



J Immunology
J Clinical Microbiology
ISSN (online): 2528-9470

Journal of Immunology and Clinical Microbiology

**2023;
Volume 8, Issue 1**

Citation Abbreviation:
J Immunol Clin Microbiol



Published by QMEL®.org
(Quality in Medicine,
Education & Library)



www.Jtacm.com

Yayın Etiği / Publication Ethics

İmmünoloji ve klinik mikrobiyoloji Dergisi (JICM) uluslararası hakemli bir dergidir (metin ve video) ve yayınlar. Dergide yayımlanmak üzere gönderilen tüm araştırmalar Helsinki Bildirgesi, Laboratuvar Hayvanlarının Bakım Rehberi, COPE ve ICMJE ilkelerine uygun olmalıdır.

Journal Of Immunology And Clinical Microbiology

Cilt/Volume:8, Sayı/Issue:1, 2023

Sahibi/Owner: QMEL adına Erkan YULA'dır .

Yayımlayan/Publisher:Erkan YULA

E-Posta/E-mail:erkanyula@gmail.com

Yayın Tarihi/Release Date: 29 Mart 2023

e-ISSN: 2528-9470

Journal Of Immunology And Clinical Microbiology yılda 4 kez yayınlanır.

Derginin yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.

Makale gönderim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>

Yayımcı/Publisher:Cetus Publishing

İletişim/Contact:+90 850 380 08 02

Eposta/Email:info@cetuspub.com

İnternet Adresi/Website :www.cetuspub.com



DERGİ KURULLARI / JOURNAL BOARDS

**Journal of Immunology and Clinical
Microbiology Adına Sahibi**
Doç. Dr. Erkan YULA

Baş Editör / Editor in Chief
Doç. Dr. Erkan YULA

Dergi Kurulları / Editorial Board

Prof. Dr. Vedat BULUT
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

PhD. Luca CASSETTA
Edinburg Üniversitesi, Queen's Tıbbi Araştırma
Enstitüsü, MRC Üreme Sağlığı Merkezi, İskoçya,
Birleşik Krallık.

Doç. Dr. Esin AKTAŞ ÇETİN
İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Enstitüsü,
İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Salih ÇETİNER
Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık
Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler
ve Teknikler Bölümü, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Günnur DENİZ
İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Enstitüsü,
İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Doç. Dr. Filiz Kibar
Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. H. Barbaros ORAL
Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

Doç. Dr. Aslı Gamze ŞENER
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk ve
Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, İzmir,
Türkiye.

Prof. Dr. Akgün YAMAN
Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Ng Peter YIN YUK
İstanbul Bilgi Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa
Bilimleri Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik
Bölümü, İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Meral GÜNALDI
İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili
Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Onkoloji Kliniği,
İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Semra PAYDAŞ
Çukurova Üniversitesi, Dahiliye Anabilim Dalı,
Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
Çukurova Üniversitesi, Pediatrik Alerji ve
İmmünoloji, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Murat GÜNDÜZ
Çukurova Üniversitesi, Anesteziyoloji ve
Reanimasyon Bölümü, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Osman DEMİRHAN
Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Murat ÇELİK
Mustafa Kemal Üniversitesi, Dahiliye Anabilim
Dalı, Hatay, Türkiye.

Doç. Dr. Mustafa ÖZMEN
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Dahiliye Anabilim
Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Eren ERKEN
Çukurova Üniversitesi, Dahiliye Anabilim Dalı,
Adana, Türkiye

Doç. Dr. Özlem Öztürk GÖRÜROĞLU
Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim
Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Hüseyin BASKIN
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Dr. Lale YEPREM

Bezmialem Üniversitesi, Rejeneratif Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Fatih KÖKSAL

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Ali BAHADORİ

Sarap Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sarap, İran.

Doç. Dr. Orhan BEDİR

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Toğrul NAĞIYEV

Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Burçin ÖZER

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

Prof. Dr. Mustafa ALTINDİŞ

Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye.

Prof. Dr. Selçuk KAYA

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Fügen YARKIN

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Jamal S. HAŞİMİ

Tahran Tıp Bilimleri Üniversitesi, Parazitoloji ve Mikoloji Anabilim Dalı, Tahran, İran.

Prof. Dr. Mustafa DEMİRCİ

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Nuri KİRAZ

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye

Prof. Dr. M.Adil ALLAHVERDİYEV

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Funda DOĞRUMAN AL

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Doç. Dr. Özlem Aycan KAYA

Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

Prof. Dr. Tuna DEMİRDAL

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Seza İNAL

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Tamer Cevat İNAL

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Kemaş Türker ULUTAŞ

Antakya Devlet Hastahaneleri, Hastahane Müdürü, Hatay, Türkiye.

Prof. Dr. Mustafa EMRE

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Biyofizik Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç Dr. Yusuf Cem KAPLAN

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Barış KARATAŞ

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Mehmet Ata SEÇİLMİŞ

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi
Farmakoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Melih Kaan SÖZMEN

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Halk Sağlığı
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Pınar YURDAKUL MESUTOĞLU

İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Prof. Dr. Esra KOÇOĞLU

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Doç. Dr. Müge ÖZGÜLER

Sağlık Bölümleri Üniversitesi, Elazığ Fethi Sekin
Şehir Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Dahili
Tıp Bilimleri Bölümü, Enfeksiyon Hastalıkları
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Dr. Berrin UZUN

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Doç. Dr. Serdar GÜNGÖR

Uşak Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Uşak, Türkiye

Dr. Recep BALIK

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk
Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, İzmir, Türkiye.

PhD. Berna GÜMÜŞ

Özel Vetlab Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, İstanbul, Türkiye.

Doç. Dr. İmran SAĞLIK

Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Bursa, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Pınar ETİZ

Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık Hizmetleri
Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Adana, Türkiye.

PhD Student Asiye KARAKULLUKÇU

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

İletişim Adresi / Institutional Contact Editör

E-Posta / E-mail: erkanyula@gmail.com

Telefon / Phone: +90 (505) 973 60 97

Teknik İletişim / Technical Contact

E-Posta / E-mail: erkanyula@gmail.com

Telefon / Phone: +90 (505) 973 60 97

DANIŞMA KURULU / ADVISORY BOARD

Uzm. Dr. Müge ASLAN, Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye.

Doç. Dr. İlhan AVŞAR, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, İzmir, Türkiye.

PhD. Ali BAHADORİ, Rab e Rashid Üniversitesi Koloji, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Teriz, İran

Uzm. Dr. Nurten Gülvardar BARAN, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü, İzmir, Türkiye.

PhD. Vahide BAYRAKAL, Dokuz Eylül Üniversitesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Uzm. Dr. Alev DURAN ÇETİN, Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Doç. Dr. Gözde YILDIRIM ÇETİN, Sütçü İmam Üniversitesi, Dahiliye Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.

Uzm. Dr. Gülçin DAĞLIOĞLU, Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Bölümü, Balcalı Hastahanesi, Merkez Laboratuvarı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Şahin DİREKEL, Giresun Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Giresun, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Pınar ETİZ, Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Uzm. Dr. Ayşegül GÖKMEN, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Doç Dr. Tülin GÜVEN GÖKMEN, Çukurova Üniversitesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana , Türkiye

Doç Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

PhD. Berna GÜMÜŞ, Özel Vetlab Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Doç. Dr. Hayati Güneş, Namık Kemal Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye.

Uzm. Dr. Serdar GÜNGÖR, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, İzmir, Türkiye.

Doç. Dr. Melek İNCİ, Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

Doç. Dr. Ali KARAKUŞ, Mustafa Kemal Üniversitesi, Acil Tıp Bölümü, Hatay, Türkiye

Doç. Dr. Murat KARAMEŞE, Kafkas Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

PhD Student Asiye KARAKULLUKÇU, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

PhD Begüm Kayar, Çukurova Üniversitesi, Tropikal Hastalıklar Araştırma Uygulama Merkezi, Adana, Türkiye.

Uzm. Dr. Esmâ KEPENEK, Seydişehir Devlet Hastahanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Konya, Türkiye.

Prof. Dr. Esra KOÇOĞLU, İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Sümeyra ALKİS KOÇTÜRK, Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.

PhD Roma LEVYTSKY, Nebraska- Lincoln Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, ABD.

Uzm. Dr. Selim MERDAN, Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Salih Atakan NEMLİ, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Uzm. Dr. Duygu ÖÇAL, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Uzm. Dr. Rahim ÖZDEMİR, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü, İzmir, Türkiye.

Uzm. Dr. Müge ÖZGÜLER, Elazığ Kamu Hastaneler Birliği Genel Sekreteri, İl Enfeksiyon Kontrol Birimi, Elazığ, Türkiye.

Uzm. Dr. Bayram PEKTAŞ, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Uzm. Dr. İmran SAĞLIK, Akdeniz Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

Uzm. Dr. Mehmet Burak SELEK, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastahanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Uzm. Dr. Volkan SUBAŞI, Özel Dermancan Tıp Merkezi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Fizik Tedavi Uzmanı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Hüseyin TAŞLI, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Türkan ÖZER TOKA, Mevlana Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye.

Dr. Berrin UZUN, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Doç Dr. Şule YILDIZ, Çukurova Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Pınar YURDAKUL, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Uzm. Dr. Süreyya Gül YURTSEVER, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Aims and Scope

Journal of Immunology and Clinical Microbiology;

- Increasing scientific research and publication literacy,
- Ensuring the sharing of qualified and original research results in accordance with scientific norms and scientific ethics,
- In addition, it aims to improve health-related issues globally, to protect and develop public health, to strengthen the medical profession, to increase awareness of holistic treatments and microbiota, nutrition among health professionals.
- The journal gives priority to publication of studies on immunology and clinical microbiology.
- The primary target audience of the journal is physicians in all branches.
- Continues its publication life with the aim of developing and strengthening communication on the scientific platform.
- It is Turkey's first text and video magazine.
- JICM aims to serve as a free scientific journal in all fields related to immunology, microbiology, rheumatology and pathogenesis, diagnosis, treatment of infectious diseases and general medicine.

Open Access Policy

Journal of Immunology and Clinical Microbiology is an open access journal, which means that all content is freely accessible to the user or institution.

Users are permitted to read, download, copy, print, search or link the full text of the articles, or use them for any other lawful purpose, without prior permission from the publisher or author.

This is in line with the Budapest Open Access Initiative (BOAI).

(<https://budapestopenaccessinitiative.org/>)

Peer-Review Policy

Double-blind refereeing system is applied in JICM Journal, and studies are sent to at least three referees unaware of each other.

In the process, none of the authors and referees can have information about the others. Descriptive information about the author(s) in the work file sent by the author is removed and uploaded to the system only by including it on the cover page. If this information is forgotten in the full text, this information is removed by the editors and then sent to the referees.

The studies sent to the journal are evaluated within 15 days at the latest and the author is informed. At the point of publication of the study, the article may be rejected with the opinion of the journal editor and assistant editors at the article submission stage.

The time given to the referees for evaluation is 30 days. Referee evaluations are shared with the author in accordance with the blindness system. Authors are given 4 weeks for minor and major referee suggestions. If the responsible author of the article is informed three times about the technical correction and spelling rules, if the requested correction is not made, the article is removed from the evaluation process and this issue is conveyed to the author. becomes the referee to evaluate.

In all articles that have undergone peer-review, the referee's opinions are conveyed to the author in accordance with the double-blind system, whether the article is accepted or rejected. For an article to be accepted for publication, it is sufficient to receive an "accept" answer from at least two (2) referees. If two of the three referees decide to reject and one to accept, major or minor revision, the article is rejected. If a referee decides to reject, both major, minor or accept, the article is sent back to the referees. While responding to the referees on the Dergipark page, the authors are requested to upload the article revision response letters to the system by specifying these referees in a different color for each referee and in the relevant correction text.

Instructions for Authors

Writing rules of the journal, announcements about the journal, publication policy, etc. It is available on our journal's page and is available at <https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>

Amaç Kapsam

İmmünoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi;

- Bilimsel araştırma ve yayın okur yazarlığını arttırma,
- Bilimsel normlara ve bilim etiğine uygun, nitelikli ve özgün araştırma sonuçlarının paylaşılmasını sağlama,
- Ayrıca, küresel anlamda sağlıkla ilgili konuların iyileştirilmesi, toplum sağlığın korunması ve geliştirilmesi ve hekimlik mesleğinin güçlenmesini, bütüncül tedaviler ve mikrobiyota, beslenme konularının sağlık profesyonelleri arasında bilinirliğinin artırılması amaçlamaktadır.
- Dergide immünoloji ve klinik mikrobiyoloji ile ilgili çalışmaların yayımlanmasına öncelik verilmektedir.
- Derginin öncelikli hedef kitlesi tüm branşlarda hekimlerdir.
- Bilimsel platformda iletişimi geliştirme ve güçlendirme amacı ile yayın hayatını sürdürmektedir.
- Türkiye'nin ilk metin ve video dergisi'dir.
- JICM, immünoloji, mikrobiyoloji, romatoloji ve patogeneze, tanı, bulaşıcı hastalıkların tedavisi ve genel tıpla ilgili tüm alanlarda ücretsiz bilimsel dergi olarak hizmet sunmayı amaçlamaktadır.

Açık Erişim Politikası

İmmünoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi, tüm içeriği ücretsiz olarak kullanıcıya veya kurumuna ücretsiz olarak erişilebildiği anlamına gelen açık erişimli bir dergidir.

Kullanıcıların, yayıncıdan veya yazardan önceden izin almaksızın makalelerin tam metinlerini okumasına, indirmesine, kopyalamasına, yazdırmasına, aramasına veya bağlantı vermesine veya başka herhangi bir yasal amaç için kullanmasına izin verilmektedir.

Bu, Budapeşte Açık Erişim Girişimi'ne (BOAI) uygundur.

(<https://budapestopenaccessinitiative.org/>)

Hakem Değerlendirme Politikası

JICM Dergisinde çift kör hakemlik sistemi uygulanmakta olup çalışmalar birbirinden habersiz en az üç hakeme gönderilir.

Süreçte yazar ve hakemlerden hiçbirisi diğerleri ile ilgili bilgi sahibi olamaz.Yazar tarafından gönderilen çalışma dosyasındaki yazar(lar) ile ilgili tanımlayıcı bilgiler çıkarılıp yalnızca kapak sayfasında yer verilerek sisteme yüklenir. Bu bilgiler tam metin içerisinde unutulmuş ise editörler tarafından bu bilgiler çıkarılır ve ardından hakemlere gönderilir. Dergiye gönderilen çalışmalar en geç 15 gün içerisinde ön değerlendirmeye alınarak yazara bilgilendirme yapılır. Çalışmanın yayınlanabilirliği noktasında makale gönderim aşamasında dergi editör ve editör yardımcılarının görüşü ile makale red edilebilir.

Değerlendirme için hakemlere verilen süre 30 gündür. Hakem değerlendirmeleri körlük sistemine uygun biçimde yazar ile paylaşılır. Minör ve majör hakem önerileri için yazarlara 4 hafta süre verilir. Makalenin sorumlu yazarına teknik düzeltme ve yazım kuralları ile ilgili üç kere bilgi verildiği halde istenilen düzeltme yapılmazsa makalesi değerlendirme sürecinden çıkarılır ve bu konu yazara iletilir.Yayın sürecine kabul edilen makale için belirlenen hakemlerde iki kez değişiklik yapıldıysa bölüm editörü üçüncü kez başka bir hakeme göndermeden ilgili makaleyi değerlendirmek için hakem olur.

Hakem değerlendirmesine girmiş tüm makalelerde hakem görüşleri makale kabul edilse de reddedilse de çift kör sisteme uygun biçimde yazara iletilir. Bir makalenin yayına kabul edilmesi için en az iki (2) hakemden "kabul" cevabı alınması yeterlidir. Üç hakemden ikisi red biri kabul, majör ya da minör revizyon kararı verirse, makale red edilir. Bir hakem red, ikisi majör, minör ya da kabul kararı verirse, makale tekrar hakemlere gönderilir. Yazarlardan Dergipark sayfasında hakemlere yanıt verirken her bir hakem için ayrı renkte ve ilgili düzeltme metninde bu hakemleri belirterek makale revizyon cevap mektuplarını sisteme yüklemeleri istenmektedir.

Yazarlar İçin Talimatlar

Derginin yazım kuralları, dergi ile ilgili duyurular, yayın politikası vb.

dergimizin sayfasında <https://dergipark.org.tr/pub/jicm> adresinde mevcuttur.




ARAŞTIRMA MAKALESİ/ ORIGINAL ARTICLE

- 1-6 COVID-19 Şüpheli Hastalarda Total Antikor Testlerinin Bilgisayarlı Tomografi ve Polimerize Zincir Reaksiyon Test Sonuçları ile Değerlendirmesi**
Evaluation of Total Antibody Tests in Patients with Suspected COVID-19 by Computed Tomography and Polymerized Chain Reaction Test Results
Hacer İŞLER, Melek BİLGİN, Eşe BAŞBULUT, Selim GÖRGÜN, Cemanur AYGÜN, Alper TAHMAZ, Eda KÖKSAL, Eylem Burcu REŞÖRLÜ, Mirşad YALÇINKAYA
- 7-16 Predictors of Mortality in Severe and Critical COVID-19 Patients Receiving High Dose Intravenous Anakinra**
Yüksek Doz İntravenöz Anakinra Alan Ciddi ve Kritik COVID-19 Hastalarında Mortalite Öngördürücüler
Murat BEKTAŞ, Muhammed İkbal KILIÇ
- 17-23 Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten Enterobacteriaceae İzolatlarına Karşı Seftazidim- Avibaktam'ın in Vitro Etkinliğinin Araştırılması**
Investigation of In Vitro Activity of Ceftazidime-Avibactam against Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Isolates
Melek BİLGİN, Hacer İŞLER, Eşe BAŞBULUT, Selim GÖRGÜN
- 24-31 PCR Diagnosis, Epidemiological and Clinical Data of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Tokat/Türkiye**
Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsünün Tokat/Türkiye'de PCR Tanısı, Epidemiyolojik ve Klinik Verileri
Metin ÖZDEMİR, Yelda DAĞCIOĞLU, Yunus BULUT
- 32-39 Sağlık Çalışanlarının Cep Telefonlarındaki Bakteriye Kontaminasyonunun Araştırılması**
Investigation of Bacterial Contamination on Mobile Phones of Healthcare Workers
Ufuk AKBAYIRLI
- 40-45 Evaluation of Serum Allopregnanolone Levels in Acute Stroke Patients Presenting to The Emergency Department and Undergoing Mechanical Thrombectomy**
Acil Servise Başvuran ve Mekanik Trombektomi Uygulanan Akut İnme Hastalarında, Serum Allopregnanolon Düzeylerinin Değerlendirilmesi
Hüseyin Tufan YANIK, Murat YÜCEL, Murat GÜZEL, Metin YADİGAROĞLU, Çetin Kürşat AKPINAR, Selim GÖRGÜN

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

COVID-19 Şüpheli Hastalarda Total Antikor Testlerinin Bilgisayarlı Tomografi ve Polimerize Zincir Reaksiyon Test Sonuçları ile Değerlendirmesi

Evaluation of Total Antibody Tests in Patients with Suspected COVID-19 by Computed Tomography and Polymerized Chain Reaction Test Results

 Hacer İşler¹  Melek Bilgin¹  Eşe Başbulut¹  Selim Görgün¹  Cemanur Aygün²

 Alper Tahmaz²  Eda Köksal²  Eylem Burcu Reşörlü³  Mirşad Yalçinkaya³

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye

³ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi, Radyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye

Geliş Tarihi: 12.12.2022 **Kabul Tarihi:** 02.02.2023

Öz

Amaç: COVID-19'un erken tanımlanması, hastalık tedavisi ve yönetiminde çok önemlidir. Kanda spesifik antikorların tespitiyle solunum yolu örneklerinden kaynaklanan yanlış negatif sonuçların önüne geçilebilir. Çalışmada COVID-19 şüphesi olan hastaların nazofaringeal sürüntülerinden alınan Hızlı Antikor Testleri, Akciğer BT taramaları ve polimeraz zincir reaksiyonu testlerinin sonuçlarını değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: 15.03.2020-15.06.2020 tarihleri arasında COVID-19 şüphesi olan hastalardan ve şikayeti olan sağlık çalışanlarından alınan venöz kan örnekleri, Hodget Card Hızlı Antikor Testi (IgM + IgG) ile SBU Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarımızda test edildi. Çalışmada 295 kişinin hızlı antikor testi yapıldı.

Bulgular: Hastaların yaş ortalaması 52±17,9 olup %55,4'ü erkekti. %39,3'ü poliklinikte, %39'u serviste, %19'u yoğun bakımda hastasıydı. Hızlı antikor testi yapılan 295 hastanın %56,6'sında PCR testinin pozitif çıktığı, %9,8'inde negatif olduğu, %33,6'sında PCR testi çalışılmadığı belirlendi.

Sonuç: Çalışmamızda toraks BT'nin COVID-19'u tanımlamada PCR'den duyarlı olduğu gösterildi. Altın standart olan PCR testi negatif kişilerde hızlı antikor testlerinin pozitifliği, antikor testinin, CT veya PCR testi ile gözden kaçan hastalarda hasta doğrulaması için yararlı olduğunu, PCR testinin antikor testleri ile kombine kullanılmasının gerekliliğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, SARS-CoV-2, Hızlı Antikor Testi, Toraks BT, PCR

Sorumlu Yazar: Hacer İŞLER, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye. **E-mail:** hacerturkisler@gmail.com, **Telefon:** +90 506 851 48 01
Nasıl Atıf Yapılmalı: İşler H, Bilgin M, Başbulut E, Görgün S, Aygün C, Tahmaz A, Köksal E, Reşörlü EB, Yalçinkaya M. COVID-19 Şüpheli Hastalarda Total Antikor Testlerinin Bilgisayarlı Tomografi ve Polimerize Zincir Reaksiyon Test Sonuçları ile Değerlendirmesi. Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2023;8(1):1-6

©Copyright 2022 by the "International medical Education Library" The QMEL.org
Journal of Immunology and Clinical Microbiology published by Cetus Publishing.



Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2022 Open Access (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>)
Creative Commons Attribution Non-Commercial License: The articles in the Journal of Immunology and Clinical Microbiology are open access articles licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Abstract

Objectives: Early identification of COVID-19 is crucial in disease treatment and management. False negative results from respiratory tract samples can be avoided by detecting specific antibodies in the blood. The aim of the study was to evaluate the results of Rapid Antibody Tests, Lung CT scans and polymerase chain reaction tests taken from nasopharyngeal swabs of patients with suspected COVID-19.

Methods: Venous blood samples taken from patients with suspected COVID-19 and healthcare workers with complaints between 15.03.2020 and 15.06.2020 were tested in our microbiology laboratory with Hodget Card Rapid Antibody Test (IgM + IgG) at SBU Samsun Training and Research Hospital. Rapid antibody testing was performed on 295 people in the study.

Results: The mean age of the patients was 52±17.9 years and 55.4% were male. 39.3% of them were in the outpatient clinic, 39% were in the service, and 19% were in the intensive care unit. It was determined that of 295 patients who underwent rapid antibody test, the PCR test was positive in 56.6%, negative in 9.8%, and no PCR test in 33.6%.

Conclusion: In our study, it was shown that thorax CT is more sensitive than PCR in identifying COVID-19. The positivity of rapid antibody tests in people with negative PCR testing, which is the gold standard, showed that antibody testing is useful for patient confirmation in patients missed by CT or PCR testing, and that PCR testing should be used in combination with antibody tests.

Keywords: COVID-19, SARS COV-2, Rapid Antibody Test, Thorax CT, PCR

GİRİŞ

Coronavirus Disease 2019 (Koronavirüs Hastalığı 2019; COVID-19) etkeni yeni koronavirüsün (SARS-CoV-2) doğru ve hızlı saptanması için farklı tanı testleri geliştirilmektedir. Birçok biyomedikal şirket, COVID-19'un tanısı için farklı çalışmalar yürütmektedir. Bununla birlikte, tanıda kullanılan yöntemlerin sınırlamaları vardır ve özellikle enfeksiyonun erken evrelerinde tanı zorlukları ile karşılaşmaktadır (1).

PCR, SARS-CoV-2 akut enfeksiyonunu teşhis etmek için şu anda önerilen laboratuvar yöntemi olmasına rağmen, özel ekipman gereksinimi ve kalifiye personel gibi çeşitli faktörler bu zaman alan moleküler testlerin kullanımını sınırlar. Son zamanlarda hızlı antijen testleri geliştirilmiş ve tanı amaçlı olarak ilk yapılması önerilen testler arasına girmiştir. Bu nedenle sessiz enfeksiyonları tanımlama, hasta bağışıklık yanıtını değerlendirme, hastalığın ilerlemesini

daha iyi tahmin etme, virüsün bulaşma şekillerini anlayabilme noktasında ve plazma tedavisinin uygulanması için donör tespit edilmesinde testler büyük önem taşımaktadır (1,2).

Serolojik testlerde numune gereksinimi nükleik asit amplifikasyon testleri kadar zahmetli değildir. Ayrıca virüs örnekleri solunum sisteminde bulunurken, spesifik antikorlar ise düzenli olarak kanda belirlenebilir; bu da örneklemeden kaynaklanan yanlış negatif sonuçları önler (3,4). Çalışmamızda COVID-19 şüphesi ile hastanemizde takip edilen hastaların hızlı antikor testlerinin toraks BT bulguları ve nazofarenks sürüntüsünden elde edilen PCR test sonuçları ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mart 2020–Haziran 2020 tarihleri arasında SBÜ Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi COVID-19 şüphesi ile COVID-19

servislerinde takip edilen hastalardan ve şikayeti olan sağlık çalışanlarımızdan alınan venöz kan örneklerinden hızlı Antikor Testleri (IgM, IgG) Hodget kart test kiti ile Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışıldı. Toraks BT sonuçları ile nazofarenks sürüntü örneklerinden çalışılan PCR sonuçları (negatif/pozitif) karşılaştırılmalı olarak değerlendirildi. Hastaların antikor test sonuçları, toraks BT'leri, retrospektif olarak otomasyon sisteminden PCR Test sonuçları ise HSYS (Halk Sağlığı Yönetim Sistemi) verilerinden elde edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 295 kişiye ait hızlı antikor test sonuçları dahil edildi. Hastaların 164'ü (%55.4) erkekti. Hastaların yaş ortalaması 52±17.9 (Aralık: 20-94) idi. Hastaların 116'sı (%39.3) ayakta tedavi alırken, 115'i (%39) serviste, 64'ü (%39) yoğun bakım ünitelerinde takip edilmekteydi. 295 Antikoru bakılmış kişinin PCR için 99 (%33.6)'na bakılmadığı 167(%56.6)'si pozitif çıktığı 29(%9.8)'unun negatif çıktığı görülmüştür (Tablo 1).

bulgular ve görüntüleme bulguları COVID-19 tanısında daha sensitif kabul edilmelidir (8). Bir başka çalışmada COVID-19 tanısı için göğüs BT'sinde %97 duyarlılık bildirirken, ilk negatif ve pozitif PCR arasındaki ortalama zaman aralığı yaklaşık 5 gün olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle BT, en azından üç günden fazla semptomatik olan hastalar için COVID-19 pnömonisinin erken saptanması ve tedavisinde önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir (15). Ancak bilinmelidir ki bazı hastalarda semptom başlangıcını takip eden ilk iki gün içinde görüntülenen hastaların %56'sında BT bulguları normal olabilir (26).

COVID-19 tanısında serolojik testler, devam eden bir salgının araştırılmasına ve salgın hızının gösterilmesine yardımcı olabilir. Ayrıca salgının retrospektif olarak değerlendirilmesine olanak sağlar. PCR testlerinin negatif olduğu ve COVID-19 enfeksiyonu ile güçlü bir epidemiyolojik bağlantı olduğu düşünüldüğü durumlarda akut ve iyileşme evresi ile serolojik tanı doğrulandıktan sonra tanıyı destekleyebilir (10). Güvenilmez ve kanıtlanmamış testler

Tablo 1: Hastaların antikor, BT ve PCR sonuçlarının karşılaştırılması

Antikor	PCR	CT								Toplam	
		CT uyumlu		CT uyumlu değil		CT şüpheli		CT Bakılmamış		Toplam	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Negatif	Negatif	41	%27.9	50	%34	46	%31.3	10	%6.8	147	%100
	Pozitif	2	%18.2	5	%45.5	3	%27.3	1	%9.1	11	%100
	Bakılmamış	0	%0	11	%11.1	1	%1	87	%87.9	99	%100
Pozitif	Negatif	19	%95	0	%0	0	%6	1	%5	20	%100
	Pozitif	13	%72.2	3	%16.7	1	%5.6	1	%5.6	18	%100

TARTIŞMA

Klinisyenler COVID-19 tanısında PCR testini hastalığın ilk üç gününde doğrulama; dördüncü gün ve sonrasında ise konversiyonun değerlendirilmesi için istemektedirler. Toraks BT akciğer bulgularının ortaya konması, PCR testi negatif tespit edilen hastaların atlanmaması için istenmektedir. Yapılan bir çalışmada PCR negatiften pozitive dönen hastaların ilk radyolojilerinin %60'ı tipik COVID-19 görüntüleri var iken; median sekiz günde (0-21 gün) çekilen seri BT görüntüleri %93 oranda tipik bulgular saptanmıştır. Negatif PCR testi olanlarda temas öyküsü, klinik

aktif enfeksiyonu olan hastaları tespit etmeyebilir veya COVID-19-negatif hastaları pozitif olarak gösterebilir. SARS-CoV-2'yi saptamak için kullanılan altın standart moleküler testlerdir. Ayrıca yardımcı amaçlar için serolojik antikor-tespit ve antijen-tespit testleri kullanılmaktadır (12,13). Ancak serolojik IVD testler COVID-19 enfeksiyonunu teşhis etmek, dışlamak veya enfeksiyonun durumu hakkında bilgi vermek için kullanılmamalıdır. Aşı sonrası bu durum daha da farklı bir hal almıştır (14). Antikor saptayan testler koronavirüs ile teması doğrulama/aşılama sonucu antikor varlığını ortaya koymaya

hizmet eder. Semptomsuz taşıyıcıların keşfini (süper bulaştırıcıları) sağladığı için epidemiyolojik açıdan çok önemlidir. Bir de, COVID-19 enfeksiyonunun popülasyonda yayılmasını belirlememize de izin verir (17). Ancak enfeksiyonun ilk aşamasında, antikör üretimi düşük olduğundan test sonuçları negatif sonuçlanabilir. Yapılan bir çalışmada anti- SARS-CoV-2 total antikör testinde duyarlılıkları 0-6 gün %60, 27-13 gün %85, 3≥ 14 gün %100 Özgüllük (Spesifite) %98 üzerinde idi (18).

PCR testinin zaman alması ve duyarlılığının düşük olması nedeniyle kontrastsız BT tanı aşamasında tercih edilmektir. Çin'de yapılan bir çalışmada BT'nin %88 tanısaldığı, PCR pozitif hastalarda %97 oranında pozitif olduğu gösterilmiştir (15). Abdollahi ve ark. (19) yaptıkları çalışmada PCR ile IgM seroloji test uyum oranını %32-66.6 arasında, PCR ile IgG serolojik testi arasındaki uyumu ise %43,5-55,5 arasında bulmuşlar ve akut semptomları olan COVID-19 hastalarında sadece üst solunum yolundan yapılan örnekleme ile uygulanan PCR testinin serolojik testlerin yerini alamayacağı sonucuna ulaşmışlardır. Soeorg ve ark. (20) COVID-19 taramasında seroprevalans oranının PCR testi ile onaylanmış COVID-19 tanılı hasta sayısının dört katı olduğunu saptamışlar, serolojik testle pozitif çıkan hastaların %38.3-43.1 arasındaki orandaki hastanın PCR ile negatif sonuçlandığını saptamışlar. Buntinx ve ark. (21) bir huzurevinde yaptıkları çalışmada PCR negatif çıkan hastaların %11.1 gibi yüksek bir oranının serolojik test ile pozitif sonuç verdiğini saptamışlar ve tek başına yapılan PCR testinin salgının kontrol edilmesinde yetersiz olduğunu belirtmişlerdir. Aziz ve ark. (22) hastalığın başlaması ya da PCR testinin pozitif sonuçlanmasının ardından iki haftadan uzun süre geçmiş hastalarda serolojik testlerin yüksek düzeyde duyarlılığa sahip olduğunu saptamışlardır. Kanji ve ark. (23) yanlış negatif PCR sonuçlarıyla ilgili olarak yaptıkları çalışmada sadece negatif PCR sonucu ile COVID19 hastalarını ekarte etmemek gerektiğini belirtmişlerdir. Arevalo-Rodriguez ve ark. (24) yaptıkları geniş meta analizde çalışmalar arasında yanlış negatif RT-PCR sonucu oranlarının çok

değişken olduğunu, COVID-19 olgularında yanlış negatif PCR sonucu oranının %54'e kadar çıkabildiğini belirlemişlerdir. Wu ve ark. (25) asemptomatik ve PCR sonucu negatif olan hastalarda da serolojik testlerin pozitif çıkabileceğini göstermişlerdir. Bu araştırmacılar ayrıca örnek alımı, işleme süreci ve viral yük ile immün yanıt farklılıklarından dolayı testlerin duyarlılıklarının düşebileceğini, bu nedenle COVID-19 tanısında testlerin kombine kullanımının doğruluk oranını belirgin şekilde arttıracaklarını belirtmişlerdir. Chaimayo ve ark. (26) hem PCR hem de serolojik test kullanarak yaptıkları çalışmada iki test arasındaki uyumu %98.7 bulmuşlardır. Bu yüksek oran bile PCR ile hastaların hepsinin yakalanmadığını göstermektedir. Ashtiani ve ark. (27) yaptıkları COVID-19 taramasında hastaların %22'sinde PCR testinin pozitif çıktığını, ancak IgM pozitif hasta oranının %38 olduğunu saptamışlardır. Bu bulgu iki test arasında uyum oranının yüksek olmadığını ve PCR ile yakalanamayan hasta sayısının yüksek olduğunu göstermektedir. Parmar ve ark. (39) PCR negatif olan hastalarla yaptıkları çalışmada bu hastaların yarısından fazlasında IgM pozitifliği saptamışlardır. Çalışmamızda PCR testi yapılan hastaları içinde PCR negatifliği oranı %14.8 olarak bulunmuştur. Bu bulgu PCR testinin yakalayamadığı hasta oranının yüksek olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda ayrıca serolojik test ile PCR arasındaki uyum %5.6 olarak gerçekleşmiştir. Bu uyum oranı tek test ile COVID-19'lu hastayı yakalama şansının yüksek olmadığını, en az iki tanı testinin birlikte kullanılması halinde hastanın yakalanma şansının belirgin şekilde artacağını göstermektedir. COVID-19 için altın standart bir tanı yönteminin bulunmaması nedeniyle tanı konusunda testlerin birlikte kullanılması önem taşımaktadır.

SONUÇ

Sonuç olarak, PCR testi hastane yatışı ve hasta izolasyonunda önemli role sahip olsa da; düşük sensitivitesi ve zaman gerektirmesi nedeniyle hastalığın tanı ve takibinde yetersiz kaldığı görülmüştür. Toraks BT, COVID-19 PCR negatif hastalarda

tanıda daha sensitif olarak kabul edilmelidir. Antikor testi tanıya yardımcı olabilen üçüncü bir testtir. Ancak aşı uygulaması sonrası hastalardaki COVID-19 antikor pozitifliklerinin aşı yanıtına bağlı olabileceği unutulmamalıdır.

BİLDİRİMLER

Çıkar Çatışması:

Yoktur

Finansal Destek:

Hastanemiz laboratuvarında rutin çalışılan testlerdi

Etik Onay:

SDÜTF 2. Sağlık Hizmetleri Sempozyumu (5 Eylül 2020-online) –Covid 19 şüpheli hastalarda total antikor testlerinin bilgisayarlı tomografi ve polimeraz zincir reaksiyon test sonuçları ile değerlendirilmesi isimli çalışma sözlü bildiri 01.07.2020 tarih ve SBÜSEAH-GOKA/2020/11/1 protokol nolu onayı alınmıştır.

Yazar Katkıları:

Fikir: Hİ, SG Tasarım: SG, MB, Gözetim: MB, Araç gereç: MY, AT, EB, Veri toplama ve işleme: Hİ, MB, Analiz ve yorumlama: Hİ, SG, Literatür tarama: AT, MY, Yazma: Hİ, Eleştirel inceleme: MB

KAYNAKLAR

1. Chan JF, Yip CC to KK, Tang TH, Wong SC, Leung KH, et al. Enhanced molecular diagnosis of COVID-19 with new, high-precision and specific COVID-19-RdRp / hel real-time reverse transcription-PCR assay validated with in vitro and clinical samples. J. Clin. Microbiol. 2020; 23: 58 10.1128 / JCM.00310-20.
2. Scohy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A ve Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. J Clin Virol.2020 Aug;129:104455.
3. Johns Hopkins Üniversitesi'nde (JHU) Sistem Bilimi ve Mühendisliği Merkezi (CSSE) tarafından COVID-19 Kontrol Paneli: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>.
4. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020;395(10223):497-506.

5. Casais R, Davies M, Cavanagh D, Britton P. Gene 5 of avian coronavirus infectious bronchitis virus is not required for replication. J Virol. 2005; 79: 8065-78.
6. Current status, challenges, and countermeasures Yan Y et al. (Rev Med Vrol 2020;e2106; do: 10.1002/rmv.2106).
7. Haijema BJ, Volders H, Rottier PJ. Through the directed deletion of group-specific genes, live attenuated coronavirus vaccines protect against feline infectious peritonitis. J Virol. 2004; 78: 3863-32.
8. Ai T, Yang Z, Hou H, et al. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. Radiology, In Press (2020;xx:xx).
9. Kubina R, Dzedzic A. Molecular and Serological Tests for COVID-19 a Comparative Review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and Point-of-Care Diagnostics. Diagnostics (Basel). 2020 Jun 26;10(6):434.
10. World Health Organization (WHO), Coronavirus disease (COVID-19) technical guidance:Laboratory testingfor2019- nCoV inhumans,Interimguidance. <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novelcoronavirus-insuspected-human-cases-20200117>, 2020.
11. Xiao S, Zhu B, Zhang M, Zhang T, Zheng Z, Xiang J. A sequential study of serum specific IgM antibody responses in patients with epidemic hemorrhagic fever and its relationship to the severity of illness. Chinese J Immunol. 1986;4:218-21.
12. World Health Organisation (WHO) Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic. Geneva: WHO 2020. Available at <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Accessed 1 April 2020.
13. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3).
14. Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND). SARS-2 Diagnostic Pipeline. Available at <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline>. Accessed 1 April 2020.
15. Ai T, Yang Z, HouH, Zhan C, ChenC, Lu W et al.

- Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology*, In Press.
16. Cheng Z, Lu Y, Cao Q, Qin Le, Pan Z, Yan F et al. Clinical features and Chest CT manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in a single-center study in Shanghai, China. *AJR* 2020; 215: 1-6.
 17. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q., Jones FK, Zheng Q., Meredith HR, Azman AS, Reich NG, Lessler J. ve Uygulama. *Ann. Stajyer. Med.* 2020 .
 18. Rashid Z Z, Othman, Abdul Samat MN, Ali UK, Wong KK. Diagnostic performance of COVID-19 serology assays. *Malays J Pathol.* 2020;42(1):13-21.
 19. Abdollahi A, Salarvand S, Mehrtash V, Jafarzadeh B, Salehi M, Ghalehtaki R, Nateghi S. The Performance of SARS-CoV-2 Serology Testing in the Diagnosis of COVID-19. *Iran J Pathol.* 2022 Winter;17(1):65-70.
 20. Soeorg H, Jögi P, Naaber P, Ottas A, Toompere K, Lutsar I. Seroprevalence and levels of IgG antibodies after COVID-19 infection or vaccination. *Infect Dis (Lond).* 2022 ;54(1):63-71.
 21. Buntinx F, Claes P, Gulikers M, Verbakel J, Jan L, Van der Elst M, Van Elslande J, Van Ranst M, Vermeersch P. Added value of anti-SARS-CoV-2 antibody testing in a Flemish nursing home during an acute COVID-19 outbreak in April 2020. *Acta Clin Belg.* 2022;77(2):295-300.
 22. Aziz H, Fatima S, Mahmood H, Muhammad S, Saeed MA, Khurshid S, Aslam W, Aziz S, Faheem M. Antibody Response to SARS-CoV-2 in Relation to the Contributing Factors in COVID-19 Patients. *Viral Immunol.* 2022;35(2):142-149.
 23. Kanji JN, Zelyas N, MacDonald C, Pabbaraju K, Khan MN, Prasad A, Hu J, Diggle M, Berenger BM, Tipples G. False negative rate of COVID-19 PCR testing: a discordant testing analysis. *Virol J.* 2021; 9;18(1):13.
 24. Arevalo-Rodriguez I, Buitrago-Garcia D, Simancas-Racines D, Zambrano-Achig P, Del Campo R, Ciapponi A, et al. False-negative results of initial RT-PCR assays for COVID-19: A systematic review. *PLoS One.* 2020 ;10;15(12):e0242958.
 25. Wu J, Liu X, Zhou D, Qiu G, Dai M, Yang Q, Pan Z, Zhou N, Wu P. Identification of RT-PCR-Negative Asymptomatic COVID-19 Patients via Serological Testing. *Front Public Health.* 2020; 5;8:267.
 26. Chaimayo C, Kaewnaphan B, Tanlieng N, Athipanyasilp N, Sirijatuphat R, Chayakulkeeree M, Angkasekwinai N, Sutthent R et al. Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand. *Virol J.* 2020;13;17(1):177.
 27. Haghi Ashtiani MT, Sadeghi Rad P, Asnaashari K, Shahhosseini A, Berenji F, Mamishi S. Role of serology tests in COVID-19 non-hospitalized patients: A cross-sectional study. *PLoS One.* 2022; 14;17(4):e0266923.

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

Predictors of Mortality in Severe and Critical COVID-19 Patients Receiving High Dose Intravenous Anakinra

Yüksek Doz İntravenöz Anakinra Alan Ciddi ve Kritik COVID-19 Hastalarında Mortalite Öngördürücüleri

 Murat Bektaş¹  Muhammed İkbâl Kılıç²

¹ Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Aksaray Training and Research Hospital, Aksaray, Türkiye

² Department of Internal Medicine, Aksaray Training and Research Hospital, Aksaray, Türkiye

Received: 03.02.2022 **Accepted:** 16.03.2023

Abstract

Objectives: In this study, we aim to evaluate the predictive factors associated with mortality in patients with severe and critical COVID-19 receiving high dose intravenous anakinra.

Methods: This is an observational retrospective study was conducted at a tertiary referral center between 01.09.2021 and 01.02.2022 in Turkey. COVID-19 disease severity was evaluated according to National Institute of Health (NIH) severity scale. Inflammatory state of the patients was calculated according to COVID hyperinflammatory syndrome (cHIS) score. Clinical (patients characteristics, disease severity, inflammatory state) and laboratory parameters such as lymphocyte count, CRP, LDH, ferritin and d-dimer levels were compared in patients had mortality and those had not.

Results: Data of 148 patients (n=78; 53% male) were analyzed. Mean±standard deviation (SD) patient age was 66.8±17 years and median (interquartile of range; IQR) duration of hospitalization was 11 (12) days. In this cohort, 57 patients (38.5%) severe, 91 patients (61.5%) had critical disease and mean±SD cHIS score was 3.4±1.2. Overall, 56 patients (37.8%) died during the follow-up and ICU admission was in 60 patients (40.5%) and intubation was in 54 patients (36.5%).

Conclusion: In our study mortality was developed in third of anakinra receiving severe and critical ill COVID-19 patients. Mortality was independently associated with advanced age, critical illness and higher cHIS score reflecting higher inflammatory burden. Furthermore, highest levels of CRP, LDH, ferritin, D-dimer and higher cHIS score predict higher mortality in patients with COVID-19 receiving anakinra.

Keywords: COVID-19, Anakinra, Cytokine Storm, Hyperinflammation, Predictors

Corresponding author: Murat BEKTAŞ, Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Aksaray Training and Research Hospital, Aksaray, Türkiye. **E-mail:** bektas.murat1988@gmail.com,

Telefon: +90 212 444 20 00

Cite this article: Bektaş M, Kılıç Mİ. Predictors of Mortality in Severe and Critical COVID-19 Patients Receiving High Dose Intravenous Anakinra. Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2023;8(1):7-16

©Copyright 2022 by the "International medical Education Library" The QMEL.org
Journal of Immunology and Clinical Microbiology published by Cetus Publishing.



Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2022 Open Access (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>)

Creative Commons Attribution Non-Commercial License: The articles in the Journal of Immunology and Clinical Microbiology are open access articles licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Öz

Amaç: Bu çalışmada, yüksek doz intravenöz anakinra alan ciddi ve kritik COVID-19 hastalarında mortalite ile ilişkili öngörücü faktörleri değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntem: Bu çalışma, 01.09.2021 ile 01.02.2022 tarihleri arasında üçüncü basamak referans merkezinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız geriye dönük gözlemsel bir çalışmadır. COVID-19 hastalık şiddeti NIH şiddet ölçeğine göre değerlendirildi. COVID hiperinflamatuvar sendrom (cHIS) skoru hastaların inflamatuvar durumlarını değerlendirmek için hesaplandı. Klinik (hasta özellikleri, hastalık şiddeti, inflamatuvar durum) ve laboratuvar parametreleri (lenfosit sayısı, CRP, LDH, ferritin ve d-dimer düzeyleri) mortalite gerçekleşen ve gerçekleşmeyen hastalarda karşılaştırıldı.

Bulgular: 148 hastanın (n=78; %53 erkek) verileri analiz edildi. Ortalama±standart sapma (SS) hasta yaşı 66.8±17 yıl ve ortanca (çeyrekler arası aralık; IQR) hastanede kalış süresi 11 (12) gündü. Bu kohortta 57 hasta (%38.5) şiddetli, 91 hasta (%61.5) kritik hastalığa sahipti ve hastaların ortalama±SD cHIS skoru 3.4±1.2 idi. Toplamda 56 hastada (%37.8) takip sırasında mortalite gerçekleşti ve 60 hastada (%40.5) yoğun bakım ünitesine yatış ve 54 hastada (%36.5) entübasyon ihtiyacı oluştu.

Sonuç: Çalışmamızda ciddi ve kritik seyirli COVID-19 hastalarının yaklaşık üçte birinde mortalite gerçekleşmiştir. Mortalite hızı ileri hasta yaşı, kritik hastalık şiddeti ve inflamatuvar yükü yansıtan cHIS skoru ile ilişkili bulundu. Dahası, yüksek CRP, LDH, ferritin, d-dimer seviyeleri ve cHIS skoru anakinra alan COVID-19 hastalarında yüksek mortaliteyi öngördürmekteydi.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, Anakinra, Sitokin Fırtınası, Hiperinflamasyon, Öngördürücüler

INTRODUCTION

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a potentially life-threatening disease that caused by SARS-Cov-2 (1). Clinical findings of COVID-19 are ranged from asymptomatic to severe pneumoniae, acute respiratory distress syndrome, multiorgan failure and death (2). Severe COVID-19 patients are usually accompanied by a higher inflammatory response with the release of a large amount of pro-inflammatory cytokines in an event known as “cytokine storm” (3). Several cytokines such as interleukin 1 (IL-1), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) may play a driver role into the development of cytokine storm in patients with COVID-19. Downstream production of interferons by SARS-Cov-2 induces intracellular antiviral defenses in neighboring epithelial cells which may limit viral dissemination, while the release of pro-inflammatory cytokines from immune cells promotes recruitment of

neutrophils and T cells and causes cytokine storm (4). Severe disease course as well as poor outcome including intensive care unit (ICU) requirement and death were mainly associated with development of cytokine storm in patients with COVID-19 (5). Although the definition of cytokine storm is a challenge in COVID-19, several scoring systems such as COVID-19-associated hyperinflammatory syndrome (cHIS) score, the Caricchio COVID-Cytokine Storm (COVID-CS) score, and the CSS Quick Score have been described so far (6) (7) (8).

Several biological agents targeting some cytokines such as IL-1 and IL-6 have been proposed for treating cytokine storm associated with various inflammatory conditions (9). Anakinra, an IL-1 receptor antagonist, which is used in treatment of autoinflammatory conditions such as hereditary periodic fever syndromes, adult onset still disease and also was proven to be helpful in hyperinflammatory condition

such as macrophage activation syndrome secondary to various diseases (10). In the light of these findings, anakinra has been started to be used during the pandemic period in severe or critical COVID-19 patients, since the COVID-19-associated cytokine storm has common pathogenetic mechanisms with other hyperinflammatory syndromes. Several predictive factors such as age, gender, comorbidities, and inflammatory burden were described in COVID-19 disease course during the pandemic, however there is limited data in severe and critically ill patients who received biologic therapies including anakinra (11). In this study, we aimed to evaluate the predictive factors of mortality in patients with severe and critically ill COVID-19 receiving anakinra.

MATERIAL AND METHODS

Patients and Data

This is an observational retrospective study was conducted at a tertiary referral center between 01.09.2021 and 01.02.2022 in Turkey. Diagnosis of COVID-19 was confirmed by polymerase chain reaction (PCR) in addition to clinical signs and symptoms as well as typical computer tomography (CT) findings. The patients who had negative PCR results and inconsistent CT findings with COVID-19 were excluded from the study. COVID-19 disease severity was evaluated according to National Institute of Health (NIH) severity scale and only severe (NIH score 3) and critically ill (NIH score 4) patients receiving anakinra in the ward were included into the study.

Laboratory Evaluation

Laboratory values such as hemogram, liver enzymes, creatinine, procalcitonin, C-reactive protein (CRP), ferritin, D-dimer, lactate dehydrogenase (LDH) at admission; the highest levels of CRP, ferritin, D-dimer and LDH and lowest lymphocyte count during to the follow-up and at the last day of hospitalization were recorded. Inflammatory state of the patients was evaluated according to COVID hyperinflammatory syndrome score (cHIS) and it was calculated according to combination of neutrophil and lymphocyte counts at admission and the highest levels of CRP, ferritin, D-dimer and LDH during to the follow-up (6).

Clinical (patients characteristics, disease severity, inflammatory state) and laboratory parameters such as lymphocyte count, CRP, LDH, ferritin and d-dimer levels were compared in patients had mortality and those had not.

Treatment Protocol

All patients received background corticosteroid therapy with 80 mg/day methylprednisolone (or its equivalent) and enoxaparin 0.4 mg/day at admission and consecutive days. Anakinra was started in patients who did not respond to steroid therapy at least two days or concomitantly with steroids in all patients with critical illness at admission and in severe patients if needed during the follow-up. Average starting dose of anakinra was 400 mg/day intravenously and increased gradually to maximum 1600 mg/day if necessary. Anakinra dose adjustment was performed by the same rheumatologist (MB) according to daily clinical and laboratory findings including need of oxygen supply, lymphocyte, ferritin, CRP, LDH, and d-dimer levels. Severe infection was defined as development of opportunistic infection, intravenous antibiotics, sepsis or requirement of ICU admission or development of death due to infection.

Statistical Analysis

In our study, 21.0 version (IBM, Armonk, NY, USA) of SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) program was used for statistical analysis of data. Descriptive statistics, discrete and continuous numerical variables were expressed as mean, \pm standard deviation or median (minimum-maximum). Categorical variables were expressed as number of cases (%). Cross table statistics was used to compare categorical variables (Chi-Square, Fisher' exact test). Normally distributed parametric data were compared with Student's t-test and non-parametric data that did not meet normal distribution were compared with Mann Whitney U and Kruskal Wallis tests. Kaplan-Meier and log-rank methods were used for survival analysis. Multivariate analysis was performed by using logistic regression. Sensitivity and specificity analysis were performed by Receiver operating characteristic (ROC)

analysis. $p < 0.05$ value was considered statistically significant.

Local ethic committee approval and written individual patient consent were obtained for this study (date/number: 24.02.2022, 2022/04-09)

RESULTS

Data of 148 patients ($n=78$; 53% male) were analyzed. Baseline clinical and laboratory findings of patients were described in table 1. Mean \pm standard deviation (SD) patient age was 66.8 ± 17 years and median (interquartile of range; IQR) duration of hospitalization was 11 (12) days. In this cohort, 57 patients had (38.5%) severe and 91 patients had (61.5%) critical disease and mean \pm SD cHIS score was 3.4 ± 1.2 . Overall, 56 patients (37.8%) died during the follow-up and ICU admission was in 60 patients (40.5%) and intubation was in 54 patients (36.5%).

In univariable analysis, only dementia among comorbidities significantly differed between patients had mortality and had not (6.3% vs 27%; $p=0.002$, odds ratio; [OR]:9.8). Additionally, mean \pm SD patient age (63.4 ± 18 vs 72.3 ± 14 ; $p=0.001$), median (IQR) neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) (5.6 [5] vs 10 [9]; $p < 0.001$), mean \pm SD cHIS scores (3 ± 1 vs 4.1 ± 1.1 ; $p < 0.001$) were higher in patients had mortality. Higher median (IQR) baseline and peak levels of CRP (107 [110] vs 136 [126]; $p=0.004$ and 137 [100] vs 194 [134]; $p < 0.001$, respectively) and d-dimer (1 [1] vs 1.5 [1.7]; $p=0.016$ and 2.8 [7] vs 12.4 [24]; $p < 0.001$, respectively), higher peak levels of ferritin (555 [606] vs 1212 [2336]; $p < 0.001$) and LDH (513 [200] vs 676 [528]; $p < 0.001$) were observed in patients had mortality compared to those had not. Mortality was also higher in patients with critically ill ($n=55$, 60.4%) compared to severe disease ($n=1$, 1.8%) ($p < 0.001$; OR:51) (table 2).

Table 1: Baseline characteristics of patients with study group

Variables	Results
Age (years) (mean \pm SD)	66.8 \pm 17
Gender, male (n, %)	78 (52.7)
Duration of hospitalization (days) (median, IQR)	11 (12)
Comorbidities	
Diabetes mellitus (n=146)	41 (28.1)
Hypertension (n=143)	84 (58.7)
Coronary heart disease (n=143, %)	27 (18.9)
Heart failure (n=143, %)	18 (12.6)
Chronic renal failure (n, %)	31 (20.9)
Chronic obstructive lung disease (n=144, %)	23 (16)
Dementia (n=117, %)	15 (12.8)
Malignancy (n=146, %)	16 (11)
Rheumatic disease (n=142, %)	8 (5.6)
Immunosuppressive usage (n=146, %)	18 (12.3)
Disease severity (n, %)	
NIH score 3 (severe)	57 (38.5)
NIH score 4 (critical)	91 (61.5)
Laboratory values	
At admission	
Leucocyte ($10^9/L$), median (IQR)	7.8 (5)
Neutrophil ($10^9/L$), median (IQR)	6.5 (4.5)
Lymphocyte ($10^9/L$), median (IQR)	1 (0.74)
Hemoglobin (g/dL), mean \pm SD	13.2 \pm 2.2
Platelets ($10^9/L$), median (IQR)	189 (100)
Neutrophil to lymphocyte ratio, median (IQR)	6.7 (8.1)
Procalcitonin (ng/mL), median (IQR)	0.2 (0.46)
Creatinine (mg/dL), median (IQR)	0.9 (0.5)
C-reactive protein (mg/L), median (IQR)	120 (110)
Lactate dehydrogenase (U/L), median (IQR)	398 (216)
Ferritin (ng/mL), median (IQR)	393 (616)
D-dimer (mcg/mL), median (IQR)	1.24 (1.2)
Peak levels	
C-reactive protein (mg/L), median (IQR)	153 (124)
Lactate dehydrogenase (U/L), median (IQR)	589 (285)
Ferritin (ng/mL), median (IQR)	717 (1023)
D-dimer (mcg/mL), median (IQR)	4.3 (14.8)
cHIS score (mean \pm SD)	3.4 \pm 1.2
Outcomes	
Severe infection (n=128, %)	19 (14.8)
Myocardial infarction (n=132, %)	3 (2.3)
Pneumothorax (n=134, %)	3 (2.2)
Pulmonary embolism (n=134, %)	4 (3)
ICU admission (n, %)	60 (40.5)
Intubation (n, %)	54 (36.5)
Mortality (n, %)	56 (37.8)

SD: Standard deviation, IQR: Interquartile range, NIH: National Institute of Health, ICU: Intensive care unit

In multivariate analysis; higher patient age ($p=0.01$, OR:1.05, 95% confidence interval [CI]: 1.01-1.09), higher cHIS score ($p=0.002$, OR:2.6, 95% CI:1.4-4.9) and

critical illness (compared to severe disease) ($p=0.02$, OR:14, 95% CI:1.6-122) were associated with higher mortality (table 2).

Table 2: Univariable and multivariable analysis of mortality in patients with COVID-19

Variables	Univariable analysis			Multivariable analysis
	Alive patients (n=91)	Deceased patients (n=55)	p value (OR)	p value, (OR) [95 % CI]
Age (years) (mean±SD)	63.4±18	72.3±14	0.001*	0.01, (1.05) [1.01-1.09]
Gender, male (n, %)	44 (48)	34 (61)	0.1	
Duration of hospitalization (days) median (IQR)	10.5 (12)	12 (14)	0.8	
Comorbidities				
Diabetes mellitus (n=146)	23 (25)	18 (33.3)	0.3	
Hypertension (n=143)	52 (56.5)	32 (62.7)	0.5	
Coronary heart disease (n=143, %)	15 (16.3)	12 (23.5)	0.3	
Heart failure (n=143, %)	11 (12)	7 (13.7)	0.8	
Chronic renal failure (n, %)	16 (17.4)	15 (26.8)	0.2	
Chronic obstructive lung disease (n=144, %)	14 (15.2)	9 (17.3)	0.7	
Dementia (n=117, %)	5 (6.3)	10 (27)	0.002 (9.8)	
Malignancy (n=146, %)	9 (9.8)	7 (13)	0.6	
Rheumatic disease (n=142, %)	5 (5.6)	3 (5.8)	1	
Immunosuppressive usage (n=146, %)	10 (11)	8 (14.5)	0.5	
Disease severity (n, %)				
NIH score 3 (severe) (n=57)	56 (98.2)	1 (1.8)	<0.001 (51.3)	0.02, (14), [1.6-122]
NIH score 4 (critical) (n=91)	36 (39.6)	55 (60.4)		
cHIS score (mean±SD)	3±1	4.1±1.1	<0.001*	0.002, (2.6), [1.4-4.9]
Laboratory results				
Neutrophil to lymphocyte ratio, median (IQR)	5.6 (5)	10 (9)	<0.001[‡]	
Hemoglobin (g/dL), mean±SD	13.4±2.2	13±2.3	0.3	
Platelets (10 ⁹ /L), median (IQR)	215±77	192±82	0.01[‡]	
C-reactive protein (mg/L), median (IQR)				
1	107 (110)	136 (126)	0.004[‡]	
2	137 (100)	194 (134)	<0.001[‡]	
Ferritin (ng/mL), median (IQR)				
1	326 (531)	557 (767)	0.06	
2	555 (606)	1212 (2336)	<0.001[‡]	
D-dimer (mcg/mL), median (IQR)				
1	1 (1)	1.5 (1.7)	0.016[‡]	
2	2.8 (7)	12.4 (24)	<0.001[‡]	
Lactate dehydrogenase (U/L), median (IQR)				
1	399 (193)	391 (245)	0.9	
2	513 (200)	676 (528)	<0.001[‡]	
Procalcitonin (ng/mL), median (IQR)	0.17 (0.3)	0.27 (0.6)	0.01[‡]	
Creatinine (mg/dL), median (IQR)	0.84 (0.52)	1 (0.4)	0.1	

SD: Standard deviation, IQR: Interquartile range, OR: Odds ratio, CI: Confidence interval, NIH: National Institute of Health, ICU: Intensive care unit
1: at admission, 2: Peak level
*Independent t test
[‡] Mann Whitney U test

In ROC analysis; a cut-off value for cHIS score was 3.5 with 72% sensitivity and 72% specificity, NLR 7.1 with 69% sensitivity and 70% specificity, CRP 160.5 mg/L with 70% sensitivity and 69% specificity, LDH 581 U/L with 72% sensitivity and 75% specificity, ferritin 771 ng/mL with 70% sensitivity and 72% specificity, d-dimer 7.56 mcg/mL with 70% sensitivity and 73.4% specificity were found, respectively (table 3).

disease. Additionally higher secondary bacterial infection risk such as pneumoniae and urinary tract infection in patients with dementia may be another explanation for higher mortality in these patients because of immobility and immunocompromised status due to more prevalent hospitalization, inefficacy to excrete their secretions and urinary catheterization (16) (17). Further studies are needed to confirm these findings.

Table 3: ROC analysis of laboratory values for mortality

ROC analysis	AUC	cut-off	p value (95 % CI)	Sensitivity (%)	Specificity (%)
cHIS score	0.77	3.5	<0.001 (0.69-0.86)	72	72
NLR	0.72	7.1	<0.001 (0.6-0.82)	69	70
At admission					
CRP	0.64	118.5	0.005 (0.55-0.73)	62.5	55.4
LDH	0.5	NA	0.9 (0.4-0.6)		
Ferritin	0.59	NA	0.06 (0.495-0.69)		
D-dimer	0.62	1.3	0.016 (0.52-0.71)	61	62
Peak level					
CRP	0.73	160.5	<0.001 (0.63-0.82)	70	69
LDH	0.78	581	<0.001 (0.69-0.86)	72	75
Ferritin	0.76	771	<0.001 (0.68-0.85)	70	72
D-dimer	0.74	7.56	<0.001 (0.65-0.83)	70	73.4

NLR: Neutrophil to lymphocyte ratio, AUC: Area under curve, CI: Confidence interval, CRP: C-reactive protein, LDH: Lactate dehydrogenase, NA: Not available

DISCUSSION

Several risk factors and predictors have been described for mortality in patients with COVID-19, so far. Advanced age, male gender, presence of comorbidities such as diabetes mellitus, hypertension are well-defined risk factors for severe COVID-19 course (12). In our study higher mortality with advanced age was compatible with previous results (13). Although no differences in other comorbidities, higher mortality in patients with dementia was a remarkable finding in our study. It may be due to higher average age and accompanying more comorbidities in these patients. On the other hand, possible role of NLRP3 inflammasome leading higher IL-1 levels in the pathogenesis of Alzheimer's disease was speculated in previous studies (14) (15). Considering mainstay role of IL-1 in cytokine storm and in the pathogenesis of Alzheimer's disease may cause more systemic inflammatory response as well as poor outcome in patients with COVID-19 accompanying Alzheimer's

SARS-Cov-2 binds to angiotensin-converting enzyme type 2 (ACE2) receptor (18) and leads to release of viral ssRNA and binding to pattern recognition receptors (PRR). Among the PRR, three major receptors are involved in viral infections; toll-like receptors (TLRs), retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors (RLRs) and nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs) (19). SARS-Cov-2 viral ssRNA binds TLR 7-8 leading activation of nuclear factor-kappa B (NFkB) with activation of JAK-STAT pathway therefore production of several proinflammatory cytokines such as type 1 interferon ([IFN] alpha and beta), interleukin-6 (IL-6) and TNF- α and others (20). There is also another important pathway in the pathogenesis of COVID-19 associated cytokine storm. Recent evidence showed that, SARS-CoV-2 also activates an intracellular multiprotein complex which is called 'inflammasome' after binding TLRs. Inflammasomes present in innate immune cells such as neutrophils, macrophages and dendritic cells and have

essential role in the host defense against microorganisms including viruses. The inflammasome is coordinated by the NLRP3 sensor (NOD, Leucin-rich repeat, Pyrin domain, adaptor protein ASC, as well as the effector protein caspase 1) and also drives cleavage of pro-IL-1 β by caspase-1, followed by the production of active IL-1 β (21). Several hyperinflammatory conditions such as macrophage activation syndrome, hemophagocytic lymphohistiocytosis, cytokine release syndrome were described due to various immune mediated, infectious or malignant diseases and recently grouped in an umbrella definition that is called, 'cytokine storm' (22) (23). Cytokine storm is the main cause of the development of severe disease, poor outcome as well as mortality in patients with COVID-19 (24). Preliminary results revealed higher immune response with higher levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IL-2, IL-7, TNF- α , MCP-1, and IFN- γ reflecting cytokine storm in patients with COVID-19 (25). These proinflammatory cytokines are responsible for the increased acute phase reactants (APR) such as CRP and ferritin but also d-dimer and LDH levels reflecting tissue damage and immunothrombosis. There are several studies to reveal higher mortality risk with elevated APR in patients with COVID-19 (26) (27) (28). Although, the clear role of cytokine storm is well known in the development of severe COVID-19, the definition of COVID-19-associated cytokine storm is controversial. There are few scoring scales attributed to COVID-19-associated cytokine storm so far (6) (7). Among these scales cHIS score was developed by Webb et al. and validated in the same study (6). Furthermore, higher mortality rate and increase by gradually with cHIS score ≥ 2 was also established in this study.

There are inconsistent results with mortality rate in patients with COVID-19. Mortality rate in COVID-19 could be affected by features of the study population such as hospitalized vs outpatient patients or ward vs ICU, inflammatory burden, and disease severity of participants. In Grasselli et al. study with 3988 patients in ICU, overall mortality was 53.4% (29). In another observational study with hospitalized COVID-19 patients, mortality was observed in 50.5% severe and

critical disease according to Brescia-COVID respiratory severity scale, 58% according to CURB-65 scale which were higher compared to our study (30). However, treatment scheme in this study is unclear. Our study population consisted of severe and critically ill patients for whom a higher risk of mortality expected. Furthermore, the fact that mean cHIS score is 3.4 also reflects higher inflammatory burden in our study. Therefore, our study group had more severe disease and higher mortality risk at admission.

In a comparative study from Italy with 392 patients who consisted of 62 anakinra and 55 anti-IL-6 treatment, overall mortality was 25%, 32% in biologic-naive, 14% in anakinra and 18% in tocilizumab receiving patients (31). In previous study, survival rate was higher in patients receiving IL-1 inhibitor compared to IL-6 inhibitors. In this study, higher CRP levels at baseline and decreasing levels of LDH with treatment predicted higher IL-1 and IL-6 inhibitor response and reduced mortality. Although anti-cytokine treatment was applied to patients with CRP ≥ 100 mg/L or ferritin ≥ 900 ng/mL and partial pressure of oxygen to the fraction of inspired oxygen of 300 mm Hg or less, the detail of hyperinflammation and disease severity in these study participants were unclear. Furthermore, differences in study dates (February and March 2020) with the former study compared to our study may have caused difference in the mortality rate due to potentially different COVID-19 variants since delta variant was not dominant into this period. Higher disease severity and poor outcome with delta variant compared to other variants was established in previous studies (32) (33). In a prospective comparative study that was carried out between June and July 2020, mortality was lower in patients receiving anakinra compared to those with standard of care (29% vs 46%; $p=0.082$). On the other hand, anakinra was applied subcutaneously with lower doses in the former study compared to our study (34). Furthermore, difference into the study period was another important limitation to make comparison between the former study and our study as mentioned above. In a randomized controlled study

in early COVID-19 patients with anakinra, favorable outcome was observed in patients with higher CRP, NLR, ferritin and AST levels (35). In this study, at least two CRP >50 mg/L, NLR > 5.5, ferritin >700 ng/ml or AST >44 U were associated with favorable outcome in patients receiving anakinra compared to placebo. These results were not consistent with our study probably due to difference in study design between two studies (prospective versus retrospective). In the former study, lower mortality was also revealed in patients with receiving anakinra than those without.

Intravenous and high dose administration of anakinra is an emerging issue both in rheumatology and COVID-19 daily practices. Intravenous dose of anakinra enables higher and fast maximum plasma concentration compared to subcutaneous administration (36). Recently there are growing evidence with high dose intravenous anakinra administration in hyperinflammatory syndromes (37) (38). Safety and efficacy of high dose intravenous anakinra treatment was established by Cavalli et al in a preliminary retrospective study from Italy in patients with COVID-19 (39). In another prospective controlled study (ESCAPE open label study) with critically ill COVID-19 patients, high dose intravenous anakinra had lower mortality rate than standard of care as well as tocilizumab treatment (40). Furthermore, similar results were observed in other observational studies with COVID-19 (41).

This study has some limitations. First, retrospective design of the study was the main limitation. Additionally, absence of control group was another limitation. On the other hand, the fact that the study is conducted in a single center ensures homogeneity in terms of patient population and treatment decisions that made by a single physician.

CONCLUSION

In our study mortality was developed in third of anakinra receiving severe and critical ill COVID-19 patients. Mortality was independently associated with advanced age, critical illness and higher cHIS score reflecting higher inflammatory burden.

Furthermore, highest levels of CRP, LDH, ferritin, D-dimer and higher cHIS score predict higher mortality in patients with COVID-19 receiving anakinra. It is important to identify the patients with higher mortality risk to improve outcome.

ACKNOWLEDGEMENT

Many thanks to Prof. Ahmet Gül for his mentorship and shedding light on our way.

Conflicts of Interest:

Authors declare no conflicts of interest.

Ethical Declaration:

Local ethic committee approval and written individual patient consent were obtained for this study (date/number: 24.02.2022, 2022/04-09)

Financial Support:

No financial support was provided from any institution or organization.

Author Contributions:

Concept: UK, MK, Design: UK, MK, Supervising: MK, HD, Financing and equipment: UK, MK, HD, Data collection and entry: MK, HD, Analysis and interpretation: MK, HD, Literature search: UK, Writing: UK, Critical review: MK, HD

REFERENCES

1. WHO WHOJg. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected. 2020;13.
2. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. International journal of antimicrobial agents. 2020;55(3):105924.
3. Ragab D, Salah Eldin H, Taeimah M, Khattab R, Salem R. The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far. Frontiers in immunology. 2020;11:1446.
4. Vardhana SA, Wolchok JDJoEM. The many faces of the anti-COVID immune response. 2020;217(6).
5. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. Lancet (London, England). 2020;395(10223):507-13.

6. Webb BJ, Peltan ID, Jensen P, Hoda D, Hunter B, Silver A, et al. Clinical criteria for COVID-19-associated hyperinflammatory syndrome: a cohort study. *The Lancet Rheumatology*. 2020;2(12):e754-e63.
7. Caricchio R, Gallucci M, Dass C, Zhang X, Gallucci S, Fleece D, et al. Preliminary predictive criteria for COVID-19 cytokine storm. *Annals of the rheumatic diseases*. 2021;80(1):88-95.
8. Cappanera S, Palumbo M, Kwan SH, Priante G, Martella LA, Saraca LM, et al. When Does the Cytokine Storm Begin in COVID-19 Patients? A Quick Score to Recognize It. *Journal of clinical medicine*. 2021;10(2).
9. Grom AA, Horne A, De Benedetti F. Macrophage activation syndrome in the era of biologic therapy. *Nature reviews Rheumatology*. 2016;12(5):259-68.
10. Bami S, Vagreicha A, Soberman D, Badawi M, Cannone D, Lipton JM, et al. The use of anakinra in the treatment of secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatric blood & cancer*. 2020;67(11):e28581.
11. Gallo Marin B, Aghagoli G, Lavine K, Yang L, Siff EJ, Chiang SS, et al. Predictors of COVID-19 severity: A literature review. *Reviews in medical virology*. 2021;31(1):1-10.
12. Guan WJ, Liang WH, Zhao Y, Liang HR, Chen ZS, Li YM, et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. *The European respiratory journal*. 2020;55(5).
13. O'Driscoll M, Ribeiro Dos Santos G, Wang L, Cummings DAT, Azman AS, Paireau J, et al. Age-specific mortality and immunity patterns of SARS-CoV-2. *Nature*. 2021;590(7844):140-5.
14. Heneka MT, Kummer MP, Stutz A, Delekate A, Schwartz S, Vieira-Saecker A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature*. 2013;493(7434):674-8.
15. Heneka MT. Inflammasome activation and innate immunity in Alzheimer's disease. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*. 2017;27(2):220-2.
16. Sipilä PN, Heikkilä N, Lindbohm JV, Hakulinen C, Vahtera J, Elovainio M, et al. Hospital-treated infectious diseases and the risk of dementia: a large, multicohort, observational study with a replication cohort. *The Lancet Infectious Diseases*. 2021;21(11):1557-67.
17. Chu CS, Liang CS, Tsai SJ, Bai YM, Su TP, Chen TJ, et al. Bacterial pneumonia and subsequent dementia risk: A nationwide cohort study. *Brain, behavior, and immunity*. 2022;103:12-8.
18. Sungnak W, Huang N, Bécavin C, Berg M, Queen R, Litvinukova M, et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature medicine*. 2020;26(5):681-7.
19. Koyama S, Ishii KJ, Coban C, Akira S. Innate immune response to viral infection. *Cytokine*. 2008;43(3):336-41.
20. Chau AS, Weber AG, Maria NI, Narain S, Liu A, Hajizadeh N, et al. The Longitudinal Immune Response to Coronavirus Disease 2019: Chasing the Cytokine Storm. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2021;73(1):23-35.
21. López-Reyes A, Martínez-Armenta C, Espinosa-Velázquez R, Vázquez-Cárdenas P, Cruz-Ramos M, Palacios-Gonzalez B, et al. NLRP3 Inflammasome: The Stormy Link Between Obesity and COVID-19. *Frontiers in immunology*. 2020;11:570251.
22. Brisse E, Wouters CH, Matthys P. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): A heterogeneous spectrum of cytokine-driven immune disorders. *Cytokine & growth factor reviews*. 2015;26(3):263-80.
23. Davi S, Consolaro A, Guseinova D, Pistorio A, Ruperto N, Martini A, et al. An international consensus survey of diagnostic criteria for macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2011;38(4):764-8.
24. Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*. 2012;76(1):16-32.
25. Mahallawi WH, Khabour OF, Zhang Q, Makhdoum HM, Suliman BA. MERS-CoV infection in humans is associated with a pro-inflammatory Th1 and Th17 cytokine profile. *Cytokine*. 2018;104:8-13.
26. Manson JJ, Crooks C, Naja M, Ledlie A, Goulden B, Liddle T, et al. COVID-19-associated hyperinflammation and escalation of patient care: a retrospective longitudinal cohort study. *The Lancet Rheumatology*. 2020;2(10):e594-e602.

27. Evlice O, Kuş F, Arik Ö, Bektaş M. Redictive Relevance Of Different Clinical And Laboratory Findings For Higher Mortality In Patients With Covid-19 In A Single Center Cohort: Neutrophil/ Lymphocyte Ratio, High Crp, Ggt And Creatinine Levels Are Associated With High Mortality. *Journal Of Istanbul Faculty Of Medicine / İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*. 2022;0(0):0-.
28. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London, England)*. 2020;395(10223):497-506.
29. Grasselli G, Greco M, Zanella A, Albano G, Antonelli M, Bellani G, et al. Risk Factors Associated With Mortality Among Patients With COVID-19 in Intensive Care Units in Lombardy, Italy. *JAMA Intern Med*. 2020;180(10):1345-55.
30. Rodriguez-Nava G, Yanez-Bello MA, Trelles-Garcia DP, Chung CW, Friedman HJ, Hines DW. Performance of the quick COVID-19 severity index and the Brescia-COVID respiratory severity scale in hospitalized patients with COVID-19 in a community hospital setting. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2021;102:571-6.
31. Cavalli G, Larcher A, Tomelleri A, Campochiaro C, Della-Torre E, De Luca G, et al. Interleukin-1 and interleukin-6 inhibition compared with standard management in patients with COVID-19 and hyperinflammation: a cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2021;3(4):e253-e61.
32. Ong SWX, Chiew CJ, Ang LW, Mak TM, Cui L, Toh M, et al. Clinical and virological features of SARS-CoV-2 variants of concern: a retrospective cohort study comparing B.1.1.7 (Alpha), B.1.315 (Beta), and B.1.617.2 (Delta). *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2021.
33. Loconsole D, Centrone F, Morcavallo C, Campanella S, Accogli M, Sallustio A, et al. Changing Features of COVID-19: Characteristics of Infections with the SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) and Alpha (B.1.1.7) Variants in Southern Italy. *Vaccines*. 2021;9(11).
34. Balkhair A, Al-Zakwani I, Al Busaidi M, Al-Khribash A, Al Mubaihsi S, BaTaher H, et al. Anakinra in hospitalized patients with severe COVID-19 pneumonia requiring oxygen therapy: Results of a prospective, open-label, interventional study. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2021;103:288-96.
35. Kyriazopoulou E, Poulakou G, Milionis H, Metallidis S, Adamis G, Tsiakos K, et al. Early treatment of COVID-19 with anakinra guided by soluble urokinase plasminogen receptor plasma levels: a double-blind, randomized controlled phase 3 trial. *Nature medicine*. 2021;27(10):1752-60.
36. Mehta P, Cron RQ, Hartwell J, Manson JJ, Tattersall RS. Silencing the cytokine storm: the use of intravenous anakinra in haemophagocytic lymphohistiocytosis or macrophage activation syndrome. *The Lancet Rheumatology*. 2020;2(6):e358-e67.
37. Nigrovic PA, Mannion M, Prince FH, Zeff A, Rabinovich CE, van Rossum MA, et al. Anakinra as first-line disease-modifying therapy in systemic juvenile idiopathic arthritis: report of forty-six patients from an international multicenter series. *Arthritis and rheumatism*. 2011;63(2):545-55.
38. Phadke O, Rouster-Stevens K, Giannopoulos H, Chandrakasan S, Prahalad S. Intravenous administration of anakinra in children with macrophage activation syndrome. *Pediatric rheumatology online journal*. 2021;19(1):98.
39. Cavalli G, De Luca G, Campochiaro C, Della-Torre E, Ripa M, Canetti D, et al. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2020;2(6):e325-e31.
40. Karakike E, Dalekos GN, Koutsodimitropoulos I, Saridaki M, Pourzitaki C, Papathanakos G, et al. ESCAPE: An Open-Label Trial of Personalized Immunotherapy in Critically Ill COVID-19 Patients. *Journal of innate immunity*. 2021;71:1-11.
41. Pontali E, Volpi S, Signori A, Antonucci G, Castellaneta M, Buzzi D, et al. Efficacy of early anti-inflammatory treatment with high doses of intravenous anakinra with or without glucocorticoids in patients with severe COVID-19 pneumonia. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2021;147(4):1217-25.

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Enterobacteriaceae* İzolatlarına Karşı Seftazidim- Avibaktam'ın in Vitro Etkinliğinin Araştırılması

Investigation of In Vitro Activity of Ceftazidime-Avibactam against Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* Isolates

 Melek Bilgin¹  Hacer İşler¹  Eşe Başbulut¹  Selim Görgün¹

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye

Geliş Tarihi: 06.03.2023 **Kabul Tarihi:** 16.03.2023

Öz

Amaç: Tüm dünyada son yıllarda *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri arasında çoklu ilaç direncine sahip izolatlar artış göstermekte ve enfeksiyonların tedavisinde zorluklara yol açmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarına karşı seftazidim-avibaktam'ın in vitro etkinliğinin araştırılmasıdır.

Yöntem: Çalışmaya, laboratuvarımıza gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten 114 *Enterobacteriaceae* türü dahil edildi. İzolatların tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıkları otomatize sistemler kullanılarak gerçekleştirildi. İzolatların seftazidim avibaktama duyarlılıklarının saptanması amacıyla CAZ/AV 10/4 mg (Bioanalyse) ile disk difüzyon testi; zon çaplarının değerlendirilmesi için European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rehberi kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya 42 tanesi (%36.8) *Escherichia coli* ve 72 tanesi (%63.2) *Klebsiella pneumoniae* olmak üzere toplam 114 tane *Enterobacterales* suşu dahil edildi. Suşların %44.7'si idrar örneklerinden izole edilmiştir. Tüm izolatların 67 (%58.8)'si karbapenemlere duyarlı iken, 47 (%41.2)'si karbapenemlere dirençli olarak bulundu. 103 tanesi (%90,4) ceftazidim avibactama duyarlı iken, 11 tanesi (%9.6) dirençli olarak saptandı.

Sonuç: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten veya metallo- β -laktamaz dışında karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* suşları için mevcut en iyi tedavi seçeneği, mümkün olduğunda ve fiyatın kullanımına izin verdiği durumlarda seftazidime-avibaktamdır.

Anahtar Kelimeler: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, Karbapenem, *Enterobacteriaceae*, Seftazidim-Avibaktam

Sorumlu Yazar: Melek BİLGİN, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye. **E-mail:** drmelekbilgin@gmail.com, **Telefon:** +90 505 483 48 84.

Nasıl Atıf Yapılmalı: Bilgin M, İşler H, Başbulut E, Görgün S. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Enterobacteriaceae* İzolatlarına Karşı Seftazidim- Avibaktam'ın in Vitro Etkinliğinin Araştırılması. Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2023;8(1):17-23

©Copyright 2022 by the "International medical Education Library" The QMEL.org
Journal of Immunology and Clinical Microbiology published by Cetus Publishing.



Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2022 Open Access (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>)
Creative Commons Attribution Non-Commercial License: The articles in the Journal of Immunology and Clinical Microbiology are open access articles licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Abstract

Objectives: In recent years, isolates with multi-drug resistance have increased among Enterobacteriaceae family members all over the world, and has led to difficulties in the treatment of infections. The aim of this study was to investigate the in vitro efficacy of ceftazidime-avibactam against extended spectrum beta-lactamase producing and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates.

Methods: A total of 114 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* species isolated from various samples sent to our laboratory were included in the study. Identification and antimicrobial susceptibility of isolates were performed using automated systems. Disc diffusion test with CAZ/AV 10/4 mg (Bioanalyse) to determine the susceptibility of isolates to ceftazidime avibactam; European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) guideline was used for the evaluation of zone diameters.

Results: A total of 114 Enterobacterales strains, 42 (36.8%) *Escherichiae coli* and 72 (63.2%) *Klebsiella pneumoniae*, were included in the study. 44.7% of the strains were isolated from urine samples. While 67 (58.8%) of all isolates were susceptible to carbapenems, 47 (41.2%) were found to be resistant to carbapenems. While 103 (90.4%) were susceptible to ceftazidime avibactam, 11 (9.6%) were found to be resistant.

Conclusion: Ceftazidime-avibactam is the best available treatment for extended-spectrum beta-lactamase-producing or carbapenem-resistant strains of *Enterobacteriaceae* other than Metallo- β -lactamase, when available and price permits.

Keywords: Extended Spectrum Beta-Lactamase, Carbapenem, *Enterobacteriaceae*, Ceftazidime-Avibactam

GİRİŞ

Enterobacteriaceae üyeleri insanlarda üriner sistem enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, bakteriyemi ve sepsis gibi çok ciddi enfeksiyonlara neden olabilen yaygın patojenlerdir (1). Günümüzde antibakteriyel dirençle ilgili endişeler dünya çapında artmaya devam etmektedir ve çoklu ilaca dirençli (ÇİD) organizmalara ikincil enfeksiyonların yönetimi küresel bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Tedavisinde güçlük yaşadığımız öncelikli etkenler ÇİD Gram-negatif bakterilerdir ve bu mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlar hastalarda artmış mortalite ve morbidite ile ilişkilidir. Bununla birlikte antibiyotik direnci sıklığında meydana gelen artış dünya çapında antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz şekilde artmış kullanımı ile sonuçlanmaktadır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde karbapenemler

oldukça etkili olduğu için sıklıkla birinci basamak antibiyotikler olarak kullanılır. Ancak GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'nin neden olduğu enfeksiyon oranlarındaki artış yıllar içinde karbapenemlerin kullanım sıklığının ve karbapenem direnç oranlarında artışa neden olmuştur (2-4). Bu sebeple bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için yeni antibiyotiklere gereksinim duyulmaktadır.

Seftazidim-avibaktam, üçüncü kuşak geniş spektrumlu sefalosporin olan seftazidim ile β -laktamaz inhibitörü olan avibaktamın bir kombinasyonudur. Avibaktam, beta laktam yapısında olmayan, diazobisikloktan yapıda bir betalaktamaz inhibitörüdür. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'yı içeren geniş Gram negatif etkinliği mevcuttur (5). Bunun yanında anaeroblar ve gram pozitiflere de minimal etkinlik gösterir. Seftazidim-avibaktam intraabdominal enfeksiyonlar ve komplike üriner sistem enfeksiyonları için

2015 yılında, hastane kökenli ve ventilatör ilişkili pnömoni için 2018 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı almıştır (6). Bununla birlikte Avrupa İlaç Ajansı (EMA) sınırlı tedavi seçeneği bulunan aerobik Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında da kullanımını 2018'de onaylamıştır. Ülkemizde ise 2019 yılı Ekim ayında ruhsat almıştır (7).

Bu çalışmanın amacı, Samsun Üniversitesi, Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına yoğun bakım ünitelerinden gönderilen örneklerden izole edilen, GSBL üreten ve karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarını içeren toplam 114 adet Enterobacteriaceae klinik izolata karşı seftazidim-avibaktamın in vitro etkinliğinin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Samsun Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirilmiştir (SBÜSEAH-GOKA/2020/15/7).

Ocak 2021-Eylül 2022 tarihleri arasında Samsun Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na yoğun bakım ünitelerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 114 adet tümü GSBL pozitif *Enterobacteriaceae* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Her hastadan tek izolat çalışmaya dahil edilmiştir.

Bakterilerin tanımlanmasında, antibiyotik duyarlılıklarının ve GSBL üretiminin belirlenmesinde Vitek 2 (bioMerieux, Fransa) tam otomatize sistem kullanılmıştır. GSBL doğrulama testi olarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (8) dökümanlarına göre; hem seftazidim, seftazidim-klavulanik asit hem de sefotaksim, sefotaksim-klavulanik asit disklerinin kullanıldığı disk difüzyon testi (kombine disk metodu) çalışılmıştır. Karbapenemazların varlığı, CarbaNP testi ile fenotipik olarak tespit edilmiştir (8). Bir kanlı agar besiyerinden bir öze dolusu bakteri kolonisi, 200 µl Tris-HCl 20 mmol/L lizis tamponunda (B-PERII, Bakteriye Protein Ekstraksiyon Reaktif; Thermo Scientific, ABD) süspansiyon edildi. Oda sıcaklığında

30 dakika inkübe edildikten sonra 100 µl süspansiyon alındı ve 6 mg/L imipenem monohidrat (Sigma, Fransa) içeren bir fenol kırmızısı solüsyonu ile karıştırıldı. 35 °C'de 2 saatlik inkübasyon süresinden sonra renk kırmızıdan sarıya dönerse pozitif sonuç olarak kabul edildi. Renkte herhangi bir değişiklik gözlenmediğinde sonuç negatif olarak kabul edildi (8).

İzolatların seftazidim avibaktama duyarlılıklarının saptanması amacıyla CAZ/AV 10/4 mg (Bioanalyse) ile disk difüzyon testi; zon çaplarının değerlendirilmesi için European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rehberi kullanılmıştır. Enterobacterales için seftazidim avibaktam zon çapı sınır değerleri EUCAST rehberinde "≥13mm duyarlı, <13mm dirençli" olarak belirtilmiştir (9). Çalışmamızda, kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 kullanılmıştır.

İstatistik Analiz

Veriler, SPSS versiyon 17.0 yazılımı (SPSS Inc, Chicago, Illinois, ABD) yazılımı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Tanımlamada veriler ortalama, standart sapma, sıklık ve yüzde olarak saptanmıştır.

BULGULAR

Çalışmamıza çeşitli numunelerden izole edilen; 42 tanesi (%36.8) *E.coli* ve 72 tanesi (%63,2) *K.pneumoniae* olmak üzere toplam 114 tane Enterobacteriaceae suşu dahil edildi. Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalaması 70.63±14.597 olarak bulundu. Hastaların %51.8'i (n=59) erkek, 48,2'si (n=55) kadındı. Hastaların hepsi yoğun bakımda yatan hastalardan oluşmaktaydı. Suşların %44.7'si idrar örneklerinden izole edilmiştir. Suşların izole edildiği örneklerin dağılımı Tablo1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. GSBL(+) *Enterobacteriaceae* izole edilen örneklerin dağılımı

Örnek türü	Sayı	(%)
idrар	51	(44.7)
yara	20	(17.5)
balgam	12	(10.5)
TAK	10	(8.8)
kan	20	(17.5)
BOS	1	(0.9)
Total	114	(100)

TAK: Trakeal aspirat kültürü

Tüm izolatların 67 (%58.8)'si karbapenemlere duyarlı iken, 47 (%41.2)'si karbapenemlere dirençli olarak bulundu. Karbapenem dirençli izolatların hepsi CarbaNP testi ile fenotipik olarak pozitif tespit edildi. İzolatların 103 tanesi (%90.4) seftazidim avibaktama duyarlı iken, 11 tanesi (%9.6) dirençli idi. GSBL üreten ve karbapenem dirençli Enterobacteriaceae izolatlarının seftazidim-avibaktama duyarlılıkları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2. GSBL üreten ve karbapenem dirençli Enterobacteriaceae izolatlarının seftazidim-avibaktama duyarlılıkları

	CZA duyarlı		CZA dirençli	
	n	(%)	n	(%)
GSBL üreten izolat (n:67)	62	(92.5)	5	(7.5)
<i>K.pneumoniae</i> (n:26)	23	(88.5)	3	(11.5)
<i>E.coli</i> (n:41)	39	(95.1)	2	(4.9)
Karbapenem dirençli (47)	41	(87.2)	6	(12.8)
<i>K.pneumoniae</i> (n:46)	40	(87)	6	(13)
<i>E.coli</i> (n:1)	1	(100)	0	(0)
Toplam (n:114)	103	(90.4)	11	(9.6)
<i>K.pneumoniae</i> (n:72)	63	(87.5)	9	(12.5)
<i>E.coli</i> (42)	40	(95)	2	(5)

CZA: Seftazidim avibaktam

TARTIŞMA

Enterobacteriaceae ailesi üyeleri arasında klinik örneklerden en sık izole edilen türler *E. coli* ve *K. pneumoniae*'dir (10,11). Çoklu ilaca dirençli *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ya ikincil enfeksiyonlara karşı en etkili antibakteriyel karbapenemler olarak kabul edilir. Ancak karbapenemlerin yaygın kullanımı ve karbapenemlere dirençli Enterobacteriaceae'nin (CRE) ortaya çıkması ve geniş çapta yayılması, klinikte bu enfeksiyonların tedavisini güçleştirmektedir (12).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Şubat 2017'de "ilk kez" insan sağlığı üzerinde en büyük tehdit oluşturma ve yeni antibiyotik geliştirilmesi aciliyetine göre bakterilerde öncelikli bir sınıflandırma yapmıştır ve bu listeyi kritik, yüksek ve orta öncelikli patojenler olmak üzere üç bölüme ayırmıştır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten Enterobacteriaceae ve

karbapenem dirençli Enterobacteriaceae, bu listenin "kritik" bölümünde yer almakta ve bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için yeni antibiyotiklere gereksinim duyulmaktadır (13).

Karbapenemler (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) GSBL üreten mikroorganizmalar için oldukça etkili, sıklıkla başvuru birinci seçenek antibiyotiklerdir. Ancak, yıllar içerisinde GSBL üreten Enterobacteriaceae üyelerinin neden olduğu enfeksiyonların artmasına paralel olarak karbapenemlerin sıklıkla kullanılması beraberinde karbapenem direnç oranlarında artışa neden olmuştur (14-15).

CZA, geniş spektrumlu β -laktamaz-, AmpC-, *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz- ve OXA-48 üreten Enterobacteriaceae ve çok ilaca dirençli *P. aeruginosa* izolatları dahil olmak üzere birçok önemli Gram-negatif patojene karşı mükemmel in vitro aktiviteye sahiptir; metallo- β -laktamaz üreten suşlara karşı aktif değildir (4).

Çalışmamıza dahil edilen toplam 114 GSBL üreten Enterobacteriaceae türünden 67'si (%58,8) karbapenemlere duyarlı, 47'si (%41.2) karbapenemlere dirençli olarak tespit edilmiştir. Dirençli izolatların 46'sı *K. pneumoniae* bir tanesi *E. coli* olarak tanımlanmıştır. Karbapenem direncinin en sık saptandığı tür *K. pneumoniae* (%97.8) olarak tespit edilmiştir. Sonuçlarımız literatürdeki çalışmalar ile benzerlik göstermiştir. Bu çalışmalarda karbapenemaz üretiminin en yaygın olarak *K. pneumoniae*'da, ardından *E. coli*'de olduğu bildirilmiştir (16-18). Güzel ve ark. karbapenem direnç oranlarını *Klebsiella spp.* ve *E. coli*'de sırasıyla %87.3 ve %12.6 olarak saptamışlardır (16). Çaycı ve ark. yaptıkları çalışmada karbapenem direnç oranlarını *Klebsiella spp.* için %71.43 ve *E. coli* için %1.54 olarak bildirmişlerdir (17). Türkiye'de yapılan çok merkezli bir çalışmada karbapenem direnç oranları *Klebsiella spp.* ve *E. coli* için sırasıyla %86.5 ve %13.5 olarak bulunmuştur (18). Çalışmamızda tüm izolatların 67'si (%58.8) karbapenemlere duyarlı, 47'si (%41.2) karbapenemlere dirençli bulunmuştur. *K.*

pneumoniae için karbapenem direnci %97.8 iken 42 *E.coli* izolatının sadece bir tanesinde karbapenem direnci saptanmıştır.

Asya-Pasifik ülkelerindeki INFORM Küresel Gözetim Programı sonuçlarına göre Asya-Pasifik ülkelerinin her birinde *Enterobacteriaceae* izolatları için CZA duyarlılığının %99.1-100 arasında değiştiği ve CZA'nın GSBL-pozitif izolatların %99.6'sını inhibe ettiği bildirilmektedir (19). Çin'den bildirilen başka bir çalışmada *E.coli*'nin CZA'ya duyarlılığı %96.8 olarak bulunurken, karbapenem dirençli *E. coli*'nin CZA'ya duyarlılığın %28.6'ya düştüğü belirtilmiştir. Yazarlar bunun sebebinin karbapenem dirençli *E. coli*'nin %67.9'unun blaNDM pozitif olmasına bağlamışlardır (20). Toplum kökenli idrar yolu infeksiyon etkeni GSBL üreten *E. coli* izolatlarının CZA'ya in vitro antimikrobiyal duyarlılığının araştırıldığı bir diğer çalışmada; CZA'ya direnç saptamamışlardır. Bunun nedeninin çalışmadaki izolatlarda karbapenem direncinin olmaması olarak açıklamışlardır (21). Başka bir çalışmada Alatoon ve ark. 60 karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatının (49 *K. pneumoniae* ve 11 *E. coli*) test edildiği çalışmalarında CZA'ya %45 duyarlılık bildirmişlerdir (22). Güzel M et al. çalışmalarında CZA'ya duyarlılık oranlarının *K. pneumoniae* için %76 ve *E. coli* için %78 olduğunu bildirmişlerdir (16). Bu sonuçlara benzer şekilde bizim çalışmamızda CZA duyarlılık oranları *K. Pneumoniae* için %87.5 ve *E. coli* için %95.2 olarak saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 114 suşun 103'ü (%90,4) CZA'ya duyarlı iken, 11 (%9.6) izolat dirençli olarak tespit edilmiştir. Bu bulgular çalışmalarda da belirtildiği gibi CZA'nın GSBL üreten ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatları için iyi bir seçenek olduğunu göstermektedir (23).

Çalışmamızda izolatların kolistin duyarlılıkları otomatize sistemlerde çalışıldığından ve EUCAST'ın önerdiği sıvı mikrodilüsyon ile doğrulanmadığından veriler paylaşılmamıştır. Suşların kolistin duyarlılıklarının verilmemiş olması ve dahil edilen karbapenem dirençli suşların karbapenemaz genlerinin tespit edilmemiş olması çalışmamızın kısıtlı yönleri olarak değerlendirilebilir.

SONUÇ

Çalışmamızın sonuçlarına göre yüksek dirençli gram negatif patojenlerin tedavisi için yeni ajanların geliştirilmesi kritik öneme sahiptir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, GSBL üreten ve/veya Metallo-β-laktamaz dışında karbapenemaz aktivitesine sahip *Enterobacteriaceae* suşları için CZA'nın ümit verici olduğunu göstermektedir. Ancak ülkemizde CZA'ya ulaşımın ve maliyetinin de kullanımı için önemli etkenler olduğu unutulmamalıdır.

BİLDİRİMLER

Çıkar Çatışması:

Yazarlar arasında çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek:

Bu çalışmada maddi destek alınmamıştır.

Etik Onay:

Çalışmamız için Samsun Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Girişimsel olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay (SBÜSEAH-GOKA/2020/15/7) alındı. Çalışmamız Helsinki Deklerasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapılmıştır.

Yazar katkıları:

Çalışma konsepti/Tasarımı: MB, Hİ, EB, SG, Veri toplama: MB,EB,SG, Veri analizi ve yorumlama: MB, Hİ, EB, Yazı taslağı: MB, SG, İçeriğin eleştirel incelenmesi: MB, Hİ, EB, SG, Son onay ve sorumluluk: MB, Hİ, EB, SG, Teknik ve malzeme desteği; MB, Hİ

KAYNAKLAR

1. Özinel MA. *Enterobacteriaceae*. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (Eds.). 'Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi: Etkenlere Göre Enfeksiyonlar' kitabı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2008;2126- 36.
2. Sheu CC, Chang YT, Lin SY, Chen YH, Hsueh PR. Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: An Update on Therapeutic Options. *Frontiers in microbiology* 2019;10: 80. Doi: 10.3389/fmicb.2019.00080.
3. Kaye KS, Pogue JM. Infections Caused by Resistant Gram-Negative Bacteria: Epidemiology and Management. *Pharmacotherapy*

- 2015;35(10): 949–962. Doi: 10.1002/phar.1636.
4. Shirley M. Ceftazidime-Avibactam: A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs* 2018 Apr;78(6):675-692. Doi: 10.1007/s40265-018-0902-x. PMID: 29671219.
 5. Mashni O, Nazer L, Le J. Critical Review of Double-Carbapenem Therapy for the Treatment of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *The Annals of pharmacotherapy* 2019;53(1): 70–81. Doi: 10.1177/1060028018790573.
 6. Doi, Yohei. Treatment Options for Carbapenem-resistant Gram-negative Bacterial Infections. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 2019. 69. S565-S575. 10.1093/cid/ciz830.
 7. Ayhan M. Çoklu İlaça Dirençli Gram-negatif Mikroorganizmalarla Gelişen Enfeksiyonlarda Yeni Tedavi Seçenekleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2020;73(2):96-101. Doi: 10.4274/atfm.galenos.2020.92408
 8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 24th informational supplement. CLSI Document M100-S24, CLSI, Wayne, PA, 2014.
 9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0, 2022.
 10. Martin RM, Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 2018;8: 4. Doi: 10.3389/fcimb.2018.00004.
 11. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature reviews Microbiology* 2015;13(5): 269–284. doi: 10.1038/nrmicro3432.
 12. Zhang W, Guo Y, Li J, et al. In vitro and in vivo bactericidal activity of ceftazidime-avibactam against Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Resist Infect Control* 2018 Nov 21;7:142. Doi:10.1186/s13756-018-0435-9.
 13. WHO. World Health Organization. [https://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-whopublishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed] (Erişim tarihi: 03 Ekim 2022)
 14. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *Int J Med Microbiol* 2010;300(6):371-9. Doi: 10.1016/j.ijmm.2010.04.005.
 15. Altınkanat Gelmez G, Söyletir G. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten Enterobacteriaceae'larda mutant engelleme konsantrasyonunun saptanması. *Experimed* 2018;8(1):1-6. Doi: 10.26650/experimed.2018.377256
 16. Güzel M, Öcal D, Tokar Önder İ, Akdoğan D, Bahar Erdem G, Akpınar O. Comparison of in Vitro Antimicrobial Efficacy of Ceftolozane-Tazobactam and Ceftazidime-Avibactam Combination Against Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Species Isolated from Various Clinical Specimens. *Konuralp Medical Journal* 2022;14(1): 75-80.
 17. Çaycı YT, Bıyık İ, Çınar C, Birinci A. Antimicrobial Resistance of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolates Between the Years of 2015-2018. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* 2020;50(3):134-140.
 18. Çakar A, Akyön Y, Gür D, Karatuna O, Ögünç D, Özhak Baysan B et al. Investigation of carbapenemases in carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2014 in Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2016;50(1): 21-33.
 19. Karlowsky JA, Kazmierczak KM, Bouchillon SK, de Jonge BLM, Stone GG, Sahm DF. In Vitro Activity of Ceftazidime-Avibactam against Clinical Isolates of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* Collected in Asia-Pacific Countries: Results from the INFORM Global Surveillance Program, 2012 to 2015. *Antimicrob Agents Chemother* 2018;62(7): pii: e02569- e02517.
 20. Yin D, Wu S, Yang Y, et al. China Antimicrobial Surveillance Network (CHINET) Study Group. Results from the China Antimicrobial Surveillance Network (CHINET) in 2017 of the In Vitro Activities of Ceftazidime-Avibactam and Ceftolozane-Tazobactam against Clinical Isolates of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2019;63(4): e02431-e02418.

21. Caine E , Koyuncu Ozyurt O, Ongut G, Kasaroglu K , Yıldız E, Ogunc D, et al.. In Vitro Activities of Ceftazidime-Avibactam and Comparator Antimicrobial Agents Tested against ESBL Producing Urinary E. coli Isolates. *Journal of Microbiology and Infectious Disease* 2019;09(03): 112-115. Doi: 10.5799/jmid.614195.
22. Alatoon A, Elsayed H, Lawlor K, AbdelWareth L, El-Lababidi R, Cardona L, et al. Comparison of antimicrobial activity between ceftolozane–tazobactam and ceftazidime–avibactam against multidrugresistant isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Infectious Diseases* 2017;62: 39-43.
23. Isler B, Aslan AT, Akova M, Harris P, Paterson DL. Treatment strategies for OXA-48-like and NDM producing *Klebsiella pneumoniae* infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2022;20(11): 1389-1400. Doi: 10.1080/14787210.2022.2128764.

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

PCR Diagnosis, Epidemiological and Clinical Data of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virüs in Tokat/Türkiye

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsünün Tokat/Türkiye’de PCR Tanısı, Epidemiyolojik ve Klinik Verileri

 Metin Özdemir¹  Yelda Dağcıoğlu²  Yunus Bulut³

¹ Samsun Gazi State Hospital, Medical Microbiology, Samsun, Türkiye

² Tokat Gaziosmanpaşa University, Health Research and Application Center, Medical Genetics Laboratory, Tokat, Türkiye

³ Tokat Gaziosmanpaşa University, Faculty of Medicine, Medical Microbiology, Tokat, Türkiye

Received: 27.02.2023 Accepted: 13.03.2023

Abstract

Objectives: To contribute to case management algorithms and guidelines by evaluating the clinical symptoms, laboratory data, risk factors and mortality rates of patients admitted to health institutions with tick bite in Tokat.

Methods: The virus determination was made from the blood by conventional PCR in 141 patient. Epidemiological data such as socio-demographic variables and risk factors were compared with clinical symptoms, biochemical and hematological parameters.

Results: Of the patients, 83 (58.9%) were male, 84(59.6%) were positive. Five patients (5.95%) died in the PCR-positive group. Fever and tick contact history rates was found to be significantly higher in the PCR positive patients than the PCR negative group. Thrombocytopenia, leukopenia, aspartate transaminase (AST) elevation were found to be significantly higher in PCR positive patients. Despite the mean alanine transferase (ALT) was not significantly higher, the increase in the number of patients exceeding the reference range was found to be significantly higher in PCR-positive group ($p<0.05$).

Conclusion: PCR diagnosis has an active role in the incubation and prehemorrhagic period diagnosis of cases with a history and risk factors, clinical symptoms and compatible hematological and biochemical parameters in the endemic region. The place of ALT and AST elevation in the case management algorithm should be better clarified. Mortality rates of the disease can be reduced by providing the health services quality and a well-functioning surveillance system. Efforts to increase the knowledges of people living in rural areas about the disease may be effective in controlling the disease.

Keywords: PCR Diagnosis, Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Epidemiological and Clinical Data

Corresponding author: Metin ÖZDEMİR, Samsun Gazi State Hospital, Medical Microbiology, Samsun, Türkiye.

E-mail: ozdemir_metin@hotmail.com, **Telefon:** +90 505 398 28 15

Cite this article: Özdemir M, Dağcıoğlu Y, Bulut Y. PCR diagnosis, epidemiological and clinical data of Crimean-Congo hemorrhagic fever virüs in Tokat/Türkiye. Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2023;8(1):24-31

©Copyright 2022 by the "International medical Education Library" The QMEL.org
Journal of Immunology and Clinical Microbiology published by Cetus Publishing.



Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2022 Open Access (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>)

Creative Commons Attribution Non-Commercial License: The articles in the Journal of Immunology and Clinical Microbiology are open access articles licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Öz

Amaç: Tokat ilinde kene ısırığı ile sağlık kuruluşlarına başvuran hastaların klinik semptomları, laboratuvar verileri, risk faktörleri ve mortalite hızlarını değerlendirerek vaka yönetimi algoritmalarına ve kılavuzlarına katkıda bulunmaktadır.

Yöntem: 141 hastanın kanında konvansiyonel PCR ile virus tayini yapılmıştır. Sosyodemografik değişkenler ve risk faktörleri gibi epidemiyolojik veriler, klinik semptomlar, biyokimyasal ve hematolojik parametreler ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Hastaların 83'ü (%58,9) erkek ve 84'ü (%59,6) pozitif. PCR pozitif grupta beş hasta (%5,95) öldü. Ateş ve kene temas öyküsü oranları PCR pozitif hastalarda PCR negatif gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Trombositopeni, lökopeni, aspartat transaminaz (AST) yüksekliği PCR pozitif hastalarda anlamlı olarak yüksek bulundu. Ortalama alanin transferaz (ALT) anlamlı olarak yüksek olmamasına rağmen, referans aralığı aşan hasta sayısındaki artış, PCR pozitif grupta anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$).

Sonuç: PCR tanısı, endemik bölgede öyküsü ve risk faktörleri, klinik semptomları ve uyumlu hematolojik ve biyokimyasal parametreleri olan olguların inkübasyon ve prehemorajik dönem tanısında etkin bir role sahiptir. ALT ve AST yükselmesinin vaka yönetimi algoritmasındaki yeri daha iyi aydınlatılmalıdır. Sağlık hizmetlerinin kalitesi ve iyi işleyen bir sürveyans sistemi sağlanarak hastalığa bağlı ölüm oranları azaltılabilir. Kırsal kesimde yaşayan insanların hastalık hakkındaki bilgilerinin artırılmasına yönelik çalışmalar hastalığın kontrol altına alınmasında etkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: PCR Teşhisi, Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi, Epidemiyolojik ve Klinik Veriler

INTRODUCTION

Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF), endemic to Türkiye, is a tick-borne viral zoonosis with *Hyalomma marginatum* as the main vector, which is widely seen in parts of Africa, Eastern Europe, the Mediterranean, Northwest China, Central Asia, Southern Europe, the Middle East and India (1). CCHF has a mortality rate of approximately 30% and has a potential for hospital-acquired spread (2). Early diagnosis of CCHF is important for case management and prevention of nosocomial infections (3). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) is a lipid-enveloped segmented, linear, single-stranded, negative-sense RNA virus belonging to the order Bunyavirales, family Nairoviridae, genus Orthonairovirus (4). Although their sensitivity is discussed, PCR-based tests have become the gold standard in the diagnosis of CCHF (5). The Ministry of Health of The Republic of Türkiye has developed an approach and

case management algorithms for people who come with tick bites (6).

In this study, epidemiological data such as mortality rates, socio-demographic variables (gender, age groups, occupation) and risk factors, as well as clinical symptoms and biochemical/hematological parameters that determine the characteristic findings of the disease, were aimed to investigate to contribute to these algorithms and guidelines.

MATERIALS AND METHODS

Case Definition

CCHF case definition criteria were established by the CCHF working group of the Ministry of Health of the Republic of Türkiye (6). Accordingly, patients with the following two criteria were evaluated as suspected CCHF cases and included in the study:

Patients with a history of epidemiological risk factors for CCHF:

Two of the symptoms of sudden onset fever (axillary $>38^{\circ}\text{C}$), headache, widespread body pain, arthralgia, weakness, diarrhea and bleeding

Living in an endemic area or within the last 2 weeks; endemic area visit, history of contact with ticks, contact with animal bodily fluids, history of contact with a patient diagnosed with CCHF.

Acute disease picture suggestive of Viral Hemorrhagic Fever

Thrombocytopenia (blood platelet count $<150 \times 10^9$ cells/Liter) and/or

Leukocytes below 4,000

Tests

Serum samples of 141 suspected-possible CCHF disease cases who applied to Tokat Gaziosmanpaşa University Health Research and Practice Center and health institutions in Tokat were included in the study. 10 ml venous blood samples were taken from each patient in gel tubes for PCR and biochemical tests and 2.5 ml in EDTA tubes for hematological parameters.

In order to detect CCHF virus from blood samples, RNA isolation was performed according to the manufacturer's instructions using the Ribo-Sorb RNA/DNA extraction kit of Sacace Biotechnologies (Italy). Following RNA isolation, RNA was converted to cDNA by the Reverse Transcriptase step and PCR (iCycler IQ - BioRad Lab., USA) was performed.

Hemogram (Cell-Dyn 3700 (Abbott Diagnostics, Abbott Park, Ill., USA) and ALT and AST tests were studied on the "Dimension® Clinical Chemistry System" DADE BEHRING RxLMax (Dade Behring Inc. Newark, DE 19714, USA) device.

Statistical Analysis

Data analyse was made using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) V.15 package program. Continuous data are shown with their medians and interquartile ranges because they do not show normal distribution. The Man Whitney-U test was used to determine whether there was a statistically significant difference between the variables in the PCR positive and PCR negative groups and those that did not show

normal distribution. Chi-square (Fisher's Exact Test) analysis was used to examine the distribution differences of categorical data in both groups.

In this study, epidemiological data such as mortality rates, socio-demographic variables (gender, age groups, occupation) and risk factors were compared with clinical symptoms, biochemical and hematological parameters that determine the characteristic findings of the disease.

RESULTS

Of the patients, 83 (58.9%) were male, 84 (59.6%) were PCR-positive. Five (5.95%) patients in the PCR positive group, and two in the PCR negative group died, and there was no statistically significant difference between the groups ($p=0.701$). The ages of those who died in the PCR positive group were 24, 34, 45, 64 and 75, and it was not seen in the pediatric age groups.

The mean age in PCR positive and PCR negative groups were, respectively, 41.3 and 36.0. No significant difference were found between the groups in terms of gender, age, and occupation ($p>0.05$ for all) (Table 1).

Fever ($p=0.036$) and tick contact history ($p<0.001$) rates was found to be significantly higher in the PCR positive patients than the PCR negative group (Table 2).

Thrombocytopenia ($p=0.001$), leukopenia ($p=0.001$) aspartate transaminase (AST) elevation ($p=0.01$) were found to be significantly higher in PCR positive patients. Despite the mean alanine transferase (ALT) was not significantly higher, the increase in the number of patients exceeding the reference range was found to be significantly higher in PCR-positive group ($p=0.001$) (Table 3).

Table 1. Socio-demographic distribution

	PCRnegative (n=57)		PCRpositive (n=84)		Total (n=141)	p
	n	(%)	n	(%)		
Gender						
Male	31	(54.4)	52	(61.9)	83	0.388
Female	26	(45.6)	32	(38.1)	58	
Age groups						
1-15	10	(17.5)	8	(9.5)	18	0.552
16-25	10	(17.5)	16	(19)	26	
26-45	17	(29.8)	22	(26.2)	39	
46-65	16	(28.2)	28	(33.3)	44	
65+	4	(7)	10	(12)	14	
Occupation						
Farmer	24	(42.1)	27	(32.1)	51	0.071
Housewife	16	(28.1)	27	(32.1)	43	
Student/re-school	13	(22.8)	12	(14.4)	25	
Other	4	(7)	18	(21.4)	22	

Table 2. Clinical symptoms

Symptom	PCR negative (n=57)		PCR positive (n=84)		Total (n=141)	p
	n	(%)	n	(%)		
Fever	50	(90.9)	83	(98.8)	133	0.036
Weakness	48	(87.3)	79	(95.2)	127	0.088
Vomiting	9	(16.4)	18	(21.4)	27	0.305
Headache	42	(76.4)	74	(88.1)	116	0.057
Nausea	31	(56.4)	46	(54.8)	77	0.496
Stomachache	31	(56.4)	54	(64.3)	85	0.224
Diarrhea	4	(7.3)	9	(10.8)	13	0.349
Common Body Pain	45	(81.8)	73	(86.9)	118	0.280
Hemorrhage	6	(10.9)	7	(8.3)	13	0.410
History						
Tick contact / attachment	34	(59.6)	79	(94.0)	113	<0.001
Animal theme	29	(50.8)	56	(66.7)	85	0.071
Rural story	37	(64.9)	61	(72.6)	98	0.312
Animal blood contact	1	(1.7)	1	(1.2)	2	0.637
patient blood contact	1	(1.7)	0	(0)	1	0.396
Similar complaint around	15	(26.3)	14	(17.7)	29	0.099

Table 3. Hematological and biochemical tests

Parameter	Median (IQR*)	PCR negative (n=57)		PCR positive (n=84)		p
		n	(%)	n	(%)	
Platelets	149.000/mm ³ (81.500-247.500)	33	(57.8)	80	(95.2)	0.014
		n (%) (cytopenia)				0.001
Leukocyte	4.200/mm ³ (2.900-6.450)	31	(54.3)	80	(95.2)	0.008
		n (%) (cytopenia)				0.001
AST	41 U/L (28.5-78.5)	33	(57.8)	60	(71.4)	0.010
		n (%) (over RI**)				0.003
ALT	36 U/L (23-57)	22	(38.5)	54	(64.2)	0.071
		n (%) (over RI)				0.001

*Inter Quartile Range (IQR)

** Reference Interval(RI)

DISCUSSION

In the meta-analysis conducted by Nasirian in 2020, it was determined that there was a linear increase in CCHF cases between 1944 and 2017 (7). CCHF disease was detected in 59.6% of the samples obtained from patients who met the criteria in our region. Türkiye has already been defined as an endemic region by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (8).

In this study, conventional RT-PCR was performed and 84 (59.6%) of the 141 investigated patients were found to be positive. However, this rate does not reflect the general population, as the study was conducted in a selected patient group, following the criteria specified by the

Ministry of Health. However, it was reported in the comparative studies of Duh et al. that these rates may be higher with the possibility of Real-time RT-PCR (9). It is important that the result is obtained between 4-6 hours with the method used. The described criteria can be revised.

A total of 11,041 CCHF cases were reported between 2002 and 2018 in Türkiye, and the case-mortality rate is 4.8% (10). In this study, the rate was 5.95%, which was consistent with Türkiye in general. According to the data of the Ministry of Health in the years the study was conducted, the mortality rate was 6-8% in Türkiye (11). In the Nasirian meta-analysis, mortality rates were regionally higher than in our study; it was found 33.5% in Asia, 33.8% in Europe, and 22% in Africa (12). While the low number of cases in some regions may indicate high rates, high mortality rates are also common in regions with low access to healthcare. Phylogenetically, the Kosovo strain is close to the Türkiye strain (13). Considering the similarity of European strains and strains in Türkiye, the 25% high mortality rate in Kosovo can be explained by the quality of health care services. Similarly, as a result of the development of serological and molecular diagnostic methods in the neighboring country Iran, it was reported that the death rate decreased from 20% in 2000 to 2% in 2007 (14,15).

In the study, no deaths were observed in the pediatric age group. In a study conducted between 2000 and 2016 in the pediatric age group in Iran, the mortality rate was 11.8%. This may be associated with the higher incidence of mild to moderate cases, the quality of health care services, and a good surveillance system (16).

It has been shown in many studies that there is no statistically significant difference in the distribution according to gender distribution and age groups, and it is similar to this study (17).

In the research, when the occupational group that describes themselves as housewives is examined, it has been determined that they are related to agriculture. Farmer (32.1%) and housewife (32.1%) group constitute the largest group as the same group. In the

study conducted in Gümüşhane (18) and in the study conducted in Bolu (19), the occupational group dealing with agriculture and animal husbandry was the group in which the disease was most common. Again in Iran, the farmer group is the group in which the disease is most common (15).

Fever (98.8%), weakness (95.2%), headache (88.1%) and diffuse body pain (86.9%) were the most common clinical symptoms, and they were very consistent with the case definition of the Ministry of Health (7). The only finding that differed statistically from the negative group was fever. CCHF should be considered in individuals living in an endemic region or staying in this region for more than 2 weeks and presenting with these four most common clinical complaints. In a study conducted in Iran, fever was reported as 96.5%, muscle pain as 90.2% and hemorrhage at 89% (20). In this study, hemorrhage was 8.3%. The patients we studied may have applied in the early stages of tick exposure, in the incubation period or in the prehemorrhagic period. It is thought that informing the public about the disease through the press plays an important role.

The most common risk factors in the study were tick exposure/attachment (94%), rural history (72.6%), and animal contact (66.7%). The risk factor that differed statistically from the negative group was tick contact/attachment history. In a study conducted in Elazığ, tick contact history was found as 72.1% and rural history as 98.4% (21). Rural life and contact with livestock were noted as the most common risk factors in a study examining Afghanistan and Pakistan. The higher prevalence of vectorial diseases in rural people has been associated with social turmoil, economic situation, and ignorance of the potential risk of disease transmission (22).

In the study; thrombocytopenia and leukopenia were clearly observed in the PCR positive group. These two findings have been shown as prominent findings in many studies for CCHF disease (23). Hematological findings in the studies of Bakır (24) and Yılmaz (25) from our country were also quite compatible with the findings of this study. According to the results of the study,

the coexistence of thrombocytopenia and leukopenia shows the clinician that CCHF should be considered in the differential diagnosis as well as other hematological diseases.

In this study, in the PCR positive group, the AST level remained high and the number of patients exceeding the reference range increased. While the ALT level did not increase statistically, the number of patients above the reference range increased. Copper (24) and Swanepoel (26) showed in their studies that AST was similarly higher in patients with confirmed CCHF disease. In patients with leukopenia and/or thrombocytopenia with elevated AST and ALT, it is absolutely necessary to investigate CCHF disease, taking into account the history and risk factors. Compared to ALT, AST elevation is more significant for CCHF disease.

Thrombocytopenia, elevation of ALT and AST, which are criteria defined by Swanepoel et al. (26) to predict severity and mortality of the disease, were consistent with this study, whereas leukocytosis was inconsistent. Unlike the study of Swanepoel et al. (26), leukopenia was observed in this study. In parallel with the study of Swanepoel et al. (26) our mortality rate is 5.95% in patients with thrombocytopenia with ALT and AST levels exceeding the reference range.

CCHF is a fatal disease that is endemic in Türkiye. PCR plays an active role in the incubation and prehemorrhagic period diagnosis of cases with a history and risk factors, clinical symptoms, and compatible hematological and biochemical parameters in the endemic region. The place of ALT and AST elevation in the case management algorithm of the Ministry of Health of the Republic of Türkiye should be made more specific. Mortality rates of the disease can be reduced by providing quality health services and a well-functioning surveillance system. Although the disease is more common in rural areas, efforts to increase the knowledge level of people in these regions about the disease may be effective in controlling the disease. Epidemiological data, history of the disease, risk factors and clinical complaints are important data for

case diagnosis and management. In this study, it was determined that the disease did not discriminate between sexes, it was common in rural areas and agricultural workers, and tick contact, rural history and animal contact were the most common risk factors. The most common clinical symptoms are fever, weakness, generalized body pain, and headache. CCHF disease should be investigated in case one or more of thrombocytopenia, leukopenia and AST/ALT elevations are observed together with these findings.

ACKNOWLEDGEMENT

Ethical Declaration:

Before starting the study, the purpose of the study and the procedures to be performed were explained to the patient or their relatives, and their written consent was obtained, after obtaining the approval of the ethics committee of Gaziosmanpaşa University Faculty of Medicine with the decision no. 38 dated 27/03/2007.

Financial Support:

This study was supported by Gaziosmanpaşa University Scientific Research Projects Commission. (Project No: 2007-3).

Conflict of Interest:

All authors declare no conflict of interest.

Authorship Contributions

Concept: MÖ, YB, Design: MÖ, YB, Supervising: MÖ, YB, Financing and equipment: MÖ, YD, YB, Data collection and entry: MÖ, YD, Analysis and interpretation: MÖ, YD, YB Literature search: MÖ, Writing: MÖ, Critical review: MÖ, YB

REFERENCES

1. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *Journal of Medical Entomology* 1979; 15 (4): 307–417. <https://doi.org/10.1093/jmedent/15.4>.
2. Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral research* 2004; 64 (3): 145–160. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2004.08.001>
3. Ergönül Ö. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *The Lancet infectious diseases* 2006; 6(4): 203-214.

4. Garrison AR, Alkhovsky Альховский Сергей Владимирович SV, Avšič-Županc T, Bente DA, Bergeron É et al. Virus Taxonomy Profile: Nairoviridae. *The Journal of general virology* 2020; 101 (8): 798–799. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001485>
5. Wölfel R, Paweska JT, Petersen N, Grobbelaar AA, Leman PA et al. Virus detection and monitoring of viral load in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus patients. *Emerging infectious diseases* 2007; 13(7): 1097–1100. <https://doi.org/10.3201/eid1307.070068>
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (2022). KKKA Formlar (online). Website <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoonotikvektorel-kkka/formlar> [accessed 29 12 2022]
7. Nasirian H. New aspects about Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) cases and associated fatality trends: A global systematic review and meta-analysis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 2020; 69(), 101429. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101429>
8. Centers for Disease Control and Prevention (2022). Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) [online]. Website <https://www.cdc.gov/vhf/crimean-congo/index.html> [29 12 2022]
9. Duh D, Saksida A, Petrovec M, Dedushaj I, Avsic-Zupanc T. Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *Journal of virological methods* 2006; 133 (2): 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.11.006>
10. Çıtıl R, Eğri, M, Önder Y, Duygu F, Bulut YE et al. Determination of Seroprevalence and Risk Factors of Crimean-Congo Haemorrhagic Fever (CCHF) in the Endemic Region in Turkey: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Journal of tropical medicine* 2021; 9945089. <https://doi.org/10.1155/2021/9945089>
11. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (2022). KKKA İstatistik Verileri [online]. Website <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoonotikvektorel-kkka/istatistik> [accessed 29 12 2022]
12. Nasirian H. Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) seroprevalence: A systematic review and meta-analysis. *Acta tropica* 2019; 196: 102–120. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.05.019>
13. Gruber CEM, Bartolini B, Castilletti C, Mirazimi A, Hewson R et al. Geographical Variability Affects CCHFV Detection by RT-PCR: A Tool for In-Silico Evaluation of Molecular Assays. *Viruses* 2019; 11 (10): 953. <https://doi.org/10.3390/v11100953>
14. Ozdemir M. *Epidemiology and Laboratory Diagnosis of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. Diseases Transmitted by Ticks*. 1th ed. Nova Science Publishers, Inc. 2022. pp. 201–214. <https://doi.org/10.52305/MVXE4447>.
15. Chinikar S, Goya MM, Shirzadi MR, Ghiasi SM, Mirahmadi R et al. Surveillance and laboratory detection system of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Iran. *Transboundary and emerging diseases* 2008; 55 (5-6): 200–204. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2008.01028.x>
16. Aslani D, Salehi-Vaziri M, Baniyasi V, Jalali T, Azad-Manjiri S et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever among children in Iran. *Archives of virology* 2017; 162 (3): 721–725. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-3162-7>
17. Karakeçili F, Cikman A, Aydın M, Binay UD, Kesik OA et al. Evaluation of epidemiological, clinical, and laboratory characteristics and mortality rate of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in the northeast region of Turkey. *Journal of vector borne diseases* 2018; 55 (3): 215–221. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.249479>
18. Gürbüz E, Ekici A, Ünlü AH, Yılmaz H. Evaluation of seroprevalence and clinical and laboratory findings of patients admitted to health institutions in Gümüşhane with suspicion of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Turkish journal of medical sciences*. 2021; 51 (4): 1825–1832. <https://doi.org/10.3906/sag-2001-82>
19. Duran A, Küçükbayrak A, Ocak T, Hakyemez NI, Taş T et al., Karadağ, M., & Mengelodlu, Z. F. (2013). Evaluation of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bolu, Turkey. *African health sciences*, 13(2), 233–242. <https://doi.org/10.4314/ahs.v13i2.5>
20. Alavi-Naini, R., Moghtaderi, A., Koohpayeh, H. R., Sharifi-Mood, B., Naderi, M 2006. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Southeast of Iran. *The Journal of infection* 2006; 52 (5): 378–382. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2005.07.015>

21. Sağmak Tartar A, Balın ŞÖ, Akbulut A, Demirdağ K. Crimean Congo Hemorrhagic Fever in Eastern Turkey: Epidemiological and Clinical Evaluation. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2019; 43 (1): 26–29. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2019.6142>
22. Khurshid A, Hassan M, Alam MM, Aamir UB, Rehman L et al. CCHF virus variants in Pakistan and Afghanistan: Emerging diversity and epidemiology. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2015; 67: 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.03.021>
23. Mardani M, Keshtkar-Jahromi M. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Archives of Iranian medicine* 2007; 10 (2): 204–214.
24. Bakir M, Ugurlu M, Dokuzoguz B, Bodur H, Tasyaran MA et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures. *Journal of medical microbiology* 2005; 54 (Pt 4): 385–389. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.45865-0>
25. Yilmaz GR, Buzgan T, Irmak H, Safran A, Uzun R et al. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002-2007. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2009; 13 (3): 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.07.021>
26. Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, Leman PA, Mynhardt JH et al. The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Reviews of infectious diseases* 1989; 11 (4): 794–800. https://doi.org/10.1093/clinids/11.supplement_4.s794

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

Sağlık Çalışanlarının Cep Telefonlarındaki Bakteriyel Kontaminasyonun Araştırılması

Investigation of Bacterial Contamination on Mobile Phones of Healthcare Workers

 Ufuk Akbayırlı¹

¹ Bismil Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Diyarbakır, Türkiye

Geliş Tarihi: 13.03.2023 **Kabul Tarihi:** 22.03.2023

Öz

Amaç: Cep telefonları günlük yaşantımızın bir ihtiyacı olup, sağlık hizmeti sunumunda da önemli bir yere sahiptir. Sağlık çalışanları tarafından hastanede yaygın kullanılan cep telefonları, yüksek morbidite, mortalite ve artan hastaneye yatış maliyetleri ile ilişkilendirilen nozokomiyal enfeksiyonlar için risk oluşturmaktadır. Bu çalışmada sağlık çalışanlarının cep telefonlarındaki bakteriyel kontaminasyonun incelenmesi ve cep telefonu kullanım alışkanlıklarıyla olan ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışma hastanenin farklı birimlerinde görevli 89 sağlık çalışanı ile gerçekleştirilmiştir. Sağlık çalışanlarına telefon kullanım alışkanlıklarını sorgulayan anket uygulanmış, sonrasında bu kişilerin cep telefonu yüzeyinden kültür amacıyla sürüntü örneği alınarak mikrobiyolojik analiz gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilenlerin yaş ortalaması 35.8 ± 7.9 yıl olarak bulunmuştur. Çalışmaya alınanların %96.6'sının cep telefonunda üreme saptanmıştır. Üreme olanların %82.6'sında deri flora üyesi olarak kabul edilen mikroorganizma üremesi olduğu gözlemlenmiş, kalan %17.4'ünün telefonunda ise potansiyel patojen mikroorganizma üremesi olmuştur. Potansiyel patojen mikroorganizma olarak en fazla üreyen etkenin Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* olduğu görülmüş, onu *Acinetobacter baumannii* takip etmiştir. Çalışmada günde 10 ve üstünde el yıkayanlar ile 10'un altında el yıkayanlar, telefon temizliği yapanlar ve yapmayanlar ve çalışma ortamına cep telefonunu bırakanlar ve bırakmayanlar karşılaştırıldığında, cep telefonunda patojen üreme durumu açısından gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmiştir (sırasıyla $p < 0.001$, $p = 0.001$ ve $p < 0.001$).

Sonuç: Cep telefonları nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olabilecek mikroorganizmalar için bir rezervuar konumundadır. Sağlık çalışanlarının hasta hizmeti sunumunda cep telefonu kullanım alışkanlıkları gözden geçirilmeli ve gerekli tedbirlerin alınabilmesi için hastanelerde cep telefonu kullanım rehberleri geliştirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Cep Telefonları, Bakteriyel Kontaminasyon, El Hijyeni

Sorumlu Yazar: Ufuk AKBAYIRLI, Bismil Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Diyarbakır, Türkiye. **E-mail:** akbayirliufuk@gmail.com, **Telefon:** +90 412 415 57 77.

Nasıl Atıf Yapılmalı: Akbayırlı U. Sağlık Çalışanlarının Cep Telefonlarındaki Bakteriyel Kontaminasyonun Araştırılması. Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2023;8(1):32-39

Abstract

Objectives: Mobile phones are a necessity of our daily life and have an important place in the provision of health services. Mobile phones, which are widely used in hospitals by healthcare professionals, pose a risk for nosocomial infections, which are associated with high morbidity, mortality and increased hospitalization costs. In this study, it was aimed to examine the bacterial contamination on mobile phones of healthcare workers and to evaluate its relationship with mobile phone usage habits.

Methods: This study was carried out with 89 healthcare professionals working in different units of the hospital. A questionnaire questioning the phone usage habits of health workers was applied, and then microbiological analysis was carried out by taking swab samples from the cell phone surface of these people for culture purposes.

Results: The mean age of those included in the study was 35.8 ± 7.9 years. Reproduction was detected on mobile phones of 86 (96.6%) of those included in the study. Microorganism growth was observed in 71 (82.6%) of those who reproduced, which is considered as a member of the skin flora, and potential pathogenic microorganism growth was observed in the phones of the remaining 15 (17.4%). Methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* was found to be the most reproducing potential pathogen, followed by *Acinetobacter baumannii*. In the study, when those who wash their hands 10 or more times a day and those who wash their hands less than 10, those who do and do not clean their phones, and those who leave and do not leave their mobile phones in the working environment, there was a significant difference between the groups in terms of pathogen reproduction status on their mobile phones ($p < 0.001$, $p = 0.001$ and $p < 0.001$, respectively).

Conclusion: Cell phones are a reservoir for microorganisms that can cause nosocomial infections. Mobile phone usage habits of healthcare professionals in patient service delivery should be reviewed and mobile phone usage guides should be developed in hospitals so that necessary precautions can be taken.

Keywords: Mobile Phones, Bacterial Contamination, Hand Hygiene

GİRİŞ

Cep telefonlarının son yıllarda sağladığı kullanım kolaylığı, onu sosyal hayatımızın vazgeçilmez bir iletişim aracı haline getirmiştir. Günlük hayatta büyük oranda elde taşınan cep telefonları pek çok yüzeye temas etmektedir (1). Cep telefonu kullanımı günümüzde sağlık hizmeti sunumunda da önemli yer edinmiştir. Hastane ve diğer sağlık tesislerinde bölümler arası iletişimi kolaylaştırması ve hızlı etkileşime izin vermesi nedeniyle en çok tercih edilen iletişim aracı konumuna gelmiştir (2).

Telefonların farklı kullanıcılar tarafından kullanılması, onu bir dizi mikroorganizmaya maruz bırakmaktadır. Farklı mikroorganizmaların kişiden kişiye yayılmasına neden olarak deri yüzeyinde taşıyıcılığa yol açmaktadır. Cep telefonu kullanımı sırasında oluşan ısı da mikroorganizmaların üremesi için fırsat yaratmaktadır. Düzenli el dezenfeksiyonu

yapılmaması ve kötü el yıkama uygulamaları sonucunda cep telefonlarında bakteriyel kolonizasyona yatkınlık olduğunu gösteren veriler bulunmaktadır (3,4).

Derinin normal flora üyesi olarak kabul edilen *Staphylococcus epidermidis* ve insanlarda %20-50 oranında burun taşıyıcılığı da oluşturabilen *Staphylococcus aureus* başta olmak üzere stafilokoklar çevresel kontaminasyona oldukça sık neden olabilmektedir (5). Patojen mikroorganizma olarak çok çeşitli enfeksiyonlara yol açabilen başta *Escherichia coli* ve *Proteus mirabilis* olmak üzere enterik bakteriler ve nozokomiyal enfeksiyon etkenleri olarak izole edilen *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. gibi nonfermentatif bakteriler de cep telefonlarının yüzeyinde tespit edilmiştir. Etkenlerin cep telefonlarına taşınması genellikle kontamine eller yoluyla gerçekleşmektedir (6).

Sağlık çalışanlarının kontamine ellerinin, hastanede sağlık hizmeti ilişkili

enfeksiyonların gelişiminde kritik role sahip olduğu bilinmektedir (7). Sık el teması olan tansiyon manşonu, stetoskop gibi araçlar bu yayımda rezervuar görevi görmektedir. Tıbbi kayıt ve hastalık kontrolü gibi durumlar nedeniyle hastanede sıklıkla kullanımda olan cep telefonları da bakteriyel kontaminasyon barındırabilmesi nedeniyle enfeksiyon etkenlerinin sağlık çalışanları aracılığıyla hastalara yayılımında rol oynamaktadır (8). Cep telefonlarının hasta servisleri, yoğun bakım üniteleri ve laboratuvarlarda sağlık çalışanları tarafından sıklıkla kullanılması, bu cihazları mikroorganizmaların sağlık çalışanlarından hastalara bulaşımı ve hastalar arasında yayılımı konusunda ana rezervuarlardan biri konumuna getirmiştir (9).

Sağlık çalışanlarının cep telefonlarının mikrobiyal kontaminasyondan etkilendiği ve bu etkenlerin sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda kaynak olabileceğini gösteren çeşitli araştırmalar bulunmaktadır (10,11). Çalışmamızda sağlık çalışanlarının cep telefonlarındaki bakteriyel kontaminasyonun araştırılması ve elde edilen verilerin sağlık çalışanlarındaki telefon kullanım alışkanlığı ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

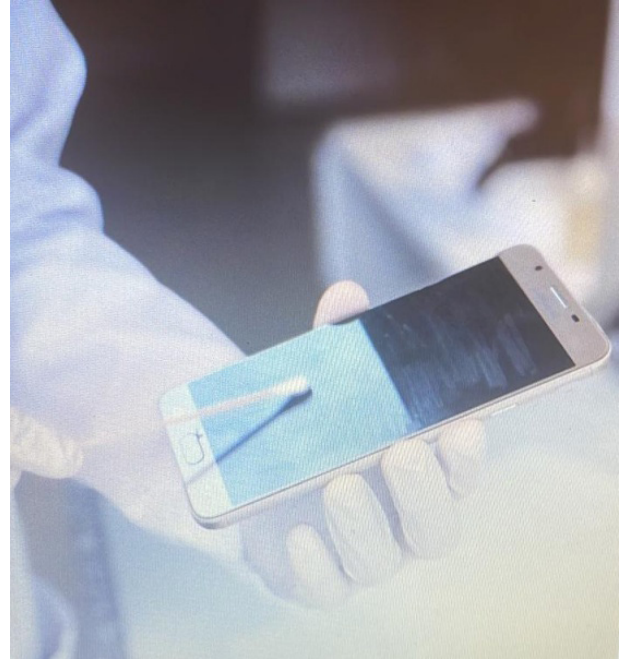
Etik İzin

Bu çalışma, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleşti (Tarih: 19/09/2018 ve Karar No: 2018/14.1). Çalışmamız Helsinki Deklarasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapıldı.

Çalışmanın Özellikleri

Çalışma, 01.01.2023 ile 31.01.2023 tarihleri arasında hastanemizin çeşitli birimlerinde görevli sağlık çalışanları ile kesitsel araştırma olarak tasarlandı. Çalışmaya hastanenin farklı birimlerinde görev alan 18 yaş üzeri toplam 89 kişi dahil edildi. Öncelikle, sağlık çalışanlarına çalışmanın amacı anlatılarak, çalışma hakkında bilgilendirme yapıldı. Bilgilendirmeden sonra, tamamen gönüllülük esasına dayanarak onamı alınanlar çalışmaya kabul edildi. Çalışmada, katılımcıların verileri anket yöntemi ile taranarak elde edildi. Katılımcılara, el yıkama ve hastanede telefon kullanma

alışkanlıklarını sorgulayan çok sorulu bir anket uygulandı. Ayrıca demografik verilerden yaş ve cinsiyet de kaydedildi. Anketin ardından sağlık çalışanlarının telefonlarının ön ve arka yüzeylerinden steril serum fizyolojik ile ıslatılmış pamuklu eküvyon kullanılarak sürüntü örneği alındı (Şekil 1).



Şekil 1: Cep telefonu yüzeylerinden sürüntü örneği alımı

Mikrobiyolojik İnceleme

Cep telefonlarından sürüntü örneği olarak alınan eküvyonlar, 2 saat içerisinde tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına getirilerek işleme alındı. Örnekler, %5 Koyun Kanlı Agar besiyerine azaltma ekimi uygulanarak ekildi. Ekilen kültür plakları, 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından üreme olan plaktaki mikroorganizmaların identifikasyonu ve sonrasında antimikrobiyal duyarlılık testleri, otomatize BD Phoenix™ 100 (Beckton Dickinson, ABD) kullanılarak yapıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı (Chicago, ABD) kullanılarak yapıldı. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde; normal dağılan sayısal değişkenler iki grup arasında "bağımsız gruplarda t testi", nominal verilerin karşılaştırılmasında ise "ki-kare analizi" kullanıldı. Elde edilen bulgular %95 güven aralığında ve %5 anlamlılık düzeyinde değerlendirildi. Çalışmada $p < 0.05$ değerleri

istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

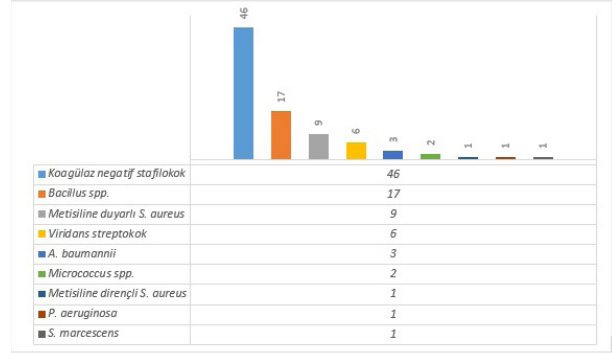
BULGULAR

Çalışmaya yaşları 20 ile 55 arasında değişen toplam 89 kişi dahil edilmiştir. Çalışmaya alınanların yaş ortalaması 35.8 ± 7.9 yıl olarak bulunmuştur. Bunların 72'sinin (%80.9) kadın, 17'sinin (%19.1) erkek olduğu görülmüştür. Katılımcıların çalıştığı hastane birimleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Katılımcıların çalıştığı hastane birimlerinin dağılımı

Hastane Birimleri	Sayı	%
Dahili Birimler	58	65.2
Cerrahi Birimler	14	15.7
Yoğun Bakım Ünitesi	10	11.2
Laboratuvar	7	7.9
Toplam	89	100

Çalışmaya alınanların 86'sının (%96.6) cep telefonunda üreme saptanmış olup 3 (%3.4) kişinin telefonunda ise üreme olmamıştır. Üreme olanların 71'inde (%82.6) deri flora üyesi olarak kabul edilen mikroorganizmaların üremesi olduğu gözlenmiş, kalan 15 (%17.4) kişinin telefonunda ise potansiyel patojen mikroorganizma üremesi olmuştur. Potansiyel patojen mikroorganizma olarak etkenlerin 9'u (%60) Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA), 3'ü (%20) *Acinetobacter baumannii*, 1'i (%6.7) Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), 1'i (%6.7) *Pseudomonas aeruginosa* ve 1'i (%6.7) *Serratia marcescens* şeklinde dağılmıştır. Patojen mikroorganizma olarak saptanan 5 türden 4'ü (%80) yoğun bakımda çalışan personelin cep telefonunda, 1'i (%20) ise laboratuvarında çalışan personelin cep telefonunda tespit edilmiştir. Katılımcıların cep telefonlarında üreyen etkenlerin dağılımı Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2: Katılımcıların cep telefonunda üreyen mikroorganizmaların dağılımı

Sağlık çalışanlarının hastanedeki el yıkama sıklığı incelendiğinde, katılımcıların 68'inin (%76.4) günde 10 ve üstü kez, 19'unun (%21.3) günde 5-10 kez, 1'inin (%1.1) günde 3-5 kez ve 1'inin (%1.1) günde 1-3 kez ellerini yıkadığı görülmüştür. Günde 10 ve üstünde el yıkayanlar ile 10'un altında el yıkayanlar karşılaştırıldığında, el yıkama sıklığı ile cep telefonunda patojen üreme durumu açısından gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmiştir ($p < 0.001$) (Tablo 2).

Tablo 2: El yıkama sıklığı ile cep telefonunda patojen üreme durumunun karşılaştırılması

Özellik	Günde 10 ve üstünde el yıkayan grup (n=68)	Günde 10'un altında el yıkayan grup (n=21)	p değeri
Patojen mikroorganizma üremesi			
	n (%)		<0.001
Var	3 (4.4)	12 (57.1)	
Yok	65 (95.6)	9 (42.9)	

Çalışmaya alınanların cep telefonlarını temizleme durumları sorgulanmıştır. Katılımcıların 26'sının (%29.2) ayda bir kez, 42'sinin (%47.2) haftada bir kez, 17'sinin (%19.1) ise telefonunu her gün temizlediği görülmüştür. Katılımcıların 4'ünün (%4.5) hiç telefon temizliği yapmadığı saptanmıştır. Telefon temizliği yapanlar ve yapmayanlar karşılaştırıldığında, cep telefonu temizliği ile cep telefonundaki üreme durumu açısından gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmiştir ($p = 0.001$) (Tablo 3).

Çalışmaya dahil edilenlerin hastane içerisindeki çalışma ortamlarına cep telefonlarını bırakma durumları incelenmiştir. Katılımcıların 48'inin

(%53.9) bazen, 20'sinin (%22.5) ise sıklıkla çalışma ortamlarına cep telefonunu bıraktığı görülmüştür. Kalan 21 (%23.6) kişi ise çalışma ortamlarına cep telefonunu bırakmamaktadır. Çalışma ortamına cep telefonunu bırakanlar ve bırakmayanlar karşılaştırıldığında, gruplar arasında cep telefonundaki üreme durumu açısından anlamlı farklılık izlenmiştir ($p<0.001$) (Tablo 4).

Tablo 3: Cep telefonu temizliği ile cep telefonunda patojen üreme durumunun karşılaştırılması

Özellik	Telefon temizliği yapan grup (n=85)	Telefon temizliği yapmayan grup (n=4)	p değeri
Patojen mikroorganizma üremesi			
	n (%)		0.001
Var	12 (14.1)	3 (75)	
Yok	73 (85.9)	1 (25)	

Tablo 4: Çalışma ortamına cep telefonu bırakma ile cep telefonunda patojen üreme durumunun karşılaştırılması

Özellik	Cep telefonunu bırakan grup (n=68)	Cep telefonunu bırakmayan grup (n=21)	p değeri
Patojen mikroorganizma üremesi			
	n(%)		<0.001
Var	4 (5.9)	11 (52.4)	
Yok	64 (94.1)	10 (47.6)	

TARTIŞMA

Cep telefonları hem kişisel gereksinimler hem de tanı, tedavi ve hasta izlemi açısından sunduğu teknolojik yararlar sebebiyle hastanelerde yoğun olarak kullanılmaktadır. "Akıllı telefon" olarak hayatımıza yerleşen bu cihazlar sosyal ve profesyonel iletişim için hastanelerdeki tüm ortamlarda yer almaktadır. Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar, tıp dünyasının hala çözüm arayışında olduğu öncelikli sorunlar arasındadır. Bu enfeksiyonlarda, hastane florasında yer alan mikroorganizmalar etken olarak yer almaktadır. MRSA, enterokoklar ve çoklu dirençli Gram negatif basiller gibi önemli etkenler nozokomiyal enfeksiyonlarda saptanmaktadır. El yıkama, yüzeylerin dekontaminasyonu ve cihazların güvenli kullanımı sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların önlenmesi

için oldukça önemlidir. Cihazların güvenli kullanımı yalnızca hastaneye ait cihazlar için değil, kişisel cep telefonlarını da kapsamaktadır. Literatürde cep telefonları, tablet ve bilgisayarlar nozokomiyal enfeksiyonlar için potansiyel bir rezervuar olarak tanımlanmıştır (12,13). Bu çalışmada sağlık personelinin cep telefonu yüzeyleri mikrobiyolojik açıdan analiz edilerek enfeksiyon etkenleri açısından değerlendirilmiştir.

Çalışmada analiz edilen cep telefonlarının yüzeyinde en sık koagülaz negatif stafilokok (KNS) tespit edilmiştir. İkinci sıklıkta ise *Bacillus* spp. izole edilmiştir. KNS, insan derisinin normal florası olarak kabul edilen ve başta eller olmak üzere en sık saptanan bakteri popülasyonunu oluşturmaktadır. *Bacillus* spp. ise doğada ve toprakta yaygın olarak gözlenen sporlu bakterilerdir. Klinik örneklerde KNS ve *Bacillus* spp. izole edildiğinde sıklıkla çevresel kontaminasyon lehine değerlendirilmekte ve nadiren patojen olarak bildirilmektedir (14). Bununla birlikte KNS, kalıcı tıbbi cihazlara sahip hastalarda özellikle yabancı cisimle ilişkili enfeksiyonlara neden olmaktadır (15). *Bacillus* spp. ise bağışıklığı baskılanmış hastalarda kan dolaşımı enfeksiyonlarında rol oynamaktadır (16,17).

Sedighi ve ark.'nın (18) çalışmasında, rastgele seçilen 250 sağlık personelinin cep telefonlarındaki bakteriyel kontaminasyon değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarında en sık izole edilen bakteri izolatının KNS olduğu görülmüştür. Heybe ve ark.'nın (19) çalışmasında ise yoğun bakım ünitesi (YBÜ) ve yenidoğan bakım ünitesinde çalışan klinisyenlerin (n=213) cep telefonları incelenmiş ve en fazla üreyen etkenin KNS olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen bu sonuç, bu konuda yapılan diğer araştırmalarda elde edilen bulguları desteklemektedir.

Patojen mikroorganizma saptanma durumu değerlendirildiğinde, bu çalışmada en sık izole edilen tür MSSA olmuştur. *Staphylococcus aureus*, toplum kaynaklı enfeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan etkenlerdendir. Burunda taşıyıcılığa yol açması, etkenin çevresel kontaminasyonunu kolaylaştırmaktadır (20). Danelli ve ark.'nın

(21) bir üniversite hastanesinde yaptığı çalışmada 324 kişiden burun sürüntü örneği alınmıştır. Örneklerin %42.9'u *Staphylococcus aureus* olarak tanımlanmış ve bu durumun *Staphylococcus aureus*'un hastane ortamına yerleşmesi için risk teşkil edebileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada cep telefonu yüzeylerinden yüksek oranda *Staphylococcus aureus* saptanması da benzer şekilde nozokomiyal enfeksiyon riski oluşturması için öngörü oluşturmaktadır.

Bu çalışmada en sık saptanan Gram negatif bakteri *Acinetobacter baumannii* olmuştur. Bu etken, immün sistemi baskılanmış ve özellikle YBÜ'de takip edilen hastalarda nozokomiyal enfeksiyonlara yol açmaktadır. Ayrıca, etkenin çoğu antibiyotige direnç geliştirmesi de bu patojenin neden olduğu enfeksiyonların yönetimini zorlaştırmaktadır (22). Morubagal ve ark.'nın (23) çalışmasında sağlık çalışanı olan ve olmayan 175 kişinin cep telefonu analiz edilmiştir. Sağlık çalışanları (n=125) incelendiğinde, YBÜ'de çalışanların cep telefonlarında izole edilen baskın mikroorganizmanın *Acinetobacter baumannii* olduğu görülmüştür. Bu bulgu, etkenin YBÜ ile ilişkili enfeksiyonlar için kaynak olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmada sağlık personelinin el yıkama sıklığı sorgulanmış ve el yıkama sıklığı daha az olanların cep telefonunda patojen mikroorganizma üreme oranı daha yüksek bulunmuştur. El yıkama, sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların önlenmesinde alınabilecek en temel önlemlerden biridir. Düzenli ve doğru el yıkamanın enfeksiyonlara neden olabilecek patojen mikroorganizmaların bulaşını önlediği bilinmektedir (24,25). Kapil ve ark.'nın (26) çalışmasında 60 sağlık personeline el yıkama eğitimi verilerek eğitim öncesinde ve sonrasında el üzerinden kültür alınmıştır. Kültür örneklerinde üreyen bakteri koloni sayısının el yıkama sonrasında anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Elde edilen bulgular, ellerdeki bakteri dekontaminasyonunun etkili olabilmesinin sürekli eğitimi içeren uygun el hijyeni uygulama teknikleriyle gerçekleştirilebileceğini göstermiştir.

Bu çalışmada cep telefonu temizliği

yapanların yapmayanlara göre cep telefonunda patojen mikroorganizma üreme oranlarının daha düşük olduğu ve cep telefonunu laboratuvar alanlarına bırakanların cep telefonunda daha fazla oranda patojen mikroorganizma ürettiği görülmüştür. Bhumbra ve ark. (27) üçüncü basamak bir hastanede 50 sağlık personelinin cep telefonlarındaki mikrobiyal kontaminasyonu araştırmıştır. Çalışmanın verileri, uygun dezenfeksiyon yöntemleri uygulanan cep telefonlarındaki kontaminasyonun ve enfeksiyon bulaşının önemli ölçüde azaldığını göstermektedir. Bodena ve ark.'nın (28) çalışmasında, rastgele seçilen 226 sağlık personelinin cep telefonlarındaki bakteriyel kontaminasyon değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarında telefonlarını düzenli olarak temizlemeyen sağlık çalışanlarının cep telefonlarındaki bakteriyel kontaminasyon insidansı, telefonlarını düzenli olarak temizleyenlerin cep telefonlarındaki bakteriyel kontaminasyon insidansından dört kat daha fazla olarak saptanmıştır. Çalışmaların sonuçları, sağlık çalışanlarının cep telefonlarının çeşitli bakteriler için bir rezervuar olduğunu, uygun temizlik sonrasında cep telefonlarındaki bakteri yükünün azaltılabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardı. Çalışma kesitsel araştırma olarak tasarlandığı için bulguların zaman içindeki değişimleri tam olarak ele alınamamıştır. Örneklem boyutunun küçük olması, belirli faktörlerin cep telefonu kontaminasyonu üzerindeki etkisini belirlemek için daha fazla sayıda ve çok değişkenli analizlerin yapılmasını zorlaştırmıştır. Analiz edilecek verilerin tekrar toplandığı araştırmalar sonucunda elde edilen bulgularla sağlık çalışanlarının gerçek uygulamaları daha iyi anlaşılabilir.

SONUÇ

Sağlık çalışanlarının cep telefonları, nozokomiyal enfeksiyonlara neden olduğu bilinen bir bakteri rezervuarı konumundadır. Sağlık çalışanlarının cep telefonlarını kullandıktan sonra temizlemesi, hastanede klinik numunelere ve hastalara dokunmadan önce ve sonra ellerini yıkaması gereklidir. Hastanelerde, özellikle hastalara girişimsel işlemler yapılan birimlerde cep telefonu

kullanım rehberleri geliştirilmeli ve uygulanmalıdır. Çalışma alanında telefon kullanımı ve temizlik alışkanlığı konusunda sağlık personeline eğitim verilmesi gerekmektedir.

BİLDİRİMLER

Çıkar Çatışması:

Yazar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek:

Bu çalışmada maddi destek alınmamıştır.

Etik Onay:

Bu çalışma, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleşmiştir (Tarih: 19/09/2018 ve Karar No: 2018/14.1). Çalışmamız Helsinki Deklarasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapılmıştır.

Yazar Katkıları:

Fikir: UA, Tasarım: UA, Gözetim: UA, Araç gereç: UA, Veri toplama ve işleme: UA, Analiz ve yorumlama: UA, Literatür tarama: UA, Yazma: UA, Eleştirel inceleme: UA.

KAYNAKLAR

1. Al-Abdalall AHA. Isolation and identification of microbes associated with mobile phones in Dammam in eastern Saudi Arabia. *J Fam Community Med.* 2010;17(1):11. <https://doi.org/10.4103/1319-1683.68783>
2. Prgomet M, Georgiou A, Westbrook JI. The impact of mobile handheld technology on hospital physicians' work practices and patient care: A systematic review. *J Am Med Inf Assoc.* 2009;16:792-801. <https://doi.org/10.1197/jamia.M3215>
3. Chang CH, Chen SY, Lu JJ, Chang CJ, Chang Y, Hsieh PH. Nasal colonization and bacterial contamination of mobile phones carried by medical staff in the operating room. *PLoS One.* 2017;12(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175811>
4. Sepehri G, Talebizadeh N, Mirzazadeh A, Mir-Shekari TR, Sepehri E. Bacterial contamination and resistance to commonly used antimicrobials of healthcare workers' mobile phones in teaching hospitals, Kerman, Iran. *Am J Appl Sci.* 2009;6(5):806-810. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2009.806.810>
5. Riedel S, Morse SA, Mietzner TA, Miller S. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 28th ed. McGraw-Hill, 2019:617-22.







6. Olsen M, Nassar R, Senok A, Albastaki A, Leggett J, Lohning A, et al. A pilot metagenomic study reveals that community derived mobile phones are reservoirs of viable pathogenic microbes. *Sci Rep.* 2021;11(1):14102. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93622-w>
7. Okada J, Yamamizu Y, Fukai K. Effectiveness of hand hygiene depends on the patient's health condition and care environment. *Japan J Nurs Sci.* 2016;13(4):413-23. <https://doi.org/10.1111/jjns.12122>
8. Beer D, Vandermeer B, Brosnikoff C, Shokoples S, Rennie R, Forgie S. Bacterial contamination of health care workers' pagers and the efficacy of various disinfecting agents. *Pediatr Infect Dis J.* 2006;25(11):1074-5. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000242649.27400.94>
9. Badr RI, Badr H ibrahim, Ali NM. Mobile phones and nosocomial infections. *Int J Infect Control.* 2012;8(2):2. <https://doi.org/10.3396/ijic.v8i2.9933>
10. Dar SH, Bashir G, Nisar Q, Majid I, Khandi MA. Microbial contamination on mobile phones of health-care workers at a tertiary care hospital of Northern India. *Curr Med Issues.* 2022;20:149-53. https://doi.org/10.4103/cmi.cmi_22_22
11. Tusabe F, Kesande M, Amir A, Iannone O, Ayebare RR, Nanyondo J. Bacterial contamination of healthcare worker's mobile phones: a case study at two referral hospitals in Uganda. *Glob Secur Heal Sci Policy.* 2022;7(1):1-6. <https://doi.org/10.1080/23779497.2021.2023321>
12. Brady RR, Wasson A, Stirling I, McAllister C, Damani NN. Is your phone bugged? The incidence of bacteria known to cause nosocomial infection on healthcare workers' mobile phones. *J Hosp Infect.* 2006;62(1):123-5. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2005.05.005>
13. Jeske HC, Tiefenthaler W, Hohlrieder M, Hinterberger G, Benzer A. Bacterial contamination of anaesthetists' hands by personal mobile phone and fixed phone use in the operating theatre. *Anaesthesia.* 2007;62(9):904-6. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2007.05172.x>
14. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, et al. Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and

- eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control*. 2015;43(11):1222-37. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2015.06.030>
15. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(4):870-926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>
 16. Shulman DS, Mehrotra P, Blonquist TM, Capraro A, Lehmann LE, Silverman LB, et al. A single institutional review of pediatric *Bacillus* spp. bloodstream infections demonstrates increased incidence among children with cancer. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(4):e27568. <https://doi.org/10.1002/pbc.27568>
 17. Ramos ER, Hachem R, Youssef S, Fang X, Jiang Y, Raad I. The crucial role of catheters in micrococcal bloodstream infections in cancer patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30(1): 83-85. <https://doi.org/10.1086/592705>
 18. Sedighi I, Alikhani MY, Ramezani S, Nazari M, Nejad ASM. Bacterial contamination of mobile phones of health care providers in a teaching hospital in Hamadan Province, Iran. *Arch Clin Infect Dis*. 2015;10(2):365. [https://doi.org/10.5812/archcid.10\(2\)2015.22104](https://doi.org/10.5812/archcid.10(2)2015.22104)
 19. Heyba M, Ismaiel M, Alotaibi A, et al. Microbiological contamination of mobile phones of clinicians in intensive care units and neonatal care units in public hospitals in Kuwait. *BMC Infect Dis*. 2015; 15(1). <https://doi.org/10.1186/S12879-015-1172-9>
 20. Sakr A, Brégeon F, Mège JL, Rolain JM, Blin O. *Staphylococcus aureus* nasal colonization: An update on mechanisms, epidemiology, risk factors, and subsequent infections. *Front Microbiol*. 2018;9:2419. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02419>
 21. Danelli T, Duarte FC, de Oliveira TA, da Silva RS, Frizon Alfieri D, Gonçalves GB, et al. Nasal carriage by *Staphylococcus aureus* among healthcare workers and students attending a university hospital in Southern Brazil: Prevalence, phenotypic, and molecular characteristics. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2020;2020:3808036. <https://doi.org/10.1155/2020/3808036>
 22. Oliveira J, Reygaert WC. Gram Negative Bacteria. [Updated 2022 Oct 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538213/>
 23. Morubagal RR, Shivappa SG, Mahale RP, Neelambike SM. Study of bacterial flora associated with mobile phones of healthcare workers and non-healthcare workers. *Iran J Microbiol*. 2017;9(3):143-151.
 24. Aiello AE, Coulborn RM, Perez V, Larson EL. Effect of hand hygiene on infectious disease risk in the community setting: a meta-analysis. *Am J Public Health*. 2008;98(8):1372-81. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2007.124610>
 25. Ileganzi B, Conway L, Larson E, Pittet D. Status of the implementation of the World Health Organization multimodal hand hygiene strategy in United States of America health care facilities. *Am J Infect Control*. 2014;42(3):224-30. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2013.11.015>
 26. Kapil R, Bhavsar HK, Madan M. Hand hygiene in reducing transient flora on the hands of healthcare workers: an educational intervention. *Indian J Med Microbiol*. 2015;33(1):125-8. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.148409>
 27. Bhumbla U, Ahmad S, Mathur D, Bandey L, Mathur G. Study on microbial contamination of mobile phones and their role in nosocomial infections in a tertiary hospital of south India. *Asian J Pharm Clin Res*. 2016; 9: 201-202. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v9s3.14603>
 28. Bodena D, Teklemariam Z, Balakrishnan S, Tesfa T. Bacterial contamination of mobile phones of health professionals in Eastern Ethiopia: antimicrobial susceptibility and associated factors. *Trop Med Health*. 2019;47:15. <https://doi.org/10.1186/s41182-019-0144-y>

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

Evaluation of Serum Allopregnanolone Levels in Acute Stroke Patients Presenting to The Emergency Department and Undergoing Mechanical Thrombectomy

Acil Servise Başvuran ve Mekanik Trombektomi Uygulanan Akut İnme Hastalarında, Serum Allopregnanolon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

 Hüseyin Tufan Yanık¹  Murat Yücel²  Murat Güzel²  Metin Yadigaroglu²
 Çetin Kürşat Akpınar³  Selim Görgün⁴

¹Samsun Training and Research Hospital, Department of Emergency Medicine, Samsun, Türkiye

²Samsun University Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, Samsun Türkiye

³Samsun University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Samsun Turkey

⁴Samsun Training and Research Hospital, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Samsun, Türkiye
Received: 20.03.2023, Accepted: 24.03.2023

Abstract

Objectives: Ischemic stroke is a disease that occurs as a result of impaired perfusion of the brain and is the second most common cause of death after cardiovascular diseases. Biochemical marker studies for early diagnosis of stroke patients and predicting the prognosis of patients have been the focus of the attention of researchers. Our primary aim in this study was to examine the change in serum Allopregnanolone levels in patients with ischemic stroke who underwent mechanical thrombectomy.

Methods: Patients diagnosed with ischemic stroke and underwent mechanical thrombectomy in Samsun Training and Research Hospital Emergency Service between December 2020 and February 2021 were included in the study. Serum Allopregnanolone levels from blood samples were measured by Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) method.

Results: Twenty-two stroke patients who underwent mechanical thrombectomy and 20 healthy volunteers were included in the study. The mean serum Allopregnanolone value at 0h was 56,439 (31.71-253.07), and the median serum Allopregnanolone value of the healthy control group was 51.219 (23.43-87.98), and no statistically significant difference was found ($p=0.078$). No significant difference existed between the patient group's 0th-hour, 12th-hour, and 5th-day Allopregnanolone levels ($p=0.554$). There was no significant relationship between the serum Allopregnanolone levels at the 0th hour, 12th hour, and 5th day of the patient group and the 3rd-month mRS scores ($p=0.713$, $p=0.616$, $p=0.867$, respectively).

Conclusion: Serum Allopregnanolone levels do not help diagnose, treat, and prognosis of patients with acute ischemic stroke who underwent mechanical thrombectomy. A clinical study with more patients should be updated with our findings.

Keywords: Ischemic Stroke, Mechanical Thrombectomy, Allopregnanolone, Diagnosis, Prognosis

Corresponding author: Dr. Selim Görgün, Samsun Training and Research Hospital, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Samsun, Türkiye. **E mail:** selimgorgun55@gmail.com, **Telefon:** +90 536 616 88 44.

Cite this article: Yanık H.T., Yücel M., Güzel M., Yadigaroglu M., Akpınar Ç.K., Görgün S. Evaluation of Serum Allopregnanolone Levels in Acute Stroke Patients Presenting to the Emergency Department and undergoing Mechanical Thrombectomy. *Journal of Immunology and Clinical Microbiology* 2023;8(1):40-45

©Copyright 2022 by the "International medical Education Library" The QMEL.org
Journal of Immunology and Clinical Microbiology published by Cetus Publishing.



Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2022 Open Access (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>)

Creative Commons Attribution Non-Commercial License: The articles in the *Journal of Immunology and Clinical Microbiology* are open access articles licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Öz

Amaç: İskemik inme, beyin perfüzyonunun bozulması sonucu oluşan bir hastalıktır ve kardiyovasküler hastalıklardan sonraki ikinci en sık ölüm nedenidir. İnme hastalarına erken tanı koymak ve hastaların prognozlarını öngörmek amacıyla yapılan biyokimyasal belirteç çalışmaları araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. Bu çalışmadaki primer amacımız mekanik trombektomi uygulanan iskemik inme hastalarındaki serum Allopregnanolon düzeylerindeki değişimi incelemektir.

Yöntem: Çalışma Aralık 2020 ile Şubat 2021 tarihleri arasında Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servisinde iskemik inme tanısı almış ve mekanik trombektomi yapılan hastalar dahil edildi. Alınan kan örneklerinden serum Allopregnanolon düzeyleri Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemiyle ölçüldü.

Bulgular: Çalışmaya mekanik trombektomi yapılan 22 inme hastası ve kontrol grubunu oluşturan 20 sağlıklı gönüllü dahil edildi. 0.saat serum Allopregnanolon ortanca değeri 56.439 (31.71-253.07), sağlıklı kontrol grubunun serum Allopregnanolon ortanca değeri 51.219 (23.43-87.98) olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.078$). Hasta grubunun 0.saat, 12.saat ve 5.gün Allopregnanolon düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.554$). Hasta grubunun 0.saatteki, 12.saatteki ve 5.gündeki serum Allopregnanolon düzeyleri ile 3. ay mRS skorları arasında anlamlı ilişki yoktu ($p=0.713$, $p=0.616$, $p=0.867$; sırasıyla).

Sonuç: Serum Allopregnanolon düzeyleri, mekanik trombektomi uygulanan akut iskemik inmeli hastaların tanı, tedavi ve prognozuna yardımcı olamaz. Daha fazla sayıda hasta içeren bir klinik çalışma ile bulgularımız güncellenmelidir.

Anahtar Sözcükler: İskemik İnme, Mekanik Trombektomi, Allopregnanolon, Tanı, Prognoz

INTRODUCTION

Ischemic stroke is a clinical condition due to insufficient cerebral blood flow (1). Anamnesis, physical examination, non-contrast computed tomography (CT), and magnetic resonance imaging (MRI) are used to diagnose patients presenting to the emergency department with stroke symptoms. However, CT without contrast can give negative results in the first 24 hours, and MRI shows 80% of strokes in the first 24 hours (2). Stroke treatments include antiaggregants, anticoagulants, intravenous thrombolytic agents (iv-tpa), and endovascular interventions. In selected patients after stroke, mechanical thrombectomy can be performed in the presence of contraindications for intra-arterial or systemic intravenous-tissue plasminogen activator in patients who come to the emergency department in the first 24 hours (3).

Steroid hormones secreted from endocrine organs such as gonads, adrenal cortex, and placenta can reach the Central Nervous System by crossing the blood-brain barrier thanks to their

lipophilic structure. Hormones synthesized from cholesterol in the central nervous system and acting on neurons are called neurosteroids (4). It is known that steroid hormones generally exert their effects as transcription factors in regulating gene expression by binding to intracellular receptors. Due to these effects on gene transfer, they affect cell division (5). One of these neurosteroids, 3α , 5α tetrahydro progesterone (Allopregnanolone), acts through nuclear steroid receptors and GABA receptors. Allopregnanolone is a vital regulator that affects neuron excitability via GABA-A receptors (6,7). Its sensitivity to hypoxia and its high concentrations in brain tissue make Allopregnanolone a biomarker that can be used in stroke patients.

Our primary outcome in this study was to determine the change in serum Allopregnanolone levels in patients with ischemic stroke who underwent mechanical thrombectomy. Our secondary outcome is determining the value of serum allopregnanolone in the diagnosis and

prognosis of the disease.

METHODS

Our study was approved by the Ondokuz Mayıs University Clinical Research Ethics Committee on 14.01.2021 with protocol number 2021/015. The Declaration of Helsinki, Good Clinical Practices, and Good Laboratory Practices carried it out.

Our study was planned as a prospective, descriptive study. The study was conducted between 01.12.2020-01.03.2021 in Samsun Training and Research Hospital emergency service and neurology clinic. Patients over 18 who applied to the emergency department, were diagnosed with ischemic stroke clinically and radiologically, and underwent mechanical thrombectomy due to large vessel occlusion were included in our study. Those under 18, Patients with a previous history of cerebrovascular disease, cardiopulmonary arrest before or after admission to the emergency department, and a history of last intracranial surgery and epilepsy were excluded from the study. A control group consisting of healthy volunteers with demographic characteristics similar to the patient group was also included in the study. Serum Allopregnanolone levels in the patient group at the time of admission (0. hour), 12th hour, and 5th day after mechanical thrombectomy; In the control group, a single peripheral venous blood sample was taken and evaluated.

At the same time, age and gender, time from symptom onset to recanalization, and Modified Rankin Scale (mRS) score at the third month were recorded. mRS evaluated a stroke's prognosis and functional recovery at 3 months. Good results for mRS were defined as mRS 0-2, bad results as 3-6, and death of the patient within 90 days was defined as mRS=6 (8).

Peripheral venous blood samples from all participants were centrifuged at 1500 rpm for 10 minutes. Samples were stored at -80 °C until analysis. The commercially available Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to determine serum Allopregnanolone level. Allopregnanolone was detected in serum with the DetectX® Allopregnanolone ELISA Kit (Bioassay Technology Laboratory, Zhejiang, China). Analysis was performed following the instructions given by the manufacturer in the kit insert. An ELISA reader recorded

results at 450 nm (nanometers) (Tecan®, Infinite M200 pro, Austria).

Statistical Analysis

The collected data were analyzed using the IBM SPSS 24.0 (Chicago, USA) package program. The conformity of the data to the normal distribution was determined by the Shapiro-Wilks test. Normally distributed numerical data were expressed as mean \pm standard deviation, and non-normally distributed numerical data were expressed as median (minimum-maximum). For normally distributed values, a t-test was used for parametric analyses, Mann Whitney U test, and a Friedman two-way analysis of variance were used for non-parametric analyses for non-normally distributed values. The chi-square test was used to compare categorical variables. The correlation of alloregnonal levels in temporal processes was evaluated with Spearman correlation analysis. All studies were analyzed at a 95% confidence level. The statistical significance level for all analyses was accepted as $p < 0.05$.

RESULTS

In our study, 22 patients who underwent mechanical thrombectomy constituted the patient group, and 20 healthy volunteers formed the control group. The study flowchart is presented in Figure 1.

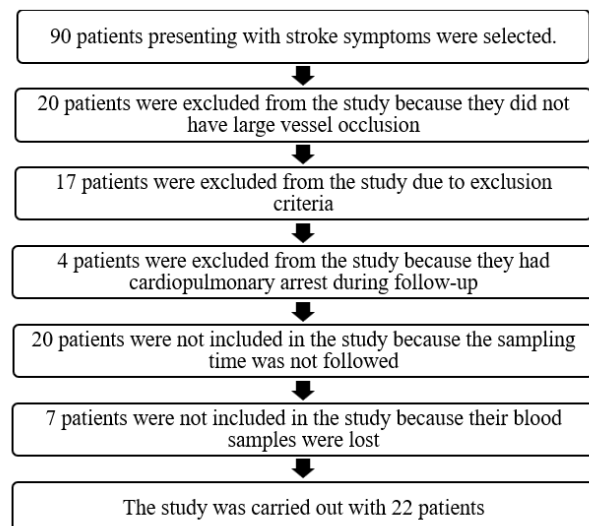


Figure 1. Study Flow Chart

The mean age of the patient group was 69.04 ± 11.23 , while the mean age of the control group was 68.38 ± 14.60 . The patient and control groups were similar in age and gender (Table 1).

Table 1. Comparison of age and gender characteristics between patient and control groups

	Patients Group (n=22)	Control Group (n=20)	p
Age	69.04 ± 11.23	68.38 ± 14.60	p=0.761
Gender	Male	8 (40)	p=0.286
	Female	12 (60)	

The comparison of Allopregnanolone levels of the patient and control groups is presented in Table 2. Accordingly, serum Allopregnanolone levels obtained at admission were similar in the patient and control groups (p=0.078).

Table 2. Comparison of serum Allopregnanolone levels between patient and control groups

Allopregnanolone	Group	Median	Minimum	Maximum	p
0. hour	Patients (n=22)	56.438	31.71	253.07	0.078
	Controls (n=20)	51.219	23.43	87.98	

The temporal variation of serum Allopregnanolone levels at 0 hours, 12 hours, and 5 days for the patient group is presented in Table 3. The median value of serum Allopregnanolone levels at 0 hours (at admission) was 56.439 (31.71-253.07), the median value at 12th hours was 52,989 (34.5-261.03), and the median value at day 5 was 52.672 (35.35-250.3). Accordingly, there was no significant difference between serum Allopregnanolone levels measured at 0, 12, and 5 days in ischemic stroke patients who underwent mechanical thrombectomy (p=0.554).

Table 3. Evaluation of Allopregnanolone levels of the patient group at the time of admission (0.hour), 12.hour, and 5th day

Allopregnanolone	Median	Minimum	Maximum	p
0.hour	56.439	31.71	253.07	0.554
12.hour	52.989	34.50	261.03	
5.day	52.673	35.35	250.30	

The correlation of serum Allopregnanolone levels of these temporal processes with each other is presented in Table 4. Accordingly, a moderate positive correlation was found between the 0th-hour Allopregnanolone levels and the 12th-hour and 5th-day Allopregnanolone levels.

The median value of symptom-recanalization time for the patients in our study was 309 (120-617) minutes.

Table 4. Correlation of Allopregnanolone levels with each other in temporal processes

Allopregnanolone	0.hour	12.hour	5.hour
0.hour	r*	1.000	
	p	.	
12.hour	r*	0.528	1.000
	p	0.012	.
5.day	r*	0.431	0.625
	p	0.045	0.002
	n	22	22

*: correlation coefficient

The relationship between serum Allopregnanolone levels at 0, 12, and 5 days of the patient group and the 3rd-month mRS scores are presented in Table 5. Accordingly, it was determined that Allopregnanolone levels measured at the time of application and afterward were not statistically significantly correlated with the 3rd-month mRS score (p=0.713, p=0.616, p=0.867; respectively).

Table 5. Evaluation of Allopregnanolone levels of the patient group according to the 3rd month MRS score

Allopregnanolone	3.month mRS Score	Median	Minimum	Maximum	p
0.hour	Good (n=9)	81.285	33.18	252.01	0.713
	Worse (n=13)	77.484	31.71	253.07	
12.hour	Good (n=9)	58.324	34.50	261.02	0.616
	Worse (n=13)	51.041	36.97	261.03	
5.day	Good (n=9)	68.449	47.33	250.3	0.867
	Worse (n=13)	49.655	35.35	247.3	

DISCUSSION

Since emergency services are the first point of contact for acute stroke patients, early diagnosis of stroke patients becomes essential. However, robust diagnostic and prognostic biomarkers are currently unavailable for stroke patients. In addition, there are limited marker studies on mechanical thrombectomy, which is critical for treating stroke.

In this study, where we aimed to measure the diagnostic and prognostic value of serum Allopregnanolone levels in stroke patients who underwent mechanical thrombectomy, we found that the serum Allopregnanolone

levels of the patients who underwent mechanical thrombectomy were similar to those of the control group consisting of healthy volunteers. Stroke patients requiring mechanical thrombectomy are patients with large vessel occlusion. In this context, allopregnanolone levels are not a valuable parameter in diagnosing the disease.

Age has an important place among stroke risk factors—the risk of stroke increases, especially over 65 (9,10). In the study by Kocatürk et al., the mean age of patients diagnosed with ischemic stroke was 65 (11). In our study, the mean age was higher than the literature data. The reason for this difference may be that the patient group in our study consisted of patients who required mechanical thrombectomy.

According to the Ministry of Health data, it has been reported that patients with ischemic stroke in our country are generally female (12). In our study, there was a female predominance in the patient group. Our findings are compatible with the literature.

When the serum Allopregnanolone levels of the patient group were evaluated in the following time period, we found that the values at the time of admission and the 12th hour and 5th day after mechanical thrombectomy were similar. These findings suggest that allopregnanolone levels do not change with thrombectomy treatment and are not suitable parameters for the follow-up of these patients.

When the correlations between the 0th-hour serum Allopregnanolone levels and the 12th-hour post-thrombectomy and 5th-day post-thrombectomy values of the patients were examined, A moderate positive correlation was found between the 0th-hour Allopregnanolone level and the 12th hour and 5th-day Allopregnanolone levels. According to these data, the Allopregnanolone levels of the patients at the time of admission affect the Allopregnanolone levels in the following period.

It has been observed that the longer the time between the onset of stroke symptoms and the start of treatment in stroke patients, the longer the time between mortality and morbidity. In studies in the literature, the duration of symptom recanalization is 270 minutes (11). The median value of symptom-recanalization time for the patients in our study was 309 (120-617)

minutes. It was observed that the patients participating in our study had higher symptom-recanalization times. Since our hospital's stroke center serves the region, it can receive referrals from different hospitals. This situation is effective in the high symptom-recanalization time.

The prognosis of patients after stroke is evaluated by 3rd monthly mRS scores (8). Our study found no statistically significant correlation between serum Allopregnanolone levels at admission (0. hour), 12. hours and 5th days after mechanical thrombectomy, and mRS scores at the 3rd month. In this context, serum allopregnanolone levels cannot be used as an indicator of the prognosis of the disease.

Limitations

The main limitations of our study are the small number of patients and the fact that it is a single-center study.

CONCLUSION

Serum Allopregnanolone levels do not help diagnose, treat, and prognosis of patients with acute ischemic stroke who underwent mechanical thrombectomy. A clinical study with a higher number of patients should support our findings.

ACKNOWLEDGEMENT

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest

Support Resources

This research received no specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Ethical Declaration

Our study was approved by the Ondokuz Mayıs University Clinical Research Ethics Committee on 14.01.2021 with protocol number 2021/015. The Declaration of Helsinki, Good Clinical Practices, and Good Laboratory Practices carried it out.

Authorship Contributions

Concept: HTY, MY, Design: MY, MG, MY, Supervising: HTY, MG, MY, SG, Data collection and entry: HTY, ÇKA, MY Analysis, and interpretation: MY, HTY, Literature search: HTY, MG, MY, Writing: HTY, MG, ÇKA, Critical review: MY, SG, ÇKA

REFERENCES

1. Johnston SC, Gress DR, Browner WS, Sidney S. Short-term prognosis after emergency department diagnosis of TIA. *JAMA*. 2000 Dec 13;284(22):2901-6.
2. Sohn CH, "Sohn CH," in *In Acute Ischemic Stroke Medical, Endovascular and Surgical Techniques*, Jaechan Park, Ed. Singapore: Springer Nature, 2017, p. 35-59.
3. Jauch EC, Saver JL, Adams HP Jr, Bruno A, Connors JJ, Demaerschalk BM, Khatri P, McMullanPWJr, Qureshi AI, Rosenfield K, Scott PA, Summers DR, Wang DZ, Wintermark M, Yonas H; American Heart Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Peripheral Vascular Disease; Council on Clinical Cardiology. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2013 Mar;44(3):870-947.
4. Paul SM, Purdy RH. Neuroactive steroids. *FASEB J*. 1992 Mar;6(6):2311-22. PMID: 1347506.
5. Rupprecht R, Holsboer F. Neuroactive steroids: mechanisms of action and neuropsychopharmacological perspectives. *Trends Neurosci*. 1999 Sep;22(9):410-6. doi: 10.1016/s0166-2236(99)01399-5. PMID: 10441302.
6. Leichnetz GR. Connections of the medial posterior parietal cortex (area 7m) in the monkey. *Anat Rec*. 2001 Jun 1;263(2):215-36.
7. Goyal M, Menon BK, van Zwam WH, Dippel DW, Mitchell PJ, Demchuk AM, Dávalos A, Majoie CB, van der Lugt A, de Miquel MA, Donnan GA, Roos YB, Bonafe A, Jahan R, Diener HC, van den Berg LA, Levy EI, Berkhemer OA, Pereira VM, Rempel J, Millán M, Davis SM, Roy D, Thornton J, Román LS, Ribó M, Beumer D, Stouch B, Brown S, Campbell BC, van Oostenbrugge RJ, Saver JL, Hill MD, Jovin TG; HERMES collaborators. Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from five randomized trials. *Lancet*. 2016 Apr 23;387(10029):1723-31.
8. Kammersgaard LP, Jørgensen HS, Reith J, Nakayama H, Pedersen PM, Olsen TS; Copenhagen Stroke Study. Short- and long-term prognosis for very old stroke patients. *The Copenhagen Stroke Study. Age Ageing*. 2004 Mar;33(2):149-54.
9. Steiner T, Mendoza G, De Georgia M, Schellinger P, Holle R, Hacke W. Prognosis of stroke patients requiring mechanical ventilation in a neurological critical care unit. *Stroke*. 1997 Apr;28(4):711-5.
10. Kocatürk Ö, Kocatürk M. Endovasküler Akut İskemik İnme Tedavisi: İlk 100 Vakanın Analizi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2021; 18(1): 82-87.
11. Ünal B, Ergör G, Horasan G, Kalaça S, Sözmen K. Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması. Ankara: Sağlık Bakanlığı; 2013, p.52
12. Sulter G, Steen C, De Keyser J. Use of the Barthel index and modified Rankin scale in acute stroke trials. *Stroke*. 1999 Aug;30(8):1538-41. doi: 10.1161/01.str.30.8.1538. PMID: 10436097.