

Cilt 37

Sayı 3

Antibiyotik ve Kemoterapi
(ANKEM) Derneği

2023

Bulletin of Antimicrobial
Chemotherapy

ANKEM DERGİSİ



Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği
Society of Antimicrobial
Chemotherapy

Sahibi / Owner Antibiyotik ve Kemoterapi
Derneği adına Dernek Başkanı
Prof. Dr. Bülent GÜRLER
(On behalf of the Society of Antimicrobial
Chemotherapy)

Editörler Kurulu

Editör
Prof. Dr. Dolunay Gülmez Kıvanç
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
000-0001-9021-0439

Yardımcı Editörler

Prof. Dr. Sebahat Aksaray
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Hamidiye Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
0000-0002-0552-1337

Prof. Dr. Selda Hançerli Törün
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD.
Pediatrik Enfeksiyon ve Klinik İmmünoloji
BD
0000-0002-3216-2413

Prof. Dr. Tutku Soyer
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahisi AD.
0000-0003-1505-6042

Doç. Dr. Esra Kazak
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik
Mikrobiyoloji AD.
0000-0002-7380-2501

İÇİNDEKİLER

Contents

ARAŞTIRMALAR/RESEARCH ARTICLES

- **Ljungan Virusun (Parechovirus B) Kemiricilerde Moleküler Yöntemle Araştırılması** 68
Investigation of Ljungan Virus (Parechovirus B) in Rodents by Molecular Methods
Doç Dr Mahmut Cem ERGON, Bio Mert ERDİN, Prof Dr Ferhat MATUR, Prof Dr Mustafa SÖZEN, Dr Öğr Üyesi Ceylan POLAT, Bio Tuğçe GÜNKAN, Prof Dr İbrahim Mehmet Ali ÖKTEM
- **Tüberküloz Hastalarından 2014-2022 Yılları Arasında İzole Edilen Mikobakterilerin Anti-Tüberküloz İlaç Duyarlılıkları** 74
Anti-Tuberculosis Drug Susceptibility of Mycobacteria Isolated from the Patients with Tuberculosis between 2014 and 2022
Prof Dr Yusuf YAKUPOĞULLARI, Prof Dr Barış OTLU, Prof Dr Mehmet Sait TEKEREKOĞLU, Bio Alper POLAT
- **Mycobacterium tuberculosis İzolatlarının Birinci Seçenek Anti-Tüberküloz İlaçlara Duyarlılığının Yeni Bir Agar Besiyeri ile Test Edilerek Değerlendirilmesi** 82
Evaluation of Drug Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis Isolates Against First Line Antituberculosis Drugs With a New Agar Medium
Dr Pooya SALEHI MOHARER, Dr Kübra YILDIRIM, Prof Dr Ahmet Yılmaz ÇOBAN
- **Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Sınıf 1, 2 Ve 3 İntegronların Araştırılması** 89
Investigation of Class 1, 2 and 3 Integrons in Klebsiella pneumoniae Isolates from Various Clinical Samples
Doç Dr Ahmet ÇALIŞKAN, Arş Gör Nilay GENÇ, Doç Dr Sedef Zeliha ÖNER, Prof Dr Melek DEMİR, Dr Öğr Üyesi Hande ŞENOL, Prof Dr İlknur KALELİ



Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği
Society of Antimicrobial
Chemotherapy

Yazışma Adresi /

Correspondence Address

ANKEM Dergisi
ANKEM Derneği Topkapı Mahallesi
Turgut Özal Millet Caddesi
No: 176 Daire 16
Kat: 5 Fatih / İSTANBUL
Tel: (0212) 219 93 39 / 40
Faks: (0212) 219 93 41
e-posta: ankem@ankemdernegi.org.tr
www.ankemdernegi.org.tr

Nisan, Ağustos ve Aralık aylarında olmak üzere yılda üç kez yayınlanır.

Yayın türü; Yerel Süreli

ANKEM Dergisi TÜBİTAK/ULAKBİM ve Türkiye Atıf Dizini (Türkiye Citation Index) veri tabanlarında yer almaktadır.

ANKEM Dergisi Serbest Erişimli (Open Access) bir dergidir.

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ankemderg>

- **Dirençli Bakteri Kolonizasyonu Taraması Yapılmasının Cerrahi Alan Enfeksiyonu Açısından Önemi** 96
Impact of Multidrug-resistant Bacteria Colonisation Screening on Surgical Site Infections
Dr Hüseyin Kemal RAŞA, Doç Dr Melda ÖZDAMAR,
Uzm Hemş İpek Değer KARAMAN, Doç Dr Elif HAKKO
 - **Çok İlaça Dirençli Gram Negatif Bakterilerdeki Seftazidim-Avibaktam Duyarlılığının Araştırılması** 103
Investigation of Ceftazidime-Avibactam Susceptibility in Multidrug Resistant Gram Negative Bacteria
Uzm Dr Emel AKBAŞ, Uzm Dr Banu Hümeýra KESKİN, Arş Dr Hande KAYMAN,
Dr Öğr Üyesi Dilek YEKENKURUL, Doç Dr Emel ÇALIŞKAN,
Prof Dr Şükrü ÖKSÜZ, Prof Dr İdris ŞAHİN
-
- **37. Cilt (2023) Bilimsel Hakemlere Teşekkür** III
 - **37. Cilt (2023) Konu İndeksi** IV
 - **37. Cilt (2023) Yazarlar İndeksi** V
 - **ANKEM Dergisi Yazım Kuralları** 2023,37(1)'e
Editorial Rules of Journal of ANKEM bakınız
-

LJUNGAN VİRUSUN (PARECHOVİRUS B) KEMİRİCİLERDE MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

Mahmut Cem ERGON¹, Mert ERDİN^{2,3}, Ferhat MATUR⁴, Mustafa SÖZEN⁵, Ceylan POLAT^{2,6}, Tuğçe GÜNKAN⁷, İbrahim Mehmet Ali ÖKTEM¹

M. C. Ergon: 0000-0002-4847-987X, M. Erdin: 0000-0001-7285-1654, F. Matur: 0000-0001-9488-1408,

M. Sözen: 0000-0002-1911-605X, C. Polat: 0000-0003-1511-4177, T. Günkan: 0000-0003-1698-6620, İ. M. A. Öktem: 0000-0002-3185-8355

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

²Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

³University of Helsinki, Faculty of Medicine, Medicum, Department of Virology, Helsinki, FİNLANDİYA

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

⁵Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, ZONGULDAK

⁶Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

⁷Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ZONGULDAK

ÖZ

Ljungan virus (LV), Picornaviridae ailesinde bulunan Parechovirus genusunda yer alan kemirici kökenli bir virustur. LV'nin, Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika ve İtalya'da kemiricilerde saptanmış olması dünyada bu virusun geniş bir dağılımı olduğunu düşündürmektedir. Miyokarditli ve tip 1 diyabetli insanlarda LV antikorları gösterilmiş ve insanlarda intrauterin ölüm, ani bebek ölümü ve fetal santral sinir sistemi malformasyonlarında LV ilişkisi saptanmıştır.

Bu çalışma ile Türkiye'de henüz araştırılmamış olan LV'nin Zonguldak ilindeki yabani kemiricilerdeki varlığı hakkında bilgi sahibi olunması ve varsa bölgeye özgü yeni LV suşunun/suşlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada 85 adet Apodemus ve 35 adet Myodes örneklerinden oluşan toplam 120 adet kemiriciye ait beyin dokusu kullanılmıştır. Bu örneklerde, LV genomunda genetik çeşitliliğin yüksek olduğu VP1 bölgesini hedefleyen ters transkriptaz polimeraz zincir tepkimesi (PZT) yöntemi ile LV nükleik asit varlığı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda örneklerde LV nükleik asit varlığı saptanmamıştır.

Tek bir bölge ve iki kemirici cinsine ait örneklerinin analizleri sonucuna göre, Türkiye çapında LV varlığının bulunmadığını söylemek yeterli bir açıklama olmayacaktır. Virüs için uygun olmayan çevresel koşullar da virusun tespit edilememesinde rol oynamış olabilir. Türkiye'de LV durumunun ortaya koyulabilmesi için farklı bölgelerindeki kemiricilerde, daha büyük bir örneklem ile ve daha fazla sayıda kemirici türü ile daha fazla sayıda araştırma yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu araştırma, Türkiye de Ljungan virüs varlığı ile ilgili yapılmış ilk çalışmadır.

Anahtar kelimeler: Apodemus, Ljungan virus, Myodes, Türkiye

ABSTRACT

Investigation of Ljungan Virus (Parechovirus B) in Rodents by Molecular Methods

Ljungan virus (LV) is a rodent-borne virus in the genus Parechovirus of the Picornaviridae family. LV has been detected in rodents in Northern Europe, North America and Italy, suggesting a wide distribution of this virus in the world. LV antibodies have been demonstrated in humans with myocarditis and type 1 diabetes, and LV has been correlated with intrauterine death, sudden infant death and fetal central nervous system malformations in humans.

This study aimed to obtain information about the presence of LV, which has not been investigated in Turkey, in wild rodents in Zonguldak province and to determine the new LV strain(s) specific to the region, if any.

A total of 120 brain tissues from 85 Apodemus and 35 Myodes were used in the study. In these samples, the presence of LV nucleic acid was investigated by reverse transcriptase polymerase chain reaction (PCR) method targeting the VP1 region in the LV genome where genetic diversity is high. As a result of the study, the presence of LV nucleic acid was not detected in the samples.

İletişim adresi: Mahmut Cem Ergon. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

Tel: (0232) 412 25 77/4501

e-posta: cem.ergon@deu.edu.tr

Received/Geliş: 14.09.2023 Accepted/Kabul: 24.10.2023 Published Online/Online Yayın: 31.12.2023

Atf/Cite as: Ergon MC, Erdin M, Matur F, Sözen M, Polat C, Günkan T, Öktem İMA. Ljungan virusun (Parechovirus B) kemiricilerde moleküler yöntemle araştırılması. ANKEM Derg. 2023;37(3):68-73.

It will not be a sufficient explanation for the absence of LV presence in Turkey according to the analysis of samples from a single region and two rodent species. Unsuitable environmental conditions for the virus may also have played a role in the lack of virus detection. We concluded that further research on rodents in different regions, with a larger sample size and on more rodent species, is needed to reveal the occurrence of LV in Turkey. This is the first study on Ljungan virus presence in Turkey.

Keywords: Apodemus, Ljungan virus, Myodes, Turkey

GİRİŞ

Ljungan virus (LV), *Picornaviridae* ailesinde bulunan *Parechovirus* genusunda yer alan zarfsız tek iplikçikli bir RNA virusudur. İnsanlardaki miyokardit epidemiyolojisine yönelik etken araştırması sırasında, ilk kez İsveç'te Ljungan vadisindeki *Myodes glareolus* türü kemiricilerden izole edilmiştir⁽¹⁶⁾. Şu ana kadar dört farklı suşu saptanmıştır^(10,16,27). İnsan ve hayvanlardaki hastalıklarla ilişkisinin gözlenmesi nedeniyle son yıllarda LV'ye olan ilgi artmış ve çeşitli kemirici türlerinde varlığı araştırılmıştır^(3,16).

LV, kemirici kökenli bir virus olmakla birlikte insanlardaki hastalıklarla ilişkisi halen araştırılmaktadır. LV, kemiricilerde tip 1 diyabet, miyokardit, ensefalit, intrauterin ölüm ve fetal malformasyona neden olmaktadır^(15,17,24). Yapılan çalışmalarda araştırmacılar, LV'yi gestasyonel hastalıklar ve santral sinir sistemi bozuklukları ile ilişkilendirmişlerdir^(19,20,21,25). Intrauterin ölüm gerçekleşen fetüslerin dokularından LV RNA'sı izole edilmiş ve diyabetik çocuklarda LV'ye karşı antikor varlığı gösterilmiştir^(19,20,25).

Avrupa ve Amerika'da farklı yabancı kemirici türlerinde LV RNA'sı saptanmıştır^(4,6-8,11,16-18,22,23,27). Bu kemirici türleri içerisinde en yüksek prevalansın *Myodes* türü kemiricilerde saptanması nedeni ile LV için ana konağın *Myodes* olduğu düşünülmektedir^(4,28). Türkiye'deki kemirici popülasyonlarındaki LV varlığı/yaygınlığı ile alakalı bu zamana kadar bir bildirim yapılmamıştır.

Bu çalışma ile Türkiye'deki LV varlığının araştırılması ve prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. LV'nin ana konağı olduğu düşünülen *Myodes*'in yanı sıra LV pozitifliği bildirilmiş olan *Microtus* ve *Apodemus* cinsi kemiricilerin yayılım gösterdiği ve ormanlık habitatlar açısından zengin bir alan olan Zonguldak ili, örneklem alanı olarak tercih edilmiştir⁽²⁾.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (2011/07 numaralı karar) onayı ile gerçekleştirilmiş ve Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2018.KB.SAG.067 proje numarası ile desteklenmiştir.

Örnekler

Zonguldak ilindeki kemiriciler arasında dolaşan LV varlığının saptanabilmesi için, 2011-2012 yıllarında "Sherman" tipi canlı yakalama kapanları kullanılarak yaban hayatından toplanmış olan kemiricilere ait arşiv dokuları kullanıldı.

LV'nin santral sinir sistemi üzerindeki etkisi ve yapılan çalışmalarda en yüksek viral yükün beyin dokusunda saptandığının bildirilmesi nedeni^(12,23) ile çalışmada 85'i *Apodemus* ve 35'i *Myodes* türü olmak üzere toplam 120 adet kemiriciye ait beyin dokusu yer aldı. Dokular, işleme alınmaya dek RNA stabilize edici solüsyon (RNAlater, Invitrogen, ABD) içerisinde -80°C'de saklandı.

RNA ve DNA Eldesi

Kemiricilere ait beyin dokuları, TRIzol (ABP Biosciences, ABD) ve steril çelik boncuklar kullanılarak homojenize edildi. Doku homojenizasyonundan sonra, Chomczynski ve Sacchi⁽¹⁾ tarafından bildirilen guanidinyanat-fenol-kloroform solüsyonu ile RNA ekstraksiyonuna dayanan yöntemle tüm DNA ve RNA izolasyonu yapıldı.

cDNA Eldesi

Elde edilen RNA ürünleri ters transkripsiyon yöntemi ile cDNA'ya çevrildi. Bu amaçla firma önerileri doğrultusunda "random hexamer" primer, ters transkriptaz enzimi, RNaz inhibitörü, deoksinükleotit trifosfat karışımı (dNTP) ve tampon içeren ticari kit (Applied Biological Materials, Kanada) kullanıldı. Kemirici örnekleri ile birlikte, Helsinki Üniversitesi Viral Zoonozlar Araştırma Laboratuvarı'ndan pozitif kontrol olarak temin edilen iki farklı LV suşuna ait RNA örneklerinden de cDNA'lar elde edildi ve çalışmada kullanıldı.

Ters Transkriptaz PZT ile LV Araştırılması

Kemirici ve pozitif kontrol örneklerine, genetik çeşitliliğin yüksek olması nedeni ile genotipleme ve virus karakterizasyonu için tercih edilen LV genomunun VP1 bölgesini hedefleyen ve Kallies⁽¹²⁾ tarafından tasarlanan primerler kullanılarak ters transkriptaz polimeraz zincir tepkimesi (PZT) uygulandı. Reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde, her bir reaksiyon için 2.5 µl 5x tepkime solüsyonu, 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTP, 10 pmol Primer LV-VP1-F2659 (5'- AAA GTT GCW CAY ACM TGG TTT GG- 3'), 5 pmol Primer LV-VP1-R3341a (5'- GCA TGT GTC CAA TTT CCA TCA TC- 3') ve 5 pmol Primer LV-VP1-R3341b (5'- GCA TGA ACC CAT TTG CCA TCA TC- 3'), 2.5 U Taq DNA polimeraz (Thermo Fisher Scientific, İsviçre) kullanıldı. Ters transkriptaz "touch-down" PZT LV 145SLG ve LV 87-012G izolatları kullanılarak ekibimiz tarafından optimize edildi. PZT koşulları; 95°C'lik ön denatürasyonun ardından 10°C'lik değişim içeren bir "touch-down" basamağı (95°C 15 saniye, 60-50°C arasından her bir döngüde bir derece düşecek şekilde 30 saniye, 72°C 1 dakika 15 saniye olacak şekilde toplam 10 döngü) ve ardından 40 döngülük bir PZT basamağı daha (95°C 15 saniye, 54°C 30 saniye, 72°C 1 dakika 15 saniye) içermekte idi.

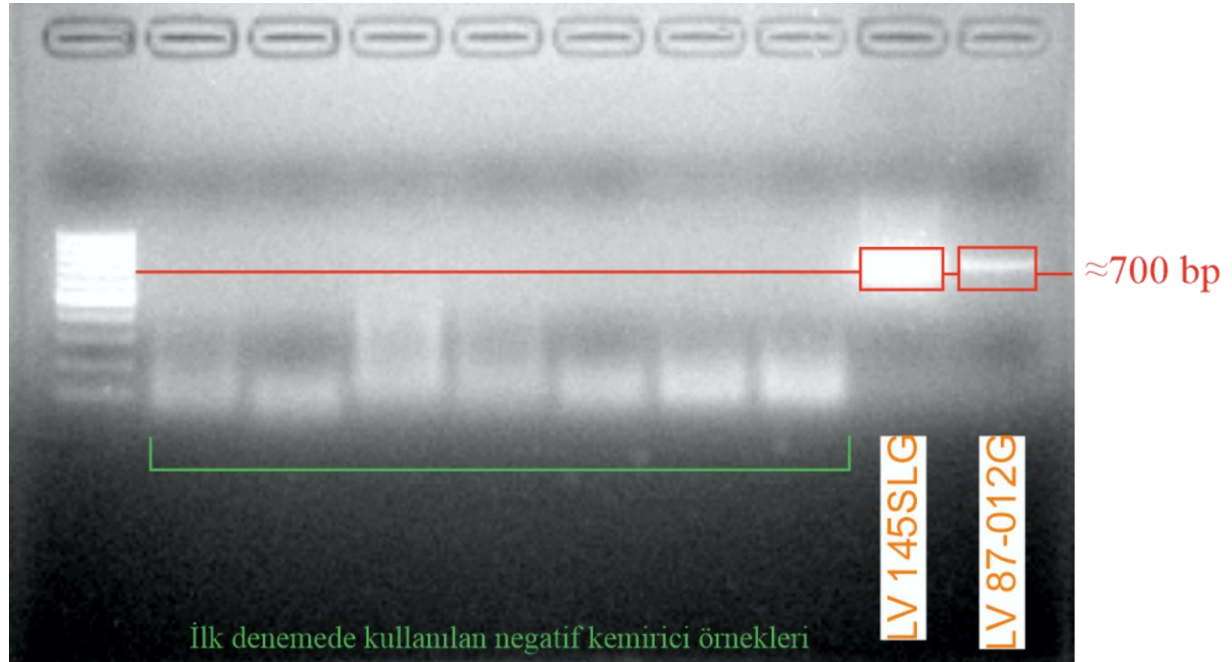
Elde edilen PCR ürünleri, %2'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntüledi ve LV hedef VP1 bölgesinin büyüklüğüne uygun bant (680 bp) varlığı açısından değerlendirildi.

BULGULAR

Ters Transkriptaz PZT ile LV Araştırılması

Pozitif kontrollerden elde edilmiş olan cDNA'lara VP1 bölgesini hedefleyen ters transkriptaz PZT uygulandıktan sonra elde edilen ürünlerde LV genomundaki hedef VP1 bölgesinin büyüklüğüne uygun bant (680 bp) saptandı (Şekil 1).

Araştırmada yer alan kemirici örneklerinden elde edilen PZT ürünlerinde ise hedeflenen bölgenin büyüklüğüne uygun bant gözlenmedi.



Şekil 1. Kemirgen örneklerine ve pozitif kontrollere uygulanan ters transkriptaz PZT sonucunda elde edilen ürünlere ait jel görüntüsü.

TARTIŞMA

Bir bölgede dolaşımda olan virusların, bunların konak çeşitliliğinin ve bulaş riskinin belirlenmesi, özellikle spesifik bir tedavisi ya da aşısı bulunmayan ve halk sağlığı üzerinde etkisi olan viral patojenler açısından önem taşımaktadır. LV'nin tip 1 diyabetin yanı sıra gestasyonel patolojilerdeki rolü ve zoonotik potansiyeli halen tartışmalıdır^(9,13-15,19,21,26,29). Şimdiye kadar Türkiye'de insanlarda ve hayvan popülasyonlarındaki LV prevalansı ile ilgili bir çalışma yapılmadığından, literatürde güncel durum hakkında bir bilgi bulunmamaktadır.

LV varlığı İsveç, Finlandiya, Danimarka, İngiltere, İtalya gibi Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki farklı kemirici türlerinde saptanmıştır^(4,6-8,11,13,16-18,22,23,27). İsveç ve Finlandiya'da 2009 – 2012 yılları arasında *M. glareolus* türü kemiriciler ile yapılan örnekleme, LV prevalansı %16.2 olarak bildirilmiştir⁽⁴⁾. İngiltere'de yapılan bir çalışmada, kemiricilerde LV varlığı ters transkriptaz PZT yöntemi ile dört farklı kemirici türünde araştırılmış ve %20-27 oranında pozitiflik saptanmıştır⁽²³⁾. İtalya'da *M. glareolus* ve *A. flavicollis* türlerinde LV pozitiflik oranları sırası ile %50 ve %10 olarak bildirilmiştir⁽⁷⁾. Dokuz Avrupa ülkesinden toplanan farklı kemirici türlerinde ise LV prevalansı ortalama %9.8 olarak belirlenmiştir⁽²⁹⁾.

LV enfeksiyonlarının kemiricilerde tip 1 diyabet, miyokardit ve ensefalite neden olduğu bildirilmiştir⁽¹⁵⁾. LV ile enfekte edilmiş gebe farelerle yapılan çalışmalarda düşük, fetüste kafatası, beyin ve uzuv anomalileri gözlenmiştir^(15,17,24). İnsanlarda ise LV enfeksiyonlarının intrauterin ölüm, plasentada enflamasyon, fetal malformasyonlar, miyokardit, ensefalit ve Guillain-Barré sendromu ile korelasyon gösterdiği yönünde serolojik ve epidemiyolojik veriler bulunmaktadır⁽²³⁾. Ayrıca LV RNA'sı intrauterin ölüm gerçekleşen fetüslerin dokularından izole edilmiştir. Diyabetik çocuklarda ise LV'ye karşı antikor varlığı gösterilmiştir^(19,20,25). İnsanlarda miyokardit, tip 1 diyabet ve Guillain-Barré sendromu insidansları ile kemirici yoğunluğu arasında zamana dayalı bir korelasyon gözlenmesi, kemiricilerde LV varlığının araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur⁽¹⁵⁾.

Bu çalışma kapsamında, LV'nin ana konağı olduğu düşünülen *Myodes*'in yanı sıra LV pozitifliği bildirilmiş olan *Microtus* ve *Apodemus* cinsi kemiricilerin yayılım gösterdiği, ormanlık habitatlar açısından zengin bir alan olan Zonguldak ili tercih edilmiştir⁽²⁾. Fakat LV varlığına rastlanmamıştır. Pozitiflik saptanmamasında, bölgesel ve mevsimsel farklılıkların rolü olabilir. Fevola ve ark., LV prevalansının yüksek olmasını, düşük yağış oranı, ormanlık habitatların varlığı ve yüksek rakım ile ilişkilendirmişlerdir⁽⁵⁾. Çalışmanın örnekleme alanı olan Zonguldak ili, ormanlık habitatlar açısından zengin olsa da yağış oranı yüksek ve rakımı düşüktür. Diğer yandan Zonguldak, LV pozitifliklerinin bildirildiği, İsveç ve Finlandiya gibi soğuk iklimin hakim olduğu Kuzey Avrupa ülkelerine göre nispeten daha ılık bir iklime sahiptir. Bu iklimsel özellikler, bir RNA virusu olan LV'nin enfektivitesini sürdürmesi için uygun ortam şartlarını sağlamıyor olabilir.

Bu çalışma, Türkiye'deki LV varlığının araştırılması için başlangıç teşkil etmektedir. Durumun ayrıntılı bir şekilde ortaya konabilmesi için Türkiye'nin daha soğuk ve yüksek rakımlı bölgelerinde, farklı kemirici türlerinden oluşan geniş örnekleme gruplarında kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onayı: Çalışma planı, Dokuz Eylül Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (2011/07 numaralı karar) tarafından onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje, Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2018.KB.SAG.067 proje numarası ile desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: The study plan was approved by the Local Ethics Committee for Animal Experiments (decision number 2011/07) of Dokuz Eylül University.

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

Financial support: The project was supported by Dokuz Eylül University Department of Scientific Research Projects with project number 2018.KB.SAG.067.

KAYNAKLAR

1. Chomczynski P, Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty- something years on. *Nat Protoc.* 2006;1(2):581-5. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.83>
2. Çoğal M, Sözen M. Distribution of rodent species (Mammalia: Rodentia) in Zonguldak Province, Turkey. *International Journal of Environment and Geoinformatics (IJECEO).* 2022;9(4):185-93. <https://doi.org/10.30897/ijegeo.1075643>
3. Donoso Mantke O, Kallies R, Niklasson B, Nitsche A, Niedrig M. A new quantitative real-time reverse transcriptase PCR assay and melting curve analysis for detection and genotyping of Ljungan virus strains. *J Virol Methods.* 2007;141(1):71-7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.11.029>
4. Fevola C, Rossi C, Rosà R, et al. Distribution and seasonal variation of Ljungan virus in bank voles (*Myodes glareolus*) in Fennoscandia. *J Wildl Dis.* 2017;53(3):552-60. <https://doi.org/10.7589/2016-06-145>
5. Fevola, C, Rossi C, Rosso F, et al. Geographical Distribution of Ljungan Virus in Small Mammals in Europe. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2020;20(9):692-702. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2542>
6. Forbes KM, Voutilainen L, Jääskeläinen A, et al. Serological survey of rodent-borne viruses in Finnish field voles. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014;14(4):278-83.
7. Hauffe HC, Niklasson B, Olsson T, Bianchi A, Rizzoli A, Klitz W. Ljungan virus detected in bank voles (*Myodes glareolus*) and yellow-necked mice (*Apodemus flavicollis*) from Northern Italy. *J Wildl Dis.* 2010;46(1):262-6. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.1.262>.
8. Jääskeläinen AJ, Kolehmainen P, Voutilainen L, et al. Evidence of Ljungan virus specific antibodies in humans and rodents, Finland. *J Med Virol.* 2013;85(11):2001-8. <https://doi.org/10.1002/jmv.23681>
9. Jääskeläinen AJ, Nurminen N, Kolehmainen P, et al. No Association between Ljungan Virus Seropositivity and the Beta-cell Damaging Process in the Finnish Type 1 Di-abetes Prediction and Prevention Study Cohort. *Pediatr Infect Dis J.* 2019;38(3):314-6.
10. Johansson S, Niklasson B, Maizel J, Gorbalenya AE, Lindberg AM. Molecular analysis of three Ljungan virus isolates reveals a new, close-to-root lineage of the Picornaviridae with a cluster of two unrelated 2A proteins. *J Virol.* 2002;76(17):8920-30. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.17.8920-8930.2002>
11. Johansson ES, Niklasson B, Tesh RB, et al. Molecular characterization of M1146, an American isolate of Ljungan virus (LV) reveals the presence of a new LV genotype. *J Gen Virol.* 2003;84(Pt 4):837-44.
12. Kallies R. Ljungan virus: prevalence in rodents and virus pathogenesis. Dissertation. Robert Koch-Institute Berlin (2010).
13. Krous HF, Langlois NE. Ljungan virus: a commentary on its association with fetal and infant morbidity and mortality in animals and humans. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010;88(11):947-52. <https://doi.org/10.1002/bdra.20728>
14. Lundstig A, McDonald SL, Maziarz M, et al. Neutralizing Ljungan virus antibodies in children with newly diagnosed type 1 diabetes. *J Gen Virol.* 2021;102(5):001602.
15. Niklasson B, Hörnfeldt B, Lundman B. Could myocarditis, insulin-dependent diabetes mellitus, and Guillain-Barré syndrome be caused by one or more infectious agents carried by rodents? *Emerg Infect Dis.* 1998;4(2):187-93. <https://doi.org/10.3201/eid0402.980206>
16. Niklasson B, Kinnunen L, Hörnfeldt B, et al. A new picornavirus isolated from bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Virology.* 1999;255(1):86-93. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9557>
17. Niklasson B, Heller KE, Schønecker B, et al. Development of type 1 diabetes in wild bank voles associated with islet autoantibodies and the novel ljungan virus. *Int J Exp Diabetes Res* 2003;4(1):35-44. <https://doi.org/10.1080/15438600303733>
18. Niklasson B, Nyholm E, Feinstein RE, et al. Diabetes and myocarditis in voles and lemmings at cyclic peak densities-induced by Ljungan virus? *Oecologia.* 2006;150(1):1-7.
19. Niklasson B, Samsioe A, Papadogiannakis N, et al. Association of zoonotic Ljungan virus with intrauterine fetal deaths. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2007;79(6):488-93. <https://doi.org/10.1002/bdra.20359>
20. Niklasson B, Almqvist PR, Hörnfeldt B, Klitz W. Sudden infant death syndrome and Ljungan virus. *Forensic Sci Med Pathol.* 2009;5(4):274-90.

21. Niklasson B, Samsioe A, Papadogiannakis N, et al. Zoonotic Ljungan virus associated with central nervous system malformations in terminated pregnancy. *Birth Defects Res Part A Clin Mol Teratol.* 2009;85(6):542-5.
22. Romeo C, Ferrari N, Rossi C, et al. Ljungan virus and an adenovirus in Italian squirrel populations. *J Wildl Dis.* 2014;50(2):409-11.
23. Salisbury AM, Begon M, Dove W, Niklasson B, Stewart JP. Ljungan virus is endemic in rodents in the UK. *Arch Virol.* 2014;159(3):547-51. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1731-6>
24. Samsioe A, Sjöholm A, Niklasson B, Klitz W. Fetal death persists through recurrent pregnancies in mice following Ljungan virus infection. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2008;83(5):507-10. <https://doi.org/10.1002/bdrb.20169>
25. Samsioe A, Papadogiannakis N, Hultman T, Sjöholm A, Klitz W, Niklasson B. Ljungan virus present in intrauterine fetal death diagnosed by both immunohistochemistry and PCR. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2009;85(3):227-9. <https://doi.org/10.1002/bdra.20554>
26. Tapia G, Cinek O, Rasmussen T, Grinde B, Rønningen KS. No Ljungan Virus RNA in Stool Samples from the Norwegian Environmental Triggers of Type 1 Diabetes (MIDIA) Cohort Study. *Diabetes Care.* 2010;33(5):1069-71.
27. Tolf C, Gullberg M, Johansson ES, Tesh RB, Andersson B, Lindberg AM. Molecular characterization of a novel Ljungan virus (Parechovirus; Picornaviridae) reveals a fourth genotype and indicates ancestral recombination. *J Gen Virol.* 2009;90(Pt 4):843-53. <https://doi.org/10.1099/vir.0.007948-0>
28. Warvsten A, Bjornfors M, Arvidsson M, et al. Islet autoantibodies present in association with Ljungan virus infection in bank voles (*Myodes glareolus*) in northern Sweden. *J Med Virol.* 2017;89(1):24-31.
29. Zheng L, Wang F, Huang J, Xin H. Evaluation of the association of zoonotic Ljungan virus with perinatal deaths and fetal malformation. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2015;105(1):81-5.

TÜBERKÜLOZ HASTALARINDAN 2014-2022 YILLARI ARASINDA İZOLE EDİLEN MİKOBAKTERİLERİN ANTI-TÜBERKÜLOZ İLAÇ DUYARLILIKLARI

Yusuf YAKUPOĞULLARI, Barış OTLU, Mehmet Sait TEKEREKOĞLU, Alper POLAT

Y. Yakupoğulları: 0000-0002-5545-3467, B. Otlu: 0000-0002-6220-0521, M. S. Tekerekoğlu: 0000-0001-7284-3427, A. Polat: 0009-0005-0093-6559

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MALATYA

Öz

Anti-tüberküloz (anti-TB) ilaç direnci, tedavi başarısını etkileyen başlıca faktörlerden olup bölgesel direnç eğilimlerinin analizi etkili veremle savaş politikalarının geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada, bölgemizde son dokuz yılda tüberküloz (TB) hastalarından izole edilen mikobakterilerin anti-TB ilaç duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Malatya TB Tanı Laboratuvarında 2014-2022 yılları arasında çalışılan klinik örneklerin TB kültüründe üretilen izolatların ilaç duyarlılık verileri geriye yönelik olarak ilgili laboratuvarın elektronik veri kaynağından toplanıp analiz edildi. Tüberküloz kültürü Lowenstein Jensen besiyeri ve VersaTrek otomatize TB kültür ve duyarlılık cihazında (TREK Diagnostic Systems, ABD) yapıldı. İzolatların izoniazid (INH), rifampisin (RIF), pirazinamid (PZA), streptomisin (STR) ve etambutol (ETH) duyarlılıkları aynı otomatize sistemde çalışıldı. Dokuz yıllık çalışma süresince 415'i Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTBC) ve 14'ü tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) olmak üzere toplam 429 mikobakteri izolatının ilaç duyarlılık özellikleri incelendi. Çalışılan MTBC suşlarının 329'u (%79.2) tüm ilaçlara duyarlıydı ve yıllara göre bu oran %63 ila %86.4 arasında değişiyordu. Soyutlanan MTBC suşlarında en yüksek direnç 42 (%10.1) izolatla PZA ve 33 (%8) izolatla INH'a karşı iken, en düşük direnç 1 (%0.2) izolat ile EMB'ye karşı idi. Saptanan 14 TDM izolatının tamamı PZA ve INH direnci gösterirken, en düşük direnç 9 (%64.3) izolatla yine EMB'ye karşı oldu. On (%2.4) MTBC izolatı iki, 5 (%1.2) izolat ise üç anti-TB ilaca dirençli bulundu. Bu çalışmada, bölgemizin anti-TB ilaç direncinin ulusal direnç sıklığına göre daha düşük olduğu saptanmıştır. PZA direnç oranı yüksek bulunmakla birlikte, bu ilacın test edilmesinde bilinen teknik sorunlar ve intrinsik dirençli Mycobacterium bovis türünün ayrılmamış olması dikkate alınmalıdır. Gereksiz antimikrobiyal kullanımını, tedavinin erken terk edilmesini ve dirençli fenotiplerin toplumda yayılımını engelleyici önlemlerin güçlendirilmesi TB tedavisinin en önemli bileşeni olan anti-TB ilaç etkinliğinin korunmasına katkı sunacaktır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal direnç, Anti-TB ilaç, İzoniazid, Rifampisin, Tüberküloz

ABSTRACT

Anti-Tuberculosis Drug Susceptibility of Mycobacteria Isolated from the Patients with Tuberculosis between 2014 and 2022

Anti-tuberculosis (anti-TB) drug resistance is one of the main factors affecting the success of treatment, and the analysis of regional resistance trends allows the development of effective tuberculosis (TB) control policies. In this study, it was aimed to investigate the anti-TB drug susceptibility of mycobacteria isolated from TB patients in our region in the last nine years. Drug susceptibility data of isolates grown in TB culture of clinical samples studied in Malatya TB Diagnostic Laboratory between 2014-2022 were collected retrospectively from the electronic data source of the relevant laboratory and analyzed. Tuberculosis culture was performed on Lowenstein Jensen medium and VersaTrek automated TB culture and susceptibility device (TREK Diagnostic Systems, USA). The isoniazid (INH), rifampicin (RIF), pyrazinamide (PZA), streptomycin (STR) and ethambutol (ETH) susceptibilities of the isolates were studied in the same automated system. During the nine-year of study period, drug susceptibility characteristics of a total of 429 mycobacteria strains including 415 Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) and 14 non-tuberculous mycobacteria (TDM) were investigated. Of the studied MTBC isolates, 329 (79.2%) were susceptible to all drugs and, the ratio varied between 63% and 86.4% during the study years. A total 42 (10.1%) of the isolated MTBC strains showed PZA and 33 (8%) INH resistance, the lowest resistance was detected against EMB with 1 (0.2%) isolate. While all 14 TDM isolates were resistant to PZA and INH, the lowest resistance was also against EMB with 9 (64.3%) isolates. Ten (2.4%) MTBC isolates were resistant to two and 5 (1.2%) isolates were resistant to three anti-TB drugs.

İletişim adresi: Yusuf Yakupoğulları, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MALATYA
GSM: (0505) 278 22 75

e-posta: yusufyakoup@yahoo.com

Received/Geliş: 19.09.2023 Accepted/Kabul: 10.11.2023 Published Online/Online Yayın: 31.12.2023

Atf/Cite as: Yakupoğulları Y, Otlu B, Tekerekoğlu MS, Polat A. Tüberküloz hastalarından 2014-2022 yılları arasında izole edilen mikobakterilerin anti-tüberküloz ilaç duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2023;37(3):74-81.

In this study, it was determined that the anti-TB drug resistance of our region was lower than the national resistance frequency. Although the PZA resistance rate is high, known technical problems in testing this drug and the fact that the intrinsically resistant Mycobacterium bovis species have not been differentiated should be taken into consideration. Strengthening measures to prevent unnecessary antimicrobial use, early discontinuation of treatment and the spread of resistant phenotypes in the community will contribute to the preservation of the effectiveness of drugs, which are the most important components of TB treatment, for many years.

Keywords: Antimicrobial resistance, Anti-TB drug, Isoniazid, Rifampicin, Tuberculosis

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* başta olmak üzere bazı mikobakteri türleri tarafından oluşturulan kronik seyirli bir enfeksiyondur. Hastalık, en sık akciğerde yerleşim göstermekle birlikte böbrek, bağırsaklar, kemik ve merkezi sinir sistemi gibi birçok organda tutulum yapabilmektedir⁽¹⁾. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre her yıl dünyada yaklaşık 10 milyon TB vakası saptanmakta ve 1.5 milyon insan hayatını bu nedenle kaybetmektedir⁽⁷⁾. Günümüzde tüm ölümler arasında tek patojen kaynaklı mortalitenin en sık nedeni durumunda olan TB'nin⁽⁶⁾ eradikasyonu için global bir işbirliği ile "TB-End" stratejisi uygulamaya konulmuş ve bu amaçla önemli miktarda mali kaynak ayrılmıştır⁽¹⁴⁾.

Modern tıptaki tüm gelişmelere rağmen TB halen tanısı en zor yapılan enfeksiyon hastalıklarındandır. Bu durum hastalığın eradikasyonu için önemli bir sorun teşkil etmekte ve tahminler yıllık 3 milyon TB hastasına halen ulaşamadığını öngörmektedir⁽¹⁰⁾. Tüberküloz eradikasyonundaki diğer bir önemli sorun ise anti-tüberküloz (anti-TB) ilaçlara karşı gittikçe artan dirençtir⁽⁶⁾. Yapılan çalışmalarda ilaç direncinin TB'nin nüksü ve TB nedenli mortaliteyi arttıran bağımsız bir değişken olduğu ortaya konulmuştur⁽²⁾.

Dünya Sağlık Örgütü, 2015-2021 yılları arasında yıllık ortalama 500 bin dolayında çoklu ilaca dirençli (ÇİD) veya rifampisin-dirençli (RR) TB olgusu olduğunu; bunlardan 200 bin dolayında hastanın tespit edilip tedavi altına alındığını bildirmiştir⁽⁷⁾. Ülkemizde ise 2010-2013 yılları arasında ÇİD TB oranı %5 ile %5.4 iken 2016-2018 yılları arasında bu durum %3.2 dolayına gerilemiştir⁽¹⁶⁾. Global veya ülke düzeyinde TB istatistikleri yıllık olarak yayınlanmakla birlikte direncin fazla olduğu bölgelerde buna neden olan risk faktörlerinin saptanıp giderilmesi ve direncin daha düşük olduğu bölgelerde buna sağlayan faktörlerin aydınlatılarak buna göre veremle savaş politikalarının düzenlenmesine gereksinim vardır. Bu nedenle, bölgesel duyarlılıkların belli aralıklarla analiz edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada, yaklaşık 800 bin nüfuslu bir bölgenin TB Tanı Laboratuvarının son dokuz yıllık verilerinin geriye dönük incelenerek anti-TB ilaç direncinde oluşan değişimin saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma dizaynı, kapsam ve hasta seçimi

Malatya ili TB Tanı Laboratuvarı'na 01 Ocak 2014 ile 31 Aralık 2022 tarihleri arasında gönderilen klinik numuneler için yapılan TB kültüründe üreyen mikobakteri türlerinin saptanan ilaç duyarlılıklarına ait sonuçları geriye dönük olarak kesitsel bir çalışma kapsamında değerlendirildi. Hastaların yaş ve cinsiyet gibi demografik özellikleri ve numune türü, üreyen mikobakteri türü ve ilaç duyarlılıklarına ait verileri Malatya TB Tanı Laboratuvarının elektronik kayıtlarından sorgulanarak elde edildi. Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulunun 05.09.2023 tarih ve 2023/4873 sayı numaralı onayı ile yapıldı.

Çalışma dönemi içinde laboratuvara ulaştırılan klinik numuneler içinden patojen mikobakteri üremesi olan tüm örnekler çalışmaya dahil edildi. Aynı hastadan bir tedavi dönemi içinde aynı klinik örnekten tekrar eden izolatlardan sadece biri çalışmaya alındı. Aynı hastadan bir tedavi dönemi sonrası izole edilmesi durumunda veya aynı hastadan izole edilen ve farklı duyarlılık profili gösteren izolatların her biri çalışmaya alındı. Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM) üremesi durumunda klinisyenin patojen kabul edip ilaç duyarlılığı analizini talep ettiği örnekler çalışmaya dahil edildi, diğer TDM üremeleri çalışma dışı bırakıldı.

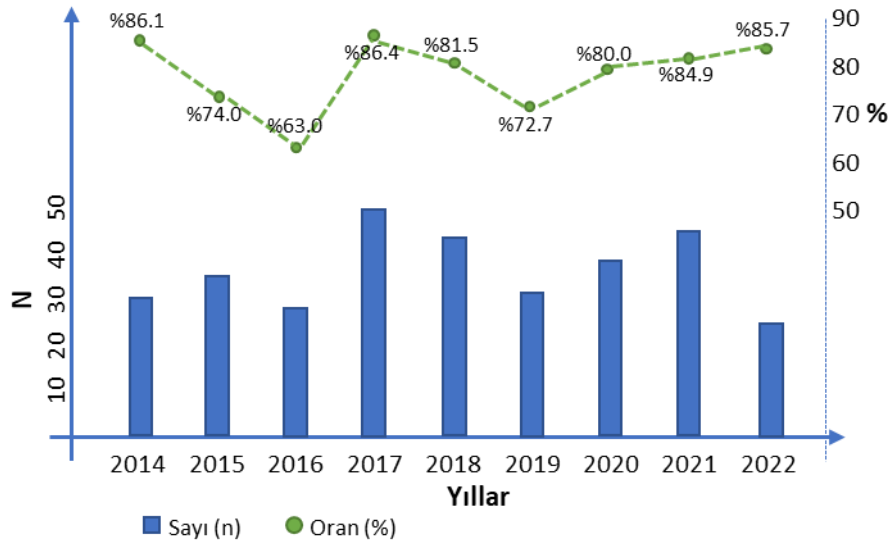
Laboratuvar çalışmaları

Hastalardan gönderilen numuneler için numune türüne göre uygun olarak homojenizasyon, dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemi yapıldı. Bu amaçla %4 sodyum hidroksit + N-asetil-L-sistein kiti (RTA Laboratuvarları, Türkiye) kullanıldı. İşlenen örnekler Erlich Ziehl Neelsen (EZN) yöntemi ile aside dirençli boyama yöntemi ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. Örnekler içinde *Mycobacterium tuberculosis* basil kompleksi (MTBC) türlerine ait DNA varlığı gerçek zamanlı PCR yöntemi ile GeneXpert MTB/RIF Ultra assay (Cepheid Inc., ABD) veya BD Maks MDR-TB (Becton, Dickinson and Company, Kanada) kitleri kullanılarak araştırıldı. İşlenmiş örnekler sekiz haftalık TB kültürüne alındı. Bu amaçla Lowenstein–Jensen besiyeri (RTA Labs., Türkiye) ve VersaTREK otomatize TB kültür ve duyarlılık sistemi (TREK Diagnostic Systems, ABD) kullanıldı. Kültürde üreyen mikobakteri türlerinin izoniazid (INH), rifampisin (RIF), pirazinamid (PZA), streptomisin (STR) ve etambutol (ETH) duyarlılıkları aynı otomatize sistem kullanılarak çalışıldı.

BULGULAR

Çalışma süresince toplam 404 hastadan [167 (%41.3) kadın ve 237 (%58.7) erkek; medyan yaş 41.65 (min:1, maks:92)] yıl olmak üzere 429 mikobakteri türü izole edildi ve anti-TB ilaç duyarlılığı çalışıldı. Üreme olan klinik örneklerin 245'i (%57.1) balgam, 58'i (%13.5) doku biyopsisi, 37'si (%8.6) abse, 32'si (%7.5) bronkoalveolar lavaj sıvısı, 14'ü (%3.3) idrar ve geri kalan 43'ü (%10) ise plevral sıvı, peritoneal sıvı, beyin omurilik sıvısı ve açlık mide suyu gibi örneklerdi.

Tüberküloz kültüründe üreyen mikobakteri türlerinin 415'i MTBC ve geri kalan 14'ü ise TDM idi. İzole edilen MTBC türlerinin 329'u (%79.2) çalışılan tüm ilaçlara duyarlı iken çalışma yılları içinde bu duyarlılığın %63 ila %86.4 arasında değiştiği gözlemlendi. MTBC izolatları arasında tüm anti-TB ilaçlara duyarlı olanların yıllara göre sayı ve oranları Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Tüm anti-TB ilaçlara duyarlı MTBC izolatlarının yıllara göre dağılımı.

Çalışma süresince soyutlanan 415 MTBC suşunun 42'si (%10.1) PZA ve 33'ü (%8) INH direnci gösterirken bu suşlar arasında en düşük direnç 1 (%0.2) izolat ile EMB'ye karşı idi. Saptanan 14 TDM izolatının tamamı PZA ve INH direnci gösterirken en düşük direnç 9 (%64.3) izolatla yine EMB'ye karşı oldu. Çalışma süresince saptanan mikobakteri türlerinin anti-TB ilaçlara karşı olan direnç sıklığı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. 2014-2022 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium* spp. suşlarında anti-TB ilaçlara direnç sıklığı.

Yıllar	Dirençli İzolat (n, %)				
	INH	RIF	SM	EMB	PZA
2014					
MTBC (n=36)	1 (2.8)	0 (0.0)	1 (2.8)	0 (0.0)	4 (11.1)
TDM (n=2)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50)	2 (100)
2015					
MTBC (n=50)	5 (10.0)	1 (0.5)	3 (6.0)	0 (0.0)	6 (12.0)
TDM (n=1)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0 (0.0)	1 (100)
2016					
MTBC (n=46)	10 (21.7)	0 (0.0)	3 (6.5)	0 (0.0)	10 (21.7)
TDM (n=0)	-	-	-	-	-
2017					
MTBC (n=59)	2 (3.4)	0 (0.0)	1 (1.7)	0 (0.0)	6 (10.2)
TDM (n=1)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0 (0.0)	1 (100)
2018					
MTBC (n=54)	5 (9.3)	0 (0.0)	3 (5.6)	1 (1.9)	5 (9.3)
TDM (n=0)	-	-	-	-	-
2019					
MTBC (n=44)	4 (9.1)	2 (4.5)	4 (9.1)	0 (0.0)	1 (2.3)
TDM (n=4)	4 (100)	3 (75.0)	4 (100)	3 (75.0)	4 (100)
2020					
MTBC (n=45)	3 (6.7)	0 (0.0)	1 (2.2)	0 (0.0)	5 (11.1)
TDM (n=2)	2 (100)	1 (50.0)	1 (50.0)	2 (100)	2 (100)
2021					
MTBC (n=53)	2 (3.8)	2 (3.8)	1 (1.9)	0 (0.0)	2 (3.8)
TDM (n=3)	3 (100)	3 (100)	3 (100)	2 (66.7)	3 (100)
2022					
MTBC (n=28)	1 (3.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (10.7)
TDM (n=1)	1 (100)	1 (100)	0 (0.0)	1 (100)	1 (100)
TOPLAM					
MTBC (n=415)	33 (8.0)	5 (1.2)	17 (4.1)	1 (0.2)	42 (10.1)
TDM (n=14)	14 (100)	12 (85.7)	12 (85.7)	9 (64.3)	14 (100)

Çalışmada, 10 (%2.4) izolat iki ve 5 (%1.2) izolat ise üç anti-TB ilaca birden dirençli bulundu. İki ilaca dirençliler arasında üç suş ile SM+PZA direnci en fazla görülürken üç ilaca dirençliler arasında üç suş ile INH+SM+PZA direnci en fazla saptandı. Çalışma süresince bulunan çoklu ilaca dirençli MTBC izolatlarının yıllara göre dağılımı Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. 2014-2022 yılları arasında izole edilen MTBC suşlarında birden fazla anti-TB ilaca direnç sıklığı.

Yıllar	Direnç Profili (n)
2014	SM + PZA (1)
2015	INH + SM + PZA (1), RIF + SM (1)
2016	INH + SM (1), INH + PZA (2), SM + PZA (1)
2017	INH + PZA (1)
2018	SM + PZA (1), INH + SM + PZA (1), INH + EMB (1)
2019	INH + SM (1), INH + RIF + SM (1)
2020	INH + SM + PZA (1)
2021	INH + RIF + SM (1)*
2022	-

SM: Streptomisin, PZA: Pirazinamid, INH: İzoniazid, RIF: Rifampisin, EMB: Etambutol.

*2019 yılında pozitif bulunan hastanın 2021 yılındaki olası nüks suşu.

TARTIŞMA

Anti-tüberküloz ilaç direnci, TB tedavisinin başarısını doğrudan etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2012 ile 2020 yılları arasında ilaç-duyarlı TB olgularında tedavi başarısı %82-90 arasında iken, dirençli suşların neden olduğu TB hastalarının ancak yarısı ile 2/3'ünde tedavi başarısı sağlanmıştır⁽⁷⁾. On üç ülkede gerçekleştirilen bir faz-3 randomize kontrollü çalışmada, ilaç duyarlı suşların tedavisinde dört aylık rifapentin ve kinolon içeren rejimler ile standart altı aylık rejim arasında tedavi başarısı ve yan etki yönünden anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir⁽⁴⁾. Bu konuda artan bilimsel kanıtlar sonucunda DSÖ tarafından 2022 yılında yayınlanan bir tedavi rehberi ile duyarlı suşların neden olduğu komplikasyonsuz TB olgularında altı aylık standart tedavi yerine dört aylık yeni bir tedavi rejimi önerilmeye başlanmıştır⁽²⁰⁾. Bu nedenle, izolatların tüm ilaçlara duyarlılık durumunun saptanması tedavinin içeriği ve süresinin planlanmasında daha fazla önemli hale gelmiştir. Bu çalışmada, 2014 yılında %86 dolayında olan tüm ilaçlara duyarlı MTBC sıklığı 2016 yılına kadar düşüş eğilimi göstermiş ve %63 düzeyine gerilemiştir. İki bin on yedide bu oran yeniden %86 düzeyinin üstüne çıksa da 2019'a kadar tekrar bir düşüş eğilimi göstererek %73'e gerilemiştir (Tablo 1). Ülkemizin TB verilerinin sunulduğu Türkiye'de Verem Savaşı 2020 Raporu'nda⁽¹⁶⁾, 2014-2018 yılları arasında ulusal düzeyde anti-TB ilaç direncinde dikkate değer bir değişim olmadığı görülmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda elde ettiğimiz bu iki düşüş göreceli olarak az sayıdaki hastaya ait bölgesel ve geçici bir durum olarak kabul edilmiştir. Çalışmamızda, 2020-2022 arasındaki üç yıllık süre boyunca tüm ilaçlara duyarlı MTBC sıklığı %80-85.7 dolayında değişmiştir. Her ne kadar ulusal düzeye yansımamış olsa da direnç değişimine yol açan bölgesel faktörlerin aydınlatılması gerekmektedir. Dolayısıyla tüm ilaçlara duyarlı MTBC sıklığının takip edilmesi ve frekansta oluşan değişimlere yol açabilecek hasta ve toplum bazlı olası faktörlerin belirlenmesi, direnç trendindeki artışın erken saptanmasına ve buna uygun önleyici politikaların geliştirilmesine olanak tanıyacaktır.

Çalışmamızda MTBC suşlarında en yüksek direnç %10 dolayında PZA'ya karşı görülmüştür. Pirazinamid, makrofaj içinde asidifiye edilmiş basile karşı bakterisidal etkinlik gösteren bir nikotinamid analogu olup standart altı aylık TB tedavi rejiminin ilk iki ayında kullanılmayı önerilen birinci seçenek bir anti-TB ilaçtır⁽¹⁵⁾. Kompleks türler içinde bulunan *Mycobacterium bovis* bu ilaca doğal dirençli olup *M. tuberculosis* DNA'sının *pncA*, *rpsA* ve *panD* gibi gen bölgelerinde oluşan mutasyonların, ilacın aktif formu olan pirazinoik asite dönüşümü veya pirazinoik asitin bağlanma bölgesinde değişimi indükleyerek dirence yol açtığı bildirilmektedir⁽¹³⁾. Çalışmamızda incelenen türler MTBC düzeyinde tanımlandığı ve *M. bovis* ayırımına gidilmemiş olması nedeniyle saptanan bu direncin ne kadarının doğal PZA direnci ve ne kadarının mutasyon kaynaklı bir direnç olduğu saptanamamıştır. Ülkemizde hizmet vermekte olan TB tanı laboratuvarlarına tür tayini için kaynak ayrılması, MTBC türlerinde kazanılmış direncin ortaya konulması için faydalı olacaktır.

Çalışmamızda saptanan en yüksek anti-TB ilaç direnci PZA'ya karşı bulunduğu için bu durumun daha detaylı bir şekilde irdelenmesi gerekliliği doğmuştur. Günümüzde *M. tuberculosis* suşlarının PZA duyarlılığının saptanmasında halen bazı sorunlar bulunmaktadır. Bunlardan ilki özellikle agar proporsiyon yönteminde besiyeri pH'sının PZA'nın aktivite gösterebileceği ve aynı zamanda basilin üreyebileceği düzeyde tutulmasında yaşanan sorunlardır. Diğer taraftan otomatize kültür ve duyarlılık sistemleri arasında; bu sistemlerle referans fenotipik yöntem arasında ve fenotipik direnç ile bu direncin tanımlanmış moleküler determinantları arasında halen tam bir uyum bulunmamaktadır. Dolayısıyla, PZA ilk seçenek anti-TB ilaçlardan olmasına karşın DSÖ tarafından bu ilaç için rutin duyarlılık analizi yapılması önerilmemektedir. Bu nedenle PZA, ilk seçenek ilaçlar içinde, global ve bölgesel direnç sıklığı yönüyle hakkında en az veri bulunan anti-TB ilaçlardandır. Ülkemizin TB verilerinin sunulduğu Türkiye'de Verem Savaşı 2020 Raporu'nda⁽¹⁶⁾, ülkemizin PZA direnç sıklığı hakkında bir veriye rastlanılmamıştır. İki bin on üç yılında yayınlanan bir çalışmada, İzmir ve Manisa bölgesinde izole edilen, PZA dışında tüm primer anti-TB ilaçlara duyarlı 150 MTBC izolatının beşinde (%3.3) PZA mono-direnci saptanmış ve bunların üçü (%60) *M. bovis* olarak tanımlanmıştır⁽⁸⁾. Yapılan bir sistematik derleme ve meta analiz çalışmasında 2015 yılı itibarıyla dünyada PZA direncinin %16 dolayında olduğu öngörülmüş olup özellikle Afrika kıtası ülkelerde bu oranın daha yüksek olduğu bilinmektedir⁽¹⁹⁾. Çalışmamızda saptanan 42 PZA dirençli izolat yukarıda anlatılan veriler ışığında incelendiğinde; bunlardan 33'ünün (%78.6) PZA mono-dirençli olduğu ve 26'sının (%61.9) akciğer örnekleri olmasına karşın 12'sinin doku, üçünün apse ve birinin idrar örneği olduğu görülmektedir. Pirazinamid mono-dirençli suşlarda ve akciğer dışı lenf nodu dokusu, apse ve idrar örneklerinde

patojenin PZA'ya karşı intirinsik dirençli bir MTBC türü olan *M. bovis* olasılığının artacağı düşünüldüğünde saptadığımız bu %10'luk direncin önemli bir kısmının *M. bovis* kaynaklı doğal direnç olabileceği öngörülmektedir. Bu çalışmada bildirdiğimiz bölgemizin toplam PZA dirençli MTBC sıklığı, yukarıda anlatılan hususlar da göz önüne alındığında; ülkemizde bu ilacın genel direnç sıklığı hakkındaki oldukça kısıtlı mevcut veriye katkı sağlaması, bu konuda ulusal düzeyde bir veri eksikliğimiz olduğunun tekrar hatırlatılması ve *M. bovis* ayrımı için TB tanı laboratuvarlarının güçlendirilmesi gerekliliğinin altını çizmesi gibi nedenlerden dolayı özellikle önemli olmuştur.

Çalışmamızda incelenen MTBC izolatlarında ikinci en fazla direnç %8 ile INH'a karşı olmuştur. İzoniazid, basilin hücre duvarı bileşenlerinden mikolik asit sentezini bozarak bakterisidal etki gösteren ilk seçenек anti-TB bir ilaçtır ve profilaksi, latent TB ve aktif TB tedavisinin tüm aşamalarında kullanılmaktadır. Bu nedenle INH, TB tedavisinde tüm dünyada en fazla kullanılan ilaçtır ve ilacı aktif formu olan izonikotinil radikale dönüştüren bakteriyel katalaz-peroksidaz enzim geninde (*KatG*) oluşan mutasyonlar başta olmak üzere günümüze kadar onlarca INH direnci ile ilişkilendirilen mutasyon saptanmıştır⁽¹⁷⁾. Çalışmamız süresince %2.8 ila %10 arasında değişim gösteren INH-dirençli MTBC sıklığı 2016 yılında %21'i aşmıştır (Tablo 1). Ülkemizin TB verilerinin sunulduğu Türkiye'de Verem Savaşı 2020 Raporu'nda⁽¹⁶⁾, 2014-2018 yılları arasında ulusal INH direncinin %13.8-12.6 arasında istikrarlı sayılabilir bir düzeyde küçük değişimler gösterdiği bildirilmiştir. Buna göre, bölgemizde 2014, 2017 ve 2020-2022 yılları arasında saptanan INH direncinin ülkemizin direnç düzeyinin yarısından daha az olduğu anlaşılmakta ve 2016 yılındaki belirgin INH direnç artışının yine bölgeye sınırlı ve görece olarak az sayıdaki hasta nedeniyle olduğu öngörülmüştür. Dokuz yıllık çalışma sürecimizin beş yılındaki INH direncinin ülkemizin direnç sıklığına göre oldukça düşük bir düzeyde olması ve toplam çalışma süreci içindeki INH direncinin ulusal direnç sıklığına göre yaklaşık %40 daha az olması bu çalışmada dikkat çeken önemli verilerden biridir. Çalışmalarda, dirençli genotiplerin toplumda yayılımı, gereksiz INH kullanımı ve tedavinin yarıda kesilmesi gibi etkiler INH direnç gelişimi ile ilişkilendirilen faktörlerdir⁽⁵⁾. Buna göre, bölgemize dirençli türleri taşıyabilecek göç alma gibi demografik hareketliliğin göreceli olarak daha az olması, ilimizde TB tanı ve tedavi sürçlerinin sıkı takibi ve özellikle ülkemizde %3 dolayında olan tedavi terk durumunun ilimizde görülmemesinin⁽¹⁶⁾ bu sonuçta etkili olabileceği öngörülmüştür.

Çalışmamızda incelenen MTBC izolatlarında SM direnci %4 dolayında saptanmıştır. Streptomisin, aminoglikozid türü bir protein sentez inhibitörü olup ilk seçenек anti-TB ilaçlar arasında yer alır ve genellikle tedavi terk veya nüks hastalarının tedavisinde veya dirençli izolatların neden olduğu TB'da kullanılmaktadır⁽¹⁵⁾. Basilin başlıca S12 ribozomal proteinini kodlayan *rpIS* veya 16S rRNA'sının kodlandığı *rrs* kromozomal gen bölgelerinde oluşan mutasyonlar ilaca karşı direnç ile ilişkilidir⁽¹²⁾. Yapılan çalışmalarda SM direncinin ilacın sık kullanımı sonucu ortaya çıkan seçici etki ile provake edildiği ve ilaç dirençli suş sıklığının ülkeler arasında önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir. Örneğin, aynı coğrafi kıta içinde bulunan Almanya'da %3-4.2 SM direnci saptanırken⁽⁵⁾ bu oran Portekiz'de %80'in üzerinde⁽¹¹⁾ bulunmuş ve ülkemizin SM direnç oranı ise 2010-2018 yılları arasında %9.1-11.3 arasında değişmiştir⁽¹⁶⁾. Bu verilere göre çalışmamızda bölgemiz için bulduğumuz SM direnç oranının Türkiye düzeyinin oldukça altında olduğu anlaşılmaktadır. İlimizde tedavi terk hasta sayısının neredeyse yok sayılacak kadar az olması ve diğer komplikasyonlu TB olgularının ülkemize görece olarak belirgin düzeyde az olması gibi nedenlerle SM kullanımının kısıtlı kalmasının bu sonuçla ilişkili olabileceği öngörülmüştür.

Rifampisin, DNA bağımlı RNA polimeraz inhibisyonu yaparak bakterisidal etki gösteren ilk seçenек anti-TB ilaçlardandır. Dokulara ve hücre içine iyi düzeyde penetre olması onu TB'nin neredeyse tüm tedavi rejimlerinin vazgeçilmez antimikrobiyallerden biri yapmaktadır. Rifampisin direnci, geçirgenlik azalması ve ilacı hücre dışına atan pompa mekanizmalarının "up-regülasyonu" gibi yollar tarafından sağlanabiliyor olsa da temel mekanizma basilin RNA polimerazını kodlayan beş gen bölgesinden biri olan *rpOB* bölgesinde tanımlanmış bazı mutasyonlar neticesinde ilacın enzime bağlanmasının azalması veya tamamen kaybolması sonucu etki gösterememesi nedeniyle ortaya çıkmaktadır⁽²¹⁾. Rifampisine karşı dirençli olan suşlarla enfekte olan hastalara verilecek anti-TB tedavinin içeriği ve süresinde zorunlu olarak önemli değişimler olmaktadır. Çalışmamızda dokuz yıllık süre içinde toplam 5 (%1.2) izolatta RIF direnci saptanmıştır. Ülkemizin TB verilerinin sunulduğu Türkiye'de Verem Savaşı 2020 Raporu'nda⁽¹⁶⁾, 2010-2018 yılları arasındaki duyarlılık sonuçlarına göre ülkemizde RIF direncinin %4.1 ila %6.8 arasında değiştiği göz önüne alındığında bölgemizde 2014-2022 yılları arasında saptanan RIF direnci ulusal direnç oranına göre yaklaşık 3-5 kat daha düşük olduğu görülmektedir. Çalışmamızda saptadığımız diğer düşük direnç oranları ile birlikte bulduğumuz RIF direnç oranı göz önüne alındığında, bölgemize ait faktörlerin ve düşük sayıdaki hasta sayısının bu sonuç üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda saptanan en düşük direnç EMB'ye karşı olmuştur. Etambutol, TB'a karşı kullanılan ilk antimikrobiallerden olup etkinliğini aktif olarak çoğalan basilin hücre duvar yapısının önemli bir bileşeni olan arabinogalakattan sentezini bozarak gösterir ve bakterinin *embB* ve *ubiA* gen bölgelerinde oluşan mutasyonlar bu ilaca karşı dirençle ilişkilendirilmiştir⁽³⁾. Ülkemizin 2010-2018 verilerine göre Türkiye'de EMB direncinin %3.1 ile %5.4 arasında değiştiği⁽¹⁶⁾ göz önüne alındığında bölgemizde bu ilaca karşı direncin oldukça düşük düzeylerde kaldığı anlaşılmaktadır. Çalışmamızda diğer anti-TB ilaçlara karşı saptanan düşük direnç ile ilişkili olası faktörlere ek olarak; bölgemizde EMB kullanımı gerektiren çoklu dirençli suşlarla enfekte TB hastasının çok az olması ve böylesi hastaların tedavisinin daha büyük ve merkezi sağlık kuruluşlarında yapıyor olması gibi durumların bulunan bu düşük EMB direnci ile ilişkili olabilecek faktörler olarak öngörülmüştür.

Tüberküloza karşı günümüze kadar oldukça az sayıda etkili ilaç geliştirilebilmiş olması ve kombinasyon rejimlerine olan gereksinim göz önüne alındığında, mevcut sınırlı ilaç alternatifleri arasından izolatin birden fazla ilaca dirençli olması durumunda enfeksiyonun sağaltımında önemli zorluklarla karşılaşmaktadır. Çalışmamızda toplam 15 (%3.6) izolat çoklu ilaca dirençli (ÇİD) MTBC suşu olarak tanımlanmış olup bu değer ülkemizin 2016-2018 verisine yakındır. Çalışmamızda 2016 sonrası ÇİD hızında görülen düşüş ve çalışmamızın son yılı olan 2022'de hiç ÇİD izolatı bulunmamış olması da yine ülkemizde son yıllarda ÇİD insidansında görülen düşüş⁽¹⁶⁾ ile uyumludur.

İki bin yirmi yılında başlayan Coronavirus Hastalığı-19 (COVID-19) pandemisinde, TB hastalarının tanı ve tedavisinde oluşan bazı aksaklıklar neticesinde tespiti yapılan TB hastalarının sayısında %25'e varan azalma olduğu ve TB nüksü olan hastaların arttığı bildirilmiştir⁽¹⁸⁾. Ancak pandeminin ülkemizde izole edilen MTBC suşlarının anti-TB ilaç direncine nasıl yansıdığı hakkında yayınlanmış veri henüz yoktur. Çalışmamızda, pandeminin etkili olduğu 2020-2022 arasındaki üç yıllık periyotta dirençli izolat frekansında göreceli olarak azalma gözlenmiş olması bu anlamda diğer önemli bir bulgu olarak görülebilir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar diğer taraftan ülkemizin yüksek antimikrobiyal direnç sorununun çözümüne ışık tutabilecek bazı hususlar da içermektedir. Tüberkülozda saptanan bu düşük direnç sıklığına karşın Türkiye'de birçok son seçenek antibiyotiğe karşı dirençli Gram negatif bakteri sorunu yıllar öncesinde başlamış ve önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir⁽⁹⁾. Dolayısı ile TB'da olduğu gibi mikrobiyoloji laboratuvarlarının hem konvansiyonel hem de moleküler testlerle güçlendirilmesi ve sunulan tanısal hizmetlerin topluma etkili bir şekilde yayılması ile ülkemizde önemli bir sorun haline gelmiş olan gereksiz antimikrobiyal kullanımı azaltılabilir.

Bu çalışmada, ülkemizin nüfus yoğunluğu olarak yaklaşık %1'ini oluşturan bölgemizin dokuz yıllık TB duyarlılık verileri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar tüm ilaçlara duyarlı MTBC sıklığı, her bir anti-TB ilacın direnç sıklığı ve çoklu ilaca dirençli izolat sıklığı olarak üç ana başlıkta değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz veriler, bölgemizde tek ilaç direnç sıklığının ülkemiz değerlerinin belirgin olarak altında olduğunu göstermiştir. Bu hususta bölgemizin demografik özellikleri, daha az göç alma durumu, sağlık hizmetine erişim kolaylığı ve yaşam koşullarının göreceli olarak iyi sayılabilir bir düzeyde olmasının yanında ilimizde tanı, tedavi ve önleme başlıkları altında sürdürülen veremle savaş uygulamalarının bir sonucu olarak da görülebilir. Ülkemizle birlikte bölgemizde de son yıllarda görülen anti-TB ilaç direnci sıklığındaki azalma, uygulamadaki önlemlerin bir başarısı olarak düşünülebilir. Ülkemizde TB'nin eradike edilmesi adına yürürlükteki veremle savaş politikamızın etkinliği daha kapsamlı ve devamlı bir şekilde takip edilmeli, aksaklıklar saptanıp giderilmeli ve yeni politikalar geliştirilmelidir.

Etik Kurul Onayı: İnönü Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulunun 05.09.2023 tarih ve 2023/4873 sayı numaralı onayı ile yapıldı.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: It was carried out with the approval of the İnönü University Non-Interventional Ethics Committee dated 05.09.2023 and numbered 2023/4873.

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

Financial support: No financial support was received for the project.

KAYNAKLAR

1. Ankrah AO, Glaudemans AWJM, Maes A, Van de Wiele C, Dierckx RAJO, Vorster M, Sathekge MM. Tuberculosis. *Semin Nucl Med.* 2018;48(2):108-30.
2. Conradie F, Diacon AH, Ngubane N, Howell P, Everitt D, Crook AM, et al. Treatment of highly drug-resistant pulmonary tuberculosis. *N Engl J Med.* 2020;382(10):893-902.
3. Dookie N, Rambaran S, Padayatchi N, Mohamed S, Naidoo K. Evolution of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: a review on the molecular determinants of resistance and implications for personalized care. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(5):1138-51.
4. Dorman SE, Nahid P, Kurbatova EV, Phillips PPJ, Bryant K, Dooley KE, et al. Four-month rifapentine regimens with or without moxifloxacin for tuberculosis. *N Engl J Med.* 2021;384(18):1705-18.
5. Glasauer S, Altmann D, Hauer B, Brodhun B, Haas W, Perumal N. First-line tuberculosis drug resistance patterns and associated risk factors in Germany, 2008-2017. *PLoS One.* 2019;14(6):e0217597.
6. Global Tuberculosis Report 2021. Geneva: World Health Organization; (2021).
7. Global Tuberculosis Report 2022. Geneva: World Health Organization; (2022).
8. Kalır N, Özkütük AA, Esen N, Özkütük N. Pyrazinamide monoresistance in clinical isolates. *Turkish J Med Sci.* 2013;43(1):163-7.
9. Poirel L, Yakupoğulları Y, Kizirgil A, Dogukan M, Nordmann P. VIM-5 metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas putida from Turkey. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;33(3):287.
10. Reach the 3 Million. Find. Treat. Cure TB. World Health Organization 2014, Geneva. <http://www.stoptb.org> Ulaşım Tarihi: 03.08.2023
11. Rocha DMGC, Magalhães C, Cá B, Ramos A, Carvalho T, Comas I, et al. Heterogeneous streptomycin resistance level among Mycobacterium tuberculosis strains from the same transmission cluster. *Front Microbiol.* 2021;12:659545.
12. Rocha DMGC, Viveiros M, Saraiva M, Osório NS. The neglected contribution of streptomycin to the tuberculosis drug resistance problem. *Genes (Basel).* 2021;12(12):2003.
13. Shi J, Su R, Zheng D, Zhu Y, Ma X, Wang S, et al. Pyrazinamide resistance and mutation patterns among multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis from Henan Province. *Infect Drug Resist.* 2020;13:2929-41.
14. The Global Plan to End TB 2023-2030. World Health Organization (2023). <https://www.stoptb.org> Ulaşım Tarihi: 03.08.2023
15. Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, TC Sağlık Bakanlığı. Yayın No: 1129, Ankara, (2019).
16. Türkiye’de Verem Savaşı 2020 Raporu, T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Yayın No: 1205. Ankara, (2021).
17. Unissa AN, Subbian S, Hanna LE, Selvakumar N. Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Infection, Genetics and Evolution.* 2016;45:474-92.
18. Yakupoğulları Y, Ermis H, Kazgan Z, Otlu B, Bayindir Y, Gulbas G, et al. Diagnostic and treatment outcomes of patients with pulmonary tuberculosis in the first year of COVID-19 pandemic. *East Mediterr Health J.* 2022;28(9):682-9.
19. Whitfield MG, Soeters HM, Warren RM, York T, Sampson SL, Streicher EM, et al. A global perspective on pyrazinamide resistance: Systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10(7):e0133869.
20. WHO Consolidated Guidelines on Tuberculosis. Module 4: Treatment. Drug-Susceptible Tuberculosis Treatment. Geneva: World Health Organization; (2022).
21. Xu G, Liu H, Jia X, Wang X, Xu P. Mechanisms and detection methods of Mycobacterium tuberculosis rifampicin resistance: The phenomenon of drug resistance is complex. *Tuberculosis (Edinb).* 2021;128:102083.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS İZOLATLARININ BİRİNCİ SEÇENEK ANTI-TÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DUYARLILIĞININ YENİ BİR AGAR BESİYERİ İLE TEST EDİLEREK DEĞERLENDİRİLMESİ

Pooya SALEHI MOHARER¹, Kübra YILDIRIM^{2,3,4}, Ahmet Yılmaz ÇOBAN^{2,3,4}

P. Salehi Moharer: 0000-0003-4048-0195, K. Yıldırım: 0000-0003-0558-8619, A. Y. Çoban: 0000-0002-8815-6063

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANTALYA

²Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ANTALYA

³Akdeniz Üniversitesi Tüberküloz Araştırma Merkezi, ANTALYA

⁴Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoteknoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

ÖZ

Tüberküloz (TB), dünya genelinde enfeksiyon kaynaklı hastalıklar arasında ölümün önde gelen nedenlerinden biri olan bulaşıcı bir hastalıktır. TB'nin epidemiyolojik dağılımına göre, yüksek oranda TB basili ile enfekte hastaların bulunduğu ülkelerin büyük bir bölümü orta ve düşük gelirli ülkelerdir. Bu nedenle çalışmada düşük gelirli ülkelerde ve laboratuvarlarda TB ve çok ilaca dirençli (ÇİD)-TB izolatlarının ilaç duyarlılık testleri için kolayca kullanılacak yeni bir besiyeri olan AYC.2.2 agar besiyerinin klinik izolatlarla etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada Mycobacterium tuberculosis ATCC 27294 (H37Rv, tüm ilaçlara duyarlı), ATCC 35822 (isoniazid dirençli), ATCC 35838 (rifampisin dirençli), ATCC 35820 (streptomisin dirençli) ve ATCC 35837 (etambutol dirençli) referans suşlar ve 34 klinik izolat test edilmiştir. Çalışmadaki tüm anti-TB ilaçlar ve izolatlar için kullanılan referans yöntem ve AYC.2.2 agar kullanılarak yapılan agar proporsiyon metodu arasında duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) ve uyum hesaplanmıştır. Isoniazid ve rifampisin için tüm değerler %100 bulunmuştur. Etambutol için duyarlılık %100, özgüllük %88.23, PPD %89.47, NPD %100, uyum %94 olarak hesaplanmıştır. Streptomisin için duyarlılık %100, özgüllük %77.77, PPD %80, NPD %100, uyum %88 bulunmuştur. M. tuberculosis ATCC suşları klinik izolatların değerlendirilmesine dahil edilmemiş ve bunlardaki uyum %100 bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, sıvı otomatize sistemlere oranla üreme süresi dezavantaj olmasına rağmen, AYC.2.2. agar duyarlılık sonuçlarının belirlenmesinde otomatik sistemler kadar etkili bir şekilde kullanılabilmiştir. Maliyetinin düşük olması ve hazırlanmasının kolay olması en büyük avantajlarından. Ancak, rutin kullanıma geçmeden önce çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: AYC.2.2 agar, besiyeri, birinci seçenek anti-tüberküloz ilaçlar, ÇİD-TB, ilaç duyarlılık testi, Mycobacterium tuberculosis

ABSTRACT

Evaluation of Drug Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates Against First Line Antituberculosis Drugs With a New Agar Medium

Tuberculosis (TB) is an infectious disease that is one of the leading causes of death among infectious diseases worldwide. According to the epidemiologic distribution of TB, most countries with a high proportion of patients infected with TB bacilli are middle- and low-income countries. Therefore, the study aimed to evaluate the effectiveness of AYC.2.2 agar medium, a new medium that can be easily used for drug susceptibility testing of TB and multidrug-resistant TB isolates, with clinical isolates in low-income countries and laboratories. Mycobacterium tuberculosis ATCC 27294 (H37Rv, susceptible to all drugs), ATCC 35822 (isoniazid-resistant), ATCC 35838 (rifampicin resistant), ATCC 35820 (streptomycin resistant), and ATCC 35837 (ethambutol resistant) reference strains and 34 clinical isolates were tested. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and concordance were calculated between the reference method and the agar proportion method using AYC 2.2 agar for all anti-TB drugs and isolates in the study. For isoniazid and rifampicin, all values were 100%. For ethambutol, sensitivity was 100%, specificity 88.23%, PPV 89.47%, NPV 100%, and concordance %94. For streptomycin, sensitivity was 100%, specificity 77.77%, PPV 80%, NPV 100%, and concordance %88. M. tuberculosis ATCC

İletişim adresi: Ahmet Yılmaz Çoban. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ANTALYA

GSM: (0505) 527 06 95

e-posta: cobanay2003@gmail.com

Received/Geliş: 01.11.2023 Accepted/Kabul: 05.12.2023 Published Online/Online Yayın: 31.12.2023

Atıf/Cite as: Salehi Moharer P, Yıldırım K, Çoban AY. *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarının birinci seçenek anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılığının yeni bir agar besiyeri ile test edilerek değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2023;37(3):82-88.

strains were not included in the evaluation of clinical isolates, and the agreement was 100%. According to the results obtained, AYC.2.2. agar could be used as effectively as automated systems in determining susceptibility results, despite the disadvantage of growth time compared to broth automated systems. Its low cost and easy preparation are among its biggest advantages. However, further multicenter studies are needed before routine use.

Keywords: AYC.2.2 agar, drug susceptibility test, first line anti-tuberculosis drugs, MDR-TB, medium, *Mycobacterium tuberculosis*

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), bulaşıcı tek bir ajan nedeniyle en sık görülen ölüm nedeni olup dünya nüfusunun yaklaşık dörtte biri TB basili ile enfektidir. 2020 yılında 9.9 milyon kişi *Mycobacterium tuberculosis*'in (MTB) etkeni olduğu solunum yoluyla bulaşan bu hastalığa yakalanırken, 1.3 milyon kişi ise bu hastalık yüzünden hayatını kaybetmiştir⁽¹²⁾. TB, devam eden yüksek insidans, prevalans ve mortalite nedeniyle hala önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. 2020 yılında akciğer TB tanısı konan bireylerin 132222'si çok ilaca dirençli (ÇİD)-TB, 25681'i yaygın ilaca dirençli (YİD)-TB olup toplamda 157903 ilaca dirençli vaka tespit edilmiştir⁽¹²⁾. "End TB" stratejisi, herhangi bir TB türüne sahip her yaşta kişilerin erken tanısını ve hızlı tedavisini gerektirmektedir⁽⁹⁾. Bunun için, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilen hızlı tanıya erişimin ve ilaca duyarlılık testlerine evrensel erişimin sağlanması esastır. Kültüre dayalı fenotipik ilaç duyarlılık testleri (İDT) şu anda ilaç direncinin tespiti için altın standarttır. MTB için fenotipik İDT, her bir anti-TB ajan ve test yöntemi için spesifik olan, tek bir kritik konsantrasyonun test edilmesine dayanmaktadır⁽¹⁰⁾.

Son on yılda MTB enfeksiyonu olan hastaların erken belirlenmesi, bu sorun için geriye kalan en etkili strateji olmuştur. Öte yandan, hastalar arasında ilaca dirençli suşların tespitinde artan bir oran bulunmaktadır. Bu durum, İDT' nin yanlış belirlenmesi ve hastaya uygun olmayan ilaç kullanımı ile ilgili olabilir. Yeni gelişmelerin yardımıyla primer ve latent TB enfeksiyonlu hastaların tespit edilmesi, bu durumu açıklamak için daha az olasıdır. İDT yaparak etkili tedavi uygulamak, ÇİD-TB suşlarının artmasını önlemenin temel stratejisidir. TB'nin son epidemiyolojik dağılımları incelendiğinde, yüksek oranda basil ile enfekte hastaların bulunduğu ülkelerin büyük bir bölümünün orta ve düşük gelirli ülkeler olduğu görülmektedir⁽¹¹⁾. TB için ticari olarak mevcut hızlı test sistemleri bulunsada bu tür sistemlerin iyi bir altyapı ve iş gücü gerektirmesi ana dezavantajlarıdır. Ayrıca, ticari olarak mevcut sistemlerin pahalı olması önemli bir sorundur. Bu ülkelerin birçoğu sınırlı kaynaklarla yönetildiğinden, bu teknolojilerin uygulanabilirliği belirsizdir.

Coban⁽³⁾ tarafından MTB izolatlarının ilaç duyarlılığının belirlenmesi amacıyla geliştirilen AYC.2.2 agar besiyeri kolay kullanımı ve düşük maliyeti sebebiyle birçok laboratuvar için tercih sebebi olabilir.

Bu nedenle çalışmada düşük gelirli ülkelerde ve laboratuvarlarda TB ve ÇİD-TB izolatlarının İDT için kolayca kullanılacak yeni bir besiyeri olan AYC.2.2 agar besiyerinin klinik izolatlarla etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada yapılan tüm işlemler, Sınıf II-B biyogüvenlik kabini (DemAir, Ankara, Türkiye) içerisinde ve uygun kişisel koruyucu ekipmanlar (3M™ Versaflo™, TR-300+ ile TR3712N filtreler) kullanılarak biyogüvenlik seviyesi 3 olan laboratuvarında gerçekleştirildi.

Bakteriyel İzolatlar

Çalışmada *M. tuberculosis* ATCC 27294 (H37Rv, tüm ilaçlara duyarlı), ATCC 35822 (izoniazid dirençli), ATCC 35838 (rifampisin dirençli), ATCC 35820 (streptomisin dirençli) ve ATCC 35837 (etambutol dirençli) suşlar ve daha önce fenotipik ve genotipik duyarlılık sonuçları referans yöntem olarak kabul edilen BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) sistemi ile belirlenmiş Akdeniz Üniversitesi Verem Çalışmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi (AKVUAM) kültür koleksiyonundan seçilen klinik MTB izolatları test edildi.

Anti-TB İlaçların Hazırlanması

Çalışmada test edilen birinci seçenек anti- TB ajanlar olan izoniazid (INH), rifampisin (RIF), streptomisin (STM) ve etambutol (EMB) ticari olarak toz formda satın alındı (Sigma- Aldrich, Almanya). Çözücü olarak INH, STM, ve EMB için steril distile su; RIF için metanol kullanılarak her bir ajanın 4096 µg/ml konsantrasyonda stok solüsyonları hazırlandı. Hazırlanan anti-TB ajanlar membran filtreden geçirilerek steril edildi ve kullanılacağı zamana kadar -80°C'de saklandı.

Besiyerinin Hazırlanması

AYC.2.2 agar (PCT/TR2018/0508849) daha önce Çoban⁽⁵⁾ tarafından belirtilen şekilde hazırlandı. Besiyeri 50°C'ye soğutulup ortama %5 inaktive edilmiş koyun serumu (Sigma-Aldrich, Almanya) eklendi. Birinci seçenек anti-TB ilaçlar, besiyeri içerisine son konsantrasyonları INH için 0.2µg/ml, RIF için 1 µg/ml, EMB için 4 µg/ml ve STR için 2 µg/ml olacak şekilde eklenerek vida kapaklı steril tüplere 5 ml besiyeri olacak şekilde dağıtıldı⁽¹⁰⁾. Tüpler yatık pozisyonda ışık almayan ortamda oda sıcaklığında katılaşmaya bırakıldı. Benzer şekilde anti-TB ilaç içermeyen üreme kontrol tüpleri de hazırlanarak kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı. Antibiyotik etkinliğinin azalmasını engellemek için antibiyotikli besiyerlerinin kullanım süresinin 1 ayı geçmemesine özen gösterildi.

Bakteri İnokulumlarının Hazırlanması

Çalışmaya alınan izolatların Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerinde üremiş taze kültürlerinden inokulumlar hazırlandı. İçerisinde 8-10 adet steril cam boncuk ve 3-5 ml serum fizyolojik içeren tüplere taze kültürden koloniler aktarıldıktan sonra tüplerin ağzı sıkıca kapatılıp parafilm ile sarıldı. Tüm tüpler yaklaşık 1 dk 2500 rpm de vorteks (Onilab MX-S, Bio Laboratories Pte Ltd., ABD) ile karıştırılıp ardından aerosollerin ve büyük partiküllerin çökmesi için dik konumda yaklaşık 30-60 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra üstteki sıvı alınarak başka bir tüpe aktarıldı ve McFarland densitometresi ile (BIOSAN Medical-Biological Research & Technologies, Riga, Letonya) McFarland no 1 bulanıklığında bakteri süspansiyonları hazırlandı⁽¹⁰⁾.

AYC.2.2 Agarda Proporsiyon Yönteminin Uygulanması

McFarland no. 1 bulanıklığında hazırlanan bakteri inokulumları 1:100 oranında seyreltilerek 100 µl olacak şekilde test tüplerine ve etken madde içermeyen üreme kontrol tüplerine inoküle edildi. İnokülasyon sonrası tüm besiyerleri 37°C'de %5 CO₂ içeren ortamda inkübasyona bırakıldı. Besiyerleri kontaminasyon kontrolü için ilk hafta her üç günde bir, daha sonrasında haftada bir incelendi. 21 günlük inkübasyon süresinin sonunda, üreme kontrol tüpünde yeterli üreme olan tüpler için çalışma sonuçlandırıldı (Tablo 1). İlaç duyarlılık sonuçları %1 orantı yöntemine göre değerlendirildi^(1,10).

İstatistiksel Analiz

AYC.2.2 agar ile yapılan ilaç duyarlılık yöntemi sonuçları referans yöntem olan BACTEC MGIT 960 sonuçları ile karşılaştırıldı. Her iki yöntem arasında duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) ve uyum hesaplandı⁽⁸⁾.

BULGULAR

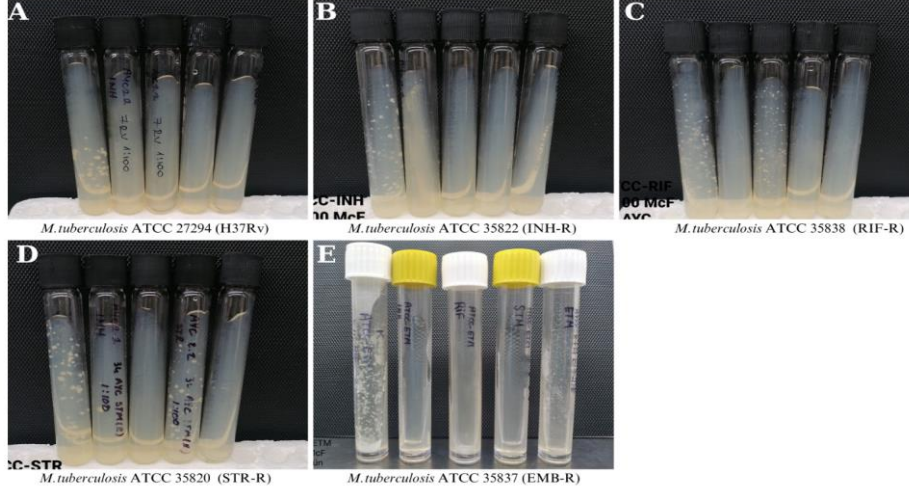
Çalışmada beş *M. tuberculosis* ATCC suşu ve 34 klinik *M. tuberculosis* izolatının İDT AYC.2.2 agar besiyeri kullanılarak agar proporsiyon metodu ile yapıldı. Kültür koleksiyonundan seçilen izolatların 15'i birinci seçenек anti-TB ilaçlara duyarlı (INH^S/RIF^S/EMB^S/STM^S), 19 izolat ise dirençli (ÇİD-TB) idi.

M. tuberculosis ATCC suşları klinik izolatlardan ayrı olarak değerlendirildi ve uyum %100 olarak bulundu (Şekil 1). Proporsiyon metoduyla, çalışılan 34 klinik izolattan 19'u ÇİD-TB olarak bulundu. İki izolat, STM ve EMB için referans yöntemle duyarlı bulunurken proporsiyon metodunda dirençli bulundu. Farklı iki izolat ise proporsiyon yöntemiyle referans yöntem sonuçlarından farklı olarak STM dirençli olarak saptandı. Birinci seçenек anti-TB ilaçlara duyarlı olduğu bilinen 14 izolat her iki yönteme göre de ilaçlara duyarlı bulundu. Test edilen suşların duyarlılık profilleri fenotipik olarak karşılaştırılarak Tablo 1'de verildi.

Çalışmada, klinik izolatlarda INH ve RIF için duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD ve uyum %100 olarak hesaplandı. Duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD ve uyum sırasıyla EMB için %100, %88.23, %89.47 ve %94; STM için ise %100, %77.77, %80, %88 olarak bulundu. Tüm sonuçlar Tablo 2'de gösterildi.

P. Salehi Moharer ve ark., *Mycobacterium tuberculosis* İzolatlarının Birinci Seçenek Anti-Tüberküloz İlaçlara Duyarlılığının Yeni Bir Agar Besiyeri ile Test Edilerek Değerlendirilmesi

Şekil 1. *Mycobacterium tuberculosis* ATCC suşlarının AYC.2.2 agar besiyerinde üreme görüntüleri.



INH: Isoniazid, RIF: Rifampisin, STM: Streptomisin, EMB: Etambutol

Tablo 1. *Mycobacterium tuberculosis* klinik izolatlarında referans yöntem ve AYC.2.2 agar proporsiyon yöntemi ile elde edilen duyarlılık sonuçları.

İzolatlar	AYC 2.2				Referans Yöntem			
	STM	INH	RIF	EMB	STM	INH	RIF	EMB
1	S	S	S	S	S	S	S	S
2	S	S	S	S	S	S	S	S
3	S	S	S	S	S	S	S	S
4	S	S	S	S	S	S	S	S
5	R	S	S	S	S	S	S	S
6	S	S	S	S	S	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S	S	S
8	S	S	S	S	S	S	S	S
9	S	S	S	S	S	S	S	S
10	S	S	S	S	S	S	S	S
11	S	S	S	S	S	S	S	S
12	S	S	S	S	S	S	S	S
13	S	S	S	S	S	S	S	S
14	S	S	S	S	S	S	S	S
15	S	S	S	S	S	S	S	S
16	R	R	R	R	R	R	R	R
17	R	R	R	R	R	R	R	R
18	R	R	R	R	S	R	R	S
19	R	R	R	R	R	R	R	R
20	R	R	R	R	R	R	R	R
21	R	R	R	R	R	R	R	R
22	R	R	R	R	R	R	R	R
23	R	R	R	R	R	R	R	R
24	R	R	R	R	S	R	R	R
25	R	R	R	R	S	R	R	S
26	R	R	R	R	R	R	R	R
27	R	R	R	R	R	R	R	R
28	R	R	R	R	R	R	R	R
29	R	R	R	R	R	R	R	R
30	R	R	R	R	R	R	R	R
31	R	R	R	R	R	R	R	R
32	R	R	R	R	R	R	R	R
33	R	R	R	R	R	R	R	R
34	R	R	R	R	R	R	R	R

INH: Isoniazid, RIF: Rifampisin, STM: Streptomisin, EMB: Etambutol
(Uyumsuz sonuçlar kırmızı ile işaretlenmiştir.)

Tablo 2. Klinik *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarında referans yöntem (MGIT) ve AYC2.2 agar proporsiyon yöntemiyle elde edilen duyarlılık sonuçlarının karşılaştırılması.

Birinci seçenek anti-TB ilaçlar	AYC.2.2. Agar proporsiyon	Referans metot		Duyarlılık %	Özgüllük %	PPD %	NPD %	Uyum %
		R	S					
STM	R	16	4	100	77.77	80	100	88
	S	0	14					
INH	R	19	0	100	100	100	100	100
	S	0	15					
RIF	R	19	0	100	100	100	100	100
	S	0	15					
EMB	R	17	2	100	88.23	89.47	100	94
	S	0	15					

PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer, STM: Streptomisin, INH: İsoniazid, RIF: Rifampisin, EMB: Etambutol

TARTIŞMA

TB basilinin en belirgin özelliklerinden biri, anti-TB ilaçlara hızla direnç geliştirmesidir. 1960'lı yıllardan bu yana DSÖ tarafından yayınlanan raporlar incelendiğinde birinci seçenek anti-TB ilaçlara artan direnç sorunu tedavi basamaklarını güçleştirmektedir^(1,2). Yeni ilaç stratejileri ve tanıda geliştirilen teknolojilere rağmen ilaç duyarlılık testlerinin uygulanması düşük ve orta gelirli ülkeler ile küçük laboratuvarlar için hala bir sorun teşkil etmektedir. Bununla beraber TB hastalığı daha çok gıda ve hijyen koşullarının yetersiz ve ekonomik imkanların kısıtlı olduğu bu ülkelerde yaygındır⁽⁷⁾.

TB tanısında sıvı besiyeri temelli otomatize sistemlerin kullanımı özellikle ekstra pulmoner örneklerde önem taşır. Bununla beraber rutin laboratuvarlar katı besiyeri ortamına da ekim yaparak tanıyı doğrular⁽⁶⁾. Sıvı otomatize sistemlerin katı besiyerinde üretilerek tespiti karşı en büyük avantajı süredir. Ancak, otomatize sistemler maliyet yüksekliği sebebiyle her laboratuvarın kullanımına uygun değildir.

TB basilinin üretilmesinde birçok laboratuvar tarafından kullanılan katı besiyerleri genellikle LJ besiyeridir. Ancak LJ besiyerinin yumurta bazlı olması ve pişirilerek katılaştırılması hazırlamadaki en temel sorunlardır.

Bununla beraber yapılan bazı çalışmalar mikrobiyolojide yaygın kullanıma sahip kanlı agar besiyerinin de mikobakterilerin üretilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir⁽²⁾. Kanlı agar besiyerinin renginin saydam olmaması sebebiyle basil görüntülerinin net olmaması tanısasal bir sorun olabilir. Bu sebeple Coban⁽³⁾ tarafından geliştirilen AYC 2.2 agar besiyeri içerdiği koyun serumuyla hem ortamı zenginleştirmiş hem de saydam görüntüsü ile basillerin görünürlüğünü artırmıştır (Şekil 1). Özellikle ÇİD-TB tanımlanmasında İDT'de büyük avantaj sağlamaktadır⁽⁴⁾. Rutin kullanımda önerilen Middlebrook 7H10 ve 11 agar saydam olmalarıyla avantaj sağlamakla beraber içeriğine zenginleştirici olarak %10 oleik asit, albümin, dekstroz, katalaz (OADC) eklenmesi gereklidir. OADC son derece pahalı bir zenginleştirici ortamdır. AYC 2.2 agar içerisinde ise zenginleştirici olarak çok daha ucuz olan koyun serumunun kullanılması bir başka avantajdır.

AYC 2.2 agar besiyeri ile LJ besiyeri karşılaştırıldığında üreme sürelerinde farklılık olmadığı gösterilmiştir⁽²⁾. Bu nedenle hazırlanma kolaylığı sebebiyle LJ yerine tercih edilebilir.

AYC 2.2 agar besiyeri ile yapılan bir başka çalışma anti-TB ilaçların kritik konsantrasyonlarını belirlemeye yöneliktir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler 7H10 agar için CLSI tavsiyesine göre sınır değerlerinin AYC.2.2 agar ve AYC.2.1 sıvı besiyeri için de kullanılabileceği sonucuna varmıştır⁽⁵⁾.

Çalışmamızda birinci seçenek anti-TB ilaçların referans yöntem olarak önerilen, sıvı otomatize sistem olan BACTEC MGIT 960 ile çalışılan ilaç duyarlılık sonuçlarıyla AYC 2.2 agar kullanılarak yapılan proporsiyon metot ilaç duyarlılık sonuçları karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar INH ve RIF için ilaç duyarlılık sonuçlarında %100 uyum göstermiştir. Buna rağmen STM duyarlılık sonuçlarında dört izolat için, EMB duyarlılık sonuçlarında iki izolat için referans yöntemden farklı olarak AYC 2.2 agar proporsiyon metodunda sonuçlar duyarlı yerine dirençli olarak bulunmuştur. Sıvı otomatize sistemler ve agar proporsiyon metodu gibi referans yöntemlerle yapılan çalışmalar incelendiğinde bakterinin doğası gereği farklı duyarlılık sonuçları elde edilebildiği görülmüştür⁽⁴⁾.

Sonuç olarak, çalışmamızda MTB ATCC suşları ve test edilen klinik izolatlarda referans yöntemle karşılaştırıldığında elde edilen yüksek uyum, AYC.2.2 agar'ın kültür ve İDT için umut vadeden bir ortam olduğunu göstermektedir. Çalışmamızdaki izolat sayısının düşük olması zayıf yönümüzdür. Bu sebeple AYC.2.2 agar'ın rutin kullanıma geçmeden önce daha fazla ilaç duyarlılık analizi için çok merkezli çalışmalarına ve daha fazla sayıda izolatla çalışmalarına ihtiyacı vardır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışmanın bir kısmı, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından lisansüstü araştırma projelerini destekleme programı kapsamında finanse edilmiştir (No:1919B011903228).

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

Financial support: A part of this study was funded by the Scientific and Technological Research Council of Turkey within the scope of its graduate research projects support program (No:1919B011903228).

KAYNAKLAR

1. CLSI Standards. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes; Approved Standard-Second Edition. CLSI document M24-A2. Wayne. PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (2011).
2. Coban AY, Akgüneş A, Durupınar B. Mikobakterilerin Üretilmesinde Kanlı Agar Besiyerinin Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2011;45(4):617-22.
3. Coban AY. A novel agar base medium for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis isolates. Future Microbiol. 2021;16:949-53. <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0032>
4. Coban AY, Ceyhan I, Uzun M, et al. Multicenter evaluation of AYC.2.2 agar for the isolation of mycobacteria from clinical samples. Indian J Med Microbiol. 2022;40(1):127-131. <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2021.12.002>
5. Coban AY. Validation of a novel medium for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis against first- and second-line drugs: AYC.2.2 Agar and AYC.2.1 broth. Int J Mycobacteriol. 2021;10(1):19-25. https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_194_20
6. de Waard JH, Robledo J. Conventional diagnostic methods, pp: 401-24. In: Palomino JC, Leao SC, RitaccoV (eds), Tuberculosis (2007): From Basic Science to Patient Care. 2007, 1st ed. www.TuberculosisTextbook.com
7. Floyd K, Glaziou P, Zumla A, Raviglione M. The global tuberculosis epidemic and progress in care, prevention, and research: an overview in year 3 of the End TB era. Lancet Respir Med. 2018;6(4):299-314. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30057-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30057-2)
8. Food and Drug Administration. Guidance for industry and FDA. Class II special controls guidance document: antimicrobial susceptibility test (AST) systems. Center for Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration, U.S. Department of Health and Human Services, Silver Spring, MD (2009)
9. World Health Organization. The End TB Strategy. World Health Organization. Geneva, Switzerland (2015).
10. World Health Organization. Technical Manual for Drug Susceptibility Testing of Medicines Used in the Treatment of Tuberculosis. World Health Organization. Geneva, Switzerland (2018).
11. World Health Organization. Global tuberculosis report. World Health Organization, Geneva, Switzerland (2020).
12. World Health Organization. Global tuberculosis report. World Health Organization, Geneva, Switzerland (2021).

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* İZOLATLARINDA SINIF 1, 2 VE 3 İNTEGRONLARIN ARAŞTIRILMASI

Ahmet ÇALIŞKAN¹, Nilay GENÇ¹, Sedef Zeliha ÖNER¹, Melek DEMİR¹, Hande ŞENOL², İlknur KALELİ¹

A. Çalışkan: 0000-0002-1156-3787, N. Genç: 0009-0007- 9863-3664, S.Z.Öner: 0000-0002-9964-2526,
M. Demir: 0000-0002-1551-9265, H.Şenol: 0000-0001-6395-7924, İ. Kaleli: 0000-0001-9689-8297

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DENİZLİ

²Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, DENİZLİ

ÖZ

İntegronlar/gen kasetleri, yatay genetik alışverişi kolaylaştırmada önemli yere sahiptirler. Aynı zamanda direnç genlerinin edinilmesine ve yayılmasına yol açarlar. Bu çalışmada K. pneumoniae izolatlarında antibiyotik direnç oranları ve sınıf 1, 2 ve 3 integronların tespiti amaçlanmıştır. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Nisan 2023-Temmuz 2023 tarihleri arasında gönderilen farklı klinik örneklerden izole edilmiş 100 Klebsiella pneumoniae izolatı değerlendirmeye alındı. Bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri, Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostics, ABD) otomatize sistemi ile yapıldı. DNA ekstraksiyonunda kaynatma yöntemi kullanıldı. Sınıf 1, 2 ve 3 integrona özgül polimeraz zincir reaksiyonu yapıldı. İzolatların antibiyotik direnç oranları ve sınıf 1, 2 ve 3 integron pozitifliği değerlendirildi. İzolatların 33'ünde (%33) sınıf 1 integron pozitifliği belirlendi. Bir izolatta sınıf 1 ve sınıf 2 integron pozitifliği birlikte tespit edilirken, sınıf 3 integron pozitifliği saptanmadı. İntegron pozitif izolatlar integron negatif izolatlarla karşılaştırıldığında; trimetoprim/sülfametoksazol (p=0.0001), siprofloksasin (p=0.0001), levofloksasin (p=0.01), seftriakson (p=0.05), sefuroksim (p=0.032) ve gentamisin (p=0.006) direnç oranlarında anlamlı direnç yüksekliliği saptanmıştır. Ülkemizde integronlar ve ilgili direnç genlerinin araştırıldığı, klinik izolatlarda görülen çoklu antibiyotik direnç mekanizmalarının, antibiyotik direnci ile integron genlerinin ilişkisinin incelendiği kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: İntegron sınıf 1, İntegron sınıf 2, İntegron sınıf 3, Klebsiella pneumoniae

ABSTRACT

Investigation of Class 1, 2 and 3 Integrons in *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Various Clinical Samples

Integrons/gene cassettes are important in facilitating horizontal genetic exchange. They also lead to the acquisition and spread of resistance genes. The aim of this study was to determine antibiotic resistance rates and class 1, 2 and 3 integrons in K. pneumoniae isolates. One hundred Klebsiella pneumoniae isolates from different clinical samples sent to the Medical Microbiology Laboratory between April 2023 and July 2023 were evaluated. Bacterial identification and antibiotic susceptibility tests were performed with Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostics, USA) automated system. Boiling method was used for DNA extraction. Polymerase chain reaction specific for class 1, 2 and 3 integrons was performed. Antibiotic resistance rates and class 1, 2 and 3 integron positivity of the isolates were evaluated. Class 1 integron positivity was detected in 33 isolates (33%). While class 1 and class 2 integron positivity were detected together in one isolate, class 3 integron positivity was not detected. When integron positive isolates were compared to integron negative isolates, a significant increase in the antibiotic resistance rates of trimethoprim/sulfamethoxazole (p=0.0001), ciprofloxacin (p=0.0001), levofloxacin (p=0.01), ceftriaxone (p=0.05), cefuroxime (p=0.032) and gentamicin (p=0.006) was found. There is a need for comprehensive studies in our country where integrons and related resistance, multiple antibiotic resistance mechanisms, and the relationship between antibiotic resistance and integron genes in clinical isolates are investigated.

Keywords: Integron class 1, Integron class 2, Integron class 3, Klebsiella pneumoniae

İletişim adresi: Ahmet Çalışkan. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DENİZLİ
GSM: (0533)4163960
e-posta: acaliskan@pau.edu.tr

Received/Geliş: 31.10.2023 Accepted/Kabul: 06.12.2023 Published Online/Online Yayın: 31.12.2023

Atıf/Cite as: Çalışkan A, Genç N, Öner SZ, Demir M, Şenol H, Kaleli İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında sınıf 1, 2 ve 3 integronların araştırılması. ANKEM Derg. 2023;37(3):89-95.

GİRİŞ

Klebsiella türleri; kan dolaşımı, idrar yolu, yara, akciğer, beyin gibi birçok organda ve sistemde enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Öncesinde sağlık sorunları olan kişilerde daha yüksek oranda görülmektedirler. *Klebsiella pneumoniae*, hipervirülan ve karbapenem dirençli suşların artması nedeniyle dikkat edilmesi gereken bir patojendir⁽¹⁾.

Antibiyotiklere dirençli bakteriler ve özellikle çoklu ilaç direnci olan bakteriler dünya da önemli bir sağlık sorunudur. Hareket edebilen mobil genetik elemanlar dirençte önemli bir yere sahiptir. Bunlar; transpozonlar, integronlar/gen kasetleri, ekleme dizileri, plazmidler ve bütünleştirici konjugatif elemanlar gibi bakteri hücreleri arasında transfer yapan yapılardır. Bu elemanlar yatay genetik alışverişi kolaylaştırmada önemli yere sahiptir ve direnç genlerinin edinilmesini ve yayılmasını desteklemektedir⁽¹⁴⁾.

İntegronlar, bir DNA molekülünden diğerine, entegre olmak yoluyla translokasyon gösteren hareketli yapıda DNA elemanlarıdır. Belirli gen bölgelerini entegre etme veya taşıma yetenekleri vardır. Antibiyotik direnç determinantlarını kodlarlar. Plazmid ya da transpozonlar aracılığı ile taşınırlar. Bir bakteriden diğerine, gen kasetleriyle de bir integrondan diğerine geçebilme özelliği bulunmaktadır. Bu özellikleri, antibiyotik direnç determinantlarının taşınmasına ve yayılımına neden olmaktadır⁽⁴⁾.

İntegronlar özellikle Gram negatif bakterilerde çoklu direnç oluşumundan başlıca sorumlu olan kromozom dışı yapılardır⁽¹⁵⁾. Günümüze kadar tanımlanmış olan dört integron sınıfı (sınıf 1, 2, 3 ve 4) bulunmaktadır ve ilgili integralleri (int) ile ayırt edilirler⁽¹⁹⁾. Bazı çalışmalarda çoklu ilaca dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında farklı sınıf integronlar tespit edilmiştir. İntegron 1 ve integron 2 saptanan çalışmalar olduğu gibi sadece integron 1 saptanmış çalışmalar da bulunmaktadır^(8,11). Bu çalışmada, laboratuvara gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarında Sınıf 1, 2 ve 3 integronların tespiti amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Araştırma Uygulama Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Nisan 2023- Temmuz 2023 tarihleri arasında farklı kliniklerden gönderilen ve kabul edilme kriterlerine uygun farklı klinik örneklerden izole edilmiş 100 *K. pneumoniae* izolatı çalışmaya alındı. Tekrarlayan örnekler çalışma dışı bırakıldı.

Bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri

Laboratuvarımıza gönderilmiş olan klinik örneklerden, idrar kültürüne ait örnekler %5 koyun kanlı agar ve "Eosine Methylene Blue" (EMB) agara (Becton Dickinson, ABD) ekildi. İdrar dışındaki kültür örnekleri %5 koyun kanlı agar, çikolata agar ve EMB agara ekildi. İdrar kültürüne ait örnekler 37°C'de 18-24 saat, idrar dışı klinik örnekler 24-48 saat etüde inkübe edildi. Kültür örneklerinde üreyen bakterilerin tanımlanmasında geleneksel yöntemler ile Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostics, ABD) otomatize sistemi kullanıldı. Bakterilerin antibiyotik duyarlılığı—Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ve Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostics, ABD) otomatize sistemi kullanılarak araştırıldı. Otomatize sistem ve Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile izolatların amoksisilin/klavulanik asit, piperasilin/tazobaktam, sefepim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, ertapenem, imipenem, meropenem, gentamisin, amikasin, tobramisin, siprofloksasin, levofloksasin, trimetoprim/sülfametoksazol ve fosfomisine karşı antimikrobiyal duyarlılıkları test edildi. Antibiyotik duyarlılık sonuçları "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST) kriterlerine göre değerlendirildi⁽¹⁷⁾.

DNA İzolasyonu ve Sınıf 1, 2 ve 3 İntegrona Özgül Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)⁽²⁾

DNA İzolasyonu: *K. pneumoniae* izolatları %5 koyun kanlı agara ekildi. Üreyen saf kolonilerden bir koloni alındı. Tek koloni 2 ml "Brain Heart Infusion" (BHI) buyyona pasajlandı ve 24 saat 37°C'de inkübe edildi. Süspansiyondan 1 ml alınarak 10 dk 8000 rpm'de santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp dipteki pellet alındı ve üzerine 200 µl distile su ilave edilerek 95°C'de 10 dk kaynatıldı. 10 dk 13000 rpm'de tekrar santrifüj yapılarak üstteki süpernatant PCR sırasında kalıp DNA olarak kullanılmak üzere mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı⁽²⁾.

Standart PCR karışımları son hacim 50 µl olacak şekilde hazırlandı. PCR amplifikasyon karışımı 4 µl dNTP, 0.3 µl Taq DNA polimeraz, 1 µl "forward" primer, 1 µl "reverse" primer, 10 × PCR tamponu 5 µl, 5 µl kalıp DNA ve son hacmi 50 µl'ye tamamlayacak miktarda steril deiyonize su ile hazırlandı. PCR'da kullanılan primerler Tablo 1'de gösterildi⁽²⁾.

PCR amplifikasyonu için koşullar ön denatürasyon 95°C'de 5 dakika; ardından 30 döngü 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 55°C'de 30 saniye primer bağlanma, 72°C'de 30 saniye uzama; 72 °C de 7 dakika son uzama olacak şekilde düzenlendi⁽²⁾. Amplifikasyon ürünleri %1,5'lik agaroz jelde bir saat yürütüldü ve görüntüledi. Sonuç, özgül PCR ile elde edilen amplikon büyüklüğünün beklenen boyut ile karşılaştırılması ile değerlendirildi.

Tablo 1. İntegronlara özgül PCR için kullanılan primer dizileri⁽²⁾.

	Primer dizileri	Amplikon büyüklüğü
Sınıf integron 1	F: 5'-CAG TGG ACA TAA GCC TGT TC-3'; R: 5'-CCC GAG GCA TAG ACT GTA-3'	160 bp
Sınıf integron 2	F: 5'-TTG CGA GTA TCC ATA ACC TG-3'; R: 5'-TTA CCT GCA CTG GAT TAA GC-3'	288 bp
Sınıf integron 3	F:5'GCCTCCGGCAGCGACTTTCAG-3'; R:5'ACGGATCTGCCAAACCTGACT-3'	1041 bp

Verilerin istatistiksel analizi SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versiyon 25 ile gerçekleştirildi. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar Ki-kare analizi ve Fisher's Exact testi ile değerlendirildi. Değerlendirilmelerde p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (20.06.2023 / Sayı: E.382581).

BULGULAR

Çalışmaya alınan 100 *K. pneumoniae* izolatının elde edildiği hastaların bulunduğu birimler ve klinik örneklerin dağılımı Tablo 2'de özetlendi.

Tablo 2. Çalışmaya alınan 100 *Klebsiella pneumoniae* izolatının klinik örneklere ve hastaların kliniklere göre dağılımı (n).

	İdrar	Yara	Balgam	Solunum*	Kan	Toplam
Poliklinik	36	1	-	-	-	37
Yataklı Servis	19	13	6	1	7	46
Yoğun Bakım Ünitesi	4	4	-	8	1	17
Toplam	59	18	6	9	8	100

* Bronkoalveolar lavaj/derin trakeal aspirat/endotrakeal aspirat

İntegron pozitif izolatların klinik örneklere ve elde edildikleri hastaların poliklinik, servis ve yoğun bakım ünitelerine göre dağılımları Tablo 3'te verildi.

Tablo 3. İntegron pozitif *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının (n=33) örnek türlerine ve hastaların kliniklere göre dağılımı.

	İdrar	Yara	Balgam	Solunum*	Kan	Toplam
Poliklinik	10	2	-	-	-	12
Yataklı Servis	7	3	1	-	2	13
Yoğun Bakım Ünitesi	2	-	-	2	4	8
Toplam	19	5	1	2	6	33

İzolatların antibiyotik direnç oranları ve sınıf 1, 2 ve 3 integron pozitifliği değerlendirildiğinde *K. pneumoniae* izolatlarının 33'ünde (%33) sınıf 1 integron pozitifliği saptandı. Bir izolatta sınıf 1 ve sınıf 2 integron pozitifliği birlikte tespit edilirken sınıf 3 integron pozitifliği saptanmadı. Agaroz jel elektroforezde sınıf 1 ve sınıf 2 integron pozitifliği Şekil 1'de gösterildi.

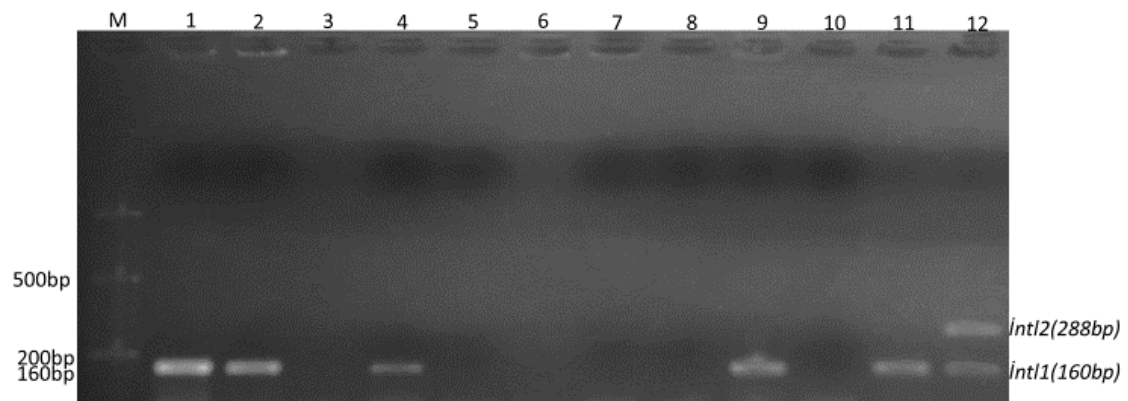
En düşük antibiyotik direnç oranı sırasıyla amikasin (%8), imipenem ve meropenem (%15); en yüksek antibiyotik direnç oranı sırasıyla amoksisiklin/klavulanat (%78) ve sefuroksime (%74) karşı bulundu. İntegron 1 pozitif ve negatif bakterilerin antibiyotik direnç oranları Tablo 4'te verildi.

Tablo 4. Sınıf 1 integron pozitif ve negatif *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının antibiyotik direnç oranları [n (%)].

Antibiyotikler	İntegron 1 Pozitif	İntegron Negatif	Toplam	P Değeri
	(n=33)	(n=67)	(n=100)	
	Dirençli (%)	Dirençli (%)	Dirençli (%)	
Amoksisilin/klavulanat	83.3	75	77.7	0.366
Piperasillin/tazobaktam	42.4	42.4	44.0	0.216
Sefepim	56.0	43.8	47.9	0.541
Seftazidim	72.7	58.9	64.0	0.397
Seftriakson	69.7	49.3	56.0	0.05*
Sefuroksim	89.7	64.8	73.5	0.032*
Ertapenem	33.3	26.2	28.6	0.457
İmipenem	21.2	11.9	15.0	0.486
Meropenem	21.2	11.9	15.0	0.414
Gentamisin	30.3	9.0	16.0	0.006*
Amikasin	15.2	4.5	8.0	0.176
Tobramisin	55.6	35	41.4	0.422
Siprofloksasin	72.7	37.3	49.0	0.0001*
Levofloksasin	72.7	37.9	49.5	0.001*
Fosfomisin	22.2	21.1	21.4	1.000
Trimetoprim/ sülfametoksazol	75.8	34.3	48.0	0.0001*

* $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı farklılık; kk: Ki-kare testi

Şekil 1. Sınıf 1 ve sınıf 2 integron pozitifliğinin jel elektroforez görüntüsü.



(M: 50-1000 bp DNA ladder. 1,2,4,9,11. kuyucuklarda sınıf 1 integron pozitif izolatlara ait 160 bp'de bant ve 12. kuyucukta sınıf 1 integron+sınıf 2 integron pozitif izolata ait 160 bp'de ve 288 bp'de bantlar izlenmektedir)

TARTIŞMA

Horizontal gen transferi, genetik materyalin aynı nesildeki bakteriler arasında transferidir. Mobil genetik elemanların horizontal gen transferi bakteriler arasında çoklu ilaç direncinin ortaya çıkmasına, rekombinasyonuna ve yayılmasına en büyük katkısı sağlar. Patojenler arasında fiziksel olarak hareket etme kapasiteleri nedeniyle konak genomları, mobil genetik elemanlar, bakteri topluluklarında yaygın elemanlardır. Bugüne kadar plazmidler, bakteriyofajlar, transpozonlar ve integronlar gibi çeşitli mobil genetik elemanlar tanımlanmıştır. Özellikle integronlar arasında sınıf 1 integronlar kliniklerde antibiyotik direncinin yayılmasına neden olan en yaygın sınıftır⁽⁵⁾. Sınıf 1 integronun yaygınlığı klinik örneklerden izole edilen Gram negatif bakteriler arasında yaklaşık %22 ile 55 arasında değişir⁽¹⁵⁾. Bizim çalışmamızda da sınıf 1 integron pozitifliği %33 ile en yaygın bulduğumuz sınıf olmuştur. Bunu %1 ile sınıf 2 integron pozitifliği takip etmiştir. *Int 2* pozitif olan suş aynı zamanda *int 1* direnç genine sahipti. Sınıf 3 integron pozitifliği tespit edilmemiştir. Wang ve ark.⁽¹⁸⁾ 167 izolatla yaptıkları çalışmalarında sınıf 1 integron pozitifliğini %57 bulmuşlardır. Çin'de yapılan diğer bir çalışmada ise sınıf 1 integron pozitifliği %54 olarak bulunmuştur⁽¹³⁾. Firoozeh ve ark.⁽⁸⁾ İran'da çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında sınıf 1 integron pozitifliğini %100 ve sınıf 2 integron pozitifliğini %36.7 o bulmuş, sınıf 3 integron pozitifliği saptamamışlardır.

Türkiye'de sınıf 1, 2 ve 3 integron taşıyan *Enterobacteriaceae* üyeleri ile ilgili çalışmalar yapılmış olsa da klinik izolatlarda özellikle de *K. pneumoniae* örneklerinde yapılan araştırmalar sınırlıdır^(3,11). Ülkemizde *K. pneumoniae* izolatlarında üç integronun (*int 1,2 ve 3* direnç geni) birlikte araştırıldığı yalnızca bir çalışma olduğu görülmüştür⁽⁴⁾. Erač ve ark.larına⁽⁷⁾ ait çalışmada 10 *K. pneumoniae* suşu değerlendirilmiş, suşların beşinde (%50) sınıf 1 integron varlığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda bir izolatta hem *int1* hem de *int2* tespit etmişlerdir.

Sınıf I integronlar antimikrobiyal direncin yayılmasında önemli rol oynamaktadırlar. Sınıf 1 integronlar aminoglikozitler, beta-laktamlar, kloramfenikol, makrolidler, sülfonamidler, dezenfektanlar ve deksositan gibi 40'tan fazla direnç geni ile ilişkilidirler⁽⁴⁾. Bu çalışmada integron 1 pozitif ve negatif izolatların antibiyotik direnç oranlarını incelediğimizde integron 1 pozitif izolatların integron 1 negatif izolatlarla göre trimetoprim/sülfametoksazol, siprofloksasin, levofloksasin, seftriakson, sefuroksim ve gentamisine karşı daha yüksek oranda dirençli olduğu saptanmıştır. Verilerimiz bu konuda yapılan çalışmalarla uyumludur^(2,9,19).

Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlara neden olan Gram negatif etkenlerdeki karbapenem direnç oranları giderek artmaktadır. Duran ve ark.⁽⁶⁾ 2016-2020 yıllarını kapsayan çalışmalarında *K. pneumoniae* karbapenem direncinin %16 ile %50 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. İlgar ve ark.⁽¹⁰⁾ çalışmalarında ikinci basamak hastanede *K. pneumoniae* karbapenem direnç oranını %66, üçüncü basamak hastanede ise %24 olarak bildirmişlerdir. Son yıllarda ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda, karbapenem direnç oranları %20-51 arasında bildirilmektedir⁽¹⁶⁾. Çalışmamızda *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnç oranı %15 bulunmuştur.

Kinolon grubu antibiyotikler, idrar yolu enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde ilk seçenek olarak tercih edilen antibiyotiklerdir. Çalışmamızda siprofloksasin ve levofloksasin direnci %49 bulunmuştur. Naz ve ark.⁽¹²⁾ çalışmalarında poliklinik izolatlarında %35, yataklı servis izolatlarında %57, yoğun bakım servisi izolatlarında %61 direnç oranı bulmuşlardır.

Trimetoprim/sülfametoksazol direnci çalışmamızda %48 bulunmuştur. Çiçek ve ark.⁽⁴⁾ çok merkezli yaptıkları çalışmada bizim çalışmamızla benzer şekilde trimetoprim/sülfametoksazole karşı %41.2 direnç saptamışlardır. İntegronlarda sık rastlanan direnç genleri göz önüne alındığında trimetoprim/sülfametoksazole direncin istatistikî olarak anlamlı çıkması beklenen bir sonuçtur.

Çalışmamızda integron pozitif bulunan izolatların integron gen kasetlerinde bulunan direnç genlerinin tanımlanmamış olması kısıtlılıklardan biridir.

Literatür incelendiğinde ülkemizde klinik örneklerde üreyen diğer *Enterobacterales* üyeleriyle ilgili çalışmalar bulunmasına karşın, çalışmamızın *K. pneumoniae* izolatlarında sınıf 1, 2 ve 3 integron gen varlığının incelendiği en kapsamlı araştırma olduğu görülmüştür. Çalışmamızda; *K. pneumoniae* izolatlarında sınıf 1 integron pozitifliği durumunda, seftriakson, sefuroksim, gentamisin, siprofloksasin, levofloksasin, trimetoprim/sülfametoksazole karşı direncin yüksek olduğu görülmektedir. Özellikle antibiyotik direnciyle yakından ilişkili olan integron 1'in takibi doğru tedavi şemalarının oluşturulmasına katkıda bulunacaktır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (20.06.2023 / Sayı: E.382581).

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Pamukkale University Non-interventional Clinical Researches Ethics Committee (20.06.2023 / Number: E.382581).

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

Financial support: No financial support was received for the project.

KAYNAKLAR

1. Chang D, Sharma L, Dela Cruz CS, Zhang D. Clinical epidemiology, risk factors, and control strategies of *Klebsiella pneumoniae* infection. *Front Microbiol.* 2021;12:750662. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.750662>.
2. Chen J, Li H, Yang J, Zhan R, Chen A, Yan Y. Prevalence and characterization of integrons in multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in Eastern China: A Multiple-Hospital Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2015;12(8):10093-105. <https://doi.org/10.3390/ijerph120810093>
3. Çiçek AÇ, Düzgün AÖ, Saral A, et all. Detection of class 1 integron in *Acinetobacter baumannii* isolates collected from nine hospitals in Turkey. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2013;3(9):743-7. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60149-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60149-5)
4. Çopur Çiçek A, Sandallı C, Budak EE, et all. İdrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında sınıf 1 ve sınıf 2 integron gen kasetlerinin karakterizasyonu: Çok merkezli bir çalışma. *Mikrobiyol Bul.* 2016;50(2):175-85.
5. Domingues S, da Silva GJ, Nielsen KM. Integrons: Vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. *Mob Genet Elements.* 2012;2(5):211-223. <https://doi.org/10.4161/mge.22967>
6. Duran H, Çeken N, Atik B. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* türlerinde antibiyotik direnci ne durumda? Yoğun bakım ünitesinden beş yıllık analiz. *Fırat Tıp Dergisi* 2022;27(2):116-20.
7. Eraç B, Hoşgör-Limoncu M, Ermertcan Ş, Taşlı H, Aydemir Ş. Prevalence of blaPER-1 and integrons in ceftazidime-resistant Gram-negative bacteria at a university hospital in Turkey. *Jpn J Infect Dis.* 2013;66(2):146-8. <https://doi.org/10.7883/yoken.66.146>.
8. Firoozeh F, Mahluji Z, Khorshidi A, Zibaei M. Molecular characterization of class 1, 2 and 3 integrons in clinical multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019;8:59. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0509-3>.
9. Goudarzi, Mehdi, and Hadi Azimi. Dissemination of classes 1, 2, and 3 integrons in *acinetobacter baumannii* strains recovered from intensive care units using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Jundishapur Journal of Microbiology.* 2017;10(5). e13100. <https://doi.org/10.5812/jjm.13100>
10. İlgar T, Kostakoğlu U, Yıldız İE, et all. Yoğun bakım ünitelerindeki sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonlar ve antimikrobiyal direnç: ikinci ve üçüncü basamak hastanenin karşılaştırılması. *ANKEM Derg.* 2023;37(2):49-56. <https://doi.org/10.54962/ankemderg.1349974>
11. Jahanbin F, Marashifard M, Jamshidi S, et all. Investigation of integron-associated resistance gene cassettes in urinary isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Yasuj, Southwestern Iran during 2015-16. *Avicenna J Med Biotechnol.* 2020;12(2):124-31.
12. Kalyoncu BN, Koçoğlu ME, Özekinci T, et all. İstanbul'da bir şehir hastanesinde izole edilen üriner sistem patojenleri ve antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesi. *ANKEM Derg.* 2023;37(1):18-27. <https://doi.org/10.54962/ankemderg.1283517>
13. Liao W, Li D, Liu F, et all. Distribution of integrons and phylogenetic groups among highly virulent serotypes of *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese tertiary hospital. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020;21:278-84. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.11.016>.

14. Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. Clin Microbiol Rev. 2018;31(4):e00088-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>
15. Sabbagh P, Rajabnia M, Maali A, Ferdosi-Shahandashti E. Integron and its role in antimicrobial resistance: A literature review on some bacterial pathogens. Iran J Basic Med Sci. 2021;24(2):136-42. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.48905.11208>
16. Telli M. *Klebsiella pneumoniae* klinik suşlarında, 2012-2020 yılları arasında karbapenem direnç oranlarındaki değişimin ve direnç genlerinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(2):95-102. <https://doi.org/10.54453/TMCD.2022.05025>
17. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, Version 1.0 December 2009–Version 10.0 January 2020. <https://www.eucast.org> (Erişim tarihi 24.10.2023)
18. Wang L, Zhu M, Yan C, et al. Class 1 integrons and multiple mobile genetic elements in clinical isolates of the *Klebsiella pneumoniae* complex from a tertiary hospital in eastern China. Front Microbiol. 2023;14:985102. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.985102>
19. White PA, McIver CJ, Rawlinson WD. Integrons and gene cassettes in the Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 2001;45(9):2658-61. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.9.2658-2661.2001>

DİRENÇLİ BAKTERİ KOLONİZASYONU TARAMASI YAPILMASININ CERRAHİ ALAN ENFEKSİYONU AÇISINDAN ÖNEMİ

Hüseyin Kemal RAŞA¹, Melda ÖZDAMAR², İpek Değer KARAMAN³, Elif HAKKO⁴

H. K. Raşa: 0000-0002-2872-3249, M. Özdamar: 0000-0003-3532-9255, İ. D. Karaman: 0009-0000-3070-4269,
E. Hakkı: 0009-0006-4067-4589

¹Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi, Genel Cerrahi, KOCAELİ

²Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji, KOCAELİ

³Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Hemşiresi, KOCAELİ

⁴Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları, KOCAELİ

ÖZ

Cerrahi alan enfeksiyonları sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların yaklaşık %20'sini oluşturmakta ve hastalarda artmış morbidite ile mortaliteye neden olmaktadır. Tarama amaçlı yapılan rektal sürüntü kültürlerinde ise hastaların dirençli bakteriler ile kolonize olduğunun anlaşılması yatış sürecindeki enfeksiyon riskini anlamlı olarak arttırmaktadır. Çalışmamızda hastanemiz Genel Cerrahi bölümü tarafından son beş yılda ameliyat edilen 3228 hastada gelişen 102 cerrahi alan enfeksiyonu (%3.16) verisini değerlendirdik. Çalışma süresince 86 hastada 168 etken ürettiği ve sekiz hastada (%9.3) etkenin dirençli mikroorganizmalar olduğu görüldü. 16 hastada (%15.7) ise kültür için hiç örnek alınmadığı saptandı. Cerrahi alan enfeksiyonu gelişen hastaların 4 tanesinde dirençli bakteri tarama kültürü yapıldığı ve bu hastalardan birinde karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri pozitifliği saptandığı anlaşıldı. Bu hastanın total gastrektomi sonrası gelişen karın içi apse kültüründe de yine karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri, *Escherichia coli* üremesi oldu. Bu sonuçlar ile hastanemizde cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesi için, tarama kültürü gibi önemli bir fırsatın yeteri kadar iyi kullanılmadığı sonucuna vardık. Etkin bir tarama ile daha fazla kolonize hastaya ulaşmamız mümkün olsa bu hastalarda izolasyon, yakından izlem ve cerrahi alan enfeksiyonu gelişmesi durumunda ise daha etkin bir tedavi planlama şansımız olacaktı. Sonuçta çalışmamız Genel Cerrahi tarafından ameliyat edilen hastalarda gerçekleştirilmesi gereken dirençli bakteri kolonizasyonu taraması konusunda önemli eksikliklerimiz olduğunu göstermiş ve cerrahi alan enfeksiyonu etkenlerinin saptanması konusunda da gelişim alanlarımız olduğunu belirlemiştir.

Anahtar kelimeler: Cerrahi alan enfeksiyonu, Çoklu dirençli bakteriler, Dirençli bakteri kolonizasyonu taraması, Karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri

ABSTRACT

Impact of Multidrug-resistant Bacteria Colonisation Screening on Surgical Site Infections

Surgical site infections constitute approximately 20% of healthcare-associated infections and increase morbidity and mortality rates. In the rectal swab cultures for multidrug-resistant bacteria colonization screening, colonized patients with resistant bacteria have a significantly increased risk of infection during their hospitalization period. Our study evaluated 102 surgical site infections (3.16%) developed in 3228 patients operated by the General Surgery team in the last five years. During the study period, 168 microorganisms were reported in 86 patients, and the causative microorganism in eight patients (9.3%) were multi-drug resistant. It was shown that no samples were taken for culture in 16 patients (15.7%). Multidrug-resistant bacteria colonization screening cultures were performed in 4 patients with surgical site infections, and carbapenemase producing Gram negative bacteria was found in one of them. That patient, who underwent total gastrectomy, had a postoperative intra-abdominal abscess, and a carbapenemase producing Gram negative bacteria, *Escherichia coli*, was reported in his abscess culture. With these results, we concluded that a significant opportunity, such as a screening culture, could not be used well enough to prevent surgical site infections in our hospital. If we reach more colonized patients with adequate screening, we would have the chance to plan timely isolation, close monitoring and more

İletişim adresi: Hüseyin Kemal Raşa. Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi, Genel Cerrahi, KOCAELİ
Cumhuriyet Mahallesi 2255 Sokak No 3 41400 Gebze Kocaeli
Tel: (0262) 678 55 42, GSM: (0532) 284 55 63
e-posta: kemal.rasa@anadolusaglik.org

Received/Geliş: 18.08.2023 Accepted/Kabul: 12.12.2023 Published Online/Online Yayın: 31.12.2023

Atf/Cite as: Raşa HK, Özdamar M, Karaman İD, Hakkı E. Dirençli bakteri kolonizasyonu taraması yapılmasının cerrahi alan enfeksiyonu açısından önemi. ANKEM Derg. 2023;37(3):96-102.

effective treatment in case of surgical site infection. As a result, our study showed that we have essential deficiencies in screening resistant bacteria colonization that should be performed in patients operated by General Surgery and determined that we have room for improvement in diagnosing surgical site infection causative microorganisms.

Keywords: Carbapenemase producing Gram negative bacteria, Multidrug-resistant bacteria, Multidrug-resistant bacteria colonization screening, Surgical site infections

GİRİŞ

Cerrahi alan enfeksiyonları (CAE) sağlık sistemlerinin en önemli sorunlarından biri olma özelliğini korumakta, hastalarda morbiditeye, uzamış hastane yatışına, artmış maliyete ve mortaliteye neden olmaktadır⁽⁸⁾. 2016 yılında Dünya Sağlık Örgütü cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesine yönelik ilk küresel kılavuzu yayınladı^(1,2). Sonraki yıllarda ise American College of Surgeons ile Surgical Infection Society⁽³⁾ ve CDC⁽⁵⁾ gibi önemli kurumlar bu konuda kendi önerilerini paylaştıkları yeni kılavuzlar yayınladılar. Kılavuzların sayesinde cerrahi alan enfeksiyonu oranlarında anlamlı düşüşler olması beklendi ancak önerilerin alanlarda uygulanması sürecinde yaşanan sorunlar, hedeflenen düzeyde iyileşmenin sağlanamamasına neden oldu. Bu sorunun aşılabilmesi için de kılavuzların uygulanmasına yönelik öneriler oluşturuldu⁽¹¹⁾. Ayrıca sorunun çözümü için multidisipliner bir yaklaşım gerektiği, CAE oranlarını azaltmak için sürveyans çalışmalarının, antibiyotik yönetişiminin ve çok sayıda enfeksiyon kontrol öneminin birlikte yürütülmesinin gerektiği de anlaşıldı.

Enfeksiyonların önlenmesi konusundaki bu olumlu gelişmelere karşın, son yıllarda küresel düzeyde artan antimikrobiyal direnç sorunu hastaların klinik sonuçlarını olumsuz yönde etkiledi. Çoklu dirençli (MDR) bakteriler ile gelişen enfeksiyonlar hastane yatışlarını ve antibiyotik tedavi sürelerini uzattı, revizyon cerrahilerine gereksinimi arttırdı ve mortalite oranlarını yükseltti⁽¹⁷⁾. Güncel yayınlarda MDR Gram negatif çomakların neden olduğu CAE sayısının giderek artan oranda bildirilmesi^(9,14) CAE konusunda da bu organizmaların gerçekten önemsenmesi gerektiğini gösterdi.

Tarama amaçlı yapılan rektal sürüntü kültürlerinde hastanın MDR bakteriler ile kolonize olduğunun anlaşılması, daha yatış sürecinde hastada enfeksiyon gelişim riskinin anlamlı olarak yüksek olacağını öngörmemizi sağlamaktadır^(7,17). Biz de çalışmamızda son beş yıl içerisinde ameliyat ettiğimiz ve CAE gelişen hasta verilerini inceledik, bu hasta grubunda 'dirençli bakteri tarama kültürü' yapıma oranı ile tarama kültürü üremelerinin CAE etkenleri üzerindeki etkisini değerlendirmeyi hedefledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

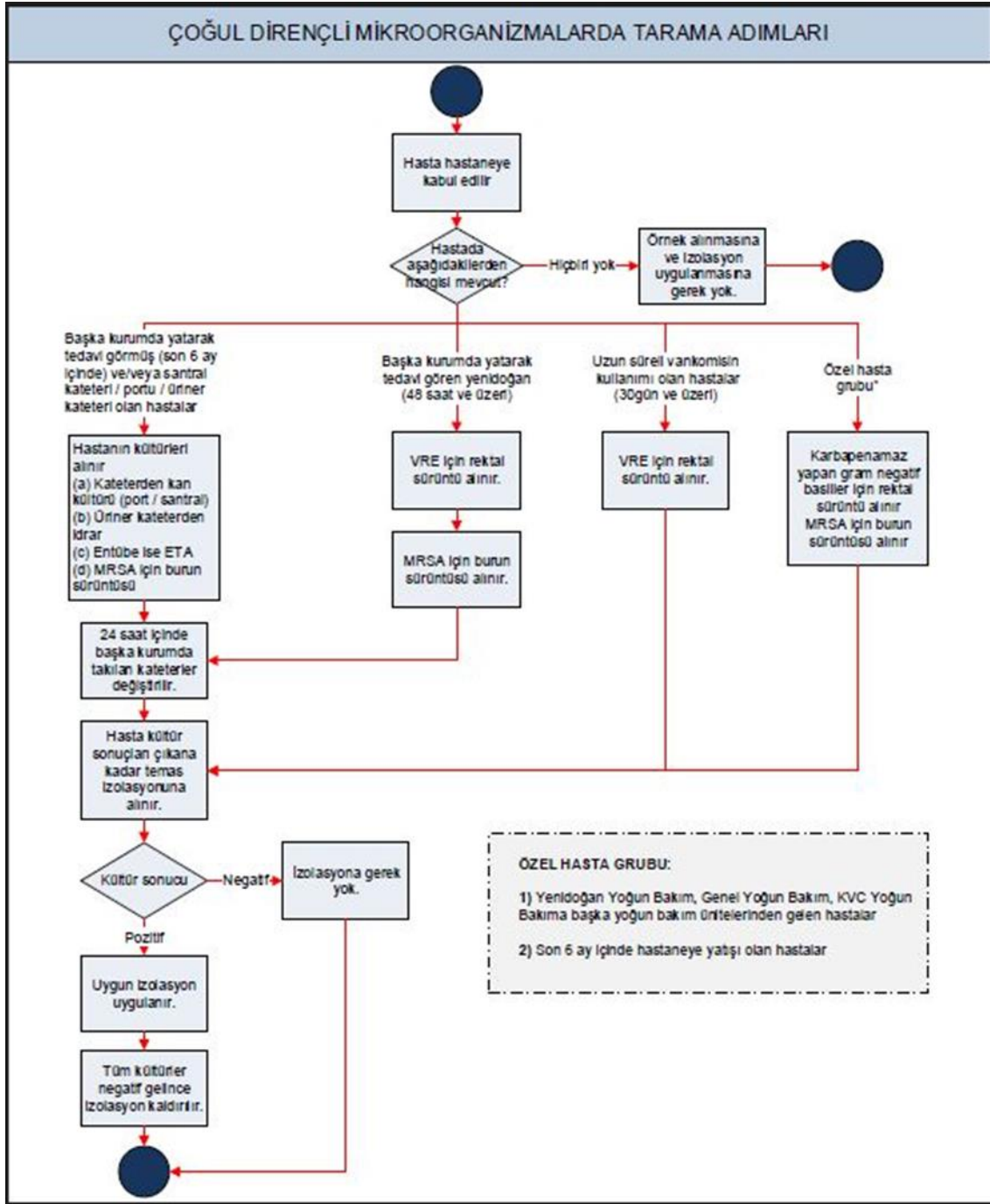
Çalışmamızda 01 Ocak 2018 ile 31 Aralık 2022 tarihleri arasındaki beş yıllık dönemde genel cerrahi bölümü tarafından ameliyat edilen 3228 hastada gelişen 102 CAE ile dirençli bakteri kolonizasyonu taraması yapılan hastaların verileri değerlendirilmiştir.

Çalışmanın yürütüldüğü merkez olan Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi'nde tedavi edilen hastalar, çeşitli demografik özellikler göstermektedir. Hastanede genel sağlık hizmetlerinin yanı sıra, yurt dışından gelen kanser hastalarına da hizmet verilmektedir. İlk tedavileri ve ameliyatları farklı coğrafyalarda gerçekleştirilen bu hastalarda hastaneye yatış sırasında dirençli mikroorganizmalar ile kolonizasyon görülebilmektedir. Genel Cerrahi bölümüne başvuran hastaların bir bölümünde, daha önce yapılan girişimsel işlemlerde yerleştirilen ve dış ortam ile ilişkili kateterler (örneğin eksternal biliyer kateter) veya drenler (karın içerisine yerleştirilen hemovak veya Jackson-Pratt tipi drenler) bulunabilmektedir. Ayrıca yine yurtdışında yapılan ERCP ve biliyer internal stent yerleştirilmesi gibi girişimsel endoskopik işlemler nedeniyle safra gibi steril olması beklenen vücut sıvılarının da bazı mikroorganizmalar ile kolonize olduğu görülebilmektedir. Uzun kemoterapi süreçleri sonrasında hastanemize başvuran hastaların aldıkları bu tedavilerin bağışıklık sistemlerini ve mikrobiyotalarını etkilemiş olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Son revizyonu 07.02.2022 tarihinde yapılan "Anadolu Sağlık Merkezi Çoğul Dirençli Mikroorganizmalarda Tarama Algoritması" protokolünde son 6 ay içerisinde hastane yatışı olan hastalar 'özel hasta grubu' olarak tanımlanmıştır (Şekil 1). Protokol uyarınca, bu hastalarda karbapenemaz yapan Gram negatif çomaklar için rektal sürüntü ile Metisiline dirençli *Staphylococcus Aureus* (MRSA) için burun sürüntüsü

almaktadır. Ayrıca santral kateteri veya intravenöz portu olan hastalarda kan kültürü, üriner kateteri olanlarda idrar kültürü ve entübe olan hastalarda ise endotrakeal aspirat (ETA) yapılması protokol ile rutin uygulama haline getirilmiştir. Kültür sonuçları belli olana kadar tüm hastalarda 'temas izolasyonu' uygulanmaktadır. Tarama ve/veya diğer kültür sonucu pozitif olan hastalar ise üremeleriyle uyumlu izolasyonlara alınmaktadır.

Şekil 1. Anadolu Sağlık Merkezi Çoğul Dirençli Mikroorganizmalarda Tarama Algoritması.



Laboratuvarımıza gelen tarama ve CAE gelişen hastalardan alınan kültür örnekleri, uygun besiyerlerine ekilerek aerop koşullarda 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Mikroorganizmaların identifikasyonu VITEK 2 (BioMérieux, Fransa) ve/veya MALDI-TOF MS sistemi (BioMérieux, Fransa) ile yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları üretici firmanın önerileri doğrultusunda otomatize VITEK version 2.0 (BioMérieux, Fransa) sistemi ile çalışılmış ve European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Karbapenemlere dirençli gram negatif çomaklar için Carba-NP (BioMérieux, Fransa) testi, üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılmıştır. Bu çalışma Helsinki Deklarasyonu (2013 revizyonu) ile uyumlu olarak gerçekleştirilmiş ve Anadolu Sağlık Merkezi etik kurulu tarafından değerlendirilerek onaylanmıştır (ASM-EK- 23/239).

BULGULAR

Hastanemizde 01 Ocak 2018 ile 31 Aralık 2022 tarihleri arasındaki beş yıllık dönemde Genel Cerrahi bölümü tarafından ameliyat edilen 3228 hastada toplam 102 CAE geliştiği saptandı. Yıllık CAE oranlarımızın %1.9 ile %4.6 arasında değiştiği ve ortalamamızın yılda %3.16 olduğu belirlendi.

CAE gelişen 102 hastanın on altısından (%15.7) kültür örneği alınmadığı için CAE etkenlerine yönelik mikrobiyolojik değerlendirme yapılamadığı belirlendi. Seksen altı hastadan gönderilen örnekler için kültür sonuçları değerlendirildiğinde ise 168 üreme olduğu görüldü (Tablo 1). Üremesi olan 40 hastanın kültürlerinde birden fazla etken ürediği saptandı.

Tablo 1. Cerrahi alan enfeksiyonu patojen etken dağılımı.

Enfeksiyon Etkeni	n
<i>Escherichia coli</i>	49
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
<i>Enterococcus</i> spp.	19
<i>Pseudomonas</i> spp.	15
<i>Candida</i> spp.	12
<i>Staphylococcus</i> spp.	11
<i>Enterobacter cloacae</i>	10
<i>Proteus</i> spp.	9
<i>Streptococcus</i> spp.	8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5
<i>Morganella morganii</i>	3
<i>Citrobacter</i> spp.	2
Toplam	168

Sekiz hastadaki üremenin MDR etkenler (Karbapenemaz üreten Gram negatif çomak, MRSA, Vankomisin dirençli enterokoklar (VRE)) ile olduğu bulundu. Sekiz hastanın 3 tanesinde karbapenemaz üreten Gram negatif çomak, 4 hastada MRSA ve 1 hastada VRE üremesi raporlandı. Sonuçta etkenin MDR mikroorganizmaların olduğu CEA oranının %7.8 olduğu görüldü (8 üreme/102 hasta). Hatta kültür için örnek gönderilmeyen 16 hasta çıkartıldığında bu oranın %9.3'e yükseldiği (8 üreme/86 hasta) saptandı.

CAE gelişen 102 hastanın 'çoklu dirençli bakteri kolonizasyonu taraması' verileri değerlendirildiğinde sadece dört hastada tarama yapıldığı görüldü. Bu dört hastanın üçünde karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri, MRSA veya VRE üremesi olmadı. Bir hastada ise karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri üremesi oldu ve bu hastada MRSA veya VRE üremesi olmadığı görüldü. Hastanın mide kanseri nedeniyle total gastrektomi yaptığımız ve izlemde organ/boşluk enfeksiyonu gelişen bir uluslararası hasta olduğu görüldü. Hastanın apse kültüründe tarama sonucu ile uyumlu olarak karbapenemaz üreten bir Gram negatif bakteri, *Escherichia coli* üremesi olduğu görüldü.

TARTIŞMA

Çoklu dirençli mikroorganizma kolonizasyonu tarama kültürleri de hastanelerde gerçekleştirilen ‘enfeksiyon önleme ve kontrolü’ çalışmalarının önemli unsurlarından biridir. Tarama kültürleri sonucunda mikrobiyotada patojen olabilecek mikroorganizmalar tespit edilebilmekte ve insan ekosistemine yönelik anlayışımız gelişmektedir. Özellikle tarama kültürlerinde üremesi olan hastalarda, izolasyon gibi erken uyarı sistemleri devreye sokularak etkenin neden olabileceği potansiyel hasarlar engellenebilmektedir.

CAE etkenleri dağımı farklılaşmakta, MDR etkenlerin ağırlığı artmakta ve bu oranın güncel çalışmalarda %30 düzeyine yükseldiği görülmektedir⁽⁶⁾. Tarama kültürlerinde üremesi olan hastalarda ameliyat sonrasında CAE gelişirse, elde olan bu pozitif sonuç daha da değerli hale gelmekte ve başlanacak ampirik tedaviye kılavuzluk etmektedir. Bu etkeni de kapsayacak bir antimikrobiyal seçilmesi tedavi başarısını arttırılabilmekte ve başta sepsis olmak üzere istenmeyen komplikasyonların gelişme riskini azaltmaktadır.

Kolonize hastalarda artmış bir enfeksiyon riski olduğu kabulü günlük klinik uygulamalarımızda kolonize hastaları erken tanımak hatta kolonizasyonu önlenmek için ciddi bir çaba göstermemizi zorunlu hale getirir, çünkü bu dirençli organizmalar ile gelişen enfeksiyonlar hem hastalar hem de tüm sağlık sistemi üzerinde anlamlı bir risk oluşturmaktadır. Konu üzerinde yapılmış çalışmalar kesin sonuçlar ortaya koymasa da bize bazı çıkarımlar yapma şansı vermektedir^(4,10,15). Bu çalışmalar, enfeksiyon etkenlerinin endojen olduğu ve hastaların gastrointestinal mikrobiyotasının bu enfeksiyonlar için kaynak oluşturduğu kabulünü doğrulamıştır. Ayrıca MDR Gram negatif basil ile nozokomiyal kolonizasyonun, gelişecek enfeksiyonlar için önemli bir risk unsuru olduğunu ve bu hastalarda daha yüksek oranda enfeksiyon geliştiğini ortaya koymuştur. Daha da önemlisi, MDR Gram negatif basil ile kolonize olan hastalarda enfeksiyon geliştiği zaman enfeksiyon etkeninin yine bu MDR Gram negatif basil olma ihtimalinin anlamlı olarak yüksek olduğu da gösterilmiştir. Bu nedenle kolonize hasta grubunda enfeksiyon geliştiğinde başlanacak ampirik tedavide MDR Gram negatif çomaklara da etkili olacak antibiyotik seçiminin, tedavi başarısını arttıracak ve bu enfeksiyonlara ikincil gelişecek komplikasyonları önleyeceği anlaşılmıştır⁽¹⁵⁾. Öte yandan, MDR Gram negatif basil taşıyıcılarının cerrahi öncesinde rutin olarak dekolonize edilmeye çalışılması hem uzun dönem etkinliğinin olmaması, hem de antibiyotik direnç sorununu arttırma potansiyeli nedeniyle güncel kılavuzlar tarafından hala önerilmemektedir⁽¹⁶⁾.

Çalışmamızda ‘çoklu dirençli bakteri kolonizasyonu taraması’ yapılan hastalar içerisinde sadece bir hastada karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri üremesi olduğu ve eldeki bilgi birikimi ile uyumlu olarak bu hastada gelişen CAE etkeninin yine karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri, *E. coli* olduğu görüldü. Bu sonuç CAE önlenmesi için ciddi çaba gösteren ekibimizin aslında ‘tarama kültürü’ gibi önemli bir fırsatı yeteri kadar iyi kullanmadığı gerçeğini ortaya koymuştur. CAE gelişen 102 hastanın sadece 4 tanesine ‘çoklu dirençli bakteri kolonizasyonu taraması’ yapılması bir iyileştirme fırsatı olarak değerlendirilmiştir. Eğer hastanemizdeki algoritmamıza uyumumuz daha yüksek olsa ve tarama yapılması gereken hastalara herhangi bir istisna olmadan tarama yapabilmiş olsak büyük bir olasılıkla daha yüksek oranda kültür pozitif hastayı saptayabilecektik. Bu kültürlerde üremesi olan hasta grubunda ise izolasyon, yakın izlem ve CAE gelişmesi durumunda daha etkin tedavi ile sonuçlarımızı iyileştirme şansımız olacaktı.

Sadece dört hastaya tarama yapılmasının diğer bir nedeninin ise hastanemizde uygulanan algoritma olabileceği düşünüldü. Algoritmanın gözden geçirilmesinin ve daha geniş bir popülasyonun hedef kitle olarak belirlenmesinin sonuçlara olumlu katkıda bulunabileceğini düşündük. Zaten daha önce farklı kılavuz ile protokol örneklerinde görüldüğü gibi küresel standartların ve önerilerin ötesinde her hastanenin kendi şartlarına ve hasta profiline özel bazı değişiklikler yapması sonuçları iyileştirebiliyor.

Algoritmamıza göre taranması gereken ancak tarama yapılmayan alt grup değerlendirildiğinde ise buradaki en önemli nedenin cerrahi ekibin uyumsuzluğu olabileceği düşünüldü. Bu taramaların tıbbi olarak gerekli olmadığı ve zaman kaybına neden olduğu inancına sahip cerrahların konu hakkında bilgilendirilmelerinin, onlara ameliyat sonrası MDR mikroorganizmalar ile gelişecek enfeksiyonların neden olabileceği hasarların anlatılmasının süreci olumlu yönde etkileyeceği düşünüldü. Ayrıca CAE oranımızın %3.16 ve üreyen etkenlerin %9.3’ünün MDR organizmalar olduğu verisi göz önüne alındığında, tarama kültürlerinin diğer bir yükü olan maliyetin de haklı bir iddia olmadığı söylenebilir. Bu konu hakkında yapılacak bir ‘maliyet-etkinlik’ çalışmasının da sürece katkısı olacaktır.

Taranan hasta sayısının arttırılabilmesi için cerrahi ekip ile yapılacak çalışmaların ötesinde, tüm klinik ve idari süreçlerin bu farkındalık ile yeniden gözden geçirilmesi de uygun olacaktır.

Preoperatif rektal sürüntü kültüründe üreme olan hastaların CAE oranlarında anlamlı bir artış olduğu gösterilmiş ancak bugüne kadar yapılan çalışmalar ile bu hasta grubu için farklı bir tedavi protokolünün daha etkin olacağı konusunda güçlü kanıtlar ortaya konulamamıştır⁽¹³⁾. Önümüzdeki dönemde bu alandaki bilgi birikiminin artması ve kültür pozitifliği olan hastalarda yapılacak ek girişimler ile CAE oranlarında iyileşmeler elde edilmesi bizim de beklentilerimiz içerisinde.

MDR mikroorganizmalar ile kolonize olan hastalarda, 'profilaktik antibiyotik' uygulama protokolümüzde değişikliğe gitmemizin sonuçlar üzerinde etkisi olup olmayacağı diğer önemli konulardan biridir. Nisan 2023'te yayınlanan ESCMID/EUCIC kılavuzunda MDR Gram negatif çomaklar ile kolonize olmuş hastaların cerrahi sonrası dönemleri değerlendirilerek bu sorunun yanıtı aranmıştır⁽¹²⁾. Kılavuzda güçlü olarak altı çizilen nokta, bu konuda çok ciddi bilgi eksikliğimizin olduğu ve çoğu sorunun yanıtı için eldeki kanıtların sadece gözlemsel çalışma sonuçlarına dayandığıdır. Yazarlar, hazırladıkları kılavuza temel olan çalışmaların orta ile yüksek düzeyde yanlılık içerdiğini ve önerilerinin çoğunun düşük kanıt düzeyi ile desteklendiğini belirtmişler. Yazarların solid organ nakli ile kolorektal cerrahi yapılacak hastalarda önerileri olmuş ancak diğer tüm cerrahiler için veri kalitesi yüksek ve prospektif çalışmalara gereksinim olduğu çıkarımında bulunmuşlardır⁽¹²⁾.

Çalışmamızın, değerlendirilen hasta sayısının sınırlı olması gibi majör bir kısıtı mevcuttur ancak bu kısıtlı veri ile bile hastanemizde CAE gelişen hasta grubunda çoklu dirençli bakteri kolonizasyonu taraması yapılan hasta sayısının yeterli olmadığı söylenebilir. Ayrıca CAE gelişen hastalarda etkenin belirlenmesi için cerrahi alandan kültür alma uygulamasının istenilen düzeyin altında kaldığı görülmüştür. Hem tarama yaptığımız hasta sayısının artırılması, hem de CAE gelişen tüm hastalardan kültür alınması konusunda gelişim alanlarımız olduğu belirlenmiştir. Tarama kültüründe karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri üretmesi olan ve gelişen CAE nedeniyle alınan kültürde etkenin yine karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri, *E. coli* olduğu görülen hastamız taramaların hastanemizdeki öneminin de altını çizmiştir. Daha etkin ve kapsayıcı bir tarama yapılabilmesinin, MDR organizmaların etken olduğu cerrahi alan enfeksiyonları riskini azaltabileceğini, enfeksiyon gelişmesi koşulunda bile etkenin MDR mikroorganizma olma olasılığının farkında olarak daha hızlı davranma ve uygun tedavi ile daha iyi sonuçlar elde etme şansımız olabileceğini düşündürmüştür.

Etik Kurul Onayı: Anadolu Sağlık Merkezi etik kurulu tarafından değerlendirilerek onaylanmıştır (ASM-EK-23/239).

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: This study was reviewed and approved by Ethics Committee of 'Anadolu Medical Center Hospital' (ASM-EK- 23/239).

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

Financial support: No financial support was received for the project.

KAYNAKLAR

1. Allegranzi B, Bischoff P, de Jonge S, Kubilay NZ, Zayed B, Gomes SM, ve ark. New WHO recommendations on preoperative measures for surgical site infection prevention: an evidence-based global perspective. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(12):e276-e287.
2. Allegranzi B, Zayed B, Bischoff P, Kubilay NZ, de Jonge S, de Vries F, ve ark. New WHO recommendations on intraoperative and postoperative measures for surgical site infection prevention: an evidence-based global perspective. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(12):e288-e303.
3. Ban KA, Minei JP, Laronga C, Harbrecht BG, Jensen EH, Fry DE, ve ark. American College of Surgeons and Surgical Infection Society: surgical site infection guidelines, 2016 update. *J Am Coll Surg.* 2017;224(1):59-74.
4. Bar-Yoseph H, Hussein K, Braun E, Paul M. Natural history and decolonization strategies for ESBL/carbapenem-resistant Enterobacteriaceae carriage: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(10): 2729-39. pmid:27317444.

5. Berríos-Torres SI, Umscheid CA, Bratzler DW, Leas B, Stone EC, Kelz RR, ve ark. Centers for Disease Control and Prevention guideline for the prevention of surgical site infection, 2017. *JAMA Surg.* 2017;152(8):784-91.
6. Foschi D, Yakushkina A, Cammarata F, Lamperti G, Colombo F, Rimoldi S, ve ark. Surgical site infections caused by multi-drug resistant organisms: a case-control study in general surgery. *Updates Surg.* 2022 Oct;74(5):1763-1771.
7. Freire MP, Song ATW, Oshiro ICV, Andraus W, D’Albuquerque LAC, Abdala E. Surgical site infection after liver transplantation in the era of multidrug-resistant bacteria: what new risks should be considered? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021;99:115220
8. Klevens RM, Edwards JR, Richards CL, Horan TC, Gaynes RP, Pollock DA, ve ark. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002. *Public Health Rep.* 2007;122:160-6.
9. Kolasinski W. Surgical site infections - review of current knowledge, methods of prevention. *Pol Przegl Chir.* 2018;91:41e7.
10. Manges AR, Steiner TS, Wright AJ. Fecal microbiota transplantation for the intestinal decolonization of extensively antimicrobial-resistant opportunistic pathogens: a review. *Infect Dis (Lond).* 2016;48(8): 587-92.
11. Rasa K, Kilpatrick C. Implementation of World Health Organization Guidelines in the Prevention of Surgical Site Infection in Low- and Middle-Income Countries:What We Know and Do Not Know. *Surg Infect (Larchmt).* 2020;21(7):592-8.
12. Righi E, Mutters NT, Guirao X, Del Toro MD, Eckmann C, Friedrich AW, ve ark. ESCMID/EUCIC clinical practice guidelines on perioperative antibiotic prophylaxis in patients colonized by multidrug-resistant Gram-negative bacteria before surgery. *Clin Microbiol Infect.* 2023;29(4):463-79.
13. Seika P, Marz S, Geffers C, Adam T, Feldbrügge L, Jara M, Pratschke J, Rau B. The Clinical Importance of Preoperative Rectal Swabs in Patients after Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy. *Visc Med.* 2022;38(6):376-83.
14. Sganga G, Baguneid M, Dohmen P, Giamarellos-Bourboulis EJ, Romanini E, Vozikis A, ve ark. Management of superficial and deep surgical site infection: an international multidisciplinary consensus. *Updates Surg.* 2021;73:1315e25.
15. Sovereign D, Euser SM, Hesters BL, Kluytmans J, Rossen JWA, Den Boer JW. Association between rectal colonization with highly resistant Gram-negative rods (HR-GNRs) and subsequent infection with HR-GNRs in clinical patients: a one year historical cohort study. *PLOS ONE.* 2019;14:e0211016.
16. Tacconelli E, Mazzaferri F, de Smet AM, Bragantini D, Eggimann P, Huttner BD, ve ark. ESCMID-EUCIC clinical guidelines on decolonization of multidrug-resistant Gram-negative bacteria carriers. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25:807e17.
17. Teillant A, Gandra S, Barter D, Morgan DJ, Laxminarayan R. Potential burden of antibiotic resistance on surgery and cancer chemotherapy antibiotic prophylaxis in the USA: a literature review and modelling study. *Lancet Infect Dis.* 2015;15:1429e37.

ÇOK İLACA DİRENÇLİ GRAM NEGATİF BAKTERİLERDEKİ SEFTAZİDİM-AVİBAKTAM DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI*

Emel AKBAŞ¹, Banu Hümeıra KESKİN², Hande KAYMAN¹, Dilek YEKENKURUL³, Emel ÇALIŞKAN¹, Şükrü ÖKSÜZ¹, İdris ŞAHİN¹

E. Akbaş: 0000-0001-6589-7734, B. H. Keskin: 0000-0002-2102-3952, H. Kayman: 0009-0002-2863-2811,

D. Yekenkurul: 0000-0002-4456-7485, E. Çalışkan: 0000-0002-9451-7865, Ş. Öksüz: 0000-0002-4893-5564, İ. Şahin: 0000-0001-6203-5039

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DÜZCE

²Zonguldak Kadın ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, ZONGULDAK

³Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DÜZCE

ÖZ

Çoklu ilaca dirençli (MDR) Gram negatif bakteriyel patojenler ciddi mortalite ve morbidite ile seyreden enfeksiyonlara neden olabilirler. Bu izolatların etken olduğu enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri sınırlıdır. Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen MDR Gram negatif bakterilerde seftazidim-avibaktam duyarlılık oranının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Temmuz 2018-Temmuz 2022 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen Enterobacterales ve Pseudomonas aeruginosa suşları dahil edildi. Tür düzeyinde tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testleri için klasik yöntemlere ilave olarak otomatize sistem (VITEK 2 Compact /Phoenix) kullanıldı. Bunların içinden MDR olduğu saptanan izolatlarda disk difüzyon yöntemi ile seftazidim-avibaktam (10-4 µ) (Bioanalyse, Türkiye) duyarlılığı araştırıldı.

Çeşitli klinik örneklerden toplam 83 adet MDR Enterobacterales ve 33 adet MDR P. aeruginosa olmak üzere 116 suş izole edildi. İzolatların 45'i (%38.7) seftazidim-avibaktama duyarlı bulundu. Seftazidim-avibaktam duyarlılığı Enterobacterales için %44.6 iken, P. aeruginosa suşlarında %24.2 olarak saptandı.

Sonuç olarak çalışmamızda, MDR Enterobacterales'te en etkili antibiyotik kolistin (p<0.001), ikinci seftazidim-avibaktam (p<0.001) oldu. MDR P. aeruginosa suşlarında da en etkili antibiyotik kolistin (p<0.001) olmakla birlikte; gentamisin, amikasin ve seftazidim-avibaktam duyarlılıklarının benzer olduğu görüldü (p<0.819). Yapılan çalışmalarda P. aeruginosa'nın seftazidim-avibaktama karşı direnç oranlarının diğer Gram-negatif patojenlere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Sonuçlarımız seftazidim-avibaktamın MDR-Enterobacterales ile gelişen enfeksiyonların tedavisi için bir alternatif olabileceğini; ancak, MDR-P. aeruginosa suşlarında duyarlılık test sonuçlarının önemli olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: çoklu ilaç direnci, Enterobacterales, P. aeruginosa, seftazidim-avibaktam

ABSTRACT

Investigation of Ceftazidime-Avibactam Susceptibility in Multidrug Resistant Gram Negative Bacteria

Multi-drug resistant (MDR) Gram-negative bacterial pathogens may cause infections with serious mortality and morbidity. Treatment options for infections caused by these isolates are limited. The aim of our study was to investigate the ceftazidime-avibactam susceptibility rate in MDR Gram negative bacteria isolated from various clinical samples.

Enterobacterales and Pseudomonas aeruginosa strains isolated from various clinical samples in Düzce University Medical Microbiology Laboratory between July 2018 and July 2022 were included in the study. In addition to classical methods, an automated system (VITEK 2 Compact /Phoenix) was used for species level identification and antimicrobial susceptibility testing. Ceftazidime-avibactam (10-4 µ) (Bioanalyse, Turkey) susceptibility was investigated by disc diffusion method in the MDR isolates.

A total of 116 strains, including 83 MDR Enterobacterales and 33 MDR-P. aeruginosa, were isolated from various clinical samples. Forty-five (38.7%) of the isolates were susceptible to ceftazidime-avibactam. Ceftazidime-avibactam susceptibility

İletişim adresi: Emel Akbaş, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DÜZCE

GSM: (0530) 581 18 91

e-posta: emel_kalkan@live.com

Received/Geliş: 19.10.2023 Accepted/Kabul: 13.12.2023 Published Online/Online Yayın: 31.12.2023

*XL. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derneği Kongre'sinde sunulmuştur. EP-037 (16-22 Kasım 2022, Antalya)

Atıf/Cite as: Akbaş E, Keskin BH, Kayman H, Yekenkurul D, Çalışkan E, Öksüz Ş, Şahin İ. Çok ilaca dirençli gram negatif bakterilerdeki seftazidim-avibaktam duyarlılığının araştırılması. ANKEM Derg. 2023;37(3):103-108.

was 44.6% for Enterobacterales and 24.2% for *P. aeruginosa* strains. In conclusion, the most effective antibiotic against MDR Enterobacterales was colistin ($p<0.001$) and, the second was ceftazidime-avibactam ($p<0.001$) in our study. Although the most effective antibiotic against MDR *P. aeruginosa* strains was also colistin ($p<0.001$); the susceptibilities to gentamicin, amikacin and ceftazidime-avibactam were similar ($p<0.819$). Studies have shown that resistance rates of *P. aeruginosa* to ceftazidime-avibactam were higher than other Gram negative pathogens. Our results indicate that ceftazidime-avibactam may be an alternative for the treatment of infections caused by MDR-Enterobacterales; However, they suggest that susceptibility test results are important for MDR-*P. aeruginosa* strains.

Keywords: ceftazidime-avibactam, Enterobacterales, multidrug resistance, *P. aeruginosa*

GİRİŞ

Çoklu ilaca dirençli Gram negatif bakterilerin (MDR-GNB) dünyada artan prevalansı önemli bir küresel halk sağlığı sorunudur⁽²¹⁾. Üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıftan en az bir ajana karşı in vitro direnç geliştiren mikroorganizmalar çoklu ilaca dirençli (MDR) organizmalar olarak adlandırılırlar⁽¹¹⁾. MDR-GNB patojenler ciddi mortalite ve morbidite ile seyreden enfeksiyonlara neden olurlar⁽²⁾. Tüm dünyada, yoğun bakım ünitelerinde tedavi seçeneklerinin sınırlı olduğu MDR-GNB enfeksiyonlarının oranında önemli bir artış olmuştur. Enterobacterales ve *Pseudomonas aeruginosa* hastane kaynaklı en yaygın ilaca dirençli GNB'lerdir⁽¹⁾.

İlaca dirençli GNB arttıkça antimikrobiyal tedavinin uygunluk olasılığı azalmaktadır. Birçok ilaca dirençli GNB enfeksiyonunu tedavi etmek için kullanılan son çare olan kolistine bile dirençli organizmalar bildirilmiştir⁽¹⁾. Antibiyotiklere dirençli ana mekanizmalarından biri, çok çeşitli β -laktam antibiyotiklere direnç kazandıran β -laktamaz üretimidir⁽¹⁵⁾. Genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten patojenlerin artması, tedavide karbapenemlerin daha fazla kullanılmasında ana etkindir. Karbapenem üreten patojenlerin ortaya çıkması ve yayılması, yeni antimikrobiyal ajanlara acil ihtiyacın varlığını göstermektedir⁽¹⁶⁾.

Karbapenem dirençli gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar için genellikle kolistin, aminoglikozitler, tigesiklin ve/veya fosfomisin kullanılır; ancak, bunların hasta üzerindeki yararı sınırlıdır ve toksik etkileri fazladır. Seftazidim-avibaktam (CAZ-AVI), komplike karın içi ve idrar yolu enfeksiyonu, hastane kökenli pnömoni ve sınırlı tedavi seçenekleri olan Gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisi için 2015 yılında "Food and Drug Administration" (FDA) tarafından onaylanan yeni bir β -laktam/ β -laktamaz inhibitörü kombinasyonudur⁽⁵⁾.

CAZ-AVI, üçüncü kuşak sefalosporin olan seftazidim ile β -laktam olmayan yeni β -laktamaz inhibitörü avibaktamın intravenöz olarak uygulanan bir kombinasyonudur. CAZ-AVI'nin GSBL'ler, KPC ve Ambler sınıf A ve C β -laktamazlara etkili olduğu, OXA-48 tipi Ambler sınıf D β -laktamazlara kısmen etkili olduğu ve Sınıf B β -laktamazlara (metallo- β -laktamazlar: NDM, VIM, IMP vb.) etkisiz olduğu bilinmektedir. Bu kombinasyonun klinik olarak yalnızca birkaç yıldır mevcut olmasına ve MDR-GNB'lerde kanıtlanmış etkinliğine rağmen CAZ-AVI'ye karşı direnç görülen vakalar da rapor edilmiştir. Bu durum MDR-GNB enfeksiyonları açısından endişe vericidir ve bununla ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır⁽²⁰⁾. Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen MDR-GNB suşlarında CAZ-AVI duyarlılık oranının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırma ve Uygulama Hastanesinde Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Temmuz 2018 - Temmuz 2022 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen çoklu ilaca dirençli Enterobacterales (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp.) ve *P. aeruginosa* izolatları dahil edildi.

Tür düzeyinde tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testleri için klasik yöntemlere ilave olarak VITEK2 (bio-Mérieux, Fransa) ile BD Phoenix™ (Becton Dickinson, Amerika Birleşik Devletleri) otomatize sistemleri kullanıldı. Bunların içinden MDR olduğu saptanan izolatlarda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CAZ-AVI (10-4 μ) (Bioanalyse, Türkiye) duyarlılığı bakıldı. Kolistin duyarlılığı "in house" sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile tespit edildi. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) tarafından önerilen sınır değerlere göre raporlandı⁽¹⁹⁾.

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 23.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Şikago, ABD) istatistik paket programı kullanıldı. Kategorik veriler frekans ve yüzde şeklinde özetlendi. Verilerin analizinde Ki-kare testi, Fisher's Exact ve Fisher Freeman Halton Testleri kullanıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 83'ü Enterobacterales (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *E. coli*) ve 33'ü *P. aeruginosa* olmak üzere 116 MDR izolatı çalışmaya dahil edildi.

Bu izolatların en fazla yoğun bakım ünitelerinden (%80.1) izole edildiği ve sıklıkla solunum örneklerinde (%66.3) saptandığı görüldü. CAZ-AVI duyarlı ve dirençli suşların ürettiği hastalar demografik özellikleri açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi.

Tablo 1. Seftazidim-avibaktam duyarlı ve dirençli suşların izole edildiği hastaların demografik verilere göre dağılımı.

	Seftazidim-avibaktam Duyarlı (n=45)		Seftazidim-avibaktam Dirençli (n=71)		p Değeri
	n	%	n	%	
Yaş Grubu					0.337
65 Yaş Altı	15	33.3	30	42.3	
65 Yaş Üstü	30	66.7	41	57.7	
Cinsiyet					0.433
Erkek	23	51.1	31	43.7	
Kadın	22	48.9	40	56.3	
Klinik					0.128
YBÜ	32	71.1	61	85.9	
Dahili Servis	9	20.0	6	8.5	
Cerrahi Servis	4	8.9	4	5.6	
Örnek Türü					0.220
Solunum yolu	30	66.7	47	66.2	
İdrar	7	15.6	8	11.3	
Kan-kateter	4	8.9	14	19.7	
Diğer	4	8.9	2	2.8	

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, Diğer: konjunktiva, yara, doku vs.

CAZ-AVI duyarlılığı araştırılan MDR suşlarının %71'i Enterobacterales ailesi üyesi iken, %28'i *P. aeruginosa* idi. MDR Enterobacterales içinde en sık gözlenen tür *K. pneumoniae* oldu. Çalışmaya alınan izolatların türlere göre dağılımı Tablo 2'de verildi.

Tablo 2. Çalışmaya alınan çok ilaca dirençli Gram negatif bakterilerde tür dağılımı.

Tür adı	Sayı (n)	%
Enterobacterales	83	71.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	68	81.9
<i>Enterobacter</i> spp.	13	15.7
<i>Escherichia coli</i>	1	1.2
<i>Proteus</i> spp.	1	1.2
<i>P. aeruginosa</i>	33	28.5
Toplam	116	100.0

Tüm izolatların 45'i (%38.7) CAZ-AVI duyarlı bulundu. CAZ-AVI duyarlılığı Enterobacterales türlerinde %44.6, *P. aeruginosa* suşlarında %24.2 olarak saptandı. İstatistiksel olarak Enterobacterales türlerinde CAZ-AVI duyarlılık oranının *P. aeruginosa* suşlarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p=0.043$) (Tablo 2).

Çalışmamızda, çoklu ilaca dirençli Enterobacterales türlerinde en etkili antibiyotik kolistin ($p<0.001$), ikincinin CAZ-AVI ($p<0.001$) olduğu tespit edilmiştir. Çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* suşlarında ise en etkili antibiyotik kolistin ($p<0.001$) olmakla birlikte, ikinci sırayı paylaşan gentamisin, amikasin ve CAZ-AVI duyarlılıklarının benzer olduğu görülmüştür ($p<0.819$) (Tablo 3).

Tablo 3. Enterobacterales takımı ve *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları.

Antibiyotik	Enterobacterales (n=83)		<i>P. aeruginosa</i> (n=33)		p değeri
	n	%	n	%	
Tigesiklin	24	28.9	-	-	
Amikasin	14	16.9	10	30.3	0.107
Gentamisin	10	12.0	10	30.3	0.019
Kolistin	74	89.2	33	100.0	0.059
Seftazidim/Avibaktam	37	44.6	8	24.2	0.043
Ertapenem	0	0	0	0	
Meropenem	0	0	0	0	
İmipenem	0	0	0	0	

-: değerlendirilmedi

TARTIŞMA

Enterobacterales ve *P. aeruginosa* hastanede yatan hastalarda enfeksiyonun başlıca nedenleridir ve bu organizmalar arasındaki antimikrobiyal direnç oranları son yirmi yılda sürekli olarak artmaktadır⁽¹³⁾. Bu organizmalar arasında çoklu antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gelişimi, bu etkenlere bağlı enfeksiyonların tedavi seçeneklerinin kısıtlanması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir⁽¹⁸⁾.

Amerika Birleşik Devletleri'nde toplam 84 Tıp Merkezi'nden yapılan bir araştırmada MDR izolatlarının pnömonili (%12.2) hastalarda diğer enfeksiyon türlerine göre belirgin şekilde yüksek olduğu görülmüştür⁽¹⁴⁾. Stone ve ark.'nın⁽¹⁷⁾ yaptığı çok merkezli bir çalışmada izolatların en yaygın solunum (%42.3) örneklerinden kaynaklandığı saptanmıştır. Zou ve ark.'nın⁽²¹⁾ MDR-GNB izolatlarında yaptıkları bir çalışmada %74.2'si yoğun bakım dışı servislerden, %65'inin erkek hastalardan, %34.2'sinin solunum yolu örneklerinden tespit edildiği gösterilmiştir. Kiratisin ve ark.'nın⁽⁹⁾ yaptıkları çalışmada Enterobacterales ve *P. aeruginosa* için dirençli izolatların yaklaşık üçte biri yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan izole edildiği ve izolatların %60'ı erkek hasta olduğu ve her iki tür için de izolatların en yaygın kültür kaynağı alt solunum yolu olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda MDR-GNB izolatlarının en fazla yoğun bakım ünitelerinden ve en çok solunum yolu örneklerinden izole edildiği saptanmıştır. Literatürle kıyasladığımızda verilerimizin benzer olduğu görülmüştür.

Kempf ve ark.'nın⁽⁷⁾ yaptıkları bir çalışmada MDR *Enterobacter* spp. izolatlarında CAZ-AVI duyarlılığı %93.9 olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada kolistin ve amikasin duyarlılığı sırasıyla %81.4 ve %96.6 bulunmuştur. Sader ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ yaptığı çok merkezli bir çalışmada MDR Enterobacterales için en yüksek duyarlılık CAZ-AVI'ye karşı %97.6 olarak bildirilmiştir. Yine bu çalışmada MDR izolatlarında kolistin duyarlılığı %61.6 olduğu gösterilmiştir. Kim ve ark.'nın⁽⁸⁾ MDR Enterobacterales izolatlarında yaptıkları çalışmada CAZ-AVI, kolistin ve tigesikline duyarlılık yüzdesi %73, %86 ve %25 olarak bildirilmiştir. Zou ve ark.'nın⁽²¹⁾ Güney Batı Çin'de yaptıkları araştırmada MDR Enterobacterales izolatlarının %75'i CAZ-AVI duyarlı olarak tespit edilmiştir. Karlowky ve ark.'nın⁽⁴⁾ 85 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatının %51.8'inin CAZ-AVI dirençli olduğunu belirtmiştir. Kaya ve ark.'nın⁽⁶⁾ ülkemizde yaptığı bir çalışmada dirençli *K. pneumoniae* izolatlarına karşı CAZ-AVI ve kolistin duyarlılık oranları sırasıyla %92.7 ve %48 bulunmuştur. Kara ve ark.'nın⁽¹²⁾ yine ülkemizde dirençli Enterobacterales izolatlarında ile yaptığı bir çalışmada *K. pneumoniae* suşlarının %52'sinin CAZ-AVI duyarlı olduğu, %57'sinin kolistin duyarlı olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda MDR Enterobacterales izolatlarında duyarlılık CAZ-AVI'ye %44.6, kolistine %89.2, amikasine %16.9 ve tigesikline %28.9 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada CAZ-AVI duyarlılığı literatüre göre daha düşük saptanmış olup kolistin duyarlılığının ise literatürle benzer olduğu görülmüştür. CAZ-AVI duyarlılığının diğer çalışmalardan daha düşük oranda tespit edilmiş olması, hastanemizde saptadığımız dirençli suşların direnç genleriyle ilgili olabileceği gibi yakın dönemde bu antibiyotiğe karşı direncin artış gösterebileceğini de düşündürmüştür.

Özger ve ark.'nın⁽¹³⁾ 318 dirençli Enterobacterales izolatını dahil ettikleri çalışmada tür düzeyinde bakıldığında izolatların %91.2'sinin *K. pneumoniae* olduğunu göstermişlerdir. Zou ve ark.'nın⁽²¹⁾ dirençli 120 Enterobacterales izolatı ile yaptıkları çalışmada %76.7'sinin *K. pneumoniae*, %8.3'inin *E. coli* ve %8.3'inin *E. cloacae* olduğunu rapor etmişlerdir. Kim ve ark.'nın⁽⁸⁾ 81 MDR Enterobacterales izolatı ile yaptığı çalışmada

%69'unun *K. pneumoniae*, %31'inin *E. coli* olduğunu göstermişlerdir. Verilerimize baktığımızda MDR Enterobacterales'ler içinde *K. pneumoniae* %81.9 oranıyla en fazla görülen tür olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünyada ve ülkemizden yapılan çalışmalar ile kıyaslandığında bu oranın benzer olduğu görülmüştür.

P. aeruginosa'nın neden olduğu enfeksiyonların uygun şekilde yönetilmesi için bu izolatların dağılım ve direnç modellerinin izlenmesinin sürdürülmesi önemlidir. Kiratisin ve ark.'ları⁽¹⁰⁾ *P. aeruginosa* izolatlarında yaptıkları çalışmada MDR suşlarında CAZ-AVI duyarlılığının %59.6 olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada MDR *P. aeruginosa* izolatlarında kolistin (%98.3) en duyarlı antibiyotik olduğu ve amikasin duyarlılığının %60.1 olduğu gösterilmiştir. Stone ve ark.'nın⁽¹⁷⁾ 2012-2016 yılları arasında yaptığı bir çalışmada MDR-*P. aeruginosa* izolatlarının CAZ-AVI'ye duyarlılığının %68.2, kolistin ve amikasin duyarlılığının sırasıyla %95.2 ve %54.4 olduğunu saptamışlardır. Kempf ve ark.⁽⁷⁾ yaptıkları bir çalışmada MDR *P. aeruginosa*'nın %77.2'sinin CAZ-AVI'ye karşı duyarlı olduğunu ve kolistin duyarlılığının %97.2 olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda bu çalışmada MDR izolatlarının CAZ-AVI'ye duyarlılığının zamanla azaldığı gösterilmiştir. Hoşbul ve ark.'nın⁽³⁾ ülkemizden yaptıkları bir çalışmada dirençli *P. aeruginosa* izolatlarında CAZ-AVI ve kolistin duyarlılık oranlarını sırasıyla %90 ve %100 olarak göstermişlerdir. Çalışmamızda *P. aeruginosa*'nın CAZ-AVI duyarlılığı %24.2, kolistin duyarlılığı %100 olarak saptanmıştır. Literatür ile karşılaştığımızda bu çalışmada *P. aeruginosa* suşlarında CAZ-AVI duyarlılığının daha düşük, kolistin duyarlılığının ise benzer olduğu görülmüştür.

Çalışmaya aldığımız izolatlar fenotipik olarak üç sınıf antibiyotiğe dirençli MDR izolatlar olarak belirlenmiş; ancak, karbapenemaz üretimi araştırılmamıştır. CAZ-AVI'nin OXA-48 tipi Ambler sınıf D β-laktamazlara kısmen etkili olduğu ve Sınıf B β-laktamazlara etkisiz olduğu bilinmektedir. Bunlar göz önüne alındığında, çalışmamızda duyarlılık oranlarının literatüre göre daha düşük olmasının çalışmamızdaki izolatlarda CAZ-AVI etkinliğinin düşük olduğu β-laktamazların daha yüksek oranda bulunmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. İzolatlardaki direnç mekanizmalarının genetik olarak araştırılmamış olması çalışmamızın kısıtlı yönüdür.

Son yıllardaki epidemiyolojik çalışmalar, MDR izolatlar da dahil olmak üzere antimikrobiyal direnç artma eğilimini göstermektedir. Çalışmamızda, MDR Enterobacterales izolatlarında en etkili antibiyotikler sırasıyla kolistin ve CAZ-AVI olarak bulunmuştur. MDR *P. aeruginosa* suşlarında ise en etkili antibiyotik kolistin olmakla birlikte; gentamisin, amikasin ve CAZ-AVI duyarlılıklarının benzer olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda *P. aeruginosa*'nın CAZ-AVI direnç oranlarının diğer Gram-negatif patojenlere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Sonuçlarımız da CAZ-AVI'nin MDR-Enterobacterales tedavisi için bir alternatif olabileceğini, ancak MDR-*P. aeruginosa* suşlarında duyarlılık testi sonuçlarına göre tedavinin planlanması gereksinimini göstermektedir.

Etik Kurul Onayı: Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 25/04/2022 tarih ve 2022/81 karar numarası ile alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: It was obtained from Düzce University Faculty of Medicine, Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee with the decision number 2022/81 dated 25/04/2022.

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

Financial support: No financial support was received for the project.

KAYNAKLAR

1. Al-Kofide H, Alhammad A, Alruwaili A, et al. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Enterobacteriaceae: Prevalence, treatments, and outcomes – a retrospective cohort study. *Infect Drug Resist.* 2020;13:4653-62.
2. Bassetti M, Peghin M, Pecori D. The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Infect Dis.* 2016;29(6) 583-594.
3. Hoşbul T, Aydoğan C, Kaya S, et al. Ceftazidime-avibactam ve colistin'in karbapeneme dirençli *Pseudomonas aeruginosa* klinik izolatlarına karşı in vitro aktivitesi. *J Ist Fac Med.* 2022;85(3):355-61.

4. Karlowsky JA, Kazmierczak KM, Bouchillon SK, de Jonge BLM, Stone GG, Sahn 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): e02569-17.
5. Katchanov J, Asar L, Klupp E-M, et al. Carbapenem-resistant Gram-negative pathogens in a German university medical center: Prevalence, clinical implications and the role of novel β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *PLoS One*. 2018;13(4):e0195757.
6. Kaya S, Hoşbul T, Albay A, Gümral R, Aydoğan C, Bedir O. Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatlarına karşı seftazidim-avibaktam ve kolistin in vitro etkinliği. *Mikrobiyol Bul*. 2022;56(2):218-29.
7. Kempf M, Arhin FF, Stone G, Utt E. Ceftazidime-avibactam activity against Gram-negative respiratory isolates collected between 2018 and 2019. *J Glob Antimicrob Resist*. 2022;31:239-47.
8. Kim T, Lee SC, Bae M, et al. In vitro activities and inoculum effects of ceftazidime-avibactam and aztreonam-avibactam against carbapenem-resistant Enterobacterales isolates from South Korea. 2020;9(12):912.
9. Kiratisin P, Kazmierczak K, Stone GG. In vitro activity of ceftazidime/avibactam and comparators against carbapenemase-producing Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* isolates collected globally between 2016 and 2018. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021;27:132-41.
10. Kiratisin P, Kempf M, Stone G, Utt E. Ceftazidime-avibactam and comparators against *Pseudomonas aeruginosa* isolates collected globally and in each geographical region between 2017–2020. *J Glob Antimicrob Resist*. 2023;34:113-8.
11. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(3):268-81.
12. Mataraci Kara E, Yılmaz M, Istanbulu Tosun A, Özbek Çelik B. Evaluation of the synergy of ceftazidime/avibactam in combination with colistin, doripenem, levofloxacin, tigecycline, and tobramycin against OXA-48 producing Enterobacterales. *J Chemother*. 2020;32(4):171-8.
13. Ozger HS, Evren E, Yıldız SS, et al. Ceftazidime - Avibactam susceptibility among carbapenem-resistant Enterobacterales in a pilot study in Turkey. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2021;68(4):256-261.
14. Sader HS, Castanheira M, Duncan LR, Flamm RK. Antimicrobial Susceptibility of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from United States Medical Centers Stratified by Infection Type: Results from the International Network for Optimal Resistance Monitoring (INFORM) Surveillance Program, 2015–2016. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018;92(1):69-74.
15. Sharma R, Park TE, Moy S. Ceftazidime-Avibactam: A Novel Cephalosporin/ β -Lactamase Inhibitor Combination for the Treatment of Resistant Gram-negative Organisms. *Clin Ther*. 2016;38(3):431-44.
16. Shirley M. Ceftazidime-Avibactam: A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs*. 2018;78(6):675-92.
17. Stone GG, Smayevsky J, Kazmierczak K. Longitudinal analysis of the in vitro activity of ceftazidime-avibactam vs. *Pseudomonas aeruginosa*, 2012–2016. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;96(1):114835.
18. Tängdén T, Giske CG. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. *J Intern Med*. 2015;277(5):501-12.
19. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>.
20. Wang Y, Wang J, Wang R, Cai Y. Resistance to ceftazidime-avibactam and underlying mechanisms. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;22:18-27.
21. Zou C, Wei J, Shan B, Chen X, Wang D, Niu S. In vitro activity of ceftazidime-avibactam and aztreonam-avibactam against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates collected from three secondary hospitals in Southwest China between 2018 and 2019. *Infect Drug Resist*. 2020;1(13):3563–8.

BİLİMSEL HAKEMLERE TEŞEKKÜR

ANKEM Dergisinin 37.cildindeki (2023) makaleleri bilimsel hakem olarak inceleyen, zaman ve emek harcayarak ANKEM Dergisinin kalitesinin artmasına yardımcı olan adları aşağıda belirtilen değerli meslektaşlarımıza sonsuz teşekkürlerimizi sunarız.

ANKEM Dergisi Editörleri
Dolunay GÜLMEZ KIVANÇ
Sebahat AKSARAY
Selda HANÇERLİ TÖRÜN
Tutku SOYER
Esra KAZAK

Ziya Cibali AÇIKGÖZ
Halis AKALIN
Hikmet Eda ALIŞKAN
Alpaslan ALP
Nurten ALTANLAR
Çiğdem ARABACI
Ali ASAN
Gönül ASLAN
Şöhret AYDEMİR
Irmak BARAN
Ayşe BARIŞ
Gülçin BAYRAMOĞLU
Celal Kurtuluş BURUK
Emel ÇALIŞKAN
Elif DOYUK KARTAL
Alper ERGİN
Koray ERGÜNAY

Özgen ESER
Ebru EVREN
Nezahat GÜRLER
Özlem GÜZEL TUNÇCAN
Gülşen HASÇELİK
Yasemin HEPER
Tuğrul HOŞBUL
Ayşe KALKANCI
Nilgün KANSAK
Zehra KARACAER
Didem KART
Esra KAZAK
Tuğba KULA ATİK
Fikriye MİLLETLİ SEZGİN
Çağatay NUHOĞLU
Uğur ÖNAL

Osman Birol ÖZGÜMÜŞ
Cumhur ÖZKUYUMCU
Derya ÖZTÜRK ENGİN
Duygu PERÇİN
Oğuz Reşat SİPAHİ
Burçin ŞENER
Hülya ŞİMŞEK
Sevgen TANIR BAŞARANOĞLU
Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI
Fatih TEMOÇİN
Ahmet Deniz UÇAR
Ali UZUNKÖY
Gülgün YENİŞEHİRLİ
Yakup YILDIRIM
Zerrin YULUĞKURAL
Yasemin ZER

ANKEM Dergisi Cilt 37 (2023)**KONU İNDEKSİ**

İndeks yazarların verdiği anahtar sözcüklere göre hazırlanmış ve makalenin ilk sayfa numarası ile gösterilmiştir.
Sayı 1:1-37, Sayı 2:38-67, Sayı 3:68-108

Ampirik tedavi	18	Ljungan virus	68
Antibiyotik direnci	18		
Antimikrobiyal direnç	49, 74	Metisilin direnci	28
Anti-TB ilaç	74	Mycobacterium tuberculosis	82
Apodemus	68	Myodes	68
AYC.2.2 agar	82		
		NLR	1
Besiyeri	82		
Birinci seçenek anti-tüberküloz ilaçlar	82	Onkoloji	38
Cerrahi alan enfeksiyonu	96	P. aeruginosa	103
COVID-19	1, 7, 33	PLR	1
		Pnömonöksüüri	65
ÇİD-TB	82	Pseudomonas spp.	38
Çocuk	38		
Çoklu dirençli bakteriler	96	Rifampisin	74
Çoklu ilaç direnci	103		
		Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyon	49
Dirençli bakteri kolonizasyonu taraması	96	SARS-COV-2	1
d-NLR	1	Seftazidim-avibactam	57
		Seftazidim-avibaktam	103
El hijyeni	7	Staphylococcus aureus	28
El yıkama	7	StaResMet	28
Enterobacterales	103	Steroid	33
		Streptococcus pneumoniae	65
Femur başı avasküler nekrozu	33		
		Tıp öğrencisi	7
Hastane enfeksiyonu	49	Tüberküloz	74
Hematoloji	38	Türkiye	68
İdrar	18	Üriner sistem enfeksiyonları	18
İdrar yolu enfeksiyonu	65		
İlaç duyarlılık testi	82	Ventilatör ilişkili pnömoni	57
İntegron sınıf 1	89		
İntegron sınıf 2	89	Yan etki	33
İntegron sınıf 3	89	Yoğun bakım ünitesi	49
İzoniazid	74		
Karbapenem dirençli K. pneumoniae	57		
Karbapenem dirençli P. aeruginosa	57		
Karbapenemaz üreten Gram negatif bakteri	96		
Klebsiella pneumoniae	89		
Kolorimetrik yöntem	28		

ANKEM Dergisi Cilt 37 (2023)**YAZARLAR İNDEKSİ**

Sayı 1:1-37, Sayı 2:38-67, Sayı 3:68-108

ADALETİ	Rıza	57	KOÇOĞLU	M. Esra	18
AKASLAN KARA	Aybüke	38	KOSTAKOĞLU	Uğur	49
AKBAŞ	Emel	103	KUNTAY	Mehtap	49
AKSARAY	Sebahat	57			
ALICI	Ayşe	65	MATUR	Ferhat	68
ARICI	Neslihan	57			
ARSLAN	Eyüp	1	OTLU	Barış	74
AYDIN	Gülden	18	OYMAK	Yeşim	38
AYHAN	Fahri Yüce	38			
			ÖKSÜZ	Şükrü	103
BAYRAM	Nuri	38	ÖKTEM	Mehmet Ali	68
BEKÇİBAŞI	Muhammed	1	ÖNDER	Neslihan	18
BİÇER	R. Tuba	18	ÖNDER	Ömer Faruk	1
			ÖNER	Sedef Zeliha	89
ÇALIŞKAN	Ahmet	89	ÖZDAMAR	Melda	96
ÇALIŞKAN	Emel	103	ÖZDEMİR	Rumeysa	57
ÇINAR TANRIVERDİ	Esra	7	ÖZEKİNCİ	Tuncer	18
ÇOBAN	Ahmet Yılmaz	82	ÖZMEN	Merve	18
			POLAT	Alper	74
DEMİR	Melek	89	POLAT	Ceylan	68
DEMİRAĞ	Bengü	38			
DEVRİM	İlker	38	RAŞA	Hüseyin Kemal	96
ERDEM	Hüseyin Aytaç	33	SABAH	Dündar	33
ERDİN	Mert	68	SALCAN	Sara	7
ERGON	Mahmut Cem	68	SALEHİ MOHARER	Pooya	82
ERTÜRK	Ayşe	49	SÖZEN	Mustafa	68
GENÇ	Nilay	89	ŞAHİN	İdris	103
GÜNBEY	Fatma	65	ŞAHİNOĞLU ATMACA	Fatma	49
GÜNER ÖZENEN	Gizem	38	ŞENBAYRAK	Seniha	57
GÜNKAN	Tuğçe	68	ŞENOL	Hande	89
HAKKO	Elif	96	TEKEREKOĞLU	Mehmet Sait	74
IŞIKGÖZ TAŞBAKAN	Meltem	33	YAKUPOĞULLARI	Yusuf	74
			YAMAZHAN	Tansu	33
İLGAR	Tuba	49	YEKENKURUL	Dilek	103
İLHAN	Sümeyye	57	YILDIRIM	Kübra	28, 82
			YILDIZ	İlknur Esen	49
KALELİ	İlknur	89	YILMAZ	Zehra	49
KALYONCU	Betül Naz	18	YILMAZ ÇELEBİ	Miray	38
KANSAK	Nilgün	57			
KARAKAYA	Nurgül	38			
KARAMAN	İpek Değer	96			
KARAPINAR	Tuba Hilkey	38			
KAYA	Arda	33			
KAYMAN	Hande	103			
KESKİN	Banu Hümevra	103			