  
Nur Münevver PINAR, Ankara  
Nuran ESEN, İzmir  
Nurhan ALBAYRAK, Ankara  
Nuri KİRAZ, İstanbul  
Oğuz GÜRSOY, Denizli  
Orhan BAYLAN, İstanbul  
Orhan YILMAZ, Ankara

Ömer Faruk TEKBAŞ, Ankara  
Özlem KURT AZAP, Ankara  
Pınar KAYNAR, Ankara  
Pınar OKYAY, Aydın  
Rahmet GÜNER, Ankara  
Recep AKDUR, Ankara  
Recep KEŞLİ, Afyon  
Recep ÖZTÜRK, İstanbul  
Rıza DURMAZ, Ankara  
S. Aykut AYTAÇ, Ankara  
Sami AYDOĞAN, Kayseri  
Sarp ÜNER, Ankara  
Seçil ÖZKAN, Ankara  
Seda KARASU YALÇIN, Bolu  
Seda TEZCAN, Mersin  
Selçuk KAYA, Trabzon  
Selçuk KILIÇ, Ankara  
Selim KILIÇ, Ankara  
Selin NAR ÖTGÜN, Ankara  
Sema BURGAZ, Ankara  
Sercan ULUSOY, İzmir  
Sibel KARACA, Ankara  
Sultan ESER, İzmir  
Suzan ÖZTÜRK YILMAZ, Sakarya  
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa  
Sümer ARAS, Ankara  
Şule SENSES ERGÜL, Ankara  
Tevfik PINAR, Kırıkkale  
Yavuz UYAR, İstanbul  
Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN, Ankara  
Yeşim ÖZBAŞ, Ankara  
Yeşim TUNÇOK, İzmir  
Zafer ECEVİT, Ankara  
Zafer KARAER, Ankara  
Zati VATANSEVER, Kars  
Zehranur YÜKSEKDAĞ, Ankara  
Zeynep GÜLAY, İzmir

## TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayımlanmak üzere gönderilen yazılar, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Başvurular [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden “Çevrimiçi Makale Gönder, Takip Et, Değerlendir Programı” aracılığıyla on line olarak yapılabilir.

Gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallara uyum aranır. Kurallara uymayan yazılar daha ileri bir incelemeye gerek görülmezsiniz yazarlarına iade edilir.

1. “Telif Hakkı Devir Formu” tüm yazarlarca imzalanarak onaylandıktan sonra dergimizin makale kabul sistemine yüklenmelidir.

2. Makale başlığı, İngilizce başlık, kısa başlık, yazar adları, çatışılan kurumlara ait birimler, yazışma işini üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:

a. Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.

b. Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.

c. Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

d. Makale, kongre/sempozyumda sunulmuşsa sunum türü ile birlikte dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

3. Yazılardaki terimler mümkün olduğunca Türkçe ve Latince olmalı, dilimize yerleşmiş kelimelere yer verilmeli ve Türk Dil Kurumu'nun güncel sözlüğü kullanılmalıdır. Öz Türkçe'ye özen gösterilmeli ve Türkçe kaynak kullanımına önem verilmelidir.

4. Metin içinde geçen mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımlarda kısaltılarak verilmelidir. Mikroorganizmaların orijinal Latince isimleri italik yazılmalıdır: Örneğin; *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* gibi. Yazıda sadece cins adı geçen cümlelerde stafilokok, streptokok gibi dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir. Antibiyotik isimleri dil bütünlüğü açısından okunduğu gibi yazılmalı; uluslararası standartlara uygun olarak kısaltılmalıdır.

5. Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri Uluslararası Birimler Sistemi (SI)'ne göre verilmelidir.

6. Yazılar bir zorunluluk olmadıkça “geçmiş zaman edilgen” kip ile yazılmalıdır.

7. Metnin tamamı 12 punto Times New Roman karakteri ile çift aralıklı yazılmalı ve sayfa kenarlarından 2,5 cm boşluk bırakılmalıdır.

8. Yazarlar araştırma ve yayın etiğine uymalıdır. Klinik araştırmalarda, çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş olur alındığının gereği ve yöntem bölümünde belirtilmesi gerekmektedir. Gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedürlerin özelliği tümüyle anlatıldıktan sonra, kendilerinin bilgilendirilip onaylarının alındığını gösterir bir cümle bulunmalıdır. Yazarlar Helsinki Bildirgesi'nde ana hatları çizilen ilkeleri izlemelidir. Yazarlar, bu tür bir çalışmada söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve yürürlükte olan tüm mevzuatta belirtilen hükümlere uymalı ve “Etik Kurul Onayı”nı göndermelidir.

9. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar için de gereken izinler alınmalı; yazıda deneklere ağır, acı ve rahatsızlık verilmemesi için neler yapıldığı açık bir şekilde belirtilmelidir.

10. Hasta kimliğini tanıttıkça fotoğraf kullanıldığında, hastanın yazılı onayı gönderilmelidir.

### 11. Araştırma yazıları;

Türkçe Özet, İngilizce Özet, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Teşekkür (varsa) ve Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır. Bu bölüm başlıkları sola yaslanacak şekilde büyük harflerle kalın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde de Türkçe başlık, kısa başlık ve özet bulunmalıdır.

a) **Türkçe Özet:** Amaç, Yöntem, Bulgular ve Sonuç, alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 250, en fazla 400 kelime içermelidir.

b) **İngilizce Özet (Abstract):** Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde “Objective, Method, Results, Conclusion” olarak yapılandırılmalıdır.

c) **Anahtar Kelimeler:** 3-8 arasında olmalı ve Index Medicus Medical Subject Headings-(MeSH)'de yer alan kelimeler kullanılmalıdır. Türkçe anahtar kelimelerinizi oluşturmak için <http://www.bilimterimleri.com/> adresini kullanınız.

d) **Giriş:** Araştırmanın amacı ve gerekçesi güncel literatür bilgisi ile desteklenerek iki sayfayı aşmayacak şekilde sunulmalıdır.

e) **Gereç ve Yöntem:** Araştırmanın gerçekleştirildiği kurum/kuruluş ve tarih belirtilmeli, araştırmada kullanılan araç, gereç ve yöntem sunulmalı; istatistiksel yöntemler açıkça belirtilmelidir.

f) **Bulgular:** Sadece araştırmada elde edilen bulgular belirtilmelidir.

g) **Tartışma:** Araştırmanın sonunda elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılmalıdır. Araştırmacı, kendi yorumlarını bu bölümde aktarmalıdır.

h) **Teşekkür:** Ana metnin sonunda kaynaklardan hemen önce yer almalıdır. Teşekkür bölümünde çalışmaya destek veren kişi, kurum/kuruluşlar yer almalıdır.

i) **Kaynaklar:** Yazarlar kaynakların eksiksiz ve doğru yazılmasından sorumludur. Kaynaklar, metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımlı ile ilgili aşağıda örnekler verilmiştir. Daha detaylı bilgi için “Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals” (J Am Med Assoc 1997; 277: 927-934) (<http://www.nejm.org/>) bakılmalıdır.

**Süreli yayın:** Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i (altı veya daha az yazar varsa hepsi yazılmalıdır; yazar sayısı yedi veya daha çoksa yalnız ilk altısını yazıp “et al.” veya “ve ark.” eklenmelidir). Makalenin başlığı, Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi, Yıl; Cilt (Sayı): İlk ve son sayfa numarası.

• Standard dergi makalesi için örnek: Demirci M, Ünlü M, Şahin Ü. A case of hydatid lung cyst diagnosed by kinyoun staining of bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitol Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.

• Yazarı verilmemiş makale için örnek: Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J*, 1981; 283: 628.

• Dergi eki için örnek: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: Demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood*, 1979; 54 (Suppl 1): 26a.

**Kitap:** Yazar(lar)ın soyadı adının baş harf(ler)i. Kitabın adı. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

• Örnek: Eisen HN. Immunology: an Introduction to Molecular and Cellular Principles of the Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974.

**Kitap bölümü:** Bölüm yazar(lar)ın soyadı adının başharf(ler)i. Bölüm başlığı. In: Editör(ler)in soyadı adının başharf(ler)i ed/eds. Kitabın adı. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı: Bölümün ilk ve son sayfa numarası.

• Örnek: Weinstein L, Swarts MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic Physiology: Mechanism of Disease. Philadelphia. WB Saunders, 1974: 457-72.

**Web adresi:** Eğer doğrudan “web” adresi referans olarak kullanılacaksa adres ile birlikte parantez içinde bilgiye ulaşılan tarih de belirtilmelidir. Web erişimli makalelerin referans olarak metin içinde verilmesi gerektiğinde DOI (Digital Object Identifier) numarası verilmesi şarttır.

**Kongre bildirisi:** Entrala E, Mascaró C. New structural findings in Cryptosporidium parvum oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, Izmir-Turkey. 1994.

**Tez:** Bilhan Ö. Labirent savakların hidrolik karakteristiklerinin deneysel olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.

**GenBank/DNA dizisi analizi:** Gen kalıtım numaraları ve DNA dizileri makale içinde kaynak olarak gösterilmelidir. Konuyla ilgili ayrıntılı bilgi için “National Library of Medicine” adresinde “National Center for Biotechnical Information (NCBI)” bölümüne bakınız.

**Şekil ve Tablolar:** Her tablo veya şekil ayrı bir sayfaya basılmalı, alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara sütun çizgileri içermelidir. Tablolar, “Tablo 1.” şeklinde numaralandırılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır. Açıklayıcı bilgiye başlıkta değil dipnota yer verilmeli, uygun simgeler (\*, +, ++, v.b.) kullanılmalıdır. Fotoğraflar “jpeg” formatında ve en az 300 dpi olmalıdır. Baskı kalitesinin artırılması için gerekli olduğu durumlarda fotoğrafların orijinal halleri talep edilebilir.

12. Araştırma Makalesi türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 40 olmalıdır.

13. Derleme türü yazılarda tercih edilen yazar sayısı ikiden fazla olmamalıdır. Yazar(lar) daha önce bu konuda çalışma ve yayın yapmış olmalı; bu deneyimlerini derleme yazısında tartışmalı ve kaynak olarak göstermelidir. Derlemelerde Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet (en az 250, en fazla 400 kelime içermelidir) ve anahtar kelimeler bulunmalıdır. Derleme türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 60 olmalıdır.

14. Olgular sunularında metin yedi sayfayı aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet ve anahtar kelimeler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır. Olgular sunumu türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 20 olmalıdır.

15. Editöre Mektup: Daha önce yayımlanmış yazılara eleştiri getirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin iletilmesi amacıyla yazılan yazılar, Yayın Kurulu'nun inceleme ve değerlendirmesinin ardından yayınlanır. Editöre Mektup bir sayfayı aşmamalı ve kaynak sayısı en fazla 10 olmalıdır.

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 55 91

e-posta : [turkhijyen@thsk.gov.tr](mailto:turkhijyen@thsk.gov.tr)

## WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Articles should be prepared according to the rules of the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Submissions can be made online at the address [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) through the Online "Manuscript Submission, Tracking, Evaluation Program".

Manuscripts are checked according to the following rules. If the rules are not adhered to, manuscripts will be returned to the author.

1. The "Copyright Transfer Form" (Copyright Release Form) after being signed by all authors should be uploaded using the article accepting system of the journal.

2. The title of article, short title, author name(s), names of institutions and the departments of the authors, full address, telephone numbers (landline and mobile) and e-mail address should be given:

- The title should be short and written in lower case.
- The short title should not exceed 40 characters.
- The study supported by a fund or scientific organisation must be mentioned in a footnote or in the acknowledgements.
- The study presented in a conference/symposium must be mentioned with the type of presentation in footnotes or in the acknowledgements.

3. For Turkish studies; Terms used in articles should be in Turkish and Latin as much as possible, according to the latest dictionary of the "Turkish Language Institution". Importance should be given to use pure Turkish language and as many as Turkish references.

4. Latin names of microorganisms used for the first time in the text have to be written in full. If these names are used later, they should be abbreviated in accordance to international rules. The original Latin names of microorganisms should be written in *italic*: for example, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa*. Names of antibiotics should be abbreviated in accordance with international standards.

5. Symbols of the units mentioned in the text should be according to "The Système International (SI)".

6. Articles should be written in one of the "past perfect, present perfect and past" tenses and in the passive mode.

7. Only one side of A4 paper should be used and should have a 2.5 cm margin on each side. 12 pt, Times New Roman font and double line space should be used.

8. The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology expects the authors to comply with the ethics of research and publication. In human research, a statement of the informed consent of those who participated in the study is needed in the section of the "Materials and Methods". In case of procedures that will apply to volunteers or patients, it should be stated that the study objects have been informed and given their approval before the study started. In case the authors do not have a local ethics committee, the principles outlined in the "Declaration of Helsinki" should have been followed. Authors should declare that they have followed the internationally accepted latest guidelines, legislation and other related regulations and should send "Approval of the Ethics Committee".

9. In case animal studies, approval also is needed; it should be stated clearly that the subjects will be prevented as much as possible from pain, suffering and inconvenience.

10. In case patient photos are used which shows his/her ID, a written informed consent of the patient on the use of the photos must be submitted.

### 11. Research Articles;

Research papers should consist of Turkish abstract, English abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements (if any), and References sections. These sections should be written in bold capital letters and aligned left. English articles should have a Turkish abstract and title in Turkish. (If the all of the authors from abroad the manuscript and abstract can be write English language).

a) Turkish Abstract should consist of the subheadings of Objective, Methods, Results and Conclusion (Structured Abstract). It should be between 250 and 400 words.

b) **English Abstract:** The abstract should be structured like the Turkish abstract (Objective, Methods, Results, and Conclusion). It should be between 250 and 400 words.

c) **Key words** The number of keywords should be between 3-8 and the terminology of the Medical Subjects Headings (Index Medicus Medical Subject Headings-MeSH) should be used.

d) **Introduction:** The aim of the study, and references given to similar studies should be presented briefly and should not exceed more than two pages.

e) **Materials and Methods:** The date of the study, institution that performed the study, and materials and methods should be clearly presented. Statistical methods should be clearly stated.

f) **Results:** The results should be stated clearly and only include the current research.

g) **Conclusions:** In this section, the study findings should be compared with the findings of other researchers. Authors should mention their comments in this section.

h) **Acknowledgements** should be placed at the end of the main text and before the references. In this section, the institutions/departments which supported the research should be stated.

i) **References:** Authors are responsible for supply complete and correct references. References should be numbered according to the order used in the text.

Numbers should be given in brackets and placed at the end of the sentence. Examples are given below on the use of references. Detailed information can be found in "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (J Am Med Assoc 1997 277: 927-934) and at <http://www.nejm.org/general/text/requirements/1.htm>.

**Periodicals:** Author(s) Last Name initial(s) name of author(s) (if there are six or fewer authors, all authors should be written; if the number of authors are seven or more, only the first six of the authors should be written and the rest as "et al"). The title of the article, the abbreviated name of the journal according to the Index Medicus, Year; Volume (Issue): The first and last page numbers.

- Example of standard journal article: Demirci M, Unlü M, Sahin U. A case of hydatid cyst diagnosed by kinyoun staining of lung bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitol Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.
- Example of an article with authors unknown: Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J*, 1981; 283:628.
- Example of journal supplement: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: Demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood*, 1979; 54 (Suppl 1): 26a.

**Books:** Surname of the author(s) initial name(s) of author(s). The name of the book. The edition number. Place of publication: Publisher, Publication year. **Example:** Eisen HN. Immunology: an Introduction to the Principles of Molecular and Cellular Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974.

**Book chapters:** The author(s) surname of the chapter initial(s) letter of the name. Section title. In: Surname of editor(s) initial (s) letter of first name(s) ed / eds. The name of the book. Edition number. Place of publication: Publisher, year of publication: The first and last page numbers of the chapter.

- Example: Weinstein L. Swarts MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic Physiology: Mechanism of Disease*. Philadelphia. WB Saunders, 1974:457-72.

**Web address:** If a "web" address is used as the reference address, the web address date should be given in brackets with the address. The DOI (Digital Object Identifier) number must be provided, when a web access article used in the text as a reference.

**Congress papers:** Entrala E, Mascaro C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, Izmir-Turkey. 1994.

**Thesis:** Bilhan Ö. Experimental investigation of the hydraulic characteristics of labyrinth weir. Master Thesis, Science Institute of Firat University, 2005.

**GenBank / DNA sequence analysis:** DNA sequences of genes and heredity numbers should be given as references in the article. For more information, check "National Library of Medicine" and "National Center for Biotechnical Information (NCBI)".

**Figure and Tables:** Each table or figure should be printed on a separate sheet, the top and bottom lines and if necessary column lines must be included.

Tables should be numbered like "Table 1." and the table title should be written above the top line of the table. Explanatory information should be given in footnotes, not in the title and appropriate icons (\*, +, ++, etc.) should be used.

Photos should be in "jpeg" format. In case the quality of the photos is not good for publication, the originals can be requested.

12. Research articles should have up to 40 references.

13. In reviews, it is preferred to have not more than two authors. Author(s) must have done research and published articles previously on this subject; they should discuss their experience and use as reference in the review. Reviews should have Turkish and English titles, abstracts (it should contain minimum 250, maximum 400 words) and key words. Reference numbers for the review should be maximum 60.

14. Case reports should have a maximum of seven pages of text.

Case report should have a Turkish and English title, abstract, keyword(s) and also introduction, case description and discussion sections should be given. Number of references should be maximum 20.

15. Letters to Editor: Written to make criticisms, additions to previously published articles or scientific updates are published after review and assessment of the Editorial Board. Letters should not exceed one page of text and must be supported with up to 10 references.

16. The articles which do not comply with the journal rules are not accepted.

17. Authors should keep a copy of the article that they submit.

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Public Health Institution of Turkey

Tel : +90 312 565 55 79

Fax : +90 312 565 55 91

e-mail : [turkhijyen@thsk.gov.tr](mailto:turkhijyen@thsk.gov.tr)



# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## YAYIN İLKELERİ

- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu yayın organıdır. Dergi üç (3) ayda bir çıkar ve dört (4) sayıda bir cilt tamamlanır.
- Dergide biyoloji, mikrobiyoloji, enfeksiyon hastalıkları, farmakoloji, toksikoloji, immünoloji, parazitoloji, entomoloji, kimya, biyokimya, gıda, beslenme, çevre, halk sağlığı, epidemiyoloji, patoloji, fizyopatoloji, moleküler biyoloji, genetik, biyoteknoloji ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu, derleme, editöre mektup türündeki yazılar Türkçe ve İngilizce olarak yayımlanır.
- Dergiye, daha önce başka yerde yayımlanmamış ve yayımlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan yazılar kabul edilir.
- Dergi Yayın Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili en az iki Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden olumlu görüş alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
- Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlara aittir.
- Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.
- Dergide yayımlanan yazıların yayın hakkı Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

## YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

- Bütün yazarlarca isim sırasına göre imzalanmış telif hakkı devir formu eksiksiz olarak dolduruldu.
  - Yazar isimleri açık olarak yazıldı.
  - Her yazarın bağlı bulunduğu kurum adı, yazar adının yanına numara verilerek başlık sayfasında belirtildi.
  - Yazışmalardan sorumlu yazarın adı, adresi, telefon-faks numaraları ve e-posta adresi verildi.
  - Türkçe ve İngilizce başlıklar ile kısa başlık yazıldı.
  - Türkçe ve İngilizce özetlerin kelime sayısı (300-500 arası) kontrol edildi.
  - Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler (MeSH ve Türk Tıp Terimleri Sözlüğü'ne uygun) verildi.
  - Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standard olmayan kısaltmalar düzeltildi.
  - Metin içerisinde geçen orijinal Latince mikroorganizma isimleri italik olarak yazıldı.
  - Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri the Système International (SI)'e göre verildi.
  - Yazılar "miş'li geçmiş" zaman edilgen kip ile yazıldı.
  - Metnin tamamı 12 punto Times New Roman karakteri ile çift aralıkla yazıldı.
  - Metin sayfanın yalnız bir yüzüne yazılarak her bir kenardan 2,5 cm boşluk bırakıldı.
  - Tablolar, şekiller yazım kurallarına uygun olarak ve her biri ayrı bir sayfada verildi.
  - Fotoğraflar JPEG formatında aktarıldı.
  - Kaynaklar cümle sonlarında parantez içinde ve metin içinde kullanım sırasına göre ardışık sıralandı.
  - Kaynaklar, makale sonunda metin içinde verildiği sırada listelendi.
  - Kaynaklar gözden geçirildi ve tüm yazar adları, ifade ve noktalamalar yazım kurallarına uygun hale getirildi.
- Ayrıca aşağıda belirtilen maddeleri dikkate alınız.
- Etik kurul onayı alındı.
  - Bilimsel kuruluş ve/veya fon desteği belirtildi.
  - Kongre/Sempozyumda sunumu ve sunum türü belirtildi.
  - Varsa teşekkür bölümü oluşturuldu.

## EDITORIAL POLICY

- The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology is a publication of the “Public Health Institute of Turkey (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu)” of Ministry of Health. The Journal is published every three months and one volume consists of four issues.
- The journal publishes biology, microbiology, infectious diseases, pharmacology, toxicology, immunology, parasitology, entomology, chemistry, biochemistry, food safety, environmental, health, public health, epidemiology, pathology, pathophysiology, molecular biology, genetics, biotechnology in the field of original research, case report, reviews and letters to the editor are published in Turkish and English.
- Articles which are not previously published in another journal or not currently under evaluation elsewhere can be accepted for the journal.
- Articles approved by the Scientific Committee and Editorial Board are eligible to be released after receiving at least two positive opinions from the Scientific Committee members. Those committees have the authority to make all corrections and abbreviations but not to change the content of the article.
- The authors have the all the scientific and legal responsibilities of the articles.
- The authors must fully obey the ethics of research and publication.
- The copyright of the article published in the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology belongs to the Journal. Copyright fee is not paid to the authors.

## CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

- Copyright transfer form is completed in full and signed by all authors according to the name order.
  - Author names are written clearly.
  - Affiliated institutions of the all authors are given on the title page by the number stated after the author's name.
  - The name, address, phone-fax numbers and mail address of the author responsible for correspondence are given.
  - Turkish, English titles and short title are written.
  - The number of words in Turkish and English abstracts (between 300-500) is checked.
  - Turkish and English keywords (according to MeSH) are given.
  - All abbreviations are reviewed and non-standard abbreviations are corrected
  - Original Latin names of microorganisms are written in italic.
  - Symbols are mentioned according to the units in the Système International (SI).
  - The article is written in passive mode and given one of the “past perfect, present perfect or past ” tenses.
  - Text is written in 12 pt Times New Roman characters and with double line spacing.
  - Text is written only on one side of the page and has 2.5 cm space at each side.
  - Tables and figures are given on each separate page according to the writing rules.
  - Photos are in JPEG format.
  - References are given at the end of the sentence in brackets and are listed in order of use in the text.
  - References are listed at the end of the article in the order given in the text.
  - References are reviewed, and the name of all authors, spelling and punctuation are controlled according the writing rules.
- Furthermore, please check.**
- “Ethics Committee Approval” is given.
  - Support to a study by a fund or organization is mentioned.
  - Congress / Symposium presentations and the type of presentation are stated.
  - Acknowledgement is given, if there is.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne  
[www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden online olarak makale gönderilebilir.

Submissions can be made online at the address [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org)  
to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.



DOAJ  
DIRECTORY OF  
OPEN ACCESS  
JOURNALS



INDEX COPERNICUS  
INTERNATIONAL

CAS  
A division of the American Chemical Society

Google  
scholar beta

SCIRUS  
for scientific information only

Academic Journals Database  
disseminating  
quality controlled scientific knowledge

BASE  
Bielefeld Academic Search Engine

New Jour  
• Electronic Journals & Newsletters •

EBSCO  
Electronic  
Journals  
Service

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi (Türk Hij Den Biyol Derg); CAB Abstracts (Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, Diagnosis of Human Diseases, Tropical Diseases Bulletin, Global Health, AgBiotech, Veterinary Abstracts, Food Contamination, Residues and Toxicology, Human Toxicology and Poisoning), DOAJ (Directory of Open Access Journals), Index Copernicus, CAS (Chemical Abstracts Service), Google Scholar, Google, Open J-Gate, Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Ovid Link Solver, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), EBSCOhost Electronic Journals Service (EJS), Libsearch, Medoanet, SCOPUS, CrossRef, Türkiye Atıf Dizini, Akademik Türk Dergileri İndeksi, Türk - Medline ve TUBITAK-ULAKBİM Türk Tıp Dizini'nde dizinlenmektedir.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (Türk Hij Den Biyol Derg) is indexed in CAB Abstracts (Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, Diagnosis of Human Diseases, Tropical Diseases Bulletin, Global Health, AgBiotech, Veterinary Abstracts, Food Contamination, Residues and Toxicology, Human Toxicology and Poisoning), DOAJ (Directory of Open Access Journals), Index Copernicus, CAS (Chemical Abstracts Service), Google Scholar, Google, Open J-Gate, Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Ovid Link Solver, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), EBSCOhost Electronic Journals Service (EJS), Libsearch, Medoanet, SCOPUS, CrossRef, Türkiye Atıf Dizini, Turkish Academic Journals Index, Türk - Medline, and TUBITAK - ULAKBİM Türk Tıp Dizini.



TURK  
MEDLINE



TÜRKİYE ATIF DİZİNİ

ULRICHSWEB™  
GLOBAL SERIALS DIRECTORY

Wolters Kluwer Health | Ovid LinkSolver™

GENAMICS™  
...research from your desktop

libsearch

Scopus

medoanet  
Mediterranean Open Access Network

crossref

## İLETİŞİM

## CORRESPONDENCE

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Public Health Institution of Turkey  
Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Sağlık Mahallesi Adnan Saygun Caddesi No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye/ANKARA - TÜRKİYE

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 55 91

e-posta: [turkhijyen@thsk.gov.tr](mailto:turkhijyen@thsk.gov.tr)

<http://www.thsk.gov.tr>

[www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org)



## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

### ■ Araştırma Makalesi / Original Article

- 1. Vankomisin dirençli enterokok suşlarının rep-PCR yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi**  
**Evaluation of clonal analysis of vancomycin-resistant enterococci strains by rep-PCR method**  
Seyit Ahmet BAYIK, İpek MUMCUOĞLU, Şenol KURŞUN, Neriman AKSU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.94809 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 2. Antibiyotik direnç ve metallo-beta-laktamaz pozitifliği in carbapenem-dirençli non-fermentatif Gram negatif bacilli**  
**Karbapenemlere dirençli non-fermenter Gram negatif basillerde antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz pozitifliği**  
Mustafa GÜZEL, Yasemin GENÇ, Altan AKSOY, Penka MONCHEVA, Petya HRISTOVA  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.55706 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
- 3. Hastanemizde üç yıllık süreçte kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* ve non-albicans *Candida* türlerinin etken olduğu kandidemilerdeki risk faktörlerinin irdelenmesi**  
**Evaluation of risk factors in candidemias caused by *Candida albicans* and non-albicans *Candida* species, isolated from the blood cultures for three years period in our hospital**  
Hikmet Eda ALIŞKAN, Emine Duygu BOZKIRLI, Şule ÇOLAKOĞLU, Müge DEMİRBİLEK  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.49369 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 4. Çeşitli klinik örneklerden 2006-2011 yılları arasında izole edilen *Acinetobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları**  
***Acinetobacter* species isolated from various clinical specimens between 2006-2011 years and their susceptibilities against antibiotics**  
Cafer EROĞLU, Nevzat ÜNAL, Adil KARADAĞ, Hava YILMAZ, İbrahim Çağatay ACUNER, Murat GÜNAYDIN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.68915 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 5. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran doğurganlık çağındaki kadınlarda gözlenen anti-*Toxoplasma* IgM ve IgG seropozitifliği**  
**Evaluation of anti-*Toxoplasma* IgM and IgG seropositivity among women in reproductive period, who admitted to Süleyman Demirel University Hospital**  
Ayşe AYNALI, Buket CİCİOĞLU-ARIDOĞAN, Esra Nur TOLA, Süleyman ÖNAL, Emel SESLİ-ÇETİN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.35683 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 6. Bir üniversite hastanesindeki yardımcı personelin hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi**  
**Evaluation of knowledge and attitudes of a university hospital auxiliary staff about hospital infections**  
Selma İNFAL, Tahir Kemal ŞAHİN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.93064 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

### ■ Olgu Sunumu / Case Report

- 7. Olgu Raporu: *Vibrio alginolyticus*'a bağlı bir eksternal otit olgusu**  
**Case Report: A case of otitis externa due to *Vibrio alginolyticus***  
Irmak BARAN, Aydın ACAR, Yasemin GENÇ, Neriman AKSU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.90592 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

### ■ Derleme / Review

- 8. Aşı epidemiyolojisi: Aşı ve aşılamanın etkileri için epidemiyolojik ölçütler**  
**Vaccine epidemiology: Epidemiologic measures of the effects of a vaccine and vaccination**  
Can Hüseyin HEKİMOĞLU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.90377 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 9. İnsan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturan enterokokal biyofilm yapısının doğası**  
**The nature of enterococcal biofilm structure, a risk factor for human and animal health**  
Maryam DIANI, Mohammad Nima ARIAFAR, Nefise AKÇELİK  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.48802 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 10. Polikistik over sendromu ve moleküler yaklaşımlar**  
**Polycystic ovary syndrome and molecular approaches**  
Alp AYDOS, Yasemin ÖZTEMUR, Bala GÜR-DEDEOĞLU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.09327 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 11. Yeniden önem kazanan arboviral enfeksiyon etkeni: Zika virüs**  
**An re-emerging arboviral infectious agent: Zika virus**  
Yavuz UYAR  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.80269 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

1 - 8



9 - 14



15 - 24



25 - 32



33 - 38



39 - 48



49 - 54



55 - 70



71 - 80



81 - 88



89 - 98





# Vankomisin dirençli enterokok suşlarının rep-PCR yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi

## Evaluation of clonal analysis of vancomycin-resistant enterococci strains by rep-PCR method

Seyit Ahmet BAYIK<sup>1</sup>, İpek MUMCUOĞLU<sup>1</sup>, Şenol KURŞUN<sup>1</sup>, Neriman AKSU<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Vankomisin dirençli enterokoklar (VRE), hızlı yayılımları, artan mortaliteri oranları, sınırlı tedavi seçenekleri ve vankomisin direncini daha virulan patojenlere transfer etme olasılıkları nedeniyle önemli nozokomiyal patojenler haline gelmişlerdir. VRE enfeksiyonlarını engellemek için hastanelerde aktif sürveyans yapılmalıdır. Moleküler tiplendirme, sürveyans boyunca bulaş yollarının gösterilmesi için en uygun yöntemdir. Ancak, uygulaması kolay ve tekrarlanabilirliği yüksek tiplendirme metodlarının eksikliği yaşanmaktadır. Hastane salgınlarının belirlenmesi ve kontrol önlemlerinin alınmasında, kullanım kolaylığı ve hızlı sonuç vermesi ile rep-PCR, hızlı bir tarama metodu sunmaktadır. Bu çalışmada, hastanemizde izole edilen VRE suşlarının rep-PCR (tekrarlanan palindromlara dayalı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Dördü klinik örneklerden, 18'i hasta rektal sürüntü örneklerinden, 26'sı çevre kültürlerinden elde edilen toplam 48 VRE suşu alınmıştır. İzolatların tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri Vitek 2 otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) ile değerlendirilmiştir. Klonal analizleri rep-PCR yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışılan 48 VRE suşunun tümü *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır.

### ABSTRACT

**Objective:** Vancomycin resistant enterococci (VRE) has become an important nosocomial pathogens because of its rapid spread, accelerating mortality rates, limited options for therapy, and the possible transfer of vancomycin resistance to more-virulent pathogens. Active surveillance should be done to prevent VRE infections in hospitals. Molecular typing is most convenient method to show route of transmission during a surveillance. However, easy-to-perform, and reproducible typing methods are lacking. In detecting the hospital outbreaks and in taking the control measures, the rep-PCR presents a rapid screening method with its ease of use and rapid turnaround time. In this study, it was aimed to assess the clonal analysis of VRE strains isolated in our hospital with rep-PCR method (repetitive sequence based polymerase chain reaction).

**Method:** A total of 48 VRE strains obtained from four clinical specimens, 18 rectal swab samples and 26 environmental cultures. Identification and antibiotic susceptibility tests of isolates was evaluated by automated Vitek-2 system (bioMérieux, France). Clonal analysis was performed by using rep-PCR (DiversiLab, France) method.

**Results:** All the studied 48 strains were identified as *E. faecium*. The four clones which were determined by rep-PCR analysis, were named as A, B, C, D and in these groups sequentially the presence of 35, 3, 2, 2

<sup>1</sup> Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : İpek MUMCUOĞLU

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, ANKARA

Tel : +90 312 508 44 77

E-posta / E-mail : ipekumcuoglu@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 12.01.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 30.09.2015

DOI ID : 10.5505/TurkJHijyen.2016.94809

Bayık SA, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, Aksu N. Vankomisin dirençli enterokok suşlarının rep-PCR yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 1-8.

rep-PCR yöntemiyle belirlenen dört klon A, B, C, D grupları olarak isimlendirilmiş ve sırasıyla bu gruplarda 35, 3, 2, 2 suş olduğu tespit edilmiş ve altı izolatanın ise hiçbir klonla benzeşmediği görülmüştür.

**Sonuç:** Hastanemizde ilk VRE suşunun izole edildiği 2004 yılından beri hastane enfeksiyonlarını engellemek için riskli kliniklerde sürveyans yapılmaktadır. Ancak daha etkin enfeksiyon kontrolü için bulaş kaynaklarının ve geçiş yollarının kısa sürede gösterilmesi önemlidir. Bu çalışmada, rep-PCR yöntemi ile VRE suşlarının klonal yayılımı gösterilmiştir. Sonuç olarak rep-PCR yönteminin epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir ve enfeksiyon kontrol önlemlerine yardımcı olabilecek, hızlı, uygulaması ve değerlendirmesi kolay bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Vankomisin direnci, *Enterococcus faecium*, rep-PCR, sürveyans

strains were determined and no clonic similarity were observed in the six isolates.

**Conclusion:** The surveillance of VRE in risky clinics has been performed to prevent hospital infection since the first isolation of VRE in our hospital in 2004. However, it is important to show sources of contamination and route of transmission in a short time for more effective infection control. In this study, the clonal spreading of VRE strains with rep-PCR method was demonstrated. As a result the rep-PCR method was considered as a rapid, easily applied and evaluated method that can be used in epidemiological studies and can help infection control measures.

**Key Words:** Vancomycin resistance, *Enterococcus faecium*, rep-PCR, surveillance

## GİRİŞ

Gastrointestinal sistemin flora elemanlarından olan enterokoklar, 1970'li yıllara kadar nadiren endokardit gibi bazı hastalıkların etkeni olarak bildirilmiştir. Daha sonraki yıllarda antibiyotik kullanımındaki artışa bağlı olarak enterokokların toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyon hastalıkları etkenleri içindeki oranları artmıştır (1, 2). Çoklu ilaç direnci gösteren Gram pozitif bakteri enfeksiyonlarında kullanılan vankomisine karşı dirençli ilk enterokok suşunun 1986'da izole edilmesi hastane enfeksiyonu etkenleri arasında enterokokların önemini arttırmıştır (3). Geçen yirmi yıllık süreçte dünyanın hemen her ülkesinde çok sayıda hastanede vankomisin dirençli enterokok (VRE) suşları raporlanmıştır (4). Ülkemizde de ilk izolasyonun yapıldığı 1998 yılından günümüze çeşitli hastanelerde her geçen gün artan sayıda VRE kolonizasyon ve enfeksiyonu bildirilmektedir (5).

Özellikle çoklu ilaç direnci gösteren hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede; doğru stratejilerin geliştirilmesi ve sağlıklı, ekonomik, etkin sonuçların alınabilmesi için enfeksiyon etkenlerinin epidemiyolojik özelliklerinin belirlenmesi zorunludur. Enterokokların hastane

epidemiyolojilerini araştırmada; bakteriyosin tiplendirmesi, faj tiplendirmesi, biyokimyasal reaksiyon profilleri, antimikrobiyal direnç paternleri ve serolojik yöntemler gibi klasik fenotipik tiplendirme yöntemleri kullanılabilir. Ancak yöntemler çoğunlukla enterokoklar için bu ayırımı yeterince yapamamış ve epidemiyolojik çalışmalar için yararı kısıtlı olmuştur. Moleküler tiplendirme; dirençli enterokokların araştırılmasında, yayılımın önlenmesinde ve kontrolünde daha etkin bir yöntemdir (6-8).

Moleküler tiplendirme amacıyla yarı otomatize olarak ticari kullanıma sunulmuş olan rep-PCR yöntemi yapılan çalışmalarda PFGE (pulsed field gel elektroforezis) yöntemine iyi bir alternatif olarak bildirilmektedir (9, 10).

Bu çalışmada, hastanemizde başta yoğun bakım üniteleri (YBÜ) olmak üzere çeşitli birimlerde yatan hastaların klinik örneklerinden, sürveyans amaçlı alınan rektal sürüntü ve çevre kültürlerinden izole edilen VRE suşları rep-PCR yöntemi ile çalışılmış ve epidemiyolojik yakınlıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.



## GEREÇ ve YÖNTEM

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinin Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından yürütülen süreyans programı kapsamında 09 Kasım 2011 - 14 Aralık 2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerde yatan hastalardan alınan klinik materyallerden, rektal sürüntü örneklerinden ve çevre kültürlerinden izole edilen 48 Vankomisin dirençli enterokok (VRE) suşu çalışmaya alınmıştır. Her hasta için aynı tip materyalden izole edilen tek suş değerlendirilmiştir.

### Örneklerin alımı, ekimi ve değerlendirilmesi:

Hastanemizin riskli kliniklerinde yatan hastaların rektal sürüntü örnekleri 15 günde bir düzenli olarak VRE açısından değerlendirilmektedir. Taşıyıcıların artması ya da enfeksiyon oluşması durumunda çevre örnekleri de alınmaktadır. Rektal sürüntü örneklerinin Enterokokkosal agara (Oxoid, İngiltere) direkt ekimi yapılırken, çevre örnekleri 24 saat 37 °C'de VRE broth (Oxoid, İngiltere) besiyerinde zenginleştirme kültürü yapıldıktan sonra Enterokokkosal agara ekilmiştir. Klinik örnekler rutin olarak kanlı ve EMB (Oxoid) agara ekilmişlerdir. Kültürler aerop ortamda 37 °C'de maksimum 48 saat inkübe edilmiştir. Enterokokkosal agarda siyah renk oluşturarak üreyen koloniler ve klinik örneklerin koyun kanlı agarda görülen şüpheli kolonileri; hemoliz özelliği, Gram boyama, katalaz testi, %40 safralı eskülinli agarda üreme ve %6,5 NaCl'li buyyonda üreme testleri değerlendirilerek *Enterococcus* spp. olarak tanımlanmıştır. Enterokokların tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, VITEK-2 otomatize sistemiyle (bioMérieux-Fransa) yapılmıştır.

### Moleküler epidemiyolojik tiplendirme:

Çalışmada, moleküler epidemiyolojik tiplendirme amacıyla otomatize rep-PCR (Diversilab, bioMérieux, Fransa) yöntemi kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonu, 'UltraClean®' mikrobiyal DNA izolasyon kitiyle (MOBIO Laboratories Inc, Kaliforniya, ABD) üretici firma önerileri doğrultusunda yapılmış ve ekstrakte edilen *E. faecium* DNA'ları DiversiLab Enterococcus DNA parmak izi kiti (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, Fransa) kullanılarak rep-PCR yöntemiyle amplifiye edilmiştir. Örneklerden çoğaltılan ampiklonlara DiversiLabTM

DNA LabChip Kit'i kullanılarak mikro-akışkan elektroforez yapılmıştır. Yükleme yapılan çipler "Agilent 2100 Biyoanalizör" (Agilent Technologies, ABD) cihazına yüklenip VRE suşlarının rep-PCR tabanlı parmak izi kalıpları, internet tabanlı yorumlama ve yazılım programı olan '2100 expert software versiyon 3.4' ile değerlendirilmiştir. Bu yazılımda test edilen örnekler arasındaki benzerlik hesaplamasında Pearson Korelasyon Testi ile benzerlik matrisi oluşturularak sonuçlar analiz edilmiştir. İzolatlardan benzerliği >%97 olan, bant farkı olmayan suşlar "ayrıt edilemez"; benzerliği %95-97 olan, 1-2 bant farkı olanlar "benzer" ve benzerliği <%95, >2 bant farkı olanlar "farklı" olarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Bu çalışmada, 09 Kasım 2011- 14 Aralık 2011 tarihleri arasında hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ), plastik cerrahi servisi (PCS), nefroloji, hematoloji ve acil dahiliye servisinde (ADS) yatan hastalardan ve çevre kültürlerinden izole edilen 48 VRE suşu değerlendirilmiştir.

Konvansiyonel tanımlama yöntemleriyle ve VITEK-2 (bioMérieux) ile yapılan tür tayininde izolatların hepsi *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. VITEK AST-534 (bioMérieux) duyarlılık kartları ile izolatların tamamının vankomisin ve teikoplanine dirençli oldukları belirlenmiştir. İzolatların kliniklere göre dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

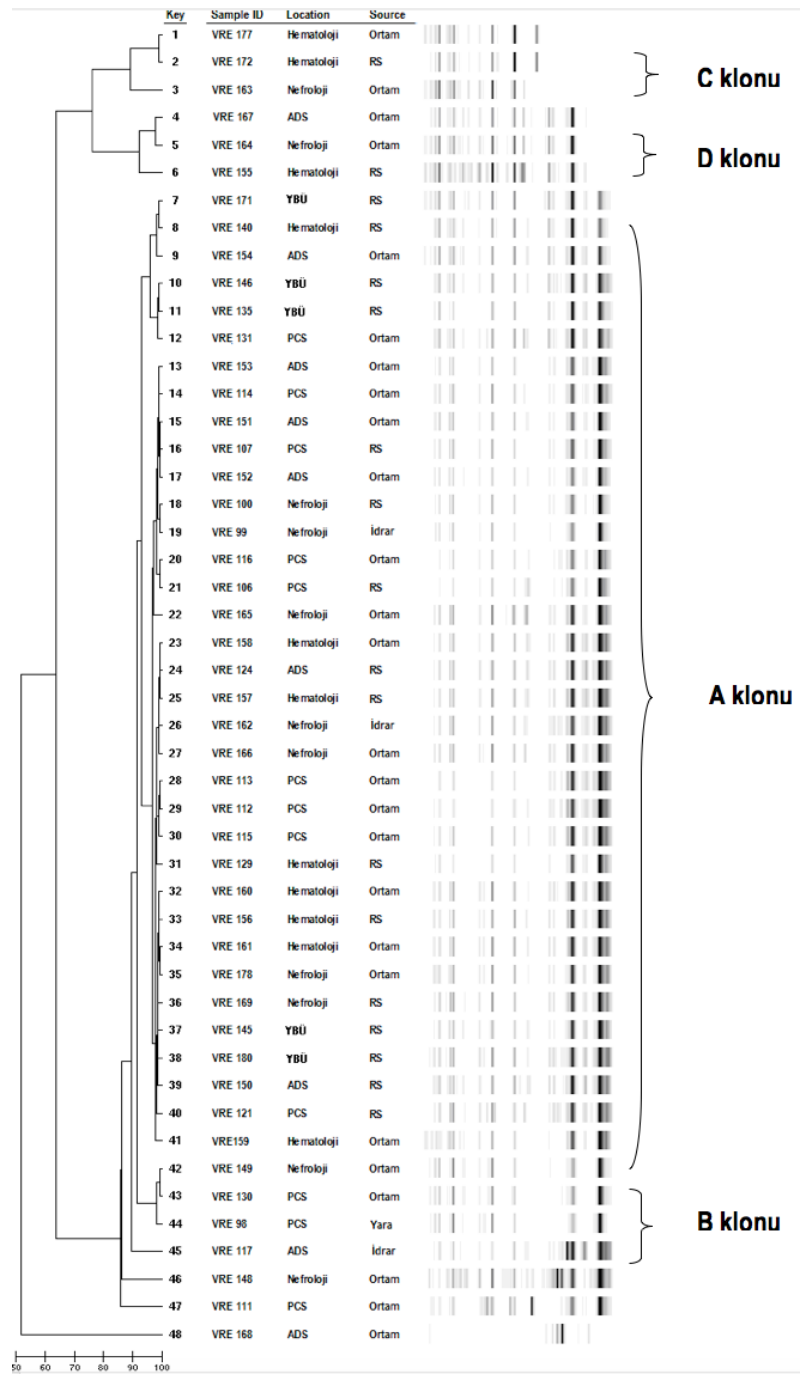
Tablo 1. VRE izolatlarının kliniklere göre dağılımı

Servis	Klinik örneklerden izole edilen VRE	Rektal sürüntüden izole edilen VRE	Çevreden izole edilen VRE
	n (%)	n (%)	n (%)
PCS	1 (%2,1)	3 (%6,3)	8 (%36,4)
Nefroloji	2 (%4,2)	2 (%4,2)	7 (%14,6)
Hematoloji	-	6 (%12,5)	5 (%10,4)
ADS	1 (%2,1)	2 (%4,2)	6 (%12,5)
YBÜ	-	5 (%10,4)	-
<b>Toplam</b>	<b>4 (%8,3)</b>	<b>18 (%37,5)</b>	<b>26 (%54,2)</b>

PCS: Plastik Cerrahi Servisi, ADS: Acil Dahiliye Servisi, YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

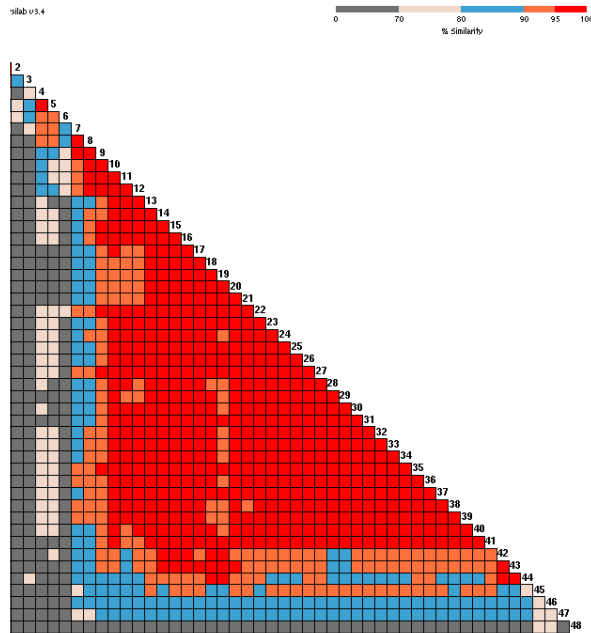
Çalışma sürecinde izole edilen dört klinik örneğin, biri PCS'de yatmakta olan hastanın yara kültüründen, ikisi nefroloji kliniğinde yatmakta olan hastanların idrar kültüründen ve biri ADS'de yatmakta olan hastanın idrar kültüründen izole edilmiştir. Örneklerin 18 (%37,5)'i hastalardan alınan rektal sürüntü örnekleri olup VRE izole edilen bu hastaların sekizi (%44,4) erkek, 10 (%55,6)'u kadın; yaş dağılımları 16-90 yıl arasında tespit edilmiştir (ortalama 60,3 yıl). Örneklerin 26 (%54,2)'sı VRE ile kolonize ve enfekte hastaların odalarından alınan ortam kültürlerinden elde edilmiştir. Bunların 17 (%65,4)'si yatak demirlerinden, dördü (%15,4) etejerlerden, ikisi (%7,7) dolaplardan, biri (%3,9) yatak başı masadan, biri (%3,9) pansuman arabasından ve biri (%3,9) mobil ultrason cihazından izole edilmiştir.

VRE izolatlarının genetik yakınlıklarını incelemek için rep-PCR (Diversilab, bioMérieux) ile yapılan değerlendirmede; toplam dört klon belirlenmiştir. A, B, C, D klonlarında sırayla 35, 3, 2, 2 VRE suşu bulunmuştur (Şekil 1). En fazla izolat içeren (35/48; %72,9) A klonu, çalışma için örnek alınan tüm servislerden izole edilmiştir. Bu klon YBÜ'den gönderilen hasta rektal sürüntü örneklerinin tamamından (5/5); plastik cerrahi servisinden gönderilen örneklerin %75'inden (3/12 rektal sürüntü; 6/12 çevre);



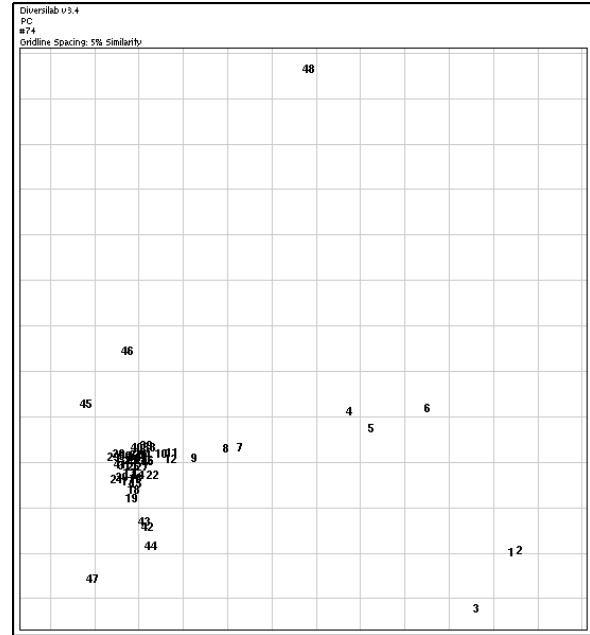
**Şekil 1.** VRE izolatlarının jel benzer görüntü dendrogramı. Dört klon görülmekte A (7-41); B (42-44); C (1,2); D (4,5). Altı izolatın hiçbir izolatla benzerliği saptanmamıştır (3, 6, 45-48). ADS: Acil Dahiliye Servisi, YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi, PCS: Plastik Cerrahi Servisi, RS: Rektal sürüntü örneği, Ortam: Ortam kültür örneği.

hematoloji servisinden gönderilenlerin %72,7'sinden (4/11 rektal sürüntü; 4/11 çevre); ADS'den gönderilenlerin %66,7'sinden (2/9 rektal sürüntü; 4/9 çevre) ve nefroloji servisinden gönderilen örneklerin %63,6'sından (2/11 idrar; 2/11 rektal sürüntü; 3/11 çevre) izole edilmiştir. A klonundaki örneklerin alım zamanı 11 Kasım - 14 Aralık 2011 tarihleri arasında yapılmıştır. B klonunda plastik cerrahi servisinde biri hasta yara örneğinden, diğeri çevre kültüründen ve biri nefroloji servisindeki çevre kültüründen olmak üzere toplam üç izolat bulunmuştur. Ayrıca diğeri suşlarla benzerlik oranları %95'ten küçük olan altı izolatın (%8,2) hiçbir klona ait olmadığı izlenmiştir. Bunlardan ikisi ADS'den (1/6 idrar; 1/6 çevre), ikisi nefroloji ortam kültürlerinden, birisi PCS ortam kültüründen ve sonucusu hematoloji servisinde yatmakta olan hasta rektal sürüntü kültüründen izole edilmiştir. C klonundaki iki izolatın benzerliği %99,2 olup bu izolatların bir tanesi hematoloji kliniğinde yatmakta olan hastanın rektal sürüntüsünden diğeri ise aynı hastaya ait yatağının demirinden izole edilmiştir. D klonunda bulunan izolattan biri ADS'deki etejerden; diğeri nefroloji servisinin yatak demirinden alınan



Şekil 2. VRE izolatlarının benzerlik matrisi

çevre kültür örneklerinden aynı günde izole edilmiş ve benzerlik oranları %97,9 olarak bulunmuştur. Tüm VRE suşlarının Diversilab v3.4 yazılım programıyla hesaplanan yüzde benzerlik matrisleri Şekil 2 ve Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3. VRE izolatlarının scatter plot (serpme diagram) görünümü

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Vankomisin dirençli enterokok suşu ilk olarak 1986 yılında Uttley ve ark. tarafından İngiltere'den ve Leclercq ve ark. tarafından Fransa'dan bildirilmiştir (3, 8). Ülkemizde ise ilk bildirim 1998'de Akdeniz Üniversitesi'nden Vural ve ark. tarafından yapılmıştır (5). Geçen yirmi yıllık sürede VRE enfeksiyon ve kolonizasyon oranları hızla artmış ve pek çok hastanenin problemi haline gelmiştir.

Ülkemizde hastalardan izole edilen VRE kökenleri incelendiğinde, çoğunun *E. faecium* olduğu ve vana direnç geni taşıdıkları görülmektedir (9, 10).

Hastanemizde ilk kez 2004 Eylül ayında hematoloji kliniğinde yatmakta olan bir hastanın idrar kültüründe VRE tesbitinin ardından yapılan surveyans çalışmalarında, hematoloji-onkoloji kliniğinde yatan

hastalardan ve çevre sürüntülerinden, toplam 18 VRE suşu izole edilmiştir. Bu suşların tamamı *E. faecium* olarak tanımlanmıştır (11).

Alaca ve ark.'nın (12); 2009'da yine hastanemizde yaptığı bir çalışmada, izole edilen 38 VRE suşunun 30 (%78,95)'unda vanA, sekizinde (%21,05) vanB direnç geni tespit edilmiştir. Ayrıca vanB geni taşıyan suşların tamamının farklı kliniklerden izole edilmesine rağmen aynı klondan oldukları ve kaynağın sekiz hastanın da başvurduğu hemodiyaliz kliniği olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, 38 izolatta PFGE testine göre her birisinde üç ile on arasında izolat bulunan altı farklı bant paterni elde edilmiş ve VRE izolatlarının çalışmamıza benzer şekilde o dönemde de hastanemizde poliklonal yayılım gösterdikleri saptanmıştır.

PFGE; hastane kökenli salgınlara sürveyansında, salgın izolatlarının ilişkilendirilmesi ve salgın kaynağının tespit edilmesinde "altın standart" olarak kabul edilmektedir (6, 13). Ancak PFGE yoğun iş gücü gerektiren, zaman alıcı bir yöntemdir ve elde edilen sonuçların yorumlanması her zaman kolay değildir (14). Bu nedenle alternatif olabilecek genotiplendirme yöntemleri geliştirilmektedir. Diversilab rep-PCR (bioMérieux), PFGE'ye göre daha hızlı (3-4 güne karşın 4 saat) ve uygulaması kolay yarı otomatize bir sistemdir. Bu yöntemde; bakteri ve birçok mantar türünde, kromozomun farklı bölgelerinde bulunabilen, kısa, tekrarlayan ve konservatif yapıları hedef alan kısa primerler kullanılmaktadır. Genomda farklı uzaklıklarda yerleşmiş olan bu dizilerin boyutları her bakteri türü için özgüdür ve farklı türler arasında çeşitlilik göstermektedir. Tekrarlayan elementleri hedef alan primerlerin kullanıldığı amplifikasyon sonucunda değişik uzunluklarda DNA fragmentleri oluşur. Bu fragmentlerin polimorfizmi spesifik DNA fingerprinting -parmak izi- olarak değerlendirilir (8). VRE suşlarını tiplendirmede manuel rep-PCR ile PFGE yönteminin karşılaştırıldığı çalışmalarda bu iki metodun sonuçları uyumlu bulunmuştur (14-17).

Güler ve ark. (18); 2011 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yatmakta olan hastalardan izole ettikleri 100 MRSA suşunu rep-PCR yöntemiyle çalışmış, MRSA suşlarının klonal yayılım gösterdiğini ve yöntemin epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilecek kolay uygulanabilir, hızlı ve başarılı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda, rep-PCR yöntemi ile VRE suşlarının klonal yakınlıkları incelendiğinde dört klon belirlenmiştir. A, B, C, D klonlarında sırayla 35, 3, 2, 2 VRE suşu bulunmaktadır. Ayrıca altı izolat ise hiçbir klona ait olmadığı görülmüştür (Şekil 1).

Salgında öne çıkan, sayıca en fazla izolat içeren (35/48) A klonundaki suşlar, çalışma için örnek alınan tüm servislerden izole edilmiştir. Bu klonda yer alan hastalar incelendiğinde; birkaçının klinikler arasında transfer edildiği (ADS'deki üç hastadan ikisi nefroloji kliniğine; birisi YBÜ'ye alınmıştır) ve birkaçının da diyaliz ünitesini kullandığı (nefrolojiden üç, ADS'den iki, hematoloji ve YBÜ'den birer hasta) tespit edilmiştir. Bu dört servis arasındaki monoklonal yayılımın nedeninin bu transferler olduğu düşünülmüştür.

C klonundaki iki izolat, hematoloji kliniğinde yatmakta olan bir hastanın rektal sürüntü örneğinden ve aynı hastaya ait yataktan izole edilmiştir. B ve D klonlarındaki izolatlar arasında bulaş ilişkisi gösterilememiş ancak konsültasyona giden hekimlerin ve taşıma görevinden sorumlu olan hastane personelinin bulaştıran sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

Moleküler çalışmalar; daha önce VRE izole edilmemiş hastanelerde ve salgının erken dönemde tespit edilebildiği durumlarda monoklonal yayılımın, VRE izolasyonunun uzun zamandır endemik olarak bulunduğu hastanelerde ise poliklonal yayılımın olduğunu göstermektedir (19). Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, hastanemizde poliklonal bir yayılımın olduğu izlenmektedir.

Enterokok enfeksiyonlarının çoğunlukla vankomisin kullanımı sonucu, hastanın endojen florasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, çalışmalarda hastadan hastaya, doğrudan veya kontamine alet ve çevreden ya da çalışanların ellerinden geçişin de olduğu gösterilmiştir (20). Hastanemizde farklı kliniklerde benzer suşların bulunmuş olması hasta transferlerinin de yayılımda rol oynadığını göstermektedir.

Hastane Enfeksiyon Kontrol Uygulamaları Danışma Komitesi, VRE yayılımının kontrolü için en önemli basamağın her hasta için ayrı bir eldiven kullanmak olduğunu bildirmektedir (21). Hastanemizin şartları düşünüldüğünde çalışanların bu kurala uyamayabilecekleri düşünülmektedir. Öte yandan hastanemizde tedavi gören kişilerin ve yakınlarının genellikle sosyo ekonomik durumu düşük olduğu ve bu kişilerin çoğu zaman çevre ve kişisel hijyene dikkat etmedikleri izlenmektedir. Bu sonuçlar dikkate alındığında hastanemizde ekzojen VRE yayılımının; kontamine el, eşya ve yüzeyler nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir.

Ülkemizde VRE enfeksiyon ve kolonizasyon oranlarının ABD ve Avrupa ülkelerindeki kadar yüksek olmaması bizim açımızdan sevindirici olmakla birlikte, ilk VRE izolasyonundan bu yana geçen on yıllık süreçte hastanemizde oranın gittikçe artması endişe vericidir. Bu yayılımın önlenmesi için etkin sürveyans çalışmalarının yapılması, hastanedeki kaynağın belirlenmesi için izole edilen suşların benzerliklerinin moleküler analizlerle ortaya konulması ve yayılım yollarının kesilmesi gerekmektedir.

Bu amaçla çalışmamızda, diğer moleküler yöntemlerden daha kısa sürede sonuç veren ve web tabanlı sistemi ile yorumlama ve değerlendirme kolaylığı getiren rep-PCR yöntemi ile VRE suşlarının klonal analizi yapılmıştır.

Sonuç olarak, rep-PCR yönteminin epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilirlik ve enfeksiyon kontrol önlemlerine yardımcı olabilecek, hızlı, uygulaması ve değerlendirmesi kolay bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

## KAYNAKLAR

1. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 2009; 155 (pt6): 1749-57.
2. Murray BE. The life and times enterococcus. *Clin Microbiol Rev*, 1990; 3: 45-65.
3. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med*, 1988; 319: 157-61.
4. Arias CA, Murray BE. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol*, 2012; 10(4): 266-78.
5. Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A ve ark. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *ANKEM Derg*, 1999; 13(1): 1-4.
6. Teixeira LM, Carvalho MGS, Facklam RR. *Enterococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007: 430-42.
7. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill*, 2008; 13(47): pii:19046.

8. Durmaz R. Hastane enfeksiyonu salgınında moleküler biyolojik yöntemler. *Hast Enfek Derg*, 2005; 9: 196-212.
9. Ross TL, Merz WG, Farkosh M, Carroll KC. Comparison of an automated repetitive sequence-based PCR microbial typing system to pulsed-field gel electrophoresis for analysis of outbreaks of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 2005; 43: 5642-7.
10. Chuang YC, Wang JT, Chen ML, Chen YC. Comparison of an automated repetitive-sequence-based PCR microbial typing system with pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol*, 2010; 48(8): 2897-901.
11. Güven T. Vankomisin dirençli enterokok kolonizasyonu ve enfeksiyonunda risk faktörlerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi, Ankara, 2006.
12. Alaca Coşkun F, Mumcuoğlu İ, Aksu N, Karahan ZC, Us E, Tekeli FA ve ark. Bir devlet hastanesinde vankomisine dirençli enterokok suşlarının fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesi: İlk vanB-pozitif *Enterococcus faecium* izolatları. *Mikrobiyol Bul*, 2012; 46(2): 276-82.
13. Singh A, Goering RV, Simjee S, Foley SL, Zervos MJ. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clin Microbiol Rev*, 2006; 19: 512-30.
14. Pounder JI, Shutt CK, Schaecher BJ, Gail LW. Clinical evaluation of repetitive sequence-based polymerase chain reaction using the Diversilab system for strain typing of vancomycin-resistant enterococci. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2006; 54: 183-7.
15. Malthum K, Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. Repetitive sequence-based PCR versus pulse-field gel electrophoresis for typing *Enterococcus faecalis* at the subspecies level. *J Clin Microbiol*, 1998; 40: 868-76.
16. Shutt CK, Pounder JI, Page SR, Schaecher BJ, Woods GL. Clinical evaluation of the Diversilab microbial typing system using rep-PCR for strain characterization of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 2005; 43: 1187-92.
17. Tenover FC, Gay EA, Frye S, Eels SJ, Healy M, McGowan J. Comparison of typing results obtained of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with the Diversilab system and pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol*, 2009; 47: 2452-7.
18. Güler İ, Kılıç H, Atalay MA, Perçin D, Erçal BD. Klinik örneklerden izole edilen hastane kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının rep-PCR ile genotiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 2011; 45(4): 581-91.
19. Boyce JM, Mermel LA, Zervos MJ, Rice LB, Potter-Bynoe G, Giorgio C, et al. Controlling vancomycin resistance enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1995; 16: 634-7.
20. Clark NC, Cooksey RC, Hill BC, Swenson JM, Tenover FC. Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from US hospitals. *Antimicrob Agents Chemoter*, 1993; 37: 2311-7.
21. Anonymous. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm Rep*. 1995; 44(RR-12): 1-13.

# Antibiotic resistance and metallo-beta-lactamase positivity in carbapenem-resistant non-fermentative Gram negative bacilli

## Karbapenemlere dirençli non-fermenter Gram negatif basillerde antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz pozitifliği

Mustafa GÜZEL<sup>1</sup>, Yasemin GENÇ<sup>2</sup>, Altan AKSOY<sup>2</sup>, Penka MONCHEVA<sup>1</sup>, Petya HRISTOVA<sup>1</sup>

### ABSTRACT

**Objective:** Antibiotic resistance in Gram negative bacteria is an increasing problem worldwide and a challenging issue for the physicians in both nosocomial and community-acquired infections. Infections caused by metallo-beta-lactamase (MBL)-producing bacteria are particularly threatening as the resistance genes of these bacteria may render an entire antibiotic class ineffective. Moreover, the rates of multidrug-resistant strains are also higher among MBL-producing bacteria. Multidrug resistance has been gradually increasing among non-fermentative Gram-negative bacilli (NFGNB). The present study aimed to investigate resistance rates of carbapenem-resistant NFGNB isolated from patients' specimens to other antibiotics and to evaluate MBL production by E-test method.

**Method:** Carbapenem-resistant NFGNB, which were isolated from the inpatients' specimens sent from January 2014 through March 2015 to Ankara Numune Training and Research Hospital Medical Microbiology Laboratory, were included. Imipenem- and/or meropenem-resistant strains were considered as carbapenem-resistant. Meropenem/meropenem+EDTA E-test strips were used for phenotypic MBL detection.

**Results:** The study included 110 carbapenem-resistant NFGNB strains. Of these strains, 44.5% were *Acinetobacter baumannii* and 36.4% were *Pseudomonas aeruginosa*. The NFGNB strains were mostly isolated from tracheal aspirate (37.9%), followed by blood (22.3%), wound (17.5%), and urine (13.6%) specimens. When all carbapenem-resistant NFGNB strains were considered, the highest rate of resistance was ampicillin-sulbactam

### ÖZET

**Amaç:** Gram negatif bakterilerde görülen antibiyotik direnci tüm dünyada giderek artan bir sorundur ve hem hastane içi hem de toplum kökenli enfeksiyonlarda hekimleri zorlayan bir konudur. Metallo-beta-laktamaz (MBL) üreten bakteriler ile oluşan enfeksiyonlar özellikle endişe vericidir; çünkü bu bakterilerdeki direnç genleri bir sınıf antibiyotiğin tümünü etkisiz kılabilirler. Ayrıca, MBL üreten bakteriler arasında çoklu ilaç dirençli suşların oranı da yüksek olmaktadır. Çoklu ilaç direnci non-fermenter Gram negatif basiller (NFGNB) arasında giderek artış göstermektedir. Bu çalışmada, hasta örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli NFGNB (non-fermenter Gram negatif basiller)'de diğer antibiyotiklere direnç oranlarının ve E-test yöntemi ile MBL üretiminin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2014 ve Mart 2015 yılları arasında gönderilen yatan hasta örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli NFGNB çalışmaya dahil edilmiştir. İmipenem ve/veya meropenem dirençli suşlar karbapenem dirençli olarak kabul edilmiştir. Fenotipik olarak MBL tayini için meropenem/meropenem+EDTA E-test stripleri kullanılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmaya 110 karbapenem dirençli NFGNB suş dahil edilmiştir. Bunların %44,5'i *Acinetobacter baumannii*, %36,4'ü *Pseudomonas aeruginosa*'dır. NFGNB suşlarının en fazla izole edildiği örnek trakeal aspirat (%37,9) olup bunu %22,3 ile kan, %17,5 ile yara ve %13,6 ile idrar örneği izlemiştir. Karbapenem dirençli tüm NFGNB

<sup>1</sup> Department of Mikrobiyoloji, University of Sofia "st. Kliment Ohridski" Faculty of Biology, SOFIA, BULGARIA

<sup>2</sup> Ankara Numune Research and Education Hospital, Medical Mikrobiyoloji, ANKARA, TURKEY



İletişim / Corresponding Author : Mustafa GÜZEL

Department of Mikrobiyoloji, University of Sofia "st. Kliment Ohridski" Faculty of Biology, SOFIA, BULGARIA

Tel : +90 216 462 02 84

E-posta / E-mail : dr.mustafaguzel@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 28.05.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 04.09.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.55706

Güzel M, Genç Y, Aksoy A, Moncheva P, Hristova P. Antibiotic resistance and metallo-beta-lactamase positivity in carbapenem-resistant non-fermentative Gram negative bacilli. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 9-14.

(95.5%), followed by ciprofloxacin (87.8%), and cefepime (83.3%). Of 110 strains, only 1 (0.9%) was determined to be MBL positive. This was an *Acinetobacter baumannii* isolated from urine sample.

**Conclusion:** Detection of enzyme-producing strains by appropriate antibiogram and routine MBL screening of clinical isolates, surveillance, and rational antibiotic use are essential in the control of resistant NFGNB infections, the rate of which is gradually increasing and the treatment of which is difficult and costly.

**Key Words:** Gram negative bacteria, metallo-beta-lactamase, carbapenem

suşları göz önüne alındığında, en yüksek direnç oranları sırasıyla ampicilin-sulbaktam (%95,5), siprofloksasin (%87,8) ve sefepim (%83,3) için gözlenmiştir. MBL pozitifliği 110 suştan yalnızca birinde (%0,9) saptanmıştır. Bu suş idrar örneğinden izole edilen bir *A. baumannii*'dir.

**Sonuç:** Giderek artan ve tedavisi güç ve maliyetli olan dirençli NFGNB enfeksiyonlarının kontrolünde klinik izolatların uygun antibiyogramı ve rutin MBL taraması ile enzim üreten suşların saptanması, süreyansı ve akılcı antibiyotik kullanımı esastır.

**Anahtar Kelimeler:** Gram negatif bakteri, metallo-beta-laktamaz, karbapenem

## INTRODUCTION

Antibiotic resistance in Gram negative bacteria is an increasing problem worldwide and a challenging issue for the physicians in both nosocomial and community-acquired infections. The resistance problem has gained more importance along with the occurrence of antibiotic-degrading enzymes such as extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), carbapenemases (KPCs), and metallo-beta-lactamases (MBLs) among *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species (1). Infections caused by MBL-producing bacteria are particularly threatening as these resistance genes are usually located in transferable plasmids and may render an entire antibiotic class ineffective (2). Besides, the rates of multidrug- and pandrug-resistant strains are higher among MBL-producing bacteria (3).

Multidrug resistance has been gradually increasing among non-fermentative Gram negative bacilli (NFGNB). Treatment of infections caused by bacteria resistant to the primary therapeutic agents such as beta-lactam, fluoroquinolone, aminoglycoside, and carbapenem group antibiotics is difficult and leads to a high cost (4). The present study aimed to investigate resistance rates of carbapenem resistant NFGNB isolated from patients' specimens to other antibiotics and to evaluate MBL production by E-test method.

## MATERIALS and METHODS

Carbapenem resistant 110 NFGNB, which were isolated from the clinical specimens sent from January 2014 through March 2015 to Ankara Numune Training and Research Hospital Medical Microbiology Laboratory, were included in the study. All of the specimens were obtained from inpatients.

Bacterial identification was performed by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-ToF-MS). Antibiotic susceptibility test was performed by the BD Phoenix fully-automated system according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline, 2014. Imipenem- and/or meropenem-resistant strains were considered as carbapenem resistant.

Meropenem / meropenem+EDTA E-test strips (Biomerieux) were used for phenotypic MBL detection. Dose content of the meropenem / meropenem+EDTA E-test strip was 8/2 0.125-8/0.032-2 µg/mL. The test was accepted as MBL positive in case of a minimum inhibitory concentration (MIC) value of MP / MP+EDTA was  $\geq 8$  and in the presence of a phantom zone or deformation of the zone. The PASW Statistics for Windows version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for statistical analyses. Descriptive statistics were presented as number and percentage for categorical variables.



## RESULTS

In a total of 110 carbapenem resistant NFGNB strains, 44.5% were *Acinetobacter baumannii* and 36.4% were *Pseudomonas aeruginosa*. *P. putida* were not included in the analysis because of insufficient number. The NFGNB isolated clinical specimens were grouped as abscess/wound, urine, blood, tracheal aspirate/sputum and sterile body fluids. The NFGNB strains were mostly isolated from tracheal aspirate (37.9%), followed by blood (22.3%), wound (17.5%), and urine (13.6%) specimens.

While *P. aeruginosa* was the most frequently isolated bacteria in the abscess/wound and urine specimens (42.9% and 46.2%, respectively), *A. baumannii* was the most frequently isolated bacteria in the blood and tracheal aspirate/sputum specimens (60.9% and 48.8%, respectively). However, there was no

significant difference between the clinical specimens and the distribution of isolated bacteria ( $p=0.793$ ). The distribution of carbapenem resistant NFGNB strains according to species and clinical specimens are demonstrated in Table 1. When all carbapenem-resistant NFGNB strains were considered, the highest rate of resistance was ampicillin sulbactam (95.5%), followed by ciprofloxacin (87.8%) and cefepime (83.3%). Antibiotic resistance rates of carbapenem resistant NFGNB are demonstrated in Table 2.

Totally only one (0.9%) of 110 strains, was determined to be MBL positive. This was an *Acinetobacter baumannii* isolated from the urine sample. In the present study, only one strain with a MIC (minimum inhibitory concentration) ratio of  $>8$  was observed and phantom zone or zone deformation was not observed.

**Table 1.** Distribution of carbapenem resistant non fermentative Gram negative bacilli according to species and clinical specimens

	n	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. maltophilia</i>	p
		n (%)	n (%)	n (%)	
Abscess/Wound	21	8 (38.1)	9 (42.9)	4 (19.0)	0.793
Urine	13	5 (38.5)	6 (46.2)	2 (15.4)	
Blood	23	14 (60.9)	6 (26.1)	3 (13.0)	
Tracheal aspirate / Sputum	41	20 (48.8)	16 (39.0)	5 (12.2)	

Sterile body fluids, including cerebrospinal fluid (n=1), peritoneal fluid (n=1), pleural fluid (n=1), and bile (n=1), and *P. putida* (n=1) were not included in the analysis because of insufficient number.

**Table 2.** Antibiotic resistance rates of carbapenem resistant non fermentative Gram negative bacilli

	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. putida</i>	<i>S. maltophilia</i>	All NFGNB
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Amikacin	42 (85.7%)	19 (47.5%)	1 (100.0%)	-	62 (68.9%)
Gentamicin	43 (87.8%)	28 (70.0%)	1 (100.0%)	-	72 (80.0%)
Ampicillin Sulbactam	46 (93.9%)	37 (97.4%)	1 (100.0%)	-	84 (95.5%)
Piperacillin Tazobactam	48 (98.0%)	25 (62.5%)	1 (100.0%)	-	74 (82.2%)
Cefepime	48 (98.0%)	26 (65.0%)	1 (100.0%)	-	75 (83.3%)
Ceftazidime	47 (95.9%)	26 (65.0%)	0 (0.0%)	-	73 (81.1%)
Ciprofloxacin	47 (95.9%)	31 (77.5%)	1 (100.0%)	-	79 (87.8%)
Levofloxacin	47 (95.9%)	28 (71.8%)	1 (100.0%)	4 (20.0%)	80 (73.4%)
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	39 (79.6%)	39 (100.0%)	1 (100.0%)	5 (25.0%)	84 (77.1%)
Colistin	3 (6.1%)	2 (5.0%)	0 (0.0%)	-	5 (5.6%)

NFGNB, non fermentative Gram negative bacilli.

## DISCUSSION

Carbapenem resistant NFGNB are usually resistant to other antibiotic groups such as cephalosporins, aminoglycosides, quinolones and beta lactam + beta lactamase inhibitors as well. This multiple resistance of NFGNB has also been demonstrated in the studies (5-7). In the present study, carbapenem-resistant NFGNB were found to be resistant to the other antibiotics by 69%-95%. There was no significant difference between the clinical specimens regarding antibiotic resistance rates.

Antibiotic options are quite limited in multiple-resistant NFGNB infections; old but well-known polymyxins, which have become available again, are an option in the treatment of resistant strains. Although types of polymyxins range from A to E, only polymyxins B and E (colistin) are being marketed and used in clinical practice (8). Colistin resistance among NFGNB has been reported to be low as 0-1% (5, 6, 9, 10) and it was determined to be 5.6% in the present study. Although resistance to polymyxins is lower than 10% in many geographic regions, higher resistance rates have been reported for the Mediterranean and South-East Asia (Korea and Singapore) regions (11). Increased use of broad spectrum cephalosporins, beta lactam + beta lactamase inhibitor combinations, carbapenems, fluoroquinolones, and aminoglycosides, which are the main drug groups used in the treatment of Gram-negative bacilli, has been reported to be associated with increased drug resistance which shows variation among bacterial species (12, 13). Likewise, it can be suggested that increased colistin use would cause a gradual increase in colistin resistance.

In the present study, MBL production was evaluated by E-test method in the carbapenem resistant NFGNB strains isolated from the clinical specimens. Phenotypic tests such as different double disc synergy tests (DDST), carbapenem/EDTA combined disk test (CDT), and E-test and genotypic methods (gene detection via polymerase chain reaction) can be used

to detect MBL in resistant bacteria (9). It has been demonstrated that there are differences between phenotypic tests in terms of the rates of detecting MBL positivity and that the use of a single method might be insufficient and better outcomes could be obtained with the use of more than one method (5). Nevertheless, Yan et al. (14) reported that the sensitivity and specificity of E-test in detecting MBL in *Pseudomonas* spp. and *A. baumannii* were 87% and 100%, respectively. Farajzadeh Sheikh et al. (6) reported that the sensitivity and specificity of E-test in detecting MBL were 100% and 24.6%, respectively, among carbapenem resistant *P. aeruginosa* strains. In the study, MBL positivity has been reported in varying rates in the studies on carbapenem-susceptible and carbapenem resistant NFGNB strains. Gupta et al. (10) investigated ESBL, AmpC beta-lactamase, and MBL production via phenotypic tests in *A. baumannii* strains (n=100) isolated from the wound cultures of the burn patients and determined that these three resistance mechanisms coexisted in 25% of the isolates. Szejbach et al. (9) determined MBL positivity to be 66.7% by DDST, 94.4% by imipenem/EDTA CDT, and 88.9% by E test in carbapenem resistant *A. baumannii* isolates (n=78). Peter et al. (7) reported the MBL positivity by means of gene detection to be 33.8% in meropenem non-susceptible *P. aeruginosa* isolates. Kaleem et al. (15) determined MBL positivity by E-test to be 84% for *Acinetobacter* spp. and 78% for *P. aeruginosa* among carbapenem resistant isolates. In the present study, E-test method was used in detecting MBL production among carbapenem resistant NFGNB strains and MBL positivity was determined in only one (0.9%) out of 110 strains. The low MBL positivity might be resulted from using E-test alone or another potential resistance mechanism. We are in the opinion that the low MBL positivity is due to OXA type genes which is the most common cause of carbapenem resistance in Turkey (16).

Education of health care staff prescribing medication, infection control and antibiotic

management, implementation of an active surveillance system, restriction of non human use of antimicrobials (e.g. livestock), and sharing data about resistant strains at national and international level are recommended to control resistant bacteria (17). It has been demonstrated that a successful infection control and surveillance may result in a decrease in the rates of resistant strains (18).

In conclusion, detection of enzyme-producing strains by appropriate antibiotic susceptibility tests and routine MBL screening of clinical isolates, surveillance and rationale antibiotic usage are essential parameters in the control of gradually increasing resistant NFGNB infections and the treatment of them which costs money and needs so many interventions.

## REFERENCES

1. Curcio D. Multidrug resistant Gram negative bacterial infections: are you ready for the challenge? *Curr Clin Pharmacol*, 2014; 9 (1): 27-38.
2. Fast W, Sutton LD. Metallo- $\beta$ -lactamase: inhibitors and reporter substrates. *Biochim Biophys Acta*, 2013; 1834 (8): 1648-59.
3. Ranjan S, Banashankari G, Babu PS. Comparison of epidemiological and antibiotic susceptibility pattern of metallo beta lactamase positive and metallo beta lactamase negative strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Lab Physicians*, 2014; 6(2): 109-13.
4. McGowan JE Jr. Resistance in non fermenting Gram negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *Am J Infect Control*, 2006; 34 (5 Suppl 1): S29-37; discussion S64-73.
5. Bulut Y, Çağlar H. Gram negatif non-fermantatif bakterilerde metallo beta laktamaz enziminin farklı yöntemlerle gösterilmesi. *FÜ Sağ Bil Tıp Derg*, 2013; 27 (3): 135-40.
6. Farajzadeh Sheikh A, Rostami S, Jolodar A, Tabatabaiefar MA, Khorvash F, Saki A, et al. Detection of metallo beta lactamases among carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Jundishapur J Microbiol*, 2014; 7 (11): e12289.
7. Peter S, Lacher A, Marschal M, Hölzl F, Buhl M, Autenrieth I, et al. Evaluation of phenotypic detection methods for metallo  $\beta$  lactamases (MBLs) in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014; 33 (7): 1133-41.
8. Sánchez A, Gattarello S, Rello J. New treatment options for infections caused by multiresistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermenting Gram negative bacilli. *Semin Respir Crit Care Med*, 2011; 32 (2): 151-8.
9. Szejbach A, Mikucka A, Bogiel T, Gospodarek E. Usefulness of phenotypic and genotypic methods for metallo beta lactamases detection in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* strains. *Med Sci Monit Basic Res*, 2013; 19: 32-6.
10. Gupta V, Garg R, Garg S, Chander J, Attri AK. Coexistence of extended spectrum beta-lactamases, AmpC beta lactamases and metallo-beta lactamases in *Acinetobacter baumannii* from burns patients: a report from a tertiary care centre of India. *Ann Burns Fire Disasters*, 2013; 26 (4): 189-92.
11. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin*, 2015; 31 (4): 707-21.
12. Hsueh PR, Chen WH, Luh KT. Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram negative bacteria causing nosocomial infections from 1991-2003 at a university hospital in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents*, 2005; 26 (6): 463-72.
13. Lai CC, Wang CY, Chu CC, Tan CK, Lu CL, Lee YC, et al. Correlation between antibiotic consumption and resistance of Gram negative bacteria causing health care associated infections at a university hospital in Taiwan from 2000 to 2009. *J Antimicrob Chemother*, 2011; 66 (6): 1374-82.

14. Yan JJ, Wu JJ, Tsai SH, Chuang CL. Comparison of the double disk, combined disk, and E test methods for detecting metallo beta lactamases in Gram negative bacilli. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2004; 49 (1): 5-11.
15. Kaleem F, Usman J, Hassan A, Khan A. Frequency and susceptibility pattern of metallo beta lactamase producers in a hospital in Pakistan. *J Infect Dev Ctries*, 2010; 4 (12): 810-3.
16. Aksoy MD, Çavuşlu Ş, Tuğrul HM. Investigation of metallo beta lactamases and oxacilinases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated from inpatients. *Balkan Med J*, 2015; 32 (1): 79-83.
17. Vasoo S, Barreto JN, Tosh PK. Emerging Issues in Gram negative bacterial resistance: An update for the practicing clinician. *Mayo Clin Proc*, 2015; 90 (3): 395-403.
18. Abdallah M, Olafisoye O, Cortes C, Urban C, Charles C, Landman D, et al. Reduction in the prevalence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in New York City. *Am J Infect Control*, 2015; pii: S0196-6553(15) 00114-5.

## Hastanemizde üç yıllık süreçte kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* ve non-*albicans Candida* türlerinin etken olduğu kandidemilerdeki risk faktörlerinin irdelenmesi \*

### Evaluation of risk factors in candidemias caused by *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species, isolated from the blood cultures for three years period in our hospital

Hikmet Eda ALIŞKAN<sup>1</sup>, Emine Duygu BOZKIRLI<sup>1</sup>, Şule ÇOLAKOĞLU<sup>1</sup>, Müge DEMİRBİLEK<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** *Candida* türlerinin etken olduğu kan dolaşım enfeksiyonları, hastanede yatan hastalarda morbidite ve mortaliteyi artıran en önemli nedenlerden biridir. Fungusların etken olduğu kan dolaşım enfeksiyonları içerisinde en sık *Candida* türleri izole edilmektedir. *Candida* türlerinden *C. albicans* (CA)'ların yanı sıra non-*albicans Candida* (NAC) türlerinin prevalansı giderek artmaktadır. Çalışmamızda; üç yıllık süreçte, pediatrik ve erişkin yaş grubundaki hastaların kan kültüründe CA ve NAC türlerinin etken olarak izole edildiği kandidemilerdeki risk faktörlerini belirlemek ve iki türün etken olduğu hastaları karşılaştırmak amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Kandidemi şüpheli hastalardan kan kültürü için alınan örnekler BACTEC Aerobik/F şişesine inoküle edilmiş ve BACTEC 9240 (Becton Dickinson, Maryland, USA) cihazına yerleştirilmiştir. Pozitif üreme alarmı veren kan kültürü şişeleri çıkarılarak %5 koyun kanlı ve çikolata agar içeren besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Üreyen maya kolonilerine Germ tüp testi yapılmıştır. Germ tüp testi negatif olan kolonilerin, API 20C AUX (bioMérieux, Fransa) kitleri ile tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır.

#### ABSTRACT

**Objective:** Bloodstream infections caused by *Candida* species are one of the most important cause that increase morbidity and mortality in hospitalized patients. Among the bloodstream infections caused by fungi, *Candida* species are the most frequently isolated ones. In addition to *C. albicans* (CA) from *Candida* species the prevalence of non-*albicans Candida* (NAC) species is gradually increasing. In our study, it was aimed to determine risk factors in candidemias caused by CA and NAC species isolated from the blood culture of the pediatric and adult patients for 3 years period and to compare patients having candidemias caused by the two species.

**Method:** Samples taken from the candidemia suspected patients for blood culture were inoculated into BACTEC Aerobik/F bottles and placed into the automated system BACTEC 9240 (Becton Dickinson, Maryland, USA). The blood culture that signaled a positive growth alarm were subcultured on the 5% sheep blood and chocolate agars. Germ tube test was performed on isolated yeast colonies. The identification of germ tube test negative colonies were done according to the level of species with the use of API 20C AUX

\* Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmış (Proje no: KA10/190) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu ile desteklenmiştir.

<sup>1</sup> Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Hikmet Eda ALIŞKAN

Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, ANKARA

Tel : +90 322 327 27 27

E-posta / E-mail : ealiskan@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 21.04.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 28.10.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.49369

Alişkan HA, Bozkırtı ED, Çolakoğlu Ş, Demirbilek M. Hastanemizde üç yıllık süreçte kan kültürlerinden izole edilen *Candida albicans* ve non-*albicans Candida* türlerinin etken olduğu kandidemilerdeki risk faktörlerinin irdelenmesi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 15-24 .

Germ tüp testi pozitif olan izolatlar CA olarak tanımlanmıştır.

**Bulgular:** Kan kültüründe *Candida* üremesi olan 163 hastanın 100 (%61,3)'ü 0-17 yaş aralığında, 63 (%38,4)'ü >17 yaş, 86 (%52,7)'sinin erkek ve 77 (%47,2)'sinin kadın olduğu görülmüştür. Toplam 163 hastanın 150'sinin enfeksiyon kaynağının hastane kökenli olduğu, 13'ünün ise toplumdan edinilmiş olduğu tespit edilmiştir. Hastaların 79 (%48,5)'unda CA, 84 (%51,5)'ünde NAC izole edilmiştir. NAC türlerinin dağılımına baktığımızda, *C. parapsilosis* 54 adet (%32,9), *C. tropicalis* 10 adet (%6,1), *C. famata* 10 adet (%6,1), *C. glabrata* beş adet (%3,0) ve diğerleri (*C. pelliculosa*, *C. crusei* ve *C. norvogensis*) beş adet (%3,0) olduğu görülmüştür.

**Sonuç:** Kan kültüründe *Candida* türlerinin üremesi olarak tanımlanan kandidemi gelişimi için total parenteral nütrisyon (TPN) kullanımı, santral venöz kateter varlığı, altta yatan hastalıklardan özellikle malignite ve yanıklı hastaların yanı sıra öncesinde kullanılan antibiyotik tedavisi risk faktörleri olarak bulunmuştur. Bunlara ek olarak kandidemi öncesinde ampirik kullanılan antifungal ilaç tedavisi ( $p<0,05$ ) ve uygulanan yanık cerrahileri, örneğin; yanık dokusunun erken dönemde çıkarılması, nekrotik dokunun debritleme ve cilde uygulanan greftleme, NAC türlerin etken olduğu kandidemilerde artmış risk faktörleri olarak değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kandidemi, *C. albicans*, non-albicans *Candida*, risk faktörleri

(bioMérieux, France) kit. Germ tube test positive isolates were identified as albicans *Candida albicans*.

**Results:** It was observed that, from the total of 163 patients having *Candida* isolated from their blood culture 100 (61.3%) of them were between 0-17 years of age range, 63 (38.4%) were > 17 years of age, 86 (52.7%) male and 77 (47.2%) were female. It was determined that out of 163 patients, 150 episodes were nosocomial infections and 13 episodes were community acquired infections. CA was isolated from 79 (48.5%) of the patients, whereas NAC were isolated from 84 (51.5%). When we look through the distribution of non-albicans *Candida* species, it was observed that *C. parapsilosis* were 54 (32.9%), *C. tropicalis* were 10 (6.1%), *C. famata* were 10 (6.1%), *C. glabrata* were 5 (3.0%) and others (*C. pelliculosa*, *C. crusei* and *C. norvogensis*) were 5 (3.0%).

**Conclusion:** For candidemia which was diagnosed with the growth of *Candida* species in blood culture, total parenteral nutrition (TPN) usage, presence of central venous catheter, underlying diseases especially malignancy and burns and previous antibiotics treatment were determined as the risk factors for candidemia. Additionally before candidemia empiric antifungal treatment ( $p<0.05$ ) and burn surgery, for example: early surgical excision of burned tissue, with debridement of necrotic tissue and grafting of skin, were evaluated as the increased risk factors of candidemias caused by NAC species.

**Key Words:** Candidemia, *C. albicans*, non-albicans *Candida*, risk factors

## GİRİŞ

Fungusların etken olduğu kan dolaşım enfeksiyonları içerisinde en sık *Candida* türleri izole edilmektedir. *Candida* türlerinin etken olduğu invaziv enfeksiyonları içerisinde kan dolaşım enfeksiyonları, hastanede yatan hastalarda morbidite ve mortaliteyi artıran en önemli nedenlerden biridir. Özellikle kemoterapi ve diğer immünsüpressif tedavi alan hasta sayılarının

giderek artması, transplantasyon cerrahisindeki gelişmeler, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımları ile son yirmi yılda *Candida* türlerinin etken olduğu kan dolaşım enfeksiyonlarının insidansı giderek artmaktadır (1). *Candida* türlerinin etken olduğu enfeksiyonlar, hastane kökenli, enfeksiyonlar arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde dördüncü

sıklıkta yer almakta olup, fatalite oranları %29-76 aralığında bildirilmektedir (2-4). *Candida* türlerinden *C. albicans* (CA)'ların yanı sıra non albicans *Candida* (NAC) türlerinin prevalansı giderek artmaktadır (5).

Kandidemi gelişen hastalarda santral venöz kateter varlığı, antibiyotik tedavisi, önceden uygulanan cerrahi girişimler, özellikle gastrointestinal sistem cerrahisi, TPN verilmesi, *Candida* türlerinin kolonizasyonu, nötropeni varlığı, steroid kullanımı, yoğun bakım ünitesinde yatış süresi kandidemi ilişkili mortalite için bilinen risk faktörleridir (6-8).

Çalışmamızda; 1 Ocak 2008 - 31 Aralık 2010 döneminde pediatrik ve erişkin yaş grubundaki hastalarda gelişen, kan kültüründe CA ve NAC türlerinin etken olarak izole edildiği kandidemilerdeki risk faktörlerini belirlemek ve etken olduğu hastaları karşılaştırmak amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma; Ocak 2008 - Aralık 2010 döneminde yapılmıştır. Çalışmanın yürütüldüğü hastane yaklaşık 550 yatak kapasiteli, pediatrik ve erişkin cerrahi, kronik, dahiliye, nöroloji ve iki adet yenidoğan yoğun bakım ünitesi ve yataklı servislerden oluşmaktadır. Hastanemizdeki yatan hastalar içerisinde, 0-92 yaş aralığında olan ve kan kültüründe *Candida* türlerinin izole edildiği 163 hasta çalışma kapsamına alınmıştır. Bir hastadan alınan kan kültürleri içerisinde izole edilen etken aynı ise tek bir üreme dikkate alınmıştır, birden fazla etkenin izole edildiği üremeler çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır. Kan kültüründe en az bir kez *Candida* türü izole edilmesi halinde kandidemi olarak tanımlanmıştır. Kan kültüründe *Candida* türü izole edilen hastalar CA ve NAC'nın etken olduğu iki gruba ayrılmıştır. CA ve NAC türlerinin ürettiği hastalar yaş, cinsiyet, izole edildiği süreçte hastanın yatış yeri, kandideminin kökeni (hastane kökenli, toplumdaki edinilmiş), kan kültüründe üremenin tespit edilmesinden önceki bir aylık sürede uygulanan cerrahi

girişimler, altta yatan hastalık (diyabet, malignite, oto immün hastalıklar, yanık, renal transplantasyon uygulanması ve diğer), kemoterapi uygulanması (KT), nötropeni varlığı, ampirik antibiyotik ve antifungal ilaç kullanımı, ek ilaç kullanımı (steroid, heparin), TPN verilmesi, santral venöz kateter (SVK) varlığı, tedavi amaçlı aldığı antifungal ilaçlar, üreme sonrasındaki 30 gün içerisinde oluşan mortalite açısından karşılaştırılmıştır. Hastaneye yatıştan 48 saat sonra kan kültüründe *Candida* üreyen hastaların, enfeksiyon kökeni hastane kökenli olarak değerlendirilirken; 48 saatten önce üremesi olanlar ve aynı zamanda herhangi bir yerde tedavi almamış olanlar, toplumdaki edinilmiş enfeksiyonlar olarak değerlendirilmiştir.

Kandidemi şüpheli hastalardan, kan kültürü için alınan örnekler BACTEC Aerobik/F şişesine inoküle edilerek BACTEC 9240 (Becton Dickinson, Maryland, USA) cihazına yerleştirilmiştir. Pozitif üreme sinyali veren kan kültürü şişeleri çıkarılarak rutin besiyerlerine (%5 koyun kanlı, McConkey ve Çikolata agar) ekimleri yapılarak 37 °C'de aerob ve %5 CO<sub>2</sub> (çikolata agar) atmosfer koşullarında 24 saat inkübe edildikten sonra üreyen ve maya hücreleri görülen kolonilere Germ tüp testi yapılmıştır. Germ tüp testi negatif olan kolonilere API 20C AUX (BioMérieux, France) tanımlama kitleri ile tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır. Germ tüp testi pozitif olan izolatlar CA olarak tanımlanmıştır.

## İstatistiksel Analiz

Gruplara göre kategorik veri analizinde Fisher Exact test veya ki-kare testi kullanılmıştır. p<0,05 düzeyi istatistik olarak anlamlı kabul edilmiştir. Veri analizi SPSS 17.0 (SPSS Ver. 17.0, Chicago IL, USA) istatistik paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

## BULGULAR

Kan kültüründe *Candida* türü izole edilen 163 hastanın 100 (%61,3)'ü 0-17 yaş aralığında pediatrik yaş grubunda ve 63 (%38,7)'ü, 17-92 yaş aralığında erişkin yaş grubunda olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalamasının 21 ± 2 olduğu

görülmüştür. Hastaların 86 (%52,8)'sı erkek, 77 (%47,2)'si kadındır. 150 hastanın (%92) enfeksiyon kaynağının hastane kökenli olduğu, 13 (%8)'ünün ise toplumdan edinilmiş olduğu tespit edilmiştir. Hastaların kan kültürlerinden örnek alındığı dönemde 116 (%71,1)'sının yoğun bakımda, 47 (%28,8)'sinin yataklı serviste takip edildiği görülmüştür (Tablo 1). İzole edilen *Candida* türlerinin dağılımına bakıldığında, %48,5'inde CA %51,5'inde NAC türlerinin olduğu görülmüştür (Tablo 2).

**Tablo 1.** Kan kültürlerinde *Candida* türleri izole edilen olguların yataklı servis ve yoğun bakım ünitelerine göre dağılımı

Hasta yatış yeri	Sayı (%)	Toplam Sayı, (%)
Yataklı servis	Erişkin	24 (%14,6)
	Pediyatri	23 (%14,2)
Yoğun bakım	Yanık	38 (%23,3)
	Yenidoğan	36 (%22,0)
	Cerrahi	12 (%7,3)
	Dahiliye	12 (%7,3)
	Çocuk	11 (%6,7)
	Nöroloji	6 (%3,7)
	Koroner	1 (%1,2)

**Tablo 2.** Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı

Kan kültüründe izole edilen <i>Candida</i> türleri	Sayı (%)	Toplam Sayı, (%)
<i>C. albicans</i>	79 (%48,5)	79 (%48,5)
Non-albicans <i>Candida</i>	<i>C. parapsilosis</i>	54 (%32,9)
	<i>C. tropicalis</i>	10 (%6,1)
	<i>C. famata</i>	10 (%6,1)
	<i>C. glabrata</i>	5 (%3,0)
	<i>C. pelliculosa</i>	2 (%1,2)
	<i>C. crusei</i>	2 (%1,2)
<i>C. norvogensis</i>	1 (%0,6)	
<b>Toplam</b>	<b>163 (%100)</b>	<b>163 (%100)</b>

Toplumdan edinilmiş ve hastane kökenli enfeksiyonlarda üreyen *Candida* türleri (CA ve NAC) arasından, istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Hastane kökenli enfeksiyon etkeni olarak CA 68 (%45,3) ve NAC türleri ise 82 (%54,6) hastada izole edilirken, toplumdan edinilmiş enfeksiyonlarda toplam 13 hastanın 11 (%84,6)'inde CA türünün izole edildiği görülmüştür.

Altta yatan hastalıklar içerisinde en sık 38 hastada (%23,2) malignite ve 38 hastanın (%23,2) yanık vakaları olduğu görülmüştür. Toplamda 23 (%14,1)'ünün solid organ, 15 (%9,2)'inin hematolojik maligniteli olduğu ve hastaların 31 (%19)'ünün kan kültüründe üreme olmasından önce kemoterapi aldığı tespit edilmiştir. Beş hastada (%3,1) otoimmün hastalık, üçünde (%1,8) diyabet, tüm bunların dışında 79 (%48,5)'unda diğer hastalıklar (santral sinir sistemi hastalıkları, travma, renal transplantasyon uygulanan) yer almaktadır.

163 hastanın 105 (%64,8)'ine son bir ay içerisinde herhangi bir cerrahi girişim uygulanmamış olmasına rağmen, 29 (%17,9)'una gastrointestinal sistem; 16 (%9,9)'sına yanık cerrahisi uygulandığı görülmüştür. Hastaların 36 (%22,2)'sında SVK mevcutken, 127 (%77,8)'sinde yoktur. 72 (%44,4) hastaya TPN verildiği tespit edilmiştir.

Hastaların 25 (%15,3)'ünün en az bir nötropeni atağı geçirdiği, toplam 28 nötropeni atağı bulunduğu; buna karşılık 138 hastanın (%84,7) nötropeni öyküsünün olmadığı görülmüştür.

Hastaların kan kültürü alınmasından bir hafta öncesine kadar olan sürede kullandıkları ilaçlara baktığımızda en sık 94 hastanın (%58) sadece antibiyotik kullanıldığı; %17,3'ünün steroid+antibiyotik; %5,6'sının steroid+heparin+antibiyotik; %5,6'sının heparin+antibiyotik; %1,9'unun sadece heparin; %1,2'sinin sadece steroid; %1,2'sinin antiviral+antibiyotik; %9,3'ünün ise herhangi bir ilaç almadığı tespit edilmiştir.



Toplamda 142 hastanın (%87,9) kan kültüründe *Candida* türü üremesinin öncesi bir hafta içerisinde antibiyotik kullanmış olduğu görülmüştür.

Hastaların 140'ının kan kültüründe *Candida* türlerinin izolasyonundan önce (%85,9) ampirik olarak antifungal (AF) kullanım öyküsü yoktur. 23 hastanın (%14,1) ampirik AF aldığı tespit edilmiştir. İstatistiksel analiz sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. İstatistiksel analize göre, ampirik AF kullanımı ile *Candida* türleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ampirik AF kullanmayanların %55'inde CA, %45'inde NAC izole edilirken, ampirik AF kullananların tamamının etkeninin NAC (%100) olduğu görülmüştür.

Hastalara öncesinde uygulanmış olan cerrahi girişim ile kan kültüründe izole edilen *Candida* türleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Kan kültüründe üreme olmadan önceki bir ay içerisinde herhangi bir cerrahi işlem geçirmeyen hastaların %52,4'ünde CA türleri, %47,6'sında NAC türleri etken bulunmuştur. Gastrointestinal sistem cerrahisi geçirenlerde, *Candida* türleri birbirine yakın oranlarda izole edilirken (CA %55,2), yanık cerrahisi uygulanan hastaların %100'ünde NAC türleri etken olarak saptanmıştır.

Ek ilaç kullanımı (antibiyotik, steroid, heparin) ve TPN verilmesi ile *Candida* türleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Mortalite ile *Candida* değişkeni arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Hastalarda santral kateter varlığı ile izole edilen *Candida* türleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Santral kateteri bulunan hastaların kan kültüründe CA'nın %66,7, santral kateteri bulunmayan hastaların ise %43,7 oranında izole edildiği görülmüştür.

Üreme tespit edildikten sonrasında *Candida* türüne karşı kullanılan antifungal olarak 85

(%52,1)'inin flukonazol, 24 (%14,7)'ünün amfoterisin B, 34 (%20,9)'ünün flukonazol+amfoterisin B ile tedavi edildiği, ancak 20 hastanın (%12,3) ise tedavi amaçlı herhangi bir antifungal ilaç kullanmadığı görülmüştür. Toplam kan kültüründe *Candida* türü izole edilen hastaların 30 gün içerisinde 115 (%70,5)'inin şifa ile taburcu edildiği, 48 (%29,5)'inin mortal seyrettiği görülmüştür.

## TARTIŞMA

*Candida* türlerinin etken olduğu enfeksiyonlar giderek artmaktadır. Bu türlerin etken olarak izole edildiği kandidemi artışının nedenleri arasında, risk grubunda olan hasta popülasyonunun giderek artması, hastane enfeksiyonlarının önlenmesi için yaygın kullanılan geniş spektrumlu antibiyotikler, invaziv uygulamaların artması, hastaların yaşam desteğinin güçlendirilmesi ve kemoterapi uygulamalarının daha yaygın kullanılmasıdır.

*Candida* türlerinin neden olduğu kan dolaşım enfeksiyonları, yüksek mortalite ile seyreden hastanede kalış süresini uzatan, tedavi maliyeti yüksek, ciddi ve önemli enfeksiyonlardır. Kan dolaşım enfeksiyonları içerisinde Amerika Birleşik Devletleri'nde dördüncü sırada yer alan etkindir. Avrupa'da daha az oranda (%5) görüldüğü bildirilmektedir (9-11).

Yapılan in vitro çalışmalarda ve hayvan modellerinde; NAC türlerinin çoğunluğunun CA türlerine göre daha az virülen olduğundan bahsedilmektedir. Buna karşılık NAC türleri insanlarda ciddi enfeksiyonlara yol açarak tedaviye daha zor yanıt vermekte ve mortal seyretmektedir (12, 13). Dolayısı ile *Candida* türlerinden hangisinin enfeksiyon etkeni olduğunun olabildiğince erken tespit edilmesi hasta mortalite ve morbiditesini etkilemektedir. Bunun için etkenin izole edildiği kan kültürlerinden veya direkt kan örneğinden çalışılan FISH (floresan in situ hibridizasyon) ve PCR

(polimeraz zincir reaksiyonu) gibi çeşitli hızlı tanı testleri mevcuttur (14-16). Ancak bu testler rutin hizmet veren laboratuvarlar için kullanım alanları kısıtlıdır ve maliyeti etkin olamamaktadır. Bu yüzden kandidemi şüphesi olan hastalarda etkene yönelik risk faktörlerinin klinisyenlerce bilinmesi, hastanın sonuçları beklenene kadar olan süreçte başlanacak olan antifungal tedaviler açısından hayat kurtarıcı olabilir.

Avrupa'da çok merkezli yapılan bir çalışmada; CA türünün kandidemilerde izole edilme oranı %49,5 olarak bildirilmektedir. Bu çalışma Avrupa verileri ile uyumludur. Ayrıca 2000-2013 yıllarında Avrupa'da diğer ülkelere bakıldığında NAC türlerinin içerisinde, bölgesel olarak değişmekle birlikte, örneğin Kuzey Avrupa'da sıklıkla *C. glabrata* izole edilirken, Güney Avrupa'da ülkemizin de içinde olduğu en sık etken olan tür *C. parapsilosis*'tir (5). Çalışmamızda da ülkemiz verileri ile uyumlu olarak, CA'dan sonra en sık izole edilen etken *C. parapsilosis* (%32,4) olmuştur (Tablo 2). Bunun nedeni pediatrik yaş grubundaki hasta sayımızın fazla olması olabilir. Özellikle son iki dekatta yenidoğanlarda kandidemi etkeni olarak izole edilen *C. parapsilosis* türlerinin daha fazla sayıda izole edildiği vurgulanmaktadır (12,17-19). Ülkemizden yapılan diğer çalışmalarda da CA'dan sonra en sık *C. parapsilosis* kandidemilerde etken olarak izole edilmesine rağmen (20-22), Yapar ve ark. (23); *C. tropicalis*'in daha sık etken olduğunu raporlamışlardır.

SVK varlığının hastada fungemi gelişimi için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Hastalarda SVK varlığı ile *Candida* türleri değişkeni arasında anlamlı bir ilişki olduğu çalışmamızda görülmüştür ( $p<0,05$ ). SVK bulunan hastalarda CA (%66,7), NAC türlerine göre daha yüksek oranda izole edilmiştir. SVK bulunmayanlarda CA türü %43,7 gibi daha düşük bir oranda görülürken, NAC türleri biraz daha yüksek bulunmuştur (%56,3). Diğer çalışmalarda da benzer şekilde SVK varlığında CA türüne daha sık rastlanmaktadır (23).

CA ve NAC türleri arasında risk analizleri incelendiğinde; yaş, cinsiyet, altta yatan hastalığın malignite olduğu hastalarda malignitenin türü (solid organ, hematolojik), kemoterapi alıp almaması, nötropeni varlığı, hastalarda gelişen mortalite açısından anlamlı bir fark saptanmadığı görülmüştür (Tablo 3). Ancak bunların yanı sıra, iki değişken arasında enfeksiyonun kökenine baktığımızda hastane kökenli kandidemilerde CA ve NAC türleri oranlarının (%45,3-54,7) birbirine yakın olduğu; toplumdaki edinilmiş kandidemilerde daha yüksek oranda CA (%84,6) türlerinin izole edildiği ve istatistiksel anlamlı fark olduğu görülmüştür (Tablo 3).

Kan kültüründe *Candida* türleri izole edilen ve ampirik AF kullanan hastalarda *Candida* türleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunduğu ( $p<0,05$ ), ampirik AF almayan hastalarda CA (%55) daha yüksek iken, ampirik AF alan olguların tamamında NAC türlerinin etken olduğu (%100) görülmüştür. NAC türlerinin etken olduğu kandidemilerde öncesinde antifungal ile karşılaşmanın belirgin bir risk faktörü olduğu söylenmektedir (24-26). Uygulanan AF tedavisinin CA kolonizasyonu azaltmasının muhtemel neden olduğu söylenebilir. Son yıllardaki bu etkenlerin kan kültürlerindeki izolasyonlarının artış nedeni olarak öncesinde kullanılan AF olduğunu söyleyenlerin (12, 25, 27, 28) yanı sıra, antifungal kullanımının yoğun bakım ünitelerinde, *Candida* türlerinin dağılımı açısından herhangi bir değişiklik yapmadığını söyleyen yeni bir rapor da mevcuttur (29). Sonuç olarak çalışmamızda, kandidemi öncesinde AF ile karşılaşmanın NAC izolasyonu için belirgin bir risk faktörü ( $p<0,05$ ) olduğunu söyleyebiliriz. Chow ve ark. (26); flukonazol ile kandidemi öncesinde karşılaşma süresi ile NAC türlerin görülme olasılığının attığını vurgulamışlardır. Çalışmamızda; karşılaşma süresi göz ardı edilmiştir.

**Table 3.** Kan kültüründe *Candida* türleri izole edilen hastalarının risk faktörlerinin istatistiksel analiz sonuçları

Hasta Özellikleri	Risk Faktörleri	AC n= 79	NAC n= 84	Toplam n= 163	p değeri
Yaş	0-17	49 (%49)	51 (%51)	100 (%100)	>0,05
	>17	30 (%47,6)	33 (%52,4)	63 (%100)	
Cinsiyet	Kadın	38 (%49,4)	39 (%50,6)	77 (%100)	>0,05
	Erkek	41 (%47,7)	45 (%52,3)	86 (%100)	
Altta yatan hastalık	Malignite	18 (%47,4)	20 (%52,6)	38 (%100)	>0,05*
	Yanık	8 (%21,1)	30 (%78,9)	38 (%100)	
	Diğer (Diyabet, Otoimmün ve diğerleri)	53 (%61)	34 (%39)	87 (%100)	
Malignite türü	Solid	13 (%56,5)	10 (%43,5)	23 (%100)	>0,05
	Hematolojik	6 (%40)	9 (%60)	15 (%100)	
	Yok	60 (%48)	65 (%52)	125 (%100)	
Kemoterapi uygulanması	Var	13 (%41,9)	18 (%58,1)	31 (%100)	>0,05
	Yok	66 (%50)	66 (%50)	132 (%100)	
Nötropeni	Var	13 (%52)	12 (%48)	25 (%100)	>0,05
	Yok	66 (%47,8)	72 (%52,2)	138 (%100)	
Mortalite	Var	26 (%53,2)	22 (%46,8)	48 (%100)	>0,05
	Yok	54 (%47)	61 (%53)	115 (%100)	
Ampirik antifungal kullanımı	Var	77 (%55)	63 (%45)	140 (%100)	>0,05
	Yok	0 (%0)	23 (%100)	23 (%100)	
Öncesinde cerrahi işlem	Var	24 (%41,3)	34 (%58,7)	58 (%100)	>0,05
	Yok	55 (%52,4)	50 (%47,6)	105 (%100)	
Antibiyotik kullanımı	Yok	15 (%75)	6 (%25)	20 (%100)	>0,05**
	Sadece antibiyotik	37 (%39,4)	57 (%60,6)	94 (%100)	
	Antibiyotik + diğer ilaçlar (steroid, antiviral, heparin)	27 (%56,2)	21 (%43,8)	48 (%100)	
TPN verilmesi	Var	42 (%58,3)	30 (%41,7)	72 (%100)	>0,05
	Yok	37 (%40,6)	54 (%59,4)	91 (%100)	
Santral kateter	Var	24 (%66,7)	12 (%33,3)	36 (%100)	>0,05
	Yok	55 (%43,7)	72 (%56,3)	127 (%100)	
Enfeksiyon kaynağı	Hastane kökenli	68 (%45,3)	82 (%54,7)	150 (%100)	>0,05
	Toplumdan edinilen	11 (%84,6)	2 (%15,4)	13 (%100)	

\* Altta yatan hastalığı malignite ve yanık olan toplam 76 hastanın 26'sında AC türü görülürken, 50'sinde NAC türünün kandidemi etkeni olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra diyabet, otoimmün hastalıklar gibi diğer altta yatan nedenlere baktığımızda toplam 87 hastanın 53'ünde AC türünün, 34'ünde NAC türünün etken olduğu görülmüştür.

\*\* Kandidemi öncesinde antibiyotik kullanımı olmayan 21 hastanın 15'inde AC, 6'sında NAC türü izole edilirken; sadece antibiyotik kullanımı ile 94 hastanın 37'sinde AC türü, 57'sinde NAC türünün; antibiyotik ve diğer ilaçların birlikte kullanımı ile 48 hastanın 27'sinde AC, 21'inde NAC türünün izole edildiği görülmüştür.

Hastaya uygulanan cerrahi girişim sonrasında kandidemi gelişme riski artmaktadır (13). Çalışmamızda; kan kültüründe *Candida* türü izole edilen hastaların, üremeden bir ay öncesine kadar cerrahi girişim geçirmeyen ve GIS cerrahisi geçiren hastalarda yaklaşık olarak CA ve NAC türleri birbirine yakın oranlarda görülürken (sırasıyla; %52,4; %55,2); yanık cerrahisi (yanık dokusunun çıkarılması, nekrotik dokunun debritlemesi, greft uygulama) geçirenlerin tamamında %100 NAC türlerinin izole edilmesi dikkati çeken bir durum olarak değerlendirilmiştir. Buna karşılık cerrahi uygulanan ve uygulanmayan hastalar arasında *Candida* türleri değişkeni arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Yanık cerrahisine maruz kalma durumunda, NAC türlerinin etken olduğu kandidemilere, AC türlerinin etken olduğuna göre daha sıklıkla karşılaşıldığını söylemek mümkündür. Yanıklı olgular travma nedeni ile cilt bütünlüğünün bozulması, *Candida* kolonizasyonunun artması, immün süpresyon ve uygulanan invaziv girişimler nedeni ile kandidemi gelişimi için oldukça yüksek riskli hastalardır (26). Aynı zamanda vakalarda, yanık yarasının boyutu, derinliği ve hastanın yaşı ile ilişkili olarak fungal enfeksiyonların gelişime yatkınlık olmaktadır (26). Çalışmamızda; yanık cerrahisine maruz kalan 16 hastanın kan kültürlerinde izole edilen etkenlerin 11'inin *C. parapsilosis*, ikisinin *C. famata*, birinin *C. glabrata* ve birinin *C. tropicalis* olduğu görülmüştür.

Çok merkezli yapılan EORTC (Araştırma ve Kanseri Tedavisi Avrupa Örgütü) raporuna göre, NAC türlerinin etken olduğu fungemiler için en önemli risk faktörlerini nötropeni ve hematolojik maligniteler oluşturmaktadır (30). Önceki dönemde uygulanan cerrahi girişimler, renal yetmezlik ve vasküler kateter varlığının, bu etkenlerle oluşacak fungemi riskini 2-10 kat artıran faktörler olduğu, ayrıca öncesinde alınan AF tedavilerin riski 4-7 kat artırdığı vurgulanmaktadır (12).

Dolayısıyla çalışmamız sonuçlarına bakıldığında kandidemi gelişen olgularda; NAC türleri için ampirik AF kullanımı ve yanık cerrahisi uygulanması ciddi risk faktörleridir. Bunların dışında altta yatan hastalık, TPN verilmesi, ek ilaç kullanımı ile *Candida* türleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur. Vurgulanması gereken bir diğer nokta, yanık olgularının belirgin ölçüde fungemi gelişimine yatkınlıkları mevcutken, üzerine uygulanan cerrahi girişimler, fungal ve bakteriyel etkenlerin gelişimini önlemek için uygulanan AF ve antibakteriyel profilaksiler altında hastalarda daha fazla oranda NAC türlerine bağlı invaziv enfeksiyon riskini artırmaktadır. Bu durumun tam bir kaos olduğunu söylemek mümkündür.

Kandidemi nedeni ile kaba ölüm hızları %45-69 aralığında bildirilmektedir (31, 32). Çalışmamızda; kandidemi saptandıktan sonraki bir aylık süreçteki fatalite oranının %29,5 olduğu görülmüştür. Diğer çalışmalara göre oldukça alt sınırdaki oranını, hastanemiz adına sevindirici bir durum olarak değerlendirilmiştir. Bu durumun, hastanemizde kan kültürlerinde *Candida* türleri izole edilen hastaların yönetiminin ve tedavisinin uygun yapıldığını gösterdiğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak, kan kültüründe *Candida* türleri üreyen, özellikle uygulanan ampirik AF tedavisi ve yanık cerrahileri hastalarda NAC türlerinin etken olduğu kan dolaşım enfeksiyonlarının oluşması için belirgin risk faktörleri olduğunun bilinmesi; bunların yanı sıra diğer risk faktörlerinin de özellikle altta yatan hastalıklar (malignite ve yanık), SVK varlığı, kullanılan antibiyotiklerin, TPN kullanımı, enfeksiyonun toplumdan edinilen veya hastane kökenli gelişiminin göz önünde bulundurulmasının, kan kültüründe *Candida* türleri üreyen olgularda hastanın iyi yönetimi için yol gösterici olabileceği söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Wisplinghoff H, Ebbers J, Geurtz L, Stefanik D, Major Y, Edmond MB, et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Candida* spp. in the USA: species distribution, clinical features and antifungal susceptibilities. *Int J Antimicrob Agents*, 2014; 43(1): 78-81.
2. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*, 2004; 39(3): 309-17.
3. Diekema D, Arbefeville S, Boyken L, Kroeger J, Pfaller M. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012; 73(1): 45-8.
4. Morgan J, Meltzer MI, Plikaytis BD, Sofair AN, Huie-White S, Wilcox S, et al. Excess mortality, hospital stay and cost due to candidemia: a case-control study using data from population-based candidemia surveillance. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2005; 26(6): 540-7.
5. Montagna MT, Lovero G, Borghi E, Amato G, Andreoni S, Campion L, et al. Candidemia in intensive care unit: a nationwide prospective observational survey (GISIA-3 study) and review of the European literature from 2000 through 2013. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014; 18(5): 661-74.
6. Conde-Rosa A, Amador R, Pérez-Torres D, Colón E, Sánchez-Rivera C, Nieves-Plaza M, et al. Candidemia distribution, associated risk factors, and attributed mortality at a university-based medical center. *P R Health Sci J*, 2010; 29(1): 26-9.
7. Labbé AC, Pépin J, Patiño C, Castonguay S, Restieri C, Laverdiere M. A single-centre 10-year experience with *Candida* bloodstream infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2009; 20(2): 45-50.
8. Horasan ES, Ersöz G, Göksu M, Otag F, Kurt AO, Karaçorlu S, et al. Increase in *Candida* parapsilosis fungemia in critical care units: a 6-years study. *Mycopathologia*, 2010; 170(4): 263-8.
9. Poikonen E, Lyytikäinen O, Anttila VJ, Koivula I, Lumio J, Kotilainen P, et al. Secular trend in candidemia and the use of fluconazole in Finland, 2004-2007. *BMC Infect Dis*, 2010; 10: 312.
10. Lyytikäinen O, Lumio J, Sarkkinen H, Kolho E, Kostiala A, Ruutu P. Hospital Infection Surveillance Team. Nosocomial bloodstream infections in Finnish hospitals during 1999-2000. *Clin Infect Dis*, 2002; 35(2): e14-9.
11. Voss A, Kluytmans JA, Koeleman JG, Spanjaard L, Vandenbroucke-Grauls CM, Verbrugh HA, et al. Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1996; 15(12): 909-12.
12. Krcmery V, Barnes AJ. Non-albicans *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*, 2002; 50(4): 243-60.
13. Erdem F, Tuncer Ertem G, Oral B, Karakoç E, Demiröz AP, Tülek N. Epidemiological and microbiological evaluation of nosocomial infections caused by *Candida* species. *Mikrobiyol Bul*, 2012; 46(4): 637-48.
14. Shepard JR, Addison RM, Alexander BD, Della-Latta P, Ghena M, Haase G, et al. Multicenter evaluation of the *Candida albicans/Candida glabrata* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization method for simultaneous dual-color identification of *C. albicans* and *C. glabrata* directly from blood culture bottles. *J Clin Microbiol*, 2008; 46: 50-5.
15. Foongladda S, Mongkol N, Petlum P, Chayakulkeeree M. Multi-probe real-time PCR identification of four common *Candida* species in blood culture broth. *Mycopathologia*, 2014; 17.
16. Fernández-Cruz A, Marín M, Kestler M, Alcalá L, Rodríguez-Créixems M, Bouza E. The value of combining blood culture and SeptiFast data for predicting complicated bloodstream infections caused by Gram positive bacteria or *Candida* species. *J Clin Microbiol*, 2013; 51(4): 1130-6.
17. Jonathan A. Abelson, Theodore Moore, Trofa D, Gacser A, Nosanchuk JD. *Candida* parapsilosis an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 2008; 21(4): 606-25.
18. Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R. et al; ECMM Working Group on *Candidaemia*. Epidemiology of *Candidaemia* in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2004; 23(4): 317-22.

19. Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R. *Candidaemia* in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 2006; 27(5): 359-66.
20. Yenigün Koçak B, Kuloğlu F, Doğan Çelik A, Akata F. Evaluation of epidemiological characteristics and risk factors of candidemia in adult patients in a tertiary-care hospital. *Mikrobiyol Bul*, 2011; 45(3): 489-503.
21. Dizbay M, Fidan I, Kalkanci A, Sari N, Yalcin B, Kustimur S, et al. High incidence of *Candida* parapsilosis *Candidaemia* in non-neutropenic critically ill patients: epidemiology and antifungal susceptibility. *Scand J Infect Dis*, 2010; 42(2): 114-20.
22. Horasan ES, Ersöz G, Göksu M, Otag F, Kurt AO, Karaçorlu S, et al. Increase in *Candida* parapsilosis fungemia in critical care units: a 6-years study. *Mycopathologia*, 2010; 170 (4): 263-8.
23. Yapar N, Pullukcu H, Avkan-Oguz V, Sayin-Kutlu S, Ertugrul B, Sacar S, et al. Evaluation of species distribution and risk factors of candidemia: a multicenter case-control study. *Med Mycol*, 2011; 49(1): 26-31.
24. Apisarnthanarak A, Naknarongkij N, Kiratisin P, Mundy LM. Risk factors and outcomes of *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species at a Thai tertiary care center. *Am J Infect Control*, 2009; 37(9): 781-2.
25. Playford EG, Marriott D, Nguyen Q, Chen S, Ellis D, Slavin M, et al. Candidemia in nonneutropenic critically ill patients: risk factors for non-*albicans Candida* spp. *Crit Care Med*, 2008; 36(7): 2034-9.
26. Ha JF, Italiano CM, Heath CH, Shih S, Rea S, Wood FM. Candidemia and invasive candidiasis: a review of the literature for the burns surgeon. *Burns*, 2011; 37(2):181-95.
27. Chow JK, Golan Y, Ruthazer R, Karchmer AW, Carmeli Y, Lichtenberg D, et al. Factors associated with candidemia caused by non-*albicans Candida* species versus *Candida albicans* in the intensive care unit. *Clin Infect Dis*, 2008; 46(8): 1206-13.
28. Bassetti M, Righi E, Costa A, Fasce R, Molinari MP, Rosso R, et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infect Dis*, 2006; 10; 6: 21.
29. Magill SS, Swoboda SM, Shields CE, Colantuoni EA, Fothergill AW, Merz WG, et al. The epidemiology of *Candida* colonization and invasive candidiasis in a surgical intensive care unit where fluconazole prophylaxis is utilized: follow-up to a randomized clinical trial. *Ann Surg*, 2009; 249(4): 657-65.
30. Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B, et al. Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis*, 1999; 28(5): 1071-9.
31. Luzzati R, Amalfitano G, Lazzarini L, Soldani F, Bellino S, Solbiati M, et al. Nosocomial candidemia in non-neutropenic patients at an Italian tertiary care hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2000;19(8): 602-7.
32. Paganini H, Rodriguez Brieschcke T, Santos P, Seú S, Rosanova MT. Risk factors for nosocomial *Candidaemia*: a case-control study in children. *J Hosp Infect*, 2002; 50(4): 304-8.

## Çeşitli klinik örneklerden 2006-2011 yılları arasında izole edilen *Acinetobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları

### *Acinetobacter* species isolated from various clinical specimens between 2006-2011 years and their susceptibilities against antibiotics

Cafer EROĞLU<sup>1</sup>, Nevzat ÜNAL<sup>2</sup>, Adil KARADAĞ<sup>1</sup>, Hava YILMAZ<sup>3</sup>, İbrahim Çağatay ACUNER<sup>4</sup>, Murat GÜNAYDIN<sup>5</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Son altı yılda, hastanemizde izole edilen *Acinetobacter* türlerinin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmaya; Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakterioloji Subdisiplin Laboratuvarına, Ocak 2006 - Haziran 2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türleri dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanmasında ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde konvansiyonel yöntemler ve Vitek 2 Compact (bioMérieux-SA, Fransa) otomatize sistemi kullanılmıştır.

**Bulgular:** Çalışma döneminde toplam 3.212 *Acinetobacter* türü izole edilmiştir. *Acinetobacter* izolatlarının tür dağılımı ve oranları; *Acinetobacter baumannii* - *Acinetobacter calcoaceticus* complex 3006 (%93,6), *Acinetobacter lwoffii* 83 (%2,6), *Acinetobacter junii* 27 (%0,8), *Acinetobacter haemolyticus* 19 (%0,6) ve *Acinetobacter* spp. 77 (%2,4) olarak bulunmuştur. En fazla *Acinetobacter* izolatı 747 (%23,2) trakeal aspirat örneğinden ve en çok yoğun bakım ünitesinden gönderilen 705 (%21,9) örnekten izole edilmiştir. Son altı yılda seftazidim direnci %70,2'den %82,7'e, sefepim %26,4'dan %79,7'e, imipenem %27,2'den %77,2'ye, meropenem %4,5'ten %77'ye, siprofloksasin %40,4'dan %78,9'a yükselmiştir. 2011 yılı ilk altı aylık dönemde tigesikline %5,9, kolistin %0,2 oranlarında direnç saptanmıştır. Ampisilin-sulbaktam direnç oranlarında belirgin değişim gözlenmemiştir.

#### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to investigate the distribution and antibiotic susceptibility of *Acinetobacter* species isolated in our hospital in the last six years.

**Method:** *Acinetobacter* species isolated from various clinical samples sent to Ondokuz Mayıs University, Medical Faculty Hospital Central Laboratory, Bacteriology Sub - Discipline Laboratory between January 2006 and June 2011 were included. Conventional methods and Vitek 2 Compact (bioMérieux-SE, France) automated systems were used for the identification and antibiotic susceptibility of the isolates.

**Results:** During the study period, a total of 3.212 *Acinetobacter* species were isolated. Species distribution of *Acinetobacter* isolates and their ratios were found as follows: *Acinetobacter baumannii* - *Acinetobacter calcoaceticus* complex (n=3006; 93.6%), *Acinetobacter lwoffii* (n=83; 2.6%), *Acinetobacter junii* (n=27; 0.8%), *Acinetobacter haemolyticus* (n=19; 0.6%) and *Acinetobacter* spp. (n=77; 2.4%). *Acinetobacter* isolates were isolated at the most from tracheal aspirate samples (n=747; 23.2%) and samples sent from intensive care units (n=705; 21.9%). Ceftazidime resistance increased from 70.2% to 82.7%; cefepime from 26.4% to 79.7%; imipenem from 27.2% to 77.2%; meropenem from 4.5% to 77% and ciprofloxacin from 40.4% to 78.9% in the last six years. In the first six months of 2011, the resistance ratios to tigecycline and colistin were determined as 5.9% and 0.2% respectively. No significant changes were observed in ampicillin-sulbactam resistance ratios.

<sup>1</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, SAMSUN

<sup>2</sup> Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ADANA

<sup>3</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, SAMSUN

<sup>4</sup> Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

<sup>5</sup> İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL



İletişim / Corresponding Author : Nevzat ÜNAL

Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ADANA

Tel : +90 532 442 61 42

E-posta / E-mail : drnevezatunal@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 14.02.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 28.10.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.68915

Eroğlu C, Ünal N, Karadağ A, Yılmaz H, Acuner İÇ, Günaydin M. Çeşitli klinik örneklerden 2006-2011 yılları arasında izole edilen *Acinetobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları. Türk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 25-32.

**Sonuç:** Tüm bulgular değerlendirildiğinde, 2011 yılı ilk yarısı itibarı ile sefepim, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, seftriakson, meropenem, imipenem, siprofloksasin ve levofloksasine yüksek oranda direnç saptandığı ve bu oranın artış eğiliminde olduğu görülmüştür. *Acinetobacter* türlerinde kolistin direnci minimal oranlarda gözlenmektedir. Aminoglikozid grubundan gentamisin direnç oranında yıllar içinde görülen azalma, son yıllarda kullanım sıklığının düşmesine bağlanmıştır. Çalışmamızda da görüldüğü gibi, genel olarak *Acinetobacter* türlerinde antibiyotiklere direnç giderek artmaktadır. Gelecekte *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulacaktır. Sonuç olarak, akılcı antibiyotik kullanımına önem verilerek yakın gelecekte ciddi sorun olabilecek panrezistan suşların ortaya çıkma hızının yavaşlatılması gerektiği düşüncesindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter*, antibiyotik direnci, karbapenemler

**Conclusion:** As of the first half of 2011, when all the findings were evaluated, high-rate of resistance to cefepime, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, ceftriaxone, meropenem, imipenem, ciprofloxacin and levofloxacin were determined and it was observed that this level had a tendency to increase. Colistin resistance in *Acinetobacter* species was observed as minimal. The reduction seen during the years in the resistance rate of gentamycin, an antibiotic from the aminoglycoside group, was attributed to its less frequent use in recent years. As shown in our study, generally antibiotic resistance is gradually increasing in *Acinetobacter* species. In the future, new antibiotics will be required for the treatment of infections caused by *Acinetobacter* species. In conclusion, we are in the opinion that rate of appearance of pan-resistant strains which may pose serious problems in the near future should be decelerated by promoting the rational use of antibiotics.

**Key Words:** *Acinetobacter*, antibiotic resistance, carbapenems

## GİRİŞ

*Acinetobacter* türleri; doğada yaygın olarak bulunan ve topraktan izole edilebilen, insanda deri florasında bulunan, antibiyotiklere dirençli, Gram negatif, hareketsiz, non-fermentatif kokobasillerdir. Toplumdan kazanılmış enfeksiyonlarda ender rastlanmasına rağmen hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilirler. *Acinetobacter* türleri pnömoni, endokardit, menenjit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, peritonit ve idrar yolu enfeksiyonlarını içeren bir dizi fırsatçı hastane enfeksiyonuna neden olmaktadır. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının en yaygın klinik görünüşleri arasında vantilatör ilişkili pnömoni ve kan dolaşımı enfeksiyonları yer alır (1). *Acinetobacter* türlerinin özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastanede yatan hastalardaki kolonizasyon

sıklığının nozokomiyal enfeksiyonlarda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastaların dışkılarında çoğul ilaca dirençli *Acinetobacter* izole edilirken trakeostomili hastaların %45'inde kolonizasyon saptanmıştır. Son yirmi yılda *Acinetobacter* enfeksiyonları özellikle ılıman iklimlerde giderek yaygınlaşan, ortak bir nozokomiyal sorun haline gelmiştir (2). Günümüzde özellikle hastane salgınlarında tespit edilen izolatlarda penisilin, sefalosporin, karbapenem, tetrasiklin, aminoglikozit ve florokinolon türü antibiyotiklere yüksek oranlarda direnç görülmektedir. *Acinetobacter* türleri genellikle kloramfenikole dirençli, rifampisine duyarlıdır. Sulfonamidler ve trimetoprim genel olarak düşük düzey direnç görülür. Bazı suşlar sadece kolistin duyarlı olabilir. İzole edilen her



suşa antibiyotik duyarlılık testi uygulanmalıdır. Karbapenemler; *Acinetobacter* türlerine karşı en etkili antibiyotikler olarak bilinmekle birlikte karbapenem direnci yaygınlaşmaktadır (3). *Acinetobacter* türlerinin nozokomiyal suşlarında beta-laktamazlar, hücre duvarı kanallarındaki değişiklikler ve efluks pompaları sıklıkla görülen direnç mekanizmalarıdır. Son zamanlarda, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hastane enfeksiyonlarına neden olan *Acinetobacter* türlerinde görülen artmış antibiyotik direnci tedaviyi daha da güçleştirmektedir (4). Çalışmamızda; son altı yılda hastanemizde izole edilen *Acinetobacter* türlerinin dağılımının ve antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda; Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyojoloji Subdisiplin Laboratuvarına Ocak 2006 - Haziran 2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türleri retrospektif olarak incelenmiştir. Klinik örnekler, örnek türüne göre %5 koyun kanlı agar, eozin metilen blue (EMB) agar ve çikolatamsı agara ekilmiş ve 37 °C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra üreyen mikroorganizmalar koloni morfolojisi, boyanma özellikleri yönünden değerlendirilmiştir. İzolatların kesin tür tanımlaması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlanarak Vitek 2 Compact (bioMérieux-SA, Fransa) otomatize sistemi panelleri ve panellerde bulunmayan antibiyotikler için disk difüzyon, doğrulama gerekenler için e-test yöntemleri kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) (5) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Aynı hastada tekrar eden aynı türe ait izolatlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

## BULGULAR

Çalışmamızda; toplam 3212 *Acinetobacter* türü izole edilmiştir. *Acinetobacter* izolatlarının tür dağılımı ve oranları; *Acinetobacter baumannii* - *Acinetobacter calcoaceticus* complex 3006 (%93,6), *Acinetobacter lwoffii* 83 (%2,6), *Acinetobacter junii* 27 (%0,8), *Acinetobacter haemolyticus* 19 (%0,6) ve *Acinetobacter* spp. 77 (%2,4) olarak bulunmuştur. En fazla *Acinetobacter* izolatı trakeal aspirat örneklerinden (747, %23,2) ve yoğun bakım ünitesinden (705, %21,9) gönderilen örneklerden elde edilmiştir (Tablo 1 ve 2). Yıllara göre antibiyotik direnç oranları Tablo 3'te sunulmuştur. Çalışma döneminde en yüksek direnç %95,7 ile seftriaksona, en düşük direnç ise %0,2 oranı ile kolistine karşı tespit edilmiştir.

Tablo 1. *Acinetobacter* türlerinin izole edildiği klinik örnekler

Örnek Türü	Sayı n	%
Trakeal Aspirat	747	23,3
Kan	599	18,6
Balgam	436	13,6
İdrar	426	13,3
Yara Sürüntüsü	343	10,6
Kateter	149	4,6
BOS	137	4,3
Abse - Akıntı	116	3,6
Sürüntü (Boğaz, Kulak, Vaginal vb.)	95	3,0
Plevral - Peritoneal Sıvı	90	2,8
Diğer (Doku/Biopsi Örneği, Aspirasyon vb.)	74	2,3
<b>Toplam</b>	<b>3212</b>	<b>100</b>

**Tablo 2.** *Acinetobacter* türlerinin izole edildiği örneklerin kliniklere göre dağılımı

Klinik	Sayı n	%
Yoğun Bakım	705	21,9
Beyin Cerrahi	443	13,8
Dahiliye	423	13,2
Göğüs Hastalıkları	338	10,5
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	171	5,3
Nöroloji	162	5,0
Ortopedi ve Travmatoloji	113	3,5
Enfeksiyon Hastalıkları	111	3,5
Üroloji	93	2,9
Plastik Rekons. ve Estetik Cerrahi	89	2,8
Diğer Klinikler	564	17,6
<b>Toplam</b>	<b>3212</b>	<b>100</b>

## TARTIŞMA

*Acinetobacter* spp. tüm hastane enfeksiyonlarında giderek artan bir öneme sahiptir (6). *A. baumannii* - *calcoaceticus* kompleksi tüm klinik *Acinetobacter* izolatlarının yaklaşık %80'ini oluşturur (1). *Acinetobacter* türleri; cansız ve kuru yüzeylerde, sıklıkla kullanılan mekanik aletlerin yüzeylerinde, hastalarda ve personelde kolonize olarak çok uzun süre canlılığını sürdürebilmekte, birçok antibiyotik grubuna karşı dirençli olması ile son yıllarda nozokomiyal enfeksiyonlarla ilişkili morbidite ve mortalite oranlarında artışa neden olmaktadır (7). *Acinetobacter* türleri birçok antibiyotiğe intrinsik direnç göstermeleri ve çeşitli sınıf antibiyotiklere hızlı direnç geliştirme potansiyeline sahip olmaları nedeniyle önemli hastane enfeksiyonu etkeni patojenlerdir. *A. baumannii* izolatlarında gözlenen antibiyotik direnç oranlarının zaman içinde değiştiği gözlenmiştir. Bu bakterilerde antibiyotik direnci, antibiyotik kullanma alışkanlığı ve çevresel faktörlerin de etkisiyle çeşitli hastaneler ve

**Tablo 3.** *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik direnç yüzde (%) oranlarının yıllara göre dağılımı

Yıllar/ Antibiyotik (%)	GN	SAM	TZP	FEP	CAZ	CRO	IMP	MEM	LVX	CIP	TE	CI	TGC
2006	64,3	83,0	46,4	26,4	70,2	94,0	27,2	4,5	14,9	40,4	-	-	-
2007	63,3	76,2	46,7	24,9	68,9	92,2	35,2	6,1	13,7	47,2	-	0	-
2008	66,3	86,8	64,4	56,8	73,6	88,1	47,8	41,8	46,2	57,0	64,2	0	-
2009	72,0	66,1	74,1	74,1	75,3	76,9	65,4	63,8	74,5	73,7	67,3	0	-
2010	50,8	70,5	72,2	72,1	74,5	85,6	68,3	67,6	69,0	72,2	67,5	0,2	3,0
2011 ilk 6 ay	52,6	82,5	81,1	79,7	82,7	95,7	77,2	77,0	74,7	78,9	69,9	0,2	5,9

NOT: GN; Gentamisin, SAM; Ampisilin-Sulbaktam, TZP; Piperasilin-Tazobaktam, FEP; Sefepim, CAZ; Seftazidim, CRO; Seftriakson, IMP; Imipenem, MEM; Meropenem, LVX; Levofloksasin, CIP; Siprofloksasin, TE; Tetrasiklin, CI; Kolistin, TGC; Tigesiklin, - ; çalışılmadı.

ülkeler arasında farklılık gösterebilmektedir (8). Farklı birçok çalışmaya göre yoğun bakım üniteleri hastane enfeksiyonlarının en sık görüldüğü birimlerdir ve *Acinetobacter* enfeksiyonları da en sık yoğun bakım ünitelerinde görülmektedir (9-11). Çalışmalar ile uyumlu olarak çalışmamızda izole edilen *Acinetobacter* spp. suşları en fazla (%21,9) yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların örneklerinden izole edilmiştir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *A. baumannii* suşlarının klinik örneklerde saptanma oranları en yüksek solunum yolu örneklerindedir ve oran %16-43 arasındadır (9, 10, 12). Çalışmamızda da *A. baumannii* toplam %36,9 (%23,3 trakeal aspirat ve %13,6 balgam) oranında en sık solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. Balkhy ve ark. (13); 2001-2007 yılları arasında çocuk hastalarda hastane kaynaklı *Acinetobacter* türlerin enfeksiyonlarını inceledikleri çalışmalarında çok ilaca dirençli *Acinetobacter* izolatlarında aminoglikozitlere, kinolonlara, yüksek kuşak sefalosporinlere ve piperasilin-tazobaktama %70'in üzerinde, imipeneme %61, meropeneme %77 oranlarında direnç bildirmektedirler. Aynı çalışmada kolistin ve tigesikline direnç bildirilmemektedir. Xia ve ark. (14); 2006-2010 yılları arasında solunum yolu örneklerinde izole edilen mikroorganizma dağılımı ve antibiyotiklere direnç oranlarını inceledikleri çalışmalarında; yıllar içinde *Acinetobacter* türlerinin görülme sıklığının %12 den %24'e yükseldiğini, sefalosporinler ve karbapenemlere direncin istatistiksel olarak anlamlı artışla %86-99'a kadar ulaştığını bildirilmektedir. Balci ve ark.'nın (15); 2005-2007 yıllarını kapsayan çalışmada, *A. baumannii* suşlarının %63'ü yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilmiştir ve üçüncü kuşak sefalosporinlere %95'in üzerinde, tetrasikline %92, piperasilin-tazobaktama %84, siprofloksasine %82, ampisilin-sulbaktama %81, levofloksasine %76, tobramisine %71, meropeneme %63 ve imipeneme %49 direnç saptanmıştır. Aral ve ark.'nın (16); 2007 - 2010

yıllarını kapsayan çalışmada; *A. baumannii* suşlarının %100'ü seftriaksona, %92'si seftazidime, %91'i levofloksasine, %85'i gentamisine ve %72'si imipeneme dirençli bulunmuştur. Gür ve ark.'nın (17); Türkiye'de çok merkezli HİTİT sürveyans çalışmasına göre *A. baumannii* izolatlarında, seftriaksona %95,5, seftazidime %82,6, sefepime %77,5, imipeneme %52,2, sefoperazon-sulbaktama %41,3, piperasilin-tazobaktama %78,7 oranlarında direnç bildirilmektedir. Çalışmanın devamında 13 merkezin katıldığı, HİTİT-2 sürveyans çalışmasında ise *A. baumannii*'nin en düşük direnç oranı gösterdiği antibiyotikler, sırasıyla sefoperazon-sulbaktam (%52) ve imipenem (%55,5) olarak bulunmuştur. Ayrıca değişik merkezlere göre direnç oranlarının oldukça farklılık gösterdiği bildirilmiştir.

*A. baumannii* izolatlarında karbapenem direnci giderek daha çok rapor edilmekte ve günümüzde önemli bir sorun haline gelmektedir. *Acinetobacter*, karbapenem direncine yol açan en önemli yollar, dış membran geçirgenliğinin azalması ve Amp C tipi beta laktamaz üretimidir. *Acinetobacter*'lerde kazanılmış karbapenem direnci sıklıkla IMP, VIM, SIM tipi metallo laktamaz veya OXA-23, OXA-24 ve OXA-58, tip D sınıfı karbapenemazların üretimi, ek olarak doğal oksasilinazın (OXA-51) aşırı üretimi de *A. baumannii*'de kazanılmış karbapenem direnci ile ilişkilidir. *Acinetobacter* spp. kaynaklı enfeksiyonlarda, duyarlı bulunmuşlarsa karbapenemler ilk tercih edilmesi gereken antibiyotik grubudur. Ülkemiz ve dünya genelinde bu grup antibiyotik sınıfına giderek artan oranlarda direnç yaygın olarak bildirilmektedir (18). Çalışmamıza göre imipenem için 2006'da %27,2 direnç saptanmışken bu oran 2011 yılında %77,2'ye, aynı şekilde meropenem için ise direnç %4,5'ten %77'ye yükselmiştir. *Acinetobacter*, gelişmekte olan imipenem ve meropenem direnci kaygı yaratmaktadır. Yıllar içinde *Acinetobacter* suşlarında imipenem ve meropenem direnci artmaktadır. Bu durum ileriki yıllarda

*Acinetobacter* enfeksiyonlarında imipenemin ve meropenemin iyi bir seçenek olmayabileceğini düşündürmektedir. Yukarıda belirtilen dünyada ve ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda geniş spektrumlu sefalosporinlere yıllar ilerledikçe artan bir şekilde, %70-100 kadar direnç bildirilmektedir. Çalışmamızda seftriaksona %95,7, seftazidime %82,7, sefepime %79,7 oranında saptanan direnç, ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Yüksek oranda bulunan direncin, bu grup antibiyotiklerin hastanemizde ampirik tedavi amacıyla sık kullanımına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Florokinolonlar, dokulardaki yüksek penetrasyon oranları ile oldukça sık kullanılan antibiyotikler arasındadır. Bu grup antibiyotiklere karşı yapılan direnç çalışmalarda *A. baumannii* izolatlarında, direnç oranlarının %76-91 arasında olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda ise siprofloksasine %78,9 ve levofloksasine %74,7 olarak saptanan direnç oranları, florokinolonların, *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde iyi bir seçenek olmayabileceğini düşündürmektedir.

Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* suşlarında tigesiklin veya daha önce yan etkileri nedeni ile kullanımı kısıtlanmış olan kolistin tek tedavi seçeneği olarak değerlendirilmektedir. Birçok çalışmada; *A. baumannii* izolatlarında tigesikline direnç oranları %5-66 arasında bildirilmektedir (19-21). Çalışmalarda, tigesiklin için çok farklı oranlar bulunmaktadır. Çalışmamızda ise direnç oranı diğerlerine göre düşük olup, 2010 yılı için %3, 2011 yılı ilk altı ayı için ise %5,9 oranındadır. Kurtoğlu ve ark.'nın (10); 2008-2010 yıllarını kapsayan çalışmasında kolistin için %5 oranında dirençten söz edilmektedir. Bogiel ve ark. (21); Polonya'da yaptıkları çalışmada, *A. baumannii* suşlarında kolistin direncini %1,5

olarak bildirmişlerdir. Uzun ve ark. (22); 2010-2011 yıllarında yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinde üreyen *A. baumannii* izolatlarında kolistin direnci saptanmadığını bildirmektedirler. Çalışmamızda ise kolistin için, 2010 ve 2011 yılı ilk altı aylık dönemde %0,2 oranında, minimal direnç saptanmıştır. Kolistin çok ilaç dirençli izolatlarda, düşük direnç oranları ile çoğu zaman tedavide tek seçenek olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda; *Acinetobacter* türleri arasında en sık *Acinetobacter baumannii* - *Acinetobacter calcoaceticus* complex'in klinik örneklerden izole edildiği tespit edilmiştir. Tüm bulgular değerlendirildiğinde, 2011 yılı ilk yarısı itibarı ile sefepim, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, seftriakson, meropenem ve imipenem ayrıca siprofloksasin ve levofloksasine yüksek oranda direnç saptandığı ve bu oranın artış eğiliminde olduğu görülmüştür. Kolistin için direnç minimal oranlarda gözlenmektedir. Aminoglikozid grubundan gentamisinde yıllar içinde görülen direnç oranındaki azalma, son yıllarda kullanım sıklığının düşmesine bağlanmıştır. Çalışmamızda da görüldüğü gibi, genel olarak *Acinetobacter* türlerinde antibiyotiklere direnç giderek artmaktadır. Gelecekte *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulacaktır. Yeni tedavi seçeneklerindeki artış sınırlıdır. Ampirik tedavi sonrasında kültür sonuçlarına göre tedavi yeniden düzenlenmelidir. Direnç gelişimini önleme amacıyla antimikrobiyal ajanlar uygun endikasyonda, dozda ve sürelerde kullanılmalıdır. Sonuç olarak akılcı antibiyotik kullanımına önem verilerek yakın gelecekte ciddi sorun olabilecek panrezistan suşların gelişiminin yavaşlatılması gerektiği düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Fishbain J, Anton YP. Treatment of *Acinetobacter* infections. Clin infect Dis, 2010; 51(1): 79-84. doi: 10.1086/653120
2. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, (eds). Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7 th pres. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2009; Pp 222: p. 2881-5.
3. Naas T, Nordmann P. *Acinetobacter* and  $\beta$ -Lactams, In: Antibioqram. Courvalin P, Leclercq R, Rice LB, (eds). Portland: Eska Publishing, ASM Press, 2010;. Pp.32 p.407-20.
4. Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? Int J Antimicrob Agents, 2008; 32: 106-19. doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.02.013
5. Clinical Laboratory Standards Institute (Çeviri ed. D. Gür). Antimikrobik duyarlılık testleri için uygulama standartları; 19. Bilgi Eki, M100-S19, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2009.
6. Lee K, Yong D, Jeong SH, Chong Y. Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp.: increasingly problematic nosocomial pathogens. Yonsei Med J, 2011; 52(6): 879-91. http://dx.doi.org/10.3349/ymj.2011.52.6.879
7. Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. Lancet Infect Dis, 2008; 8(12):751-62. doi:10.1016/S1473-3099(08)70279-2
8. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. Int J Antimicrob Agents, 2010; 35(3): 219-26. doi:10.1016/j.ijantimicag.2009.10.024
9. Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Arıbaş ET, Erayman İ. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. ANKEM Derg, 2010; 24(1):28-33.
10. Kurtoğlu MG, Opuş A, Kaya M, Keşli R, Güzelant A, Yüksekaya Ş. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibakteriyel direnç (2008-2010). ANKEM Derg, 2011; 25(1):35-41. doi:10.5222/ankem.2011.35
11. Özdem B, Gürelık FÇ, Çelıkbilek N, Balıkçı H, Açıkgöz ZC. Çeşitli klinik örneklerden 2007-2010 yıllarında izole edilen *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik direnç profili, Mikrobiyol Bul, 2011; 45(3): 526-34.
12. Yavuz MT, Şahin İ, Behcet M, Öztürk E, Kaya D. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg, 2006; 20(2): 107-10.
13. Balkhy HH, Bawazeer MS, Kattan RF, Tamim HM, Al Johani SM, Aldughashem FA, et al. Epidemiology of *Acinetobacter* spp.-associated healthcare infections and colonization among children at a tertiary-care hospital in Saudi Arabia: a 6-year retrospective cohort study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012; 31(10): 2645-51. doi 10.1007/s10096-012-1608-8
14. Xia W, Chen Y, Mei Y, Wang T, Liu G, Gu B, et al. Changing trend of antimicrobial resistance among pathogens isolated from lower respiratory tract at a university-affiliated hospital of China 2006-2010. J Thorac Dis, 2012; 4(3): 284-91. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2012.02.04
15. Aral M, Doğan S, Paköz NİE. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması. ANKEM Derg, 2010; 24(4): 215-19.
16. Gür D, Gülay Z, Arkan Akan Ö, Aktaş Z, Kayacan Bal Ç, Çakıcı Ö. Türkiye'de hastane izolatu Gram-negatif bakterilerde yeni beta-laktam antibiyotiklere direnç ve GSBL tipleri: çok merkezli HİTİT sürveysının sonuçları. Mikrobiyol Bul, 2008; 42(4): 537-44.
17. Çıkman A, Parlak M, Gültepe B, Güdücüoğlu H, Berктаş M. Hastane kökenli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin duyarlılığının E-test yöntemiyle araştırılması. ANKEM Derg, 2011; 25(2): 79-83. doi:10.5222/ankem.2011.079
18. Kirişci Ö, Özkaya E, Çalışkan A, Özden S, Koçtürk SA. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde direnç profilinin incelenmesi. ANKEM Derg, 2013; 27(3): 140-6.
19. Kuşçu F, Öztürk DB, Tütüncü EE, Uslu M, Gürbüz Y, Gülen G ve ark. Çoğul antibiyotik dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin duyarlılık oranlarının E-test yöntemiyle araştırılması. Klimik Derg, 2009; 22(2): 48-51.

20. Novan-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother, 2007; 59(4): 772-4.
21. Bogiel T, Kwiecinska-Pirog J, Jachna-Sawicka K, Gospodarek E. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. Med Dosw Mikrobiol, 2010; 62(2): 119-26.

22. Uzun B, Güngör S, Sezak N, Afşar İ, Şerifhan-İlgün M, Demirci M. Yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç yüzdelerindeki değişim. Türk Hij ve Den Biyol Derg, 2014; 71(1): 1-8.

# Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran doğurganlık çağındaki kadınlarda gözlenen anti-*Toxoplasma* IgM ve IgG seropozitifliği \*

## Evaluation of anti-*Toxoplasma* IgM and IgG seropositivity among women in reproductive period, who admitted to Süleyman Demirel University Hospital

Ayşe AYNALI<sup>1</sup>, Buket CİCIOĞLU-ARIDOĞAN<sup>1</sup>, Esra Nur TOLA<sup>2</sup>, Süleyman ÖNAL<sup>1</sup>, Emel SESLİ-ÇETİN<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** *Toxoplasma gondii* enfeksiyonu, insanlarda genellikle klinik belirti vermemekle birlikte gebelikte geçirildiğinde fetüs üzerinde olumsuz etkiler oluşturabilmektedir. Gebeliğin erken döneminde enfeksiyonun fetüse bulaşma riski düşük, ciddi semptomların ortaya çıkma olasılığı ise yüksektir. Gebeliğin geç dönemlerinde enfeksiyonun fetüse bulaşma riski yüksek, ortaya çıkan bulgular ise hafif hatta asemptomatik olabilmektedir. Bu tanımlayıcı çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran, 15-49 yaş arası kadınlarda anti-*T. gondii* IgG ve IgM seropozitifliğinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır.

**Yöntemler:** Hastanemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına, 1 Ocak-31 Aralık 2013 tarihleri arasında, çeşitli kliniklerden gönderilen, doğurganlık çağındaki kadınlara ait serum örneklerinde çalışılan anti-*Toxoplasma* IgM, anti-*Toxoplasma* IgG ve anti-*Toxoplasma* IgG avidite test sonuçları geriye dönük olarak değerlendirmeye alınmıştır. Anti-*Toxoplasma* IgM ve anti-*Toxoplasma* IgG testleri (Vitros, Johnson & Johnson, ABD) kemilüminesans yöntemi ile, anti-*Toxoplasma* IgG avidite testi (VIDAS, bio-Merieux, Fransa) ise enzim bağlantılı floresan testi (ELFA)

### ABSTRACT

**Objective:** *Toxoplasma gondii* causes generally an asymptomatic infection. If it develops during pregnancy, it can cause some fetal disorders. In the early stage of pregnancy, the risk of spreading of infection to the fetus is low while the possibility of appearance of serious symptoms is high. In the late stages of pregnancy, the risk of spreading of infection is high while the appeared symptoms are mild even asymptomatic. This descriptive study was planned aiming to determine anti-*T. gondii* IgG and IgM seropositivity in the women at the ages between 15-49 who applied to the Süleyman Demirel University Medical Faculty Hospital.

**Methods:** The anti-*Toxoplasma* IgM, anti-*Toxoplasma* IgG and anti-*Toxoplasma* avidite test results performed on the serum samples of the women in the reproductive period which were send from several clinics to our hospital medical microbiology laboratory between the dates 1 January - 31 December 2013, were evaluated retrospectively. Anti-*Toxoplasma* IgM and anti-*Toxoplasma* IgG tests (Vitros, Johnson & Johnson, ABD) were performed with chemiluminescence method while anti-*Toxoplasma* IgG avidite test were performed with enzyme-linked fluorescent assay (ELFA) method (VIDAS, bio-Merieux,

\* Bu çalışma; XXX IV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (Antalya, 12-16 Kasım 2014) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA

<sup>2</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, ISPARTA



İletişim/Corresponding Author : Ayşe AYNALI

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA

Tel : +90 246 211 94 53

E-posta / E-mail : draysenalı@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 20.04.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 24.10.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.35683

Aynalı A, Cicioğlu-Aridoğan B, Tola EN, Önal S, Sesli-Çetin E. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran doğurganlık çağındaki kadınlarda gözlenen anti-*Toxoplasma* IgM ve IgG seropozitifliği. Türk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 33-8.

yöntemi ile çalışılmış ve firma önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Çalışmamızda, yaş ortalaması  $29,78 \pm 5,95$  olan kadınlarda %5,2 (45/862) oranında anti-*Toxoplasma* IgM pozitifliği, %24,4 (194/794) oranında anti-*Toxoplasma* IgG seropozitifliği tespit edilmiştir. Anti-*Toxoplasma* IgG avidite testi istenen kadınlarda ise %84,6 (55/65) oranında yüksek avidite, %12,3 (8/65) oranında düşük avidite ve %3,1 (2/65) oranında sınırdaki avidite değeri tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Hastanemize başvuran 15-49 yaş grubu kadınlar arasında *T. gondii* enfeksiyonuna duyarlı grubun hiç de küçük olmadığı gözlenmiştir. Çalışmamızda düşük avidite değerleri de saptanmış olup özellikle doğurganlık yaş grubu kadınlarda konjenital toksoplazmozun akla getirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** anti-*Toxoplasma* IgG, anti-*Toxoplasma* IgM, avidite, seropozitiflik

France) and the evaluations were done in the direction of the company recommendations.

**Results:** In our study, in the women having average age of  $29.78 \pm 5.95$  the rate of positivity of anti-*Toxoplasma* IgM and rate of anti-*Toxoplasma* IgG seropositivity were determined as 5.2% (45/862) and 24.4% (194/794) respectively. In the anti-*Toxoplasma* IgG avidity test demanded women in the rate of 84.6% (55/65) high avidity, in the rate of 12.3% (8/65) low avidity and in the rate of 3.1% (2/65) avidity value in the limit were determined.

**Conclusion:** It was observed that among the women at the age between 15-49 who applied to our hospital, the group who is sensitive to the *T. gondii* infection is not so small. Since low avidity values were also determined in our study, it was reached to the conclusion that especially in the reproductive age group women congenital toxoplasmosis should be brought to mind.

**Key Words:** anti-*Toxoplasma* IgG, anti-*Toxoplasma* IgM, avidity, seropositivity

## GİRİŞ

Toksoplazmozun etkeni olan *Toxoplasma gondii*; kedi dışkısı ile kontamine gıdaların tüketilmesi, bradizoit içeren etlerin yeterince pişmeden ya da çiğ olarak tüketilmesi, kan transfüzyonu, organ transplantasyonu ve transplasental yolla bulaşabilir. İnsan dahil tüm memeli ve kuşları enfekte edebilen, tüm dünyada yaygın olarak görülen hücre içi bir parazittir. Sağlıklı bireylerde asemptomatik ya da hafif bulgular ile seyrederken, immün yetmezliklerde daha ciddi tablolara yol açabilir (1). Enfeksiyon, gebeliğin erken dönemlerinde geçirildiğinde anneden fetüse bulaş riski düşük ve fetüste ciddi semptomların ortaya çıkma olasılığı yüksektir. Gebeliğin geç dönemlerinde geçirildiğinde ise fetüse bulaş riski yüksek ancak fetüste ortaya çıkan bulgular hafif ya da tamamen asemptomatiktir. Anneden fetüse bulaş riski ilk trimesterde %10-15 iken üçüncü trimesterde

%70-80'dir. Gebelikten iki-üç ay önce geçirilen enfeksiyonların da fetüse etkisinin olabileceği bildirildiğinden bu dönemde ve gebelik süresince geçirilen enfeksiyonların tespiti çok önemlidir (2).

Toksoplazmoz tanısı için Sabin-Feldman Dye, İmmun Floresan Antikor, İndirekt Hemaglutinasyon, Kompleman Birleşmesi ve Enzimle Bağlanmış İmmüno Sorbent Deneyi (ELISA) gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Sabin-Feldman Dye testi son derece duyarlı ve özgül olmasına karşın, deneyim gerektirmesi ve uygulama güçlüğü nedeniyle günümüzde laboratuvarlarda ekonomik, güvenilir ve kolay bir yöntem olarak ELISA daha çok tercih edilmektedir (3).

*T. gondii* seropozitifliğinin dünyada ve ülkemizde; bölgelere, iklim ve çevre koşullarına, beslenme alışkanlıklarına, sosyoekonomik düzeye, kedilerle



temasının yaygınlığına ve meslek gruplarına göre değiştiği belirtilmiştir (4, 5).

Bu tanımlayıcı çalışma, hastanemize başvurmuş olan 15-49 yaş arası kadınlarda anti-*T. gondii* IgG ve IgM seropozitifliğinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına, 1 Ocak-31 Aralık 2013 tarihleri arasında, çeşitli kliniklerden gönderilen ve doğurganlık çağındaki farklı kadınlara ait 862 serum örneğinde çalışılan anti-*Toxoplasma* IgM, 794 serum örneğinde çalışılan anti-*Toxoplasma* IgG ve 65 serum örneğinde çalışılan anti-*Toxoplasma* IgG avidite test sonucu geriye dönük olarak değerlendirmeye alınmıştır. Anti-*Toxoplasma* IgM ve anti-*Toxoplasma* IgG testleri (Vitros, Johnson & Johnson, ABD) kemilüminesans yöntemi ile anti-*Toxoplasma* IgG avidite testi (VIDAS, bio-Merieux, Fransa) ise ELFA yöntemi ile çalışılmıştır. Firma önerileri doğrultusunda anti-*Toxoplasma* IgM için >1,2 değerler pozitif, ≥0,8 ile <1,2 arasındaki değerler sınırda, <0,8 değerler negatif olarak; anti-*Toxoplasma* IgG için ≥8,0 IU/mL değerler pozitif, 4 - 7,99 IU/mL arasındaki değerler sınırda ve ≤3,99 IU/mL değerler negatif olarak kabul edilmiştir. Anti-*Toxoplasma* IgG avidite testi için ise <0,200 düşük avidite, 0,200 - 0,300 arası sınırda avidite ve ≥0,300 yüksek avidite olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmamızda; yaş ortalaması 29,78 ± 5,95 olan doğurganlık çağındaki kadınların 45 (%5,2)'inde anti-*Toxoplasma* IgM pozitifliği, 194 (%24,4)'ünde anti-*Toxoplasma* IgG seropozitifliği tespit edilmiştir. Doğurganlık yaş grubu kadınlarda gözlenen *T. gondii* antikorlarının dağılımı Tablo 1'de sunulmuştur. Anti-*Toxoplasma* IgG avidite testi istenen toplam 65

kadına ait sonuçlar; 55 yüksek, 8 düşük, 2 sınırda olarak tespit edilmiştir. Anti-*Toxoplasma* IgM, anti-*Toxoplasma* IgG ve anti-*Toxoplasma* avidite sonuçlarının dağılımı Tablo 2'de sunulmuştur.

**Tablo 1.** Doğurganlık yaş grubu kadınlarda *T. gondii* antikorlarının dağılımı

Tetkik	Pozitif		Negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Toxo IgM	45	%5,2	817	%94,8	862	%100
Toxo IgG	194	%24,4	600	%75,6	794	%100

**Tablo 2.** Doğurganlık yaş grubu kadınlarda anti-*Toxoplasma* IgM, IgG ve avidite sonuçları

Tetkik	Toxo IgM (+)/ Toxo IgG (+)		Toxo IgM (-)/ Toxo IgG (+)		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Düşük avidite	5	%7,7	3	%4,6	8	%12,3
Sınırda avidite	1	%1,55	1	%1,55	2	%3,1
Yüksek avidite	15	%23,1	40	%61,5	55	%84,6
<b>Toplam</b>	<b>21</b>	<b>%32,3</b>	<b>44</b>	<b>%67,7</b>	<b>65</b>	<b>%100</b>

#: Avidite çalışılan tüm hastalar içindeki yüzdesidir.

## TARTIŞMA

Konjenital toksoplazmozun insidans ve ciddiyeti, enfeksiyonun gebeliğin hangi döneminde geçirildiği ile ilgili olarak değişiklik göstermektedir. Annenin tedavisi, fetüste görülebilecek ciddi bulguları azaltabileceğinden erken tanı son derece önemlidir. Ayrıca annenin tedavisi, subklinik enfeksiyonlu birçok bebekte doğumdan sonra ortaya çıkabilecek semptomları engelleyebilmektedir (6).

Serolojik olarak akut toksoplazmoz tanımlamada anti-*Toxoplasma* IgM pozitifliği önemlidir. Ancak anti-*Toxoplasma* IgM, akut enfeksiyonu takiben bir yıl veya daha uzun süre pozitif kalabilmektedir. Bu nedenle anti-*Toxoplasma* IgM pozitifliğinin yanı sıra üç hafta ara ile alınan serum örneğinde anti-*Toxoplasma* IgG antikor titresinde artışın gözlenmesi ve özellikle riskli durumlarda gecikme yaşanmaması için anti-*Toxoplasma* IgG avidite testi de tanıda kullanılmaktadır. Bu test, anti-*Toxoplasma* IgG'nin, *T. gondii* antijenine bağlanma gücünü ölçerek, primer toksoplazmoz ile daha önce geçirilmiş enfeksiyonun ayırt edilmesine yardımcı olmaktadır (7). Antikorların antijenlere olan afinitesi başlangıçta düşükken, ilerleyen haftalarda artmaktadır. Avidite testinde antijen-antikor arası bağlar, proteinleri denatüre edebilen maddelere tabi tutulur, bağlar ne kadar kuvvetliyse o kadar çok dayanır ve yüksek avidite değeri elde edilir. Antijen-antikor arasındaki bağlar yeni oluşmuşsa, denatüre edici ajanlara dayanamayarak kopar ve düşük avidite değeri elde edilir (8). Düşük avidite yeni bir enfeksiyonun göstergesi olarak kabul edilebilir ancak düşük aviditeli antikorlar serumda aylarca kalabileceğinden, her zaman yeni kazanılmış bir enfeksiyon anlamına gelmeyebilir. Böyle bir durumda amniyon sıvısında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği ile *T. gondii* DNA'sının aranması ve laboratuvar tanısının kesinleştirilmesi, ayrıca konjenital toksoplazmoz tanısının klinik ve ultrasonografik bulgularla desteklenmesi gerekmektedir (8, 9).

Tüm dünyada yaygın olmakla birlikte, bölgeler arasında değişen oranlarda görülen toksoplazmoz prevalansının nemli ve tropik bölgelerde daha yüksek, kuru ve sıcak bölgelerde daha düşük ve kutuplarda da düşük olarak gözlemlendiği bildirilmiştir. Seroprevalans oranlarının Kuzey Amerika ve Avustralya'da %3 ve daha az olduğu; Avrupa, Güney Amerika ve Afrika'da ise genellikle %50'yi geçtiği bildirilmiştir (10, 11).

Toksoplazmoz seroprevalansının aynı bölgede bulunan farklı iller arasında, hatta aynı ilde yapılan

araştırmalarda dahi farklılıklar göstermesi; coğrafik konum, iklim şartları, sosyoekonomik koşullar, beslenme alışkanlıkları, ölçüm yöntemi farklılıkları ve farklı popülasyonlara bağlı olduğu düşünülmektedir.

Türkiye'de farklı bölgelere bakıldığında anti-*Toxoplasma* IgG ve IgM seropozitiflik oranlarının yapılan çalışmalara göre; Urfa'da (12) %69,5 ve 3,0, Sivas'ta (13) %52,2 ve 9,9, Hatay'da (14) %52,1 ve 0,54, Adıyaman'da (15) %48,4 ve 0,65, Kocaeli'de (16) %48,3 ve 0,4, İzmir'de (17) %43,46 ve 4,8, Van'da (18) %36,0 ve 0,3, Kayseri'de (19) %32,8 ve 2,9, Elazığ'da (20) %31,01 ve 0,77, Aydın'da (21) %30 ve 2,6 olarak saptandığı bildirilmiştir.

Isparta'da 2005-2006 yıllarında hastanemizde yapılan bir çalışmada anti-*Toxoplasma* IgG ve IgM seropozitiflik oranları %26,6 ve 2,5 (22), 2008-2011 yıllarını kapsayan bir başka çalışmada %22,7 ve 5,4 (23) ve 2013 yılını kapsayan bu çalışmamızda %24,4 ve %5,2 olarak tespit edilmiştir. Farklı dönemlerde elde edilen bu oranlar, Isparta ilinde doğurganlık dönemindeki kadınlarda gözlenen anti-*T. gondii* IgG, IgM seropozitifliği hakkında bilgi vermektedir.

Farklı illerde yapılan çalışmalarda; gebe kadınlara ait anti-*Toxoplasma* IgG avidite test sonuçları incelenmiş ve Gaziantep'te (24) %57,7 yüksek avidite, %35,4 düşük avidite, %6,9 ise sınırdaki avidite; Kayseri'de (25) %70,8 yüksek avidite, %4,7 düşük avidite, %24,5 sınırdaki avidite, İzmir'de (26) %45,2 yüksek avidite, %29 düşük avidite, %25,8 sınırdaki avidite değerlerine sahip oldukları bildirilmiştir.

Bu çalışmamızda, hastanemize başvuran doğurganlık yaş grubu kadınların %84,6 yüksek avidite %12,3 düşük avidite, %3,1 sınırdaki avidite değerlerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, hastanemize başvuran doğurganlık yaş grubundaki kadınlarda daha az sıklıkta yeni kazanılmış toksoplazmoz enfeksiyonuna rastlanabileceği kabul edilmektedir. Ancak konjenital toksoplazmoz tanısı için amniyon sıvısında PCR tekniği ile *T. gondii* DNA'sının aranması, klinik ve ultrasonografik

bulgularla tanının desteklenmesi gerekmektedir. Tablo 1 ve 2'de sunulan veriler incelendiğinde, çalışmamız sonucu anti-*Toxoplasma* Ig M pozitif bulunan 45 kadından sadece 21'inden avidite testi istendiği, öte yandan avidite testlerinden çoğunun Ig G pozitif ama Ig M negatif olan ve klinik olarak geçirilmiş enfeksiyon kabul ettiğimiz kadınlardan istendiği gözlenmiştir. Bu durum, klinisyenler tarafından yapılan bir test isteme hatasıdır. Ayrıca, bu hasta grubunda Ig M negatifleştikten sonra bile

düşük aviditenin %4,6 oranında devam ediyor olması, düşük aviditenin akut enfeksiyonun tespitindeki düşük güvenilirliğini bir kez daha göstermektedir.

Isparta ilinde yapılan bu çalışmada, hastanemize başvuran 15-49 yaş grubu kadınlar arasında *T. gondii* enfeksiyonuna duyarlı grubun hiç de küçük olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, çalışmamızda düşük avidite değerleri de saptanmış olup özellikle doğurganlık yaş grubu kadınlarda konjenital toksoplazmozun akla getirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Saadatnia G, Golkar M. A review on human toxoplasmosis. Scand J Infect Dis, 2012; 44(11): 805-14.
2. Anonymous. UK Standards for Microbiology Investigation. Investigation of *Toxoplasma* Infection in Pregnancy. UK: Health Protection Agency, Standards Unit, Microbiology Services Division. 2012.
3. Mete M. *Toxoplasma gondii*. Mete Ö. ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1.Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi. 1999; 1231-5.
4. Barker KF, Holliman RE. Laboratory techniques in the investigation of toxoplasmosis. Genitounin Med, 1992; 68: 55-9.
5. Weiland G. Serology and immunodiagnostic methods. In: Mehlhorn H, ed. Parasitology in Focus. Springer -Verlag, New York. 1998: 679.
6. Arrays E. *Toxoplasma*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Phaller MA, eds. (Çeviri ed. Başustaoğlu A). Klinik Mikrobiyolojisi. 9. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık Tic Ltd Şti, 2009; 2070-81.
7. Altındış M, Tanır HM. Gebe kadınlarda *Toxoplasma gondii* ve sitomegalovirus antikorları sıklığı. Genel Tıp Derg, 2002;12(1): 9-13.
8. Montoya JG, Liesenfeld O, Kinney S, Press C, Remington JS. VIDAS test for avidity of *Toxoplasma*-specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. J Clin Microbiol, 2002; 40(7): 2504-8.
9. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. J Clin Microbiol, 2004; 42(3): 941-5.
10. Meerburg BG, Kijlstra A. Changing climate-changing pathogens: *Toxoplasma gondii* in North-Western Europe. Parasitol Res, 2009; 105: 17-24.
11. Bry L. Prenatal screening and diagnosis of congenital infections. Gronowski AM, ed. Handbook of Clinical Laboratory Testing During Pregnancy. New Jersey: Humana Press Inc; 2004; 245-90.
12. Tekay F, Özbek E. The seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in women from Sanliurfa, a province with a high raw meatball consumption. Türkiye Parazitol Derg, 2007; 31: 176-9.
13. Bakıcı MZ, Nefesoğlu N, Erandaç M. Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan örneklerinde bir yıllık TORCH incelemesi sonuçlarının değerlendirilmesi. CÜ Tıp Fak Derg, 2002; 24: 5-8.
14. Ocak S, Zeteroğlu S, Ozer C, Dolapcioglu K, Gungoren A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella and cytomegalovirus among pregnant women in southern Turkey. Scand J Infect Dis, 2007; 39: 231-4.
15. Kölgeliler S, Demiraslan H, Kataş B, Güler D. Gebelerde *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. Dicle Tıp Derg, 2009; 36: 170-2.
16. Tamer GS, Dundar D, Caliskan E. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella and cytomegalovirus among pregnant women in western region of Turkey. Clin Invest Med, 2009; 32: E43-7.

17. Türk M, Güngör S, Bayram D, Bilgin N, Er H, Kurultay N, Türker M. İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesine bir yılda başvuran toksoplazmosis şüpheli hastaların ELISA yöntemiyle taranması. Türkiye Parazitol Derg, 2004; 28: 80-2.
18. Efe Ş, Kurdoğlu Z, Korkmaz G. Van yöresindeki gebelerde sitomegalovirüs, rubella ve toksoplazma antikorlarının seroprevalansı. Van Tıp Derg, 2009; 16: 6-9.
19. İnci M, Yağmur G, Aksebzeci T, Kaya E, Yazar S. Kayseri'de kadınlarda *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin araştırılması. Türkiye Parazitol Derg, 2009; 33(3): 191-4.
20. Kuk S, Özden M. Hastanemizdeki dört yıllık *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin araştırılması. Türkiye Parazitol Derg, 2007; 31(1): 1-3.
21. Yaman S, Ertabaklar H, Kapdağlı A, Ertuğ S. 2002 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına toksoplazmosis araştırılması amacıyla başvuran olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg, 2004; 28 (1): 1-4.
22. Güneş H, Kaya S, Çetin ES, Taş T, Demirci M. Reprodüktif çağıdaki kadınlarda toksoplazmosis seroprevalansı. SDÜ Tıp Fak Derg, 2008; 15(2): 21-4.
23. Ergün AG, Öztürk T, Çiftçi E, Aynalı A, Önal S, Kaya S. Gebelerde *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin ve IgG-avidite sonuçlarının değerlendirilmesi. SDÜ Sağlık Bil Enst Derg, 2013; 4(3).
24. Ekşi F, Karslıgil T, Bayram A, Zer Y, Katrancı B, Balcı İ. Anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testi çalışılan gebelerin serolojik profillerinin irdelenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2010; 40 (1): 16-21.
25. Yazar S, Yaman O, Şahin İ. *Toxoplasma gondii* seropozitif gebelerde IgG-avidite sonuçlarının değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg, 2005; 29: 221-3.
26. Bahar İH, Karaman M, Kırdar S, Yılmaz Ö, Celiloğlu M, Mutlu D. Gebelikte toksoplazmosis tanısında anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgG, IgA antikor ve IgG avidite testlerinin birlikteliği ve önemi. Türkiye Parazitol Derg, 2005; 29: 76-9.

## Bir üniversite hastanesindeki yardımcı personelin hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi \*

### Evaluation of knowledge and attitudes of a university hospital auxiliary staff about hospital infections

Selma İNFAL<sup>1</sup>, Tahir Kemal ŞAHİN<sup>2</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışma, bir üniversite hastanesinde hizmet veren yardımcı personelin hastane enfeksiyonları (HE) konusundaki bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesine yönelik olarak yapılmıştır.

**Yöntemler:** Verileri toplamak için kullanılan anket formu, konu ile ilgili soruları içeren iki bölümden oluşmuştur. Birinci bölüm, araştırmaya katılan kişilerin sosyo-demografik özellikleri ve çalışma durumlarını belirlemeye yönelik sorulardan oluşmaktadır. İkinci bölümde ise HE konusundaki bilgi ve tutumun saptanmasına yönelik sorulara yer verilmiştir. Bu sorulardan bilgi soruları puanlandırılarak değerlendirme toplam 100 puan üzerinden yapılmış, tutum sorularına verilen yanıtların ise yüzde (%) dağılımı değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Yardımcı personelin %32,1'i yaptığı her işlem öncesi, %14,1'i yaptığı her işlem sonrası el yıkadığını, %83,1'i ellerini yıkamak için sabunlu su kullandığını ifade etmiştir. Tıbbi atık, evsel atık ve geri kazanılabilir atık poşetlerindeki renk ayrımını tam ve doğru olarak yapabilen yardımcı personel oranı %6 olarak bulunmuştur. Görev sırasında HE'den korunmak için %38,1'i eldiven giydiğini, %26,3'ü maske taktığını, %21,2'si el yıkadığını ifade etmiştir. Yardımcı personelin HE'ye ilişkin bilgi sorularından aldığı puan ortalaması 40,9 ± 15,7'dir.

#### ABSTRACT

**Objective:** This study was carried out on the auxiliary staff working in a university hospital, to assess their knowledge and attitudes about nosocomial infections (NI).

**Methods:** A questionnaire was used to collect the data, including questions related to the subject. The questionnaire consists of two parts. The first part includes some questions aiming to determine the socio-demographic characteristics and working status of the participants. In the second part, there is a list of questions intended to detect the knowledge and attitudes about NI. The knowledge related questions were scored and the assessment was made out of 100 points, whereas the attitude related questions were assessed in percentage (%) terms.

**Results:** 32.1% of auxiliary staff stated that they wash their hands before each treatment, whereas 14.1% of them wash hands after each treatment. Moreover, 83.1% of staff use soapy water for washing their hands. The percentage of the auxiliary staff who could make the color separation of medical, household and recyclable waste bags thoroughly was found to be 6%. In order to protect themselves from NI while they are carrying out their duties, 38.1% of the auxiliary staff said that they wear gloves, 26.3% of them said that they use masks and 21.2% of them said that they wash their hands.

\* Bu çalışma; 13. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi'nde (İzmir, 18-22 Ekim 2010) poster bildiri olarak sunulmuştur.

<sup>1</sup> Selçuk Üniversitesi, Akşehir Kadir Yallagöz Sağlık Yüksekokulu, AKŞEHİR

<sup>2</sup> Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı AD, KONYA



İletişim / Corresponding Author : Selma İNFAL

Selçuk Üniversitesi, Akşehir Kadir Yallagöz Sağlık Yüksekokulu, AKŞEHİR

Tel : +90 332 813 05 72

E-posta / E-mail : selminfal@yahoo.com.tr

Geliş Tarihi / Received : 01.05.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 28.10.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.93064

İnfal S, Şahin TK. Bir üniversite hastanesindeki yardımcı personelin hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 39-48.

**Sonuç:** Yardımcı personelin enfeksiyonu önlemedeki kendi rollerini ve HE'nin önemini yeterince kavrayamadığı sonucuna varılmıştır. Yardımcı personelin HE'nin önemini ve enfeksiyonu önlemedeki rollerini kavramaya yönelik konu ile ilgili hizmet içi eğitim programlarının düzenlenmesi, eğitimin sürekliliğinin ve güncelliğinin sağlanması, ayrıca eğitimde bilgiye ve bilginin davranışa dönüştürülmesinde yetersiz olunan konulara ağırlık verilmesi, HE'nin önlenmesi ve kontrolünde önemli rol oynayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Hastane enfeksiyonu, bilgi, tutum

The mean score of the auxiliary staff on knowledge related questions about NI was  $40.9 \pm 15.7$  points.

**Conclusion:** It was concluded that the auxiliary staff are not aware of their own role in preventing infection and they are also not aware of the importance of NI. Organizing in-service training programs for auxiliary staff to develop an understanding of the importance of NI and to make the auxiliary staff realize their role in preventing these infections, ensuring continuity of these training programs and keeping them up-to-date, and emphasizing the knowledge and subjects that indicate insufficient transference of knowledge to behavior can play a significant role in the prevention and control of NI.

**Key Words:** Nosocomial infection, knowledge, attitude

## GİRİŞ

Bir hasta hastaneye yattığında inkübasyon döneminde olmayan ve hastanede kazanılan enfeksiyonlar hastane enfeksiyonu (HE) olarak adlandırılır ve hasta hastaneye yattıktan 48-72 saat sonra gelişir (1). HE morbidite ve mortaliteyi arttırır, hastanede yatış süresini uzatır, yaşam kalitesini bozar, hasta ve yakınları için ciddi bir maliyete ve iş gücü ve üretkenlik kaybına neden olur (2). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre her yıl 190 milyondan fazla kişi hastanede yatarak tedavi görmekte, bunların %5'inde HE gelişmekte; HE nedeniyle ortalama yedi gün işgücü kaybı olmakta ve bu hastaların %3-6'sı yaşamlarını yitirmektedir (3).

Hastane enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalar taburcu olan hastalar, çalışanlar ya da ziyaretçiler yoluyla topluma da yayılabilmektedir. Bu yönüyle de HE önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (4-9). Hastane içerisinde yayılmasında, personelin kontamine elleri ve giysileri ile hastalara müdahale sırasında elleriyle kontamine ettiği ekipmanın

etkili olduğu bildirilmiştir. Nazal taşıyıcılıkta burun boşluğunun ön kısmında kolonize olan etkenler, öksürük, aksırık gibi yollarla dışarı atılır ve havada asılı kalan partiküllerin soluk havası ile alınması ya da deri ile teması sonrasında duyarlı bireylere bulaşmalar (10). Hastane enfeksiyonlarının yayılmasını önlemek için her kademede sağlık personelinin el yıkama gibi basit kurallara uyması gereklidir (11).

Bu çalışmada, hastane yardımcı personelinin HE konusundaki bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma; tanımlayıcı nitelikte olup, Ocak-Şubat 2009 tarihleri arasında yapılmıştır. Konya'da bir üniversite hastanesi olan Meram Tıp Fakültesi Hastanesi kliniklerinde çalışan yardımcı personelin (hasta bakıcı ve temizlik personeli) HE konusundaki bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesine yönelik %50 doğru cevap elde etme oranı baz alınarak %95 güvenle, %10 hata payı ile 308 yardımcı

personelden en az 74 yardımcı personel alınacak şekilde örneklem büyüklüğü belirlenmiştir. Çalışma örnekleme, araştırmaya katılmayı kabul eden ve klinikte aktif olarak çalışan yardımcı personelin kliniklerdeki personel sayısına orantılı olarak basit rastgele yöntemle yapılmıştır. Araştırmaya katılmayı kabul eden 83 kişi araştırma kapsamına alınmıştır. Araştırma için etik kurul izni ile kurumdan gerekli izinler alınmıştır.

Verilerin toplanmasında; konu ile ilgili soruları içeren, araştırmacılar tarafından oluşturulan ve iki bölümden oluşan bir anket formu kullanılmıştır. Birinci bölüm, katılımcıların sosyo-demografik özellikleri ve çalışma durumlarını belirlemeye yönelik sorulardan oluşmaktadır. İkinci bölümde ise, HE konusundaki bilgi ve tutumlarının saptanmasına yönelik sorular yer almaktadır. On yardımcı personele ön uygulama yapılmıştır. Ön uygulama sonucunda anket sorularında gerekli düzeltmeler yapılarak son şekli verilmiştir. Ön uygulama anketleri de araştırmaya dahil edilmiştir. Anketler araştırmacı tarafından yüz yüze görüşme ile yapılmıştır.

Veriler frekans (sayı), yüzde (%) ve ortalama  $\pm$  standart sapma (SS) şeklinde özetlenmiştir. Kategorik verilerin analizinde ki-kare testi kullanılmıştır. Sürekli verilerin analizinde ise, normal dağılıma uygunluk durumuna ve grup sayısına göre; tek yönlü ANOVA (ikincil test olarak Tukey HSD) ve bağımsız gruplarda Student t testi uygulanmıştır. Tüm analizlerde  $p < 0,05$  istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

Katılımcıların yaş ortalaması ve katılımcı sayısı dikkate alınarak 32 yaş ve altı ile 33 yaş ve üzeri olarak yaş sınıflaması yapılmıştır. Anket formunda yer alan HE konusuna yönelik bilgi soruları belirlenerek, her bir soru puanlandırılmış ve toplam 100 puan üzerinden değerlendirme yapılmıştır. Tüm bilgi sorularından alınan puanların ortalaması hesaplanarak araştırmada ortalama toplam puan kullanılmıştır.

## BULGULAR

Araştırmaya katılan yardımcı personelin yaş ortalamasının  $33,7 \pm 7,2$  (min:19, max:53) ve meslekte çalışma süresi ortalamasının  $94,1 \pm 61,6$  ay olduğu, %88'inin erkek, %43,4'ünün ilkokul, %31,3'ünün ortaokul, %25,3'ünün ise lise mezunu olduğu saptanmıştır.

Yardımcı personelin %81,9'u işe yeni başlayanlar için düzenlenen HE ile ilgili hizmet içi eğitim programına çalışmaya başladıklarında katıldıklarını ifade ederek; HE hakkındaki bilgi düzeylerini; %48,2'si 'iyi', %37,3'ü 'orta', %10,8'i 'az', %3,6'sı ise 'yok' olarak değerlendirmişlerdir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Araştırma grubuna katılan yardımcı personelin sosyo-demografik özellikleri ve çalışma yaşamına ilişkin özellikler (n:8)

ÖZELLİK	n	%
Yaş	32 yaş ve altı	44 53,0
	33 yaş ve üzeri	39 47,0
Cinsiyet	Kadın	10 12,0
	Erkek	73 88,0
Çalışma Süresi (Ay)	60 ay ve daha az	25 30,1
	61-120 ay	36 43,4
	121 ay ve daha fazla	22 26,5
HE ile ilgili Hizmet İçi Eğitim Programından Geçme	Evet	68 81,9
	Hayır	15 18,1
HE ile ilgili Hizmet İçi Eğitim Süresi	5 saat ve daha az	51 61,4
	6 saat ve daha fazla	32 38,6
Öğrenim Durumu	İlkokul	36 43,4
	Ortaokul	26 31,3
	Lise	21 25,3
HE ile ilgili Bilgi Düzeyini Nasıl Değerlendirdiği	İyi	40 48,2
	Orta	31 37,3
	Az	9 10,8
	Hiç bilgim yok	3 3,6
Çalıştığı Bölüm	Dahili	44 53,0
	Cerrahi	39 47,0

Yardımcı personelin bilgi sorularından aldıkları toplam puan ortalamasının  $40,9 \pm 15,7$  olduğu saptanmıştır. Bilgi sorularından aldıkları toplam puan ortalaması bağımsız değişkenlere göre incelendiğinde; 32 yaş ve altı olanların 33 yaş ve üzeri yaşta olanlara göre, erkeklerin kadınlara göre, çalışma süresi 121 ay ve daha fazla olanların çalışma süresi 60 ay ve daha az ve 61-120 ay arası olanlara göre, HE ile ilgili hizmet içi eğitim süresi altı saat ve daha fazla olanların beş saat ve daha az olanlara göre, lise mezunu olanların ortaokul ve ilkokul mezunlarına göre, HE ile ilgili bilgi düzeyini orta olarak değerlendirenlerin iyi, az

ve hiç bilgim yok olarak değerlendirenlere göre, dahili kliniklerde çalışanların cerrahi kliniklerde çalışanlara göre daha yüksek puan aldıkları saptanmıştır, ancak bu farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Araştırma grubuna katılan yardımcı personelin tüm bilgi sorularından aldıkları ortalama toplam puan ile HE ile ilgili hizmet içi eğitim programından geçme durumları arasındaki ilişki incelendiğinde; “evet” diyen yardımcı personelin aldıkları puan ortalaması ( $43,1 \pm 14,9$ ) “hayır” diyenlerden ( $31,0 \pm 15,6$ ) yüksek olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p = 0,006$ , Tablo 2).

**Tablo 2.** Çalışmaya katılan yardımcı personelin tüm bilgi sorularından aldıkları ortalama toplam puanların bazı değişkenler ile ilişkisi

ÖZELLİK		n	Ortalama±SS	Test değeri	p değeri
Yaş	32 yaş ve altı	44	41,2±17,3	t=0,162**	0,871
	33 yaş ve üzeri	39	40,6±13,9		
Cinsiyet	Kadın	10	35,9±14,3	t=1,084**	0,282
	Erkek	73	41,6±15,8		
Çalışma Süresi (Ay)	60 ay ve daha az	25	39,2±14,1	F=0,881*	0,418
	61-120 ay	36	39,8±16,8		
	121 ay ve daha fazla	22	44,7±15,6		
Hastane Enfeksiyonları İle İlgili Hizmet İçi Eğitim Programından Geçme	Evet	68	43,1±14,9	t=2,823**	0,006
	Hayır	15	31,0±15,6		
Hastane Enfeksiyonları İle İlgili Hizmet İçi Eğitim Süresi	5 saat ve daha az	51	39,6±14,1	t=0,990**	0,325
	6 saat ve daha fazla	32	43,1±18,0		
Öğrenim Durumu	İlkokul	36	39,2±14,2	F=0,923*	0,401
	Ortaokul	26	40,4±17,0		
	Lise	21	44,9±16,6		
Hastane Enfeksiyonları ile İlgili Bilgi Düzeyini Nasıl Değerlendirdiği	İyi	40	40,6±17,3	F=1,324*	0,273
	Orta	31	43,7±12,9		
	Az	9	37,8±17,3		
	Hiç bilgim yok	3	26,3±7,1		
Çalıştığı Bölüm	Dahili	44	41,1±15,1	t=0,121**	0,904
	Cerrahi	39	40,7±16,6		
Bilgi Sorularından Aldığı Toplam Puan			40,9±15,7	n=83	

\* Tek yönlü ANOVA

\*\* Bağımsız gruplarda Student t testi



Yardımcı personelin %14,5'i HE'nin tanımını yapabilmıştır. Hastane ortamında kişiden kişiye mikrop geçişinin en çok hangi yolla olduğuna yönelik soruya %13,3'ü "personelin elleri ile" yanıtını vermiştir. Yardımcı personelin %33,7'sinin (3/10) hastaya temas etmiş bir iğne ile yaralanmaya maruz kaldığı belirlenmiştir. Yaralanma sonucunda %39,3'ünün (4/10) ilk yapılması önerilen doğru uygulamayı bildikleri saptanmıştır. Katılımcıların %83,1'inin, bir hastane personelinin kendisi hasta olmadığı halde mikrop taşıyabileceğine ve çevresine bulaştırabileceğine yönelik tehlikenin farkında olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

Çalışmamızda yardımcı personelin %39,3'ü hastaya dokunmadan önce, %31,4'ü hastaya dokunduktan sonra, %32,1'i yaptığı her işlem öncesi, %14,1'i yaptığı her işlem sonrası el yıkadığını, %83,1'i ellerini yıkamak için sabunlu su kullandığını ifade etmiştir. Ellerini sabunlu su ile yıkayanların %95,2'si ellerini yıkadıktan sonra tek kullanımlık kağıt havlu ile kuruladıklarını belirtmiştir. Yardımcı personelden hasta odasını temizlerken,

ilk önce temizlenmesi gereken yeri doğru bilenlerin oranı %27,7'dir. Hasta odasını temizlerken en son temizlenmesi gereken yeri doğru bilenlerin oranı %49,4'tür. Rutin olarak yer silmek için yardımcı personelin %43,4'ü sabunlu su ya da deterjanlı su kullandıkları doğru yanıtını verirken, %48,2'si ise deterjanla karıştırılmış çamaşır suyu kullandıklarını ifade etmişlerdir. Atık (çöp) kutularındaki poşetlerde renk ayırımını %96,4'ünün yaptığı, ancak sadece %6'sının doğru ayırım yapabildiği belirlenmiştir (Tablo 4).

Yardımcı personelin çalışırken yapamadığı/ bilemediği bir durumla karşılaşıldığında öğrenme kaynaklarının neler olduğu sorulduğunda %71,1'i konuyla ilgili sorumludan eğitim alırım yanıtını vermişlerdir. Yardımcı personelin %94,0'ı hizmet verirken HE'den korunmaya yönelik davranışlarda bulunduğunu belirtmiştir. Hizmet verdikleri sırada kendilerini HE'den korumaya yönelik olarak hangi davranışlarda buldukları sorulduğunda ise; %38,1'i eldiven giydiğini, %26,3'ü maske taktığını, %21,2'si el yıkadığını ifade etmiştir.

**Tablo 3.** Çalışmaya katılan yardımcı personelin HE konusuna yönelik bilgi sorularına verdikleri doğru yanıtların yüzde (%) dağılımı (n=83)

Soru	Doğru Yanıt	n	%
Hastane ortamında kişiden kişiye mikrop geçişinin en çok hangi yolla olduğu	Personelin elleri ile	11	13,3
Hastanede kişiden kişiye mikrop geçişini önlemeye yönelik basit fakat çok önemli bir uygulamayı bilme	El yıkama	35	42,2
Hastanede çalışırken kullanılmış bir iğnenin ele batma durumu	Evet	28	33,7
	Hayır	55	66,3
Hastanede çalışırken kullanılmış bir iğnenin ele batması durumunda ne yapılması gerektiği	İlk önce bölgeyi sabun ve su ile yıkama	25	30,1
HE'yi tanımlama	Enfeksiyon belirtisi olmayan bir hastanın hastaneye yattıktan 48 saat ve sonrasında ortaya çıkan enfeksiyondur	12	14,5
Bir hastane personelinin kendisi hasta olmadığı halde mikrop taşıyıp-taşıyamayacağını ve çevresine bulaştırıp-bulaştıramayacağını bilme durumu	Evet	69	83,1

**Tablo 4.** Çalışmaya katılan yardımcı personelin he konusuna yönelik davranış sorularına verdikleri doğru yanıtların yüzde (%) dağılımı (n=83)

Soru	Doğru Davranış	n	%
Hastanede çalışırken el yıkadıkları durumlar (işlem öncesi olarak)	Hastaya dokunmadan önce	11	39,3
	Yaptığım her işlem öncesi	9	32,1
	Temizlik yapmadan önce	5	17,9
	Eldiven giymeden önce	3	10,7
Ellerin genellikle ne ile yıkandığı	Sabunlu su ile	69	83,1
	Antiseptik ile	12	14,5
Ellerin yıkandıktan sonra ne ile kurulandığı	Kağıt havlu ile kurulama	79	95,2
Yer silmek için hangi malzemeyi kullandıkları	Sabunlu su ya da deterjanlı su	36	43,4
Hasta odaları, hasta tuvaletleri ve servis koridorlarını temizlemek gerektiğinde belirtilen yerlerin hangi sıra ile temizlendiği	1. olarak hasta odaları,	47	39,8
	2. olarak servis koridorları,	35	29,7
	3. olarak tuvaletler	36	30,5
Hasta odasını temizlerken önce nereyi temizledikleri	Yemek masası	23	27,7
Hasta odasını temizlerken en son nereyi temizledikleri	Tuvaletler	41	49,4
Atık (çöp) kutularındaki poşetlerde renk ayırımı yapıp yapmadıkları	Evet	80	96,4
Atık (çöp) kutularındaki poşetlerde renk ayırımını nasıl yaptıkları	Kırmızı tıbbi atık, Siyah evsel atık, Mavi geri kazanılabilir atık	5	6,0
Hastanede çalışırken el yıkadıkları durumlar (işlem sonrası olarak)	Hastaya dokunduktan sonra	49	31,4
	Kapı, pencere gibi temastan sonra	6	3,8
	Yaptığım her işlem sonrası	22	14,1
	Hasta yatağını değiştirdikten sonra	19	12,2
	Hasta idrarını döktükten sonra	6	3,8
	Temizlik yaptıktan sonra	19	12,2
	Eldiveni çıkardıktan sonra	3	1,9
	Hastaya kullanılan malzemeye dokunduktan sonra	20	12,9
Çalışırken yapamadığı/bilemediği bir durumla karşılaştığında öğrenme kaynaklarının neler olduğu	Çöpleri topladıktan sonra	12	7,7
	Gözlem yapma	7	8,4
	Taklit etme	1	1,2
	Soru sorma	16	19,3
	Konuyla ilgili sorumludan eğitim alma	59	71,1

## TARTIŞMA

83 yardımcı personelin HE'ye ilişkin bilgi sorularına bakıldığında, toplam 100 puan üzerinden ortalama 40,9±15,7 puan aldıkları görülmektedir. Toplam puanın en az yarısının alınması beklenmekteydi. Çelik (12)'in yoğun bakım ünitelerinde çalışan hastane personelinin, hastane

enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve uygulamalarını saptadığı çalışmasında, hastane enfeksiyonları konusunda bilginin yetersiz olduğu; Kişioğlu ver ark. (13)'nın sağlık personelinde yaptığı çalışmasında, bulaşıcı hastalık bilgi düzeylerinin düşük olduğu sonucuna vararak, personelin enfeksiyon konusunda eğitilmesi önerisinde bulunmuşlardır.

Yardımcı personelin toplam bilgi puan ortalaması ile cinsiyet arasındaki ilişki Deniz (14)'in çalışması ile uyumludur ve cinsiyet yönünden bilgi puanları arasında fark bulunmamıştır.

Hastane enfeksiyonları ile ilgili hizmet içi eğitim programından geçme durumları araştırıldığında %81,9'unun eğitim aldığı tespit edilmiştir. Bu oran, Yamazhan ve ark. (15)'nin hastane temizlik personelinin bilgisini değerlendirdiği çalışmasında %71,3, Çelik (12)'in yoğun bakım ünitelerinde çalışan hastane personelinin, hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve uygulamalarını saptadığı çalışmasında ise %42,4 olarak yer almıştır. Deveci ve ark. (16)'ı temizlik çalışanlarının temizlik ve hijyen konusundaki davranışlarının değerlendirdiği çalışmasında hijyen kuralları ve bulaşıcı hastalıklar ile ilgili eğitim aldığı belirten temizlik personeli oranının %43,8 olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmanın yapıldığı dönemde verilen eğitim, işe girişte düzenlenmekteydi. Çalışmamızda; HE ile ilgili hizmet içi eğitim programlarına katılanların katılmayanlara göre daha yüksek puan aldıkları ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğunun tespit edilmesi, düzenli olarak verilecek eğitimin HE'nin önlenmesinde önemli bir faktör olabileceğini düşündürmüştür. Demirtürk ve Demirdal (17) çalışmasında, düzenli eğitim ile bilginin artırılabilirliğini belirtmiştir.

Yardımcı personelin öğrenim durumuna bakıldığında, %43,4'ünün ilkökul mezunu olduğu tespit edilmiş olup, Rızalar'ın (18) ve Çelik'in (12) çalışmalarında da çoğunluğu ilkökul mezunları oluşturduğu için benzer olduğu görülmüştür. Ortalama toplam bilgi puan ile öğrenim durumu arasındaki ilişki incelendiğinde; öğrenim düzeyleri yükseldikçe bilgi sorularından alınan toplam puan ortalamalarının da yükseldiği belirlenmiştir. Öğrenim düzeyinin yükselmesi ile birlikte bilgi durumunun da artması, Ulutaşdemir (19)'in çalışmasıyla uyumludur, ancak bizim çalışmamızda üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

El hijyeni sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonların ve antimikrobiallere dirençli patojenlerin yayılımının önlenmesinde en önemli ve en basit enfeksiyon kontrol önlemidir (20). Usulüne uygun el yıkama ile hastane enfeksiyonlarının yarı yarıya azaltılabileceği tahmine dilmektedir (21). Yapılan işlem öncesi olarak 4/10'unun "hastaya dokunmadan önce", yapılan işlem sonrası olarak ise 3/10'unun; "hastaya dokunduktan sonra" ellerini yıkamaları, yardımcı personelin el yıkama oranlarının yeterli olmadığını göstermektedir. Çalışmamızda, yardımcı personelin hastaya dokunmadan önce ve hastaya dokunduktan sonra ellerini yıkama durumları için yanıtları; ifadeler ile gözlem sonuçlarının her zaman birbirini tutmayacağı göz önüne alındığında, çalışanların gözlenerek gerçek oranların saptanmasıyla bu oranların daha da düşeceğini düşündürmüştür. Güçlü ve ark. (22)'nin sağlık personeline hijyen eğitimi verdikleri ve eğitim öncesi-sonrası gözlemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında; yardımcı sağlık personeli el hijyeni uyum oranının %24,7'den %34,3'e yükseldiğini tespit etmişlerdir. Çalışanların işlem öncesi ve sonrası için el yıkama alışkanlıklarının artırılması için gerekli alt yapı oluşturulmalıdır. Steenhoff and Saloojee (23)'nin çalışmasında; iyi hijyen ve aseptik tekniklerin geliştirilmesinde eğitim müdahalelerin genellikle başarılı olduğu, ancak bu uygulamaların genellikle sürdürülebilir olmadığı sonucuna varmıştır.

Deniz (14)'in çalışmasında ellerini tek kullanımlık kağıt havlu ile kurulayan yardımcı personelin oranı %93,3 olup çalışmamızla uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Rızalar (18)'in 1996 yılında hasta bakımına doğrudan katılan hastane personelinin hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve uygulamalarını saptadığı çalışmasında ise, kağıt havlu kullanma oranı %5,7 olarak bulunmuştur. Kağıt havlu kullanım farkının günümüzde kağıt havluya ulaşılabilirliğinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Rızalar (18)'in, Deniz (14)'in ve Ulutaşdemir (19)'in çalışmalarında, personel %3,1 ile %94,9 arasında değişen oranda uygulamayı gerektiği şekilde yaptığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise %43,4'ü doğru uygulama yaptığı görülmüştür. Çalışmalar arasındaki doğru uygulama farklılıklarının; yıl farkından, çalışanlara verilen eğitimin etkinliği ve uygulama durumunun denetimini sağlamadaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür. Kaçmaz ve ark (24); ortamda bulunan organik artıklar nedeniyle çoğu dezenfektanın etkisinin ortadan kalktığını saptamışlardır. Bu nedenle temizlenecek, dezenfekte edilecek yüzeylerin önce su ve sabun/deterjan ile temizlenmesi, daha sonra dezenfektan madde uygulanması önerilmektedir.

Yardımcı personelden hasta odasını temizlerken, önce temizlenmesi gereken yeri doğru bilenlerin oranı ile en son temizlenmesi gereken yeri doğru bilenlerin oranı en az yarısının bilmesi beklenildiğinin altındadır ve yetersizdir, Deniz (14)'in Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Hastanesi temizlik çalışanlarının hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve uygulamalarını değerlendirdiği çalışması ile uyumludur ve konuya hizmet içi eğitimlerde daha ayrıntılı yer verilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Ulutaşdemir ve ark (25)'nin çalışmasında; hemşirelik öğrencilerinin %48,8'inin, Deniz (14)'in çalışmasında; temizlik personelinin %82,2'sinin öğrenme kaynağı olarak konu ile ilgili eğitim almayı istemeleri çalışmamız ile benzerlik göstermektedir. Terzi ve ark. (26)'nın hastane temizlik elemanları üzerinde yaptıkları çalışmada; katılımcılara eğitim

almak istedikleri konular sorulmuş olup, %68,3'ünün HE ve korunma yolları, %82,9'unun bulaşıcı hastalıklar ve korunma yolları, %68,3'ünün sağlık eğitimi, %37,1'inin aşılardan önemi, %28,3'ünün kişisel hijyen ve %22,4'ünün de tıbbi atıklar konusunda eğitim almak istedikleri ve daha önce HE ve korunma yolları konusunda eğitim alanların %63,2'sinin de aynı konuda tekrar eğitim almak istedikleri sonucuna ulaşılmıştır.

## SONUÇ

Yardımcı personelin bilgi ve tutumlarının istenen düzeyde olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu durum yardımcı personelin enfeksiyonu önlemedeki kendi rollerini ve HE'nin önemini yeterince kavrayamadığını göstermektedir. Enfeksiyonun ortaya çıkmasını önlemek amacıyla sürekli ve güncel hizmet içi eğitim programlarının düzenlenmesinin çok önemli katkıları olabilir. Eğitimde bilgi ve bilgiyi davranışa dönüştürmede yetersiz oldukları, HE'nin önlenmesinde öncelikle alınması gereken önlemlerin neler olduğu, HE'nin yayılmasında en önemli bulaşma yollarının neler olduğu, el yıkama kurallarının ne zaman ve nasıl uygulanması gerektiği gibi konulara ağırlık verilmesi, HE ile başarılı bir şekilde mücadele edilmesinde önemli oranda etkili olabilir.

Hastane yöneticileri, HE'nin yayılımının önüne geçmek için gerekli önlemleri alarak ve hastane çalışanları tarafından uygulanırılığını kontrol etmek için denetim sistemini yerleşik hale getirerek uygulama hatalarının önüne geçebilir.

## KAYNAKLAR

1. Aşcıoğlu S. Hastane enfeksiyonları. Turk Hij Den Biyol Derg, ER-1, 2007; 64(1): 1-3.
2. Ağırbaş İ. Hastane enfeksiyonları maliyet analizi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Sonuç Raporu, 2013.
3. Eti Aslan F, Badır A. Hastane enfeksiyonlarını önlemede genel bir yaklaşım: Tıbbi cihaz ve aletlerin dekontaminasyon, dezenfeksiyon ve sterilizasyonunda genel prensipler. Yoğun Bakım Hemşireliği Derg, 2003; 7 (1): 45 - 53.
4. Ertek M. Hastane enfeksiyonları: Türkiye verileri, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi no: 60, 2008: 9-14.
5. Sengupta S, Sirkar A, Shivananda PG. Stethoscopes and nosocomial infection. Indian J Pediatr, 2000; 67(3): 197-9.
6. Yaylı G, Gürdal H, Duran A. Bir üniversite hastanesinde 1998-2000 yılları arasında saptanan hastane enfeksiyonları. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2003; 33: 57-60.
7. Yalçın AN. Hastane enfeksiyonlarının maliyeti. Klimik Derg, 2004; 17(1): 19-21.
8. Vançelik S, Özden K, Özkurt Z, Altıparlak Ü, Aktaş E, Savcı AB. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde hastane enfeksiyonları: 2005 yılı sonuçları. TSK Koruyucu Hekimlik Bült, 2006; 5(3): 159-164.
9. Yalçın AN. Hastane enfeksiyon kontrolünün ekonomik değerlendirmesi: Hastane enfeksiyonlarının maliyeti. Hastane İnfek Derg, 2006; 10: 9-11.
10. Garipçin M, Şeker E. İnsanlarda ve hayvanlarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonları. Elekt Mikrobiyol Derg TR (Eski adı: OrLab On-Line Mikrobiyol Derg), 2013; 11(1): 44-60. ([www.mikrobiyoloji.org/pdf/702130105.pdf](http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702130105.pdf)) Erişim Tarihi: 05.08.2014.
11. Saçar S, Turgut H, Tuncay ÖL, Ayberk Z, Toprak S, Asan A. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi üroloji kliniğinin hastane enfeksiyonu sürveyansı. Klimik Derg, 2006; 19(1): 22-24.
12. Çelik D. Yoğun bakım ünitelerinde çalışan, hastane personelinin, hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve uygulamalarının saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2005.
13. Kişioğlu AN, Öztürk M, Uskun E, Kırbıyık S. Bir üniversite hastanesi sağlık personelinde kesici delici yaralanma epidemiyolojisi ve korunmaya yönelik tutum ve davranışlar. Türkiye Klinikleri J Med Sci, 2002; 22(4): 390-6.
14. Deniz I. Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Hastanesi temizlik görevlilerinin hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve uygulamaları, Yüksek Lisans Dönem Projesi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006.
15. Yamazhan T, Taşbakan M, Çalık Ş, Pullukçu H, Sipahi OR, Ulusoy S. Evaluation of the knowledge of hospital cleaning staff about prevention of nosocomial infections. Turk J Med Sci, 2009; 39(1): 77-80.
16. Deveci SE, Açık Y, Ercan E, Oğuzöncül AF. Bir üniversite hastanesinde temizlik çalışanlarının temizlik ve hijyen konusundaki davranışlarının değerlendirilmesi. FÜ Sağ Bil Tıp Derg, 2010; 24 (2): 123-7.
17. Demirtürk N, Demirdal T. Letter to the editor. Infect Control Hosp Epidemiol, 2006; 27(12): 1410-2.
18. Rızalar S. Hasta bakımına doğrudan katılan hastane personelinin hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve uygulamalarının saptanması. Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1996.
19. Ulutaşdemir N. Temizlik elemanlarının hastane enfeksiyonlarından korunmaya yönelik bilişsel davranış özellikleri (Hacettepe üniversitesi erişkin hastanesi örneği). Yüksek Lisans Dönem Projesi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2004.
20. İnan D. El hijyeni ve önemi. ANKEM Derg, 2011; 25(EK 2): 22-4.
21. Keçelgil HT, Kolbakır F. El hijyenin enfeksiyon kontrolündeki yeri. Klimik Derg, 1994; 7(1): 20-1.
22. Güçlü E, Tuna N, Yahyaoğlu M, Çalıcı Utku A, Özcan Ö, Ceylan S ve ark. Eğitimin ve alkol bazlı el antiseptiklerinin hastanede yaygınlaştırılmasının el hijyeni uyumuna etkisi. Flora, 2012; 17(3):118-25.
23. Steenhoff A, Saloojee H. The health professional's role in preventing nosocomial infections. Postgrad Med J, 2001; 77: 16-19. (<http://pmj.bmj.com/content/77/903/16.full>) Erişim tarihi: 25.04.2013

24. Kaçmaz B, Sultan N, ve Şanal L. Dezenfektanların mikroorganizmalara karşı etkinliğinin temiz ve kirlili yüzeylerde değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2005; 62 (1,2,3): 27-34.
25. Ulutaşdemir N, İpekçi N, Dokur M, Dağlı Ö. Hemşirelik öğrencilerinin mezuniyet öncesi süreçte hastane enfeksiyonlarından korunmaya yönelik bilgilerin ve sağlık inanç kuramına göre davranışlarının değerlendirilmesi. Fırat Sağ Hiz Derg, 2008; 3(9): 87-101.
26. Terzi Ö, Aker S, Terzi Ö, Sünter AT, Pekşen Y. Hastane temizlik elemanları ve mesleki enfeksiyon riski: bilgi ve davranışlar üzerine bir çalışma. İnönü Üni Tıp Fak Derg, 2009; 16(1): 7-12.

## Olgu Raporu: *Vibrio alginolyticus*'a bağlı bir eksternal otit olgusu

### Case Report: A case of otitis externa due to *Vibrio alginolyticus*

Irmak BARAN<sup>1</sup>, Aydın ACAR<sup>2</sup>, Yasemin GENÇ<sup>1</sup>, Neriman AKSU<sup>1</sup>

#### ÖZET

*Vibrio alginolyticus*; sıcak ve tuzlu deniz suyunda yaşamayı seven, insanda nadir olarak enfeksiyon etkeni olabilen Gram negatif basildir. Bu olgu sunumunda, kulak kültüründe saf ve yoğun olarak *V. alginolyticus* üreyen 15 yaşında bir kadın hasta sunulmuştur. Hastanın öyküsünde şikayetlerin başlangıcından önce tatilini deniz kıyısında geçirdiği ve buradayken sık sık yüzdüğü öğrenilmiştir. Bundan dolayı, bulaşın deniz suyundan olduğu düşünülmüştür. *V. alginolyticus* izolatu test edilen tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Hasta amoksisilin-klavulonik asit ve siprofloksasin tedavisi ile sağlığına kavuşmuştur. Üç tarafı denizlerle çevrili olan ülkemizde *V. alginolyticus* dış kulak otitine dair çok nadir bildirim olmaktadır, bu konuya dikkat çekmek için bu olgu sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Vibrio alginolyticus*, diffüz otitis eksterna, MALDI-TOF

#### ABSTRACT

*Vibrio alginolyticus* is a Gram negative bacillus which likes to live in warm and salty seawater and may rarely be infectious agent in humans. In this case report we present a 15-year-old female patient in whose ear culture pure and dense growth of *V. alginolyticus* was observed. It was learned from the patient history that before the onset of complaints, the patient spent her holiday near seaside and swam regularly. Therefore, it was thought that the contamination was through seawater. It was found that *V. alginolyticus* isolate was susceptible to all antibiotics tested. Patient has recovered her health with amoxicillin-clavulanic acid and ciprofloxacin therapy. In our country which is surrounded by seas on three sides, report of otitis externa by *V. alginolyticus* is very rare, so this case was presented to draw the attention to this issue.

**Key Words:** *Vibrio alginolyticus*, diffuse otitis externa, MALDI-TOF

<sup>1</sup> Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA

<sup>2</sup> Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniği, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Irmak BARAN

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 312 508 44 77

E-posta / E-mail : irmakmor@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 08.04.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 02.09.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.90592

Baran I, Acar A, Genç Y, Aksu N. Olgu Raporu: *Vibrio alginolyticus*'a bağlı bir eksternal otit olgusu. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 49-54.

## GİRİŞ

*Vibrio alginolyticus*; dünyada yaygın olup deniz suyu florasında bulunabilen, halofilik, kıvrık, hareketli, Gram negatif bir basildir. Bu mikroorganizma ile oluşan enfeksiyon için başlıca risk faktörleri deniz suyu veya kabukluları ile temastır (1). Çoğunlukla bağırsak dışı enfeksiyonlara sebep olsa da nadiren sindirim sistemi enfeksiyonlarında da bildirilmiştir (2). Özellikle sıcak aylarda deniz suyuyla temastan sonra yüzeysel yumuşak doku ve yara enfeksiyonlarına sebep olabilirler. Selülit nekrotizan fasiite kadar gidebilen ağır tablolara yol açabilirler (3). Bunun yanı sıra kulak enfeksiyonlarından, konjonktivit, endoftalmi, peritonit, plevral ampiyem ve kafa içi enfeksiyonlardan da izole edilmiştir (1-5). Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda bakteriyemiye yol açabilir (1, 2).

Yüzücü kulağı olarak da adlandırılan akut diffüz otitis eksternanın gelişebilmesi, dış kulak yolunun savunma mekanizmalarının ortadan kalkması ile mümkündür.

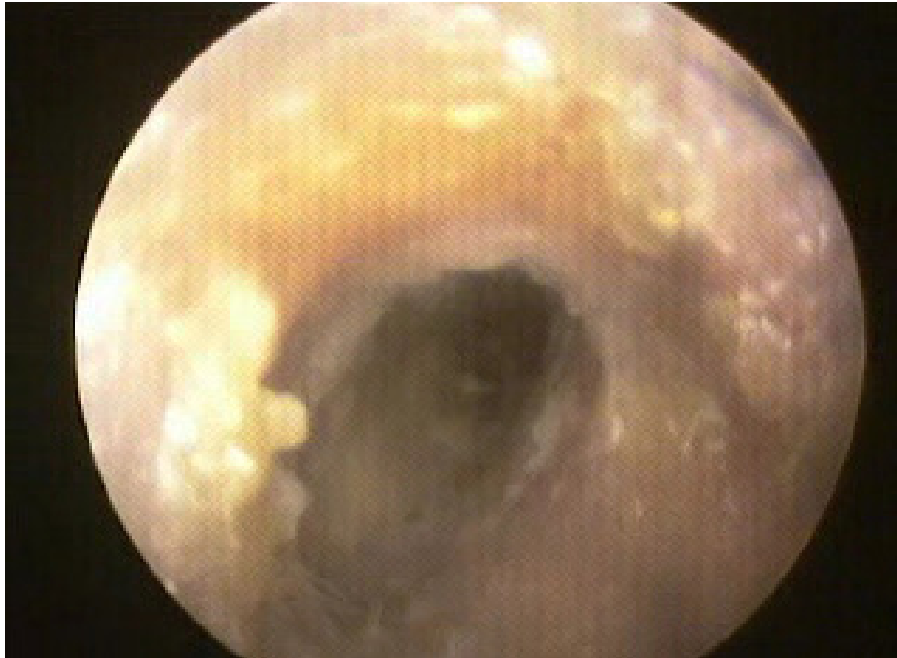
Bu raporda, *V. alginolyticus*'a bağlı gelişen eksternal otitli bir olgunun sunulması ve nadir görülen bu enfeksiyona dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

## OLGU SUNUMU

15 yaşında kadın hasta sağ kulakta ağrı ve akıntı şikayeti ile Ekim 2014 tarihinde hastanemiz Kulak Burun Boğaz Polikliniğine başvurmuştur. Şikayeti iki hafta önce kulakta kaşıntı, dolgunluk hissi şeklinde başlamış ve bundan bir iki gün sonra kulaktan kötü kokulu akıntı başlamış, sonrasında devam etmiştir.

Hastanın yapılan muayenesinde sağ kulakta kirliliği sarı, yoğun kıvamlı akıntısı olduğu görülmüştür. Kulak akıntısından kültür için örnek alınmıştır. Akıntı kulak aspirasyonu ile temizlendi, dış kulak yolunun hiperemik ve ödemli olduğu görülmüştür. Kulak zarı bütünlüğü bozulmamış ancak ödemli bulunmuştur (Resim 1).

Hastadan alınan kulak akıntısı hastanemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmiştir. Akıntı



**Resim 1.** Tedavi öncesi dış kulak yolunun (DKY) görünümü (Ödem nedeni ile dış kulak yolu daralmış, hiperemik görünümde aynı zamanda sarı sekresyon ve krutlar gözükülmektedir).



örneği mikroskopik incelemesinde her sahada 5-6 polimorfonükleer lökosit görülmüştür. Örnek, %5 koyun kanlı agara ve eosin metilen blue agara (EMB) ekilerek 24 saat, 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda kanlı agarda yoğun ve saf şekilde hafif yeşilimsi, düzgün kenarlı, ıslak, hafif mukoid koloniler ürerken EMB agarda laktöz negatif koloniler üremiştir. Bu kolonilerden yapılan Gram boyamada; Gram negatif kıvrık küçük basiller şeklinde görülmüştür. Kolonilerden hazırlanan preparat direkt mikroskopi ile incelendiğinde bakterinin hızlı hareketli olduğu görülmüştür. Katalaz ve oksidaz testi pozitif bulunmuştur ve %6 NaCl varlığında üreyebildiği saptanmıştır. TCBS (Tiyosülfat-Sitrat-Bile Sukroz) agar besiyerine yapılan ekimde bakteri sarı renkli koloniler oluşturmuştur. Yapılan biyokimyasal testlerde bakteri; indol pozitif, metil kırmızısı pozitif, Voges-Proskauer pozitif, lizin dekarboksilaz pozitif, arjinin dihidrolaz negatif olarak bulunmuştur. İzolat MALDI (matriks yardımcı lazer desorpsiyon iyonizasyonu) Biotyper (Bruker Daltonik GmbH, Bremen-Almanya) sistemi ile çalışıldığında, *V. alginolyticus* olarak tanımlanmıştır. Tanımlamada, MALDI Biotyper yönteminde MALDI Biotyper Database: Species List DB-5627 kodlu kütüphane veritabanı referans datası kullanılmıştır.

*V. alginolyticus* antibiyogramı CLSI (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü) tarafından yayınlanmış olan M45-A2 dökümanına göre disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır (6). Antibiyogramda parentez içinde belirtilen konsantrasyonlarda ampicilin (10 µg), amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg), piperasilin (100 µg), piperasilin-tazobaktam (100/10 µg), sefazolin (30 µg), sefotaksim (30 µg), sefoksitin (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), amikasin (30 µg), gentamisin (10 µg), tetrasiklin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), levofloksasin (5 µg), trimetoprim-sulfametoksazol (1,25/23,75 µg) diski kullanılmıştır. Bakteri test edilen tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Hastanın tekrar geriye dönük

sorgulaması yapıldığında; üç hafta önce tatil için Ayvalık'ta (Ege Bölgesi) bulunduğu ve buradayken sık sık yüzdüğü öğrenilmiştir.

Hastanın tedavisinde kültür sonucu çıkmadan önce Kulak Burun Boğaz Kliniği tarafından klinik görüntüden mantardan şüphelenildiği için; mekanik temizlik ve borik asitli kulak damlası kullanılmıştır. Dış kulak yolunun mantar enfeksiyonları sıklıkla bakterilerle birlikte mikst enfeksiyon şeklinde görüldüğü için hastaya başvuru sırasında amoksisilin-klavulanat başlanarak hasta tetkik sonuçları ile tekrar değerlendirilmek üzere gönderilmiştir. Kültür sonucunda duyarlı çıkması üzerine sistemik olarak amoksisilin-klavulanat tedavisine devam edilmiştir. Dış kulak yolu enfeksiyonlarında, hem sistemik hem de topikal antibiyotik tedavisi kullanıldığı için ayrıca topikal olarak siprofloksasinli kulak damlası verilmiştir. Tedavi on gün içerisinde tamamlanmış ve tedavi sonrası alınan kültürde üreme olmamıştır. Yapılan dış kulak yolu muayenesinde ödemin gerilediği ve mukozanın normal renk ve görünümünü geri kazandığı görülmüştür (Resim 2).

## TARTIŞMA

*Vibrio* türleri, tropikal iklimlerde ve sıcak deniz suyunda daha sıklıkla bulunmaktadır (1, 4). Su sıcaklığı 17 °C'yi geçtiği yerlerde daha sık görülürler (7). *Vibrio* türlerinin su teması sonucu yumuşak doku enfeksiyonu oluşturmada potansiyel patojenik özellikleri daha önce bildirilmiştir. Bu bakteriler bütünlüğü bozulmamış deriden kutanöz invazyon yapma yeteneğine sahip değildirlir. Bu sebeple herhangi bir kesik veya sıyrık yoksa cilt enfeksiyonları sınırlı olur ve spesifik antibiyotik tedavisi ile kolayca düzelirler (1).

*V. alginolyticus*, deniz suyu teması sonucu oluşan eksternal otitin bir etkeni olarak daha önce dünyada sıcak iklimlerde yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (4, 8). Önceden kulak kanalı derisinin

bütünlüğünü bozan bir travmanın bulunmasının yüzücülerde bu enfeksiyona yakalanma riskini arttırdığı gözlemlenmiştir (3, 4).

Yüzücü kulağı olarak da adlandırılan akut diffüz otitis eksternanın gelişebilmesi, dış kulak yolunun savunma mekanizmalarının ortadan kalkması ile mümkündür. Diffüz otitis eksternanın önlenmesi için en önemli faktör serümandır. Serüman asidik yapısı ile dış kulak yolunda patojen bakteri kolonizasyonunu önler. Serümanın sık temizlik ya da yüzücülerde olduğu gibi sık su ile temas yüzünden azalması nedeniyle patojen bakteriler dış kulak yolunda kolonize olabilirler. Enfeksiyonun gelişmesi için ikinci şart ise dış kulak yolunun cilt bütünlüğünün bozulmasıdır. Bunun da en sık nedeni kulağın temizlenmeye çalışılması sırasında travmatize edilmesidir. En sık etken bakteriler başta *Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* olmak üzere Gram negatif bakteriler ve stafilkok suşlarıdır (9, 10). Erken dönemde hafif ödemle birlikte kaşıntı

ve kulakta dolgunluk hissi görülür. Bu dönemde, dış kulak yolunun muayenesinde hafif bir eritem ve ödem tespit edilir. Dış kulak yolu lümeni açık olur. Enfeksiyon ilerledikçe kaşıntı artar ve ağrı başlar. Dış kulak yolu ödemi artar ve debrisler nedeniyle daralır. En son evrede dış kulak yolu ödem, debris ve otoreye bağlı olarak tamamen kapanır. Bu evrede ağrı dayanılmaz boyutlara ulaşır (11). Aurikula hareketleri ile ağrı ortaya çıkar. Tedavi topikaldir. Dış kulak yolunun bütünlüğünün bozulmadığı erken evrelerde antibiyotik (gentamisin, siprofloksasin) ve steroid (prednizolon, deksametazon) içeren topikal damlalar uygulanır. Enfeksiyonun çevre dokulara yayıldığı gözlenirse sistemik antibiyotikler tedaviye eklenmelidir (12, 13).

V. *alginolyticus*'un ürettiği proteazların ve kollajenazın potansiyel virulans faktörleri olabileceği bildirilmiştir. Hemoliz ve hemaglutinasyon kabiliyeti de bakterinin virulansı ile ilişkilidir (1, 3).



**Resim 2.** Tedavi sonrası DKY'nin görünümü; DKY'daki ödem gerilemiş, mukoza normal renk ve görünümünü (kazanmış, sekresyon gerilemiştir. Timpan membran intakt görünümündedir).

Denizdeki tuzluluk oranının *V. alginolyticus*'un ve diğer *Vibrio*'ların deniz suyunda bulunma oranı ile arasında doğru orantılı bir ilişki bulunduğu ve %11,15'in altında tuzluluk oranında *Vibrio*'ların deniz suyunda saptanamadığı bulunmuştur (5, 7). Su sıcaklığı ile de *Vibrio*'ların bulunma sıklığı arasında yüksek korelasyon bulunduğu saptanmıştır (5). Özellikle sıcaklığın yükseldiği aylarda bu bakteriye bağlı enfeksiyonların sıklığında artış görülmektedir (1). *V. alginolyticus* için optimal deniz suyu tuzluluk oranının %17,18 - 33,79 arasında olduğu bildirilmiştir (5). Ülkemizde, Akdeniz suyu tuzluluk oranı %33 - 39 arasıdayken Ege denizinde bu oran %33'dür. Yani *V. alginolyticus*'un yaşaması için ideal ortamlardır. Olgumuzda, Ayvalık'ta (Ege denizi) yüzdükten sonra şikayetleri başlamıştır. *V. alginolyticus*'un inkubasyon periyodu 1-10 gün arasında değişmektedir (3). Olgumuzdaki şikayetlerin başlama süresi ile uyumludur.

Bu olgu ile bağırsak dışı *Vibrio* enfeksiyonlarının nadir olarak saptandığı bölgelerde bile deniz suyu ile yakın zamanda temas öyküsü bulunan hastalarda eksternal otit etkeni olarak nadir izole edilen bu patojenin klinisyenin ve laboratuvarın aklına gelmesinin önemi vurgulamaktadır.

Ülkemizden daha önce *V. alginolyticus*'un sebep olduğu iki eksternal otit vakası bildirilmiştir (2, 3). Bu iki çalışmada da vakalarda Akdeniz Bölgesinde denize girme öyküsü bulunmaktadır. Bizim vakamızda ise Ege Bölgesinde tatilini geçirme öyküsü yer almaktadır. Ege Denizi coğrafi olarak Akdeniz'in devamı gibidir. Benzer tuz oranına sahip olduğu gibi benzer bakteriyel floraya da sahip olması muhtemeldir. Bu nedenle Akdeniz gibi Ege denizi ile temas öyküsü bulunan vakalarda da bu bakteri aklı getirilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Chien JY, Shih JT, Hsueh PR, Yang PC, Luh KT. *Vibrio alginolyticus* as the cause of pleural empyema and bacteremia in an immunocompromised patient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2002; 21(5): 401-3.
2. Ardiç N, Ozyurt M. Case report: Otitis due to *Vibrio alginolyticus*. *Mikrobiyol Bul*, 2004; 38(1-2): 145-8.
3. Garça MF, Bayram Y, Turan M, Avşar B, Bektaş A, Çankaya H. Eksternal otitde nadir bir patojen: *Vibrio alginolyticus*. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 2013;11(3):128-31.
4. Issack MI, Appiah D, Rassoul A, Unuth MN, Unuth-Lutchun N. Extraintestinal *Vibrio* infections in Mauritius. *J Infect Dev Ctries*, 2008; 2(5): 397-9.
5. Pien F, Lee K, Higa H. *Vibrio alginolyticus* infections in Hawaii. *J Clin Microbiol*, 1977; 5(6): 670-2.
6. Anonymous. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved Guideline-Second ed. CLSI document M45-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
7. Eiler A, Johansson M, Bertilsson S. Environmental influences on *Vibrio* populations in northern temperate and boreal coastal waters (Baltic and Skagerrak Seas). *Appl Environ Microbiol*, 2006; 72(9): 6004-11.
8. Chen MX, Li HY, Li G, Zheng TL. Distribution of *Vibrio alginolyticus*-like species in Shenzhen coastal waters. *China. Braz J Microbiol*, 2011; 42(3): 884-96. doi: 10.1590/S1517-83822011000300007.
9. Hirsch BE. Infections of the external ear. *Am J Otolaryngol*, 1992; 13: 145-55.

10. Lucente FE. Fungal infections of the external ear. *Otolaryngol Clin North Am*, 1993; 26: 995-1006.
11. Slattery WH 3rd, Brackmann DE. Skull base osteomyelitis. Malignant external otitis. *Otolaryngol Clin North Am*, 1996; 29(5): 795-806.
12. Cohen D, Friedman P. The diagnostic criteria of malignant external otitis. *J Laryngol Otol*, 1987; 101: 216-21.
13. Stoney P, Kwok P, Hawke M. Granular myringitis: a review. *J Otolaryngol*, 1992; 21: 129-35.

## Aşı epidemiyolojisi: Aşı ve aşılamanın etkileri için epidemiyolojik ölçütler

### Vaccine epidemiology: Epidemiologic measures of the effects of a vaccine and vaccination

Can Hüseyin HEKİMOĞLU<sup>1</sup>

#### ÖZET

Aşılama, hastalıkların önlenmesinde en başarılı ve maliyet etkili girişimlerden biridir. Bir aşının etkisi aşılananlarda aşılanmayanlara göre ilgili hastalık insidansındaki azalma yüzdesi ile gösterilir. Aşı etkisi randomize kontrollü çalışmalar ile ideal koşullar altında hesaplandığında aşı etkinliği, gözlemsel çalışmalar ile ideal olmayan saha koşullarında hesaplandığında ise aşı etkinliği elde edilir. Etkinliği belirlenip lisans alan bir aşının bir toplumda uygulamaya girdikten sonra hastalık sürveyansının bir parçası olarak etkinliği izlenmelidir. Aşı etkinliği ve aşı etkililiğinin aynı kavramlar olmadığı iyi bilinmelidir. Aşının bireysel düzeyde direkt etkisinin yanı sıra aşı programının toplum düzeyindeki indirekt etki, toplam etki ve genel etkisi de değerlendirilmelidir. Aşılamanın halk sağlığı etkileri "toplumda korunabilir fraksiyon, toplumda korunan fraksiyon" gibi ölçütlerle de belirlenebilir. Bulaş olasılığı ve sekonder atak hızı gibi temas koşullu ölçütler ise daha az taraf tutma ile aşı etkisi tahmini sağlayabilir. Bir aşının biyolojik koruyucu etkisinin yanı sıra aşının maruziyet etkisi ya da davranışsal etkisi, temas hızı etkisi, aşının bulaşıcılık üzerine etkisi ve aşının birleşik etkisi de bir enfeksiyon etkeninin toplumdaki bulaş dinamiklerini anlamada önemli

#### ABSTRACT

Vaccination is one of the most successful and cost-effective interventions in prevention of diseases. The effect of a vaccine is shown by the percent reduction in the incidence of the relevant disease among vaccinated people compared with those unvaccinated. When the effect of a vaccine is calculated under ideal conditions with randomized controlled studies, vaccine efficacy is obtained and when calculated on the nonideal field conditions with observational studies, vaccine effectiveness is obtained. After a licensed vaccine which its efficacy was identified is introduced into a population, vaccination effectiveness should be monitored as a part of disease surveillance. It should be well known that vaccine efficacy and vaccine effectiveness are not the same concepts. In addition to the direct effect of vaccine on the individual level, the indirect effect, total effect and overall effect of the vaccination programs on the population level should be evaluated. The public health impact of vaccination can also be defined by measurements such as "population prevented fraction, population preventable fraction". Conditional parameters like transmission probability and secondary attack rate can provide vaccine effect estimates with less bias. As well as the biological protective effect of a vaccine, exposure or behavior effect, contact rate effect and vaccine effect on infectiousness and

<sup>1</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı, Epidemiyoloji Bilim Dalı, İZMİR



İletişim / Corresponding Author : Can Hüseyin HEKİMOĞLU

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı, Epidemiyoloji Bilim Dalı, İZMİR

Tel : +90 542 247 07 18

E-posta / E-mail : drchh@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 27.07.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 23.10.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.90377

Hekimoğlu CH. Aşı epidemiyolojisi: Aşı ve aşılamanın etkileri için epidemiyolojik ölçütler. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 55-70.

ölçütlerdir. Aşının toplumdaki etkilerinin en önemli belirleyicilerinden biri de aşı kapsayıcılığıdır. Aşı kapsayıcılığına dayalı aşı etkililiğinin hızlı ve sürekli izlemi halk sağlığı müdahalelerini planlamada yol gösterici bir rol oynar. Bir toplumda görülen salgınların önlenmesinde hedeflenen toplumsal bağışıklık eşiğinin belirlenebilmesi için temel çoğalma sayısı, aşı kapsayıcılığı ve aşı etkililiğinin bilinmesi gerekir. Aşılama için gerekli sayı ise aşı programlarını değerlendirme ve halk sağlığı eylemlerini planlamada son yıllarda giderek daha fazla kullanılan bir ölçüttür. Aşılamanın bireysel ve toplumsal düzeydeki yararının bu epidemiyolojik ölçütler kullanılarak belirlenmesi ve yorumlanması halk sağlığı politikalarının belirlenmesinde çok önemli bir yer tutar.

**Anahtar Kelimeler:** Aşı etkinliği, aşı etkililiği, toplumsal bağışıklık, aşı kapsayıcılığı, bulaş olasılığı, temel çoğalma sayısı, aşılama için gerekli sayı

the combined effects of a vaccine are important parameters in order to understand the dynamics of transmission of an infectious agent in a population. One of the most important determinants of vaccine effect in a population is the vaccine coverage. Rapid and continuous monitoring of the vaccine effectiveness based on the vaccine coverage guides the planning public health interventions. To determine the targeted herd immunity threshold for prevention of outbreaks in a population, the basic reproduction number, vaccine coverage and vaccine effectiveness should be known. Number needed to vaccinate is a measure more widely used in recent years in the planning of public health actions and evaluating vaccination programme. Determination and interpretation of benefits of vaccination on the individual and population level by using these epidemiological measures is important for public health policies.

**Key Words:** Vaccine efficacy, vaccine effectiveness, herd immunity, vaccine coverage, transmission probability, basic reproduction number, number needed to vaccinate

## GİRİŞ

Enfeksiyon etkenlerinin insandaki binlerce yıllık serüvenine göre çok kısa bir geçmişe sahip olan aşılar ile dünyanın çoğu yerinde çocuk felci, kuduz, difteri, tetanoz, boğmaca, kızamık, kabakulak gibi pek çok enfeksiyon hastalığı kontrol altına alınabilmiş ve çiçek hastalığı dünya genelinde eradike edilmiştir (1, 2). Günümüzde halen hastalıkların önlenmesinde en başarılı ve maliyet etkin girişimlerden biri aşılama (3). Aşılama, immünoloji ve biyoteknolojideki gelişmeler sayesinde sıtma, insan immün yetmezlik virüs enfeksiyonu gibi bulaşıcı hastalıkların yanı sıra kanser gibi bulaşıcı olmayan hastalıklar için de umut ışığı olmaktadır (4, 5).

Aşıya bağlı istenmeyen etkiler (aşı güvenliliği) ve aşının ilgili hastalıktan koruyucu etkisi, aşının bireylerde ve toplumda uygulanmasından önce belirlenir. Toplumda bir aşının aşı programına alınması

o aşının ne ölçüde kullanılabilir olduğuyla ilgilidir ve aşının uygulanacağı toplumda ilgili hastalığın epidemiyolojik özellikleri dışında o toplumun sağlık alt yapısının yeterliliği ve mevcut kaynakları da göz önünde bulundurularak belirlenir (6-8). Yeni bir aşı için yanıtlanması gereken en basit ve belki de en karmaşık soru, aşının ilgili hastalıktan ne düzeyde koruduğudur (9). Başarılı bir aşılama politikası için bu sorunun girişimsel ve gözlemsel epidemiyolojik çalışmalarla yanıtlanması önemlidir (10). Bu derlemede; bir aşının bireysel ve toplumsal düzeyde etkisini değerlendirmede kullanılan epidemiyolojik ölçütlere değinilecektir.

## 1. AŞI ETKİSİ

Bir aşının etkisi (vaccine effect, VE ile gösterilir) aşılananlarda aşılanmayanlara göre ilgili hastalık

insidansındaki azalma yüzdesi ile gösterilir. Aşı etkisini değerlendirmede kullanılan iki temel epidemiyolojik ölçüt: aşı etkinliği (vaccine efficacy) ve aşı etkililiği (vaccine effectiveness)'dir.

### 1.1. Aşı Etkinliği

Aşı etkinliği ideal koşullar altında aşıllarda aşısızlara göre ilgili hastalık insidansındaki azalma yüzdesidir. Bu nedenle yalnızca, tercihen çift-kör olarak yürütülmüş, randomize kontrollü çalışmalarla (RKÇ) aşı lisans almadan önce belirlenebilir (6, 9, 11, 12). En iyi durum senaryolarını temsil eden çift-kör, RKÇ'lerle aşı ve plasebo kollarındaki insidans ve advers olay hızları karşılaştırılır (11). Özellikle nadir görülen enfeksiyonlarda zor ve maliyetli olan bu çalışmaların taraf tutmayı (bias) en aza indirmek için tümü enfeksiyona duyarlı bireyleri randomizasyon ile aşı ve plasebo kollarına yerleştirmesi, aşılama durumunu hassas bir şekilde belirlemesi, atak hızlarını ileriye yönelik olarak hesaplaması ve ilgili sonucu laboratuvar doğrulamasıyla daha duyarlı ve özgül bir şekilde belirlemesi gibi üstünlükleri nedeniyle aşı etkisini 'ideal koşullar altında' tahmin ettikleri kabul edilir (6, 9, 11, 12). Bu çalışmalar genellikle kısıtlı örnek büyüklüğü ile yürütülen faz 3 çalışmaları oldukları için aşı etkinliği ile yalnızca aşıli kişilerdeki 'direkt etki' gösterilebilmektedir (6). Bununla birlikte aşı etkinliği çalışmalarında bireysel randomizasyonun yanı sıra küme randomizasyon veya 'the stepped wedge' küme randomizasyon da kullanılabilir (13-15). Lisans öncesi yürütülmüş bu tür toplum düzeyindeki çalışmalarla ise aşı programının etkinliği belirlenmiş olur.

İlgili hastalığa karşı aşı ile gelişen antikor varlığını göstermek de lisans öncesi çalışmaların hedefi olabilir (6). Ayrıca faz 3 çalışmalarda bazen 'tarihsel kontrol' veya 'hane halkı sekonder atak hızları' tasarımları da kullanılmaktadır (16, 17). Maliyet etkililiği (cost-effectiveness) çalışmaları da bu aşamada yürütülebilir (18, 19).

### 1.2. Aşı Etkililiği

Mevcut hiçbir aşının etkinliği %100 değildir. Primer aşı başarısızlığı hızları RKÇ'lerin ideal koşulları altında lisanslı aşılardan için bile genel olarak %2-50 arasında değişmektedir. Bu hızlar aşının gerçek hayatta uygulanması ile daha da artabilmektedir. Dolayısıyla ideal olmayan saha koşullarındaki (depolama, taşıma, uygulama vb. ile ilgili koşullar) aşının etkisinin, yani aşı etkililiğinin bilinmesi önemlidir. Diğer bir ifade ile aşı etkililiği aşının gerçek hayatta ilgili hastalıktan ne kadar koruduğunu gösterir (6). Eskiden 'saha etkinliği' de denilen aşı etkililiği zaten yeterli etkinliği gösterilmiş olan aşının, aslında kendisinin değil, bir toplumda uygulanmasının ilgili hastalıktan ne kadar koruduğunu göstermektedir. Aşı etkililiği aşının direkt etkisine ek olarak aşılamanın hastalık bulaşını azaltmasından kaynaklanan 'indirekt etki'yi de dikkate alır (11).

Aynı hastalık için lisanslı A ve B aşılarının etkinlikleri sırasıyla %95 ve %90 olarak belirlenmiş olsun. Bu bilgiyle bir toplumda A aşısının uygulanmasının B aşısına göre daha etkili olacağını söylemek yanıltıcı olabilir. Çünkü toplumda uygulandığında, A aşısının etkililiği %80 iken, B aşısının etkililiği %85 olabilir. Bu durumda aşı etkililiği daha düşük olsa da B aşısı o toplumda daha etkili olacaktır. Yine de aşı etkinliği, aşı kapsayıcılığı (vaccine coverage, VC ile gösterilir) ile birlikte aşı etkililiğinin en önemli belirleyicilerindedir. Ayrıca, aşının uygun sıcaklıkta saklanması ve taşınması (soğuk zincir), doz şemasına uyum, aşının doğru uygulanması gibi pratik konular da aşı etkililiğini belirler (11).

Etkinliği yeterli bulunup lisans almış bir aşı için artık RKÇ'ler yapılamaz, çünkü randomizasyonla bireyleri aşı ve plasebo kollarına yerleştirmek etik açıdan uygun değildir. Bu nedenle, aşı etkililiği yalnızca gözlemsel çalışmalarla lisans sonrası hesaplanabilir. Lisans sonrası dönemde RKÇ'ler ise farklı lisanslı aşılardan karşılaştırmada kullanılabilir (6, 9, 11).

Bir toplumda, uygulamaya giren aşının artan kapsayıcılığı ile birlikte hastalık insidansının

azalmasının aşı uygulanmasından mı, risk faktörleri ve dolaşan etkenin değişmesi gibi aşı dışı etmenlerden mi kaynaklandığının ayırımının yapılabilmesi için aşı etkinliği rutin olarak izlenmeli ve aşı etkinliğinin izlemi sürveyansın bir parçası olmalıdır (11). Bu nedenle gerçek dünya görünümü veren ve girişimsel çalışmalara göre ucuz ve basit olan aşı etkinliği çalışmaları halk sağlığı eylemlerini planlamada tercih edilen çalışmalardır (9). Aşı etkinliğini belirlemek için klasik gözlemsel çalışmalara alternatif olarak test-negatif olgu kontrol, indirekt kohort (Broom yöntemi), olgu-olgu, olgu-kapsayıcılık (tarama yöntemi) tasarımı ve hane halkı temas çalışması gibi çeşitli tasarımlar geliştirilmiştir (20-24).

### Hangi Grupta ve Neye Karşı Etki?

Aşılamanın etkisi bireysel ve toplumsal düzeyde olabilir. Bireysel etkiler immünolojik yanıt gelişimi, enfeksiyondan, hastalıktan veya ciddi hastalıktan koruma şeklinde olabilir. Bulaşıcılık derecesi ve süresinin azalması ve hatta aşılamanın davranışsal etkileri yoluyla bulaşın azalması ise toplumsal düzeyde aşı etkisidir (11). Bir aşının etkinliği veya etkinliği değerlendirilirken önemli bir nokta aşının neye karşı koruyuculuğunun ölçüldüğüdür. İlgilenilen sonuç her zaman enfeksiyon veya hastalık gelişimi olmayabilir. Örneğin influenza aşı etkinliği çalışmalarında ilgili sonuç laboratuvarında doğrulanmış influenza, grip benzeri semptomlar, influenzaya bağlı hastaneye yatış veya influenzaya bağlı ölüm gibi çok çeşitli olabilir. Bir aşının influenzaya bağlı hastaneye yatışları %60 oranında azalttığı bulunduyorsa, o zaman influenza aşısının influenzaya bağlı hastaneye yatışları önlemede etkinliği %60 olarak tahmin edilmiş olur (22, 23-28).

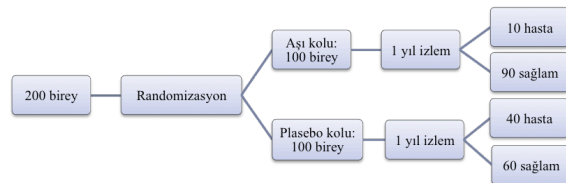
Aşı etkisini yorumlarken akılda tutulması gereken diğer önemli bir nokta ise aşının kimlerde, hangi grupta ilgili sonuçtan koruduğudur. Aşı etkisi tahmininin geçerli olduğu toplum veya grup iyi bilinmelidir. Bir aşı etkinliği/etkililiği çalışması yaşlılarda, erişkinlerde veya beş yaş altı çocuklar gibi değişik yaş gruplarıyla yürütülebilir. Bu nedenle hesaplanan

koruyucu etkinin neye karşı olduğunun yanı sıra geçerli olduğu grup da belirlenmelidir. Örneğin bir aşı etkinliği '3-59 aylık çocuklarda rotavirus aşısının rotavirusa bağlı gastroenteritler nedeniyle hastaneye yatışları önlemedeki etkinliği %75'tir' şeklinde ifade edilmelidir. (22, 28-30).

### 1.3. Aşı Etkinliği ve Aşı Etkililiğinin Hesaplanması

Biri tamamı aşı, diğeri tamamı aşısız 100'er bireyden oluşan iki grubu ele alalım. Aşısız grupta 10 hasta, 90 sağlam ve aşı grubunda 4 hasta, 96 sağlam gözlemlenmiş olsun. Aşı olan grup aşısız olsaydı, grupların benzer özelliklere sahip olduğu kabul edilerek, aşısız olan grupta olduğu gibi aşı grubunda da 10 hasta olması beklenirdi. Oysa aşı olan grupta 10-4 = 6 hasta daha az görülmüştür. Beklenen 10 hastadan 6 (%60)'sı önlenmiştir. Bu oran faz 3 bir RKÇ ile elde edildiğinde aşı etkinliği, gözlemsel bir çalışma ile elde edildiğinde ise aşı etkinliği %60 demektir.

Şekil 1'de bir RKÇ'ye alınan 200 bireyin randomizasyonla aşı ve plasebo kollarına atandığı ve her bir kola atanan 100 bireyin bir yıllık izlemi süresinde aşı kolunda 10 ve plasebo kolunda 40 hasta olduğu görülmektedir. Aşı kolunda insidans  $10/100 = 0,1$  ve plasebo kolunda  $40/100 = 0,4$ 'tür. Aşı kolundaki insidans plasebo kolundaki insidansa oranlandığında, risk oranı (rölatif risk)  $0,1/0,4 = 0,25$  olarak bulunur. Bu, aşıllarda aşısızlara göre hastalık gelişme riski 0,25 kattır anlamına gelir. Buradaki rölatif risk ölçütünün  $<1$  olması nedeniyle aşı koruyucudur. Diğer bir ifade ile aşıllarda aşısızlara



Şekil 1. Randomize kontrollü bir aşı etkinliği çalışması şeması



göre hastalık gelişme riski %75 (1 - 0,25) daha azdır. Yani aşının koruyuculuğu %75'tir. Bu oran bir RKÇ ile elde edildiği için aşı etkinliğidir. Aynı örnek randomizasyonun olmadığı bir kohort çalışmasına ait olsaydı, o zaman aşı etkililiği %75 bulunmuş olacaktı. Özetle, aşı etkinliği ve aşı etkililiği hesaplamasında kullanılan matematiksel yaklaşım aynıdır. Bu yaklaşım aşısızlarda hastalık gelişme riskinin aşı grubun riskinden farkının (bağıl risk/mutlak risk/excess risk/attributable risk), aşısızların riskine oranlanmasıyla (bağıl risk yüzdesi/korunabilirlik hızı/attributable risk percentage) aynıdır.

$$VE = \frac{\text{İnsidans aşısız} - \text{İnsidans aşı}}{\text{İnsidans aşısız}}$$

Bu formül daha açık bir şekilde aşağıdaki gibi ifade edilebilir.

$$VE = \left( \frac{\text{İnsidans aşısız}}{\text{İnsidans aşısız}} - \frac{\text{İnsidans aşı}}{\text{İnsidans aşısız}} \right)$$

Aşılılardaki insidansın aşısızlardaki insidansa oranı risk oranı (risk - RR) olduğundan, aşağıdaki formül elde edilir.

$$VE = 1 - RR$$

Bu formülde RR yerine herhangi bir rölatif risk ölçütü kullanılarak aşı etkinliği veya aşı etkililiği hesaplanabilir. Örneğin yapılan çalışmalarda atak hızları oranı, insidans hızları oranı, tehlike oranları vb. ölçütler elde edilebilir. Bu durumda elde edilen risk ölçütü hangisiyse formülde yerine konularak 1'den çıkarıldığında çalışma tasarımına göre aşı etkililiği veya aşı etkinliği hesaplanmış olur. Elde edilen risk ölçütü 'odds ratio' (OR) ise yine aynı formül kullanılacak ancak 'odds ratio' yalnızca gözlemsel çalışmalardan elde edildiği için aşı etkililiği hesaplanmış olacaktır (6, 9, 11, 12, 31, 32).

Bir toplumda aşı programının etkisi (impact) yine aynı yaklaşımla hesaplanabilir.

$$VE = \frac{\text{İnsidans hızı aşı öncesi} - \text{İnsidans hızı aşı sonrası}}{\text{İnsidans hızı aşı öncesi}}$$

$$VE = (1 - \text{İnsidans hızları oranı})$$

Bir aşı programının etkisi ayrıca aşı ve aşısızlarda taşıyıcılık prevalansı, pozitif test sonucu yüzdesi, sağlık hizmeti kullanımı, enfeksiyon amındaki medyan yaşlar karşılaştırılarak da belirlenebilir (12).

## 2. AŞI VE AŞI PROGRAMININ FARKLI ETKİLERİ

Halloran ve ark. (33)'na göre; aşılamanın dört farklı etkisi vardır: direkt etki, indirekt etki, toplam etki ve genel etkidir. Aşının direkt etkisi aşı programı olan bir toplumdaki aşı ve aşısız bireyleri karşılaştırarak ölçülür, böylece aşı programına özgül herhangi bir etki dışlanmış olur (12, 33). İndirekt, toplam ve genel etki ise maruziyet aşılama programı olduğunda hesaplanabilir ve temelde aşı kapsayıcılığına bağlıdır. Ayrıca bu etkiler, farklı gruplar arasında aşılamanın dağılımı ve hastalık bulaşımını etkileyen farklı grupların temas özellikleriyle de ilgilidir. Bu üç etkinin hesaplanması için aşı programı olan ve olmayan iki toplum gerekir (12).

### 2.1. Direkt Etki

Yukarıda bahsedilen aşı etkinliği ve aşı etkililiğinde olduğu gibi, direkt etki de aşılılarda aşısızlara göre hastalık gelişme insidansındaki yüzde azalmadır. Direkt etki aşılılarda yalnızca aşıya bağlı hastalığa duyarlılıktaki azalmayı dikkate alırken; aşı programı olan bir toplumda olmayı, dolayısıyla azalan bulaşıcılığa bağlı indirekt etkiyi dikkate almaz. Bu nedenle direkt etki 'biyolojik koruyucu etki' olarak da bilinmektedir. Şekil 2'de herhangi bir hastalık için aşı programı olan toplum A ve aşı programı olmayan toplum B görülmektedir (33). Bu durum, yeni bir aşının bir toplumda aşı programına dahil edilirken, başka bir toplumda aşı programına dahil edilmediğinde gerçekleşebilir. Toplum A aşı ve aşısız bireylerden oluşmaktadır. Toplum A'daki aşı ve aşısızların karşılaştırılmasıyla elde edilecek rölatif risk ölçütünün 1'den çıkarılmasıyla direkt etki hesaplanabilir (33).

Bazı canlı atenüe virus aşılardaki suşlar, aşılılardan aşısız bireylere yayılabilir. Bu durumda



toplumda aşılamanın genel etkisi iyi bulunsa bile, toplumun alt gruplarında farklı etkiler söz konusu olabilir. Bu nedenle aşılamanın toplum düzeyindeki etkilerinin ayrımının yapılması önemlidir (33).

### 3. AŞININ HALK SAĞLIĞI ETKİLERİ

İki temel rölatif halk sağlığı etki ölçütü vardır: 'atfedilebilir fraksiyon' ve 'topluma atfedilebilir fraksiyon'. Aşılama gibi girişimin koruyucu olduğu durumlarda bu ölçütler 'koruyucu fraksiyon' olarak ifade edilirler (12).

#### 3.1. Maruz Kalanlar Arasındaki Koruyucu Fraksiyon

Maruz kalanlar arasındaki koruyucu fraksiyon (preventive fraction among exposed), aşıllarda aşı ile önlenen hastalık oranıdır. Diğer bir ifade ile aşıllar arasındaki potansiyel olguların oranıdır. Aşısızlardaki aşıllara göre risk fazlalığının aşısızlardaki riske oranlanmasıyla hesaplanır. Bu nedenle aşı etkinliği/etkililiğine ve direkt etkiye denktir ve aşıllardaki koruyuculuğu gösterir (12).

Şekil 3'teki örnekte 200 bireyden oluşan bir toplumda 100 aşıllı ve 100 aşısız vardır. Aşıllar arasında 10, aşısızlar arasında ise 30 hasta görülmüştür. Aşıllarda insidans  $10/100 = 0,1$  ve aşısızlardaki insidans  $30/100 = 0,3$ 'tür. Bu toplumdaki aşıllar aşılanmamış olsaydı, aşıllar arasında 30 hasta olması beklenirdi ve aşıllarda fazladan 20 hasta olurdu. Bu durumda aşılamayla 30 hastanın 20 (%66,6)'si önlenmiş oldu. Bu %66,6 oranı, maruz kalanlar arasındaki koruyucu fraksiyondur. Aşağıdaki formülle de aynı sonuç elde edilir (12).

$$\text{Maruz kalanlar arasındaki koruyucu fraksiyon} = \frac{\text{İnsidans aşısız} - \text{İnsidans aşıllı}}{\text{İnsidans aşısız}}$$

#### 3.2. Toplumda Korunabilir Fraksiyon

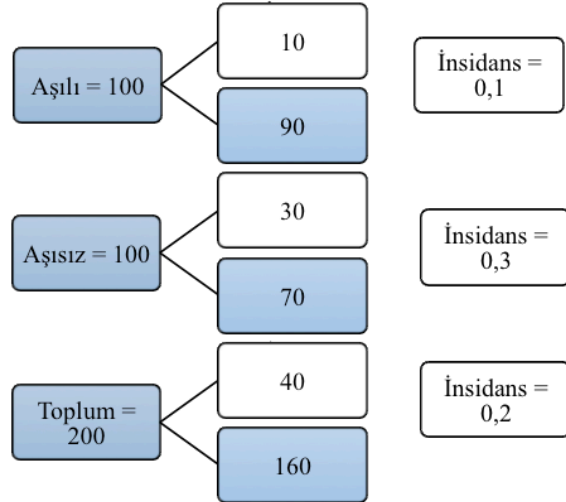
Toplumda korunabilir fraksiyon (population preventable fraction), bir toplumda aşısızların tümü aşılanırsa (veya aşılanırsa) önlenebilecek hastalık

oranıdır. Tüm toplum aşılanmış olduğunda artık 'indirekt etki' dışlanmış olur. Tüm toplumun riskinin aşılların riskinden fazlalığının tüm toplumun riske oranlanmasıyla hesaplanır. Şekil 3'teki örnekte aşısızların tümü aşılanırsa veya toplumdaki 200 bireyin hepsi aşıllı olsaydı, o zaman tüm toplumun riski aşılların riskine (0,1) eşit olurdu. Bu toplumda görülen 40 hastanın 20'si hastalanmış, 20'si ise önlenmiş olacaktı. Diğer bir ifade ile bu toplumda görülen 40 hastanın 20'si önlenebilirdi. Bu durumda bu toplumda korunabilir fraksiyon  $20/40 = \%50$ 'dir ve görülen hastaların %50'si aşı ile önlenebilir demektir. Aşağıdaki formülle de aynı sonuç elde edilir (12).

$$\text{Toplumda korunabilir fraksiyon} = \frac{\text{İnsidans toplum} - \text{İnsidans aşıllı}}{\text{İnsidans toplum}}$$

Aşı kapsayıcılığı toplumdaki aşılların oranını ifade ettiği için, aşağıdaki formülle de toplumda korunabilir fraksiyon hesaplanabilir (12).

$$\text{Toplumda korunabilir fraksiyon} = \frac{\text{VE direkt} - (1 - \text{VC})}{1 - (\text{VC} \times \text{VE direkt})}$$



Şekil 3. Bir toplumda aşılama durumuna göre hastalık insidansı

#### 3.3. Toplumda Korunan Fraksiyon

Toplumda korunan fraksiyon (population prevented fraction), tüm toplum aşısız olduğundaki risk referans kabul edilerek mevcut aşılamayla önlenen hastalık

orandır. Herhangi bir indirekt etki dışlanarak, mevcut aşılama tarafından önlenen bazal riski tahmin eder. Aşısızların riskinin tüm toplumun riskinden fazlalığının aşısızların riskine oranlanmasıyla hesaplanır. Şekil 3'teki örnekte mevcut aşılama olmasaydı tüm toplumun riski aşısızların riski (0,3) kadar olacaktı ve bu durumda toplumda 40 hasta yerine 60 hasta olurdu. Toplumda 60 hastanın 20'si önlenmiş oldu. Bu durumda  $20/60 = \%33,3$  oranında hasta önlendi. Yani toplumda korunan fraksiyon  $\%33,3$ 'tür. Aşağıdaki formüllerle de aynı sonuç elde edilir (12).

$$\text{Toplumda korunan fraksiyon} = \frac{\text{İnsidans aşısız} - \text{İnsidans toplum}}{\text{İnsidans aşısız}}$$

$$\text{Toplumda korunan fraksiyon} = \text{VE direkt} \times \text{VC}$$

### 3.4. Aşı Programının Halk Sağlığı Etkileri

Aşı programı olan bir toplumdaki tüm bireyler, aşılanmalar da aşılanmasalar da, aşı programına maruz kalmış oldukları için, toplumda korunabilir fraksiyon aşı programı için hesaplanamaz. Herhangi bir aşı için aşı programı olmayan bir toplum referans alınarak, aşı programı olan toplumda aşılamayla önlenen hastalık oranı, yani toplumda korunan fraksiyon hesaplanabilir. Bu etki 'genel etki'ye karşılık gelir. Genelde referans olarak aşı programı olan toplumun aşı programı öncesi alınır. Böylece bir toplumdaki aşı programının başlamasından öncesi ile sonrasındaki risk karşılaştırılarak aşı programının etkisi belirlenir (12).

$$\text{Toplumda korunan fraksiyon} = \frac{\text{İnsidans önce} - \text{İnsidans sonra}}{\text{İnsidans önce}}$$

$$\text{Toplumda korunan fraksiyon} = (\text{VC} \times \text{VE toplam}) + (1 - \text{VC}) \times \text{VE indirekt}$$

## 4. KOŞULLU ÖLÇÜTLERE DAYALI AŞI ETKİSİ

Bir bireyi aşılamının biyolojik etkisi,

1) Bireyin bulaşıcılık etkene belirli bir maruziyeti olduğunda enfeksiyon olasılığını,

2) Birey enfekte olduğunda hastalığın progresyonu, şiddeti ve süresini,

3) Bireyin bulaşıcılık süresi veya derecesini azaltabilir.

Aşılamının biyolojik koruyucu etkisinin epidemiyolojik bir ölçütü, belirli bir temas tipi göz önüne alındığında bulaşıcı etkene maruziyet düzeyine bağlı olan hastalık veya enfeksiyon olasılığındaki azalmadır. Bu nedenle RKÇ'lerin yokluğunda, aşılamının biyolojik koruyucu etkisinin epidemiyolojik olarak tahmini, 'bulaş olasılığı' (P) veya duyarlı bir birey ile bulaşıcı bir birey arasındaki gerçek temasa koşullu olan 'sekonder atak hızı' (SAR) gibi benzer bir ölçüte dayanmaktadır (33).

Temas geniş bir kavramdır ve her çalışma için temas tanımı yapılmalıdır. Örneğin; cinsel yolla bulaşan hastalıklarla ilgili bir çalışmada temas hızı, cinsel ilişki başına veya cinsel eş başına şeklinde tanımlanabilir. Bir boğmaca çalışmasında ise temas bulaşıcı birey ile aynı gün okula gitmek veya olgunun tüm bulaşıcı periyodu süresinde aynı evde yaşamak olarak tanımlanabilir (33).

Bir bulaşın gerçekleşmesi için bulaşıcı bir etken, bulaşıcı bir birey, duyarlı bir birey ve bu iki birey arasında bir temas olması gerekir. Bulaş olasılığı (transmission probability) etkenin bulaşıcı bireyden duyarlı bireye yayılıp yerleşmesi için gereken temasa koşullu bir olasılıktır. Örneğin 0 ve 1 sırasıyla aşı ve aşısız olma durumunu ifade ederse, P01 aşısız (0) enfekte bireyden aşı (1) duyarlı bireye temas başına bulaş olasılığını ifade eder (33). Bulaş olasılığı iki yöntemle tahmin edilir. Bunlardan biri 'olgu temas hızı yöntemi' de denilen sekonder atak hızı yöntemidir (33-37). Sekonder atak hızı bulaşıcı bireyle temas eden duyarlı bireylerin içinde hastalananların oranıdır. Benzer şekilde SAR10 aşı (1) bulaşıcı bireyle temas eden aşısız (0) duyarlılarda sekonder atak hızını ifade eder. Sekonder atak hızı çalışmaları genellikle yüksek bulaş olasılığına sahip doğrudan bulaşan kızamık, suçiçeği, kabakulak, boğmaca, tüberküloz gibi enfeksiyonlar için tercih edilir. Diğer yöntem ise binomial modele dayanmaktadır. Bu durumda duyarlı

bireyler gözlemlenir, bulaşıcılarla yaptıkları temaslar ve bu duyarlıların içinde enfekte olanlar sayılır. Bu yaklaşım genellikle duyarlıların enfekte olmadan önce birden çok kez bulaşıcılarla temas ettikten sonra o etkenle enfekte olduğu, HIV gibi, düşük bulaş olasılığı olan etkenler için kullanılır (33).

Bulaş olasılığı maruziyet başına düşen enfeksiyon sayısıdır. P.1: aşılı duyarlılara bulaş olasılığı, P.0: aşısız duyarlılara bulaş olasılığı, SAR.1: aşılı duyarlılar arasındaki sekonder atak hızı, SAR.0: aşısız duyarlılar arasındaki sekonder atak hızını ifade eder. Bu ifadelerdeki 'nokta' aşılı ve aşısız duyarlılar için eşit olduğu varsayılan bulaşıcı temasları temsil eder. Bu durumda aşı etkisi bulaş olasılıklarının oranı ve SAR'ların oranı kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplanabilir (33, 38).

$$VE = 1 - (SAR.1 / SAR.0) = 1 - (P.1 / P.0)$$

Bulaş olasılıklarının oranı kullanılarak aşı etkinliği/etkililiği tahmini yapabilmek için kimler bulaşıcı, kimlerle ve nasıl temas ettiler gibi bilgiler gerekir. Kişi-zaman başına enfeksiyon sayısı; o zaman biriminde gerçekleşen temasların sayısı, bu temasın bulaşıcı olma olasılığı ve bulaşıcı temas başına bulaş olasılığının çarpımıyla elde edilir. Bu elde edilen sayı, risk altındaki toplam kişi-zamana bölüldüğünde insidans hızına ulaşılır. Bu hesaplama için aşağıdaki formül kullanılabilir.

İnsidans hızı = {temas hızı (C) x temas eden bireylerdeki enfeksiyon prevalansı [P(t)] x bulaş olasılığı (p)} / risk altındaki toplam kişi-zaman

Aşı etkisi formüllerinde rölatif risk ölçütü olarak insidans hızları oranı kullanılarak aşı etkisi hesaplanabilir. İnsidans hızı yerine insidans hesaplandığında, rölatif risk ölçütü olarak risk oranı da aşı etkisi formülüne yerleştirilebilir. Örneğin 10.000 bireyden oluşan aşılı bir grupta bir yılda 1.000 temas gerçekleşir ve temas edenlerdeki hastalık sıklığı (prevalans) %10, bulaş olasılığı %40 ise; bir yıllık insidans = (1.000 x 0,1 x 0,4) / 10.000= 0,004 olarak bulunur. Yine 10.000 kişiden oluşan aşısız bir toplumda bir yılda 1.000 temas gelişir ve temas

edenlerdeki hastalık sıklığı %20, bulaş olasılığı %40 ise; bir yıllık insidans = (1.000 x 0,2 x 0,4) / 10.000 = 0,008 olarak bulunur. Bu durumda risk oranı 0,004 / 0,008= 0,5'tir. Aşı etkisi ise 1 - 0,5 = 0,50 (%50)'dir. Burada karşılaştırılan gruplara göre hesaplanan etki direkt, indirekt, total veya genel etki de olabilir (33, 38).

Tablo 1'deki örnekte 5.000 birey aşılı ve 5.000 birey aşısızdır. Her iki grupta bir yıl süreyle izlenmiş ve aşılı ve aşısız grupta sırasıyla 2.000 ve 1.000 temas gerçekleşmiştir. İzlem süresi boyunca her iki grupta da 100 olgu görülmüştür. Bu örnekte aşı etkisini önce koşullu olmayan ölçüt kullanarak hesaplayalım. Aşılı grupta insidans 100/5.000 = 0,02 ve aşısız grupta insidans 100/5.000 = 0,02 ve risk oranı 0,02/0,02=1'dir. Aşı etkisi 1 - 1 = 0,0 (%0,0) olarak bulunur. Aynı örnekte temas bilgisi de olduğu için koşullu ölçüt olarak bulaş olasılıklarını kullanarak da aşı etkisini hesaplayabiliriz. Bu durumda aşılı grupta bulaş olasılığı 100/2.000 = 0,05 ve aşısız grupta 100/1.000 = 0,10 bulunur. Bulaş olasılıkları oranı ise 0,05/0,10 = 0,5'dir. Aşı etkisi ise 1 - 0,5 = 0,5 (%50,0) olarak bulunur. Bu örnekte görüldüğü gibi aşılı ve aşısız gruplardaki temas hızları dikkate alınmadan aşının hiç etkisinin olmadığı ancak temas hızı dikkate alındığında aşı etkisinin %50 olduğu görülmektedir. Bu nedenle koşullu ölçütler kullanılmadan aşı etkisi hesaplanacak çalışmalarda, karşılaştırılacak grupların bulaş dinamikleri açısından benzer olmaları gerekmektedir, aksi takdirde aşı etkisi tahminlerinde taraf tutma olması kaçınılmazdır (33).

**Tablo 1.** Aşılı ve aşısız iki gruptaki kişi, temas ve olgu sayıları ve izlem süresi

Aşı durumu	Kişi sayısı	Temas sayısı	Olgu sayısı	İzlem süresi
Aşılı	5000	2000	100	1 yıl
AŞISIZ	5000	1000	100	1 yıl

## 5. TEMAS HIZI ETKİSİ VE MARUZİYET ETKİSİ

Aşılı bir bireyin aşılı olduğunu bilmesi toplumdaki temas hızını değiştirebilir veya aşılı bir toplumda olduğunu bilen bir bireyin aşılı olmasa da temas örüntüsü değişebilir. Temas hızı etkisi bir girişime bağlı olarak temas hızındaki değişimin ifadesidir. Maruziyet etkisi veya davranışsal etki, bulaşıcı etkene maruziyetteki değişime bağlı olarak hastalık veya enfeksiyon riskindeki rölatif artış veya azalmadır. Bu değişim temas hızında, temas edenlerdeki enfeksiyon prevalansında veya temas tipinde değişimin bir sonucu olarak bulaş olasılığındaki değişimden kaynaklanabilir. Örneğin aşı yaptıran bireyler hastalıktan korunmak için ayrıca daha az temas ediyor olabilirler veya tersine aşılamayla oluşan güven hissi nedeniyle daha fazla temas edebilirler. Randomize olmayan ve gözlemsel çalışmalarda aşılı ve aşısız gruplar zaten genellikle kendi davranışlarını değiştirmeden de enfeksiyona maruziyet açısından birbirlerinden farklıdır. İki karşılaştırma grubu arasındaki bu eşitsizlik aşı etkililiğinin taraflı tahminine yol açabilir. Bu nedenle bulaş olasılığına dayalı aşı etkisi tahminleri bu farklılıktan kaynaklanan taraf tutmaya daha az duyarlıdır (33, 39).

## 6. BULAŞICILIK ÜZERİNE AŞI ETKİSİ

Bulaşıcılığı azaltmada aşının biyolojik etkisi aşılı enfekte bireylerden bulaş olasılığı ile aşısız enfekte bireylerden bulaş olasılığının karşılaştırılması ile tahmin edilmektedir. Şimdiye kadar sözü edilen etkiler aşının enfeksiyon, hastalık, hastaneye yatış, ölüm gibi sonuçlardan koruyuculuğu gösteren 'duyarlılık üzerine' aşı etkileriydi. Bulaşıcılığın azaltılmasında aşının etkisi ise temas bilgisi gerektirdiğinden yalnızca koşullu ölçütler kullanılarak tahmin edilebilir. Bunun için duyarlı birey ile temas eden bulaşıcı bireyin aşı durumuna göre karşılaştırma grupları belirlenir. Aşılı enfekte bireylerden temas başına aşılı veya aşısız duyarlı bireylere bulaş olasılığı enfekte aşısızlardan bulaş olasılığı ile karşılaştırılarak aşının bulaşıcılık üzerine etkisi belirlenir. Bulaş olasılığı yerine sekonder

atak hızları kullanılarak da aşağıdaki iki formülle bulaşıcılık üzerine bir aşının etkisi hesaplanabilir.

$$VE \text{ bulaşıcılık} = 1 - \frac{SAR10}{SAR00}$$

$$VE \text{ bulaşıcılık} = 1 - \frac{SAR11}{SAR01}$$

Yukarıdaki formüllerde SAR01 aşılı enfekte bireyle temas eden aşısız duyarlı bireylerde sekonder atak hızını, SAR00 aşısız enfekte bireyle temas eden aşısız duyarlı bireylerde sekonder atak hızını, SAR11 aşılı enfekte bireyle temas eden aşılı duyarlı bireylerde sekonder atak hızını ve SAR01 aşısız enfekte bireyle temas eden aşılı duyarlı bireylerde sekonder atak hızını ifade etmektedir. Buna göre 1. formülde aşısızlarda, 2. formülde ise aşılılarda hastalık bulaşının aşılılarla temas ettiklerinde aşısızlarla temas etmelerine göre yüzde ne kadar azaldığı hesaplanmaktadır (33).

Aşının biyolojik koruyucu etkisi (yani aşının duyarlılık üzerine etkisi) ve enfeksiyona maruziyette değişikliğin (yani aşının bulaşıcılık üzerine etkisi) birleşik etkisi (combined effect) de önemli bir halk sağlığı ölçütüdür. Örneğin aşının bulaşıcılık üzerine aşı etkililiği 0,45 bulduysa, aşı bulaşıcılığı %45 azaltıyor demektir. Aşının birleşik etkisinin ise örneğin 0,75 bulunması, bulaşıcılık ve duyarlılıktaki azalmanın birleşik etkisi ile bulaşıcılık %75 azalıyor demektir (33).

Aşının biyolojik koruyuculuğu temas hızında artış veya enfeksiyona maruziyette artışa yenik düşebilir. Bu durumda biyolojik koruyuculuğu olan bir aşının halk sağlığı üzerine zararlı etkileri olabilir. Bu nedenle çalışma tasarımında enfeksiyona maruziyet için ve biyolojik duyarlılık için risk faktörlerinin ayrımının yapılması önemlidir. Bu birleşik etki aşılı bireyden aşılı bireye bulaş olasılığının aşısız bireyden aşısız bireye bulaş olasılığına oranından elde edilen bulaş olasılığı oranı kullanılarak hesaplanabilir. Yine SAR kullanılarak da aşağıdaki formülle aşının birleşik etkisi hesaplanabilir (33).

$$VE \text{ birleşik} = 1 - \frac{SAR11}{SAR00}$$

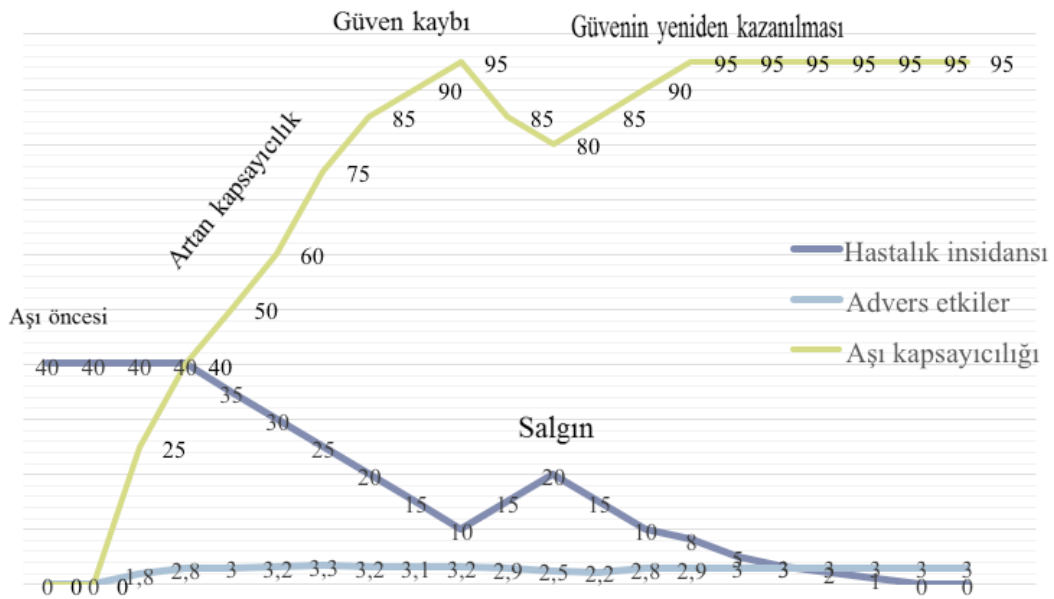
## 7. AŞI KAPSAYICILIĞI

Mevcut hiç bir aşı mükemmel etkinliğe ve etkililiğe sahip olmadığı için, bir toplumdaki aşılama düzeyleri ile bağışıklık düzeyleri aynı değildir. Örneğin bir toplumun %90'ının aşılama düzeyi, o toplumdaki bağışıklıkların oranının da %90 olduğu anlamına gelmez. Eğer bu toplumda aşı etkililiği %90 ise, o zaman toplum  $0,90 \times 0,90 = 0,81$  oranında (%81) bağışık demektir. Aşı kapsayıcılığı toplumdaki aşıların oranıdır. Bu örnekte, aşı kapsayıcılığı %90'dır. Toplumda bağışıklıkların oranının aşı kapsayıcılığından düşük olmasının iki nedeni vardır. Birincisi, primer aşı başarısızlığıdır. Primer aşı başarısızlığı aşı etkililiğinin %100'den düşük olması anlamına gelir. Diğer bir ifade ile aşılarında bağışık yanıt gelişmemesi primer aşı başarısızlığıdır. Diğer neden ise aşı ile gelişen bağışık yanıtın zamanla kaybolması, yani sekonder aşı başarısızlığıdır (6, 40).

Aşı kapsayıcılığı ya doğrudan aşılama düzeylerinin belirlenmesiyle ya da dolaylı olarak araştırmalar, uygulanan aşı dozu bildirimleri veya dağıtılan aşı dozu bildirimlerinden hesaplanabilir. Doğrudan aşılama düzeyinin belirlenmesi için aşı kayıtları kullanılır.

Araştırmalar ise aşı kapsayıcılığının daha verimli tahmini için sıklıkla kullanılmaktadır. Uygulanan aşı dozları ve hedef yaş grubundaki birey sayısı biliniyorsa aşı kapsayıcılığı hesaplanabilir. Dağıtılan aşı dozlarından geri dönen aşı dozları çıkarılarak da aşı kapsayıcılığı tahmin edilebilir. Ancak kapsayıcılık düzeyi arttıkça bu dolaylı tahminlerin doğruluğu ve keskinliğinin azaldığı unutulmamalıdır (6).

Kısmen aşıli toplumlarda aşılamanın erken etkisi ile duyarlıların hızla azalması hastalık insidansında azalmaya neden olur. Bu dönem 'balayı dönemi' olarak bilinir. Toplum kısmen aşıli olduğu için zamanla duyarlılar birikmeye başlar ve buna sekonder aşı başarısızlığı da eklendikçe salgınlar görülür. Bu dönem 'balayı sonrası' olarak bilinir. Şekil 4'te artan aşı kapsayıcılığı ile hızla azalan insidans sonrasında, aşının istenmeyen etkilerinin (advers etkiler) de ortaya çıkışıyla toplumda aşıya karşı güvenin azalması nedeniyle aşı kapsayıcılığının azaldığı ve eş zamanlı hastalık insidansında ani bir artış olduğu ve aşıya karşı güvenin yeniden sağlanmasıyla tekrar aşı kapsayıcılığının arttığı ve hastalık insidansının azaldığı görülmektedir (6).



Şekil 4. Aşılama programlarının evrimi (6)

Tablo 2’de toplam nüfusları aynı olan ve aynı aşığı uygulayan toplum A, B, C ve D’de aşı kapsayıcılığının sırasıyla %20, %60, %90 ve %100 olduğu görülmektedir (6). Aşı kapsayıcılığı arttıkça toplam duyarlıların sayısı azalmaktadır ancak duyarlıların içinde aşıların yüzdesi artmaktadır. Aşı kapsayıcılığı %20 olan toplum A’nın %82 (n=82)’si duyarlıdır ve duyarlıların yalnızca %2,4’ü aşıdır. Aşı kapsayıcılığı %90 olan toplum C’nin ise %19 (n=19)’u duyarlı ve duyarlıların %47’si aşıdır. Bu iki toplumda görülecek bir salgın durumunda aşı kapsayıcılığı değerlendirilmeksizin olguların ne kadarının aşılanmış olduğuna bakılırsa, yanıltıcı bir şekilde toplum C’de aşının daha az etkili olduğu izlenimi edinilebilir. Oysa aşı kapsayıcılığı daha yüksek olan toplum C’de toplam olgu sayısı daha az olacaktır.

Bir toplumda görülen olguların aşılanma durumları ve o toplumdaki aşı kapsayıcılığı bilindiğinde aşı etkililiğini hesaplamamız mümkündür. ‘Tarama yöntemi’ olarak bilinen bu yöntem rutin aşı etkililiği izleminde kullanılan hızlı bir yaklaşımdır. Ancak bu yöntemle elde edilen aşı etkililiği tahmini kesin değildir ve beklenenden düşük düzeyde bir aşı etkililiği tahmin edildiğinde diğer çalışma

tasarımlarıyla doğrulanmalıdır. Bu yöntemle olguların aşılanma oranı ile tüm toplumun aşılanma oranı bilindiğinde; tüm toplum olguların kontrolü gibi kabul edilerek, hesaplanan odds ratio kullanılarak aşı etkililiği hesaplanabilir. Toplumda veya olgularda aşılanma oranı çok düşük veya çok yüksek olduğunda, bu yöntemle yapılan aşı etkililiği tahmininin hatası büyük ve küçük değişikliklerle aşı etkililiğinde büyük değişim görülür. Tarama yöntemiyle aşı etkililiği aşağıdaki formülle de hesaplanabilir (6, 11, 12).

$$VE = 1 - \left[ \frac{\text{aşılı olgu oranı}}{(1 - \text{aşılı olgu oranı}) \times (1 - \text{aşılı toplum oranı})} \right] / \text{aşılı toplum oranı}$$

Bir toplumda 100 olgu görülüyor ve 10 olgunun aşı, 90 olgunun ise aşısız olduğu ve bu toplumda aşı kapsayıcılığının da %50 olduğu biliniyorsa; aşı etkililiği =  $1 - (10/90) \times (50/50) = \%88,8$  olarak bulunur.

## 8. TEMEL ÇOĞALMA SAYISINA DAYALI AŞI ETKİSİ

Temel çoğalma / üreme sayısı (R0), bulaşıcı bir bireyin tamamen duyarlı bir topluma girdiğinde bulaştırıcılık dönemi boyunca üreteceği yeni bulaşıcı bireylerin sayısıdır. Bu, örneğin R0 = 12 olan bir

Tablo 2. Toplumda aşılanma oranı ile duyarlılarda aşılanma oranı arasındaki ilişki (6)

Toplum	A	B	C	D
Toplam nüfus	100	100	100	100
Aşı etkinliği	%90	%90	%90	%90
Aşı kapsayıcılığı	%20	%60	%90	%100
Aşılanların sayısı	20	60	90	100
Aşısızların sayısı	80	40	10	0
Aşı ile korunanların sayısı (%90 x aşıli birey sayısı)	0,9x20=18	0,9x60=54	0,9x90=81	0,9x100=90
Aşıli duyarlıların sayısı (aşılı - aşı ile korunan)	20-18=2	60-54=6	90-81=9	100-90=10
Toplam duyarlıların sayısı	80+2=82	40+6=46	10+9=19	0+10=10
Duyarlılarda aşıli yüzdesi	2/82=%2,4	6/46=%13	9/19=%47	10/10=%100



hastalık için, bulaşıcı bir birey o hastalığa tamamen duyarlı bir topluma girdiğinde 12 bireye hastalığı bulaştıracaktır anlamına gelir. Bu sayı bulaşıcılık düzeyi ve süresi, temas hızı ve bulaş olasılığı bileşenlerinin bir ürünü olarak düşünülebilir. Bu kavram aşılamanın halk sağlığı etkilerini ve etkenin toplumdaki bulaş dinamiklerini anlamak açısından önemlidir (33, 41). Aşılı bireyler daha kısa bulaşıcılık süresine sahiptir ve bulaş olasılığının daha az bir kısmından sorumlu oldukları için, bulaş dinamiğine katkıları aşısızlardan daha azdır. Aşılı bir bireyin  $R_0$ 'a kısmi katkısının aşısız bir bireyin katkısına göre ifadesine naif duyarlı eşdeğer (naive susceptible equivalent) denir (42). Örneğin, bir toplumda herkes aşılysa ve duyarlılık üzerine aşı etkililiği 0,50, bulaşıcılık üzerine aşı etkililiği 0,30 ve bulaşıcılık süresindeki azalma 0,60 ise naif duyarlı eşdeğer  $0,50 \times 0,30 \times 0,60 = 0,09$  bulunur. Yani, aşıly toplumdaki  $R_0$  aşısız toplumdaki  $R_0$ 'ın 0,09 katı olacaktır. Bu durumda aşısızlarda  $R_0$ 'ın 10 olduğunu varsayarsak, aşısızlarda  $R_0$   $0,09 \times 10 = 0,9$  olur. Temel çoğalma sayısı oranı rölatif risk ölçütü olarak aşı etkililiği formülüne yerleştirildiğinde veya aşılylarda aşısızlara göre  $R_0$ 'daki yüzde azalma hesaplandığında aşı etkililiği bulunacaktır (33). Bu örnekte aşı etkililiği  $1 - (0,9 / 10) = \%91$  olarak bulunur. Aşılylardaki  $R_0$ 'ın aşısızlardaki  $R_0$ 'a oranı naif duyarlı eşdeğere eşit olduğu için, aşı etkililiği =  $1 -$  naif duyarlı eşdeğerdir.

Genellikle bir enfeksiyon hastalığı için bir toplumun tamamı duyarlı değildir ve o toplum içinde bağışık bireyler de vardır. Böyle bir toplumdaki bağışık bireylerin bağışık olmalarının nedeni aşılanmış olmaları ise, o zaman toplumdaki bağışık bireylerin oranı aşı kapsayıcılığı ile aşı etkililiğinin çarpımıyla bulunabilir. Böyle bir topluma bulaşıcı bir birey girdiğinde artık  $R_0$  değeri kadar bireye hastalık bulaştırmayacaktır, çünkü temas edeceği bireylerin bir kısmı zaten bağışıktır. Bir bulaşıcı birey belirli bir oranda bağışıkların bulunduğu bir topluma girdiğinde bulaşıcılık süresi boyunca 'duyarlıların oranı  $\times R_0$ ' kadar bireye hastalığı bulaştırır. Bu sayıya 'etkili çoğalma / üreme sayısı' denir ve 'Re' ile gösterilir.

Eğer  $Re = 1$  ise enfeksiyon o toplumda varlığını sürdürür. Çünkü bu durumda her bulaşıcı birey 1 bireye hastalığı bulaştıracak ve böylelikle hastalık endemik bir şekilde salgın olmadan sürecektir.  $Re < 1$  ise o toplumda hastalığın azalması ve zamanla yok olması beklenir (eliminasyon fazı).  $Re > 1$  olduğunda ise bir bulaşıcı birey o topluma girdiğinde birden fazla bulaşıcı birey üreteceği için salgın beklenmelidir. Bu nedenle, bir toplumda o hastalığın giderek azalması ve salgın görülmemesi için  $Re < 1$  olması istenir (43). Aşılamanın temel hedefi budur.  $Re < 1$  olmasını sağlamak için toplumun ne oranda bağışık olması gerektiği ve dolayısıyla aşı kapsayıcılığının ne olması gerektiği bu sayıya göre belirlenebilir. Bir toplumda  $Re < 1$  olması için gereken toplumdaki bağışıkların oranı 'toplumsal bağışıklık eşiği'ni belirler (44). Örneğin kızamık için  $R_0 = 18$  ise, duyarlıların oranı  $\times 18 (= Re) < 1$  olmalıdır. Buradan duyarlıların oranı  $< 1/18 = 0,055$  olması gerektiği bulunur. O halde bağışıkların oranı  $1 - 0,055 = 0,945$ , yani %94,5 olmalıdır. Bu durumda kızamık için toplumsal bağışıklık eşiği %94,5'tir ve eğer bu toplumda %94,5 bağışıklık oranı elde edilemezse salgın beklenmelidir. Buradan yola çıkarak tamamen duyarlı bir toplumda kızamık için bireylerin ne oranda aşılanması gerektiğini, diğer bir ifade ile bu toplumda aşı kapsayıcılığının ne olması gerektiğini hesaplayalım. Aşı etkililiğinin %95 olduğunu kabul edersek,  $VC \times 0,95 > 0,945$  olmalıdır. Buradan aşı kapsayıcılığının  $> 0,945/0,95 > \%99,4$  olması gerektiği bulunur. O halde bu toplumda kızamık salgınlarını önlemek için en az %99,4 oranında aşılama yapılmalıdır.

## 9. AŞILAMA İÇİN GEREKLİ SAYI

Aşılama için gerekli sayı (number needed to vaccinate), aşılama programlarının olası yararı değerlendirilirken kullanılan basit özet bir sayıdır ve 'NNV' ile gösterilir. Bir sonucun önlenmesi için aşılanması gereken kişi sayısını tanımlar. Örneğin, plasebo kontrollü bir girişimsel çalışmada ilgili sonuç kızamıkçık gelişimi olduğunda, bu sayı 30 ise,

bir kızamıkçık gelişimini önlemek için 30 kişinin aşılması gerektiğini göstermektedir. Bu kavram aşı etkililiği ve hastalık insidansını birleştirmektedir. Genel olarak aşısızlardaki insidansın aşı etkililiği ile çarpımının resiprokali alınarak hesaplanır. Bu aynı zamanda bağıl risk azalmasının da resiprokaline eşittir, çünkü aşı etkililiği rölatif risk azalmasını ölçer. Aşağıdaki formüllerle aşılama için gerekli sayı hesaplanabilir.

$$NNV = 1 / (\text{insidans aşısız} \times VE)$$

$$NNV = 1 / (\text{insidans aşısız} - \text{insidans aşı})$$

Aşıllarda ve aşısızlarda insidans sırasıyla 0,02 ve 0,04 olduğunda, aşı etkililiği  $1 - (0,02/0,04) = \%50$  olarak bulunur. Aşılama için gerekli sayı  $= 1 / (0,04 \times 0,50) = 50$ 'dir. Bu sayı özellikle aşıların maliyet etkililiğinin değerlendirilmesinde giderek daha çok kullanılmaktadır (45).

## SONUÇ

İdeal olarak bir aşından beklenen en önemli özelliklerden biri aşının ilgili hastalıktan bireyleri ve toplumu tamamen korumasıdır. Ancak mevcut hiçbir aşının koruyuculuğu bu beklentiyi karşılayacak düzeyde değildir. Aşılamının koruyucu etkisi "aşı etkinliği, aşı etkililiği, aşı ve aşı programının farklı etkileri, halk sağlığı etkileri, koşullu ölçütlere dayalı etkiler, bulaşıcılık üzerine etkiler, temel çoğalma sayısı ve aşılama için gerekli sayı" gibi çeşitli epidemiyolojik ölçütlerle belirlenir. Aşılamının bireysel ve toplumsal düzeyde yararının bu epidemiyolojik ölçütler kullanılarak belirlenmesi ve yorumlanması halk sağlığı politikalarında önemli rol oynar.

## KAYNAKLAR

1. Plotkin SL, Plotkin SA. A short history of vaccination. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, eds. Vaccines Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 5th ed. 2008:1-16.
2. Fenner F, Henderson DA, Arita I, Jezek Z, Ladnyi ID. Smallpox and its eradication. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1988.
3. Anonymous. World development report 1993: investing in health. World Bank. New York: Oxford University Press, 1993: 72-107.
4. Mitchell VS, Philipose NM, Sanford JP, eds. The children's vaccine initiative: achieving the vision. Washington DC: National Academy Press, 1993.
5. Linehan DC, Goedegebuure PS, Eberlein TJ. Vaccine therapy for cancer. Ann Surg Oncol, 1996; 3(2): 219-28.
6. Chen RT, Orenstein WA. Epidemiological methods in immunization programs. Epidemiol Rev, 1996; 18(2): 99-117.
7. Fine PE. Herd immunity: history, theory, practice. Epidemiol Rev, 1993; 15: 265-302.
8. Anonymous. International Task Force for Disease Eradication. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1990; 39 (13): 209-12, 217-18.
9. Weinberg GA, Szilagyi PG. Vaccine epidemiology: efficacy, effectiveness, and the translational research roadmap. J Infect Dis, 2010; 201(11): 1607-10.
10. Begg N, Miller E. Role of epidemiology in vaccine policy. Vaccine, 1990; 8(3): 180-9.
11. Torvaldsen S, McIntyre PB. Observational methods in epidemiologic assessment of vaccine effectiveness. Commun Dis Intell Q Rep, 2002; 26(3): 451-7.
12. Hanquet G, Valenciano M, Simondon F, Moren A. Vaccine effects and impact of vaccination programmes in post-licensure studies. Vaccine, 2013; 31(48): 5634-42.

13. Qu C, Chen T, Fan C, Zhan Q, Wang Y, Lu J, et al. Efficacy of neonatal HBV vaccination on liver cancer and other liver diseases over 30-year follow-up of the Qidong hepatitis B intervention study: a cluster randomized controlled trial. *PLoS Med*, 2014; 11(12): e1001774.
14. Peto TJ, Mendy ME, Lowe Y, Webb EL, Whittle HC, Hall AJ. Efficacy and effectiveness of infant vaccination against chronic hepatitis B in the Gambia Hepatitis Intervention Study (1986-90) and in the nationwide immunisation program. *BMC Infect Dis*, 2014; 14: 7.
15. Hemming K, Haines TP, Chilton PJ, Girling AJ, Lilford RJ. The stepped wedge cluster randomised trial: rationale, design, analysis, and reporting. *BMJ*, 2015; 350: h391.
16. Fritzell B, Plotkin S. Efficacy and safety of a *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide-tetanus protein conjugate vaccine. *J Pediatr*, 1992; 121 (3): 355-62.
17. Mortimer EA Jr, Kimura M, Cherry JD, Kuno-Sakai H, Stout MG, Dekker CL, et al. Protective efficacy of the Takeda acellular pertussis vaccine combined with diphtheria and tetanus toxoids following household exposure of Japanese children. *Am J Dis Child*, 1990; 144(8): 899-904.
18. Cochi SL, Broome CV, Hightower AW. Immunization of US children with *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide vaccine: a cost-effectiveness model of strategy assessment. *JAMA*, 1985; 253(4): 521-9.
19. Lieu TA, Cochi SL, Black SB, Halloran ME, Shinefield HR, Holmes SJ, et al. Cost-effectiveness of a routine varicella vaccination program for US children. *JAMA*, 1994; 271(5): 375-81.
20. Simpson CR, Lone NI, Kavanagh K, Ritchie LD, Robertson C, Sheikh A, et al. Trivalent inactivated seasonal influenza vaccine effectiveness for the prevention of laboratory-confirmed influenza in a Scottish population 2000 to 2009. *Euro Surveill*, 2015; 20(8).
21. De Serres G, Pilishvili T, Link-Gelles R, Reingold A, Gershman K, Petit S, et al. Use of surveillance data to estimate the effectiveness of the 7-valent conjugate pneumococcal vaccine in children less than 5 years of age over a 9 year period. *Vaccine*, 2012; 30(27): 4067-72.
22. Puig-Barberà J, Díez-Domingo J, Arnedo-Pena A, Ruiz-García M, Pérez-Vilar S, Micó-Esparza JL, et al. Effectiveness of the 2010-2011 seasonal influenza vaccine in preventing confirmed influenza hospitalizations in adults: a case-case comparison, case-control study. *Vaccine*, 2012; 30(39): 5714-20.
23. Cohen AL, Taylor T Jr, Farley MM, Schaffner W, Leshner LJ, Gershman KA, et al. An assessment of the screening method to evaluate vaccine effectiveness: the case of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine in the United States. *PLoS One*, 2012; 7(8): e41785.
24. Seward JF, Zhang JX, Maupin TJ, Mascola L, Jumaan AO. Contagiousness of varicella in vaccinated cases: a household contact study. *JAMA*, 2004; 292(6): 704-8.
25. Savage RD, Winter AL, Rosella LC, Olsha R, Gubbay JB, Skowronski DM, et al. Strengths and limitations of assessing influenza vaccine effectiveness using routinely collected, passive surveillance data in Ontario, Canada, 2007 to 2012: balancing efficiency versus quality. *Euro Surveill*, 2015; 20(16).
26. Martínez-Baz I, Navascués A, Pozo F, Chamorro J, Albeniz E, Casado I, et al. Influenza vaccine effectiveness in preventing inpatient and outpatient cases in a season dominated by vaccine-matched influenza B virus. *Hum Vaccin Immunother*, 2015; 11(7): 1626-33.
27. Woolpert T, Phillips CJ, Seveck C, Crum-Cianflone NF, Blair PJ, Faix D. Health-related behaviors and effectiveness of trivalent inactivated versus live attenuated influenza vaccine in preventing influenza-like illness among young adults. *PLoS One*, 2014; 9(7): e102154.
28. Hak E, Wei F, Grobbee DE, Nichol KL. A nested case-control study of influenza vaccination was a cost-effective alternative to a full cohort analysis. *J Clin Epidemiol*, 2004; 57(9): 875-80.
29. Castilla J, Beristain X, Martínez-Artola V, Navascués A, García Cenoz M, Alvarez N, et al. Effectiveness of rotavirus vaccines in preventing cases and hospitalizations due to rotavirus gastroenteritis in Navarre, Spain. *Vaccine*, 2012; 30(3): 539-43.
30. De Serres G, Pilishvili T, Link-Gelles R, Reingold A, Gershman K, Petit S et al. Use of surveillance data to estimate the effectiveness of the 7-valent conjugate pneumococcal vaccine in children less than 5 years of age over a 9 year period. *Vaccine*, 2012; 30(27): 4067-72.
31. Greenland S, Robins JM. Conceptual problems in the definition and interpretation of attributable fractions. *Am J Epidemiol* 1988; 128(6): 1185-97.
32. dos Santos Silva I. *Cancer epidemiology: principles and methods*. International Agency for Research on Cancer. Geneva: World Health Organization, 1999.

33. Halloran ME, Struchiner CJ, Longini IM Jr. Study designs for evaluating different efficacy and effectiveness aspects of vaccines. *Am J Epidemiol*, 1997; 146(10): 789-803.
34. Orenstein WA, Bernier RH, Dondero TJ, Hinman AR, Marks JS, Bart KJ, et al. Field evaluation of vaccine efficacy. *Bull World Health Organ*, 1985; 63(6): 1055-68.
35. Orenstein WA, Bemier RH, Hinman AR. Assessing vaccine efficacy in the field: further observations. *Epidemiol Rev*, 1988; 10: 212-41.
36. Fine PE, Clarkson JA, Miller E. The efficacy of pertussisvaccines under conditions of household exposure: further analysis of the 1978-80 PHLS/ERL study in 21 area health authorities in England. *Int J Epidemiol*, 1988; 17(3): 635-42.
37. Kendrick P, Eldering G. A study in active immunization against pertussis. *Am J Hyg Sect B*, 1939; 38: 133.
38. Rhodes PH, Halloran ME, Longini IM Jr. Counting process models for differentiating exposure to infection and susceptibility. *J R Stat Sec B*, 1996; 58: 751-62.
39. Halloran ME, Longini IM Jr, Haber M, Struchiner CJ, Brunet RC. Exposure efficacy and change in contact rates in evaluating prophylactic HIV vaccines in the field. *Stat Med*, 1994; 13(4): 357-77.
40. Michalik DE, Steinberg SP, Larussa PS, Edwards KM, Wright PF, Arvin AM, et al. Primary vaccine failure after 1 dose of varicella vaccine in healthy children. *J Infect Dis*, 2008; 197(7): 944-9.
41. Anderson RM, May RM. *Infectious diseases of humans: dynamics and control*. New York: Oxford University Press, 1991.
42. Halloran ME, Cochi SL, Lieu TA, Wharton M, Fehrs L. Theoretical epidemiologic and morbidity effects of routine varicella immunization of preschool children in the United States. *Am J Epidemiol* 1994; 140(2): 81-104.
43. Farrington CP, Whitaker HJ. Estimation of effective reproduction numbers for infectious diseases using serological survey data. *Biostatistics*, 2003; 4(4): 621-32.
44. Fefferman NH, Naumova EN. Dangers of vaccine refusal near the herd immunity threshold: a modelling study. *Lancet Infect Dis*, 2015 May 14; pii: S1473-3099(15): 00053-5.
45. Hashim A, Dang V, Bolotin S, Crowcroft NS. How and why researchers use the number needed to vaccinate to inform decision making - a systematic review. *Vaccine*, 2015; 33(6): 753-8.

# İnsan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturan enterokokal biyofilm yapısının doğası

## The nature of enterococcal biofilm structure, a risk factor for human and animal health

Maryam DIANI<sup>1</sup>, Mohammad Nima ARIAFAR<sup>1</sup>, Nefise AKÇELİK<sup>1</sup>

### ÖZET

Enterokoklar, genellikle normal bağırsak komensali olarak değerlendirilseler de aynı zamanda fırsatçı patojenlerdir ve sığır mastitisinin yanı sıra nozokomiyal kan dolaşımı, ameliyat bölgesi ve üriner sistem enfeksiyonu etkenleri arasında yer alan ilk üç bakteriden biridir. Enterokok türleri içerisinde *Enterococcus faecalis* insan ve hayvanlardaki enterokokal enfeksiyonların %80-90'ından sorumludur. Geriye kalan *Enterococcus* spp. enfeksiyonlardan sorumlu olan tür ise *Enterococcus faecium*'dur. Biyofilm yapısı; bir ya da daha fazla mikroorganizma türünün karbonhidrat bir matris ile bir arada tutulduğu, besinlerin taşınması ve atıkların uzaklaştırılması amacı ile su kanalları ihtiva eden yüksek organizasyonlu yapıdır. Biyofilm yapısı, ekzopolisakkarit ve protein film tabakası ile içerisinde bulunan mikroorganizmalar için bir kalkan görevi görür ve bu yapıdaki bakterileri öldürmek, planktonik formdaki bakterilere kıyasla çok daha zordur. Biyofilm yapısındaki bakterilerin fagositoz, antikor ve antibiyotiklere karşı 1000 kata kadar daha dirençli oldukları bilinmektedir. Enterokoklar; jelatinaz, agregasyon maddeleri, kapsül yapısı ve enterokokal yüzey proteini gibi biyofilm yapısına katılan çeşitli virülans faktörleri sayesinde insanları ve evcil hayvanları enfekte ederler. Ayrıca, tedavide kullanılan vankomisin gibi antimikrobiyal maddelere karşı daha dirençli olduklarından eradikasyonları oldukça zordur.

### ABSTRACT

Enterococci, generally considered as normal bowel commensals, are also recognized as opportunistic pathogens and one of the top three bacteria which are the causes of bovine mastitis, nosocomial bloodstream, surgical site, and urinary tract infections as well. *Enterococcus faecalis* is the most common enterococci species, and it is responsible for 80-90% of human and animal enterococcal infections. *Enterococcus faecium* accounts for the remainder of infections caused by *Enterococcus* spp. Biofilms are highly organized structures formed by one or more microorganism species bound together by a carbohydrate matrix that contain water channels to deliver nutrients and removes wastes. Biofilm structure works as a shield with its exopolysaccharide and protein film layer and often harder to kill them than their planktonic counterparts. Biofilm bacteria are up to 1000 times more resistant to phagocytosis, antibodies and antibiotics. Enterococci can infect humans and domestic animals because of their many virulence factors associated with biofilm formation including gelatinase, aggregation substance, capsule formation, enterococcal surface protein. Furthermore, since they are also resistant against antibiotics such as vancomycin that used at treatment, it is really difficult to eradicate. Many strains of enterococci are resistant to one or more antibiotics and biofilms are thought to

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Nefise AKÇELİK

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 312 222 58 20-2505 E-posta / E-mail : nefiseakkoc@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 16.03.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 26.05.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.48802

Diáni M, Ariafar MN, Akçelik N. İnsan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturan enterokokal biyofilm yapısının doğası. Türk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 71-80.

Enterokok türlerinin çoğu en az bir antibiyotiğe karşı dirençlidir ve biyofilm yapısının bu dirence katkıda bulunduğu düşünülmüktür. Tüm dünyada oldukça önemli düzeyde enfeksiyona neden olan bu organizmanın eradikasyonunda daha etkin başarının eldesi için, biyofilm yapısının aşamalarının ve moleküler mekanizmalarının anlaşılması ve bu yapı esas alınarak yeni ilaç dozlarının ve tedavi yollarının belirlenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Enterococcus*, biyofilm, risk, virülans, antibiyotik

contribute to this resistance. In all over the world, to achieve better results at eradication of this organism; structure and molecular mechanism of biofilm need to be understood for determination of new drug dosages and new treatment strategies to eradicate biofilm.

**Key Words:** *Enterococcus*, biofilm, risk, virulence, antibiotic

## GİRİŞ

*Enterococcus* cinsi; *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. solitarius*, *E. pseudoavium*, *E. flavescens*, *E. sulfurens*, *E. dispar*, *E. solitarius* ve *E. saccharolyticus* türlerini içermektedir. Enterokoklar, insan ve hayvanların bağırsak sistemlerinde ve çeşitli süt ürünlerinde hakim floranın bir bölümünü oluştururlar. Enterokoklar, genel olarak laktik asit bakterileri içerisinde yer alan bir bakteri grubu olup Gram (+), katalaz (-), oksidaz (-), fakültatif anaerobik, spor oluşturmayan, hareketsiz, homofermantatif, diplokok ya da zincir görünümündeki bakterilerdir (1).

Enterokoklar; ağız florasında, insan ve hayvanların genital sisteminde ve bağırsak florasında doğal olarak bulunan fırsatçı patojenlerdir. Ayrıca üriner sistem, dolaşım sistemi, karın içi ve pelvik sistemler ve merkezi sinir sistemini enfekte etme özelliklerinin yanı sıra oluşturdukları biyofilm yapıları nedeniyle kalıcı hale gelmekte ve nozokomiyal (hastane orijinli) enfeksiyonlara neden olmaktadır (2, 3).

Biyofilm, canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polisakkarit bir matriks içine gömülü halde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluktur. Değişik mikrobiyal türlerin, kendilerini

çevresel etkenlerden korumak ve besin kaynağını daha verimli kullanmak için oluşturdukları bir mikro-ekosistemdir (4, 5).

Biyofilmler; kateterler, eklem ve kalp protezleri gibi tıbbi araçları veya kistik fibrozis gibi bazı hastalıklarda solunum yollarını kolonize edebilirler. Biyofilmin büyük bir bölümünü oluşturan ekzopolisakkaritler (EPS), savunmada önemli rol oynayan moleküllerdir. Ekzopolisakkaritler, bulunduğu bakteriyi enflamatuvar hücrelerin fagositozundan ve antibiyotik etkisinden korurlar. Bir biyofilmin yapısı %90 oranında su olmak üzere %2-5 mikroorganizma, %1-2 polisakkarit, %1-2 protein, %1-2 DNA ve iyonlardan oluşmaktadır. Sistemin yapısına, mikroorganizmanın türüne ve çevresel faktörlere bağlı olarak olgun bir biyofilmin oluşması birkaç saat ile birkaç hafta arasında zaman alır (5).

## ENTEROKOKLARDA PATOJENİTE VE VİRÜLANS

Enterokoklar, düşük virülanslı mikroorganizmalar olmalarına rağmen toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli etkenlerdir. Enterokoklar doğada; toprak, su, bitki, kuşlar böcekler ve memelilerde yaygın olarak bulunurlar. İnsanlarda, esas olarak gastrointestinal florada

bulunmaları nedeni ile gerek hastane gerekse hastane dışı ortamda endojen kaynaklı enfeksiyonlara yol açmaktadırlar. *E. faecalis* diğer enterokok türlerine göre dışkıda daha yüksek oranda bulunur. *E. faecalis* en yaygın bilinen tür olmakla birlikte, insan enterokokal enfeksiyonlarının %80-90'ından sorumlu olduğu belirtilmiştir (6). *E. faecium* ise geriye kalan enterokok cinsi enfeksiyonlarından sorumlu tutulan türdür (6, 7).

Bazı *E. faecalis* ve *E. faecium* suşları tarafından üretilen sitolizin, insan ve hayvan eritrositleri için hemolizin aktivitesi gösterir. *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin ürettiği agregasyon maddesi, kalp kapakları ve renal hücrelere bağlanmasını kolaylaştırdığı belirlenmiştir. Ayrıca üriner sistem, dolaşım sistemi, karın içi, pelvik sistemler ve merkezi sinir sistemini enfekte etme özelliği olan yaygın nozokomiyal ajanları oldukları da bilinmektedir (8).

#### VİRÜLANS FAKTÖRLER

Genel olarak enterokoklar; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* gibi mikroorganizmalar kadar intrinsik virülansa sahip değildir. Orofarinkste kolonize olmalarına rağmen nadiren alt solunum yolu enfeksiyonlarına yol açarlar. Klasik bir virülans faktörü olmamasına rağmen enterokokların çok sayıda antimikrobiyal ajana dirençli olması, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alan hastalarda yaşamalarına ve çoğalmalarına imkan tanıyarak süper enfeksiyonlara yol açması ve özellikle glikopeptide dirençli suşların hastanede yayılması açısından bu suşlar üzerinde yapılan çalışmalara önem verilmiştir (9).

Enterokokların virülansında, genomda bulunan patojenite adaları ve plazmidlerde kodlanan virülans genleri rol oynar. Bu bakterilerin başlıca virülans faktörleri arasında; agregasyon faktörü (AF), enterokok yüzey proteini (ESP), hiyaluronidaz (HYL), hemolizin ve jelatinaz yer almaktadır (7, 10). Çalışmalar sonucunda enterokokal bakteriyemilerde %42-68 oranında mortalite bildirilmekle birlikte bu hastaların ileri derecede düşkün olması ve çoğunda

polimikrobiyal bakteriyemi bulunması nedeniyle, enterokokların mortalitedeki rolleri tam olarak tespit edilememektedir. Diğer çalışmalarda da enterokokların mortalitedeki rolleri %31-37 oranında saptanmıştır (11).

#### BİYOFİLM

Biyofilm; biyolojik bir oluşumdur ve değişime uğramış, yüzeye ya da birbirine tutunarak, matriks ya da hücre dışı polimerik madde (EPS) içine gömülmüş olan planktonik hücrelerden; çoğalma, genetik yapı ve protein sentezi açısından tamamen değişik yapıda olan mikroorganizmalardan oluşmaktadır (4). Biyofilm; üç boyutlu, EPS ile çevrelenmiş, su kanalları ve çok katlı bakteri tabakaları içeren bir yapıdır. EPS, kimyasal ve fiziksel olarak değişkenlik gösterir. EPS'nin ana bileşeni polisakkarittir ve yüksek seviyede su içermekle birlikte yapısında hidrofobik ya da hidrofilik kısımlar bulunmaktadır (12).

EPS yapısında polisakkaridin yanısıra nükleik asit ve protein de bulunmaktadır. Bakteriler, bu matriksin içerisinde gömülü olarak bulunurlar. Fosil kayıtlarından elde edilen bilgiler üç milyar yıldan daha uzun bir süreden beri mikroorganizmaların biyofilm içerisinde yaşadıklarını ortaya çıkarmıştır (13). Biyofilmler, biyotik veya abiyotik yüzeylerde oluşabilirler. Bu yüzeyler arasında canlı dokular, medikal implantlar, endüstriyel veya içme suyu sistemlerinin boruları veya doğal akuatik sistemler yer alır. Bakteriler bir yüzeye tutunup biyofilm oluşturduktan sonra o yüzeyden hafif durulama ile uzaklaştırılmazlar. Biyofilimde konakçı ve çevreden kaynaklanan partiküller de bulunmaktadır. Biyofilm; su sistemlerinde, paslanmaz çelik borulardaki demiri indirgeyerek korozyon sebep olmakta ve borularda yeni tutunma yüzeyleri oluşmaktadır (14).

Biyofilm matrikslerinin içerisinde hücresel olmayan mineral kristalleri, korozyon partikülleri, kil veya çamur parçaları ya da kan bileşenleri bulunabilir. Biyofilimde bulunan bakterilerin sentezlediği polisakkaritler biyofilmin ana ekstraselüler komponentini oluşturur.

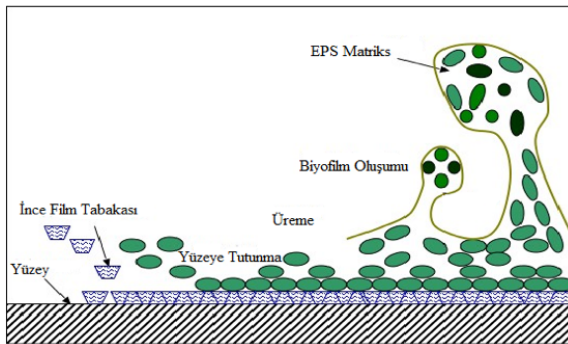
Bu matriksin içerisinde yaşayan organizmalara bağlı olarak biyofilm matriksi farklı özellikler gösterebilir. Gram negatif bakterilerin nötral veya polianyonik biyofilmler ve Gram pozitif bakterilerin katyonik matriksler oluşturduğu bilinmektedir (4).

Biyofilm, sadece yüzeye yapışmış durumda bulunan ve içerisinde mikroorganizmaların bulunduğu homojen bir tabakadan ibaret değildir. Yapılan çalışmalar sonucunda bakterilerin belirli bir yapıya sahip, koordinasyon yeteneği bulunan fonksiyonel topluluklar oluşturduğu ortaya konmuştur (15). Biyofilmler, matriksleri içerisinde yaşamlarını sürdüren hücrelere besin maddelerinin ve oksijenin taşınmasına sağlayan su kanalları bulundurmaktadır ve çok tabakalı heterojen bir yapıya sahiptirler (16). Olgun biyofilm yapılar; %15 hücre, %85 matriks materyali tarafından oluşturulduğu ve hücrelerin, matrikslerinin çevrelediği farklı yüksekliklerdeki kuleler içerisinde buldukları anlaşılmıştır (17).

### BİYOFİLM GELİŞİMİNİN AŞAMALARI

Biyofilm oluşumunu esas itibari ile dört ana evre altında incelemek mümkündür (18). Bu aşamalar sırasıyla (Şekil 1) (19);

1) **İnce tabakanın oluşumu:** Doğal ortamda mikroorganizmaların doğrudan bir yüzeye bağlı olmadıkları ve uygun yüzeyin üzerinde oluşan ince film tabakasına bağlandıkları bilinmektedir.



Şekil 1. Biyofilm oluşum aşamaları (19).

2) **Tutunma (mikroorganizmaların uygun yüzeye geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olarak tutunması):** Biyofilm oluşumunun bu aşamasında bakteri hücreleri yüzeye tam olarak temas kurmamaktadır. Tutunmanın ilk aşaması olan geri dönüşümlü tutunmada bakteri hücresi ile yüzey arasında zayıf etkileşimler olarak bilinen elektrostatik güçler, hidrofobik etkileşimler ve Van der Waals güçleri meydana gelmektedir. Bir önceki aşamada da bahsedildiği gibi yüzeye ilk temasın gerçekleşmesinde hidrofobik etkileşimlerin payı çok büyüktür (20 - 22). Bu fazda olan bakteriler yüzeyin yakınındadır, ancak henüz yüzeye temas etmiş değildir. Mikroorganizmalar geri dönüşümlü tutunma aşamasında, yüzeyde yaşamak için yeterli besin maddesinin olup olmadığını araştırırlar. Bu aşamadan sonra geri dönüşümsüz tutunma aşamasına geçilir.

3) **Büyüme ve yüzey kolonizasyonu, mikrokoloni ve biyofilm oluşumu (fenotipik ve genotipik değişiklikler):** Biyofilm oluşumunun bu evresinde tutunan bakteri gelişmeye başlar ve bir müddet sonra bölünür. Ayrıca bu aşamada EPS yapıda, diğer planktonik hücrelerin yakalanması da sağlanır. Bu aşamada ilk bakteri hücresi, tutunduğu yüzeyde koloni oluşturmaya başladıktan sonra aynı yüzeyde başka bakteriler de koloni oluşturmaya başlarlar. Böylece polimer matriksinde kapsül oluşturmuş mikroorganizmalarda da artış görülür. EPS senteziyle beraber, bakteriler oluşan EPS'nin içinde gömülü bir vaziyetle yaşamaya devam ederler. Bu durum bakterileri çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli kılar.

4) **Biyofilm hücrelerinin kopması:** Biyofilm içindeki bir bakterinin farklı bölgelerde kolonize olabilmesi için birtakım dağılıma mekanizmalarına ihtiyaç vardır. Biyofilm gelişiminin kopma veya ayrılma evresinde tek bir bakteri veya bakteri kümeleri biyofilm tabakasından koparak ortama yayılır. Bu ayrılma işlemi dış kuvvetlerin etkisiyle olabileceği gibi, biyofilm oluşum basamağının bir parçası olarak



tek bir hücrenin veya çoklu hücrelerin kopmasının bir sonucu da olabilir (23).

### MİKROORGANİZMALAR NEDEN BİYOFİLM YAPISI OLUŞTURURLAR?

Bakteriler in vitro ve in vivo ortamlarda biyofilm oluşturarak bir dizi avantaja sahip olurlar. Biyofilm yapısındaki bakteriler, planktonik bakterilere kıyasla antibiyotik, dezenfektan ve ısıya karşı daha dirençlidirler (24). Çevrenin zararlı etkilerinden korunmak, besin elde etme, yeni genetik özelliklerin kazanılması gibi faktörler mikroorganizmaların biyofilm yapıları oluşturma nedenleri arasında ön plana çıkmaktadır.

- **Çevrenin zararlı etkilerinden korunmak;** Farklı biyofilm topluluklarında ekzopolisakkarit matriksin çeşitli roller oynadıkları belirlenmiştir. EPS matriksi bir iyon değiştiricisi gibi davranarak çeşitli ajanların biyofilm içerisine girişlerini engeller, aynı zamanda UV ışığına, pH değişiklikleri, osmotik şok ve kuruma gibi çevresel streslerin zararlı etkilerinden korumada rol oynar. Doğal ve endüstriyel çevrelerde büyüyen biyofilmlerin; bakteriyofaj, amipler ve çeşitli kimyasal biyositlere karşı duyarlı oldukları bilinmektedir. Tıbbi alanda ise, hareketsiz bakteriyel hücreler konak savunma mekanizmalarına karşı koyabilmekte ve planktonik bakterilere göre, antibiyotiklere daha fazla dirençli olabilmektedirler. Biyofilm bakterilerinin, planktonik yaşayan aynı türdeki bakteriler oranla antibiyotik tedavisine 100 kat daha dirençli olabildiği bildirilmiştir (14). Ayrıca bakterilerin çevresindeki polisakkarit matriks (EPS), savunma sistemin hücrelerin ve makrofajları bakterilere ulaşmasını engeller (25).

- **Besin elde etme;** Biyofilm içerisinde su kanalları bulunmaktadır ve bu kanallar mikrokolonileri çevrelemekle birlikte yüksek geçirgenliğe sahiptirler ve primitif bir dolaşım sistemi gibidir. Bu sistem hem besinlerin biyofilm içerisinde eşit bir şekilde dağıtılması, hem de potansiyel olarak toksik metabolitlerin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır.

EPS, çevreden besin maddelerini (C - N - PO<sub>4</sub> gibi) bakterilerin kullanımını için konsantre eder (26).

- **Yeni genetik özelliklerin kazanılması;** Horizontal gen transferi doğal mikrobiyal toplulukların evrimi ve genetik çeşitliliği için çok önemlidir. Bu durum özellikle bakterilerin çoklu ilaç direnci kazanmasına imkan sağlar. Ayrıca biyofilm içerisindeki bakterilerin konjugasyonun kolaylıkla yapılabilmesine imkan tanır (4, 15).

Biyofilm oluşumu tesadüfi bir olay değildir. Bir araya gelen farklı türdeki bakteriler belirli bir ortak amaç taşırlar (14). Biyofilm yapısına örnek olarak sığır bağırsaklarındaki biyofilm yapısını göstermiştir. Bu biyofilimde bağırsaktaki selülozu sindirebilmek için en az beş farklı türde bakteri bulunmaktadır. Bakteriler, bu selülozun yıkımı için biyofilm içinde işbirliği halinde görev alırlar. Biyofilm ve selüloz arasındaki bölgede, selülozu glikoza dönüştüren *Fibrobacter succinogenes* bulunur. Bunun arkasında glikoza butirata dönüştüren *Butyrivibrio* spp. görev alır. Daha sonra bu bakterinin yanında bulunduğu ve başka bir türe ait olan bakteriler tarafından butirat, asetata çevrilir ve sonuçta asetate özelleşmiş metanojen bakteriler tarafından metana dönüştürülür. Bir koloni için artık maddesi olan, diğer koloni için besin olarak kullanılmaktadır. Bu bakteriyel işbirliğinin başka hedefleri de vardır. Metanojen bakteriler için oksijen toksik maddesidir. Bu nedenle biyofilm içerisinde bulunan metanojen bakterilerin oksijenden korunmaları gerekir. Metanojen koloninin etrafında bulunan beşinci bir bakteri türü bu korumayı sağlar. Bu tür hücresel etkileşimlerin tesadüf olarak ortaya çıktığı düşünmek oldukça güçtür (14).

### ENTEROKOKLARIN BİYOFİLM OLUŞUMUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Enterokokal enfeksiyonlar, antibiyotik direnci ve lateral gen transfer özellikleri açısından ciddi klinik tehditler oluşturmaktadır (27 - 29). Enterokoklar tarafından biyofilm oluşumuna katılan mekanizmalar ve faktörler halen kesin olarak aydınlatılamamakla birlikte, pek çok araştırmacının ilgisini çekmektedir (30).

*E. faecalis*'in de dahil olduğu Gram pozitif bakterilerde, karbonhidrat metabolizması biyofilm oluşumunu regüle edebilir (31, 32). Yapılan bir çalışmada, %1 oranında glikoz içeren Triptik Soy Broth (TSB) besi ortamında gelişen *E. faecalis*'in biyofilm oluşturma oranının, glikoz içermeyen aynı besi ortamında gelişmesine kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (33). Diğer bir çalışmada ise, besi ortamındaki glikoz konsantrasyonunun %0'dan %0,2'ye yükseltilmesinin *E. faecalis*'in biyofilm oluşturma özelliğinde düşmeye neden olduğu belirlenmiştir (34). Yine aynı çalışmada, glikoz konsantrasyonunun %0,2'den, %0,5'e yükseltilmesi ile daha yüksek oranda biyofilm oluşumu saptanmıştır. Ayrıca *E. faecalis* OG1RF' in biyofilm oluşturmadaki artış, %1 oranında glikoz içeren TSB ile glikoz içermeyen TSB'de geliştirilen bakteri örneklerinde de görülmüştür (31). 61 adet *E. faecium* klinik örnekler üzerinde yapılan bir diğer çalışmada, glikoz konsantrasyonu %0,25'ten %1'e yükselirken suşların biyofilm üretim miktarlarında artış gözlemlenmiştir. Glikoz konsantrasyonu %1,25 çıktığında, suşların biyofilm üretim miktarlarında azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada, suşların optimum biyofilm üretiminin %1 glikoz içeren ortamda 48 saat inkübasyon sonucunda gerçekleştiği rapor edilmiştir (35).

Yüksek glikoz konsantrasyonlarında enterokokal yüzey proteininin (Esp) biyofilm oluşumuna katıldığı bilinmektedir (36). Esp-pozitif olan iki farklı bakteri örneği; FA2-2 (pESPF) ve OG1RF (pESPF), bu gen bakımından negatif olan kontrolleri ile kıyaslandıklarında belirgin olarak daha yüksek oranda ve daha kalın biyofilm yapıları oluşturmuştur. Yine aynı çalışmada; gelişme ortamına  $\geq$ %0,5 oranında glikoz ilavesi *E. faecalis* E99'un biyofilm oluşumunu önemli ölçüde arttırmıştır (37).

Ozmotik basınçta meydana gelen değişiklikler *E. faecalis*'in biyofilm oluşturma özelliği üzerinde etki gösteren bir diğer faktördür. Gelişme ortamının yüksek ozmolariteye (%2-3 sodyum klorür) maruz

bırakılması sonucunda; *E. faecalis*'in gelişmesinde bir değişimin meydana gelmediği, ancak biyofilm oluşumunun olumsuz yönde etkilendiği belirlenmiş, dolayısı ile *E. faecalis*'in çevresel değişimleri izleyerek özel koşullar altında biyofilm oluşumunu düzenlediği yorumu yapılmıştır (34).

Enterokoklarda fsm lokusu (kodlama mikrobiyal dahil olarak bilinen yapışkan matriks bileşenleri yüzey molekülü tanıyan MSCRAMM benzeri proteinler) ve esp geni (bir yüzey proteini kodlar) biyofilm oluşumundan sorumlu kolonizasyon veya virülans özellikleri olarak görev alırlar (38, 39).

#### ENTEROKOKLARDA PİLİ'NİN BİYOFİLM OLUŞUMUNDAKİ ROLÜ

Esp, Ace, Fsr ve proteaz biyofilmin oluşumunda rol alırlar. Yüzeye yapışık olan ve ekstraselüler matriksin içine gömülü olan bakteri toplulukları yavaş üreme oranına, yüksek antibiyotik direncine ve yüksek yatay gen transfer özelliğine sahiptir (40). Enterokoklar pili yardımıyla konakçının dokularına bağlanabilirler. Bu doğrultuda konakçı hücrelerine sıkıca tutunması için bazı yüzey proteinleri (AS, Esp ve Ace) kullanılmaktadır (41, 42).

#### ENTEROKOKLARDA GELE'NİN BİYOFİLM OLUŞUMUNDAKİ ROLÜ

*E. faecalis* jelatinazı (GelE), jelatin, kollajen ve kazein hidrolize edebilen bir ekstraselüler çinko metaloproteazdır. Jelatinaz ve serin proteaz (SprE) fsr lokusu tarafından kodlanan ve quorum-sensing sistemi tarafından regüle edilen gelE-sprE operonunda kodlanmaktadır (43). Peritonit (karın zarı iltihabı), endokardit (44), endoftalmit (gözün iç dokularının iltihabı) (45) ve in vitro translokasyon modellerinde kuvvetli bir şekilde virülansda etkisi olan jelatinazın, biyofilm oluşumunda da yüksek etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (34, 46 - 48).

## ENTEROKOKLARDA FSR'NİN BİYOFİLM OLUŞUMUNDAKİ ROLÜ

Fsr lokusu, stafilkoklarda bulunan agr lokusuyla homologdur. *E. faecalis* regülatörü için fsrA, fsrB ve fsrC olarak tanımlanan üç geni içerir. fsrC'nin alt sentez yönünde, jelatinaz (metalloproteaz) için kodlayan gelE ve serin proteaz için kodlayan sprE olan iki ORF'dir (49). Bu lokus, virülansın ve metabolizmanın global regülatörüdür (50). Ayrıca bu bölge, *E. faecalis*'de jelatinaz ve serin proteazın ifadesi için bir pozitif regülatör olmasının yanı sıra fsrB ve fsrC genlerinin ifadesi için bir oto regülatördür (49).

*E. faecalis*'in diğer genleri olan epa, atn (51), bop (52), salA ve salB (53) biyofilm oluşumunda etkili oldukları gösterilmiştir. Birçok patojende biyofilm üretimi, quorum-sensing sistemi tarafından düzenlendiği görülmüştür. Bu kapsamda, *E. faecalis*'in biyofilm oluşumunda fsr'nin belirgin bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (31, 46, 47, 51).

## SONUÇ

Hem insan ve hem de hayvanlarda dünya genelinde oldukça önemli enfeksiyonlara neden olduğu bilinen enterokoklar, biyotik ve abiyotik yüzeylerde biyofilm yapısı oluşturmak suretiyle kararlı hale gelmekte, fiziksel ve kimyasal muamelelere karşı biyofilm yapısı içerisinde planktonik hücrele kıyasla daha yüksek düzeyde direnç sergilemektedir. Günümüzde özellikle antibiyotik tedavilerinde, ilaç dozları belirlenirken biyofilm yapıları göz ardı edilerek, planktonik formlara göre düzenlemeler gerçekleştirilmektedir. Bu sebeple çoğu hastalığın tedavisinde, etken tamamen ortadan kaldırılamamakta ve hastalık devam etmektedir. İşte bu sorunların ortadan kaldırılması ya da azaltılması için biyofilm yapısının doğasının ve moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ve yapısının her yönüyle anlaşılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Murcia JA, Collins MD. *Enterococcus sulfureus*, a new yellow-pigmented *Enterococcus* species. *FEMS Microbiol Lett*, 1991; 64: 69-74.
2. Murray BE, Weinstock GM. *Enterococci: new aspects of an old organism*. *Proc Assoc Am Physicians*, 1999; 111: 328-334.
3. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2002; 1: 510-5.
4. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*, 2002; 8: 881-90.
5. Olson ME, Ceri H, Douglas W. Biyofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res*, 2002; 66: 86-92.
6. Ira P, Sujatha S, Chandra PS. Virulence factors in clinical and commensal isolates of *Enterococcus* species. *Indian J Pathol Microbiol*, 2013; 56: 24-30.
7. Jones M E, Draghi DC, Thornsberry C, Karlowsky JA, Sahm DF, Wenzel RP. Emerging resistance among bacterial pathogens in the intensive care unit - a European and North American Surveillance study 2000-2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2004; 3: 14.
8. Moellering RC. Jr: *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed, Philadelphia: Churchill Livingstone, 1999: 2411-241.
9. Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A. Enterococcal infections & antimicrobial resistance. *Indian J Med Res*, 2008; 128: 111-21.

10. Seno Y, Kariyama R, Mitsuata R, Monden K, Kumon H. Clinical implications of biofilm formation by *Enterococcus faecalis* in the urinary tract. *Acta Med Okayama*, 2005; 59: 79-87.
11. Edmond MB, Ober JF, Dawson JD. Vancomycin-resistant enterococcal bacteremia: Natural history and attributable mortality. *Clin Infect*, 1996; 23: 1234.
12. Sutherland IW. Biofilm exopolysaccharites: A strong and sticky framework. *Microbiol*, 2001; 147: 3-9.
13. Post JC, Stoodley P, Hall-Stoodley L, Ehrlich GD. The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004; 12: 185-90.
14. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infection. *Science*, 1999; 284: 1318-22.
15. Davey ME, O'toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000; 64: 847-67.
16. Bothwell MR, Smith AL, Phillips T. Recalcitrant otorrhea due to *Pseudomonas* biofilm. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2003; 129: 599-60.
17. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, 2002; 15: 167-93.
18. Palmer R Jr, White DC. Developmental biology of biofilms: implications for treatment and control. *Trends Microbiol*, 1997; 5: 435-40.
19. [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Biofilm\\_Biofilm\\_Formation:Formation.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Biofilm_Biofilm_Formation:Formation.jpg) (Erişim tarihi: Nisan 2015)
20. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappinscott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*, 1995; 49: 711-45.
21. Poulsen LV. Microbial biofilm in food processing. *Lebensm Wiss u Techn*, 1999; 32: 321-6.
22. Rosenberg M, Perry A, Bayer EA, Gutnick DL, Rosenberg E, Ofek I. Adherence of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 to human epithelial cells and to hexadecane. *Infect Immun*, 1981; 33: 29-33.
23. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 1994; 284: 1318-22.
24. Kreft JU, Wimpenny JWT. Effect of EPS on biofilm structure and function as revealed by an individual-based model of biofilm growth. *Water Sci Technol*, 2001; 43: 135-41.
25. Hoiby N. New antimicrobials in the management of cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother*, 2002; 49: 235-8.
26. Fisher K, Phillips, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiol*, 2009; 155: 1749-57.
27. Noble WC, Virani Z, Cree RG. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *Fems Microbiol Lett*, 1992; 72: 195-198.
28. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. *N Engl J Med*, 2003; 348: 1342-1347.
29. Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilms. *Trens Microbiol*, 2005; 13: 34-40.
30. Carniol K, Gilmore MS. Signal transduction, quorum-sensing, and extracellular protease activity in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *J Bacteriol*, 2004; 186: 8161-3.
31. Pillai SK, Sakoulas G, Eliopoulos GM, Moellering RC Jr, Murray BE, Inouye RT. Effects of glucose on *fsr*-mediated biofilm formation in *Enterococcus faecalis*. *J Infect Dis*, 2004; 190: 967-970.
32. Marinho AR, Martins PD, Ditmer EM, d'Azevedo PA, Frazzon J, Van Der Sand ST, et al. Biofilm formation on polystyrene under different temperatures by antibiotic resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from food. *Braz J Microbiol*, 2013; 44: 423-6.
33. Baldassarri L, Bertuccini L, Ammendolia MG, Arciola CR, Montanaro L. Effect of iron limitation on slime production by *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2001; 20: 343-5.

34. Kristich CJ, Li YH, Cvitkovitch DG, Dunny GM. Espindependent biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *J Bacteriol*, 2004; 186: 154-63.
35. Diani M, Gunay Esiyok O, Ariafar MN, Yuksel FN, Gunes Altuntas E, Akcelik N. The interactions between *esp*, *fsr*, *gelE* genes and biofilm formation and *pfge* analysis of clinical *Enterococcus faecium* strains. *Afr J Microbiol Res*, 2014; 8(2): 129-37.
36. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Gilmore MS, Shankar N. Enterococcal surface protein, *Esp*, enhances biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun*, 2004; 72: 6032-9.
37. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Putative surface proteins encoded within a novel transferable locus confer a high-biofilm phenotype to *Enterococcus faecalis*. *J Bacteriol*, 2006; 188: 2063-72.
38. Arias CA, Panesso D, Singh KV, Rice LB, Murray BE. Cotransfer of antibiotic resistance genes and a *hylEfm*-containing virulence plasmid in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009; 53: 4240-6.
39. Willems RJ, van Schaik W. Transition of *Enterococcus faecium* from commensal organism to nosocomial pathogen. *Future Microbiol*, 2009; 4: 1125-35.
40. Mohamed JA, Huang DB. Biofilm formation by enterococci. *J Med Microbiol*, 2007; 56: 1581-8.
41. Budzik JM, Schneewind O. Pili prove pertinent to Enterococcal endocarditis. *Invest*, 2006; 116: 2582-4.
42. Nallapareddy SR, Singh KV, Sillanpää J, Garsin DA, Höök M, Erlandsen SL, et al. Endocarditis and biofilm-associated pili of *Enterococcus faecalis*. *J Clin Invest*, 2006; 116: 2799-807.
43. Qin X, Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. Characterization of *fsr*, a regulator controlling expression of gelatinase and serine protease in *Enterococcus faecalis* OG1RF. *J Bacteriol*, 2001; 183: 3372-82.
44. Singh KV, Qin X, Weinstock GM, Murray BE. Generation and testing of mutants of *Enterococcus faecalis* in a mouse peritonitis model. *J Infect Dis*, 1998; 178: 1416-20.
45. Engelbert M, Mylonakis E, Ausubel FM, Calderwood SB, Gilmore MS. Contribution of gelatinase, serine protease, and *fsr* to the pathogenesis of *Enterococcus faecalis* endophthalmitis. *Infect Immun*, 2004; 72: 3628-33.
46. Mohamed JA, Singh KV, Huang W, Teng F, Murray BE. Influence of clinical origin and of various genes on biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. In Program Abstracts of the 43rd Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, American Society for Microbiology, abstract B-821, p. 52, Washington, DC, 2003.
47. Hancock LE, Perego M. The *Enterococcus faecalis* *fsr* two-component system controls biofilm development through production of gelatinase. *J Bacteriol*, 2004; 186: 5629-39.
48. Baldassarri L, Creti R, Recchia S, Pataracchia M, Alfarone G, Orefici G, et al. Virulence factors in enterococcal infections of orthopedic devices. *Int J Artif Organs*, 2006; 29: 402-6.
49. Qin X, Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. Effects of *Enterococcus faecalis* *fsr* genes on production of gelatinase and a serine protease and virulence. *Infect Immun*, 2000; 68: 2579-86.
50. Dunman PM, Murphy E, Haney S. Transcription profiling-based identification of *Staphylococcus aureus* genes regulated by the *agr* and/or *sarA* loci. *J Bacteriol*, 2001; 183: 7341-53.
51. Mohamed JA, Huang W, Nallapareddy SR, Teng F, Murray BE. Influence of origin of isolates, especially endocarditis isolates, and various genes on biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun*, 2004; 72: 3658-63.

52. Hufnagel M, Koch S, Creti R, Baldassarri L, Huebner J. A putative sugar-binding transcriptional regulator in a novel gene locus in *Enterococcus faecalis* contributes to production of biofilm and prolonged bacteremia in mice. J Infect Dis, 2004; 189: 420-30.

53. Mohamed JA, Teng F, Nallapareddy SR, Murray BE. Pleiotrophic effects of 2 *Enterococcus faecalis* sagA-like genes, salA and salB, which encode proteins that are antigenic during human infection, on biofilm formation and binding to collagen type I and fibronectin. J Infect Dis, 2006; 193: 231-40.

## Polikistik over sendromu ve moleküler yaklaşımlar

### Polycystic ovary syndrome and molecular approaches

Alp AYDOS<sup>1</sup>, Yasemin ÖZTEMUR<sup>1</sup>, Bala GÜR-DEDEOĞLU<sup>1</sup>

#### ÖZET

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağındaki kadınları etkileyen bir endokrin hastalıdır. Sendrom polikistik over morfolojisi, kronik yumurtlama bozukluğu ve androjen hormonların artışıyla karakterizedir ve başta infertilite olmak üzere insülin direnci ve tip 2 diyabet gibi hastalıklarla da doğrudan ilişkilidir. PKOS'un görülme sıklığı kullanılan tanı kriterlerine göre değişiklik göstermektedir. ESHRE / ASRM (İnsan Üremesi ve Embriyolojisi Avrupa Topluluğu / Amerika Üreme Tıbbi Derneği) kriterlerine göre her 100 kadından yaklaşık 15-20'sine PKOS teşhisi konmaktadır. Tip 1-2 diyabet hastası yetişkin kadınlar PKOS açısından risk altındadırlar. PKOS hastası kadınların %50-70'inde insülin direnci ve bu duruma bağlı olarak gelişebilen hipertansiyon, dislipidemi, glikoz intoleransı, diyabet gibi hastalıklar gelişmektedir. Kılınma (hirsutism) ve adet döngüsü düzensizlikleri de yine PKOS ile birlikte görülebilmektedir. Yapılan çalışmalarda, PKOS'un kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi hastalıklarla ilişkisi de gösterilmiştir. Yine mental düzensizliklerin de (depresyon, kaygı bozukluğu, bipolar bozukluk ve tıkanırçasına yeme bozukluğu) PKOS hastası kadınlarda daha sık görüldüğü tespit edilmiştir. PKOS'ta hormonal duruma ve hasta profiline göre değişen klomifen sitrat-metformin terapisi, üremeye yardımcı tedaviler, laparoskopik ovaryum cerrahisi veya dışarıdan gonadotropin verilmesi gibi tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Polikistik over sendromu metabolik, endokrinolojik, psikiyatrik ve kardiyovasküler etkileri ile kompleks bir hastalıktır. Etkileri hastaların hayatı boyunca sürebilmekte ve

#### ABSTRACT

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an endocrine disorder, which affects women at reproductive age. Syndrome is characterized by hyperandrogenism, polycystic ovarian morphology and ovulatory dysfunction. PCOS is associated with reproductive and metabolic abnormalities including infertility, insulin resistance and type 2 diabetes. Prevalence of PCOS changes by the used diagnostic criteria for PCOS. According to ESHRE / ASRM (European Society of Human Reproduction and Embryology / American Society for Reproductive Medicine) criteria PCOS is diagnosed at nearly 15%-20% of women. Adult women, who have type 1-2 diabetes, are under high risk of PCOS. 50%-70% of PCOS patients have insulin resistance. Diseases like hypertension, dyslipidemia, glucose intolerance, diabetes are highly associated with insulin resistance and PCOS. In addition, hirsutism and menstrual irregularities could occur with PCOS. Studies show that there is a relation between PCOS and cardiovascular diseases and cancer as well. Studies identified that mental disorders (depression, anxiety, bipolar disorder and binge eating disorder) are frequently seen at PCOS patients. The treatment strategies applied to PCOS patients vary according to the hormonal status and profile of the patient. Clomiphene citrate-metformin therapy, fertility treatments, laparoscopic ovarian surgery or gonadotrophin hormone therapy are the most frequent therapies used for treatment of PCOS. PCOS is a complex disorder, which includes metabolic, endocrinologic, psychiatric and cardiovascular effects. These effects could be lifetime long and

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Bala GÜR-DEDEOĞLU  
Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, ANKARA

Tel : +90 312 222 58 26-124

E-posta / E-mail : gurbala@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 14.10.2014  
Kabul Tarihi / Accepted : 09.02.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.09327

Aydos A, Öztumur Y, Gür-Dedeoğlu B. Polikistik over sendromu ve moleküler yaklaşımlar. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 81-8.

yaşam kalitesini düşürebilmektedir. Bu nedenle daha etkili tanı ve tedavi yöntemleri geliştirilmesi hastada görülebilecek diyabet, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi hastanın yaşam süresini kısaltabilecek durumlardan korunmak için önemlidir. PKOS'un etiyojisi açık olmamakla birlikte; genetik temele dayanan ailesel geçişlere ait bağlantılar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar PKOS hastası kadınlarda birçok moleküler sinyal yolağına ait genlerin (Wnt sinyal yolağı gibi) ifadesinin değişerek yumurtalıkta fonksiyonel bozuklukların oluştuğunu göstermiştir. Bu nedenle, PKOS'un moleküler temelini aydınlatılması ve bu yollarda hangi genlerin etkilendiğinin bulunması, PKOS'un mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve tanı-tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Polikistik over sendromu, obezite, hirsütizm, moleküler biyoloji

could decrease quality of life. Thus developing more effective diagnosis and treatment approaches is important for protecting patients from diabetes, cancer and cardiovascular diseases. The etiology of PCOS is still unclear however the investigation of familial distinction of PCOS is stable with a genetic basis for this disorder. It was shown in the literature that the differential expression of some genes may be the cause of ovarian dysfunction by affecting the pathways responsible for ovarian development like Wnt signaling pathway. Revealing the molecular mechanisms of PCOS and discovering genes, which are associated with PCOS are important for developing new diagnosis and treatment methods.

**Key Words:** Polycystic ovary syndrome, obesity, hirsutism, molecular biology

## GİRİŞ

Poli (çok sayıda) kistik (kist içeren) over (yumurtalık dokusu) kelime anlamı olarak çok sayıda kist içeren yumurtalık dokusu anlamına gelmektedir ancak polikistik over durumu ile polikistik over sendromu (PKOS) birbirinden farklı kavramlardır. Polikistik over durumu kadının ultrasonografik yumurtalık incelemesinde, 2-8 mm çapında çok sayıda küçük yumurta kesesinin (kistin) olmasıdır. Polikistik over sendromu ise androjenlerin artışı, ovulasyon bozukluğu ve ovaryumlardaki kistik yapıları içeren heterojen bir düzensizliği ifade eder (1). PKOS üreme çağındaki kadınların %4-8'ini etkileyen bir endokrin hastalıktır (2). PKOS hastası kadınların %40'ı yumurtlama bozukluğuna bağlı olarak infertildir (3).

### PKOS'UN NEDENLERİ VE GENETİK TEMELLERİ

PKOS'ta genetik geçişe dair bulgular gittikçe artmaktadır. Birçok çalışma otozomal olarak taşınan dominant bir durumu ifade etmektedir (4). PKOS bulunan ailelerde insülin direnci durumu çok daha sık görülmektedir ve bu durumdan erkekler de etkilenmektedir. PKOS'lu kadınların ailelerinde

B-hücresinin az çalışmasının genetik geçişli olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. PKOS gelişimi ile ilgili olduğu düşünülen genler sitokrom P450c-17 $\alpha$  enzimini kodlayan CYP17A (sitokrom P450, aile 17, altaile A) geni, P450 yan zincir kırılma enzimini kodlayan CYP11A (sitokrom P450, aile 11, altaile A) geni ve insülin genidir. PKOS bulunan kadınların annelerinde dislipidemi, yüksek androjen ve insülin direncinin serum markerleri saptanmıştır. TNF-R (tümör nekroz faktör reseptörü) ve PPAR (peroksizom proliferatör aktivite edilen reseptör gama) genlerindeki polimorfizmler PKOS ile ilişkilendirilmektedirler. Bunlara ek olarak yapılan mikrodizin çalışmalarında PKOS'lu teka hücreleri ile normal teka hücreleri kıyaslandığında aldehit dehidrogenaz 6, retinol dehidrogenaz 2 ve transkripsiyon faktörü GATA6 (GATA bağlayıcı protein 6) genlerinin ifadelerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (5).

### PKOS'UN TANISI

Günümüzde PKOS tanısı koyarken, 2003 yılında Rotterdam'da ESHRE/ASRM konferansında



kararlaştırılan tanı kriterleri veya 2006 yılında AE-PCOS (Androjen Fazlalığı ve Polistik Over Sendromu Topluluğu) konferansında kararlaştırılan kriterler kullanılmaktadır.

Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH)'nün 1990, kriterlerine göre PKOS teşhisi için aşağıdaki parametrelerin hepsinin saptanması gerektiği bildirilmektedir (6).

- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm
- Yumurtlama düzensizliği (oligo-ovulation) (oligo/amenorrhea)
- PKOS'un neden olabileceği diğer herhangi bir durum

ESHRE/ASRM (Rotterdam), 2004 kriterlerine göre PKOS teşhisi için aşağıdaki parametrelerin iki tanesinin saptanması yeterlidir (7).

- Yumurtlama düzensizliği (oligo-ovulation veya anovulation)
- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm
- Polikistik over morfolojisi

AE-PCOS Topluluğu, 2008 kriterlerine göre teşhis için aşağıdaki parametreler yeterli olmaktadır (8).

- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm
- Yumurtlama düzensizliği ve/veya polikistik over morfolojisi

## PKOS'TAN KAYNAKLANAN HORMONAL VE METABOLİK SORUNLAR

### PKOS'ta İnfertilite ve Hormonal Sorunlar

Bir oosit hücresi, mikroçevresinin regülasyonunda aktif olarak yer alarak, gelişiminin en iyi şekilde gerçekleşmesi için kendine uygun ortam sağlamaya çalışmaktadır. Ancak oosit hücresi sınırlı sayıda faktör üretebildiği için oosit hücresinin granüloza ve teka hücreleri gibi somatik hücrelerle interaksyonu ve iletişimi folikül gelişiminde bir bütün olarak değerlendirilmelidir. Granüloza hücreleri folikülün içinde oositi çevreleyen somatik hücrelerdir ve sayıları kandaki gonadotropinlerin (FSH ve LH) artması ile artar ve testosteron hormonuna tepki olarak da azalır. Folikül uyarıcı hormon (FSH) granüloza

hücrelerini uyararak hücre yüzeyinde luteinize edici hormon (LH) reseptörlerini ifade etmesini sağlar. LH bu reseptörlere bağlandığında proliferasyon durur. Granüloza hücrelerinin asıl fonksiyonlarından biri de steroit yapıdaki hormonları ve oosit hücresinin gelişiminde rol alan pek çok büyüme hormonunu üretmektir. Menstrual döngünün foliküler fazında FSH'ın etkisiyle granüloza hücreleri androjenleri estradiole (bir çeşit östrojen) çevirmektedir. Granüloza hücreleri estradiolün ana kaynağıdır ve yüksek estradiol seviyeleri FSH'ın yükselmesini engelleyerek anovulasyona sebep olur. Ovulasyondan sonra granüloza hücreleri LH'ın etkisiyle lutein hücrelerine dönüşür ve progesteron üretimine başlar. Ancak PKOS'da FSH düşüklüğü nedeniyle ovulasyon gerçekleşemez ve granüloza hücreleri luteinize granüloza hücrelerine dönüşemediğinden progesteron üretimi gerçekleşmez. Bu mekanizmanın herhangi bir aşamasındaki yavaşlama ya da duraksama folikülün büyüüp çatlaması gerekirken yumurtalıklarda çatlamadan milimetrik kistler halinde kalmasına sebep olmaktadır. Bu olayların aylık olarak tekrarlaması halinde her iki ovaryumda milimetrik kistlerin sayısı artmaktadır (9). Bu durum PKO morfolojisi olarak adlandırılmaktadır.

### PKOS'TA İNSÜLİN DİRENCİ, OBEZİTE VE HİRSUTİZM

İnsülin hormonu pankreas tarafından salgılanır ve kandaki glikoz düzeyini, glikozun kas ve karaciğer hücrelerine geçişini indükleyerek düzenler. PKOS hastalarında kas ve karaciğer dokuları insüline olan duyarlılıklarını kaybedebilirler. Bu durumun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte kandaki insülin seviyesi glikoz düzeyini dengelemek için artar. İnsülin artışı yumurtalıklarda androjen (testosteron) üretimine ve karaciğerde SHBG (seks hormonu bağlayıcı globulin) üretiminin azalmasına yol açar. SHBG hormonundaki bu azalışla birlikte androjenler serbest hale geçer. Androjenlerdeki bu artış da hirsutisme ve sivilcelenme sorununa yol açar (10). Aynı zamanda androjenler yağ dokusunda östrojene dönüşür. Kandaki östrojen seviyesi yükselir ve böylece

FSH üretimi baskılanırken LH üretimi indüklenir (11).

PKOS hastalarında sık araştırılan konulardan biri obezitedir. PKOS hastalarında obezite arttıkça ovulasyon sorunu artmaktadır. Ovulasyon sorunundaki artışla birlikte ise kilo vermek güçleşmektedir. Obezitenin ne zaman ve nasıl başladığı ve neden her PKOS'lu kadında obezite olmadığı yapılan çalışmalarla aydınlığa çıkarılmaya çalışılmaktadır. PKOS'lu kadınlarda obezitenin bir sebebi olarak yağ hücrelerinden salınan leptin hormon seviyesinin yüksek olduğu belirtilmiştir. PKOS'lu kadınlarda obeziteye neden olan başka bir neden ise glikoz intoleransı ve insülin direnci olduğu saptanmıştır. PKOS'lu obez kadınlarda hirsutizm ve anovulasyon daha sık görülmektedir. Tüyenme görülme sıklığı PKOS'lu ve normal kilolu kadınlarda %56-58, PKOS'lu ve obez kadınlarda %70-73 olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda; sadece ultrasonografi ile PKOS tanısı konulmuş normal kilolu kadınlara göre obez olan PKOS'lu kadınlarda kısırlık oranı %40 daha fazla bulunmuştur. PKOS'lu obez kadınların %88'inde düzenli adet döngüsü olmamaktadır ve adet düzensizliği görülmektedir. PKOS'ta oluşan insülin direnci sonrası kilo artışı problemi oluşmaktadır (Şekil 1) (12). Obezite tek başına PKOS'un sebebi olmasa da kısır döngüye katkıda bulunmaktadır. PKOS hastası obez kadınlarda kilo kaybıyla birlikte büyük oranda insülin düzeyinin düzeldiği ve buna

bağlı olarak da androjen seviyesinin düşmesine bağlı olarak ovulasyonun gerçekleştiği gözlemlenmiştir (12 - 14).

## PKOS'UN UZUN DÖNEM ETKİLERİ

### PKOS ve Tip 2 Diyabet

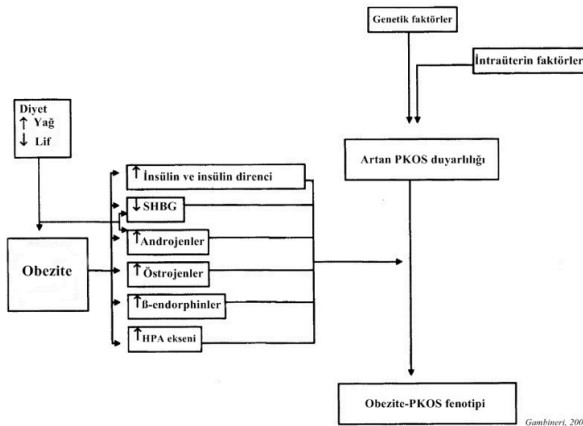
Tip 2 diyabet PKOS'ta olduğu gibi hücrelerin insüline karşı duyarsızlığı sonucu oluşmaktadır. İnsülinin görevini yerine getirememesinden dolayı kanda glikoz miktarı hızla artmaktadır. Artan glikoz vücuttaki bütün hücreler için zararlıdır. Yüksek glikoz düzeyi bir süre sonra pankreastaki B hücrelerini de etkiler ve oluşan zararlar insülin işini yapamaz hale gelir. Bu nedenle PKOS hastası kadınlarda risk çok yüksektir ve %35-40'ında tip 2 diyabet görülmektedir (11).

### PKOS ve Kardiyovasküler Hastalıklar

PKOS'lu kadınlarda artmış insülin direnci kan yağlarının yükselmesine sebep olmaktadır. Kanda trigliserit ve düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) oranında artış, yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) oranında azalış olmaktadır. PKOS hastası kadınlarda damarlarda sertleşme (ateroskleroz) riski ortaya çıkmaktadır. Bu durum da kadınlarda felç ve kalp krizi riskini arttırmaktadır. İleri yaşlarda hipertansiyon riski de artmaktadır. Obez kadınlarda risk artarken zayıf kadınlarda da aynı risk bulunmaktadır. Özellikle insülin direnci mekanizması genel olarak kanda pıhtılaşma eğilimi ve damar tıkanıklığı riskini artmaktadır (11, 15).

### PKOS ve Kanser

PKOS'lu kadınlar hem tip 2 diyabet ve hipertansiyon riskleri nedeniyle hem de rahim iç tabakasının dökülmemesi (adet kanaması olmaması), yüksek östrojen düzeyi ve yumurtlama olmamasının sonucu olarak progesteron salgılanmaması nedeniyle kanser riski artmaktadır. PKOS ile meme ve yumurtalık kanseri arasında bağlantı olduğuna



Şekil 1. Obezite ve PKOS arasındaki bağlantının şematik gösterimi (12)

dair çok az çalışma bulunmaktadır (4, 11, 16-18). Obezite, hiperandrojenizm ve inferilite PKOS ile ortaya çıkmakla birlikte meme kanseri ile de ilişkilendirilmektedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda PKOS ile birlikte artış gösteren meme kanseri profili gözlemlenmemiştir (17). PKOS ile ilişkilendirilen durumlardan biri olan uzun süreli yumurtlamanın olmaması durumu endometrium kanseri açısından riski artırmaktadır. Yine PKOS ile birlikte görülebilen obezite, diyabet, hipertansiyon, inferilite gibi durumlar da endometrium kanserinin oluşmasında bilinen faktörlerdir (19).

### PKOS Tedavisi

PKOS tedavisinin amaçları; androjen bağlantılı semptomların etkilerinin azaltılması, adet döngüsü ve buna bağlı düzensizliklerin tedavisi ve inferilite tedavisi şeklinde olmaktadır (1). Her kadında çıkan belirtiler ve şiddeti farklılık göstermektedir. Bu nedenle tedavi yöntemleri her hastaya göre ayrı ayrı belirlenmektedir.

Hastaların %5-10'unda kilo kaybı menstrual döngünün düzelmesini ve glikoz toleransının artmasını sağlamaktadır. İleri yaşlarda gelişebilecek tip 2 diyabet, tromboembolizm ve kardiyovasküler hastalıklar gibi sorunların oluşma olasılığını da azaltmaktadır (20).

PKOS'ta insülin direnci gelişmesi anahtar rol oynamaktadır, bu nedenle tedavi önce insülin direncini düşürmek ardından da hormonal kontrolün sağlanmasıyla mümkün olmaktadır. Yapılan çalışmalar, metformin tedavisinin obeziteden bağımsız olarak kan şekeri düzeyini dengelediğini ve yüksek erkeklik hormonunu düşürdüğünü göstermektedir (21). PKOS olan kadınların büyük çoğunluğunda metformin tedavisinin adet düzensizliğini ve yumurtlama fonksiyonlarını düzenlediği gözlenmiştir. Ancak metforminin klomifen sitrat (CC) (östrojen reseptörü düzenleyici) ile birlikte kullanılması özellikle canlı doğum oranının artışında çok daha iyi sonuçlar vermektedir (22).

PKOS'da erken gebelik kaybı sık görülen bir sorundur. PKOS'lu kadınlarda gebeliklerin %50'ye yakınının ilk üç ayda kendiliğinden düşükle sonuçlandığı tahmin edilmektedir. Genetik faktörler ve insülin yüksekliği "düşük" oranını arttırmaktadır. Metformin, CC ve FSH türevi hormon tedavisine yanıt vermeyen hastalarda tüp bebek tedavisine geçilmektedir. Tüp bebek tedavisinde verilen ilaçlarla yumurtalar dışarda (IVM; in vitro maturasyon) veya yumurtalık içinde geliştirilir ve spermle mikroenjeksiyon yöntemi ile birleştirilir (IVF; in vitro fertilizasyon). Döllenen yumurtalar embriyo haline geldikten sonra içlerinden en iyi bölünen ve kaliteli embriyo seçilerek transfer edilir (14).

### POLİKİSTİK OVER SENDROMUNA MOLEKÜLER YAKLAŞIMLAR

Folikül içindeki oosit, olgunlaşma aşamasının her evresinde çevresindeki somatik hücrelerle (granüloza, teka, kumulus) etkileşim halindedir. Oositin kendisinin ve çevresindeki hücrelerin salgıladığı hormonlar ve diğer bileşikler hem hormonal sistemi hem de oosit mikroçevresini pozitif ve/veya negatif geri bildirim mekanizmaları ile kontrol altında tutmaktadır. Bu karmaşık sistemde rol alan proteinleri kodlayan genlerin ifade düzeylerinin araştırılması bu nedenle çok önemlidir. Aynı zamanda bu proteinler ve bu proteinlerle etkileşimde olan diğer yollardaki ifade profilleri ve polimorfizmler bu döngüyü etkilemekte ve bu döngüdeki en ufak bir aksaklığın veya yavaşlamanın inferiliteye sebep olan hastalıklara neden olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle moleküler yöntemler kullanılarak (eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu -RT PZR, mikrodizin, yeni nesil dizileme) SNP'lerin (tek nükleotit polimorfizmleri), mutasyonların, gen ifade düzeylerinin (mRNA) ve gen ifadesinde rol oynayan mikroRNA'ların ifade düzeylerinin belirlenmesi ve hangi değişimin bu hastalığa neden olduğunun tespit edilmesi çok önemlidir.

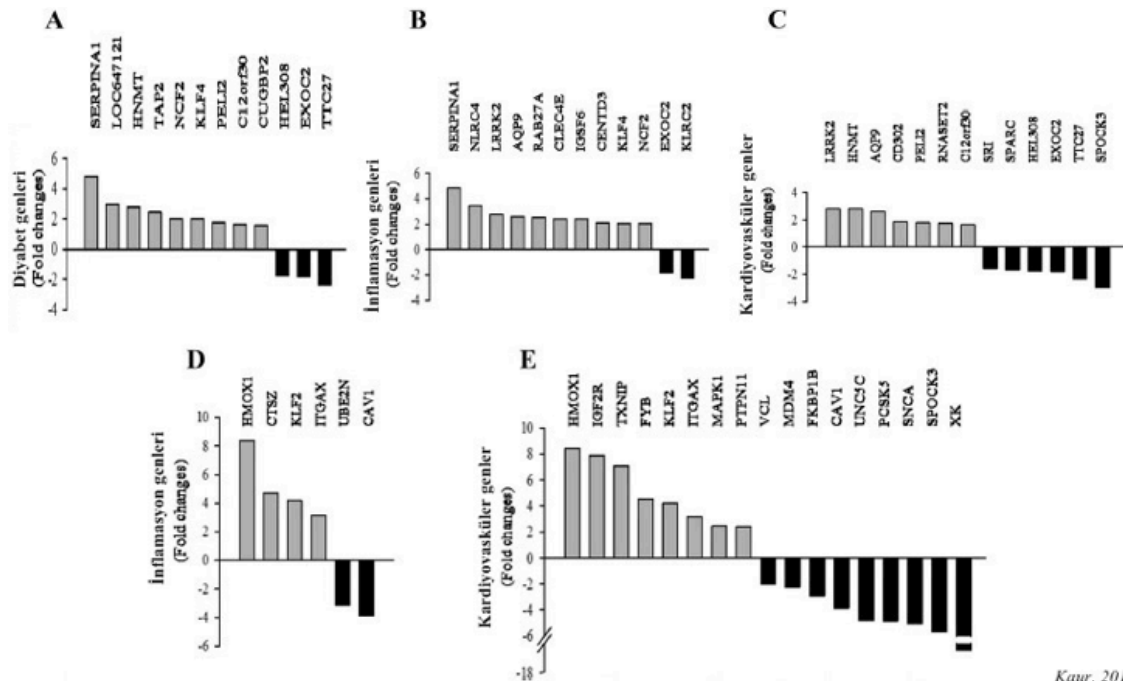
Kobayashi ve ark. (23) tarafından yapılan çalışmada hyaluronan ve proteoglikan bağlayıcı

protein 1 (HAPLN1) geninin ifadesinin zayıf PKOS hastalarında arttığı saptanmıştır. HAPLN1 geni gonadotropinler ile indüklenir ve kumulus büyümesinde önemli rol oynamaktadır.

Yapılan mikrodizin tabanlı gen ifadesi çalışmasında; zayıf ve obez PKOS hastaları arasındaki gen ifade farklılıkları araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, Wnt/ $\beta$ -catenin ve MAPK (mitojen aktiviteli kinaz) sinyal yolağında rol oynayan genlerin ifade düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. Wnt'ler gelişim mekanizmasında rol oynayan ve yerel olarak etki gösteren hücre dışı sinyal molekülleridir ve MAPK sinyal yolağındaki genler ile birlikte farklılaşma, folikül büyümesi ve ovulasyonda rol oynadıkları tespit edilmiştir. Yapılan kıyaslamada, kilolu PKOS hastalarında kilolu kontrollere göre insülin sinyal sisteminde rol alan genlerin ifadelerinin PKOS vakalarında arttığı tespit edilmiştir. INSR (insulin reseptör), IRS1 (insulin reseptör substrat 1) ve FTO (yağ kütlesi ve obezite ile ilişkili) (obezite bağlantılı genler) genlerinin PKOS ile ilişkisi tespit edilmiştir.

Yine aynı kıyaslamada; mitokondri proteinleri, oksidatif fosforilasyon enzimleri ve pürin pirimidin sentez enzimleri gibi hücre enerji sistem sinyallerindeki genlerin ifadesinin azaldığı tespit edilmiştir (24).

2004 yılında J.R. Wood ve ark. (25) tarafından yapılan çalışmada; PKOS hastalarından alınan örneklerden izole edilen teka hücreleriyle mikrodizin çalışması yapılmış ve transkripsiyon faktörü GATA6 geninin ifadesinin arttığı gösterilmiştir. GATA transkripsiyon faktörleri granüloza hücrelerinin gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Yine GATA6 transkripsiyon faktörünün CYP11A ve CYP17 enzimlerinin promotor aktivitelerini arttırdığı bilinmektedir (25). Bu durum GATA6 transkripsiyon faktörünün PKOS teka hücrelerinin biyokimyasal fenotipini etkilediğini desteklemektedir. Artmış GATA6 ve azalmış GATA4 ifadesinin folikül apoptozuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu durum da GATA6 ve GATA4 genlerinin ifadesinin proliferasyon, farklılaşma ve folikül büyümesinde rol oynadığına işaret etmektedir (26).



Kawr, 2012

Şekil 2. Yapılan mikrodizin ve eş-zamanlı PZR çalışmaları sonucunda istatistiksel olarak anlamlı değişim gösteren genler ve ilgili olduğu hastalıklar (28)

Aynı çalışmada retinoik asit biyosentezinde rol alan genlerin ifadelerinin PKOS hastası kadınlardan alınan teka hücrelerinde arttığı tespit edilmiştir. atRA (all trans retinoik asit) erkek ve dişi gonadlarında somatik hücrelerin normal fonksiyonları için esansiyel olan bir lipittir. Yapılan çalışmalar, normal hastalara göre PKOS vakalarının teka hücrelerinde daha fazla atRA dönüşümü olduğunu göstermiştir. atRA sentezinin fazla olması teka hücrelerinde CYP11A1 ve CYP17 gen ifadesinin artmasına neden olmaktadır. atRA aynı zamanda hücre bölünmesi ve farklılaşmasını da düzenlemektedir. Bu nedenle, artmış atRA düzeyinin folikül büyümesini durdurmasıyla da ilişkilendirilmektedir (25, 26).

2002 yılında Chin ve ark. (27) tarafından yapılan çalışmada  $\beta$ -glukoronidaz (lizozomal bir enzim) ifadesindeki artış anormal foliküller oluşması ve düşük fertilitateyle ilişkilendirilmiştir.

Mikrodizin ve eş-zamanlı PZR çalışmaları diabetes mellitus, inflamasyon ve kardiyovasküler hastalıklarla ilgili genlerin PKOS non-IR (insülin dirençsiz) ve

PKOS IR (insülin dirençli) hastalarının granüloza hücreleri arasında anlamlı ifade farklılıkları olduğunu göstermiştir (Şekil 2). Bulunan genlerin oksidatif stress, insülin sinyali ve infertilite alakalı oldukları tespit edilmiştir (28).

## SONUÇ

Kadın üreme sistemi oldukça karmaşık hormonal ve fizyolojik mekanizmalar tarafından kontrol edilen kompleks bir sistemdir. Bu sistemdeki aksamalar birçok metabolik sorunu beraberinde getirmektedir. Polikistik over sendromu; bu nedenle teşhisi birçok kritere dayanan, tedavisi, nedenleri, genetik geçişi, ilgili genlerin rolleri ve gen regülasyonu tam olarak aydınlatılmamış bir hastalıktır. Her geçen gün üretilen yeni verilerin bir araya getirilerek bu hastalıkta rol oynayan daha fazla genin açığa çıkartılması ve bu genlerin birbirleri ile olan karmaşık ilişkilerinin aydınlatılması öngörülmektedir. Bunun sonucu olarak da hastalığın moleküler biyolojisi çözülebilir ve daha etkin ve ucuz tedavi yöntemleri geliştirilebilir.

## KAYNAKLAR

1. Sirmans SM, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol*, 2013; 6: 1-13. doi:10.2147/CLEP.S37559.
2. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89(6): 2745-9. doi:10.1210/jc.2003-032046.
3. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocr Rev*, 2012; 33(6): 981-1030. doi:10.1210/er.2011-1034.
4. Atiomo WU, El-Mahdi E, Hardiman P. Familial associations in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2003; 80(1): 143-145. doi:10.1016/S0015-0282(03)00502-8.
5. Amato P, Simpson JL. The genetics of polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2004; 18(5): 707-18. doi:10.1016/j.bpobgyn.2004.05.002.
6. Huang A, Brennan K, Azziz R. Prevalence of hyperandrogenemia in the polycystic ovary syndrome diagnosed by the National Institutes of Health 1990 criteria. *Fertil Steril*, 2010; 93(6): 1938-41. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.12.138.
7. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2004; 81(1): 19-25. doi:10.1016/j.fertnstert.2003.10.004.
8. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*, 2009; 91(2): 456-88. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.06.035.

9. Goodarzi MO, Azziz R. Diagnosis, epidemiology, and genetics of the polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2006; 20(2): 193-205. doi:10.1016/j.beem.2006.02.005.
10. Trivax B, Azziz R. Diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Clin Obstet Gynecol*, 2007; 50(1): 168-77. doi:10.1097/GRF.0b013e31802f351b.
11. Daniilidis A, Dinas K. Long term health consequences of polycystic ovarian syndrome: a review analysis. *Hippokratia*, 2009; 13(2): 90-2.
12. Gambineri A, Pelusi C, Vicennati V, Pagotto U, Pasquali R. Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2002; 26(7): 883-96. doi:10.1038/sj.ijo.0801994.
13. Setji TL, Brown AJ. Polycystic ovary syndrome: update on diagnosis and treatment. *Am J Med*, 2014; 127(10): 912-9. doi:10.1016/j.amjmed.2014.04.017.
14. Costello MF, Misso ML, Wong J, Hart R, Rombauts L, Melder A, et al. The treatment of infertility in polycystic ovary syndrome: a brief update. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2012; 52(4): 400-3. doi:10.1111/j.1479-828X.2012.01448.x.
15. Wild RA, Carmina E, Diamanti-Kandarakis E, Dokras A, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. Assessment of cardiovascular risk and prevention of cardiovascular disease in women with the polycystic ovary syndrome: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome (AE-PCOS) Society. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010; 95(5): 2038-49. Doi:10.1210/jc.2009-2724.
16. Navaratnarajah R, Pillay OC, Hardiman P. Polycystic ovary syndrome and endometrial cancer. *Semin Reprod Med*, 2008; 26(1): 62-71. doi:10.1055/s-2007-992926.
17. Pierpoint T, McKeigue PM, Isaacs a J, Wild SH, Jacobs HS. Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up. *J Clin Epidemiol*, 1998; 51(7): 581-6.
18. Jakimiuk AJ, Issat T. PCOS and cancer risk. *Folia Histochem Cytobiol*, 2009; 47(5): S101-5. doi:10.2478/v10042-009-0092-1.
19. Barry JA, Azizia MM, Hardiman PJ. Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 2014; 20(5): 748-58. doi:10.1093/humupd/dmu012.
20. McFarland C. Treating polycystic ovary syndrome and infertility. *MCN Am J Matern Child Nurs*, 2012; 37(2): 116-21. doi:10.1097/NMC.0b013e31824239ce.
21. Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane database Syst Rev*, 2012; 5(5): CD003053. doi:10.1002/14651858.CD003053.pub5.
22. Moll E, van der Veen F, van Wely M. The role of metformin in polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Hum Reprod Update*, 2007; 13(6): 527-37. doi:10.1093/humupd/dmm026.
23. Kobayashi H, Sun GW, Hirashima Y, Terao T. Identification of link protein during follicle development and cumulus cell cultures in rats. *Endocrinology*, 1999; 140(8): 3835-42. doi:10.1210/endo.140.8.6917.
24. Kenigsberg S, Bentov Y, Chalifa-Caspi V, Potashnik G, Ofir R, Birk OS. Gene expression microarray profiles of cumulus cells in lean and overweight-obese polycystic ovary syndrome patients. *Mol Hum Reprod*, 2009; 15(2): 89-103. doi:10.1093/molehr/gan082.
25. Wood JR, Ho CKM, Nelson-Degrave VL, McAllister JM, Strauss JF. The molecular signature of polycystic ovary syndrome (PCOS) theca cells defined by gene expression profiling. *J Reprod Immunol*, 2004; 63(1): 51-60. doi:10.1016/j.jri.2004.01.010.
26. Wood JR, Nelson VL, Ho C, Janson E, Wong CY, Urbanek M, et al. The molecular phenotype of polycystic ovary syndrome (PCOS) theca cells and new *Candidate* PCOS genes defined by microarray analysis. *J Biol Chem*, 2003; 278(29): 26380-90. doi:10.1074/jbc.M300688200.
27. Chin K, Seifer DB, Feng B, Lin Y, Shin WC, et al. DNA microarray analysis of the expression profiles of luteinized granulosa cells as a function of a varran reserve. *Fertil Steril*, 2002; 77(6): 1214-8.
28. Kaur S, Archer KJ, Devi MG, Kriplani A, Strauss JF, Singh R. Differential gene expression in granulosa cells from polycystic ovary syndrome patients with and without insulin resistance: identification of susceptibility gene sets through network analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012; 97(10): E2016-21. doi:10.1210/jc.2011-3441.

## Yeniden önem kazanan arboviral enfeksiyon etkeni: Zika virüs

### An re-emerging arboviral infectious agent: Zika virus

Yavuz UYAR<sup>1</sup>

#### ÖZET

Zika virüs (ZIKV), ilk olarak 1947 yılında Uganda'da bir Rhesus maymunundan izole edilen *Flavivirus* cinsine ait bir arbovirüs (artropod kaynaklı virüs)'tür. Bulaş, çoğunlukla *Culicidae* ailesi ve *Aedes* cinsi (çoğunlukla *Aedes aegypti*) sivrisinekler tarafından olmaktadır. İnsan-dışı primatlar ve muhtemelen kemirgenler rezervuar olarak rol oynamaktadır. Semptomlar (ateş, makulopapüler döküntü, eklem ağrısı ve konjoktivit) sivrisinek ısırığı sonrası genellikle üç ila 12 gün sonra kuluçka döneminden sonra görülür. Asemptomatik vakalar sıktır. Son yıllarda, virolojik çalışmalar hastalığın Afrika, Asya ve Pasifik Okyanusya'da tanımlandığını göstermektedir. 2013 yılı sonunda başlayan büyük bir salgında Batı Pasifik adaları etkilenmiştir. 2015 yılında, Brezilya yerel sağlık yetkilileri, ZIKV salgını sırasında aynı anda mikrosefalili doğan bebeklerin sayısında bir artış olduğunu gözlemledi. Ön tanımlar hastaların klinik özellikleri, seyahat yerleri ve tarihleri ile onların aktivitelerine dayanmaktadır. ZIKV laboratuvar tanısı, genellikle serum veya plazmada virüsü, viral nükleik asiti ya da virüs spesifik immünoglobulin M ve nötralize edici antikoları tespit etmek yoluyla gerçekleştirilir. Ne yazık ki, ZIKV enfeksiyonu için belirli bir tedavi veya aşı bulunmamaktadır. Tedavisi semptomatik olarak yapılmaktadır. Enfeksiyona karşı korunma, sivrisinek ısırmasından korunmaya ve sivrisineklerin salgın bölgelerinde eradike edilmesine dayanır.

**Anahtar Kelimeler:** Arbovirüs, Zika virüs, vektör kaynaklı enfeksiyon, sivrisinek, *Aedes*

#### ABSTRACT

Zika virus (ZIKV), is an arbovirus (arthropod borne virus) belonging to the *Flavivirus* genus that was first isolated from a Rhesus monkey in 1947 in Uganda. The transmission is mostly vectorial by mosquitoes of the *Culicidae* family and of the *Aedes* genus (mostly *Aedes aegypti*). Non-human primates and possibly rodents play a role as reservoir. The symptoms (fever, maculopapular rash, arthralgia and conjunctivitis) appear after an incubation period after the mosquito bite and usually last three to 12 days. Asymptomatic cases are frequent. In recent years, virological studies have allowed identifying the virus in Africa, Asia, and Oceania, in the Pacific. Beginning at the end of 2013, a large outbreak affected the West Pacific islands. In 2015, Brazilian local health authorities also observed an increase in babies born with microcephaly at the same time of an outbreak of ZIKV. Preliminary diagnosis is based on the clinical features of patient, places and travel dates, and activities. Laboratory diagnosis of ZIKV is generally performed by testing serum or plasma to detect virus, viral nucleic acid, or virus-specific immunoglobulin M and neutralizing antibodies. Unfortunately, there is no specific treatment or vaccine for ZIKV infection. The treatment is symptomatic. Prevention against the infection relies on individual protection against mosquito bites and eradication of mosquitoes in outbreak areas.

**Key Words:** Arbovirus, Zika virus, vector-borne infection, mosquito, *Aedes*

<sup>1</sup> İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD ve Tıbbi Viroloji Bilim Dalı, İSTANBUL



**İletişim / Corresponding Author :** Yavuz UYAR

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD ve Tıbbi Viroloji Bilim Dalı, İSTANBUL

Tel : +90 212 414 30 00-23099

E-posta / E-mail : yavuz\_uyar@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 27.02.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 28.02.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.80269

Uyar Y. Yeniden önem kazanan arboviral enfeksiyon etkeni: Zika virüs. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 89-98.

## GİRİŞ

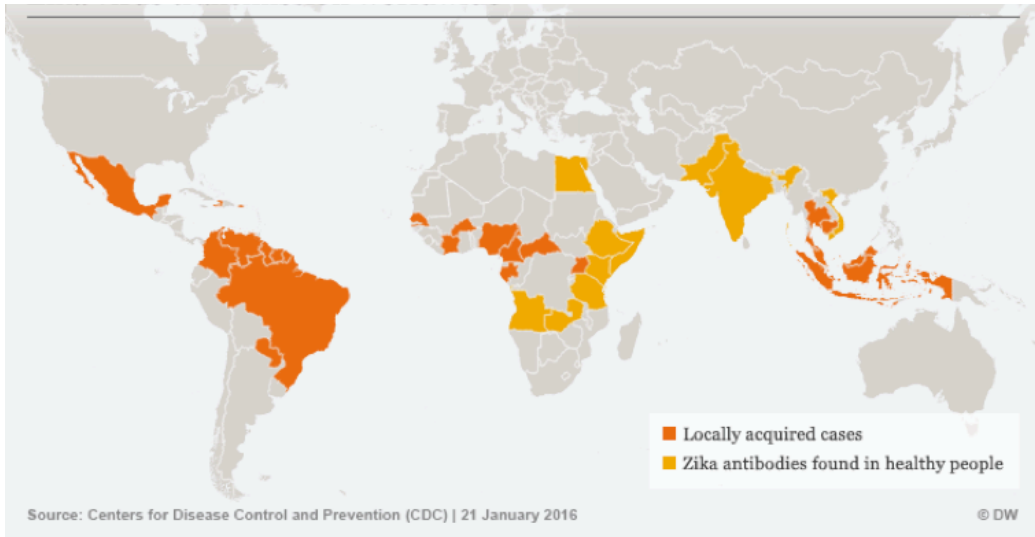
Son aylarda, özellikle Orta ve Güney Amerika'da küresel halk sağlığını tehdit edecek boyutlara ulaşan Zika virus (ZIKV) enfeksiyonu salgını görülmektedir. Yerel bulaşma (lokal transmisyon, autochthonous transmission) yoluyla vakaların daha çok Güney ve Orta Amerika ülkelerinde (Kolombiya, El Salvador, Guatemala ve Meksika vb.) saptandığı bildirilmiştir (1, 2). İlk otoktanöz lokal bulaş vakası ise Surinam'dan bildirilmiştir. Hastadan izole edilen Zika virüs'ün genomundan yapılan moleküler incelemeler ile filogenetik analiz sonucunda bu suşun Asya genotipinde olduğu gösterilmiş ve 2013 yılında Fransız Polinezyası'nda dolaşımında olan suş ile genetik olarak yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir (2). PAHO (the Pan American Health Organization, Pan Amerikan Sağlık Örgütü) Mayıs 2015'de Brezilya'da Zika virüsü ile enfekte vakanın laboratuvar tarafından doğrulandığını bildirdi (3). Zikavirüs enfeksiyonun görüldüğü ülkelerin dünya haritasındaki son dağılımı Şekil 1'de verilmiştir. Zika virüsü ile mikrosefalili doğan bebekler arasında bir ilişki olabileceğine dair yapılan araştırmalar sonucunda, Brezilya Sağlık Bakanlığı yenidoğan bebeklerde mikroosefali görülme oranının

daha önceki yıllara oranla yıllık bazda yaklaşık 20 kat arttığını bildirmiştir (2).

ZIKV, sivrisinek kaynaklı bir enfeksiyon etkenidir. İlk olarak 1947 yılında Uganda'daki Rhesus cinsi maymunlardan izole edilmiştir. ZIKV enfeksiyonu, bazı Afrika ve Asya ülkelerinde grip benzeri belirti ve bulguların hakim olduğu ateş, kas ağrısı, döküntü ve eklem ağrısı ile seyreder. Olgular genellikle sporadik vakalar şeklinde görülmektedir (1). ZIKV enfeksiyonu, 2007 yılında, Mikronezya'da epidemiyeye neden olarak ardından Okyanusya ülkelerine yayılmıştır. Amerika kıtasına ise 2014-2015 yıllarında Paskalya Adası üzerinden yayıldığı hipotezi hakimdir (1, 2). Brezilya'da yaklaşık 440.000-1.300.000 yeni Zika virüs enfeksiyonu vakası olduğu tahmin edilmektedir. Zika virüs, *Aedes aegypti* sivrisineği yoluyla dengue ve chikungunya enfeksiyonları gibi bir yayılma yolunu takip etmektedir (2).

ZIKV epidemileri sonucunda ciddi vakaların görülmesiyle beraber Brezilya ve Kolombiya, gibi bazı ülkelerde kadınların hamile kalmaktan kaçınmaları hatta

Dünya'da Zika virüsün dağılımı



Şekil 1. Aktif Zika virüs enfeksiyonu rapor edilen ülkeler (Kavuniçi renk: Yerel vakaların bildirildiği ülkeler, Sarı renk: Sağlıklı bireylerde ZIKV antikoruna saptanan ülkeler). (<http://www.cdc.gov/zika/geo/active-countries.html>, 21 Ocak 2016 itibarıyla)



daha da önemlisi El Salvador'da 2018 yılı sonuna kadar hamile kalmamaları önerilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri, Hastalıkları Koruma ve Kontrol Merkezi (CDC) tarafından, epidemik bölgeye seyahat edecek vatandaşlarına seyahat öncesi ZIKV enfeksiyonu ve bulaş yolları ile ilgili önerilerde bulunmaktadır (4). Dünya Sağlık Örgütü, virüsün Kanada ve Şili hariç neredeyse tüm Amerika kıtasına yayılacağını öngörmektedir. ZIKV enfeksiyonunun yeni coğrafyalara yeni vektör türleriyle de yayılması olası olarak görülmektedir (4).

Günümüz anlayışına göre; bir ülkede bir salgın görüldüğünde potansiyel olarak artık o andan itibaren dünyada her bölge de risk altında demektir (2). Bu nedenle, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), CDC, Avrupa Hastalıkları Kontrol Merkezi (ECDC) gibi sağlık örgütleri ve ülkelerin sağlık bakanlıkları, Zika virüsten korunma yolları ve enfekte hastaların tedavileri için çaba harcamaktadırlar. 2016 Haziran ayında Brezilya'da yapılacak olan 2016 Olimpiyat Oyunları nedeniyle, Brezilya'ya farklı ülkelerden gelecek turistlerin de etkisiyle ZIKV salgını küresel risk oluşturma ihtimaline sahip olduğu düşünülebilir (5).

## 1. VİRÜS YAPISI VE MİKROBİYOLOJİSİ

ZIKV, esasen bir arbovirüs (arthropod - borne virus, eklem bacaklı kaynaklı virüs) enfeksiyonudur. Zika adını Uganda'nın Kampala bölgesine yakın bir ormanlık alandan almaktadır. ZIKV, ilk olarak 1947 yılında Uganda'da sarıhumma virüsünün silvatik döngüsünün sürveyansı yapılırken Rhesus cinsi maymundan izole edilmiştir (6). İnsanlardan ise ilk izolasyon, daha sonraki yıllarda sırasıyla yine Uganda ve ardından Tanzanya'dan bildirilmiştir (7).

ZIKV'ün virolojik sınıflandırmasına baktığımızda, Flaviviridae ailesinde yer almaktadır. Tek zincirli bir RNA virüsüdür. Güney Afrika'da izole edilen Spondweni virüs ile genetik yakınlık göstermektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda, genomik dizi analizi ile birçok alt klade (sub-clade) olduğu bildirilmektedir. Asıl olarak Asya ve Afrika'da iki farklı "major lineage" varlığından söz edilmektedir (1).

## 2. BULAŞ VE VEKTÖR ÖZELLİĞİ

### 2.1. Bulaş Yolları

ZIKV için *Culicidae* ailesi ve *Aedes* cinsi sivrisinekler bulaşında en sık görülen vektörlerdir. *Aedes* cinsi içinde en sık *Aedes aegypti* görülmele birlikte *Aedes polynesiensis* ve *Aedes albopictus* da rapor edilmektedir. 2007 yılında yapılan bir araştırma sonucunda ZIKV epidemisi sırasında Mikronezya'nın Yap Adası'nda, *Aedes hensilli*'nin vektör olma özelliği tanımlanmıştır. Virüs, genellikle hematofagositoz yapma özelliğindeki artropodların insanlardan kan emme işlemi sırasında bulaşmaktadır (1). Zika virüsün bulaştırmada ana rol oynayan *Aedes aegyptii* türü sivrisinek Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Zika virüsün bulaştırmada rol oynayan *Aedes aegyptii* türü sivrisinek

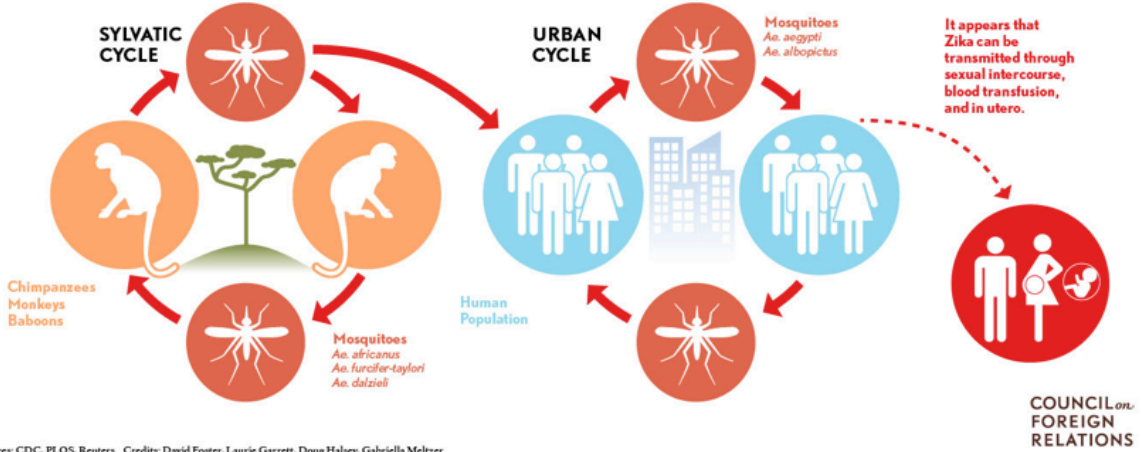
#### 2.1.1. Sivrisinek Isırmasıyla Bulaş

ZIKV, insanlara yukarıda da bahsedildiği üzere genellikle enfekte *Aedes* cinsi sivrisineklerin ısırması yoluyla bulaşmaktadır. Bu sivrisinekler, bilindiği üzere aynı zamanda Dengue ve Chikungunya virüslerinin de yayılmasından sorumludur (1-4). Bu üç enfeksiyon hemen hemen aynı coğrafyalarda görülmektedir.

Bu sivrisinekler, çoğalma dönemlerinde yumurtalarını içinde su artıkları bulunan kovalar, kaseler, hayvan yemekleri, saksı ve vazo gibi su yakınlarına bırakırlar. Sivrisinekler insanların olduğu iç ve dış mekanlarda yaşayabilmektedir. *Aedes* cinsi sivrisinekler, agresif sokucular olarak da bilinmektedir. Gündüz ve gece sokucu özellikleri devam eder (3).

## İnsan Topluluğuna Zika Virüs Nasıl Girer ?

The virus originates with nonhuman primates in tropical rainforests but can infect humans. Warm, urban environments with standing pools of water attract mosquitoes, and can lead to the virus's spread.



Sources: CDC, PLOS, Reuters Credits: David Foster, Laurie Garrett, Doug Halsey, Gabriella Melzer

**Şekil 3.** Zika virüsün döngüsü ve insanlara bulaş yolları. Solda vahşi orman döngüsü (silvatik döngü), sağda ise kentsel döngü görülmektedir. (Kaynak: <http://www.cfr.org/public-health-threats-and-pandemics/zika-virus/p37527>)

Sivrisinekler, genellikle beslenmek amacıyla bir insandan kan emerken eğer kişi enfekte ise virüsü alırlar ve enfekte olurlar. Dah sonra diğer insanlara da virüsü yayabilirler (1, 3, 4). Zika virüsün doğal döngüsü ve insanlara bulaş yolları Şekil 3'te verilmiştir.

### 2.1.2. Anneden Bebeğe Geçiş

Doğuma yakın dönemde ZIKV ile enfekte anneden bebeğine virüs geçebilir, fakat bu oldukça nadirdir. Aslında, tüm gebelik süresince ZIKV anneden fetüse geçebilir (3).

Annenin bebeğini emzirmesi yoluyla ZIKV'ün yenidoğanlara geçtiğine dair henüz bir kanıt ya da rapor yoktur. Emzirmenin yararlarından dolayı, endemik bölgelerde olsa annelere emzirmeye devam etmeleri önerilmektedir (3).

### 2.1.3. Enfekte Kan veya Cinsel Temas ile Geçiş

Kan transfüzyonu yoluyla ZIKV'ün donörlerden insanlara geçebildiği bildirilmektedir (1-4). Aktif ZIKV enfeksiyonunun olduğu viremik dönemde bu mümkündür.

Zika virüsün cinsel yolla bir erkekten partnerine geçtiğine dair bildirimler mevcuttur. Ancak, henüz

Zika virüsün semende ne kadar süre canlı kaldığı bilinmemektedir (3).

### 2.2. Rezervuar

Virüsün rezervuarı henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Yapılan çalışmalar ile insan-dışı primatların rezervuar olabileceği bildirmektedirler. Anti- ZIKV antikorlarının bazı büyük memelilerde (orangutan, zebra, filler vb.) ve Pakistan'da kemirgenlerde bulunması kanıt olarak gösterilebilir (8, 9).

## 3. COĞRAFİK YAYILIMI VE EPİDEMİYOLOJİSİ

### 3.1. Vakaların Görüldüğü Ülkeler

Virolojik çalışmalar ile Zika virüsün Afrika (Senegal, Uganda, Nijerya, Fildişi Sahili, Gabon, Tanzanya, Mısır, Orta Afrika Cumhuriyeti ve Sierra Leone.) ve Asya (Kamboçya, Hindistan, Endonezya, Malezya, Pakistan, Filipinler, Singapur, Tayland ve Vietnam) kıtasında bulunduğunu göstermektedir. Ayrıca, son dönemlerde Okyanusya (Mikronezya, Polonezya, Yeni Kaledonya ve Cook Adaları)'dan da vakalar görülmektedir (8-11).

1952'de yapılan bir araştırmada Uganda'da ZIKV prevalansı %6,1 olarak bulunmuştur. Daha sonra, 1971 ve 1975 yıllarında Nijerya'da virüsün izole edildiği görülmektedir. Yine Nijerya'da 1979 yılında semptomatik 130 hastaya ait serumların %52'sinde ZIKV'e özgül nötralizan antikolar saptanmıştır (9). 1977 ve 1978 yıllarında Endonezya'nın Java adasında ateş şikayetiyle hastaneye başvuran 219 hastada yapılan inceleme sonucunda ZIKV prevalansı %7,1 olarak bulunmuştur (13). Daha sonraki yıllarda ZIKV bildirimleri çok dikkati çekmemektedir. Ancak 2000'li yıllara geldiğinde enfeksiyon yeniden bildirilmeye başlanmıştır. Örneğin, 2007 ve 2013 yıllarında Tayland, Kamboçya ve Endonezya'dan sporadik vaka bildirimleri yapılmıştır (1, 14). 2007 yılında Mikronezya'nın Yap Adası'nda çalışmada 49 konfirme ve 59 olası şüpheli vaka tanımlanmıştır Bu hastalarda döküntü, ateş, eklem ağrısı ve konjiktivit ana belirtiler olarak saptanmıştır . Mikronezya'da enfeksiyonun yayılımından sorumlu ana vektörün *A. hensilii* olduğu rapor edilmiştir (15) 2007 yılında Gabon'da Chikungunya ve Dengue virüs geniş bir salgın oluşturmuştur. Ardından 2010 yılın da aynı virüsler ile yeni salgınlar bildirilmiştir. Her iki salgında toplanan serum örnekleri ve sivrisinek türlerinde ZIKV araştırılmış ve 2007 yılına ait 5 serum örengi ve iki *A. albopictus* sivrisinek havuzunda moleküler yöntemler ile ZIKV varlığı gösterilmiştir. Gabon'da meydana gelen salgının ana olarak *A. albopictus* yoluyla meydana geldiği gösterilmiştir. Filogenetik inceleme sonucunda, Gabon'da gösterilen Zika virüsün Afrika kökenli olduğu anlaşılmıştır (16).

2013 yılında Fransız Polonezyası'nda ZIKV epidemisi görülmüş ve ZIKV genomu saptanan iki olgudan yapılan filogenetik analiz sonucunda Asya genotipi olduğu gösterilmiştir. 2013 yılındaki salgın tanımlanmış en büyük epidemisi niteliğindedir (17). Bu pideminin ardından, Fransız Polonezyası kaynaklı impote ZIKV vakaları (Japonya, Paskalya Adaları ve Fransa) da bildirilmiştir (1).

### 3.2. Avrupa Kıtasında Zika Virüsün Durumu

Avrupa Hastalıkların Kontrolü Merkezi (ECDC) tarafından 4 şubat 2016 tarihi itibarıyla Avrupa

Birliği bölgesinden otoktanöz ZIKV enfeksiyonunu bildirilmediği rapor edilmiştir. 2015 ve 2016'nın ilk aylarında bazı Avrupa ülkeleri tarafından endemik bölgelere ziyaret eden turistlerden impote vakaların olduğu görülmektedir (18).

### 3.3. Brezilya'da ZIKV Nasıl Yayıldı?

Brezilya'dan 2015 yılının başında, Dengue ve Chikungunya enfeksiyonları bildirilmeye başlamıştır (19). Dengue epidemisi Brezilya'da başta Sao Paulo (637.029 doğrulan vaka) ve Minas Gerais (166.360 doğrulan vaka) ve Goias (121.501 doğrulan vaka)'da görülmüştür. Diğer eyaletlerden de toplamda 370.000 Dengue vakası bildirilmiştir. Konfirme Chikungunya vakaları ise başta Bahia (7820), Amapa olmak üzere Amapa (1070) ve Federal Bölge (194)'den bildirilmiştir. ZIKV enfeksiyonu, klinik olarak Dengue ile aynı belirtilere sahip olup Dengue virus enfeksiyonu bölgesinde koenfeksiyon şeklinde görülebilir. Klinik, korunma ve tedavisi benzer olduğundan resmi olarak Zika virüsün daha bu bölgelerden daha az bildirildiği ön görülmektedir (20).

Çoğunlukla kabul edilen hipoteze göre, Brezilya'da düzenlenen 2014 Dünya Kupası Futbol şampiyonası'na Afrika'dan gelen asemptomatik hasta turistler yoluyla hastalığın yayıldığı kabul görmektedir. 2013 yılı Haziran ayı ile futbol maçlarının oynadığı 2014 yılı Haziran ayı dönemi karşılaştırıldığında ZIKV enfeksiyonunu oranının %132 arttığı görülmüştür. Dolaşımda olan ZIKV suşu Bahia'da izole edilmiş ve Asya genotipi izole edilmiştir (21). 2014 Dünya Kupası için gelen turistlerin dağılımına bakıldığında Asyalı turistlerin çok yoğun olduğu görülmektedir. Aynı dönemde Paskalya Adası'ndan izole edilen suşun da filogenetik olarak Asya genotipinde olduğu saptanmıştır (22). 2014 Dünya Kupası Futbol maçları nedeniyle, Brezilyalıların da eyaletten eyalete seyahati söz konusudur. Ülkede artan iç ve dış turist hareketleri nedeniyle Zika virüs enfeksiyonu eyaletten eyalete yayılmıştır. 2016 Olimpiyat Oyunları'nın da Brezilya'nın Rio de Janerio kentinde yapılacak olması Zika virüsün yayılımıyla ilgili yeni senaryoları akla getirmektedir.

Mayıs 2015'den bu güne kadar Brezilya Sağlık Bakanlığı'nca ülkenin bazı eyaletlerinde ZIKV otoktanöz enfeksiyonları görüldüğü bildirilmektedir. Eş zamanlı olarak bölgede Dengue, Chikungunya ve ZIKV enfeksiyonları benzer klinik belirtilerle görülebilmektedir. Guilherme ve ark., Rio de Janeiro'da HIV ile enfekte bir hastada konfirme edilmiş otoktanöz ZIKV enfeksiyonu vaka sunumu olarak bildirilmiştir. ZIKV'ün filogenetik analizi sonucunda hasta serumunda Asya tipi saptanmıştır (23).

#### 4. KLİNİK

##### 4.1. Genel Klinik Durum

GSemptomlar, enfekte bir sivrisinek ısırmasından bir kaç gün sonra 3- 12 günlük bir kuluçka döneminden sonra meydana gelmektedir. Enfekte hastaların beşte biri semptomatik olarak seyretmektedir. ZIKV enfeksiyonunun klinik tablosu, Dengue virüsü enfeksiyonuna benzemektedir (4). Hastalarda klinik bulgular olarak ateş, makulopapüler döküntüler, eklem ağrısı ve konjuktivit görülmektedir. Diğer yaygın görülen belirtiler arasında kas ağrısı ve baş ağrısı da yer almaktadır. Klinik, genellikle bir kaç günden bir haftaya kadar sürmektedir. Ağır seyreden hastalık durumlarında hastaneye yatış gerekebilir. ZIKV enfeksiyonunda vaka-ölüm oranı oldukça düşüktür. ZIKV enfeksiyonu şüpheli olgulardan Guillain-Barre sendromu da bildirilmiştir (1, 3).

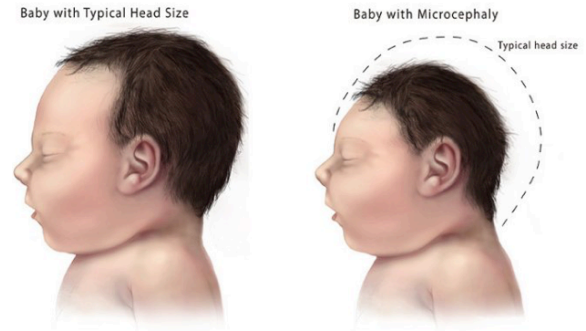
Özet olarak, aslında klinik belirti ve bulgular diğer Arbovirüs (chikungunya, dengue) enfeksiyonları ile benzerdir. Bu nedenle tanı koymada güçlükler yaşanmaktadır (1). Hatta çoğu kez Dengue ateşi birbirine benzediğinden dolayı Brezilya'da ZIKV enfeksiyonu önemsenmemekte ve Dengue şeklinde bildirimler yapılabilmektedir (20).

##### 4.2. Gebelerde Zika Virüs Enfeksiyonu ve Konjenital Anomaliler (Mikrosefali)

Gebe kadınlar, hamileliğin herhangi bir döneminde ZIKV ile enfekte olabilirler. Gebelerdeki ZIKV enfeksiyonu insidansı tam olarak bilinmemektedir (24).

Gebelikte Zika virüsün maternal-fetal yoldan geçtiği dokümanite edilmiştir. ZIKV RNA'sının "fetal kayıp: düşük" ürünlerindeki patolojik spesmenlerde tespit edilmesine rağmen kaç fetal kaybın ZIKV enfeksiyonu yoluyla meydana geldiği henüz bilinmemektedir. Mikrosefali ile doğmuş yenidoğanlarda yapılan virolojik incelemeler ile ZIKV varlığı konfirme edilmiştir (25). Brezilya'da meydana gelen ZIKV salgınında, artmış oranda mikrosefalili bebek doğumu rapor edilmiştir ECDC'nin hazırladığı rapora göre; Brezilya'da mikrosefalili doğan bebeklerin sayısı 2010 yılında 153, 2011 yılında 139, 2012 yılında 175, 2013 yılında 167, 2014 yılında 147 iken 28 Kasım itibarıyla 2015 yılında 1248 olgu olarak rapor edilmiştir. Mikrosefali olgularının özellikle Pernambuco (n=646) ve Paraíba (n=248) eyaletlerinde çok yüksek olduğu gözlenmiştir (25).

ZIKV ve mikrosefaliyle ilişkili çalışmalar devam etmektedir. Diğer enfeksiyonlar ile ilişkisi, beslenme ve çevresel faktörler de araştırılmaktadır. Bu konuda daha fazla ve ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (23). Zika virüsün bebeklerde oluşturduğu mikrosefali tablosu Şekil 4'de verilmiştir.



**Şekil 4.** Zika virüsün bebeklerde oluşturduğu mikrosefali. Soldaki şekilde normal kafa ölçülerine sahip bir bebek, Sağdaki şekilde mikrosefali oluşmuş bir bebeğin temsili şekli görülmektedir.

(Kaynak: <https://www.linkedin.com/pulse/new-research-make-you-much-happier-dr-travis-bradberry>)

##### 4.3. Tanı ve Bildirimi

Ateş, döküntü, eklem ağrısı ve konjuktivit gibi tipik klinik benzerlikleri nedeniyle, Zika virüsün ayırıcı tanısında oldukça geniş bir enfeksiyon etkeni bulunmaktadır. Başta Dengue virüs olmak üzere;

sıtma, riketsia, grup A streptokok, rubella, kızamık, ve parvovirus, enterovirus, adenovirus ve alfavirus enfeksiyonları (Chikungunya, Mayaro, Ross River, Barmah Forest, O'nyong-nyong ve Sindbis virüsleri) ayrıncı tanıda değerlendirilmesi gereken etkenlerdir (3).

Hastalığın erken tanısında, hastalığın klinik görünümüne ilave olarak yapılan seyahatin tarihi ve yeri ile kırsal ve ormanlık alanlara yapılan aktivitelerin varlığı yardımcı olmaktadır. ZIKV için laboratuvar tanıda serum veya plazmada viral nükleik asit (ZIKV RNA) ve virüse özgül immunoglobulinler (anti-ZIKV IgG ve IgM) ile nötralizan antikorlar araştırılmaktadır (1, 3).

ZIKV enfeksiyonu, görüldüğü ülkelerde klinik şüpheli yada laboratuvar tarafından konfirme vakalar olarak bağlı oldukları Sağlık Bakanlığının yerel birimlerine bildiri zorunlu hastalıklardır. Ülkemizde de Arbovirus enfeksiyonları bildiri zorunlu hastalıklar listesinde yer almaktadır.

## 5. LABORATUVAR TANI

### 5.1. Hücre Kültürü

Virüs izolasyonu, semptomların oluşmasından sonraki beş gün sonra hastadan alınan kan örneklerinde oldukça başarılıdır ve referans yöntem olarak kullanılır (3). Virüs izolasyonu için süt emen albino İsviçre farelerinin beyni kullanılmaktadır (9). Ayrıca Vero ve C6/36 hücre serilerinin de kullanıldığı çalışmalar bulunmakta ancak viral titrelerin düşük olması nedeniyle başarılı sonuçlar alınamadığı bildirilmektedir (16). Bu nedenle virüsün gösterilmesinde günümüzde daha çok moleküler yöntemler tercih edilmektedir.

### 5.2. Moleküler Yöntemler

ZIKV enfeksiyonunun tanısında hastalardan alınan kan örneklerinde viral RNA genomunun gösterilmesi sıklıkla kullanılan tanı yöntemidir. Reverz Transkriptaz - Polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) yöntemi semptomların oluşmasından beş gün sonra hastadan alınan kan örneklerinden virüsün gösterilmesinde oldukça başarılıdır (4). ZIKV genomu, Hastalığın

başlangıcından sonraki ilk hafta RT-PZR yöntemiyle serumda tespit edilebilir. Ayrıca moleküler yöntem, Flavivirüs enfeksiyonlarındaki serolojik çapraz reaktif antikorların ayırımında yardımcıdır. Doğrudan enfeksiyon etkenini gösterebilmektedir (3).

Kombine edilmiş "Pan flavirüs" (Flavivirüs ailesinden enfeksiyon etkeni olan ve en sık görülen virüslere özgül) amplifikasyon yöntemi alternatif diğer bir yöntem olarak kullanılabilir. İnsanlardaki "viremik dönem" çok kısadır ve genellikle hastalığın başlangıcından sonraki üç ile beş gün arası görülmektedir. ZIKV'ün idrar yoluyla atılması daha uzun sürebilir (4). Bu nedenle diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi (kızamık, kabakulak, sitomegalovirus, vb.) seruma alternatif olarak idrar numunesi de kullanılmaktadır.

ZIKVRT-PZR testi hamile bayandan alınan amniyon mayiinden de çalışılabilir. Ancak yeterli çalışmalar olmadığından konjenital enfeksiyonlar için testin duyarlılığı ve özgüllüğü henüz tam olarak bilinmemektedir. Amniyosentezin %0,1 olasılık da olsa gebeliğin 24. haftasından önce yapıldığında komplikasyon olarak gebelik kayıpla sonuçlanabilmektedir. Bu nedenle, erken gestasyonel yaş döneminde (14. haftanın altında) amniyosentez önerilmemektedir. Bu durumda risk ve fayda oranı tartışılarak karar verilmelidir (24).

Maternal veya fetal ZIKV enfeksiyonu ile doğan bebek için CDC şu testlerin yapılmasını önermektedir (26):

- Plasenta ve ya umbilikal korddan histopatolojik örneklem yapılarak plasental doku için frozen ve umbilikal kord dokusundan ZIKV RNA varlığının araştırılması,
- Kord serumundan ZIKV IgM ve Dengue virüs IgM bakılması ve nötralizan antikorların araştırılması.

CDC, ZIKV ile enfekte yenidoğanlar için oluşturduğu rehberde, ZIKV endemik bir bölgeye ziyaret yapmış ZIKV hastalığı semptomları olan gebenin fetal kayıpla sonuçlanması veya fetal mikrosefali ile doğmuş bir bebek varlığı durumunda; fetal dokudan (umbilikal kord ve plasenta) ZIKV RT-PCR testi ve immünohistokimyasal boyanma yapılmasını önermektedir (26).

### 5.3. Serolojik Yöntemler

Virüse özgül IgM (anti-ZIKV IgM) ve nötralizan antikorlar tipik olarak hastalığın ilk haftasının sonunda gelişmeye başlamaktadır. Serolojik testler, benzer ve ilişkili diğer Flavivirüsler (Dengue ve Sanhumma virüsleri gibi) ile sıklıkla çapraz reaksiyon verebildiklerinden etkenin tanısı zordur. Saptanan antikorların plak redüksiyon nötralizasyon testi (PRNT) ile virüse özgül antikorlar olup olmadığı test edilmelidir (3).

Serolojik tanıda, ELISA ve immün floresan antikor (IFA) yöntemleri oldukça yaygın kullanılan yöntemlerdir. Atlanta'daki CDC Laboratuvarları, 2007 yılında Yap Adası'ndaki epidemi sırasında spesifik anti-Zika IgM antikorlarını saptayan ELISA yöntemini geliştirmişlerdir (15).

Enfeksiyonun erken döneminde, Zika virüse özgül IgM ve IgG antikorları düşük seviyede olabilir. Bu nedenle tanıyı koymak oldukça güçleşmektedir (11). Antikorların PRNT ile konfirme edilmesi gerekmektedir. Ayrıca antikor miktarındaki dört katlık titre artışı da tanıda önemlidir (1). ZIKV özgül antikorlarını saptamaya yönelik son dönemde geliştirilen ticari kitler (Euroimmun IFA IgG ve IgM -Almanya, MyBio Source ELISA Ig ve IgM - ABD, Biocan Diagnostics ELISA IgG ve IgM- Kanada gibi) de bulunmaktadır.

## 6. TEDAVİ

Zika virüs enfeksiyonu için özgül bir antiviral ve tedavi şekli yoktur. Tedavi daha çok semptomları gidermeye yönelik olarak asitaminofen ve antihistaminik ilaçların kullanımı şeklindedir. Zika virüs enfeksiyonundan korunmak için henüz geliştirilmiş ve onay almış bir aşı bulunmamaktadır (1, 3, 4).

## 7. KORUNMA YOLLARI

Korunma ZIKV taşıma ihtimali yüksek özellikle *Aedes* cinsi sivrisineklerden seyahat esnasında gün boyu korunma şeklindedir. Bu amaçla, seyahatlerde sivrisinekleri kovucu repellent solusyonlar kullanılmalıdır. Ayrıca sulak alanlardaki sivrisineklerin yumurtalarının sayısının insektisidler yoluyla azaltılması

da etkili bir yöntemdir. Deltametrin, aerosol şeklinde kullanılabilen etkili bir insektisiddir (3, 4).

Sivrisinekler yoluyla yayılan Zika virüsün endemik olarak görüldüğü bölgelere ziyaret edilmeden önce ve ziyaret sırasında CDC tarafından aşağıdaki uyarılar yapılmaktadır (3):

- Uzun kollu üst kıyafetler ve uzun pantolonlar giyilmeli.
- Konaklama yapılan yerlerde pencere ve kapılardan sivrisinek girişi önlenmeli (pencerelerde ve kapılarda sivrisineklik, tül perdeler vb).
- Eğer açık alanda uyunacaksa cibnlikler kullanılmalı.
- Sağlık ve çevre kuruluşları tarafından önerilen repellent solusyonlar kullanılmalıdır.
- Yine CDC tarafından çocuklar ve bebekler için de bazı önlemler ve uyarılar yapılmıştır (3):

Eğer çocuklar iki yaşın altında ise sivrisinek kovucu repellentlerin kullanılması önerilmemektedir. Bu durumda çocuklara ve bebeklere kollarını ve bacaklarını tam olarak örtecek şekilde kıyafetler giydirilmelidir. Ayrıca bebek arabaları ve yataklarının üzeri tül ve benzeri sivrisineklerin geçişini engelleyecek bariyerler ile örtülmelidir. Sivrisinek kovucu repellentlerin iki yaşın üzerindeki çocuklarda kullanılması önerilmektedir. Ebeveynler kendi elleri ile çocukların el, kol, bacak ve yüz bölgesine repellentleri sürebilirler.

ZIKV enfeksiyonu tanısı almış bir birey, hastalığın ilk haftası boyunca kanında virüs bulunacağından sivrisinekler tarafında sokulmaya karşı önlemler almalıdır. Çünkü hasta bireyden kan emen sivrisinekler virüsü sağlıklı bir bireye yine kan emerken bulaştırabilmektedir.

Sonuç olarak, Zika virus enfeksiyonu yeniden ortaya çıkmış ve önem kazanmış bir etkindir. ZIKV, mikrosefali ile ilişkilendirilerek sağlık camiasında ve medyada daha da önemli hale gelmiştir ve güncelliğini korumaktadır. 2016 Yaz Olimpiyatlarının da Brezilya'da yapılacak olması nedeniyle ZIKV enfeksiyonunun yıl boyunca yine gündemde kalacağı aşikardır.

## KAYNAKLAR

1. Loos S, Mallet HP, Leparc Goffart I, Gauthier V, Cardoso T, Herida M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect*, 2014; 44(7): 302-7.
2. Editorial. Zika virus: a new global threat for 2016. *Lancet*, 2016 Jan 9; 387(10014): 96.
3. CDC. Zika virus. <http://www.cdc.gov/zika/index.html> (Erişim: 22.02.2016).
4. Higgs S. Zika virus: Emergence and emergency. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2016; 16(2): 75-6.
5. Salvador FS, Fujita DM. Entry routes for Zika virus in Brazil after 2014 world cup: New possibilities. *Travel Med Infect Dis*, 2015 Nov 14. pii: S1477-8939(15): 173-8.
6. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1952; 46(5): 509-20.
7. Dick GW. Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1952; 46: 521-34.
8. Darwish MA, Hoogstraal H, Roberts TJ, Ahmed IP, Omar F. A sero-epidemiological survey for certain arboviruses (Togaviridae) in Pakistan. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1983; 77(4): 442-5.
9. Fagbami AH. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *J Hyg (Lond)*, 1979; 83(2): 213-9.
10. Grard G, Caron M, Mombo IM, Nkoghe D, Mboui Ondo S, et al. Zika virus in Gabon (Central Africa)--2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis*, 2014 6; 8(2): e2681.
11. Hayes EB. Zika virus outside Africa. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15(9): 1347-50.
12. Fagbami AH. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *J Hyg (Lond)*, 1979; 83(2): 213-9.
13. Olson JG, Ksiazek TG, Suhandiman, Triwibowo. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1981; 75(3): 389-93.
14. Kwong JC, Druce JD, Leder K. Zika virus infection acquired during brief travel to Indonesia. *Am J Trop Med Hyg*, 2013; 89(3): 516-7.
15. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med*, 2009 11; 360(24): 2536-43.
16. Grard G, Caron M, Mombo IM, Nkoghe D, Mboui Ondo S, Jiolle D, et al. Zika virus in Gabon (Central Africa)--2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis*, 2014 Feb 6; 8(2): e2681.
17. Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, et al. Zika virus, French polynesia, South pacific, 2013. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(6):1085-6.
18. ECDC Eurosurveillance editorial team. Resources and latest news about Zika virus disease. *Euro Surveill*, 2016; 21(5): pii=30128. (Erişim: 22.02.2016).
19. Ministério da Saude, Secretaria de Vigilancia em Saude. Monitoramento dos casos de dengue e febre de chikungunya ate a Semana Epidemiológica 30, 2015. *Bol Epidemiológico* 2015; 46(24)., <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/setembro/03/2015-029-SE-30.pdf>. (Erişim: 22.02.2016).
20. Dupont-Rouzeyrol M, O'Connor O, Calvez E, Daure`s M, John M, Grangeon JP, et al. Co-infection with zika and dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014. *Emerg Infect Dis*, 2015; 21(2): 381e2.
21. Zanoluca C, de Melo VC, Mosimann AL, dos Santos GI, dos Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2015; 110(4): 569e72.
22. PAHO. Epidemiological Alert: zika virus infection. May 7, 2015. [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=Zdoc\\_download&ItemidZ&gidZ30075&langZpt](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=Zdoc_download&ItemidZ&gidZ30075&langZpt). (Erişim: 22.02.2016).

23. Calvet GA, Filippis AM, Mendonça MC, Sequeira PC, Siqueira AM, Veloso VG, et al. First detection of autochthonous Zika virus transmission in a HIV-infected patient in Rio de Janeiro, Brazil. *J Clin Virol.* 2016; 74: 1-3.
24. Petersen EE, Staples JE, Meaney-Delman D, Fischer M, Ellington SR, Callaghan WM, et al. Interim Guidelines for Pregnant women during a Zika virus outbreak - United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep,* 2016 22; 65(2): 30-3.
25. CDC. CDC health advisory: recognizing, managing, and reporting Zika virus infections in travelers returning from Central America, South America, the Caribbean and Mexico. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC; 2016. <http://emergency.cdc.gov/han/han00385.asp>. (Erişim: 22.02.2016).
26. ECDC. Rapid risk assessment. Zika virus epidemic in the Americas: potential association with microcephaly and Guillain-Barré syndrome. Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control; 2015. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/zika-virus-americas-association-with-microcephaly-rapid-risk-assessment.pdf>. (Erişim: 22.02.2016).



## TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

...../...../20...

Makale Türü/Article Type:

(...) Araştırma/Research (..) Derleme/Review (..) Olgu Sunumu/Case Report (..) Editöre Mektup/Letter to Editor

Makale Başlığı/Article Entitled : .....

Sayın Editör,

Yayınlanması dileğiyle Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne gönderdiğimiz makalenin yazarları olarak;

1. Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin orjinal olduğunu; bilimsel ve etik sorumluluğunun bize ait olduğunu,
2. Makalenin; derginizdeki değerlendirme sürecinde başka bir yayın organına yayımlanmak üzere gönderilmediğini ve gönderilmeyeceğini,
3. Makalenin; kişilik ve telif haklarına aykırı kanun dışı maddeler içermediğini,
4. Yayın haklarının Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

Here, we affirm and warranty as the author(s) of this manuscript submitted to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology that;

1. The article I / We submitted to the Bulletin is original and responsibilities are belong to us ethically and scientifically,
2. The article is not currently being considered for publication by any other journal and will not be submitted for such review while under the evaluation of this bulletin,
3. The article contains no unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights,
4. The article publishing rights belong to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.

(...1) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

(...2) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

(...3) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

(...4) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

(...5) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

Not / Note : 1. İletişim kurulacak yazarın yanına (X) işareti koyunuz / Please indicate the corresponding author with (X)

2. Formu aşağıdaki adrese faks/posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz / Please send this form to the address below by faks or mail or deliver personally.

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye-ANKARA-TURKEY

Tel/Phone : +90 312 565 55 79

Faks/Fax : +90 312 565 55 91

e-posta/e-mail : turkhijyen@thsk.gov.tr



