

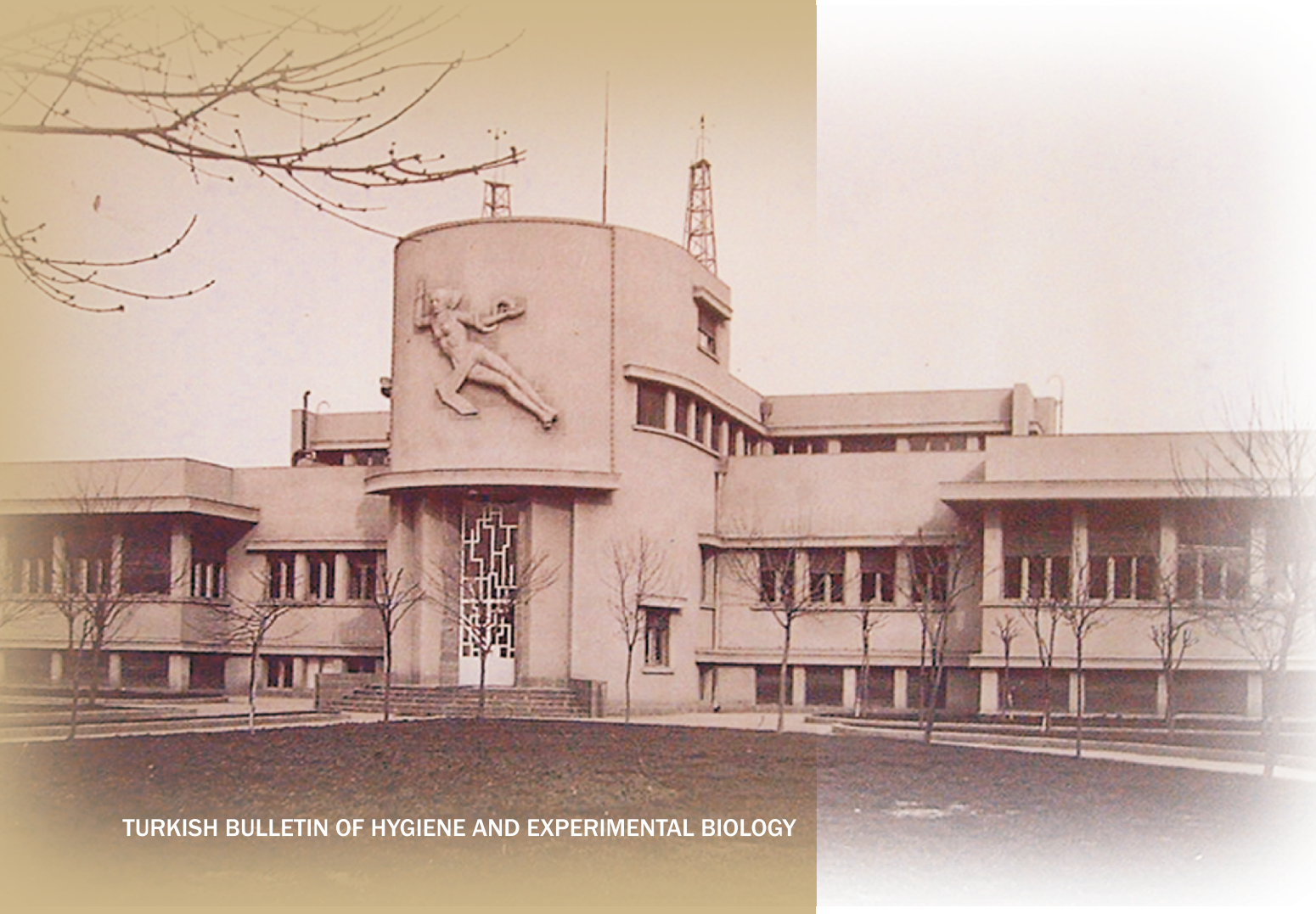


T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 71 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2014





T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

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

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)

ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 71 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2014

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg



TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu adına
On behalf Public Health Institution of Turkey

Seçil ÖZKAN, Başkan (President)

İDARİ KURUL / ADMINISTRATIVE BOARD

Hasan IRMAK
Bekir KESKİNKILIÇ
Seher MUSAONBAŞIOĞLU
Alev YÜCEL
Zeki KORKUTATA

EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Yavuz UYAR
Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN
Demet CANSARAN-DUMAN
Nurhan ALBAYRAK
Pınar KAYNAR

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Fatih BAKIR
Mestan EMEK
Selin NAR-ÖTGÜN
Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK
Mehmet Kürşat DERİCİ
Meryem JEFFERIES
Özcan ÖZKAN
Şule ŞENSES-ERGÜL
Arşun ESMER
Sibel KARACA

TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Ahmet Murad BAYRAM
Murat DUMAN
Zeynep KÖSEOĞLU
Selahattin TAŞOĞLU

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY
ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayınlanır / Published four times per year
Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

Tasarım - Dizgi / Design - Editing :

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu / Public Health Institution of Turkey
Destek Hizmetleri / Supportive Services
Satınalma ve İdari İşler Daire Başkanlığı /
Purchasing and Administrative Affairs Department

Baskı ve Cilt / Press and Binding :

Anıl Reklam Matbaacılık
Özveren Sokak 13-A Kızılay -ANKARA
Tel: +90 312 229 37 41
e-posta: anilgroupkoza@hotmail.com

Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

Basım Tarihi / Date of Publication :

2014

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, Sweden

Anna PAPA, Greece

Aziz SANCAR, USA

Cristina DOMINGO, Germany

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, USA

Isme HUMOLLI, Kosovo

Isuf DEDUSHAJ, Kosovo

Iva CHRISTOVA, Bulgaria

Johan LINDH, Sweden

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Israel

Manfred WEIDMANN, U.Kingdom

Paul HEYMAN, Belgium

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Cuba

Sıraç DİLBER, Sweden

Susana RODRIGUEZ-COUTO, Spain

Takashi AKAMATSU, Japan

Varalakshmi ELANGO, India

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Arsun ESMER, Ankara

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Ayhan FİLAZİ, Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, Ankara

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Duygu TUNCER, Ankara

Dürdal US, Ankara

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fatih KÖKSAL, Adana

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

- Gülnur TARHAN, Adıyaman
Hakan ABACIOĞLU, İzmir
Hakan LEBLEBİCİOĞLU, Samsun
Haluk VAHABOĞLU, İstanbul
Hasan TEZER, Ankara
Hilal ÖZDAĞ, Ankara
Hürrem BODUR, Ankara
Işıl MARAL, İstanbul
İ.Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir
İrfan EROL, Ankara
İrfan ŞENCAN, Ankara
İsmail CEYHAN, Ankara
Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara
Koray ERGÜNAY, Ankara
Levent AKIN, Ankara
Mahinur AKKAYA, Ankara
Mehmet Ali ONUR, Ankara
Mehmet Kürşat DERİCİ, Ankara
Meryem JEFFERIES, Ankara
Mestan EMEK, İzmir
Metin KORKMAZ, İzmir
Mithat ŞAHİN, Kars
Muhsin AKBABA, Adana
Murat DİZBAY, Ankara
Murat GÜNAYDIN, İstanbul
Murat HÖKELEK, İstanbul
Mustafa KAVUTÇU, Ankara
Mutlu ÇELİK, Kocaeli
Mükerrem KAYA, Erzurum
Nazmi ÖZER, Ankara
Nilay ÇÖPLÜ, Ankara
Nur AKSAKAL, Ankara
Nur Münevver PINAR, Ankara
Nuran ESEN, İzmir
Nurhan ALBAYRAK, Ankara
Nuri KIRAZ, İstanbul
Oğuz GÜRSOY, Denizli
Orhan BAYLAN, İstanbul
Orhan YILMAZ, Ankara
Ömer Faruk TEKBAŞ, Ankara
Özcan ÖZKAN, Ankara
Özlem KURT AZAP, Ankara
Pinar KAYNAR, Ankara
Pinar OKYAY, Aydın
Rahmet GÜNER, Ankara
Recep AKDUR, Ankara
Recep KEŞLİ, Afyon
Recep ÖZTÜRK, İstanbul
Rıza DURMAZ, Ankara
S. Aykut AYTAÇ, Ankara
Sami AYDOĞAN, Kayseri
Seçil ÖZKAN, Ankara
Seda KARASU YALÇIN, Bolu
Seda TEZCAN, Mersin
Selçuk KAYA, Trabzon
Selçuk KILIÇ, Ankara
Selim KILIÇ, Ankara
Selin NAR ÖTGÜN, Ankara
Sema BURGAZ, Ankara
Sercan ULUSOY, İzmir
Sibel KARACA, Ankara
Sultan ESER, İzmir
Suzan ÖZTÜRK YILMAZ, Sakarya
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa
Sümer ARAS, Ankara
Şule SENSES ERGÜL, Ankara
Tevfik PINAR, Kırıkkale
Yavuz UYAR, İstanbul
Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN, Ankara
Yeşim ÖZBAŞ, Ankara
Yeşim TUNÇOK, İzmir
Zafer ECEVİT, Ankara
Zafer KARAER, Ankara
Zati VATANSEVER, Kars
Zehranur YÜKSEKDAĞ, Ankara
Zeynep GÜLAY, İzmir

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

2014 YILI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU EK ÜYELERİ / ADDITIONAL MEMBERS OF SCIENTIFIC ADVISORY BOARD IN 2014

A. Kadir HALKMAN, Ankara

Adem GÜL, Samsun

Alper AKSÖZEK, Muğla

Altan AKSOY, Ankara

Aynur KARADENİZLİ, Kocaeli

Doruk ENGİN, Ankara

Ece YAZLA, Ankara

Emrah RUH, Lefkoşe

Ertuğrul CAN, Samsun

Hafize UZUN, İstanbul

Hatice MERGEN, Ankara

Hüseyin Tuğrul ÇELİK, Ankara

Hüsnüye ŞİMŞEK, Ankara

Kadir Okhan AKIN, Ankara

Mehmet BİNGÖL, Ankara

Mehmet HALIGÜR, Burdur

Nazime MERCAN DOĞAN, Denizli

Nefise AKÇELİK, Ankara

Osman AYKUT, Ankara

Osman MEMİKOĞLU, Ankara

Özlem GENÇ, Kütahya

Salih KUK, Elazığ

Seher TOPLUOĞLU, Ankara

Selma USLUCA, Ankara

Semra Ayşe GÜRESER, Çorum

Serap SÜZÜK, Ankara

Süleyman YAZAR, Kayseri

Tayyar ŞAŞMAZ, Mersin

Tülay YALÇINKAYA, Ankara

Umut BERBEROĞLU, Ankara

Yunus Emre BEYHAN, Ankara

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

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

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

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

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

a. Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.

b. Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. Araştırma yazıları;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 54 55

e-posta : turkhijyen@thsk.gov.tr

WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. Research Articles;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Research articles should have up to 40 references.

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

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

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

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

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Public Health Institution of Turkey

Tel : +90 312 565 55 79

Fax : +90 312 565 54 55

e-mail : turkhijyen@thsk.gov.tr

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

YAYIN İLKELERİ

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

YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

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

EDITORIAL POLICY

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

CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

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

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne
www.turkhijyen.org adresinden online olarak makale gönderilebilir.

Submissions can be made online at the address www.turkhijyen.org
to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.



DOAJ DIRECTORY OF
OPEN ACCESS
JOURNALS



INDEX COPERNICUS
INTERNATIONAL



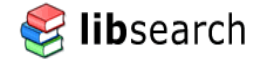
SCIRUS
for scientific information only

Academic Journals Database
disseminating
quality controlled scientific knowledge



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

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



İLETİŞİM

CORRESPONDENCE

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

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

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. Nu: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye/ANKARA

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 54 55

e-posta: turkhijyen@thsk.gov.tr

[http: www.thsk.gov.tr](http://www.thsk.gov.tr)

www.turkhijyen.org

■ Araştırma Makalesi

1. Gastrointestinal şikayeti olan hastalarda *Blastocystis* sp. enfeksiyonu: bir Küba araştırması

Roberto CAÑETE, Pablo Rodríguez JIMÉNEZ, Kokou M. SOUNOUVE, Katia BRİTO, Ronaldo VALDÉS, María E. GONZALEZ

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.38980 (Dili: "İngilizce")

165 - 170



2. Kutanöz leishmaniasis ve Hatay İlindeki durumu

Gülnaz ÇULHA, Çiğdem Asena DOĞRAMACI, Burcu GÜLKAN, Nazan SAVAŞ

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.09815 (Dili: "Türkçe")

171 - 178



3. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı akut alevlenmesi olan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci

Nagihan DEMİR, Yelda YAZICI, Halit ÇINARKA, Hülya YILMAZ, Canan ŞENGÜL, Mesiha BABALIK

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.16768 (Dili: "Türkçe")

179 - 186



4. *Chlorella vulgaris*'in biyoflokülanlarla sıvı ortamlardan ayrılması

Gizem GÜNAY, Aynur Gül KARAHAN, Mehmet Lütfü ÇAKMAKÇI

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.47568 (Dili: "Türkçe")

187 - 200



■ Olgu Sunumu

5. Anaerop bakterilerin neden olduğu toplum kaynaklı plevrapulmoner enfeksiyona bağlı gelişen ölümcül sepsis vakası

Gülhan YAĞMUR, Hüsrev DEMİREL, Muhammed Feyzi ŞAHİN, Arzu AKÇAY, Sermet KOÇ

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.56887 (Dili: "Türkçe")

201 - 206



■ Derleme

6. Tüberküloz tedavisinde yeni ilaç adayları

Begüm EVRANOS-AKSÖZ

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.35492 (Dili: "Türkçe")

207 - 220



7. Halk sağlığı problemi olan talasemilerde laboratuvar

Çiğdem SÖNMEZ, Ayşegül ÖZTÜRK-KAYMAK, Gülcan GÜNTAŞ





Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.26918 (Dili: "Türkçe")

221 - 228




CONTENTS



Original Article

- 1. *Blastocystis* sp. infection in patients with gastrointestinal complaints: a Cuban study** 165 - 170
Roberto CAÑETE, Pablo Rodríguez JIMÉNEZ, Kokou M. SOUNOUVE, Katia BRITO, Ronaldo VALDÉS, María E. GONZÁLEZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.38980 (Language: "English")

- 2. Cutaneous leishmaniasis and its status in Hatay province, Turkey** 171 - 178
Gülnaz ÇULHA, Çiğdem Asena DOĞRAMACI, Burcu GÜLKAN, Nazan SAVAŞ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.09815 (Language: "Turkish")

- 3. Antibiotic resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease** 179 - 186
Nagihan DEMİR, Yelda YAZICI, Halit ÇINARKA, Hülya YILMAZ, Canan ŞENGÜL, Mesiha BABALIK
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.16768 (Language: "Turkish")

- 4. Separation of *Chlorella vulgaris* from liquid phase using bioflocculants** 187 - 200
Gizem GÜNAY, Aynur Gül KARAHAN, Mehmet Lütfü ÇAKMAKÇI
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.47568 (Language: "Turkish")


Case Report

- 5. A case of community-acquired pleuropulmonary infection and fatal septicemia caused by anaerobic bacteria** 201 - 206
Gülhan YAĞMUR, Hüsrev DEMİREL, Muhammed Feyzi ŞAHİN, Arzu AKÇAY, Sermet KOÇ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.56887 (Language: "Turkish")


Review

- 6. New drug candidates in tuberculosis treatment** 207 - 220
Begüm EVRANOS-AKSÖZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.35492 (Language: "Turkish")

- 7. Laboratory on thalassemia which is a public health problem** 221 - 228
Çiğdem SÖNMEZ, Ayşegül ÖZTÜRK-KAYMAK, Gülcan GÜNTAŞ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.26918 (Language: "Turkish")


Blastocystis sp. infection in patients with gastrointestinal complaints: a Cuban study

Gastrointestinal şikayeti olan hastalarda *Blastocystis* sp. enfeksiyonu: bir Küba araştırması

Roberto CAÑETE^{1,2}, Pablo Rodríguez JIMÉNEZ¹, Kokou M. SOUNOUVE¹,
Katia BRITO³, Ronaldo VALDÉS⁴, María E. GONZÁLEZ²

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; yetişkinlerdeki gastrointestinal sistem şikayetleri ile *Blastocystis* varlığı arasındaki ilişkinin tanımlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Ocak-Aralık 2011 tarihleri arasında Küba, Matanzas Şehri'nde bulunan Hijyen, Epidemiyoloji ve Mikrobiyoloji Merkezi'nde tanımlayıcı bir çalışma yürütülmüştür. Toplam 749 erişkin (20-69 yaşları arasında, ortalama yaş 38) bu çalışmaya dahil edilmiştir. Patojenik bakteri, parazit açısından pozitif dışkı sonucu olanlar ve rotavirus sonucu pozitif olanlar bu çalışma dışında bırakılmıştır. Sonuç olarak 240 erişkin çalışma koşullarını karşılamıştır: 128 (%53,3) erkek, 112 (%46,7) kadın ve olguların yaş ortalaması 40 idi. Karşılaştırmayı kolaylaştırmak için grup ikiye bölünmüştür: Gastrointestinal şikayetleri olan 110 erişkinden oluşan birinci grup ve şikayetleri olmayan 130 erişkinden oluşan ikinci grup. Her iki grupta da cinsiyet dağılımı homojen olmuştur. *Blastocystis* sp. varlığını tanımlamak için taze dışkı örnekleri nativ yöntemiyle direkt olarak incelenmiştir. Formalin-eter (Ritchie) yöntemi intestinal parazitlerin yanlış tanısından kaçınmak amacıyla kullanılmıştır. Her iki yöntemde de taze dışkı örnekleri ışık mikroskobu ile incelenmiştir.

Bulgular: Semptomatik grupta yer alan 49 hastada (%44,5) ve asemptomatik grupta yer alan 28 (%22,4)

ABSTRACT

Objective: This study is aimed to determine the association between the presence of *Blastocystis* sp. and gastrointestinal complaints in adults.

Method: A descriptive study was carried out from January to December 2011 at the Centre of Hygiene, Epidemiology and Microbiology in Matanzas City, Cuba. A total of 749 adults (aged from 20 to 69 years old, mean age 38) had the opportunity to be included. Patients who had positive stool results for pathogenic bacteria, parasites and those with positive result to rotavirus were excluded from the study. A total of 240 adults were finally included, 128 (53.3%) male and 112 (46.67%) female with a mean age of 40 years old. To facilitate the comparison patients were divided into two groups: 110 adults with gastrointestinal complains and a second group of 130 adults without gastrointestinal disturbances. Sex distribution was homogenous in both groups. The fresh fecal samples were examined to determine the presence of *Blastocystis* sp. using the direct wet mount. Formalin-ether (Ritchie) technique was used to avoid the misdiagnosis of other intestinal parasites. In both techniques, the fresh samples were examined under light microscope.

Results: *Blastocystis* sp. was detected in 49 patients (44.5%) in the symptomatic group and 28 (22.4%) in the

¹ Centre of Hygiene, Epidemiology and Microbiology, Matanzas City, CUBA

² Cuban Institute of Gastroenterology, Havana, CUBA

³ Samuel Fernández Policlinics, Matanzas City, CUBA

⁴ University of Medical Sciences, Pinar del Rio, CUBA



İletişim / Corresponding Author : Roberto CAÑETE

Centre of Hygiene, Epidemiology and Microbiology, Calle Milanés esquina a Buena Vista, Matanzas, CUBA

Tel : +9053 45 244591

E-posta / E-mail : parasitogia.mtz@infomed.sld.cu

Geliş Tarihi / Received : 16.09.2013

Kabul Tarihi / Accepted : 18.08.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.38980

Cañete R, Jiménez PR, Sounouve KM, Brito K, Valdés R, González ME. *Blastocystis* sp. infection in patients with gastrointestinal complaints: a Cuban study. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(4): 165-70.

hastada *Blastocystis* sp. saptanmıştır. Karın ağrısı (%52,7) veya şişkinlik (%38,2), akut ishal (%26,4), iştah kaybı (%18,2), ve dispepsi (%16,4) septomatik grupta yer alan hastalarda tespit edilen gastrointestinal şikayeler olarak belirlenmiştir. Gastrointestinal şikayeti olan hastalarda *Blastocystis* sp. tanımlanma olasılığının, asemptomatik hastalardan 2,9 kez daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Mevcut çalışmamız *Blastocystis* sp.'yi patojen olarak tanımlayan yazarları desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis* sp.; patojen; gastrointestinal bulgular

asymptomatic one. Abdominal pain (52.7%) or distension (38.2%), acute diarrhea (26.4%), loss of appetite (18.2%), and dyspepsia (16.4%) were the gastrointestinal complains notified by patients included on the symptomatic group. The probability to identify *Blastocystis* sp. in patients with gastrointestinal complains was 2.9 times higher than in asymptomatic patients.

Conclusion: Current results support those authors considering *Blastocystis* sp. as pathogen.

Key Words: *Blastocystis* sp.; pathogen; gastrointestinal symptoms

INTRODUCTION

Blastocystis sp. is a unicellular protozoon found in the large intestine in humans. While *Blastocystis* sp. infection is common worldwide, it is observed more frequently in tropical climates and developing countries with a wide host population including mammals, birds, reptiles, and arthropods (1). This parasite spreads through the fecal-oral route particularly under poor hygiene conditions (2, 3). The use of unboiled water has been also considered to have a significant role in the spread of the infection (3,4).

High prevalence of *Blastocystis* sp. has been reported in developing countries (5-8); however, in developed countries, the prevalence could be lesser (2, 9). Despite *Blastocystis* being discovered almost 100 years ago, its clinical significance and many aspects regarding its biology remain unresolved (10). *Blastocystis* can be isolated from individuals with gastrointestinal and extra-intestinal symptoms and asymptomatic individuals with an almost equal prevalence (10). Occasionally, a higher prevalence can be found in asymptomatic than in symptomatic individuals (11). Many researchers classify *Blastocystis* as a commensal or opportunistic pathogen (12, 13), whereas others report finding *Blastocystis* more

commonly in stools from symptomatic patients than from asymptomatic individuals (1, 3).

Considering the existing discrepancies related with the pathogenic roll of this common intestinal parasite and the inexistence of other works in Cuba about this topic the aim of the present cross-sectional study was to determine the association between gastrointestinal complaints and the presence of *Blastocystis* sp. in adults.

MATERIAL AND METHOD

Study population:

A total of 749 adults (aged from 20 to 69 years old, mean age 38) with or without gastrointestinal complaints attending to the Centre of Hygiene, Epidemiology and Microbiology, Matanzas City- Cuba from January to December 2011 had the opportunity to be included in this descriptive prevalence study.

Patients who had positive stool results for pathogenic bacteria like *Campylobacter*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. or enteropathogenic *E. coli*, those whose microscopic stool examination revealed pathogenic parasites (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, etc.) and those with positive result to

rotavirus were excluded from the study. Patients who rejected to participate were excluded too.

One group was represented by 110 patients with gastrointestinal complaints while the second (n=130) without any accompanying gastrointestinal disturbances, was selected from population attending the centre within similar period for routine control.

Collection of Fecal Samples:

Three fecal samples from each patient were collected in a wide mouth screw capped containers free of preservative at intervals of two days. The samples were collected by patients and immediately sent to the Department of Parasitology of the institution. Diarrheal samples were examined with appropriate techniques searching for rotavirus or pathogenic bacterias. The fresh fecal samples were examined to determine the presence of *Blastocystis* sp. using the direct wet mount. Formalin-ether (Ritchie) technique was used to avoid the misdiagnosis of other intestinal parasites. In both techniques, the fresh samples were examined under light microscope.

Three slides of each sample were prepared and examined by three analysts (1 technician and 2 parasitologist); such that 3 slides per sample were analyzed searching for *Blastocystis* sp. The sample was considered as positive, if it was approved by two of them.

Community Return:

All patients received the results of the laboratory diagnosis. The positive cases were referred to appropriate healthcare units, where they received specific treatment and follow-up.

Data Collection:

A questionnaire was administered by researchers to each parent seeking for gastrointestinal complaints, demography. All patients had no history of medication one month before the study commencement.

Ethical Considerations:

Ethical clearance was granted by the Institutional review board from Centre of Hygiene, Epidemiology and Microbiology, Matanzas - Cuba under the designation Cód. 2010 - 10 in November 2010. The enrolment also required that the agreement model was signed by patients, after being fully informed about the aim of the study. Instructions on how to collect the stool samples were also provided in writing.

Data management and statistical analysis:

Data regarding the parasitological results was noted on pre-designed record forms. Relative frequencies as percentage were performed using EpiInfo 6.04 software (Public Health Domain Software, CDC, Atlanta, GA, USA).

RESULTS

A total of 240 adults were finally included, 128 (53.33%) male and 112 (46.67%) female with a mean age of 40 years old. Sex distribution was homogenous in both groups.

Abdominal pain (52.7%) or distension (38.2%), acute diarrhea (26.4%), loss of appetite (18.2%), and dyspepsia (16.4%) were the gastrointestinal complaints notified by patients included on the symptomatic group.

Blastocystis sp. was detected in 49 patients (44.5%) in the symptomatic group and 28 (22.4%) in the asymptomatic one. The probability to identify *Blastocystis* sp. in patients with gastrointestinal complaints was 2.9 times higher in symptomatic patients than in asymptomatic. It is important to notice that all *Blastocystis* sp. infected patients had abdominal pain or distension.

DISCUSSION

Parasitic infections of the gastrointestinal tract are very common worldwide. Among these parasites,

Blastocystis sp., represents an interesting and not totally understood topic.

There is still much uncertainty about the pathogenic potential of *Blastocystis* (14). Most authors consider this intestinal parasite frequent with prevalence ranging from 1.5% to 10% in developed countries and from 30% and 50% in developing countries (2, 5-8, 9, 14, 15-17). In Cuba, two different studies carried out in children in different sites identified *Blastocystis* sp. as common as *G. lamblia* (17, 18), the most notified intestinal protozoan parasite in the country.

In vivo endoscopy and biopsy analyses in symptomatic patients indicated that *Blastocystis* sp. do not invade the colonic mucosa, but lead to disturbances on the barrier function and permeability. Suggested mechanisms for *Blastocystis*-induced pathogenesis include: elicitation of toxic-allergic reactions; degradation of human secretory IgA by proteases; changes in epithelial permeability, by inducing apoptosis of host intestinal cells and disruption of the epithelial barrier function; modulation of immune response and cytokine release from colonic epithelial cells (10).

In the Islamic Republic of Iran a case-control study published in 2010 (19), demonstrated no significant relation between the presence of gastrointestinal symptoms and the incidence of *Blastocystis* sp. however; another study from Turkey (20), found a strong correlation between the presence of *Blastocystis* sp. and lower anthropometric indexes in children. Other authors report the association of this intestinal parasite with irritable bowel syndrome or inflammatory colonic conditions (1, 3, 21-24).

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank those people who friendly help us with their knowledge and technical experience.

The frequency of *Blastocystis* sp. in this study was higher in symptomatic patients than in asymptomatic, so we agree with those authors considering *Blastocystis* sp. as pathogen. Abdominal pain or distension, acute diarrhea, loss of appetite, and dyspepsia were the symptoms notified among the symptomatic group. Abdominal pain or distension was notified by all *Blastocystis* sp. infected patients. This result agrees with other studies about this topic (19, 25, 26).

One weakness of the present work was the limitation to use other diagnostic methods like culture or molecular biology (major sensitivity and specificity) because they are unavailable in Cuba. To increase the accuracy the diagnostic method used three slides of each sample which were prepared and examined by three different and independent analysts.

The diseases caused by intestinal parasites, once considered a rare phenomena confined to the tropics, are now being diagnosed with increased frequency in industrialized countries (27). This trend can be attributed to various factors, including globalization of the food supply, the increased consumption of fresh foods, increased travel to developing countries, and more intensive immigration originated from these areas. *Blastocystis* sp. is a worldwide distributed intestinal parasite not totally understood so other studies are needed to clarify its role over human health.

Considering that *Blastocystis* sp. was more identified among patients with gastrointestinal complaints than in patients without gastrointestinal disturbances, despite methodological limitations, this study supports those authors considering *Blastocystis* sp. as pathogen.

REFERENCES

1. Cekin AH, Cekin Y, Adakan Y, Tasdemir E, Koclar FG, Yolcular BO. Blastocystosis in patients with gastrointestinal symptoms: a case-control study. *BMC Gastroenterology*, 2012; 12: 122.
2. Cañete Villafranca R, Rodríguez Jiménez P. Infección por *Blastocystis* sp.: revisión de la literatura. *Rev Méd Electrón* [Seriada en línea], 2012 Sep- Oct [Accesed 2013 May 12]; 34(5). Available: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202012/vol5%202012/tema05.htm>.
3. Jiménez-González DE, Martínez-Flores WA, Reyes-Gordillo J, Ramírez-Miranda ME, Arroyo-Escalante S, Romero-Valdovinos M, et al. *Blastocystis* infection is associated with irritable bowel syndrome in a Mexican patient population. *Parasitol Res*, 2012; 110(3): 1269-75.
4. Scanlan PD. *Blastocystis*: past pitfalls and future perspectives. *Trends Parasitol*, 2012; 28(8): 327-34.
5. Cañete Villafranca R, López García I. Incremento en la notificación de infecciones por *Blastocystis* sp. en la provincia de Matanzas. *Rev Méd Electrón* [Seriada en línea], 2012 Sep- Oct [Accesed 2013 May 12]; 34(5). Available: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202012/vol5%202012/tema13.htm>.
6. Arani AS, Alaghebandan R, Akhlaghi L, Shahi M, Lari AR. Prevalence of intestinal parasites in a population in South Tehran, Iran. *Rev Inst Med Trop S Paulo*, 2008; 50(3): 145-9.
7. Haider SS, Baqai R, Qureshi FM, Boorom K. *Blastocystis* spp., *Cryptosporidium* spp., and *Entamoeba histolytica* exhibit similar symptomatic and epidemiological patterns in healthcare-seeking patients in Karachi. *Parasitol Res*, 2012; 111(3): 1357-68.
8. Soriano JM, Domènech G, Martínez MC, Mañes J, Soriano F. Intestinal parasitic infections in hosted Saharawi children. *Trop Biomed*, 2011; 28(3): 557-62.
9. Salinas JL, Vildozola Gonzales H. Infection by *Blastocystis*: a review. *Rev Gastroenterol Peru*, 2007; 27(3): 264-74.
10. Stensvold CR, Nielsen HV, Mølbak K, Smith HV. Pursuing the clinical significance of *Blastocystis*-diagnostic limitations. *Trends Parasitol*, 2009; 25(1): 23-9.
11. Chen TL, Chan CC, Chen HP, Fung CP, Lin CP, Chan WL, et al. Clinical characteristics and endoscopic findings associated with *Blastocystis hominis* in healthy adults. *Am J Trop Med Hyg*, 2003; 69(2): 213-6.
12. Sun T, Katz S, Tanenbaum B, Schenone C. Questionable clinical significance of *Blastocystis hominis* infection. *Am J Gastroenterol*, 1989; 84(12): 1543-7.
13. Leder K, Hellard ME, Sinclair MI, Fairley CK, Wolfe R. No correlation between clinical symptoms and *Blastocystis hominis* in immunocompetent individuals. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005; 20(9): 1390-4.
14. Tikhonova DV, Fedianina LV, Plushcheeva GL. The specific features of the clinical picture of Blastocystosis and laboratory methods for its diagnosis. *Med Parazitol (Mosk)*, 2012; (3): 44.
15. Kuo HY, Chiang DH, Wang CC, Chen TL, Fung CP, Lin CP, et al. Clinical significance of *Blastocystis hominis*: experience from a medical center in northern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*, 2008; 41: 222-6.
16. El Guamri Y, Belghyti D, Barkia A, Tiabi M, Aujjar N, Achicha A, et al. Parasitic infection of the digestive tract in children in a regional hospital center in Gharb (Kenitra, Morocco): some epidemiological features. *East Afr J Public Health*, 2011; 8(4): 250-7.
17. Escobedo AA, Cañete R, Núñez FA. Intestinal protozoan and helminth infections in the Municipality San Juan y Martínez, Pinar del Río, Cuba. *Trop Doct*, 2007; 37(4): 236-8.
18. Cañete R, Díaz MM, Avalos García R, Laúd Martínez PM, Manuel Ponce F. Intestinal parasites in children from a day care centre in Matanzas city, Cuba. *PLoS One*, 2012; 7(12):e51394.
19. Rostami Nejad M, Nazemalhosseini Mojarad E, Dabiri H, Nochi Z, Pourhoseingholi MA, Sahebkhietari N, et al. A case-control study of *Blastocystis hominis* among Iranian population. *East Afr J Public Health*, 2010; 7(1): 101-4.

20. Ertug S, Karakas S, Okyay P, Ergin F, Oncu S. The effect of *Blastocystis hominis* on the growth status of children. *Med Sci Monit*, 2007; 13(1): CR40-CR43.
21. Yamamoto-Furusho JK, Torijano-Carrera E. Intestinal protozoa infections among patients with ulcerative colitis: prevalence and impact on clinical disease course. *Digestion*, 2012; 82(1): 18-23.
22. Fouad SA, Basyoni MM, Fahmy RA, Kobaisi MH. The pathogenic role of different *Blastocystis hominis* genotypes isolated from patients with irritable bowel syndrome. *Arab J Gastroenterol*, 2011; 12(4): 194-200.
23. Tai WP, Hu PJ, Wu J, Lin XC. Six ulcerative colitis patients with refractory symptoms co-infective with *Blastocystis hominis* in China. *Parasitol Res*, 2011; 108(5): 1207-10.
24. Poirier P, Wawrzyniak I, Vivarès CP, Delbac F, El Alaoui H. New Insights into *Blastocystis* spp.: A Potential Link with Irritable Bowel Syndrome. *PLoS Pathog*, 2012; 8(3): e1002545.
25. Dogruman-Al F, Kustimur S, Yoshikawa H, Tuncer C, Simsek Z, Tanyuksel M, et al. *Blastocystis* subtypes in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease in Ankara, Turkey. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2009; 104(5): 724-7.
26. Laodim P, Intapan PM, Sawanyawisuth K, Laummaunwai P, Maleewong W. A hospital-based study of epidemiological and clinical data on *Blastocystis hominis* infection *Foodborne Pathog Dis*, 2012; 9(12): 1077-82.
27. Masucci L, Graffeo R, Bani S, Bugli F, Boccia S, Nicolotti N, et al. Intestinal parasites isolated in a large teaching hospital, Italy, 1 May 2006 to 31 December 2008. *Euro Surveill*, 2011; 16(24):pii=19891.

Kutanöz leishmaniasis ve Hatay İlindeki durumu

Cutaneous leishmaniasis and its status in Hatay province, Turkey

Gülnaz ÇULHA¹, Çiğdem Asena DOĞRAMACI², Burcu GÜLKAN¹, Nazan SAVAŞ³

ÖZET

Amaç: Yurdumuzda Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Çukurova yöresinde endemik olarak görülen kutanöz leishmaniasis (KL) yıllardır önemini koruyan bir halk sağlığı problemidir. Çalışmada 2006-2011 yılları arasında Hatay İl Sağlık Müdürlüğü ve Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı verilerinin birlikte analizi ile Hatay ilinde KL olgularının ve odaklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Parazitoloji Laboratuvarına Ocak 2006-Temmuz 2011 tarihleri arasında farklı polikliniklerden KL şüphesiyle başvuran 596 hastadan smear örnekleri alınmıştır. Ayrıca lezyonun süresi, sayısı, yeri, hastanın yaşı ve yerleşim yerini (ilçe ve köy olarak) içeren bilgi formları doldurulmuştur. KL şüpheli lezyonlardan smear yapılarak, Giemsa boyası ile boyanmış, 100X immersiyon objektifi ile mikroskop incelemesi yapılarak parazitin amastigot formu görünen olgulara pozitif KL tanısı konmuştur. İstatistiksel yöntemlerde ki kare testi kullanılmıştır.

Bulgular: İncelenen 596 olgudan 273 (%45,8)'ü KL açısından pozitif bulunmuştur. Pozitif olguların 139 (%50,9)'u kadın, 134 (%49,1)'ü erkek hastadır. Olguların 39 (%14,3)'unda birden fazla lezyona rastlanmıştır. Lezyonun kadınlarda baş-boyun ve gövde kısmında daha çok (p=0,036, p=0,240) erkeklerde

ABSTRACT

Objective: Cutaneous leishmaniasis (CL), which is endemic in the South-East Anatolia and Cukurova areas, has been an important public health problem for years. This study is an: analysis of Mustafa Kemal University, Research Hospital, Parasitology Laboratory and Hatay Provincial Health Directorate's data collected between years 2006-2011, to determine more recent cutaneous leishmaniasis sources in Hatay province and reasons for this increasing trend.

Method: Smear samples were collected from 596 patients who applied to the Parasitology Laboratory in between January 2006-July 2011. Information forms including the lesion's duration, number, location (as providence and village), patient's age and location have been filled. In cases suspected of cutaneous leishmaniasis, a smear was performed, stained with Giemsa and microscopy examination was performed with 100X immersion objective. Positive CL recognition was placed on cases when the amastigot form of parasite was observed. Ki square test was used for statistical analyses.

Results: Two hundred seventy three cases of 596 patients (45.8% of patients) were found to be CL positive. One hundred thirty nine (50.9%) of positive cases were female and 134 (49.1%) of positive cases were male. Thirty nine (14,3%) of 273 positive cases have more than

¹ Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı, HATAY

² Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dermatoloji Ana Bilim Dalı, HATAY

³ Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı, HATAY



İletişim / Corresponding Author : Gülnaz ÇULHA

Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı, HATAY

Tel : +90326 229 10 00

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

Geliş Tarihi / Received : 02.10.2013

Kabul Tarihi / Accepted : 02.09.2014

bacakta daha fazla olduğu ($p=0,014$) saptanmıştır. KL tanısı konan yaş gruplarının 0-12 yaş 73 (%26,7) ve 13-24 yaş arasında 89 (%32,6) kişi olduğu, lezyon süresinin çoğunlukla 0-6 ay arasında bulunduğu saptanmıştır. Hatay İl Sağlık Müdürlüğü'ne 2006-2011 yılları arasında yapılmış tüm bildirimler incelenmiş, Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarından yapılan bildirimler dışındaki hastaların kayıtları da incelenmiştir. Toplam 269'u erkek, 266'sı kadın hasta olmak üzere 535 hasta belirlenmiştir. İl Sağlık Müdürlüğü verilerinde yaş, cinsiyet, yaşadığı ilçe yanısıra hastanın kliniğinin değerlendirildiği gözlemlenmiştir.

Sonuç: Hatay'da önceki yıllara göre KL'nin yeni enfeksiyon odaklarının varlığı tespit edilmiştir. Bu odakların Hassa, Samandağı ve Altınözü ilçelerinde ve özellikle Suriye sınırına çok yakın olan köylerde olmasının Hatay'da olgu sayısını daha da artırabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle KL saptanan ilçe ve köylerde düzenli aralıklarla tarama yapılması, kayıtların düzenli tutulabilmesi ve tedavilerinin sağlanması için İl Sağlık Müdürlüğü ile birlikte tanı ve tedavi konusunda eğitimler verilmesinin gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kutanöz leishmaniasis, Hatay, yayma

one lesion. The lesion locations of head, neck and trunk were most commonly involved among women ($p=0,036$, $p=0,240$), on the other hand leg was most common side on men ($p=0,014$). CL commonly observed at ages between 0-12 in 73 (26.7%) cases, and ages between 13-24 in 89 (32.6%) cases. Most of the lesion durations were between 0-6 months. All the cases notified to Hatay Provincial Health Directorate between years 2006-2011 were assessed except the cases belong to Mustafa Kemal University, Research Hospital, Parasitology Laboratory. Total of 535 patients (269 men, 266 women; including our patients) were notified. It is noticed that Provincial Health Directorate's data includes only age, gender, year and town and also clinical features of the patient.

Conclusion: In Hatay, unlike previous years, presence of new CL focal points were observed. These cases are concentrated at Hassa, Samandağı and Altınözü towns and particularly at regions very close to Syrian border. These locations could be the reasons for increased number of CL cases. For this reason performing periodical screenings at the provinces and towns where CL was diagnosed should be realized. Moreover, giving seminars and educational sessions were planned in collaboration with Hatay Provincial Health Directorate.

Key Words: Cutaneous leishmaniasis, Hatay, smear

GİRİŞ

Leishmaniasis; dünya genelinde özellikle tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak görülen, *Leishmania* cinsine ait parazitlerin sebep olduğu bir hastalık grubu olup önemli bir halk sağlığı sorunudur (1, 2).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünyada 350 milyon kişi leishmaniasis'in aktif bulaşma alanlarında yaşamaktadır. Yılda 1,5 milyonu kutanöz leishmaniasis (KL) ve 500 bini visseral leishmaniasis (VL) olmak üzere toplam 2 milyon yeni leishmaniasis olgusu kaydedilmektedir. Türkiye'nin Asya ve Avrupa kıtalarını

birbirine bağlayan bir konumda olması ayrıca çok çeşitli iklimsel ve coğrafik karaktere sahip bulunması leishmaniasis epidemiyolojisi açısından önemli bir yer tutmaktadır. Leishmaniasisin ülkemizde en çok görülen şekli KL'dir. Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz Bölgelerinde endemik olan ve etken olarak şimdikiye kadar *Leishmania tropica*'nın bulunduğu KL olgularına ayrıca *Leishmania major* veya *Leishmania infantum* tiplerinin de neden olabileceği son vektör ve izoenzim analizleriyle gösterilmiştir (3-9).

Türkiye'nin Güneydoğusunda Çukurova Bölgesinde yer alan Hatay İli 5.403 km²'lik bir alanı kapsamaktadır. Şehrin %46'sını dağlar, %33'ünü ovalar oluşturur. Batıda Akdeniz'e kıyısı olup Suriye ile de uzun bir sınırı paylaşmaktadır (10). Hatay ilinde yaz mevsiminin uzunluğu, tropikal iklim koşullarının hüküm sürmesi ve bol nem, KL olgularının artmasına sebep olmaktadır. Kum sineklerinin (Sand flies) yaşaması için uygun iklim ve coğrafik koşulları sağlayan Hatay ilinde halk geçimini daha çok hayvancılık ve tarımdan sağlamaktadır (10, 11). Hatay'da tespit edilen KL olgularının sayısı 1998-2005 yılları arasında en yüksek seviyeye (1.079 kişi) ulaşmıştır (11). Hatay İl Sağlık Müdürlüğü verilerine göre 2005-2011 yılları arasında hasta sayısında bir düşüş görülmekle birlikte hastalığın yeni odakları da saptanmıştır. Yeni odaklarının Hassa, Altınözü ve Samandağı ilçelerinde belli köylerde (Yuvalı, Alahan, Kıyığören, Meydan) olması Hatay'da KL olgularının sayısının artışıyla bölgenin sosyal özelliklerinin önemli rolü olabileceğini düşündürmüştür.

Bu çalışmada 2005-2011 yılları arasında Hatay İl Sağlık Müdürlüğü ve Mustafa Kemal Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvarından bildirim yapılan verilerin birlikte analizi ile Hatay ilinde KL'nin yeni odakları ve bu odaklardaki artış nedenlerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mustafa Kemal Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvarına Ocak 2006 - Temmuz 2011 tarihleri arasında KL şüphesi ile 596 hasta başvurmuştur. Hazırlanan hasta bilgi formu her hastaya rutin olarak uygulanarak hastaların yaşı, yerleşim yerleri, ahırlarının olup olmadığı, lezyonun; süresi, sayısı, kaydedilmiştir. Hesaplamalar yapılırken SPSS programı kullanılmıştır.

Örnek alınırken alkolle silinip kurutulduktan sonra lezyon kenarına 15 numaralı bistüri ile 0,5 cm uzunluğunda, 2-3 mm derinliğinde bir insizyon yapılmış ve bu insizyonun iç kısmının bistüri ile kazınması

sonucu elde edilen kansız-seröz materyal lama yayılarak metil alkolle tespit edildikten sonra Giemsa boyasıyla boyanmıştır. Mikroskopik inceleme için X100 immersiyon objektifi kullanılarak bir hücre duvarı ile çevrili sitoplazma içerisinde nükleus ve kinetoplasttan oluşan *Leishmania* amastigot cisimciği aranmıştır. Ayrıca klinik olarak şüpheli olan fakat alınan smear örneklerinde *Leishmania* amastigot cisimciği tespit edilmeyen olgularda insülin enjektörü yardımıyla örnek alınarak modifiye NNN+RPMI 1640 besiyerinde kültürleri yapılarak *Leishmania* promastigot formu aranmıştır (1, 10).

Hatay İl Sağlık Müdürlüğü'nün 2006 - 2011 yılları arasında yapılmış tüm bildirimleri incelenmiş, Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarından yaptığımız bildirimler dışında olan hastaların kayıtları da incelenmiştir. Bu kayıtlarda 269'u erkek, 266'sı kadın hasta olmak üzere 535 hasta (Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarından yaptığımız bildirimler dahil)'nın bulunduğu saptanmıştır.

İstatistiksel değerlendirmede ki kare testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Ocak 2006 - Temmuz 2011 tarihleri arasında Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına KL şüphesiyle başvuran toplam 596 hastadan smear örnekleri alınmıştır. Smear veya kültürleri (sekiz olgu) pozitif olan 139 (%50,9)'u kadın, 134 (%49,1)'ü erkek olgu olmak üzere 273 olguya KL tanısı konmuştur. Olgularda cinsiyetler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır (p=0,11).

Olguların 39 (%14,3)'unda birden fazla lezyona rastlanmıştır. Lezyon yerlerine göre dağılımda kadınlarda baş-boyun ve gövde kısmında daha çok olduğu, erkeklerde bacakta daha fazla olduğu (p=0,001) saptanmıştır (Tablo 1). Mikroskop incelemesinde

amastigot belirlenen ve KL tanısı konan; 0-12 yaş aralığında 73 (%26,7), 13-24 aralığında 89 (%32,6) olgu bulunduğu (Tablo 2) lezyon sürelerinin çoğunlukla 0-6 ay arasında olduğu izlenmiştir. Ayrıca; 100 (%36,6) olgunun hayvanları olduğu ve ahırların evlerinin yakınında olduğu öğrenilmiştir. 64 (%23,4) kişinin öğrenci, 25 (%9,2) kişinin ev hanımı, sekiz (%2,9) kişinin çiftçi ve 75 (%27,5) kişinin serbest meslek sahibi olduğu öğrenilmiştir.

Tablo 1. MKÜ Parazitoloji Laboratuvarında 2006-2011 yılları arasında saptanan KL olgularının lezyon yerleri ve cinsiyete göre dağılımı (Verileri olan 211 olgu)

Lezyon Yeri	Kadın (%)	Erkek (%)	Toplam	p*
Baş-Boyun-Gövde	78 (%58,7)	55 (%41,3)	133 (%62,5)	
Kol	24 (%42,1)	33 (%57,9)	57 (%27)	0.001
Bacak	4 (%19)	17 (%81)	21 (%10)	
Toplam	106 (%50,2)	105 (%49,8)	211 (%100)	

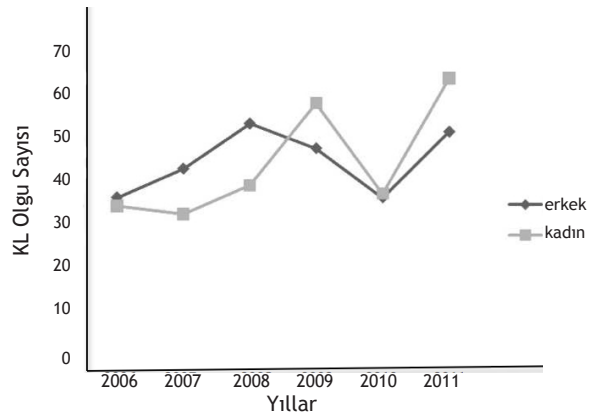
*Kikare test

Tablo 2. MKÜ Parazitoloji Laboratuvarında 2006-2011 yılları arasında saptanan KL olgularının yaş grubu ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş	Kadın (%*)	Erkek (%*)	Toplam (%**)
0-12	40 (%54,8)	33 (%45,2)	73 (%26,73)
13-24	40 (%44,9)	49 (%55,1)	89 (%32,60)
25-36	13 (%44,8)	16 (%55,2)	29 (%10,62)
37-48	13 (%36,1)	23 (%63,9)	36 (%13,18)
49-60	15 (%65,2)	8 (%34,8)	23 (%8,42)
61-72	10 (%83,3)	2 (%16,7)	12 (%4,39)
73->	8 (%72,7)	3 (%27,3)	11 (%4,02)
TOPLAM	139 (%50,91)	134 (%49,9)	273 (%100)

* Satır yüzdesi ** Sütun yüzdesi

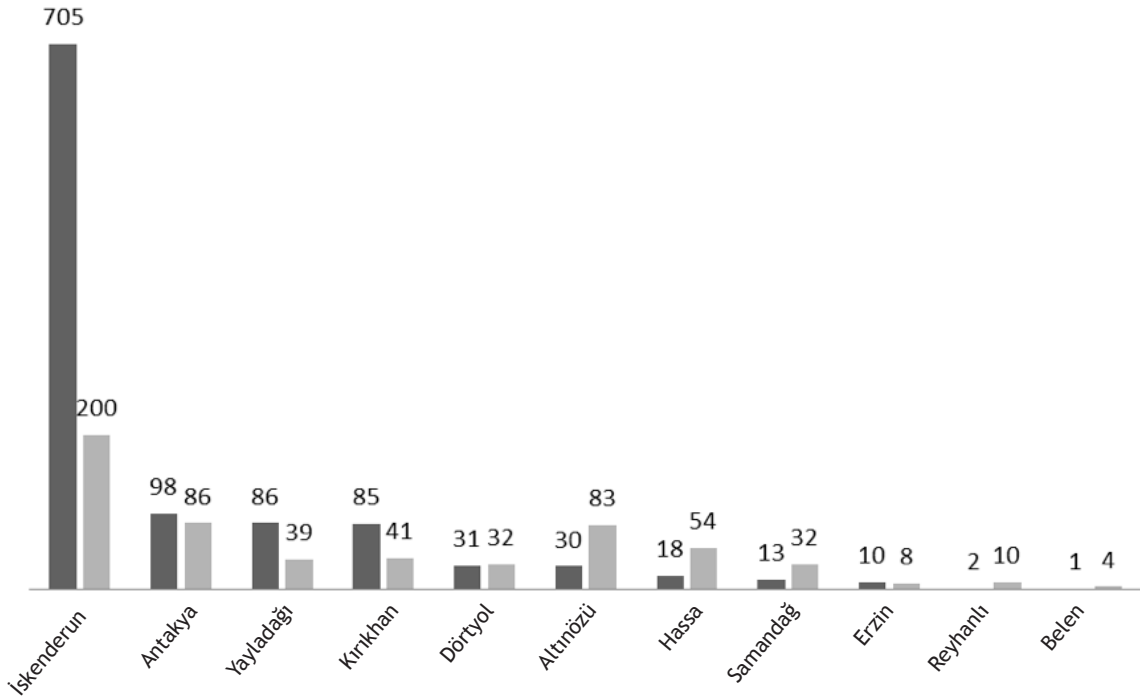
Altınözü'nden 47 (%17,2), Hatay merkezden 54 (%19,8), Hassa'dan 35 (%12,8), Samandağ'dan 28 (%10,3), Yayladağ'dan 22 (%8,1), İskenderun'dan 42 (%15,4) kırıkhan'dan 38 (%13,9) ve Reyhanlı'dan 5 (%1,8) olgu tespit edilmiştir. Özellikle 2009 yılına kadar Hassa (özellikle Yuvalı Köyü), Antakya (özellikle Alahan Köyü), Altınözü (özellikle Kıyığören Köyü) ve Samandağ (özellikle Meydan Köyü), ilçelerinde nadiren olgular saptanırken 2009 yılından itibaren olgu sayısındaki kayda değer artışla birlikte bu bölgeler yeni KL odakları olarak belirlenmiştir (Şekil 1-3).



Şekil 1. 2006-2011 yılları arasında saptanan KL olgularının yıllara göre dağılımı. (Hatay İl Sağlık Müdürlüğü verileri bizim verilerimizle birlikte verilmiştir 535 olgu)

TARTIŞMA

KL başta Şanlıurfa İli olmak üzere Güneydoğu Anadolu Bölgesinde hiperendemik, Çukurova Bölgesinde ise endemik bir hastalık olarak yıllardır hüküm sürmektedir. Göçlerin ve seyahatlerin artması, kentler arası ulaşımın kolaylaşmasının yanı sıra vektör kum sineklerine karşı yürütülen mücadelenin yetersiz kalması gibi nedenlerle hastalığın insidansında tekrar bir artış gözlemlendiği bilinmektedir (2, 3). Hatay İlinde yeni odak olarak belirlenen köylerde halkın birçoğunun gerek ticaret gerekse gezi amaçlı hastalığın endemik olduğu Suriye'ye eskiye göre daha sık giriş-çıkış yapmalarının olgu sayısının artışında rol oynayabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 2. İlçelere göre 1998-2005 [-Akçalı ve ark. (11)] ve 2006-2011 yılları arasında saptanan KL olgularının ilçelere göre dağılımı (İl Sağlık Müdürlüğü kayıtları ve bizim verilerimizle birlikte verilmiştir).

L. major'ün etken olduğu KL olgularında *L. tropica*'ya göre daha kısa sürede iyileşme görülmektedir. *L. major*'de 2-4 ayda iyileşme görülürken bu süre *L. tropica*'da 6-15 ayı bulmaktadır. KL lezyonları klinik olarak fronkül, ektima gibi bakteriyel deri enfeksiyonları ile sıkça karışabilir. Enfekte böcek ısırığı, diskoid lupus eritematosus, lupus vulgaris, derin mantar enfeksiyonları ve deri maligniteleri de ayrıntı tanıda düşünülmelidir. Yanlış tanı koyma riskinin olması nedeniyle klinik olarak KL tanısı mutlaka bir laboratuvar yöntemi ile doğrulanarak kesinleştirilmelidir (12, 13).

Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesine KL şüphesi ile başvuran hastalar için hazırlanan Hasta Bilgi Formu'yla 2006 yılından beri düzenli olarak hasta bilgileri kayıt altında tutulmaktadır. Bu formun KL'nin yeni odaklarının belirlenmesinde oldukça yararlı olduğu düşünülmektedir.



Şekil 3. KL'nin Hatay ilinde saptanan yeni yerleşim yerleri ve Suriye sınırına olan mesafeleri (km olarak verilmiştir). Hasşa Yuvalı Köyü, Antakya Alahan Köyü, Altınözü Kıyğören Köyü, Samandağ Meydan Köyü)

Başvuran hastaların çoğunluğunu 0-24 yaş arasındaki genç ve çocuklar oluşturmaktadır. KL tanısı konulan 273 olgunun 139'u kadın 134'ü erkektir. Ayrıca bölgemizde olguların çoğunlukla 15 yaş altı çocuklardan oluştuğu bilinmektedir (12, 14).

Mikroskop incelemesinde amastigot saptanarak KL tanısı konmuş olguların 39 (%14,3)'unda birden fazla lezyon yeri tespit edilirken, 234'ünde ise tek lezyon belirlenmiştir. KL'de lezyonların bizim olgularımızda da daha çok elbise dışında kalan baş-boyun bölgesi gibi açık vücut bölgelerinde yerleşmiş olması (tüm lezyonların %56,5'i) hastalığın vektörü kum sineklerinin aktivasyon yetenekleri ile ilişkilendirilebilir. KL nedeniyle başvuran 100 (%36,6) kişinin hayvancılıkla uğraştığı ve ahırlarının evlerinin yakınında olduğu tespit edilmiştir. İlimizde saptanan yeni odaklar da kum sineklerinin ekolojik koşullarını sağlayan uygun habitatların oluşturduğu söylenebilir.

Yaman ve ark. 2001 yılında kum sineklerine yönelik çalışmalarında Haziran-Kasım ayları arasında Hatay'ın; Erzincan, Dörtöy, İskenderun, Kırıkhan, Antakya, Samandağ, Altınözü ve Yayladağı ilçelerine kurdukları yapışkan tuzaklarla *Phlebotomus* ve *Sergentomyia* türlerine ait 998 kum sineği yakaladıklarını bildirmişlerdir (14).

Bizim çalışmalarımızda da hastaların çoğunun kırsal kesimlerden geldiği, yaz aylarında damlarda uyuduğu ve kum sineğine karşı herhangi bir önlem almadığı gözlenmiştir. Rutin olarak her hastaya uyguladığımız hasta bilgi formunda başvuran kişilerin evinin tek katlı ve bahçeli olduğu belirlenmiş olup bu durumun uçma yeteneği zayıf olan kum sineklerinin insanlara ulaşmasını kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Ayrıca olguların %36,6'sının hayvancılıkla uğraşması ve hayvan barınaklarının evlerinin yakınında olması da riski arttırmaktadır.

Birçok ilde yapılan araştırmalar incelendiğinde araştırmacılar KL olgularının artmakta olduğuna dikkat çekmektedirler. Sucaklı ve ark. 2002-2006 yılları

arasında Diyarbakır'da, İl Sağlık Müdürlüğü kayıtlarına göre 1.990 KL olgusu olduğunu bildirmişler ve bu bölgedeki morbidite hızının Türkiye'den fazla olduğuna dikkat çekmişlerdir (15). Hastalığın ülkemizdeki en önemli endemik odağı olan Şanlıurfa'da 1983 yılında 1.741 olgu saptanmış ve bu tarihten sonra daha önce sporadik olan Çukurova Bölgesi de endemik hale gelmiştir. Bu durum büyük oranda iki bölge arasında geçici göçlerle karakterize bir sosyal olgu olarak mevsimsel tarım işçiliği ile ilişkilendirilmiştir. KL Şanlıurfa'da 1997-2000 yılları arasında ortalama yıllık 1.000 olgu ile azalmış olmakla birlikte 2004 yılında 2.290 olgu ile yeniden üst seviyeye ulaşmıştır (16,17). Yapılan araştırmalarda bu bölgede de hastalığın bizim bulgularımıza paralel biçimde daha çok 5-19 arası yaş grubu etkilediğini görmekteyiz. Akçalı ve ark.'nın 1998-2005 yılında Hatay'da yaptığı kapsamlı çalışmada toplam 1.079 olgu tespit edilmiştir (11). Bunlardan en yüksek oranda 705 (%65,34) olgu ile ilk sırada İskenderun sonrasında sırasıyla Antakya merkezde 98 (%9,08), Yayladağı'nda 86 (%7,97), Kırıkhan'da 85 (%7,88), Altınözü'nde 30 (%2,80), Hassa'da 18 (%1,67), Samandağ'da 13 (%1,2), Reyhanlı'da iki (%0,19), ve Belen'de bir (%0,09) olgu tespit edilmiştir. 1998-2005 yılları arasında 18 KL sadece Hassa'dan bildirilmiştir (İl Sağlık Müdürlüğü verileri). Bizim çalışmamızda 2006-2011 yılları arasında Hassa'da saptanan 27 olgunun 20'si Hassa'ya bağlı Yuvalı Köyünde bulunmaktadır (Şekil 2). Aynı şekilde 1998-2005 yılları arasında 30 KL sadece Altınözü'nde (İl Sağlık Müdürlüğü verileri) belirlenmiştir. 2006-2011 yılları arasında Altınözü'nde 83 olgu saptanmış bunların 25'i Kıyığören Köyü olarak tarafımızdan bildirilmiştir. Samandağ İlçesi'nde 1998-2005 yılları arasında 13 olgu bulunurken, 2006-2011 yılları arasında 32 olgu saptanmış ve bunların 20'si Meydan Köyü olarak tarafımızdan bildirilmiştir (Şekil 2).

Bildirim sistemimizdeki eksiklikler, kayıtların düzenli olarak tutulmaması KL hakkındaki bilgilerimizin sağlıklı olmamasına yol açmaktadır. Örneğin İl Sağlık

Müdürlüğü'ndeki 2006-2011 yıllarına ait KL olgu sayıları incelendiğinde olguların yalnızca geldikleri ilçe, yaş cinsiyet ve tarih bilgilerinin not edildiği gözlenmiştir. Bu nedenle İl Sağlık Müdürlüğü yetkilileri ile görüşülmüş hazırladığımız ayrıntılı bilgi formlarının kullanılması önerilmiştir.

Yeni odak köylerinin Suriye sınırına olan mesafesine bakıldığında Kıyığören Köyü'nün 4 km, Yuvalı Köyü'nün 21 km, Meydan Köyü'nün 30 km, Alahan Köyü'nün 30 km olduğu saptanmıştır. Mesafelerin sınıra yakın olması, Suriye'den geçiş olasılığını düşündürmüştür.

Yeni odak yerlerinin yanı sıra ilimizin merkez ilçesi dahil olmak üzere tüm ilçelerinde düzenli aralıklarla tarama yapılması KL deki asıl artışı belirlememize yardımcı olacaktır. Bu konuda hasta bilgilerinin daha düzenli kayıt altına alınması gerektiği düşünülmektedir. Ancak sağlık ocaklarında çalışan görevlilerin KL konusunda eğitim almış olsalar da yerlerinin devamlı değişmesi, yeni gelenlerin eğitim almaması, çalışan personel yetersizliği ya da olmayışı eldeki verilerin

güvenirliliğini azaltmaktadır. Bu konuyla ilgili olarak daha sık eğitim verilmesinin, bildirim açısından d kolaylık sağlayacağını düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada da ortaya konduğu gibi son yıllarda görülen KL olgu sayılarındaki artış alınan önlemlerin yetersizliğini göstermektedir. Bu artışın önüne geçilebilmesi için kum sineklerine karşı mücadelenin arttırılması, rezervuar konak görevi gören köpeklerin belirlenmesi ve tedavi edilmesi, halkın şark çıbanı olarak bildiği KL hastalığına karşı eğitim programları düzenlenerek bilinçlendirilmesi ve tespit edilen olguların tedavilerinin tam olarak yapılmasının gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca ilimizden KL'nin endemik olduğu yerlere gidiş geliş çok fazla olmaktadır. Örneğin taşımacılık yapan şoförler, turistik amaçlı çanaklar, mevsimlik işçi olarak gelenler sayılabilir. Bu konuda yine İl Sağlık Müdürlüğü ile görüşülmüş, bu vakaların erken tespit edilmesinin önemi vurgulanmıştır.

TEŞEKKÜR

Hatay İl Sağlık Müdürlüğü'ne çalışmada gösterdikleri işbirliği ve yardımları için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Report of the Scientific Working Group on Leishmaniasis. Geneva. World Health Organization, 2004; 5-6.
2. Güngördü H, Uzun S. Leishmaniasis. Türkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics, 2010; 3(2): 40-3.
3. Gürel MS, Yeşilova Y, Ögel MK, Özbek Y. Cutaneous leishmaniasis in Turkey. Türkiye Parazitoloj Derg, 2012; 36(2): 121-9.
4. Akman L, Aksu HS, Wang RQ, Özensoy S, Özbek Y, Alkan Z, et al. Multi-site DNA polymorphism analyses of *Leishmania* isolates define their genotypes predicting clinical epidemiology of leishmaniasis in a specific region. J Eukaryot Microbiol, 2000; 47(6): 545-54.
5. Svobodová M, Alten B, Zidková L, Dvůrák V, Hlaváčková J, Mysková J, et al. Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* transmitted by *Phlebotomus tobbi*. Int J Parasitol, 2009; 39(2): 251-6.

6. Baz K, Köktürk A, Türsen Ü, Kaya Tİ, İkizoğlu G, Kanık A. Cutaneous leishmaniasis in Anamur. Türkiye Klinikleri J Dermatol, 2002; 12(1): 5-10.
7. Serin MS, Waki K, Chang KP, Aslan G, Direkel Ş, Otag F, et al. Consistence of minixon polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and single-copy gene sequence analyses in discriminating *Leishmania* genotypes. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007; 57(3): 295-9.
8. Malatyalı E, Özçelik S, Gürsoy N. Kekik (*Thymus vulgaris*), kimyon (*Cuminum cyminum*) ve Mersin (*Myrtus communis*) bitkilerinden elde edilen yağların in vitro anti-leishmanial etkileri. Türk Hij Den Biyol Derg, 2009; 66(1): 7-13.
9. Bayazıt Y, Özcebe H. Şanlıurfa ili kent merkezinde kutanöz leishmaniasis insidans ve prevalansı. Türk Hij Den Biyol Derg, 2004; 61(1,2,3): 9-14.
10. Çulha G, Akçalı C. Detection of cutaneous leishmaniasis cases in Hatay and surrounding areas. Türkiye Parazitoloj Derg, 2006; 30(4): 268-71.
11. Akçalı C, Çulha G, İnalöz S, Savaş N, Önlen Y, Savaş L, et al. Cutaneous leishmaniasis in Hatay. J Turk Acad Dermatol, 2007; 1(1): 1-5.
12. Uzun S. Leishmaniasis. Ed. Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL. Dermatoloji. 3. baskı İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2008; 659-82.
13. Ceyhan AM, Meriç G, Aynalı G. A Case of cutaneous leishmaniasis mimicking squamous cell carcinoma. Türkderm, 2012; 46(1): 44-6.
14. Yaman M, Özbel Y. The sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Turkish province of Hatay: Some possible vectors of the parasites causing human cutaneous leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol, 2004; 98: 741-50.
15. Sucaklı MB, Saka G. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Diyarbakir. Türkiye Parazitoloj Derg, 2007; 31(3): 165-9.
16. Gurel MS, Ulukanligil M, Ozbilge H. Cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa: Epidemiologic and clinical features of the last four years (1997-2000). Int J Dermatol, 2002; 41(1): 32-7.
17. Yemisen M, Ulas Y, Celik H, Aksoy N. Epidemiological and clinical characteristics of 7172 patients with cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa between 2001 and 2008. Int J Dermatol, 2012; 51(3): 300-4.

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı akut alevlenmesi olan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci

Antibiotic resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

Nagihan DEMİR¹, Yelda YAZICI², Halit ÇINARKA³, Hülya YILMAZ⁴, Canan ŞENGÜL⁵, Mesiha BABALIK⁵

ÖZET

Amaç: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) akut alevlenmeler ile seyreden bir hastalıktır. Alevlenmeler dispne, balgam miktarı ve pürülansında artış ile kendini göstermektedir. Hastalığın tedavisinde bronkodilatatör ve antibiyotik kullanımı gerekebilmektedir. Hava akımı kısıtlılığının artışı ile alevlenme riskinin de arttığı bildirilmektedir. Akut alevlenmeler hastanın yaşam kalitesinde azalmaya, ciddi morbidite ve mortaliteye sebep olurken ekonomik açıdan yük oluşturmaktadır. KOAH'lı hastalarda Küresel Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Girişim Grubu (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: GOLD)'nun yapmış olduğu spirometrik sınıflamada (GOLD 1-4) GOLD 2'de alevlenme sayısı yılda 0,7 - 0,9 iken GOLD 4 hastalarda yılda 1,2 - 2,0 alevlenme görülmektedir. Akut alevlenmelerde en sık görülen bakteriyel patojenler sırası ile *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Moraxella catarrhalis*'dir. GOLD 3 ve GOLD 4 KOAH akut alevlenmeli hastalarda *Pseudomonas aeruginosa* önemli etkindir. *P. aeruginosa* suşlarında antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç tedavide sorun oluşturmaktadır. Enfeksiyonun tedavisi için ampirik tedavi başlamadan önce antibiyotik duyarlılık paternlerinin bilinmesi

ABSTRACT

Objective: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) disease is characterized with acute exacerbation. Exacerbations are manifested with dyspnea and increased volume and purulence of sputum. Treatment may require the use of bronchodilators and antibiotics. With an increase in airflow restriction it is reported to also increase the risk of exacerbations. Acute exacerbations decrease the quality of life of the patients, cause significant morbidity, mortality and economic hardship. The Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) group classified the COPD patients from 1 to 4. Number of exacerbation is 0.7-0.9 in GOLD 2 and 1.2-2.0 in GOLD 4 per year. The most common bacterial pathogens for acute exacerbation of COPD are *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis*, respectively. *Pseudomonas aeruginosa* is the more important agent for GOLD3 and GOLD4 COPD patients. The rising antimicrobial resistance to *P. aeruginosa* strains is a problem in the treatment. For the treatment of infection, antibiotic susceptibility pattern knowledge before starting empiric therapy may improve effectiveness. The sputum culture and antibiotic resistance tests should be performed if the patient has failed to respond to empirical antibiotic treatment. For this reason, in the current study we aimed to determine

¹ Silivri Ceza İnfaz Kurumu Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İSTANBUL

² Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, TRABZON

³ Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, RİZE

⁴ Fatih Devlet Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, TRABZON

⁵ Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, TRABZON



İletişim / Corresponding Author : Yelda Yazıcı

Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araş. Hast., Mikrobiyoloji Lab., TRABZON

Tel : +09 462 231 53 55 / 2473

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

Geliş Tarihi / Received : 12.08.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 13.09.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.16768

Demir N, Yazıcı Y, Çınarka H, Yılmaz H, Şengül C, Babalık M. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı akut alevlenmesi olan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(4): 179-86.

tedavide etkin olabilir. Ampirik antibiyotik tedavisine cevap alınmaması durumunda hastaya balgam kültürü ve antibiyotik direnç testleri yapılmalıdır. Bu nedenle bu çalışmada, hastanemize başvuran KOAH akut ataklı hastaların balgamından izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç paternlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Haziran 2007 ile Aralık 2010 tarihleri arasında Trabzon Ahi Evren Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran kronik obstrüktif akciğer hastalığı akut atağı olan hastaların balgam örneklerinden izole edilen 78 *P. aeruginosa* suşunun antibiyotik hassasiyet sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. İzolatların tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıkları için Phoenix (Becton Dickinson, USA) bakteri tanımlama sistemi kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınan *P. aeruginosa* suşlarında %42,3 sefepim, %41 levofloksasin, %38,7 siprofloksasin, %29,4 seftazidim, %21,7 sefoperazon / sulbaktam, %17,9 gentamisin, %17,9 piperasilin / tazobaktam, %8,9 imipenem, %5,1 amikasin ve %2,5 meropenem direnci saptanmıştır. İzolatların 28 (%35,9)'i bu antibiyotiklerden tümüne hassas olarak bulunmuştur. Hastaların 46 (%58,9)'sında steroid, 56 (%71,8)'sında geniş spektrumlu antibiyotik kullanım öyküsü tespit edilmiştir.

Sonuç: Kronik obstrüktif akciğer hastalığının akut ataklarında, *Pseudomonas* enfeksiyonlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirli periyotlarla incelenmesi hasta sağlığı ve ülke ekonomisi açısından yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiyotik direnci

resistance patterns in *P. aeruginosa* strains isolated from the sputum with acute exacerbation of COPD patients in our hospital.

Methods: Patients who were admitted to Trabzon Ahi Evren Chest and Cardiovascular Surgery Training and Research Hospital, with acute exacerbation of COPD between June 2007 and December 2010, had their sputum culture results reviewed. The results of antibiotics susceptibilities test in 78 *P. aeruginosa* strains isolated from sputum were evaluated retrospectively. For typing and antibiotic susceptibility of isolates the Phoenix bacterial identification system (Becton Dickinson, USA) was used.

Results: The antibiotic resistance rates of *P. aeruginosa* were 42.3% for cefepime, 41% for levofloxacin, 38.7% for ciprofloxacin, 29.4% for ceftazidime, 21.7% for cefoperazone / sulbactam, 17.9% for gentamicin, 17.9% for piperacillin / tazobactam, 8.9% for imipenem, 5.1% for amikacin and 2.5% for meropenem. Twenty eight (35.9%) of the isolates were found to be sensitive to all of these antibiotics. Forty six (58.9%) of the patients had steroid and 56 (71.8%) of the patients had broad-spectrum antibiotic use.

Conclusion: In acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease, the inspection of antibiotic susceptibility of *Pseudomonas* infection would be beneficial for patient's health and the country's economy.

Key Words: Chronic obstructive pulmonary disease, *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiotic resistance

GİRİŞ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAİ); persistan hava akımı kısıtlanması ile karakterize, genellikle progresif, hava yollarının zararlı gaz ve partiküllere karşı artmış enflamatuvar cevabı ile ilgili, yaygın, önlenemez ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. KOAİ dünya genelinde mortalite ve morbiditenin önde gelen nedenlerinden biri olup, sosyal ve ekonomik

açından giderek artan bir yük oluşturmaktadır (1). KOAİ, tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen, ilerleyici olması ve akut alevlenmeleri nedeniyle hastalar sık sık hastaneye başvurmaktadır. KOAİ'ta akut atak; nefes darlığında artış, günlük performansta azalma, balgam miktarı ve renginde değişiklik, öksürükte şiddetlenme, yüksek ateş ve/veya mental

durumda bozulmanın eşlik edebildiği bir durumdur (2, 3). KOAH'lılarda Küresel Girişim Grubu (GOLD)'nun spirometrik ölçümlerle yapmış olduğu dört grupluk sınıflamada GOLD 3 ağır KOAH, GOLD 4 ise çok ağır KOAH olarak tanımlanmıştır. GOLD 2'de alevlenme sayısı yılda 0,7 - 0,9 iken GOLD 4 hastalarda ise yılda 1,2 - 2,0 alevlenme görülmektedir (1). Akut ataklarda en ciddi tablolar bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle gelişmektedir (2, 3). En sık görülen bakteriyel patojenler *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Moraxella catarrhalis* olmakla birlikte GOLD 3 ve GOLD 4 KOAH'lı hastalarda *Pseudomonas aeruginosa* önemli olmaktadır (1). İlerlemiş KOAH'lı hastaların akut alevlenmelerinin %5 - 10'undan *P. aeruginosa* sorumlu tutulmaktadır (3).

Gram negatif, nonfermentatif basıl olan pseudomonasların antibiyotiklere çabuk direnç geliştirmesi ve birçok antibiyotiğe intrensek dirençli olmalarından dolayı enfeksiyonları her geçen gün daha önemli bir sorun oluşturmaktadır. *P. aeruginosa*, savunma mekanizmalarının zayıfladığı durumlarda, özellikle üriner sistem, solunum sistemi, yara, yanık, dış kulak yolu ve gözde enfeksiyon oluşturabilen ve daha çok hastane enfeksiyonlarına neden olabilen önemli bir patojendir (4, 5). İmmüsupresyon, neoplazi, KOAH ve kistik fibrozis gibi hastalıklarda, çoklu ilaç direnci olan *P. aeruginosa* enfeksiyonları gelişebilmektedir. Bu direnç, teşhis ve tedavi sırasındaki invaziv veya non-invaziv girişimler, uzun süre hastanede yatış, sistemik kortikosteroid tedavisi ve çoklu antibiyotik tedavileri gibi birçok faktöre bağlıdır (5).

Bu çalışmada Haziran 2007 - Aralık 2010 tarihleri arasında KOAH akut alevlenmesi nedeniyle hastanemizde yatırılarak tedavi alan hastaların balgam kültürü sonuçlarını retrospektif olarak tarayarak üremiş olan *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçlarını inceleyip mevcut durumun belirlenmesi ve bunun sonucunda da hastaların uygun ampirik antibiyoterapi almalarının sağlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Haziran 2007-Aralık 2010 tarihleri arasında Trabzon Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen balgam örnekleri retrospektif olarak taranmıştır. KOAH akut atak tanısı alarak hastaneye yatırılan ve balgamında *P. aeruginosa* üreyen hastalar çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen 78 hasta örneğinde üreyen *P. aeruginosa* izolatının antibiyotik duyarlılık sonuçları irdelenmiştir. Birden fazla balgam kültüründe *P. aeruginosa* izole edilen aynı hastaya ait örneklerden hastaların akut atakları sırasındaki ilk örneklerindeki üremeler dikkate alınmıştır. Çalışmada antibiyotik duyarlılık sonuçlarında orta duyarlı olanlar dirençli olarak kabul edilmiştir.

Balgam numunelerinin direkt Gram boyamasında 10X büyütmede her alanda 10'dan az sayıda epitel hücresi ve 25 veya daha fazla lökosit bulunanlar uygun materyal olarak kabul edilmiştir (6). Klinik örnekler %5 koyun kanlı agar, çikolatamsı agar ve EMB (eosin-methylene-blue) agara ekilerek 24 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. Koyun kanlı agarda beta hemoliz yapmış, EMB agarda laktozu kullanmamış, oksidaz ve katalaz testleri pozitif, aromatik meyve kokulu kolonilerin tiplendirme ve antibiyotik duyarlılıkları Phoenix (Becton Dickinson, MD, USA) identifikasyon sisteminde değerlendirilmiştir.

Çalışmaya seftazidim, siprofloksasin, levofloksasin, sefepim, gentamisin, piperasilin-tazobaktam, sefoperazon-sulbaktam, imipenem, amikasin, meropenem antibiyotikleri alınmıştır. Test edilen antibiyotikler "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" onaylı standart sınır değerlerine göre değerlendirilirken (7), CLSI standart sınır değeri bulunmayan sefoperazon-sulbaktam için sefoperazonun sınır değerleri esas alınmıştır.

Hastaneye yattığı sırada inkübasyon periyodunda olmayan ve yatışın 48 saat sonrasında ortaya çıkan enfeksiyon, hastaneden taburcu olduktan sonra 10 gün içinde ortaya çıkan enfeksiyon ya da başka

hastaneden transfer olan hastalarda yatışın ilk 48 saati içinde oluşan enfeksiyon hastane enfeksiyonu olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 78 hastanın 18 (%23,1)'i kadın, 60 (%76,9)'i erkekti. Hastaların yaş ortalaması 67,9 ± 9,5 yıldır. İzole edilen *P. aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere olan dirençleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışmaya alınan 78 izolatın 28 (%35,9)'i Tablo 1'deki antibiyotiklerden tümüne hassas olarak bulunmuştur. Yetmişsekiz *P. aeruginosa* izolatının antibiyotik duyarlılık sonuçları irdelendiğinde yedi (%8,9)'sinin üç farklı antibiyotik grubuna dirençli olduğu gözlenmiştir.

Tablo 1. KOAH'lı olgulardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları

Antibiyotik	Sayı (n=78)	%
Sefepim	33	42,3
Levofloksasin	32	41,0
Siprofloksasin	30	38,7
Seftazidim	23	29,4
Sefoperazon-sulbaktam	17	21,7
Gentamisin	14	17,9
Piperasilin-tazobaktam	14	17,9
İmipenem	7	8,9
Amikasin	4	5,1
Meropenem	2	2,5

Çalışmaya alınan 78 hastanın dosyaları tarandığında 19 (%24,4)'unun hastane enfeksiyonu tanısı aldığı, 46 (%58,9)'ünün steroid ve 56 (%71,8)'ünün geniş spektrumlu antibiyotik kullanım öyküsü olduğu saptanmıştır. Hastaların 70 (%89,7)'i şifa ile taburcu olurken, iki (%2,6)'sinin üçüncü basamak sağlık kuruluşuna sevk edildiği, altı (%7,7)'sinin ise tedavi esnasında eksitus olduğu tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

KOAİ, tedavi edilebilir bir hastalıktır. Bununla birlikte akut alevlenmeler nedeniyle hastalar sık sık hastaneye başvurumaktadırlar. Akut ataklarda en ciddi tablolar bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle gelişir (2). *P. aeruginosa* yüksek düzeyde intrinsik ilaç direncine sahip olan bir bakteridir ve tedavisinde kullanılabilen ilaç seçenekleri kısıtlıdır (8). *P. aeruginosa* için risk faktörleri olan hastalarda; oral yoldan ilaç uygulamak mümkün olduğunda seçilecek ilaç siprofloksasin veya levofloksasindir. Parenteral tedavi gerektiğinde, eldeki seçenekler siprofloksasin veya anti-*psödomonal* aktivitesi olan bir β -laktam antibiyotiktir. Aminoglikozidler gerek görülürse eklenebilir (9). Özellikle hastane enfeksiyonlarında önemli bir etken olan *pseudomonas*ların tedavisi her geçen gün daha önemli bir sorun oluşturmaktadır. Yüksek direnç kazanma potansiyelinden dolayı doğru ilaç seçimi, uygun kombinasyonlarda ve yeterli süre kullanımı önemlidir.

P. aeruginosa tedavisinde kullanılan çeşitli antibiyotiklere direnç durumlarını inceleyen bazı çalışmalardan elde edilen veriler tablo 2'de verilmiştir.

Florokinolonlar *P. aeruginosa* da dahil olmak üzere gram negatif bakteri enfeksiyonlarında sık tercih edilen ilaçlardır. Bu ilaçların özellikle oral kullanımlarının olmasından dolayı florokinolon direnci sık görülmeye başlamıştır. Yurt içi ve yurt dışında yapılan çeşitli çalışmalarda siprofloksasine %11,3 - 46,6, levofloksasine %16,6 - 43 oranlarında direnç bildirmişlerdir (4, 11-23). Bizim çalışmamızda diğer çalışmalarla benzer olarak siprofloksasin direncini %38,7 ve levofloksasin direncini %41 olarak tespit edilmiştir.

Piperasilin-tazobaktam antipseudomonal etkinliğinin yüksek olması nedeni ile tedavide sık tercih edilen beta-laktam grubu antibiyotiktir. Yapılan yurt içi çalışmalarda piperasilin-tazobaktam direncini %25-39 oranlarında bildirmişlerdir (4, 13, 14, 19, 21-23). Belçika ve Fransa'da yapılan çok merkezli

Tablo 2. 2001-2011 yılları arasında yapılan çeşitli çalışmalarda izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında saptanan direnç oranları

Yazarlar, Olgu Sayısı Örnek	Amikasin (%)	Gentamisin (%)	Siprofloksasin (%)	Levofloksasin (%)	Pierasilin- Tazobaktam (%)	Sefoperazon- Sulbaktam (%)	İmipenem (%)	Meropenem (%)	Seftazidim (%)	Sefepim (%)
¹⁰ Yurdakul ve ark. (n=126) Solunum yolu örnekleri	11,1	-	-	-	-	2,3	19,8	3,2	28,6	-
¹¹ Özgenç ve ark. (n=199) Çeşitli klinik örnekler	27	64	40	-	-	-	18	17	23	-
¹² Eldere (n=716) Hastane enfeksiyonu örnekleri	10,5	23,5	24	27,5	17,5	-	-	9,5	28,5	29,5
⁴ Fidan ve ark. (n=40) Çeşitli klinik örnekler	18	-	15	-	25	23	15	20	23	-
¹³ Yücel ve ark. (n=265) Çeşitli klinik örnekler	26	42	30	-	29	-	31	-	40	34
¹⁴ Raja ve ark. (n=505) Çeşitli klinik örnekler	6,73	12,9	11,3	-	9,4	-	9,9	-	10,9	-
¹⁵ Cavallo ve ark. (n=450) Çeşitli klinik örnekler	14	-	32	43	20	-	17	-	22	36
¹⁶ Gad ve ark. (n=19) Solunum yolu örnekleri	11	52	21	32	-	-	-	16	-	26
¹⁷ Kalem ve ark. (n=150) Çeşitli klinik örnekler	33,3	-	46,6	-	31,3	63,3	57,3	50,6	-	-
¹⁸ Kireççi ve ark. (n=92) Çeşitli klinik örnekler	3	16	9	-	-	-	14	-	15	-
¹⁹ Dündar ve ark. (n=665) Çeşitli klinik örnekler	20	28	34	32	29	34	22	21	34	31
²⁰ Aktepe ve ark. (n=123) Çeşitli klinik örnekler	4,9	18,7	33,3	39	69,1	70,7	26,9	26	70	-
²¹ Özyurt ve ark. (n= 350) Çeşitli klinik örnekler	11,4	34,3	14,9	16,6	19,4	22,3	18,9	14,3	60,6	37,1
²² Aktaş ve ark. (n=247) Solunum yolu örnekleri	28	47	47	-	33	-	43	39	33	33
²³ Türk Dağı ve ark. (n=92) Kan kültürü örnekleri	18	35	28	-	18	-	30	-	32	41
Bu çalışmada (n=78)	5,1	17,9	38,7	41	17,9	21,7	8,9	2,5	29,4	42,3

çalışmalarda ise %17,5 - 20 oranında tespit edilmiştir (12, 15). Çalışmamızda bu direnç %17,9 olarak ülkemiz oranlarına göre daha düşük bulunmuştur. Bu direnç düşüklüğü hastanemizde piperasilin tazobaktam kullanımının diğer antipseudomonal antibiyotiklere

oranla daha az kullanılıyor/tercih ediliyor olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Yapılan çalışmalarda seftazidim direncini %10,9-60,6, sefoperazon sulbaktam direncini %2,3 - 63,3, sefepim direncini ise %26-41 oranında bulmuşlardır

(4, 10-19, 21-23). Ayrıca Gül ve ark. hastane enfeksiyonu etkeni olan *P. aeruginosa* izolatlarında seftazidim direncini %50,7, Zer ve ark. sefepim direncini %18,8 olarak bulmuşlardır (24, 25). Çalışmamızda %29,4 seftazidim, %21,7 sefoperazon-sulbaktam ve %42,3 sefepim direnci saptanmıştır.

Karbapenemler beta-laktam grubu antibiyotikler içinde halen en etkili antibiyotik grubu olarak bilinmekle birlikte günümüzde bu antibiyotiklere karşı da bakteriler direnç geliştirmeye başlamıştır. Fransa'da yapılan bir çalışmada %17 imipenem direnci ve Belçika'da yapılan bir araştırmada da %9,5 meropenem direnci bildirilmiştir (12, 15). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda imipenem ve meropenem direncini sırasıyla %14 - 57,3 ve %3,2 - 50,6 olarak bildirilmiştir (4, 10-23). Bu çalışmada imipenem direnci %8,9, meropenem direnci ise %2,5 oranında ve ülkemiz verilerine göre oldukça düşük olarak saptanmıştır. Karbapenem direncinin yüksek olduğu çalışmalar incelendiğinde bu verilerin yoğun bakım ünitelerini içine alarak yapılan çalışmalar olduğu görülmektedir.

Aminoglikozidler; *P. aeruginosa* tedavisinde önemli yer tutan ilaçların başında gelmektedir. Yapılan birçok çalışmada (4, 10-23) gentamisine %12,8 - 64, amikasin %7 - 33 oranında direnç bildirilmekle birlikte çalışmamızda gentamisin direnci %17,9, amikasin direnci %5,1 olarak saptanmıştır.

Antibiyotiklere direnç gelişim oranı o hastanenin yapısı, hastaların özellikleri, hastanedeki invaziv girişim sıklığı ve en önemlisi antibiyotik kullanım politikasına göre değişmektedir (26). American Thoracic Society (ATS) 2001 yılı toplumdan kazanılmış pnömoni tanı ve tedavi rehberinde ise *P. aeruginosa* enfeksiyonu riskini artıran faktörler arasında günde

10 mg'dan fazla olmak üzere kortikosteroid tedavisi, son bir ayda yedi günden fazla geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alınmış olması vurgulanmıştır (27). Bu çalışmadaki olguların %58,9'unda kortikosteroid ve son altı ay içinde %71,8'nin geniş spektrumlu antibiyotik kullanım öyküsü olduğu saptanmıştır.

Toplum kaynaklı pnömoni KOAH hastalarında KOAH olmayan hastalara göre daha yüksek oranda mortalite göstermektedir (28). Yoğun bakım ünitelerini de içine alan çalışmalarda *P. aeruginosa* pnömonisinde %18-49 arasında değişen mortalite bildirilmiştir (5, 29). Bu çalışmadaki hasta grubunda mortalite %7,7 olarak tespit edilmiştir.

P. aeruginosa suşlarının çoklu antibiyotik direnci ülkemiz hastanelerinde önemli bir sağlık sorunudur. Bu bakterilerle gelişecek enfeksiyonlarda hem mortalite ve morbidite artmakta hem de tedavi maliyetleri artarak kişiye ve ülke ekonomisine yük getirmektedir. Bu çalışma verileri de dikkate alınarak hastane olarak direnç gelişimi yüksek olan antibiyotiklerin kullanımının kısıtlanması ve daha dar spektrumlu antibiyotik kullanımının arttırılmasına yönelik uygulamalar başlatılmıştır.

Sonuç olarak göğüs hastalıkları kliniklerinden gelen örneklerin önemli bir kısmının KOAH hastalarından geldiği düşünülmektedir. Bu hasta grubunun balgam örneklerinde üreyen pseudomonasların direnç profillerinin belirli periyotlarla takip edilmesi ampirik antibiyoterapide yol gösterici olabilecektir. Özellikle kültür ve antibiyotik duyarlılık sonuçlarının beklenemeyeceği durumlarda doğru ampirik tedavinin uygulanabilmesi açısından da önemlidir. Böyle bir uygulama ile hem antibiyotiklere karşı direnç gelişim hızının önemli oranda sınırlandırılacağı hem de tedavi maliyetlerinin düşeceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Global Strateji for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2014; available from: <http://www.goldcopd.org/>.
2. Brook I. Antimicrobial management of acute exacerbation of chronic bronchitis in the elderly. *Clin Geriatr*, 2002; 10(12).
3. Murphy TF. *Pseudomonas aeruginosa* in adults with chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med*, 2009; 15: 138-42.
4. Fidan I, Gürelık F.Ç, Yüksel S, Sultan N. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz sıklığı. *ANKEM Derg*, 2005; 19(2): 68-70.
5. Montero M, Dominguez M, Orozco-Levi M, Salvado M, Knobel H. Mortality of COPD patients infected with multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a case and control study. *Infection*, 2009; 37: 16-19.
6. Bilgehan H. Alt solunum yolu enfeksiyonları mikrobiyolojik tanısı. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, 2002; 338-340.
7. Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI); Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2010. <http://www.clsi.org>.
8. Yetkin G, Otlı B, Cicek A, Kuzucu C, Durmaz R. Clinical, microbiologic, and epidemiologic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a University Hospital, Malatya, Turkey. *Am J Infect*, 2006; 34(4): 188-92.
9. Woodhead M, Blasi F, Ewig S, Garau J, Huchon G, Ieven M, et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections - summary. *Society and European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Clin Microbiol Infect*, 2011; 17(6): 1-24.
10. Yurdakul AS, Çalışır HC, Atasever M, Ordulu L, Öğretensoy M. Solunum yollarından elde edilen bakterilerde antibiyotik duyarlılığı. *Solunum Hastalıkları*, 2001; 12: 289-93.
11. Özgenç O, Urbarlı A, Erdenizmenli M, Fidan N, Arı A. *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin çeşitli antimikrobiklere direnç oranlarının araştırılması. *İnfeksiyon Derg*, 2002; 16(2): 179-82.
12. Eldere JV. Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. *J Antimicrob Chemother*, 2003; 51(2): 347-52.
13. Yücel M, Yavuz T, Kaya D, Behçet M, Öztürk CE, Şahin İ. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotiklere direnç oranlarının yıllar içinde değişimlerinin izlenmesi. *ANKEM Derg*, 2006; 20(3): 152-5.
14. Raja NS, Singh NN. Antimicrobial susceptibility pattern of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, in a tertiary care hospital. *J Microbiol Immunol Infect*, 2007; 40(1): 45-9.
15. Cavallo Jd, Hocquet D, Plesiat P, Fabre R, Roussel-Delvallez M on behalf of GERPA: susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials: a 2004 French multicentre hospital study. *J Antimicrob Chemother*, 2007; 59(5): 1021-4.
16. Gad FG, El-Domany RA, Ashour HM. Antimicrobial susceptibility profile of *Pseudomonas* Isolates in Egypt. *J Urol*, 2008; 180(1): 176-181.
17. Kalem F, N. Gündem S, Feyzioğlu B, Arslan U, Tuncer İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg*, 2008; 22(3): 123-6.
18. Kireççi E, Sevinç İ. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, 2008; 22(4): 209-12.

19. Dündar D, Tamer GS. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: üç yıllık değerlendirme. ANKEM Derg, 2009; 23(1): 17-21.
20. Aktepe OC, Gülşah Aşık G, Çetinkaya Z, Çiftçi İH Altındış M. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2010; 40(4), 225-31.
21. Özyurt M, Haznedaroğlu T, Baylan O, Hoşbul T, Ardıç N, Bektöre B. Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas* izolatlarında antibiyotik direnci. ANKEM Derg, 2010; 24(3): 124-9.
22. Aktaş E, Terzi AH, Külah C, Cömert F. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirmesi: çeşitli antibiyotiklere azalan duyarlılık. ANKEM Derg, 2010; 24(4): 188-92.
23. Türk Dağı H, Arslan U, Fındık D, Tuncer İ. Kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. ANKEM Derg, 2011; 25(2): 107-10.
24. Gül M, Şensoy A, Çetin B, Korkmaz F, Seber E. Hastane enfeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında seftazidime duyarlılığın E-Test ve disk diffüzyon yöntemleri ile araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2004; 34: 33-6.
25. Zer Y, Balcı İ, Karslığıl T, Bayram A, Ekşi F. Çeşitli örneklerden izole edilen *Pseudomonas*'ların tiplendirilmesi, antibiyotik duyarlılıkları ve sefepimin anti- *Pseudomonas* etkinliği. KLİMİK Derg, 2000; 13(1): 33-5.
26. Ersöz G, Otağ F, Bayındır İ, Kandemir Ö, Aslan G, Kaya A. Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antibiyotik direnci ve karbapenemlere dirençli suşlar için meropenemin MİK değerleri. ANKEM Derg, 2004; 18(1): 28-31.
27. American Thoracic Society. Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. Am J Respir Crit Care Med, 2001; 163: 1730-54.
28. Ko FW, Ip M, Chan PK, Ng SS, Chau SS, Hui DS. A one-year prospective study of infectious etiology in patients hospitalized with acute exacerbations of COPD and concomitant pneumonia. Respiratory Medicine, 2008; 102: 1109-16.
29. Graczyk J, Szmidi M, Fijałkowski M, Minc P, Cieślak M. *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in patients treated at the hospital for chest diseases. Pneumonol Alergol Pol, 2000; 68(3-4): 101-8.

Chlorella vulgaris'in biyoflokülanlarla sıvı ortamlardan ayrılması

Separation of *Chlorella vulgaris* from liquid phase using bioflocculants

Gizem GÜNAY¹, Aynur Gül KARAHAN¹, Mehmet Lütfü ÇAKMAKÇI²

ÖZET

Amaç: Büyük ölçekte üretilen *Chlorella vulgaris*'in sıvı ortamlardan ayrılması güç ve pahalı bir işlemdir. Bu çalışmada, çeşitli örneklerden izole edilen bakterilerin biyoflokülan aktivitesinin belirlenmesi, biyoflokülantın saflaştırılması ve biyoflokülan kullanılarak *C. vulgaris*'in besiyerinden ayrılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Farklı illerden toplanan toprak ve atık su örneklerinden elde edilen izolatların morfolojik özellikleri ve Gram tepkimesi incelenmiştir. Daha sonra izolatların küme oluşturma aktivitesi spektrofotometrik ölçümler ile belirlenerek en yüksek aktiviteye sahip olan beş suşun 16S rRNA dizi analizi ile moleküler tanısı yapılmıştır. *Bacillus amyloliquefaciens* AS21a'nın küme oluşturma aktivitesinin yüksek ve kararlı olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle biyoflokülantın üretimi ve saflaştırılması işlemlerine bu suşla devam edilmiştir. Saflaştırılan biyoflokülantın yapısal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla protein tayini, karbohidrat tayini ve Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre (FTIR) analizi yapılmıştır. Elde edilen biyoflokülan ham ekstraktının ve saflaştırılmış biyoflokülantın *C. vulgaris*'i çöktürme etkinliği belirlenmiştir.

ABSTRACT

Objective: Separation of *Chlorella vulgaris* from liquid phase is a difficult and expensive process to apply on a large scale. The aim of this work is the determination of bioflocculant activity of some bacterial strains isolated from different resources, purification of bioflocculant and separation of *C. vulgaris* from liquid phase using bioflocculant.

Methods: Morphological properties and Gram reactions isolated from soil and waste water samples obtained from different cities were investigated. Then the flocculating activities of the cell free culture supernatants containing bioflocculant were analyzed by using spectrophotometric method. Five strains exhibited the highest flocculating activity were identified using 16S rRNA gene nucleotide sequence analysis. The flocculating activity of *Bacillus amyloliquefaciens* AS21a was found to be higher and more stable than the other strains. For this reason, this strain was used for production and purification of bioflocculant. The structural properties of the purified bioflocculant were determined by total protein and carbohydrate analysis, and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) spectroscopy analysis. The flocculation efficiency of crude supernatant and purified bioflocculant on *C. vulgaris* was determined.

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ISPARTA

² Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA



İletişim/Corresponding Author : Gizem Günay

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ISPARTA
Tel : +90 538 719 91 19 E-posta/ E-mail : gizem_gu@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 04.06.2014
Kabul Tarihi / Accepted : 01.09.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.47568

Günay G, Karahan AG, Çakmakçı ML. *Chlorella vulgaris*'in biyoflokülanlarla sıvı ortamlardan ayrılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(4): 187-200.

Bulgular: Toprak ve atık su örneklerinden 109 adet suş izole edilmiştir. Beş suş, %40 ve üzeri yüksek küme oluşturma aktivitesine sahiptir. En yüksek aktiviteye sahip olan izolat ise atık sudan izole edilen *B. amyloliquefaciens* AS21a suşu olarak tanımlanmıştır. *B. amyloliquefaciens* AS21a suşundan elde edilen ham ekstrakt, pH'sı 8,0 olan saf kaolin süspansiyonunda %90 düzeyinde küme oluşturma aktivitesi göstermiştir. Analizler, biyoflokülantın %86,44 protein ve %13,56 karbonhidrat içeren bir biyopolimer olduğunu göstermiştir. Biyoflokülantla *C. vulgaris*'in çökeltme etkinliğinin belirlendiği denemede %51,13 düzeyinde başarı elde edilmiştir.

Sonuç: Atık suyun biyoflokülant üreten bakterilerin elde edilmesi için iyi bir kaynak olabileceği sonucuna varılmıştır. Biyoflokülant üretimi ve saflaştırılması açısından optimum koşulların sağlanmasıyla aktivitenin arttırılabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, pH ve kaolin saflığı gibi faktörlerin küme oluşturma etkiliğini etkilediği görülmüştür. Bu nedenle sıcaklık, biyoflokülant miktarı, çalkalama süresi vb. diğer etkenlerin küme oluşturma üzerindeki etkisi incelenmelidir. FTIR analizi, karbonhidrat ve protein tayinleri sonucunda biyoflokülant bileşiminde karbonhidrat içeriğinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle daha önce yapılan çalışmalar ışığında biyoflokülantın büyük molekül ağırlığına sahip olduğu ve bu özelliğın küme oluşumunu olumlu yönde etkilediği düşünülmektedir. *C. vulgaris* ile yapılan çalışmada; algin sıvı ortamdan kısmen ayrılması mümkün olmuştur. Ancak çökme düzeyinin arttırılması amacıyla çalışmalar sürdürülecektir. Kaolinle yapılan denemelerde başarılı sonuç alınması, biyoflokülantın atık su arıtımında kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle biyoflokülantın atık su arıtımında sağlayacağı etkinin daha sonra yapılacak çalışmalarla incelenmesi de düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyoflokülant, *Chlorella vulgaris*, *Bacillus amyloliquefaciens*

Results: 109 strains were isolated from samples of soil and waste water. Five strains have 40% and more high flocculating efficiency. Strain that has the highest activity has been identified as *B. amyloliquefaciens* AS21a which wastewater was isolated. The raw extract obtained from this strain showed about 90% flocculating activity in pure kaolin suspension (pH 8.0). Analysis showed that the bioflocculant is a biopolymer containing 13.56% protein and 86.44% carbohydrate. Finally, the bioflocculant produced by AS21a showed 51.13% flocculating efficiency on freshwater green microalgae *C. vulgaris*.

Conclusion: This study has shown that waste water is a rich source for bioflocculant producing microorganisms. It is believed that flocculating activity will increase at the optimum experimental conditions. Besides that, efficiency of flocculating activity was affected by factors such as pH and purity of kaolin. For this reason, the effects of other factors such as temperature, amount of bioflocculant, agitation time and etc. on the flocculating activity must be examined. Further analysis such as FTIR, carbohydrate and protein analysis showed that the main compositions of the purified bioflocculants were carbohydrates containing some proteins. Therefore, it was concluded that it has a high molecular weight and this property has increased the flocculating activity. Experimental results showed that *C. vulgaris* was partially separated from the liquid phase. However, the experiments will continue for the purpose of increasing the flocculating activity. Getting successfully experimental results with kaolin showed that bioflocculant has a potential use in wastewater treatment. For this reason, it also is thought to analyze the effect of bioflocculant on the wastewater treatment with further studies.

Key Words: Bioflocculant, *Chlorella vulgaris*, *Bacillus amyloliquefaciens*

GİRİŞ

Chlorella vulgaris tek hücreli, fotosentez yapabilen bir tatlı su algidir (1). Günümüzde biyodizel üretimi başta olmak üzere balık yemi vb. birçok alanda kullanılan mikroalglerin elde edilmesi sırasında

yaşanan en önemli güçlüklerden biri uygun maliyette ve yüksek verimliliğe sahip bir hasat tekniğinin olmayışıdır (2, 3). Araştırmacılar, hasat işlemindeki zorlukları ortadan kaldırmak için arayışlara girmiştir.

Bu bağlamda, son yıllarda biyoflokülanlara olan ilgi giderek artmaktadır. Biyoflokülanlarla çöktürmenin maliyeti uygulamadaki diğer yöntemlerden çok daha ucuzdur. Lee ve ark.'nın (2) yaptığı çalışmada; santrifüjle alg hücrelerinin ayrımının maliyeti $0,86/m^3$ Avusturya doları (A\$), flokülantla çöktürmenin $0,61/m^3$ A\$ ve biyoflokülan kullanımının $0,31/m^3$ A\$ olarak belirlenmiştir.

Maliyet açısından üstünlüklerinin yanı sıra biyoflokülanlar; toksik nitelik taşımamaları, biyobozunabilir olmaları ve yüksek aktiviteleri ile atık su arıtımı açısından da büyük umut vaat etmektedir (4, 5). Yapılan çalışmalarda; biyoflokülanlar bakteri, maya, mantar, aktinomiset ve alglerden elde edilmektedir. Daha sonra kaolini çöktürme özellikleri açısından değerlendirilmekte ve biyoflokülanın bileşimi incelenmektedir. Protein, glikoprotein, polisakkarit, lipit ve glikolipitten oluşan biyoflokülanlar belirlenmiştir (6). Biyoflokülanların yapısal özellikleri su içindeki parçacıkların küme oluşturarak çöktürülmesi açısından büyük önem taşımaktadır. İnsanlarda çevre bilincinin artmasına bağlı olarak, çevre dostu teknolojilerin uygulamada kullanılması yönündeki toplumsal talep de artmaktadır.

Bu çalışmada; alg çöktürme ve atık su arıtımı açısından önem taşıyan biyoflokülan üretimi üzerinde durulmuştur. Farklı illerden toplanan atık su ve toprak örneklerinden bakteriler izole edilmiştir. Suşlar; küme oluşturma aktivitelerine göre taranmıştır. En yüksek aktiviteye sahip suşun biyoflokülanı saflaştırılarak bileşimi FTIR analizi ile incelenmiş, toplam karbonhidrat ve protein analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca en yüksek aktiviteye sahip beş suşun 16S rRNA dizi analizi ile tanısı yapılmıştır. *C. vulgaris* ve kaolin ile çalışarak biyoflokülanın çöktürücü etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzmir, Isparta, Antalya, Denizli, Balıkesir ve Bursa illerinden toplanan 19 adet toprak ve Ödemiş Belediyesi Peynir Fabrikaları Atık Su Toplama Merkezi'nden alınan bir adet atık su örneği olmak üzere toplam 20 adet örnek araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Tablo 1'de toplanan toprak örneklerinin alındığı yerler verilmiştir. Ağustos ve Ekim 2012 tarihleri arasında toplanan örnekler, izolasyon işlemlerine kadar $+4$ °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Çalışmada yararlanılan *C. vulgaris* suşu Süleyman Demirel Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden temin edilmiştir.

Tablo 1. Toprak örneklerinin alındığı yerler

Toprak Örneklerinin Alındığı Yerler	
İl	Mevki
İzmir	Ödemiş (tarla, ev bahçesi, yol kenarı, arazi)
	Bozdağ (ağaç altı, dere kenarı)
	Birgi (yol kenarı)
	Merkez (yol kenarı, park)
Isparta	Kampus (ağaç altı)
	Gelendost (okul bahçesi)
Antalya	Merkez (otel bahçesi, ev bahçesi)
Denizli	Merkez (otogar, ev bahçesi)
Balıkesir	Susurluk (yol kenarı)
Bursa	Mudanya (yol kenarı)

1. İzolasyon ve izolatların biyoflokülan aktivitelerinin belirlenmesi

Farklı noktalardan alınan toprak ve atık su örneklerinden 109 adet izolat elde edilmiştir. Elde edilen bu izolatlar, Nutrient Agar (Merck) besiyerinde 25 °C'de 48 sa. inkübe edilmiştir. İnkübasyonun tamamlanmasından sonra suşların koloni morfolojisi, mikroskopik görüntüsü ve Gram boyama sonuçları incelenmiştir (7).

Küme oluşturma aktivitesinin belirlenmesi için suşlar; 100 mL steril Nutrient Broth (Merck) besiyeri bulunan 250 mL'lik erlenlere aşılansak 29 °C'de 48 sa. çalkalamalı inkübatörde (150 d/d) bekletilmiştir. İnkübatör süresi tamamlandıktan sonra bakteri suşlarının besiyerinden ayrılması amacıyla 4 °C'de 10000 d/d 5 dak. santrifüj işlemi uygulanmıştır (8). Daha sonra üst kısmı biyoflokülant ham ekstraktı olarak kullanılmıştır.

Biyoflokülant aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Xia ve ark.'nın önerdiği yöntemden yararlanılmıştır (9). Kaolin süspansiyonu (4 g/L) hazırlanarak 50'şer mL'lik kısımlara ayrılmıştır. Üzerine 1,5 mL %1'lik CaCl₂ (Merck) ve 1 mL biyoflokülant içerdiği düşünölen üst kısım aktarılmıştır. Hazırlanan karışımlar 15-20 s. hızlı bir şekilde karıştırıldıktan sonra 5 dak. sabit bir şekilde çökmeye bırakılmıştır. Örneklerin absorbanşı 550 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu) belirlenmiştir. Aşağıdaki formülden yararlanılarak biyoflokülant aktivitesi hesaplanmıştır.

$$\text{Biyoflokülant aktivitesi (\%)} = \left[\frac{(B-A)}{B} \right] \times 100$$

A; biyoflokülant içeren örneğin absorbanşı,

B; kontrolün absorbanşı

2. İnkübasyon süresi, pH ve kaolin saflığının biyoflokülant aktivitesine etkisi

İzole edilen suşlardan %40 ve üzeri biyoflokülant aktivitesine sahip olan beş adedinin 8, 12, 16, 24 ve 48 sa. sonundaki biyoflokülant aktivitetlerine bakılmıştır (10). En aktif suşdan elde edilen biyoflokülantın pH 6,0, 7,0 ve 8,0'de kaolini çöktürme etkinliği incelenmiştir (10, 11). Ayrıca kaolin saflık düzeyinin biyoflokülant aktivitesine etkisi de belirlenmiştir.

3. Biyoflokülantın saflaştırılması

Biyoflokülant aktivitesi en yüksek olan suş, 25 °C'de 16 sa. çalkalamalı inkübatörde (150 d/d)

inkübe edilmiştir. Saflaştırma, Zheng ve ark.'nın önerdiği yöntemde küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir (4). Bakterinin besiyerinden ayrılması amacıyla 4 °C'de 10000 d/d 5 dak. santrifüj işlemi uygulanmıştır. Uygulamadan sonra üst kısım ile saflaştırma işlemine devam edilmiştir. Soğutulan üst kısım 2:1 oranında +4 °C'deki saf %99,8'lik etil alkol (Sigma) ilave edildikten sonra üst kısım +4 °C'de 12 sa. buzdolabında bekletilmiştir. Örnek, +4 °C'de 19000 d/d 10 dak. santrifüj edilerek, biyoflokülant çöktürülmüştür. Elde edilen çökeltiler, +4 °C'deki fosfat tamponunda (0,01 M, pH 8,0) çözülmüştür. Bu işlemler üç kez tekrar edilmiş, en son elde edilen çökelti aynı tampon içinde çözündürülerek 24 sa. (+4 °C) diyaliz edilmiştir. Biyoflokülant çözeltisi, diyaliz işleminden sonra liyofilizatörde (VirTis) kurutulmuştur.

4. Saf biyoflokülantın küme oluşturma aktivitesi

4.1. Kaolini çöktürücü etki

Elde edilen kuru ve saflaştırma işlemi uygulanmış biyoflokülant fosfat tamponu (0,01 M, pH 8,0) içinde çözündürülmüştür. 50'şer mL kaolin süspansiyonuna 1,5 mL %1'lik CaCl₂ ve 1 mL saf biyoflokülant eklenmiştir. 15-20 s. karıştırılmış ve 5 dak. sabit bir şekilde bekletilmiştir. Süre sonunda 550 nm'de spektrofotometrik ölçümler yapılarak biyoflokülantın küme oluşturma aktivitesi hesaplanmıştır (9).

4.2. *C. vulgaris*'i çöktürücü etki

C. vulgaris'in üretimde kullanılan besi ortamı Bristol besiyeri (pH=7,5) olup, 121 °C'de 15 dak. otoklavda sterilize edilmiştir (12). Sıcaklığı 30 ± 2 °C olan üretim ortamına *C. vulgaris* aşılansak, floresan lamba ışığında 16 sa. aydınlık, 8 sa. karanlık olacak şekilde inkübe edilmiştir.

Üretilmiş kültürlerden 50 mL alınarak CaCl₂ ve biyoflokülant miktarlarının küme oluşturma aktivitesi üzerine etkileri biyoflokülant ham ekstraktı

kullanılarak incelenmiştir. İşlemler Oh ve ark.'na göre yapılmış, ancak ham ekstrakt ve CaCl₂ miktarlarında bazı değişiklikler uygulanmıştır (13). Denemede 2 mL ham ekstrakt ve 2 mL CaCl₂ kullanılarak 10, 20 ve 30. dak. küme oluşturma aktivitesine bakılmıştır. Ayrıca ham ekstrakt miktarı arttırılarak, alg örneğine (pH 10,0) 4 mL üst kısım ve 2 mL CaCl₂ ilave edilmiştir. 1 dak. karıştırıldıktan sonra 10, 20 ve 30. dak. bekletilerek, 680 nm'de ölçümleri yapılmış ve küme oluşturma aktivitesi hesaplanmıştır. Ham ekstrakt ile yapılan denemeler neticesinde en başarılı sonucun alındığı koşullar belirlenmiştir. Saf biyoflokülantın aktivitesine bu koşullarda bakılmıştır. 25'şer mL hazırlanan alg örneğine; 20, 50, 100 ve 200 µL saf biyoflokülant çözeltisi ve 1 mL CaCl₂ eklenerek 1 dak. karıştırılmış ve 10, 20 ve 30 dak. bekletilerek 680 nm'de ölçümleri yapılmıştır.

5. Saf biyoflokülantın bileşiminin belirlenmesi

Saf biyoflokülantın bileşiminin belirlenmesi için Bradford yöntemi ile protein tayini (14), fenol-sülfürik asit yöntemi ile karbonhidrat tayini yapılmıştır (15). Biyoflokülantın FTIR analizi ise 4000-400 cm⁻¹ orta infrared bölgesinde gerçekleştirilmiştir (16). FTIR spektroskopi analizi Süleyman Demirel Üniversitesi, Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yaptırılmıştır.

6. Polimeraz zincir reaksiyonu ile dizi analizi

En yüksek küme oluşturma aktivitesine sahip beş adet suşun tanısı 16S rRNA dizi analizi yönteminden yararlanılarak Refgen Gen Araştırmaları ve Biyoteknolojisi Merkezi'nde (Ankara) yaptırılmıştır. DNA izolasyonu Qiagen DNeasy Blood&Tissue Kiti ile gerçekleştirilmiştir. 1X Taq tampon çözeltisi, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0,4 pmol/µL her bir primer, 1,25 U Taq polimeraz ve 100 ng/µL genomik DNA kalıbı ile son hacim 50 µL olacak şekilde reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Geni çoğaltmak için 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') ve 1492R

(5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3') primerleri kullanılmıştır. Program 94 °C'de 1 dak. sıcaklığı takiben 30 döngü olacak şekilde 94 °C'de 30 s., 55 °C'de 30 s. ve 72 °C'de 45 s. olarak ayarlanmıştır.

7. İstatistik analizi

Küme oluşturma aktivitesine etkili faktörleri kıyaslamak amacıyla, elde edilen verilere varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Veriler arasındaki farklılığın önem düzeyi Duncan çoklu kıyaslama testi ile değerlendirilmiştir (p<0,05). İstatistik analizler SPSS (versiyon 17.0, SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

1. Biyoflokülant üreten suşların belirlenmesi

Toprak ve atık su örneklerinden izole edilen suşların Gram boyama, koloni morfolojisi, ve mikroskopik görünüm sonuçları ve spor oluşturma özelliği incelenmiştir. Elde edilen 109 adet suştan sekiz adedinin Bacillus cinsine ait olduğu belirlenmiştir. Suşlardan 72'sinde küme oluşturma aktivitesi belirlenirken, 29 adet suş aktivite göstermemiştir. 52 adet suş küme oluşturma aktivitesi %1-20 ve 15 adet suşun %20-40 arasında değişmektedir. Beş adet suşun aktivitesi ise %40'ın üstündedir. Bu suşlar ise %62,45 ile AS21, %53,88 ile AS21a, %46,27 ile I51e, %45,65 ile K42b ve %41,52 ile A42a'dır. Suşların adlandırılmasında; örneğin alındığı kaynak ve iller esas alınarak harf seçimi yapılmış, rakamlar ise seyreltme düzeyine göre verilmiştir.

Dizi analizi sonuçlarına göre suşlardan AS21 ve AS21a Bacillus amyloliquefaciens, I51e Pseudomonas koreensis, K42b Microbacterium oleivorans ve A42a ise Chryseobacterium indologenes olarak adlandırılmıştır. Biyoflokülant aktivitesi yüksek beş suşun çeşitli özellikleri ve 16S rRNA dizi analizi ile tür düzeyinde yapılan tanısı Tablo 2'de gösterilmiştir.

2. İnkübasyon süresi, pH ve kaolin saflığının biyoflokülant aktivitesine etkisi

İnkübasyon süresi küme oluşturma aktivitesi üzerinde etkili olmuştur. Şekil 1’de suşların farklı inkübasyon sürelerindeki küme oluşturma aktiveleri verilmiştir.

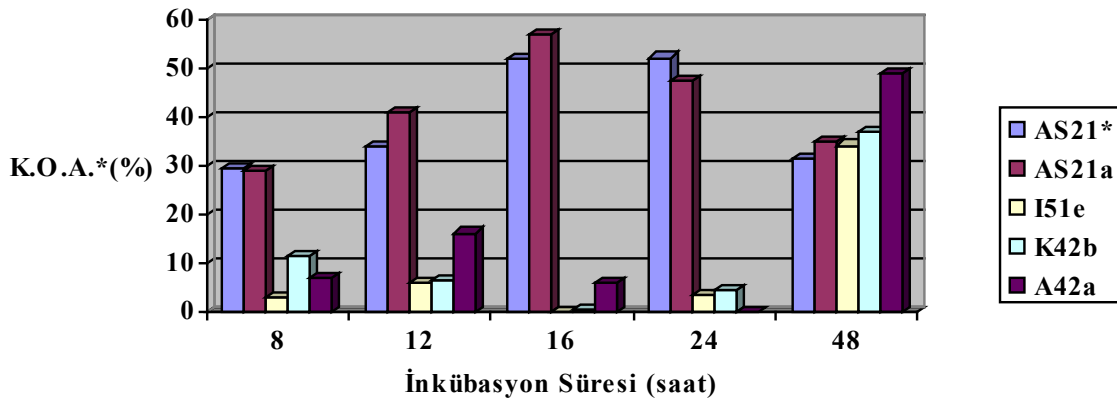
AS21 ve AS21a suşlarının sekiz sa. inkübasyon sonucunda elde edilen %29’luk küme oluşturma

aktivitesi ile sekiz sa. biyoflokülant üretmeye başladığı görülmüştür. Sekiz sa. sonra küme oluşturma aktivitesinin artarak, 16. sa. en yüksek düzeye ulaştığı ve daha sonra aktivitenin azaldığı belirlenmiştir. Diğer üç suşun 8, 12, 16 ve 24 sa. sonunda aktivite göstermediği veya aktivitenin çok düşük olduğu, 48 sa. sonunda ise aktivitenin yüksek bir seviyeye çıktığı görülmüştür.

Tablo 2. Biyoflokülant aktivitesi yüksek suşların bazı özellikleri ve tanı sonuçları

Suşların	Suşlar				
Tanı Sonuçları	AS21	AS21a*	I51e ¹	K42b ²	A42a ³
İzolasyon Kaynağı	Atık su	Atık su	Toprak	Toprak	Toprak
Morfolojik özellikleri	Krem-şeffaf renkte, bombeli, kenarlar girintili-çıkıntılı, yapışkan yapıda	Krem-şeffaf renkte, bombeli, kenarlar girintili-çıkıntılı, yapışkan yapıda	Krem renkte, parlak, kenarlar düz, hafif bombeli, yapışkan yapıda	Turuncu renkli, parlak, kenarlar düz, hafif bombeli, yapışkan yapıda	Koyu turuncu renkte, kenarlar düz, bombeli, yapışkan yapıda
Gram tepkimesi	+	+	-	+	-
Hücre şekli	Çubuk	Çubuk	Çubuk	Çubuk	Çubuk
Spor	+	+	-	-	-
K. O. A.* (%)	62,45	53,88	46,27	45,65	41,52

* *Bacillus amyloliquefaciens*, ¹*Pseudomonas koreensis*, ²*Microbacterium oleivorans*, ³*Chryseobacterium indologenes*, Küme oluşturma aktivitesi (K.O.A.)



Şekil 1. Suşların farklı inkübasyon süreleri sonunda % küme oluşturma aktiveleri (K.O.A.).

* AS21, AS21a; *Bacillus amyloliquefaciens*, I51e; *Pseudomonas koreensis*, K42b; *Microbacterium oleivorans*, A42a; *Chryseobacterium indologenes*, Küme oluşturma aktivitesi (K.O.A.)

İnkübasyon süresinin kısa olması ve tekrarlanan denemelerde küme oluşturma aktivitesini koruması nedeniyle biyoflokülant saflaştırma denemelerine *B. amyloliquefaciens* AS21a ile devam edilmiştir.

Biyoflokülant ham ekstraktının pH 6,0, 7,0 ve 8,0'de seramik yapımında kullanılan kaolini çöktürme düzeyi en yüksek pH 8,0'de belirlenirken, pH 7,0'de en düşük tespit edilmiştir. Bu nedenle bu iki pH değerinde çöktürme aktivitesine kaolin saflığının etkisi de incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 2'de sunulmuştur.

Saf kaolinle de benzer sonuçlar alınmış ve pH 8,0'de pH 7,0'ye kıyasla daha yüksek aktivite belirlenmiştir. Ancak bu aktivite farklılığı istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Kaolin saflığının artması ise küme oluşturma etkinliğini önemli ölçüde arttırmıştır ($p<0,05$). Saf olmayan kaolin süspansiyonunda pH 7,0'de %66 ve pH 8,0'de %78 olarak belirlenen aktivite, saf kaolin kullanıldığında pH 7,0'de %88, pH 8,0'de %90 düzeyine

yükselmiştir. İzolatların biyoflokülant aktivitelerinin belirlenmesinde saf olmayan kaolin kullanıldığı için aktivitenin %60 civarında kaldığı, ancak saf kaolin kullanıldığı takdirde bu oranın %90'a ulaştığı belirlenmiştir. Bu nedenle AS21a'nın biyoflokülant aktivitesinin saflaştırma denemeleri için yeterli olduğu sonucuna varılmıştır.

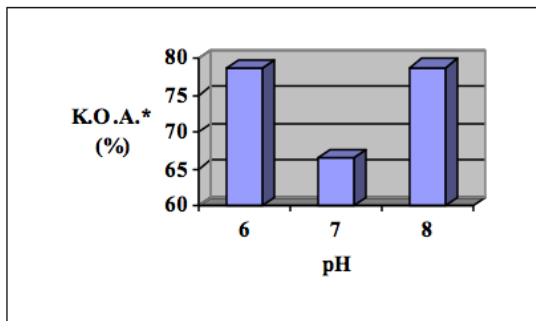
3. Saf biyoflokülantın küme oluşturma aktivitesi

3.1. Kaolinin çöktürülmesi

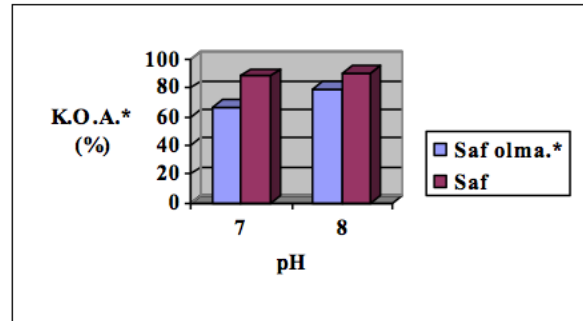
Aktivitesi en yüksek olan AS21a ile saflaştırma işlemine devam edilmiştir. Başlangıçta %60,55 olan aktivite diyaliz işleminden sonra %57,85 olarak tespit edilmiştir.

3.2. *C. vulgaris*'in çöktürülmesi

Alg çöktürülmesi ve pH 10,0'da kaolinle yapılan denemelerde benzer sonuçlar alınmıştır. pH 8,0 ve 10,0 arasında biyoflokülant aktivitesi açısından önemli bir fark görülmediği için denemeler alg kültürünün doğal ortam pH'sında (pH 10,0)



(a)



(b)

Şekil 2. (a). Farklı pH değerlerinin kaolin saflığının oluşturma aktivitesine etkisi (b). Bazı pH değerlerinin küme oluşturma aktivitesine etkisi.

* Saf olma.; Saf olmayan kaolin, Saf; Saf kaolin. Küme oluşturma aktivitesi (K.O.A.)

gerçekleştirilmiştir. Wan ve ark.'nın (17) çalışmasına göre, ham ekstrakt miktarını arttırmanın aktiviteyi olumlu yönde etkileyeceği düşünülerek, 2 mL süpernatant ve 2 mL CaCl₂ kullanılarak yapılan denemede 10, 20 ve 30 dak. bekletmenin küme oluşturma aktivitesine etkisi incelenmiştir (17). 10 dak. bekletilen örnekte aktivitenin %51,13 olduğu belirlenmiştir. Ancak daha uzun bekletme sürelerinin uygulanması aktivitenin azalması ile sonuçlanmıştır. Şekil 3'de deneme sonunda biyoflokülant uygulanmış alg kültürünün 20x büyütme ile belirlenen mikroskobik görüntüsü ve erlende küme oluşturmuş *C. vulgaris* kültürüne ait görüntüsü verilmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada; ham ekstrakt miktarı arttırılarak 4 mL kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, 10. dak. %39,50 ile bir önceki denemeden daha düşük küme oluşturma aktivitesi elde edilmiştir. Bunun yanı sıra diğer denemelerde olduğu gibi en yüksek aktivite 10. dakikada görülmüştür.

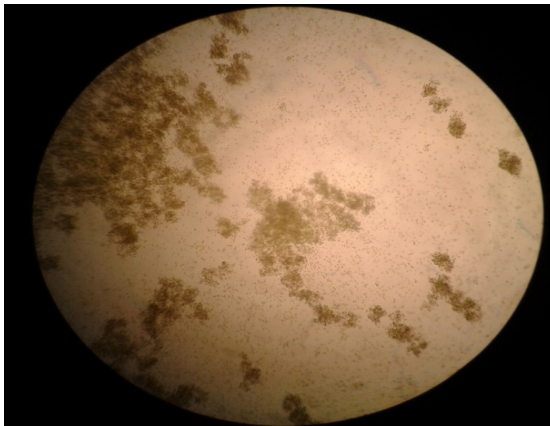
Saf biyoflokülant miktarı ve bekletme süresinin arttırılmasıyla yapılan denemelerde, 50 µL saf

biyoflokülant ilavesinde 10. ve 20. dakikada, 100 µL'de ise 10. dakikada düşük de olsa aktivite belirlenmiştir. 20 ve 200 µL saf biyoflokülant ilave edilen örneklerde ise aktivite elde edilememiştir.

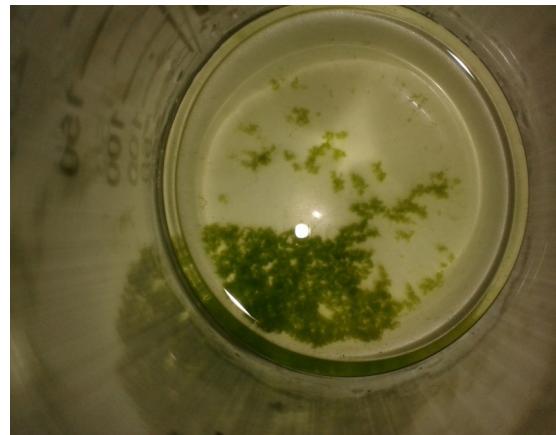
4. Biyoflokülantın bileşimi

Saflaştırılan biyoflokülantın karbonhidrat düzeyi %86,44, protein düzeyi ise %13,56'dır.

Kurutulmuş saf biyoflokülantın yapısal ve fonksiyonel özelliklerini belirlemek amacıyla FTIR analizi yapılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. 3257 cm⁻¹'deki belirgin pik polimerik -OH gerilmesinden kaynaklanan hidroksil gruplarına özgüdür (11). Aynı bölge eter bileşiklerinin varlığına da işaret etmektedir. 1405-1384 cm⁻¹'deki pikler ise biyoflokülantın fenol veya üçüncül alkol grupları içerdiğini göstermektedir. 1578 cm⁻¹'deki pik amino bileşiklerin ve polisakkaritlerin pik oluşturduğu 1650-1550 cm⁻¹'lik alanda yer almaktadır. Ayrıca karboksil grupları 1578-1384 cm⁻¹ aralığındaki 6 piki oluşturmuştur (18). Biyoflokülantın -OH, -COOH ya da COO- grupları ve parçacıkların yüzeyindeki -H ve -OH grupları arasında

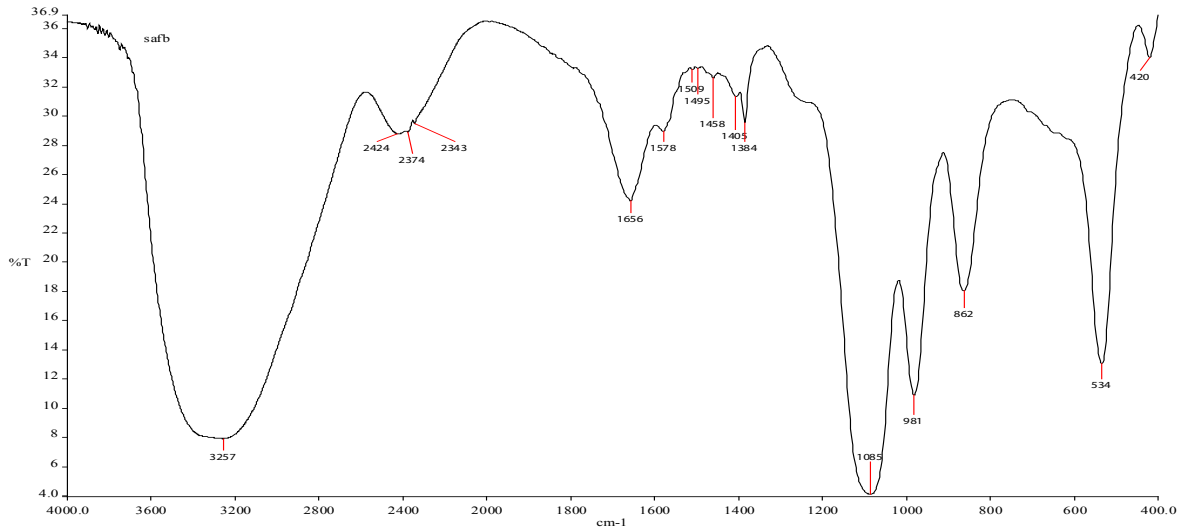


(a)



(b)

Şekil 3. (a). Alg kültürünün 20x büyütme ile mikroskobik görüntüsü (b). Küme oluşturmuş *C. vulgaris* kültürü



Şekil 4. Biyoflokülantın FTIR spektrumu

hidrojen bağı oluşabilmektedir (11). Biyoflokülantta metil grubu bulunmamaktadır. 1656 cm^{-1} 'deki pik, asitlerin ve amitlerin bileşimde yer aldığını göstermektedir. Diğer şeker türevleri 1085 cm^{-1} 'de pik vermiştir. Buna ilaveten bu bölgede, COOC ester bağlarının asimetrik gerilme salınımindan kaynaklanan pikler de oluşmaktadır (19). Ayrıca, biyoflokülantın bileşiminde aromatik halkalar ve çeşitli şeker bileşenleri de bulunmaktadır. Orta infraret bölgede yer alan gruplar ve özellikleri Şekil 4'de verilmiştir (14, 16, 20).

TARTIŞMA

1. Biyoflokülant üreten suşların belirlenmesi

Biyoflokülant çalışmalarında kullanılan suşların önemli bir bölümü *Bacillus* cinsinin çeşitli türlerindedir. *Bacillus* sp. (4, 10, 21, 22), *B. subtilis* (8, 23, 24), *B. mojavensis* (25), *B. licheniformis* (26) ve *B. mucilaginosus* (27, 28) bu türlere örnektir. Bu nedenle izolasyon

sonucu elde edilen *Bacillus* sp. olduğu belirlenen suşların biyoflokülant aktivitesi gösterebileceği düşünülmüştür.

Abd-El-Haleem ve ark.'nın (11) yaptığı çalışmaya göre, *Bacillus* suşlarından elde edilen üç farklı üst kısım küme oluşturma aktiviteleri %76, 79,8 ve 85,2 olarak belirtilmiştir (11). Bu çalışmada kullanılan suşların biyoflokülant aktiviteleri kısmen düşük olmakla birlikte, bu duruma denemelerde biyoflokülant ham ekstraktı kullanılmış olmasının ve kaolinin saflık düzeyinin etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

2. İnkübasyon süresi, pH ve kaolin saflığının biyoflokülant aktivitesine etkisi

Farklı mikroorganizmaların biyoflokülant üretimi için gereksinim duyduğu inkübasyon süreleri farklılık göstermekte ve bu süre 24-60 sa. arasında değişmektedir. *Bacillus* cinsinden iki farklı türün (*B. mojavensis* 32A, *B. mucilaginosus* GY03) inkübasyon süreleri arasında bile büyük farklılık bulunmaktadır

(25, 28). Literatürlerde; *B. amyloliquefaciens* türüne ait biyoflokülant üreten bir suşa rastlanmamıştır. Bu açıdan elde edilen sonucun orijinal olduğu söylenebilir. Bunun yanı sıra AS21a, kısa sürede (16 sa.) biyoflokülant üretimiyle de üstünlük göstermektedir. İnkübasyon süresinin kısalması, zaman ve enerji tasarrufu açısından önemlidir. Büyük ölçekli üretimlerde kısa inkübasyon süresi, maliyeti düşüren unsurlar arasında yer almaktadır.

Farklı mikroorganizmalardan elde edilen biyoflokülantların en yüksek küme oluşturma aktivitesini gösterdikleri pH'larda farklı olabilmektedir. Örneğin; *Paceilomyces* sp. biyoflokülantı pH 4-7,5 aralığında en yüksek aktiviteyi göstermektedir. *Proteus mirabilis*'den elde edilen biyoflokülant ise, asit pH'larda düşük küme oluşturma aktivitesine sahipken, pH'nın 7,5'e yükselmesiyle aktivite artmakta ve pH 9,5'e kadar bu aktivite korunmaktadır (29, 30).

3. Saf biyoflokülantın küme oluşturma aktivitesi

3.1. Kaolinin çöktürülmesi

AS21a suşunun biyoflokülant saflaştırma işlemlerinin başlangıcında %60,55 olan aktivitesi diyaliz işleminden sonra %57,85 olarak tespit edilmiştir. Saflaştırma işlemleri sonucunda belirlenen aktivitenin farklılık göstermesi, uygulanan saflaştırma işlemlerinin aktivite üzerinde etkili olduğunu görülmüştür. Benzer şekilde Abd-El-Haleem ve ark.'nın (11) yaptığı çalışmada, *Bacillus* sp. QUST2, QUST6 ve QUST9 suşlarının ham ekstrakt aktiviteleri sırasıyla %79,8, %85,6 ve %76 olup saf biyoflokülant aktiviteleri ise sırasıyla %85, %81 ve %75 belirlenmiştir.

3.2. *C. vulgaris*'in çöktürülmesi

C. vulgaris bazik koşullarda gelişen bir algdir. Bu nedenle *C. vulgaris*'in geliştirildiği ve pH'sı 10,0 olan Bristol besiyerinde biyoflokülant etkisiyle algin çökeltmesi önem taşımaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda; küme oluşturma aktivitesinin bazik pH değerlerinde, asidik pH'ya göre daha yüksek olduğu ve biyoflokülant aktivitesi açısından bazik pH değerleri arasında büyük farklar olmadığı ileri sürülmüştür (13, 17, 31). Bu çalışmada da pH 8,0 ve 10,0 arasında biyoflokülant aktivitesi açısından önemli bir fark görülmediği için denemeler alg kültürünün doğal gelişme pH'sında (pH 10,0) gerçekleştirilmiştir. Böylece *C. vulgaris*'in besiyerinden ayrılması işlemleri sırasında pH ayarlaması gerekmeyeceği için maliyetin düşürülmesi de mümkün olabilecektir.

Ham ekstrakt ile yapılan denemelerde %51,13 düzeyinde küme oluşturma aktivitesi elde edilmiştir. Ancak saf biyoflokülantın miktarı ve bekletme süresinin arttırılmasıyla yapılan çalışmalarda; tüm çabalara rağmen ham ekstrakt ve saf kaolinle elde edilen sonuçlara ulaşamamıştır. Saflaştırılmış biyoflokülantın elde edilmesinde optimum koşulların sağlanması ve algin çöktürülmesinde şartların iyileştirilmesi ile aktivitenin arttırılabileceği düşünülmektedir.

4. Biyoflokülantın bileşimi

4.1. Biyoflokülantın toplam karbonhidrat ve protein miktarı

Farklı mikroorganizmalar tarafından üretilen biyoflokülantların bileşenleri ve bu bileşenlerin miktarları farklılık göstermektedir. İncelenen biyoflokülantların yapısında karbonhidratlar, proteinler, lipitler ve organik asitler yer alabilmektedir. Suh ve ark.'nın (32) yaptığı çalışmada; *Bacillus*

sp. DP-152 suşundan elde edilen biyoflokülantın bileşiminde %82,4 düzeyinde polisakkaritin yanı sıra asetik asit, pürivik asit ve üronik asidin bulunduğu tespit edilmiştir. Biyoflokülantın molekül ağırlığı ise 2×10^6 Da olarak ölçülmüştür. *Bacillus mucilaginosus* MBFA9 biyoflokülantının %93 düzeyinde içerdiği karbonhidratın yanında üronik asit, nötral şeker ve amino şekerin de bulunduğu, ancak bileşiminde proteinin bulunmadığı bildirilmiştir. %99,6 küme oluşturma aktivitesine sahip olan biyoflokülantın molekül ağırlığı ise $2,6 \times 10^6$ Da'dur (28). Diğer mikroorganizmalar ile yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlara rastlanmıştır. *Aspergillus parasiticus*'dan elde edilen biyoflokülantın %76,3'ünün karbonhidrat ve %21,6'sının proteinden oluştuğu belirlenmiştir. Biyoflokülantın molekül ağırlığı $3,2 \times 10^5$ Da tespit edilmiştir (33). Çalışmaların sonuçları kıyaslandığında ise karbonhidrat miktarı daha fazla olan biyoflokülantın molekül ağırlığının daha büyük olduğu ve bunun küme oluşturma aktivitesini olumlu yönde etkilediği görülmektedir. Bu çalışmada; saflaştırılan biyoflokülantın yapısında %86,44 düzeyinde karbonhidrat, %13,56 düzeyinde ise protein bulunmasının çöktürme aktivitesinin artması açısından üstünlük yarattığı düşünülmektedir. Karbonhidrat içeriğinin yüksekliği molekül ağırlığını da arttırdığından, biyoflokülant çözeltisi yüksek bir küme oluşturma aktivitesi göstermiştir.

4.2. FTIR analizi

FTIR spektrumunda -OH gruplarının varlığı bir ya da birden fazla su molekülü ile hidrojen bağı yapabileceği

olasılığını göstermektedir. Bu da biyoflokülantın suda iyi bir şekilde çözünür olduğunun göstergesidir (11). Bunun yanı sıra hidroksil grubu şeker halkasındaki OOH ya da ONH'nin salınımından da köken alabilmektedir (19). $1578-1384 \text{ cm}^{-1}$ aralığındaki altı piki oluşturan karboksil grupları, biyoflokülant-iyon-parçacık ağının oluşumundan sorumlu işlevsel gruplardandır (18). FTIR analizinde elde edilen tüm sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde; biyoflokülantın protein içeren bir heteropolisakkarit olduğu sonucuna varılabilir. Spektrofotometrik yöntemle yapılan karbonhidrat ve protein tayinleri bu sonuçla uyum göstermektedir. Ancak biyopolimerin yapıtaşlarının tam olarak anlaşılabilmesi kromatografik analizlerle mümkündür.

Birçok alanda kullanılan mikroalglerin biyokütle hasadında çeşitli yöntemler bulunmasına rağmen bu işlemin daha kolay, ucuz ve çevreye zarar vermeden gerçekleştirilmesi için farklı bir yöntem arayışına gidilmiştir. Birçok olumlu yönleri ile umut vaat eden biyoflokülantlar; yüksek hasat verimliliği, biyolojik olarak parçalanabilir olması ve toksik olmaması ile son zamanlarda mikroalg hasadının yanı sıra atık su arıtımı araştırmaların da odak noktası haline gelmiştir. Bu nedenle, yüksek aktiviteye sahip *B. amyloliquefaciens* AS21a suşu biyoflokülantının mikroalg hasadında kullanılmasıyla ilgili çalışmaların sürdürülmesi, ayrıca atık su arıtımı alanında da araştırmaların yapılması gerekmektedir. Böylelikle, elde edilen olumlu sonuçlar ile ülkemiz ve dünyadaki bazı çevresel sorunların önüne geçmek mümkün olabilecektir.

TEŞEKKÜR

Çalışmada kullanılan *C. vulgaris* suşu Süleyman Demirel Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Sevgi Savaş'dan sağlanmıştır. Kendilerine teşekkür ederiz.

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisansını tamamlayan Gizem Günay'a ait yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır. Tez çalışması, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 3286-YL1-12 nolu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı SDÜ BAP Koordinasyon Birimi'ne de teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Özdiş Ö. Krom (VI) birikiminin *Chlorella vulgaris*'te hücre sayısı, klorofil, büyüme hızı, protein ve şeker miktarlarına etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.
2. Lee AK, Lewis DM, Ashman PJ. Energy requirements and economic analysis of a full-scale microbial flocculation system for microalgal harvesting. *Chem Eng Res and Design*, 2010; 88: 988-96.
3. <http://w3.gazi.edu.tr/~tahir/alg/resim.htm> (08.06.2013).
4. Zheng Y, Ye ZL, Fang XL, Li YH, Cai WM. Production and characteristics of a bioflocculant produced by *Bacillus* sp. F19. *Bioresour Technol*, 2008; 99: 7686-91.
5. Jia B, Yu J. The research status and development trend of microbial flocculant. *Physics Procedia*, 2012; 24: 425-8.
6. Zheng H, Gao Z, Yin J, Tang X, Ji X, Huang H. Harvesting of microalgae by flocculation with poly (c-glutamic acid). *Bioresour Technol*, 2012; 112: 212-20.
7. Karahan AG, Arıdoğan B, Çakmakçı ML. Genel mikrobiyoloji uygulama kılavuzu. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, 2002.
8. Vijayalakshmi SP, Raichur AM. The utility of *Bacillus subtilis* as a bioflocculant for fine coal. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2003; 29: 265-75.
9. Xia S, Zhang Z, Wang X, Yang A, Chen L, Zhao J, et al. Production and characterization of a bioflocculant by *Proteus mirabilis* TJ-1. *Bioresour Technol*, 2008; 99: 6520-7.
10. Feng DL, Xu SH. Characterization of bioflocculant MBF3-3 produced by an isolated *Bacillus* sp. *World J Microbiol Biotechnol*, 2008; 24: 1627-32.
11. Abd-El-Haleem DAM, Al-Thani RF, Al-Mokemy T, Al-Marii S, Hassan F. Isolation and characterization of extracellular bioflocculants produced by bacteria isolated from Qatari ecosystems. *Pol J Microbiol*, 2008; 57 (3): 231-9.
12. http://www.dls.ym.edu.tw/ol_biology2/ultranet/Media.html (14.12.2000).

13. Oh HM, Lee SJ, Park MH, Kim HS, Kim HC, Yoon JH, et al. Harvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus* sp. AM49. *Biotechnol. Lett*, 2001; 23: 1229-34.
14. Lu WY, Zhang T, Zhang DY, Li CH, Wen JD, Du LX. A novel bioflocculant produced by *Enterobacter aerogenes* and its use in defecating the trona suspension. *Biochem Eng J*, 2005; 27: 1-7.
15. Nomura T, Araki S, Nagao T, Konishi Y. Resource recovery treatment of waste sludge using a solubilizing reagent. *J Mater Cycles Waste Manag*, 2007; 9: 34-9.
16. Nwodo UU, Agunbiade MO, Green E, Nwamadi M, Rumbold K, Okoh AI. Characterization of an exopolymeric flocculant produced by a *Brachybacterium* sp. *Materials*, 2013; 6: 1237-54.
17. Wan C, Zhao XQ, Guo SL, Alam MA, Bai FW. Bioflocculant production from *Solibacillus silvestris* W01 and its application in cost-effective harvest of marine microalga *Nannochloropsis oceanica* by flocculation. *Bioresour Technol*, 2013; 135: 207-12.
18. Auhim HS, Odaa NH. Optimization of flocculation conditions of exopolysaccharide bioflocculant from *Azotobacter chroococcum* and its potential for river water treatment. *J Microbiol Biotech Res*, 2013; 3(3): 93-9.
19. Xiong Y, Wang Y, Yu Y, Li Q, Wang H, Chen R, et al. Production and characterization of a novel bioflocculant from *Bacillus licheniformis*. *Appl Environ Microbiol*, 2010; 76 (9): 2778-82.
20. <http://chemistry.oregonstate.edu/courses/ch361-464/ch362/irinterp.htm> (06.07.2013).
21. Kumar GC, Joo HS, Kavali R, Choi JW, Chang CS. Characterization of an extracellular biopolymer flocculant from a haloalkalophilic *Bacillus* isolate. *World J Microbiol Biotechnol*, 2004; 20 (8): 837-43.
22. Salehizadeh H, Vossoughi M, Alemzadeh I. Some investigations on bioflocculant producing bacteria. *Biochem Eng J*, 2000; 5: 39-44.
23. Sathiyarayanan G, Seghal Kiran G, Selvin J. Synthesis of silver nanoparticles by polysaccharide bioflocculant produced from marine *Bacillus subtilis* MSBN17. *Colloids Surf B: Biointerf*, 2013; 102: 13-20.
24. Bajaj IB, Singhal RS. Sequential optimization approach for enhanced production of poly(γ -glutamic acid) from newly isolated *Bacillus subtilis*. *Food Technol Biotechnol*, 2009; 47 (3): 313-22.
25. Elkady MF, Farag S, Zaki S, Abu-Elreesh G, Abd-El-Haleem D. *Bacillus mojavensis* strain 32A, a bioflocculant-producing bacterium isolated from an Egyptian salt production pond. *Bioresour Technol*, 2011; 102: 8143-51.
26. Li Z, Zhong S, Lei H, Chen R, Yu Q, Li H. Production of a novel bioflocculant by *Bacillus licheniformis* X14 and its application to low temperature drinking water treatment. *Bioresour Technol*, 2009; 100: 3650-6.
27. Lian B, Chen Y, Zhao J, Teng H, Zhu L, Yuan S. Microbial flocculation by *Bacillus mucilaginosus*: applications and mechanisms. *Bioresour Technol*, 2008; 99: 4825-31.
28. Deng SB, Bai RB, Hu XM, Luo Q. Characteristics of a bioflocculant produced by *Bacillus mucilaginosus* and its use in starch wastewater treatment. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003; 60: 588-93.
29. Salehizadeh H, Shojaosadati SA. Extracellular biopolymeric flocculants: recent trends and biotechnological importance. *Biotechnol Adv*, 2001; 19: 371-85.
30. Zhang Z, Xia S, Zhao J, Zhang J. Characterization and flocculation mechanism of high efficiency microbial flocculant TJ-F1 from *Proteus mirabilis*. *Colloids Surf B: Biointerf*, 2010; 75: 247-51.

31. Teixeira CMLL, Kirsten FV, Teixeira PCN. Evaluation of *Moringa oleifera* seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. *J Appl Phycol*, 2012; 24: 557-63.
32. Suh HH, Kwon GS, Lee CH, Kim HS, Oh HM, Yoon BD. Characterization of bioflocculant produced by *Bacillus* sp. DP-152. *J Ferment Bioeng*, 1997; 84 (2): 108-12.
33. Deng S, Yu G, Ting YP. Production of a bioflocculant by *Aspergillus parasiticus* and its application in dye removal. *Colloids Surf B: Biointerf*, 2005; 44: 179-86.

Anaerop bakterilerin neden olduğu toplum kaynaklı plevrapulmoner enfeksiyona bağlı gelişen ölümcül sepsis vakası *

A case of community-acquired pleuropulmonary infection and fatal septicemia caused by anaerobic bacteria

Gülhan YAĞMUR¹, Hüsrev DEMİREL², Muhammed Feyzi ŞAHİN², Arzu AKÇAY³, Sermet KOÇ²

ÖZET

Anaerop mikroorganizmalar plevrapulmoner enfeksiyonlarda önemli bir rol oynar. Bu enfeksiyonlarda en yaygın görülen anaeroplara *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium nucleatum* ve *Bacterioides* spp.'dir. *Gemella morbillorum* ise plevrapulmoner enfeksiyonlara nadiren neden olabilen bir bakteridir. Bu raporda evde ölen, epilepsi hikayesi olan 38 yaşındaki kadında anaerop bakterilere bağlı gelişen plevrapulmoner enfeksiyon ve sepsis olgusu sunulmaktadır. Vakaya yapılan otopside sol akciğerin ileri derecede kollabe olduğu görüldü. Sol göğüs boşluğundan sarı renkli, kötü kokulu 1200 mL sıvı boşaltıldı. Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen postmortem örneklerden aerop ve anaerop kültürler yapıldı. Anaerop kültürler için kavanozda kuru sistem (GENbox-Biomerieux, Fransa), bakteri tanımlamaları için API Rapid ID32A (Biomerieux, Fransa) kullanıldı. Aerop kültürlerde üreme olmadı. Kan ve dalak doku kültüründe *Anerococcus prevotii*, püvy materyalinde *Anerococcus prevotii* ve *Fusobacterium nucleatum*, akciğer doku kültüründe *Gemella morbillorum* üredi. Anaerop bakteriler toplum kaynaklı pnömonilerde önemli bir etken grubu olmasına rağmen, kültür ve izolasyonda gecikmelerden dolayı ciddi ve hayatı tehdit edici enfeksiyonlara neden olmaktadır. Postmortem olguların otopsi sırasında, daha kolay

ABSTRACT

Anaerobic microorganisms play a major role in pleuropulmonary infections. *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium nucleatum* and *Bacterioides* spp. are the most commonly seen anaerobes in this infections. *Gemella morbillorum* is a rare cause of pleuropulmonary infections. We report a case of pleuropulmonary infection and septicemia due to anaerobic bacteria in a 38 years old woman with history of epilepsy, who died at home. At the autopsy, her left lung was seen to be collapse severely. 1200 mL of yellow smelly fluid was drained from the left chest cavity. Aerobic and anaerobic cultures were done on postmortem specimens which were sent to the Microbiology Laboratory. The anaerobic cultures were performed in anaerobic jar using GENbox (Biomerieux, France). The isolates were identified by API Rapid ID32A (Biomerieux, France). Aerobic cultures were negative. *Anerococcus prevotii* was isolated from blood and spleen tissue culture, *Anerococcus prevotii* and *Fusobacterium nucleatum* was isolated from fluid material culture, *Gemella morbillorum* was isolated from lung tissue culture. Anaerobic bacteria are an important factor in community-acquired pneumonia, which become serious and life-threatening infections because of delayed culture and isolation. During the

* Bu olgu sunumu 10-13 Kasım 2013 tarihleri arasında Belek-Antalya'da yapılan '2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi' nde poster olarak sunulmuştur.

¹ Adli Tıp Kurumu, Postmortem Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İSTANBUL

² Adli Tıp Kurumu, Otopsi Şubesi, İSTANBUL

³ Adli Tıp Kurumu, Histopatoloji Şubesi, İSTANBUL



İletişim / Corresponding Author : Gülhan YAĞMUR

Adli Tıp Kurumu, Postmortem Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İSTANBUL

Tel : +90 505 608 82 46

E-posta / E-mail : gyagmur1970@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 05.12.2013

Kabul Tarihi / Accepted : 24.01.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.56887

Yağmur G, Demirel H, Şahin MF, Akçay A, Koç S. Anaerop bakterilerin neden olduğu toplum kaynaklı plevrapulmoner enfeksiyona bağlı gelişen ölümcül sepsis vakası. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(4): 201-6.

ve uygun şartlarda örnekleme yapılabilmesi, anaerop bakterilerin izolasyonuna ve tanımlanmasına katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Anaerop bakteriler, plevrapulmoner enfeksiyon, sepsis

postmortem autopsy suitable conditions for sampling will contribute to the identification of anaerobic bacteria.

Key Words: Anaerobic bacteria, pleuropulmonary infection, septicemia

GİRİŞ

Plevrapulmoner anaerop enfeksiyonlar, altta yatan predispozan faktörler eşliğinde (alkolizm, epilepsi ve zayıf oral hijyen vb) orofarengial aspirasyona bağlı olarak gelişen morbiditesi ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlardır (1, 2). Anaerop akciğer enfeksiyonları sıklıkla aspirasyon pnömonisi şeklinde başlamakta, tedavi eksikliğine bağlı akciğer apsesi ve plevral boşluğa yayılım sonucu ampiyem tablosu gelişmektedir (1, 3). Toplum kökenli pnömonilerde anaeroplara tek başına etken iken, hastane kökenlilerde nazokomiyal aerop patojenlerle birlikte görülmektedir (4).

Toplum kökenli pnömonilerde en sık rastlanan anaerop etkenler; *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium nucleatum* ve *Bacterioides* spp. olarak sıralanabilir (5). *Gemella morbillorum*, pulmoner ve plevral enfeksiyonlarda nadiren etken olabilen mikroaerofilik bir bakteridir (6, 7).

Bu makalede, uzun yıllardır epilepsi hastalığı olan ve tedavi edilmeyip evde ölen 38 yaşındaki kadın vakanın, postmortem kültürlerinde üreyen anaerop bakterilerin neden olduğu, plevrapulmoner enfeksiyona bağlı gelişen sepsis olgusu sunulmuştur.

OLGU

Otuzsekiz yaşında, 153 cm boyunda, 34 kg ağırlığında kaşektik görünümdeki kadın vaka evde ölüm nedeniyle otopsi yapılmak üzere Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesine gönderilmiştir. Hikayesinde;

uzun yıllardır epilepsi hastası olduğu, beş yıl kadar önce sadece iki ay antiepileptik ilaç kullandığı, hastalığına yönelik takiplerinin yapılmadığı, son aylarda epileptik ataklarının sıklıkla olduğu, hareketlerinde yavaşlama, iştahsızlık ve öksürük şikayetleri olması üzerine ölümünden yaklaşık iki ay önce hastaneye götürüldüğü ancak uyumsuz davranışlar sergilemesi ve tedaviyi reddetmesi nedeniyle iki gün sonra taburcu edildiği öğrenilmiştir.

Morg İhtisas Dairesinde, ölümünden yaklaşık 18-20 saat sonra otopsi yapılan vakanın sağ akciğeri, göğüs duvarına ileri derecede yapışık bulunmuştur. Sol akciğer ileri derecede kollabe görünümde olup, yüzeyi kirlili sarı renkli, kötü kokulu materyalle sıvalı ve sol göğüs duvarına yapışık halde bulunduğu görülmüştür. Sol göğüs boşluğundan kirlili sarı renkli kötü kokulu 1200 mL sıvı boşaltılmıştır (Resim 1).

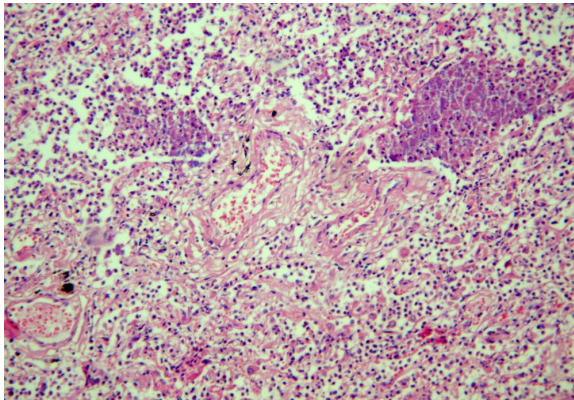
Postmortem akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde; taze lobuler pnömoni, fokal abse formasyonu, yaygın ödem, bronşit, bronşiolit, hiperemi, atelektazi alanları, organize olan irinli plevrit (Resim 2); miyokard ve karaciğer dokusunda iltihabi staz varlığı; böbrek, beyin ve beyincik dokusunda hiperemi görüldüğü bildirilmiştir.

Vakadan steril yöntemlerle alınan kan ve pü materyali vaka başında anaerop şişelere, diğer doku örnekleri ise steril kaplara koyularak Postmortem Mikrobiyoloji Laboratuvarına bekletilmeden gönderilmiştir. Laboratuvara gönderilen örneklerden



Resim 1. Vakamın sol göğüs boşluğunda biriken sarı renkte pürülan sıvı

(akciğer, dalak, karaciğer ve sol göğüs boşluğundan alınan pü) aerop bakteriler için kanlı agar, çukulata agar, ve MacConkey agara ekimleri yapılmıştır. BacT/ALERT (Biomerieux, Fransa) anaerop şişelere ekimi yapılan kan ve pü materyali inkübe edilmiştir. Pozitif sinyal veren iki şişenin ve küçük parçalara ayrılarak zenginleştirilmiş tiyoglikolat besiyerinde anaerop koşullarda bekletilen dokuların, iki gün sonra 'Schaedler' agara (SA) ekimleri yapılmıştır. Besiyerleri, anaerop kavanoza yerleştirilerek kuru sistem gaz paketi (GENbox-Biomerieux, Fransa) ile oksijensiz ortam sağlanmıştır. Bütün besiyerleri 35-37 °C'de inkübe edilmiştir.



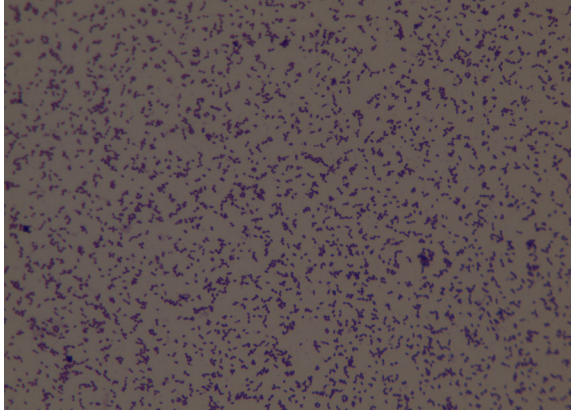
Resim 2. Bakteri kümeleri de içeren pnömonik infiltrasyon (Hematoksilen-Eozin boyama x 10)

Pü materyalinden ve dokulardan yapılan direkt boyamalarda; akciğer dokusunda orta yoğunlukta lökositler ve bol gram pozitif koklar; dalak dokusunda az lökosit ve orta yoğunlukta gram pozitif koklar; karaciğer dokusunda orta yoğunlukta lökositler ve gram pozitif koklar; pü materyalinde bol gram pozitif koklar ve bol gram negatif basiller görülmüştür.

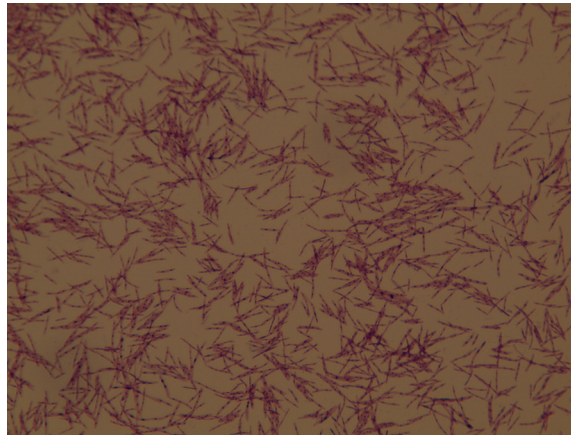
Aerop kültürlerde üreme olmamıştır. Anaerop besiyerlerinde üreyen her koloniden SA ve çukulata agara pasajlar yapılarak aerotolerans testi uygulanmıştır. Aerotolerans test sonucu anaerop olduğu düşünülen bakteriler, gram boyama yapılarak morfolojileri değerlendirilmiştir. Yapılan gram boyamalarda; kan ve dalakta gram pozitif koklar, pü materyalinde gram pozitif koklar ve füziiform görünümde gram negatif basiller, akciğer dokusunda gram pozitif koklar görülmüştür.

Bakteri tanımlamaları için API Rapid ID32A (Biomerieux, Fransa) yarı otomatize tanımlama sistemi kullanılmıştır. Kan ve dalak doku kültüründe *Anerococcus prevotii*, pü materyalinde *Anerococcus prevotii* ve *Fusobacterium nucleatum* (Resim 3 ve 4), akciğer doku kültüründe *Gemella morbillorum* üremiştir. *Fusobacterium*un tanımlanmasında

ayrıca [vankomisin (5 µg; Oxoid, Basingstoke, UK), kolistin (10 µg; Oxoid, Basingstoke, UK), kanamisin (1000 µg; Bioanalyse, Türkiye)] tanımlama diskleri kullanılmıştır. Buna göre izolat vankomisine dirençli, kolistin ve kanamisine duyarlı olarak bulunmuştur.



Resim 3. *Anerococcus prevotii*'nin görünümü (Gram boyama x 100)



Resim 4. *Fusobacterium nucleatum*'un görünümü (Gram boyama x 100)

TARTIŞMA

Anaerop bakteriler, toplum kaynaklı pnömonilerde önemli bir etken grubu olmasına rağmen, kültür ve izolasyonda gecikmelerden dolayı ciddi ve hayatı tehdit edici enfeksiyonlara neden olmakta ve bu durum anaerop enfeksiyonların beklenenden daha

düşük oranlarda saptanmasına yol açmaktadır (1).

Anaerop bakterilerin neden olduğu akciğer enfeksiyonları, predispozan faktörlerin eşliğinde nozokomial enfeksiyonlara oranla toplum kaynaklı enfeksiyonlarda daha yaygın olarak görülmektedir (8, 9). Anaerop bakteriler, plevrapulmoner enfeksiyonların yaklaşık yarısında tek başına veya aerop bakterilerle birlikte enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (2, 10).

Anaerop akciğer enfeksiyonlarında klinik genellikle sinsidir. Aspirasyon pnömonisi şeklinde başlayan hastalık tedavi edilmediğinde tabloya apse ve ampiyem eklenebilmektedir. Ampiyemde takipne, bilinç değişiklikleri ve solunum yetmezliği bulguları görülürken, çok nadir olarak iştahsızlık, kilo kaybı ve subfebril ateş gibi daha hafif semptomlarla seyredebilir. Epilepsi hastalığı gibi altta yatan predispozan faktörlerin olduğu vakalarda anaerop etkenlerin tanımlanması durumunda, bu enfeksiyonların tedavisi başarıyla yapılabilmekte ve iyi prognoz sağlanmaktadır (11). Bu vakanın öyküsünden; yıllardır devam eden epilepsi hastalığı olduğu bilinmesine rağmen tedavisinin yapılmamış olması nedeniyle son aylarda sık sık nöbet geçirdiği öğrenilmiştir. Ayrıca, son günlerde iştahsızlık, kilo kaybı ve öksürük şikayetleri olmasına karşın hastalığına ilişkin tanı ve tedavisinin yapılmamış olması, aspirasyon sonucu meydana gelmiş olan plevrapulmoner anaerob enfeksiyonun ilerleyerek sepsisle sonuçlanmasına neden olmuştur.

Aspirasyon pnömonisi ve buna bağlı gelişen apse ve ampiyemin tanısı klinikte anamnez, risk faktörlerinin varlığı ve radyoloji ile yapılmaktadır (12). Alt solunum yolu örneklerinin alınması sırasında yaşanan zorluklar ve buna bağlı kontaminasyonlar, laboratuvar şartlarının uygun olmaması gibi durumlar anaerop enfeksiyonların tanısını zorlaştırmaktadır (1, 13). Klinikte takip edilip ampiyem tanısı ile izlenen 79 hastadan alınan pleval sıvı örneklerinin

incelendiği retrospektif bir çalışmada; anaerob mikroorganizmaların oranının çok az olması, bu durumun anaerob bakterilerin tanımlanması için gerekli olan örneklemedeki yetersizliklerden kaynaklandığını ortaya koymaktadır (14). Ancak bütün bu zorluklara rağmen anaerob enfeksiyonlara bağlı plevral empiyem tanısı koyulan vakalarda örnekleme ve tanımlamaların etkin bir şekilde yapılması, tedavi etkinliğini artıracak, mortalite oranlarını azaltacaktır (8, 15).

Örneklemede yaşanan zorluklar ve üremeleri için özel şartlar gerektirmeleri nedeniyle, bu bakterilerin klinik örneklerden izolasyonu ve tanımlanmaları oldukça güçtür (12). Postmortem olguların otopsisinde, ulaşılabilirlik nedeniyle daha kolay ve uygun şartlarda örnekleme yapılabilmesi, anaerob bakterilerin izolasyonunu artırarak, etkenlerin tanımlanmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Yamazhan T. Anaeroplara etken olduğu akciğer enfeksiyonları. Ulusoy S, Leblebicioğlu H. Önemli ve Sorunlu Anaerob Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005: 81-90.
2. Mori T, Ebe T, Takahashi M, Isonuma H, Ikemoto H, Oguri T. Lung Abscess: Analysis of 66 Cases from 1979 to 1991. *Internal Med*, 1993; 32 (4): 278-84.
3. Schreiner A. Anaerobic pulmonary infections. *Scand J Infect Dis Suppl*, 1979; (19): 77-9.
4. Tu CH, Hsu WH, Hsia TC, Chen HJ, Chiu KL, Hang LW, Shih CM. The changing pathogens of complicated parapneumonic effusions or empyemas in a medical intensive care unit. *Intensive Care Med*, 2006; 32(4): 570-76.
5. Verma P. Laboratory diagnosis of anaerobic pleuropulmonary infections. *Semin Respir Infect*, 2000; 15 (2): 114-8.
6. Valipour A, Koller H, Setinek U, Burghuber OC. Pleural empyema associated with *Gemella morbillorum*: Report of a case and review of the literature. *Scand J Infect Dis*, 2005; 37 (5): 378-81.
7. Poulouse V. Gemella empyema cured without antibiotics: A case report. *Ann Acad Med Singapore*, 2002; 31 (6): 802-4.
8. Senol G, Coskun M, Gunduz A, Bicmen C, Tibet G. Anaerobes in nosocomial and community acquired pleural infections. *Indian J Med Microbiol*, 2013; 31(4): 392-4.
9. Chen W, Lin YC, Liang SJ, Tu CY, Chen HJ, Hang LW, Hsu WH, Shih CM. Hospital-acquired thoracic empyema in adults: a 5-year study. *South Med J*, 2009; 102(9): 909-14.
10. Maskell NA, Batt S, Hedley EL, Davies CW, Gillespie SH, Davies RJ. The bacteriology of pleural infection by genetic and standard methods and its mortality significance. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006; 174(7): 817-23.
11. Fujita S, Okafuji K, Funada H, Hattori K. Lung abscess due to *Fusobacterium nucleatum* (author's transl). *Anaerobe*, 2004; 10 (5): 261-7.
12. Hockensmith ML, Mellman DL, Aronsen EL. *Fusobacterium nucleatum* Empyema Necessitans. *Clin Infect Dis*, 1999; 29: 1596-8.

13. Ercis S, Tunçkanat F, Haşçelik G. Anaerobik enfeksiyon şüpheli hastalardan izole edilen anaerop bakteriler. Mikrobiyol Bul, 2005; 39: 447-54.
14. Özol D, Öktem S, Erdiñ E. Yetmiş dokuz ampiyem vakasının retrospektif incelenmesi. Solunum, 1999; 1: 90-4.
15. Boyanova L, Djambazov V, Gergova G, Lotov D, Petrov D, Osmanliev D, Minchev Z, Mitov I. Anaerobic microbiology in 198 cases of pleural empyema: a Bulgarian study. Anaerobe, 2004; 10 (5): 261-7.

Tüberküloz tedavisinde yeni ilaç adayları

New drug candidates in tuberculosis treatment

Begüm EVRANOS-AKSÖZ¹

ÖZET

Tüberküloz, bütün dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmekte olan, çok eski bulaşıcı ve ölümcül bir hastalıktır. Özellikle Afrika ve Asya ülkelerinde yaygın olarak görülen ve tüm dünyayı ilgilendiren bir sağlık sorunudur. Tüberkülozun giderek artan bir dünya sorunu olması; Mycobacterium tuberculosis zincirleri üzerindeki çoklu antibiyotik tedavisine karşı gelişen direncin artan şekilde devam etmesi ve HIV virüsüne bağlı olarak ortaya çıkan enfeksiyon nedeniyledir. Tüberküloz hastalığında tedavi en az altı ay süre ile çoklu ilaçlar ile gerçekleştirilmektedir. Tek ilaçla ve uygun olmayan süre yapılan tedavi ilaç direnci gelişimine yol açmaktadır. Tedavide kullanılan ilaçların uzun süre kullanılması ilaçların oluşturacağı yan etkiler açısından da risk oluşturmakta, ilaçların yan etkileri hastanın tedaviye uyumunu zorlaştırmakta ve bazen de hastanın tedaviyi bırakmasına neden olmaktadır. Bu nedenlerle hastalığın tedavisinde kullanılacak direnç gelişmemiş, etkili, tedavi süresini kısaltacak ve yan etkileri az olan yeni ilaçların bulunması şart olmuştur. 40 yıl gibi uzun bir aradan sonra ilk kez tedavide kullanılacak yeni bir ilaç etken maddesi "Bedaquiline" FDA tarafından Faz II aşamasındayken 2012 Aralık ayı sonunda onay almıştır. Bedaquiline çok ilaca dirençli tüberküloz tedavisinde kullanılacaktır. Bedaquiline'in ve yeni aday ilaçların yapıları incelendiğinde diarilkinolin, oksazolidinon, nitroimidazol, etilendiamin gibi ortak kimyasal yapılar dikkat çekmektedir. Bu ilaçların sahip olduğu ortak

ABSTRACT

Tuberculosis is a very old infectious and mortal disease that continues to threaten the world. It is a growing health problem for all over the world although it has high prevalence mostly in poor African and Asian countries. This is because of the increasing pathology of tuberculosis with HIV and the resistance to antibiotic therapy. The treatment period is at least six months in tuberculosis. This causes the development of resistance to drugs and using multidrug therapy. The long duration of multidrug therapy creates a risk of side effects. The side effects of the drugs decrease the patient's adherence to treatment and sometimes makes them quit the treatment. From these problems emerges the need for development of effective new drugs, with smaller duration of therapy, less side effects and without the problem of resistance. After a long period such as 40 years, a new drug molecule bedaquiline was approved in December 2012 by FDA while the drug was in phase II research. Bedaquiline will be used in multidrug resistant tuberculosis therapy. When the chemical structures of bedaquiline and other candidate drugs were examined, the structures such as diarylquinoline, oxazolidinone, nitroimidazole, ethylenediamine drew attention. These common structures will be directive in designing new molecules. In this review, bedaquiline and other candidate drug molecules such as sutezolid, linezolid, PA-824, delamanide,

¹ Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Başkan Yardımcılığı, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Begüm EVRANOS-AKSÖZ

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Başkan Yardımcılığı, ANKARA

Tel : +90312 565 52 69

E-posta / E-mail : begumevranos@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 03.07.2013

Kabul Tarihi / Accepted : 15.01.2014

DOI ID : 10.5505/TurkJHijyen.2014.35492

Evranos-Aksöz B. Tüberküloz tedavisinde yeni ilaç adayları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(4): 207-20.

kimyasal yapılar yeni aday ilaçları tasarlarken yol gösterici olacaktır. Bu derlemede tüberküloz hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere bedaquiline ve üzerinde prelinik ve daha ileri aşamalarda araştırma yapılan sutezolid, linezolid, PA-824, delamanid, rifapentin, gatifloksasin, moksifloksasin, BTZ-043, TBA-354, CPZEN-45, DC-159a, Q201, SQ-609, SQ-641 gibi yeni aday ilaçlardan bahsedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, tedavi, aday ilaç

rifapentine, gatifloxacın, moxifloxacın, BTZ-043, TBA-354, CPZEN-45, DC-159a, Q201, SQ-609, SQ-641 were mentioned.

Key Words: Tuberculosis, treatment, candidate drug

GİRİŞ

Tüberküloz, hastalığı önlemek için gösterilen yoğun çabaya rağmen, her yıl tahmini 8.7 milyon yeni vaka ve 1.4 milyon ölüm vakası ile dünyanın önde gelen ölüm nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir (1, 2). Tüberküloz hastalığı, *Mycobacterium tuberculosis* bakterisinin yol açtığı hasta ve çevresini büyük ölçüde tehdit etmesi nedeniyle Türkiye’de günümüzde de önemini korumakta olan öldürücü bir hastalıktır (3-6).

Tüberküloz hastalığı esas itibarıyla inhalasyon yoluyla vücuda giren *M. tuberculosis* bakterisi ve nadir olarak da diğer mikobakterilere bağlı ve genellikle akciğerleri tutan, bulaşıcı bir enfeksiyondur. *M. tuberculosis*, yavaş çoğalan ve çoğalmaksızın da (latent olarak) uzun süre hücre içinde canlı kalabilen bir bakteridir. Hastalık etkeni olan mikobakteriler akciğerlerde veya onun dışındaki odalarda hücre içinde uzun süre, latent olarak yerleşip konakçının bağışıklık sistemi ile bakteri arasındaki dengenin durumuna göre herhangi bir zamanda aktif olabilmektedir (7). Uzun süren bu hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlar direnç gelişimi nedeniyle yetersiz kalmaya başlamıştır. Tedavi sürelerinin kısaltılmasını sağlayacak, bakterinin latent dönemine de etkili olabilecek, düşük toksisiteli alternatif yeni ilaçların bulunmasına duyulan ihtiyaç artmıştır. Bu derleme kapsamında tüberküloz hastalığının

tedavisinde kullanılmak üzere bedaquiline ve üzerinde prelinik ve daha ileri aşamalarda araştırma yapılan sutezolid, linezolid, PA-824, delamanid, rifapentin, gatifloksasin, moksifloksasin, BTZ-043, TBA-354, CPZEN-45, DC-159a, Q201, SQ-609, SQ-641 gibi yeni ilaçlar hakkında detaylı bilgi verilmeye çalışılmıştır.

Tüberküloz Tedavisi

Tüberkülozda modern kemoterapötik uygulama 1944 yılında streptomisin (STM)’in tedaviye girmesiyle başlamıştır (8, 9). Tüberküloz tedavisindeki en önemli ilerleme 1952 yılında izoniazid (INH)’nin keşfedilmesi ile olmuştur (10). INH’nin para amino salisilik asit (PAS) ve streptomisin ile birlikte kullanılması hastaların büyük bir çoğunluğunu tedavi etse bile tedavi süresinin çok uzun olması büyük bir olumsuzluk olarak karşımıza çıkmıştır. 1960’larda etambutol (EMB)’un keşfedilmesi ile hastalar tarafından zor tolere edilen PAS’ın yerini EMB almış ve böylece tedavi süresi kısalmıştır. 1971 yılında rifampin (RIF)’in etkinliğinin bildirilmesi ile tedavi süresinde önemli bir kısalma saptanmıştır. 1980’lerde pirazinamid (PZA)’in hücre içinde basil üzerindeki etkisinin gösterilmesi ile altı aylık tedavi süresinin tüberküloz tedavisinde yeterli olduğu kabul edilmiştir. 1990’lı yıllarda AIDS’li tüberküloz hastalarının sayısının artması ile tedavi süresi dokuz aya kadar ya da kültür negatife döndükten sonra altı ay daha tedaviye

devam edilmesi şeklinde yeniden uzamıştır. Ayrıca çok ilaca dirençli tüberküloz oluşumu nedeniyle de tedavi süreleri uzamış ve kullanılan ilaçların etkinliği düşmüştür (11). Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü'nün önerileri doğrultusunda tüberküloz tedavisi, birinci kuşak ilaçlar olan izoniazid, rifampin, pirazinamid ve etambutol'un iki ay boyunca verilmesi, devamında dört ay daha INH ve RIF ile idame tedavisi ile gerçekleştirilmektedir. Tedavi, ilaca direnç gelişimi ya da intolerans gibi durumlar nedeniyle başarısız olursa; genellikle daha düşük etkili ve daha toksik olan PAS, kanamisin, florokinolonlar, kapreomisin, etionamid ve sikloserin gibi ikinci kuşak antitüberküloz ilaçlar kullanılmaktadır (12). Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar Tablo 1' de görülmektedir (12-14).

Tablo 1. Günümüzde kullanılan tüberküloz ilaçları

İlaçlar	Etki mekanizması	Direnç gelişimi için gerekli genler ¹
İzoniazid	Hücre duvarının mikolik asit sentezini inhibe eder	Kat G, inh A
Rifampin	RNA sentezini inhibe eder.	rpoB
Pirazinamid	Membran enerjisini tüketir.	pncA
Etambutol	Hücre duvarı arabinogalaktan sentezini inhibe eder.	embCAB
PAS	Folat yolağı ve mikobaktin sentezini inhibe ettiği düşünülmektedir.	thyA ²
Streptomisin	Protein sentezini inhibe eder.	RpsL, rrs
Kanamisin	Protein sentezini inhibe eder.	rrs
Kapreomisin	Protein sentezini inhibe eder.	rrs, Tyl A ³
Florokinolonlar	DNA sentezini inhibe eder.	Gyr A, gyr B
Etionamid	Mikolik asit sentezini inhibe eder	inh A, etaA/ethA

¹ KatG, PncA, EtaA/EthA sırasıyla birer ön ilaç olan izoniazid, pirazinamid ve etionamidin aktivasyonu için gerekli enzimlerdir. ² Gereklili verilere 13 nolu kaynak'tan ulaşılabilir. ³ Gereklili verilere 14 nolu kaynak'tan ulaşılabilir.

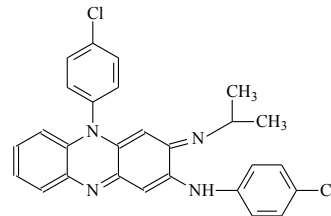
Bazı ilaçlar diğer hastalıkların tedavisinde kullanılırken tüberküloz hastalığı tedavisi üzerinde de etki gösterdikleri saptanınca, bu ilaçların tüberküloz tedavisinde kullanılmak üzere klinik araştırmaları yapılmaya başlanmıştır. Bu ilaçlar ve buldukları klinik durumlar Tablo 2' de gösterilmiştir (2, 15).

Tablo 2. Tüberküloz basiline etkili bazı ilaçların klinik durumları

İlacın Adı	Kimyasal Sınıfı	Faz
Klofazimin	Riminofenazin	Faz III
Gatifloksasin	Florokinolonlar	Faz III
Moksifloksasin	Florokinolonlar	Faz III
Linezolid	Oksazolidinonlar	Faz II
Rifapentin	Rifamisinler	Faz II, Faz III

Klofazimin

Klofazimin, cüzzam tedavisinde kullanılan, riminofenazin yapısında bir bileşiktir (Şekil 1). Farelerde *M. tuberculosis* üzerinde bakterisidal etki göstermektedir (16). Dokuz ay süren çok ilaca dirençli tüberküloz tedavi rejiminde ilaca karşı düşük düzeylerde direnç gelişimi gözlenmesi bu ilacın potansiyel bir antitüberküloz bileşik olabileceği yönündeki ümitleri artırmıştır (15). Bununla birlikte ilaç QT aralığını uzatarak tehlikeli ve düzensiz kalp ritmine, ciltte renklenmeye ve nadiren rastlansa bile depresyona da yol açabilmektedir (17). Tüm bu yan etkiler ise bu ilacın tüberküloz tedavisi için uygunluğunu azaltmaktadır. Bu ilaç üzerinde yapılmaya devam eden çalışmalar, ilacın tüberküloz tedavisinde kullanıma uygun olup olmayacağını aydınlatacaktır (15).



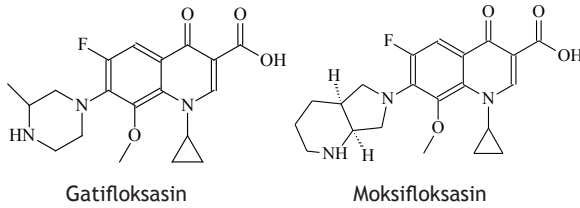
Şekil 1. Klofazimin

Florokinolonlar

Tüberküloz basili karşısında siprofloksasin ve ofloksasin çok az; aktifken, levofloksasin, gatifloksasin ve moksifloksasin ise en etkili olan florokinolonlardır. Florokinolonlar tüberküloz karşısında bakterisid etki göstermektedirler. Florokinolonlar, rifamisinler dışındaki diğer tüberküloz ilaçları içinde tedavide kullanılan en etkili bileşik sınıfıdır (18).

Florokinolonlar etkilerini DNA giraz enzimi üzerinden göstermektedirler (19-21). *M. tuberculosis*'de sadece tip II topoizomeraz (DNA giraz) mevcuttur (22). DNA sarmalının oluşumunu sağlayan DNA giraz, *gyrA* ve *gyrB* genleri tarafından kodlanan iki A ve iki B alt ünitesinden oluşan tetramer yapısından meydana gelmiştir (23-25). DNA giraz bakterideki temel enzim olduğu için DNA giraz üzerine yapılan bir saldırı bakterinin büyümesini durdurmaktadır (26).

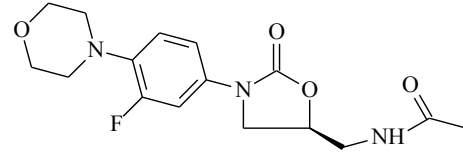
Gatifloksasin ve moksifloksasin yeni florokinolonlardan olup (Şekil 2), faz III klinik deney aşamasındadır (18, 27). Bu iki ilaç tedavi süresini kısaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Gatifloksasin, geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Florokinolonların yaygın kullanımı moksifloksasin'e direnç gelişimini kolaylaştırmaktadır (15).



Şekil 2. Gatifloksasin ve moksifloksasin

Linezolid

Linezolid, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, pnömöni ve bakteriyemi gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere 2000 yılında Amerika Birleşik Devletleri Food and Drug Administration (FDA)'dan onay almış olan bir ilaçtır. Linezolid (S)-oksazolidin-2-on yapısında (Şekil 3) bir bileşiktir (28, 29).



Şekil 3. Linezolid

Linezolid, bakterinin protein sentezini inhibe etmek suretiyle etkisini göstermektedir (30-33). Bu ilaç, bakterinin 50S ribozomal alt ünitesinde bulunan 23S rRNA'ya bağlanarak, protein sentezinde başlatıcı olan formil-Met-tRNA'nın 23SrRNA'ya bağlanmasını engellemiş olur. Bu bağlanmayı inhibe ederek 70S ribozom'unun oluşumunu durdurur. Bakterilerin 23S RNA bölümünde meydana gelen mutasyonlar bakteriyi linezolide dirençli hale getirebilmektedir (28).

Linezolid, oral yolla alındığında yüksek oranda absorpsiyon göstermektedir. Linezolid sitokrom P-450 yolakları dışındaki bir yolla karaciğerde oksidasyona uğrayarak metabolize olmaktadır. Yarılanma ömrü beş saattir (32). Linezolid'in yan etkilerini ve uzun dönem kullanımı ile oluşacak etkilerini iki farklı dozda test etmek amacıyla Güney Kore'de Faz II çalışmaları yapılmaktadır (34).

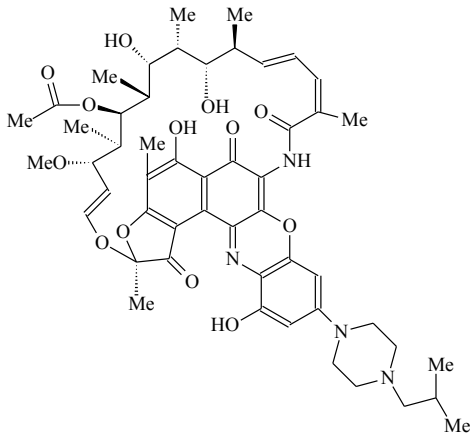
Rifamisinler

Rifamisinler, 1960'larda geliştirildiklerinde tüberküloz tedavisinde büyük bir dayanak noktası olmuşlardır (35). Rifamisinlerin en dikkat çekici özellikleri sterilizasyon yapıcı etkileridir (15).

Rifamisinler bakteriyel RNA polimeraz'ın potent inhibitörleridir (27, 36, 37). Rifapentin rifampisin'in daha aktif analogudur. Rifapentin ve rifabutın'ın yarı ömrü uzun olduğu için tedavi süresini kısaltmak amacıyla kullanılabilir (15, 37). Rifapentin, rifabutın ve rifalazil gibi rifamisin türevleri güçlü antimikobakteriyel etki elde etmek ve yarı ömrü uzatmak amacıyla sentezlenmiştir (12).

Günümüzde Amerika'da onaylanan 4 tane rifamisin türü mevcut olmasına rağmen bu ilaçların hepsi tüberküloz tedavisinde kullanılmamaktadır.

2004 yılında onaylanan Rifaximin'in oral absorpsiyonu yoktur ve tüberküloz tedavisinde kullanılmamaktadır. 1997 yılında onay alan rifapentine, tüberküloz tedavisinde genellikle haftada iki kez, günlük tedavide ise genellikle günde bir kez olacak şekilde rifampin ile birlikte kullanılmaktadır (35). Rifalazil (KRM-1648), uzun bir yarılanma ömrüne sahip yeni bir semisentetik rifamisin türevidir (Şekil 4). Rifalazil farelerde in vivo ve in vitro koşullarda *M. tuberculosis* karşısında rifampisinden çok daha aktiftir (38-40). Rifalazil yüksek etkinliğe sahip olmasına rağmen ciddi yan etkileri nedeniyle kullanılmamaktadır (35, 41, 42). Her ne kadar rifamisinler genellikle iyi tolere edilse bile hepatotoksiste ve grip benzeri yan etkiler göstermektedir. Ayrıca sitokrom P-450 indükleyicisi olduklarından pek çok ilaçla etkileşime girmektedirler (12, 35).



Şekil 4. Rifalazil

Rifamisine yüksek düzeyde direnç geliştirmiş *M. tuberculosis* zincirleri diğer rifamisinlere karşı da çapraz direnç gösterirken, rifamisine düşük düzeyde direnç geliştirmiş olan zincirler yeni rifamisinlere duyarlıdır (43, 44).

Yeni Tüberküloz İlaçları

Tüberküloz tedavisinde kullanılabilecek yeni ilaç molekülleri ve buldukları klinik durumlar Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Yeni ilaç molekülleri ve klinik durumları

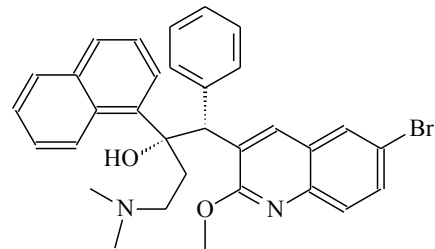
Preklinik Gelişim	GLP toksisitesi	Faz I	Faz II	Faz III
CPZEN-45	BTZ-043		Bedaquiline	Delamanid (OPC-67683)
DC-159a	TBA-354		PA-824	
Q-201			Sutezolid (PNU-100480)	
SQ-609			AZD-5847	
SQ-641			SQ-109	

Diarilkinolinler

Bedaquiline

Bedaquiline (TMC207), son 40 yılda tüberküloz tedavisinde kullanımı FDA tarafından onaylanan (Aralık 2012) ilk yeni ilaçtır (27, 45-47). Faz II çalışması sonucunda piyasaya sunulmuştur. Tüberküloza karşı gelişen çoklu rezistans durumunda kullanılmaktadır (46).

Bedaquiline, diarilkinolin yapısındaki bir bileşiktir (Şekil 5). Etkisini mikobakterinin adenozin trifosfat (ATP) sentezi için önemli bir enzim olan mikobakteriyel ATP sentazın proton pompasını inhibe etmek suretiyle göstermektedir (18, 27, 48-51). Bedaquiline, mikobakterinin ATP sine karşı yüksek seçicilik göstermektedir. Bedaquiline'in mikobakterinin ATP sine gösterdiği seçicilik (IC₅₀ 10 nM) insan mitokondriyel ATP'sine gösterdiği seçicilik (IC₅₀ 200 µM) ile karşılaştırıldığında 20.000 kat daha fazla



Şekil 5. Bedaquiline

bulunmuştur. Sonuç olarak bedaquiline insanlarda ATP sentezi ile ilişkili bir toksisiteye neden olmamaktadır (50, 52, 53). Bedaquiline; çoğalan ve latent dönemde olan mikobakteriler üzerinde eşit düzeyde etki göstermektedir (50, 52, 54).

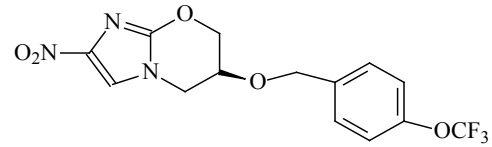
Farelerde bedaquiline oral yolla alındığında uygun bir doku dağılımı ve uzun bir yarı ömür göstermektedir (48). Bütün bu ümit verici sonuçlara rağmen bedaquiline'in tüm yararları kanıtlanmamıştır. Öncelikle bedaquiline, rifampin tarafından güçlü bir şekilde indüklenen sitokrom P-450 (CYP3A4) tarafından metabolize edilmektedir. Bundan dolayı bedaquiline'in Rifampisin ailesinden bir ilaçla birlikte alınması önerilmemektedir. Ayrıca üretici firma, ilacın güçlü sistemik CYP3A4 inhibitörleri ile birlikte 14 gün arka arkaya alınımından kaçınılması gerektiğini bildirmektedir (46, 55). Bu nedenlerle ilaca duyarlı tüberküloz tedavisinde kullanılamamaktadır (46). Ayrıca bedaquiline'in elektrokardiyomdaki QT aralığını uzattığı görülmüştür. Sonuç olarak başka ilaçlarla birlikte alımı QT aralığını artıracığı için bu durumdan kaçınılmalıdır. Tek plasebo kontrollü deneyde bedaquiline tedavi grubu (%11,4) ile plasebo tedavi grubu (%2,5) karşılaştırıldığında bedaquiline tedavi grubunda ölüm riskinin arttığı, ilacın ayrıca hepatotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (18, 46, 51). Bedaquiline için verilen hızlandırılmış FDA onayının koşulu üretici firmanın doğrulayıcı Faz III çalışmalarını daha sonra tamamlamaya başlamasıdır (46).

Nitroimidazoller

Anaerobik bakteri ve parazit enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan metronidazol gibi nitroimidazol yapısını taşıyan ilaçların modifikasyonu ile yüksek antitüberküloz etki gösteren iki bileşiğe ulaşılmıştır. Her iki bileşikte birer ön ilaç olup etkinliklerini memeli hücrelerinde bulunmayan fakat *M. tuberculosis*'de bulunan flavin bağlı nitroredüktazların biyoaktivasyonu sonucu göstermektedir (3, 28, 50). Bu bileşikler mikobakteriyel mikolik asit biyosentezi üzerine etki etmektedirler (3).

PA-824

PA-824, bisiklik nitroimidazol yapısında (Şekil 6) bir ön-ilaçtır (3, 56, 57). İlaça duyarlı ve dirençli olan tüberküloz zincirlerine karşı antitüberküloz etkinlik göstermektedir. Aktif olarak çoğalan ve çoğalmayan basiller karşısında bakterisit etki göstermektedir (3, 57-59). Çoğalmayan bakteri hücrelerini yok etmek oldukça zordur ve bu bakteriler latent tüberkülozun oluşmasına, hastalığın tedavi sürelerinin uzamasına yol açmaktadır (57). Mikobakteriyel hücre duvarının esansiyel bir parçası olan ketomikolat sentezini inhibe ederek ve de tüberküloz basilinde enzimatik nitro redüksiyon esnasında nitrik oksidi baskılayarak solunum sistemini zehirlemek suretiyle etkisini göstermektedir (60). PA-824'ün oral olarak 1000 mg'a kadar olan dozlarının günde bir kez beş gün süre ile alınması, 600 mg'a kadar olan dozlarının günde bir kez yedi gün süre ile alınması insan vücudu tarafından iyi tolere edilmektedir. Bununla birlikte PA-824'ün bu doz ve sürelerden daha fazla doz ve sürelerde alınmasının kan kreatinin düzeylerini geri dönüşümlü olarak artırdığı saptanmıştır (61).

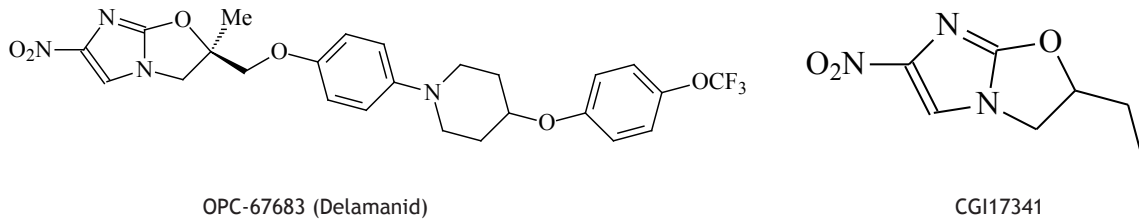


Şekil 6. PA-824

OPC-67683 (Delamanid)

OPC-67683 (Delamanid) (Şekil 7), anti tüberküloz etkinliği saptanmış bisiklik nitroimidazo oksazol yapısındaki CG1 17341 (Şekil 7) kodlu bileşikten hareketle toksisiteyi düşürmek ve de antitüberküloz etkiyi artırmak amacıyla sentezlenmiştir (62).

OPC-67683, PA-824'ün yapısal analogu olup mikolik asit biyosentezini inhibe etmektedir (63-66). OPC-67683, PA-824 gibi bir ön ilaç olup mikobakteri tarafından etkin hale getirilmektedir. OPC-67683'e dirençli mikobakteri bileşiği metabolize etmemektedir. Dirençli mikobakterideki Rv3547



Şekil 7. Delamanid ve CGI17341

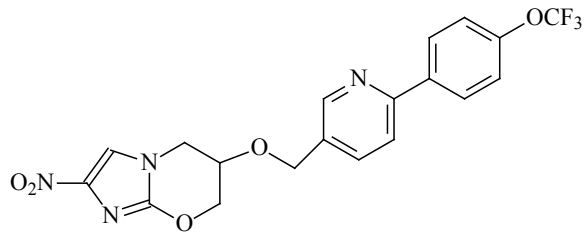
geninin mutasyona uğradığı saptanmıştır. Bu da Rv3547'nin OPC-67683'ün aktive edilmesinde anahtar role sahip bir enzim olduğunu göstermektedir. OPC-67683, insan veya hayvan karaciğerindeki mikroorganizmalarla karşılaştığında zor metabolize olmaktadır. OPC-67683, tedavi edici konsantrasyonlarında rifamisin gibi diğer sitokrom ile metabolize olan ilaçlarla anlamlı etkileşimler göstermemektedir. OPC-67683; çok ilaca dirençli tüberküloz durumunda, AIDS'li hastalarda ve de latent tüberküloz enfeksiyonunun tedavisinde kullanılabilir (63). Bu bileşik flavin-bağlı nitroreduktaz tarafından aktif olmayan ana metaboliti desnitro-imidazooksazol metabolitine dönüştürülmektedir (29, 63).

Delamanid, PA-824 ile karşılaştırıldığında 10 kat daha düşük MIC değerine sahiptir, fakat bunun yanında biyoyararlılığı da PA-824'e göre 10 kat daha düşüktür. Delamanid'in PA-824'e göre açık üstünlüğü söz konusu değildir (60).

TBA-354

TBA-354 (Şekil 8), Küresel Tüberküloz İttifak'ının Chicago'daki Auckland ve İllinois Üniversiteleri ile ortak çalışmaları sonucu bulunmuş nitroimidazol yapısındaki yeni bir bileşiktir. Hayvan modellerinde aynı sınıfın diğer bir bileşiği olan PA-824 ile karşılaştırıldığında, PA-824'e göre çok daha etkili olduğu görülmüştür. TBA-354'ün bu üstünlüğü tek başına ya da pirazinamid ve moksifloksasin gibi ilaçlarla birlikte alındığında da görülmüştür. İlaça duyarlı veya dirençli olan her iki tüberküloz vakasında da kullanılabilir. Delamanide göre ise daha iyi farmakokinetik özelliklere sahip olması nedeniyle

tüberkülozdaki tedavi süresini kısaltacağı tahmin edilmektedir (67).



Şekil 8. TBA-354

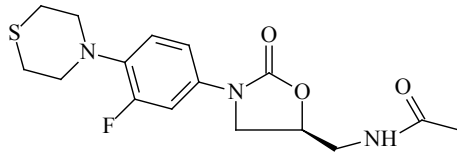
Oksazolidinonlar

Oksazolidinonlar, 2-oksazolidinon floren benzen iskeletini taşıyan, protein biyosentezinin üçüncü basamağında translasyonun inhibisyonunda etki gösteren antibiyotiklerdir. Oksazolidinonlar, mesajcı RNA üzerindeki tamamlayıcı kodon ile gelen taşıyıcı RNA'yı bağlayan enzimin yarışmalı inhibisyonu yoluyla etkisini göstermektedir. Oksazolidinonlar, ribozomların 50 S alt ünitesindeki P bölgesine bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedirler (68). Tüberküloz tedavisinde ilk kullanılan oksazolidinon yapısı taşıyan bileşik sikloserindir (4-amino-1,2-oksazolidin-3-on) ve ikinci kuşak antitüberküloz ilaçlardandır (60).

PNU-100480 (Sutezolid)

PNU-100480, daha iyi in vivo etki ve de daha az toksisite için geliştirilmiş tiyomorfolinil oksazolidinon yapısında olan (Şekil 9) bir linezolid analogudur (60, 69). Sutezolid, linezolide göre, hastalar tarafından daha iyi tolere edilebilen, etkili ve birinci kuşak

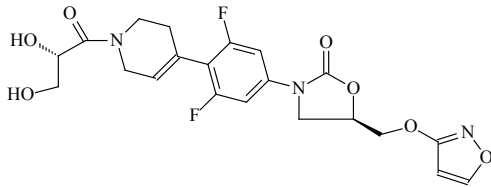
tüberküloz ilaçları ile çapraz rezistans göstermeyen bir ilaçtır (70-72). Sutezolid linezolidten farklı olarak sterilizasyon yapıcı etkiye sahiptir (73). Tüm bu nedenlerle çok ilaca dirençli tüberküloz ve yaygın ilaca dirençli tüberküloz zincirlerine karşı etkilidir (72). PNU-100480 hızlı bir şekilde çoğunluğu sülfoksit ve daha az olacak şekilde de sülfon metabolitine dönüşmektedir (70, 74). Metabolitleri ve kendisi benzer oranda antitüberküloz etki göstermektedir (71).



Şekil 9. Sutezolid

AZD-5847

AZD-5847 (posizolid), tüberküloz tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş oksazolidinon yapısında bir ilaçtır (Şekil 10). Fareler üzerinde linezolid ve PNU-100480 ile benzer etkinlik göstermektedir. En temel yan etkisi bulantıdır (60). Faz II deneysel aşamasında olan bir ilaçtır (71).



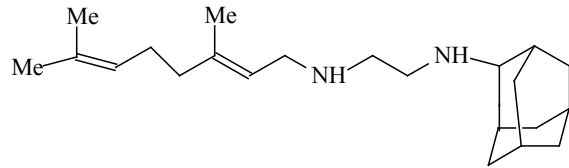
Şekil 10. AZD-5847

Etilendiamin Türevleri

SQ-109

Etambutol'ün sentetik bir analogu olarak geliştirilmiş olan SQ109 (Şekil 11), *M. tuberculosis*'teki hücre duvarı sentezini ve henüz tam olarak aydınlatılmayan hücre içi hedefleri inhibe ederek etkisini göstermektedir (72, 75). SQ-109, PNU-100480

ve ilk kuşak tüberküloz ilaçlarından olan rifampin ve izoniazid ile sinerjistik etki, streptomisin ile additif etki gösterirken, etambutol veya pirazinamid ile ne sinerjistik ne de additif etki göstermektedir (76, 77). SQ-109 ilaca duyarlı, tek ilaca dirençli veya çok ilaca dirençli *M. tuberculosis* zincirlerinin tedavisinde etkilidir (78). SQ-109'un oral biyoyararlanımı düşüktür. Biyoyararlanımının düşük olmasının nedeni karaciğerden geçerken ilk geçiş etkisine uğramasıdır (79). Metabolizasyonu baskın olarak oksidasyon, epoksidasyon ve N-dealkilasyon ile gerçekleşmektedir (80). SQ-109 klinik denemelerde faz II aşamasında bulunan bir ilaçtır (27).



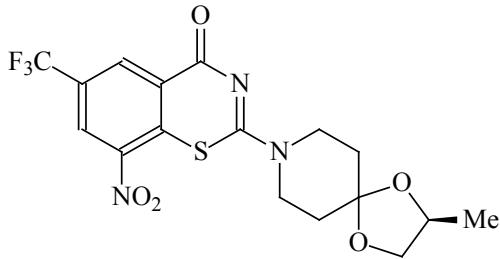
Şekil 11. SQ 109

Benzotiazinonlar

BTZ-043

BTZ-043, benzotiazinon yapısında tüberküloz tedavisinde kullanılabilir yeni bir aday ilaçtır (Şekil 12). Etkisini mikobakteriyel hücre duvarı sentezinde prekürsör olan arabinan biyosentezinde etkili bir enzim olan dekaprenil-fosforiboz epimeraz (DprE1)'i inhibe etmek suretiyle göstermektedir (81, 82). Nanomolar düzeylerde dahi çok yüksek bakterisit etki gösterebilmektedir. Fakat gerek BTZ-043 gerekse mikobakterinin hücre duvarı sentezini inhibe etmek suretiyle etkisini gösteren diğer ilaçlar çoğalmayan bakteriler üzerinde çok az etki göstermektedir (83). BTZ-043'ün rifampin, izoniazid, etambutol, TMC 207, PA-824, moksifloksasin, klavulanatlı ve klavulanatsız meropenem ve SQ-109 ile etkileşimleri incelendiğinde hiçbir antagonist etkiye rastlanmamış olup daha çok additif etki gösterdiği görülmüştür. Ayrıca BTZ-043, TMC-207 ile sinerjistik etki göstermektedir. Tek başına ise TMC-207'ye göre daha yüksek etki

göstermektedir. TMC-207 ile olan sinerji BTZ' ye dirençli *M. tuberculosis* üzerinde görülmemiştir. Bu da DprE1'in inhibisyonunun ilacın etkisini göstermesi için gerekli olan etkileşimde temel rolü olduğunu göstermektedir. Bu nedenle BTZ-043'ün bakterinin hücre duvarını zayıflatarak TMC-207'nin hücreye daha fazla penetre olmasını sağlayarak etkinin artmasına yol açtığı düşünülmektedir (84).

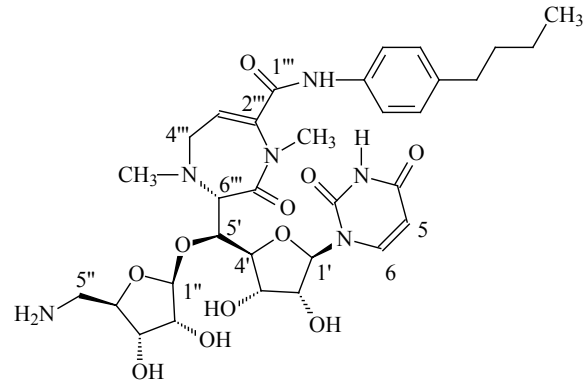


Şekil 12. BTZ-043

Caprazene nükleozitleri

CPZEN-45

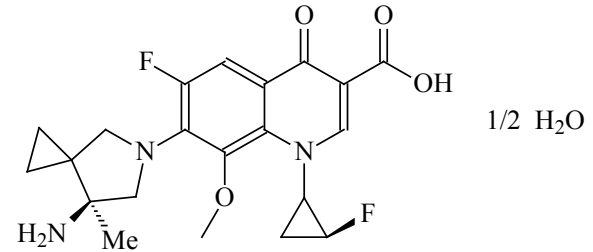
CPZEN-45, suda 10mg/ml konsantrasyonda trifloroasetat tuzu halinde çözünen bir nükleozid antibiyotiktir (Şekil 13). Bu ilaç streptomyces türleri tarafından üretilen bir caprazamycin'dir. CPZEN-45 *M. tuberculosis* H37Rv suşu karşısında 1.56 g/ml, dirençli *M. tuberculosis* karşısında ise 6.25 g/ml olan minimum inhibisyon konsantrasyonuna sahiptir. Bileşik in vitro şartlarda çoğalabilen ve çoğalamayan bakteriler üzerinde etkili olduğu için in vivo şartlarda latent organizmalarda da etkili olabileceği düşünülmektedir. CPZEN-45 intravenöz enjeksiyonla tüberküloz bulaştırılmış olan farelerde ilaca duyarlı ve ilaca dirençli *M. tuberculosis* üzerinde etkinlik göstermekte ve ilacın farenin deri altı dokusuna enjeksiyonu sonucunda tedavi sağlanmaktadır. Diğer antitüberküloz ilaçlarla birlikte alındığında ilaca-duyarlı *M. tuberculosis* üzerinde daha iyi bir etkinlik göstermektedir (85).



Şekil 13. CPZEN-45

DC-159a

DC-159a (Şekil 14), geniş bir antibakteriyel spektruma sahip olan yeni bir 8-metoksi florokinolondur (86, 87). Bu bileşik in vitro ortamda florokinolona duyarlı ve dirençli olan tüm *M. tuberculosis*'ler karşısında mevcut florokinolonlara göre daha etkilidir (87). Bakterisit etki göstermektedir. Etkisini mikobakterinin DNA giraz enzimini inhibe ederek göstermektedir (88).



Şekil 14. DC-159a

Q-201

Q-201 imidazopiridin yapısında, 2010 yılında Kore'de prelinik araştırmalarına başlanmış olan bir bileşiktir. Bu ilaçla ilgili çok fazla bilgiye ulaşılamamaktadır (85).

SQ-609

SQ-609 adamantan içeren hidroksidipiperidin yapısında bir bileşik olup sınıfının en ümit vadeden bileşiğidir (89). Hücre duvarı biyosentezini inhibe ederek etkisini göstermektedir. *Mycobacterium tuberculosis* zincirleri üzerinde yüksek in vitro etkiye sahiptir. *M. tuberculosis* için yüksek seçiciliği vardır. Oral yolla alınabilmektedir. Sudaki çözünürlüğü iyidir. Farelerde izoniazid, rifampin ve pirazinamid ile birlikte alındığında etkinliği artmaktadır. In vitro güvenlik farmakolojisi ve farmakokinetik profili uygundur (90).

SQ-641

Capuramycin'ler peptidoglikan biyosentezinde esansiyel olan fosfo-N-asetilmuramil-penta-peptid-translokaz (TL-1) bakteriyal enzimini hedef alan nükleozid antibiyotiklerinin yeni bir sınıfıdır (91, 92). SQ641, *M. tuberculosis* ve MAC zincirleri karşısında iyi in vitro etki gösteren bu sınıfın en aktif bileşiğidir (93).

SQ641, semisentetik TL-1 inhibitörlerinden 7000 bileşikli bir kütüphanenin taranması sonucu seçilen, semisentetik bir antibiyotiktir. Özellikle etkisini *M. tuberculosis*'in neden olduğu tüberkülozda, non-tüberküloz mikobakteriyel pnömönide, Crohn hastalığında, *Streptococcus pneumoniae*'nin neden olduğu pnömönide, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olan metisiline dirençli zincirleride içeren *Staphylococcus aureus*'a karşı göstermektedir. Capuramycin sınıfı antibakteriyal antibiyotikler, sadece bakteride olan ve hücre duvarı sentezinde temel olan TL-1 enzimini inhibe

etmek suretiyle etki göstermektedirler. TL-1 enzimi ökaryotik hücrelerde bulunmadığından antibiyotik geliştirme açısından çok çekici bir hedef olarak görülmektedir. Bu bileşik etambutol, streptomisin ve SQ-109 ile güçlü sinerjik etki göstermektedir (85).

Bu ilaçlar dışında önlinik testleri henüz yapılmamış, ancak in vitro etki testlerinde *M. tuberculosis* karşısında yüksek etki gösterdiği saptanan fenoksi asetik asit, pirazinamid, 2-pirazolin, izonikotinil hidrazon ve şalkon yapısındaki bazı bileşiklerde ümit vadetmektedir. (94-98). Bu bileşiklerden hareketle antitüberküloz etki göstermesini beklediğimiz bir grup 2-pirazolin, şalkon ve hidrazon yapısındaki bileşik sentezlenmiştir (99). Sentezlenen bu bileşiklerin antitüberküloz etkinliklerini incelediğimizde aday ilaç olabilecek düzeyde etkinliğe sahip olmadıkları gözlemlenmiştir.

SONUÇ

Günümüzde tüberküloz hastalığı hala pek çok insanın ölümüne yol açmaya devam etmektedir. Bu durum kullanılan ilaçların büyük bir çoğunluğuna direnç gelişmiş olmasından kaynaklanmaktadır. Çok kısa zaman içinde, direnç gelişmemiş, yüksek etkili ve düşük yan etkili yeni ilaçların tedaviye girmesi gerekmektedir. Nitekim FDA'nın faz II aşamasında deneyleri yapılan bir ilaç olan bedaquiline'e onay vermesi bu durumun aciliyetini göstermektedir. Bu tür çalışmalar ile elde edilecek veriler tüberkülozda etkili olabilecek yeni ilaçların bulunmasını kolaylaştırmak açısından oldukça önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Bhardwaj A, Scaria V, Raghava GPS, Lynn AM, Chandra N, Banerjee S, et al. Open source drug discovery- A new paradigm of collaborative research in tuberculosis drug development. *Tuberculosis*, 2011; 91: 479-86.
2. World Health Organization. Global tuberculosis control: WHO report 2012. Geneva: WHO; 2012. 978 92 4 156450 2. p. 1-272.
3. Manjunatha U, Boshoff HIM, Barry CE. The mechanism of action of PA-824. *Commun Integr Biol*, 2009; 2 (3): 215-8.
4. Sankar C, Pandiarajan K. Synthesis and anti-tubercular and antimicrobial activities of some 2r,4c-diaryl-3-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-one N-isonicotinoylhydrazones derivatives. *Eur J Med Chem*, 2010; 45: 5480-5.
5. Tahaoğlu K, Kongar N, Elbek O, Tümer Ö, Kılıçaslan Z. Türk Tabipleri Birliği Tüberküloz Raporu. Birinci Baskı, Ankara, Türk Tabipler Birliği Yayınları, 2012.
6. Yang J, Pi W, Xiong L, Ang W, Yang T, He J, et al. 3H-1,2,4-Dithiazol-3-one compounds as novel potential affordable antitubercular agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013; 23:1424-27.
7. Kayaalp, O. Tüberküloz ve Diğer Mikobakteri Enfeksiyonlarında Kullanılan İlaçlar. In: Kayaalp, O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 1. Cilt 11. Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitabevi, 2005; 254-65.
8. Waksman SA. Streptomycin: background, isolation, properties, and utilization. Nobel Lecture, December 12, 1952.
9. Dutt AK, Stead W. The treatment of tuberculosis. *DM Tuberculosis*. Part II. April 1997; 43 (3): 247-74.
10. Tuberculosis Chemotherapy Trials Committee. Interim report to the Medical Research Council: the treatment of pulmonary tuberculosis with isoniazid. *BMJ*, 1952; 2: 735-46.
11. Collazos J, Mayo J, Martinez E. The chemotherapy of tuberculosis - from the past to the future. *Resp Med*, 1995; 89: 463-9.
12. Zhang Y, Post-Martens K, Denkin S. New drug candidates and therapeutic targets for tuberculosis therapy. *Drug Discov Today*, 2006; 11 (1-2): 21-7.
13. Rengarajan J, Sassetti CM, Naroditskaya V, Sloutsky A, Bloom BR, Rubin, EJ. The folate pathway is a target for resistance to the drug para-aminosalicylic acid (PAS) in mycobacteria. *Mol Microbiol*, 2004; 53 (1): 275-82.
14. Maus CE, Plikaytis BB, Shinnick TM. Mutation of tlyA confers capreomycin resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005; 49 (2): 571-7.
15. Lessem E. The tuberculosis treatment pipeline. *HIV Treatment Bulletin*. Related: Special reports <http://i-base.info/htb/17111> (Accessed 26.06.2013)
16. Reddy VM, O'Sullivan JF, Gangadharam PRJ. Antimycobacterial activities of rimonophenazines. *J Antimicrob Chemother*, 1999; 43: 615-23.
17. Novartis Drug Regulatory Affairs. Lamprene (clofazimine) 50 or 100 mg capsules (soft) international package leaflet. 2005 June 23. Available from: http://www.lamprene.com/fileadmin/pharmaworld/lamprene/lamprene_packing_insert.pdf. (Accessed 26.06.2013)
18. Rubinstein E, Keynan Y. Quinolones for mycobacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*, 2013; 42 (1): 1-4.
19. Xu C, Kreiswirth BN, Sreevatsan S, Musser JM, Drlica K. Fluoroquinolone resistance associated with specific gyrase mutations in clinical isolates of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. *J Infect Dis*, 1996; 174: 1127-30.
20. Hooper DC. Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*, 2001; 32 (Suppl 1): S9-15.
21. Malik S, Willby M, Sikes D, Tsodikov OV, Posey JE. New insights into fluoroquinolone resistance in Mycobacterium tuberculosis: functional genetic analysis of gyrA and gyrB mutations. *PLoS One*, 2012; 7(6): e39754. doi: 10.1371/journal.pone.0039754. (Accessed:20.06.2013)
22. Aubry A, Pan XS, Fisher LM, Jarlier V, Cambau E. Mycobacterium tuberculosis DNA gyrase: interaction with quinolones and correlation with antimycobacterial drug activity. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004; 48 (4): 1281-8.
23. Takiff HE, Salazar L, Guerrero C, Philipp W, Huang WM, Kreiswirth B, et al. Cloning and nucleotide sequence of Mycobacterium tuberculosis gyrA and gyrB genes and detection of quinolone resistance mutations. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994; 38 (4): 773-80.
24. Wang JC. DNA topoisomerases. *Annu Rev Biochem* 1996; 65: 635-92.
25. Da Silva PEA, Palomino JC. Molecular basis and mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: classical and new drugs. *J Antimicrob Chemother*, 2011; 66: 1417-30.

26. Drlica K. Mechanism of fluoroquinolone action. *Curr Opin Microbiol*, 1999; 2: 504-8.
27. Lemos ACM, Matos ED. Multidrug-resistant tuberculosis. *Braz J Infect Dis*, 2013; 17 (2): 239-46. 1
28. Barry CE, Blanchard JS. The chemical biology of new drugs in the development for tuberculosis. *Current Opin Chem Biol*, 2010; 14: 456-66.
29. Villemagne B, Crauste C, Flipo M, Baulard AR, Déprez B, Willand N. Tuberculosis: the drug development pipeline at a glance. *Eur J Med Chem*, 2012; 51: 1-16.
30. Swaney SM, Aoki H, Ganoza MC, Shinabarger DL. The oxazolidinone linezolid inhibits initiation of protein synthesis in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42 (12): 3251-5.
31. Gee T, Ellis R, Marshall G, Andrews J, Ashby J, Wise R. Pharmacokinetics and tissue penetration of linezolid following multiple oral doses. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001; 45 (6): 1843-6.
32. Ament PW, Jamshed N, Horne JP. Linezolid: its role in the treatment of Gram-positive, drug-resistant bacterial infections. *Am Fam Physician*, 2002; 65 (4): 663-71.
33. Schecter GF, Scott C, True L, Raftery A, Flood J, Mase S. Linezolid in the treatment of multidrug-resistant. *Tuberculosis*, 2010; 50 (1): 49-55.
34. National Institutes of Health (U.S.). Linezolid to treat extensively-drug resistant tuberculosis. Available from: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00727844?term=linezolid&rank=24>. (Accessed 26.06.2012)
35. Aristoff PA, Garcia GA, Kirchoff PD, Showalter H. Rifamycins. Obstacles and opportunities. *Tuberculosis*, 2010; 90: 94-118.
36. Campbell EA, Korzheva N, Mustaev A, Murakami K, Nair S, Goldfarb A, et al. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. *Cell*, 2001; 104: 901-12.
37. Azis L, Jones-Lo pez EC, Ellner JJ. HIV-associated tuberculosis. In: Volberding PA, Lange JMA, Greene WC, Gallant JE, Sewankambo N. *Sande's HIV/AIDS Medicine: Medical Management of AIDS 2012*. 2nd edition. China. 2012; 325-47.
38. Saito H, Tomioka H, Sato K, Emon M, Yamane T, Yamashita K, et al. In vitro antimycobacterial activities of newly synthesized benzoxazinorifamycins. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991; 35 (3): 542-7.
39. Tomioka H, Saito H, Fujii K, Sato K, Hidaka T. In vitro antimicrobial activity of benzoxazinorifamycin, KRM-1648, against *Mycobacterium avium* complex determined by the radiometric method. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 37: 67-70.
40. Hirata T, Saito H, Tomioka H, Sato K, Jidoi J, Hosoe K, et al. In vitro and in vivo activities of the benzoxazinorifamycin KRM-1648 against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995; 39 (10): 2295-303.
41. Dietze R, Teixeira L, Rocha LMC, Palaci M, Johnson JL, Wells C, et al. Safety and bactericidal activity of rifalazil in patients with pulmonary tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001; 45 (7): 1972-6.
42. Anonymous. Rifalazil (Editorial). *Tuberculosis*, 2008; 88 (2): 148-50.
43. Moghazeh SL, Pan X, Arain T, Stover CK, Musser JM, Kreiswirth BN. Comparative antimycobacterial activities of rifampin, rifapentine, and KRM-1648 against a collection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates with known *rpoB* mutations. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996; 40 (11): 2655-7.
44. Williams DL, Spring L, Collins L, Miller LP, Herfets LB, Gangadharam PRJ, et al. Contribution of *rpoB* mutations to development of rifamycin cross-resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42 (7): 1853-7.
45. Diacon AH, Dawson R, Groote-Bidlingmaier FTV, Symons G, Venter A, Donald PR, et al. A randomized dose-ranging study of the 14-day early bactericidal activity of bedaquiline (TMC207) in patients with sputum microscopy smear-positive pulmonary tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013; 57(5): 2199-203.
46. Anonymous. After 40 years, new medicine for combating TB (Editorial). *IJMyco*, 2013; 2: 1-2.
47. Anonymous. New tuberculosis tools are here: Can we deliver them for maximal impact? (Editorial). *JEGH*, 2013; 3: 1-2.
48. Andries K, Verhasselt P, Guillemont J, Göhlmann HWH, Neefs JM, Winkler H, et al. Diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 2005; 307: 223-7.
49. Huitric E, Verhasselt P, Andries K, Hoffner SE. In vitro antimycobacterial spectrum of a diarylquinoline ATP synthase inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007; 51 (11): 4202-4.

50. Moir DT, Opperman TJ, Butler MM, Bowlin TL. New classes of antibiotics. *Curr Opin Pharmacol*, 2012; 12: 535-44.
51. Singh H, Natt NK, Garewal N, Pugazhenthath T. Bedaquiline: a new weapon against MDR and XDR-TB. *Int J Basic Clin Pharmacol*, 2013; 2 (2): 96-102.
52. Haagsma AC, Abdillahi-Ibrahim R, Wagner MJ, Krab K, Vergauwen K, Guillemont J, et al. Selectivity of TMC207 towards mycobacterial ATP synthase compared with that towards the eukaryotic homologue. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009; 53 (3): 1290-2.
53. Riccardi G, Pasca MR, Buroni S. Mycobacterium tuberculosis: drug resistance and future perspectives. *Future Microbiol*, 2009; 4 (5): 597-614 .
54. Koul A, Vranckx L, Dendouga N, Balemans W, Wyngaert IV, Vergauwen K, et al. Diarylquinolines are bactericidal for dormant Mycobacteria as a result of disturbed ATP homeostasis. *J Biol Chem*, 2008; 283 (37): 25273-80.
55. Dooley KE, Kim PS, Williams SD, Hafner R.TB and HIV therapeutics: pharmacology research priorities. *AIDS Res Treat*, 2012; 2012: 874083. doi: 10.1155/2012/874083 (Accessed 20.06.2013).
56. Manjunatha UH, Boshoff H, Dowd CS, Zhang L, Albert TJ, Norton JE, et al. Identification of a nitroimidazo-oxazine-specific protein involved in PA-824 resistance in Mycobacterium tuberculosis. *PNAS*, 2006; 103 (2): 431-6.
57. Singh R, Manjunatha U, Boshoff HIM, Ha YH, Niyomrattanakit P, Ledwidge R, et al. PA-824 kills nonreplicating Mycobacterium tuberculosis by intracellular NO release. *Science*, 2008; 322 (5906): 1392-5.
58. Manjunatha UH, Lahiri R, Randhawa B, Dowd CS, Krahenbuhl JL, Barry CE. Mycobacterium leprae is naturally resistant to PA-824. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006; 50 (10): 3350-4.
59. Winter H, Egzi E, Eröndü N, Ginsberg A, Rouse DJ, Severynse-Stevens D, et al. Evaluation of pharmacokinetic interaction between PA-824 and midazolam in healthy adult subjects. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 May 20. doi:10.1128/AAC.02632-12. (Accessed: 20.06.2013).
60. Grosset JH, Singer TG, Bishai WR. New drugs for the treatment of tuberculosis: hope and reality. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012; 16 (8): 1005-14.
61. Ginsberg AM, Laurenzi MW, Rouse DJ, Whitney KD, Spigelman, MK. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of PA-824 in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009; 53 (9): 3720-5.
62. Sasaki H, Haraguchi Y, Itotani M, Kuroda H, Hashizume H, Tomishige T, et al. Synthesis and antituberculosis activity of a novel series of optically active 6-nitro-2,3-dihydroimidazo[2,1-b]oxazoles. *J Med Chem*, 2006; 49: 7854-60.
63. Matsumoto M, Hashizume H, Tomishige T, Kawasaki M, Tsubouchi H, Sasaki H, et al. OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice. *PLoS Medicine*, 2006; 3 (11): e466.
64. Diacon AH, Dawson R, Hanekom M, Narunsky K, Venter A, Hittel N, et al. Early bactericidal activity of delamanid (OPC-67683) in smear-positive pulmonary tuberculosis patients. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2011; 15 (7): 949-54.
65. Gler MT, Skripconoka V, Sanchez-Garavito E, Xiao H, Cabrera-Rivero JL, Vargas-Vasquez DE, et al. Delamanid for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *N Engl J Med*, 2012; 366: 2151-60.
66. Skripconoka V, Danilovits M, Pehme L, Tomson T, Skenders G, Kummik T, et al. Delamanid improves outcomes and reduces mortality in multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J*, 2013; 41: 1393-400.
67. Upton AM. TBA-354: A next generation nitroimidazole for treatment of drug sensitive and drug-resistant tuberculosis. 52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). September 9-12, San Francisco. 2012.
68. Bozdoğan B, Appelbaum PC. Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 2004; 23: 113-9.
69. Michalska K, Karpiuk I, Król M, Tyski S. Recent development of potent analogues of oxazolidinone antibacterial agents. *Bioorg Med Chem*, 2013; 21: 577-91.
70. Cynamon MH, Klemens SP, Sharpe CA, Chase S. Activities of several novel oxazolidinones against mycobacterium tuberculosis in a murine model. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999; 43 (5): 1189-91.
71. Shaw KJ, Barbachyn MR. The oxazolidinones: past, present, and future. *Ann N Y Acad Sci*, 2011, 1241: 48-70.
72. Ahmad S. New perspectives in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *Bacteriol Parasitol*, 2012; 3(9): 1000e114. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9597.1000e114>. (Erişim 20.06.2013)
73. Swindells S. New drugs to treat tuberculosis. *F1000 Med Rep*, 2012; 4: 12-8.

74. Wallis RS, Jakubiec WM, Kumar V, Silvia AM, Paige D, Dimitrova D, et al. Pharmacokinetics and whole-blood bactericidal activity against *Mycobacterium tuberculosis* of single doses of PNU-100480 in healthy volunteers. *J Infect Dis*, 2010; 202 (5): 745-51.
75. Pepper DJ, Meintjes GA, McAlleron H, Wilkinson RJ. Combined therapy for tuberculosis and HIV-1: the challenge for drug discovery. *Drug Discov Today*, 2007; 12 (21/22): 980-9.
76. Chen P, Gearhart J, Protopopova M, Einck L, Nacy CA. Synergistic interactions of SQ109, a new ethylene diamine, with front-line antitubercular drugs in vitro. *J Antimicrob Chemother*, 2006; 58: 332-7.
77. Reddy VM, Dubuisson T, Einck L, Wallis RS, Jakubiec W, Ladukto L, et al. SQ109 and PNU-100480 interact to kill *Mycobacterium tuberculosis* in vitro. *J Antimicrob Chemother*, 2012; 67: 1163-6.
78. Nikonenko BV, Protopopova M, Samala R, Einck L, Nacy CA. Drug therapy of experimental tuberculosis (TB): improved outcome by combining SQ109, a new diamine antibiotic, with existing TB Drugs. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007; 51 (4): 1563-5.
79. Jia L, Noker PE, Coward L, Gorman GS, Protopopova M, Tomaszewski JE. Interspecies pharmacokinetics and in vitro metabolism of SQ109. *Brit J Pharmacol*, 2006; 147: 476-85.
80. Meng Q, Luo H, Liu Y, Li W, Zhang W, Yao Q. Synthesis and evaluation of carbamate prodrugs of SQ109 as antituberculosis agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009; 19: 2808-10.
81. Makarov V, Manina G, Mikusova K, Möllmann U, Ryabova O, Saint-Joanis B, et al. Benzothiazinones kill *Mycobacterium tuberculosis* by blocking arabinan synthesis. *Science*, 2009; 324: 801-4.
82. Neres J, Pojer F, Molteni E, Chiarelli LR, Dhar N, Boy-Röttger S, et al. Structural basis for benzothiazinone-mediated killing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci Transl Med*, 2012; 4 (150): 150ra121.
83. Sala C, Dhar N, Hartkoorn RC, Zhang M, Ha YH, Schneider P, et al. Simple model for testing drugs against nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010; 54 (10): 4150-8.
84. Lechartier B, Hartkoorn RC, Cole ST. In vitro combination studies of benzothiazinone lead compound BTZ043 against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012; 56 (11): 5790-3.
85. Adhvaryu M, Vakharia B. Drug-resistant tuberculosis: emerging treatment. *Clin Pharmacol*, 2011; 3: 51-67.
86. Hoshino K, Inoue K, Murakami Y, Kurosaka Y, Namba K, Kashimoto Y, et al. In vitro and in vivo antibacterial activities of DC-159a, a new fluoroquinolone. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008; 52(1): 65-76.
87. Ahmad Z, Minkowski A, Peloquin CA, Williams KN, Mdluli KE, Grosset JH, et al. Activity of the fluoroquinolone DC-159a in the initial and continuation phases of treatment of murine tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011; 55 (4): 1781-3.
88. Shakya N, Garg G, Agrawal B, Kumar R. Chemotherapeutic interventions against tuberculosis. *Pharmaceuticals*, 2012; 5: 690-718.
89. Bogatcheva E, Hanrahan C, Nikonenko B, Santos G, Reddy V, Chen P, et al. Identification of SQ609 as a lead compound from a library of dipiperidines. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011; 21: 5353-7.
90. Sequella Licensing Opportunity SQ609 Therapeutic: Pre-clinical Indication: Treatment of Pulmonary TB. http://www.sequella.com/docs/Sequella_1sheet_SQ609_v1.pdf. (Erişim 26.06.2013)
91. Dubuisson T, Bogatcheva E, Krishnan MY, Collins MT, Einck L, Nancy CA, et al. (2010). In vitro antimicrobial activities of capuramycin analogues against non-tuberculous mycobacteria. *J Antimicrob Chemother*, 2010; 65 (12): 2590-7.
92. Sandeep G, Mona S, Kumar GM, Kapil N, Raman G. New drug regimens for old disease tuberculosis: a review. *IRJAP*, 2011; 2 (1), 126-31.
93. Koga T, Fukuoka T, Doi N, Harasaki T, Inoue H, Hotoda H, et al. Activity of capuramycin analogues against *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother*, 2004; 54: 755-60.
94. Shaharyar MS, Siddiqui AA, Ali MA. Synthesis and evaluation of phenoxy acetic acid derivatives as anti-mycobacterial agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006; 16: 4571-4.
95. Sriram D, Yogeewari P, Reddy SP. Synthesis of pyrazinamide Mannich bases and its antitubercular properties. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006; 16: 2113-6.
96. Shaharyar MS, Siddiqui AA, Ali MA, Sriram D, Yogeewari P. Synthesis and in vitro antimycobacterial activity of N1-nicotinoyl-3-(4'-hydroxy-3'-methyl phenyl)-5-[(sub)phenyl]-2-pyrazolines. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006; 16: 3947-9.
97. Sriram D, Yogeewari P, Madhu K. Synthesis and in vitro antitubercular activity of some 1-[(4-sub)phenyl]-3-(4-(1-[(pyridine-4-carbonyl) hydrazono]ethyl) phenyl) thiourea. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006; 16: 876-8.
98. Lin YM, Zhou Y, Flavin MT, Zhou LM, Nie W, Chen FC. Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorg Med Chem*, 2002; 10: 2795-802.
99. Evranos, B. Yeni bazı flavonoid türevlerinin sentezi, kimyasal yapılarının aydınlatılması ve monoamin oksidaz enzimleri üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010.

Halk sağlığı problemi olan talasemilerde laboratuvar

Laboratory on thalassemia which is a public health problem

Çiğdem SÖNMEZ¹, Ayşegül ÖZTÜRK-KAYMAK², Gülcan GÜNTAŞ¹

ÖZET

Talasemi ya da diğer adıyla Akdeniz Anemisi; dünyada ve ülkemizde en sık görülen ailesel geçişi olan hematolojik bir hastalıktır. Otozomal resesif geçiş gösteren, hemoglobin (Hb) zincirlerinden birinin veya birkaçının kalıtsal defekti sonucu gelişen hipokrom mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. Talasemi, α , β , γ , δ olarak tanımlanan hemoglobin zincirinin veya zincirlerinin az sayıda yapılması veya hiç yapılamaması ile oluşur. Alfa (α) zincir yapım azlığı ya da yokluğu α talasemiye, beta (β) zincir yapım azlığı veya yokluğu β talasemiye neden olmaktadır. Talasemi de klinik bulguların şiddeti globulin zincirlerindeki defektin miktarına ve etkilenen zincirin tipine göre değişmekle birlikte; asemptomatik seyirli taşıyıcılıktan sürekli transfüzyon tedavisi gerektiren ciddi klinik seyirlerle karşımıza çıkabilmektedir. Laboratuvar testleri talasemilerin tanı ve takibinde geniş yelpazede yer almaktadır. Tam kan sayımı, periferik yayma ve klinik kimya testleri ile hipokrom mikrositer anemilerin tanısı için gerekli parametreler iken; talasemilerin tanısı için yüksek performanslı likid kromatografisi, elektroforez testleri kullanılmaktadır. Talasemiler, taşıyıcıların laboratuvar tarama programları ile saptanması sonrası genetik danışma ve doğum öncesi tanı konabilmesiyle engellenebilir bir hastalık olmasına rağmen, dünyada her yıl en az 60.000 talasemi hastası doğmaktadır. Türkiye'de

ABSTRACT

Thalassemia which is also known as Mediterranean Anemia, is the most commonly observed hereditary blood disease in our country and in the world. This disease group which shows autosomal recessive transmission is a heterogeneous one group of disease which is characterized with hypochromic microcytic anemia that develops in the result of inherited defect of one or more of the hemoglobin chains. Thalassemia occurs either when hemoglobin chain or chains which are described as $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ are produced in few amount or when they are not produced at all. Absence of α -chain production or its insufficient production leads to α -Thalassemia; and the absence of β -chain production or its insufficient production leads to β -Thalassemia. While the severity of clinical findings in thalassemia changes according to the amount of defect on globulin chains and the type of chains that is affected; it can appear with a severe clinical progress that requires continuous transfusion treatment, from a carrier case with asymptomatic progress. Wide range of laboratory tests take part in the diagnosis and follow-up of Thalassemia. While whole blood count, peripheral smear and clinical chemistry tests are required parameters for the diagnosis of hypochromic microcytic anemia; high performance liquid chromatography and electrophoresis tests are used for the diagnosis of thalassemia. Although thalassemia can be prevented

¹ Dr. Abdurahman Yurtaslan Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, ANKARA

² Dr. Abdurahman Yurtaslan Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genetik, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Çiğdem SÖNMEZ

Dr. Abdurahman Yurtaslan Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, ANKARA

Tel : +90312 336 09 08 - 4636

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

Geliş Tarihi / Received : 21.03.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 01.05.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.26918

Sönmez Ç, Öztürk-Kaymak A, Güntaş G. Halk sağlığı problemi olan talasemilerde laboratuvar. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(4): 221-8.

ise yaklaşık 1.300.000 talasemi taşıyıcısı ve 4.500 kadar talasemi hastası olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle talasemiler ülkemiz için bir halk sağlığı problemidir. Talasemi tanısının zamanında ve doğru laboratuvar testleri ile konulması, gereksiz demir kullanımı gibi uygun olmayan tedavileri azaltacaktır. Genetik danışmanlık verilmesiyle taşıyıcı anne ve babaların hasta çocukları için alternatif tedaviler ile ilgili bilgi sahibi olmaları ve bir sonraki gebelik planlarında preimplantasyon genetik tanı (PGT) yönteminden faydalanmaları hedeflenmiştir. PGT, hasta bireylerin ömür boyu karşılaştıkları sağlık problemleri, hastalıkların tedavisindeki komplikasyonlar ve yüksek tedavi maliyetleriyle analiz edildiğinde, ailelerin sağlıklı çocuk sahibi olmalarına yardımcı olması nedeniyle kritik öneme sahip bir tekniktir. Bu derlemede talasemilerde, demir eksikliği anemisi ve diğer anemilerin ayrımında kullanılan eski ve yeni laboratuvar parametrelerinin neler olduğu ve nasıl kullanılacağı değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Talasemi, Laboratuvar testleri, Genetik Danışmanlık

with genetic counseling after the detection of carriers with laboratory screening programs and although it can be diagnosed before birth; every year at least 60.000 thalassemia patients are born in the world. It is reported that there are about 1.300.000 thalassemia carriers and about 4.500 thalassemia patients in Turkey. For this reason, thalassemia is a public health problem for Turkey. The diagnosis of thalassemia with the correct laboratory tests at a right time decreases inappropriate treatments like redundant use of iron. With the genetic counseling to the carrier families it is aimed to informed about alternative treatments for their children who have the disease and for their next birth plans how to use Preimplantation genetic diagnosis (PDG) technique. When health problems that patients encounter throughout their life, complications in the treatment of patients and high treatment costs are analyzed, PGD is a technique which has critical importance, it assists to make families have healthy children. In this review it is evaluated that in thalassemia what are the old and new laboratory parameters that are used in discrimination of iron deficiency anemia and other anemias; besides how they are used.

Key Words: Thalassemia, Laboratory Tests, Genetic Counseling

GİRİŞ

Talasemi ya da diğer adıyla Akdeniz anemisi; dünyada ve ülkemizde en sık görülen ailesel geçişli olan kalıtsal kan hastalığıdır. Kelimenin kökeni Yunancadan gelmektedir. Eski Yunanca'da "thalas" kelimesi deniz, "emia" kelimesi ise anemi anlamına gelmektedir, "Thalasemia" ise Akdeniz anemisi anlamına gelir. Akdeniz anemisi aynı zamanda Cooley anemisi olarak da adlandırılmaktadır (1) Talasemi hastalığı oluşum mekanizmasında, hemoglobinin sentezi defektleri temel rol alır. Talasemiler bu defektlerin şekline göre, asemptomatik taşıyıcılıktan farklı derecelerde hipokrom mikrositer anemiye kadar seyredabilen bir hastalık grubudur. Hemoglobinin (Hb), eritrositlerin dokulara oksijen taşımasında görevli bir metalloproteindir (2). Bu

globuler yapıdaki tetramer polipeptid, iki farklı globin zinciri içermektedir. Bu globulin zincirleri merkezde kavite oluşturacak şekilde bir kabuk gibi sarmal oluştururken zincir üzerine kovalent bağ ile dört tane hemin bağlanacağı bölgeler oluşturur. Normal erişkin bir insanda Hb'nin %95-97'sini meydana getiren HbA molekülü, yapısında iki α ve iki β globin ($\alpha_2\beta_2$) zincirinden meydana gelen tetramer yapıda bir metalloproteindir. Fetal hayat ve yenidoğanın major Hb'i olan HbF ise iki α ve iki γ ($\alpha_2\gamma_2$) zincirinden meydana gelmekte olup normal erişkin insanda düzeyi %1'in altındadır. Yapısında iki α ve iki δ zinciri bulunan HbA2 ($\alpha_2\delta_2$) normal erişkinde %2-3 oranında bulunur. α globulin zinciri 16. kromozomda, α dışı zincirler ise

11. kromozomda kodlanır. Bu nedenle bir diploid gen 4 α globulin zinciri ve 2 β benzeri gen içerir. α ve β genleri sırasıyla 141 ve 146 amino asit residue içerirler. Bu iki zincir arasında homolog 64 amino asit dizisi idantik pozisyonlarda bulunur. β geninde ise delta ve gamma zincirinden farklı 39 ve 10 amino asit kalıntısı bulunmaktadır(1-3).

Talasemiler, otozomal resesif geçiş gösteren, Hb zincirlerinden birinin veya birkaçının hasarlı sentezi sonucu gelişen hipokrom mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. Talasemi, α , β , γ , δ olarak tanımlanan hemoglobin zincirinin veya zincirlerinin az sayıda yapılması veya hiç yapılamaması ile oluşur. Bu tanımlamaya göre, α zincir yapım azlığı yada yokluğu α talasemiye, β zincir yapım azlığı veya yokluğu β talasemiye neden olmaktadır (2).

Talasemiler, taşıyıcıların laboratuvar tarama programları ile saptanması sonrası genetik danışma ve doğum öncesi tanı konabilmesiyle engellenebilir bir hastalık olmasına rağmen, dünyada her yıl en az 60.000 talasemi hastası doğmaktadır (4). Türkiye’de yaklaşık 1.300.000 talasemi taşıyıcısı ve 4.500 kadar talasemi hastası vardır (5). Ülkemizde β talasemi taşıyıcılığı sıklığı %2,1 dolayındadır. Bu sayı farklı bölgelerde artmakta, taşıyıcılık sıklığı %13’e kadar yükselmektedir (Antalya %13, Edirne %6,4, Urfa %6,4, Aydın %5,1, Antakya %4,6, İzmir %4,8, Muğla %4,5, İstanbul %4,5). Akdeniz, Ege ve Trakya bölgeleri taşıyıcılığın yüksek olduğu bölgelerdir (5).

BETA TALASEMİLER

β talasemiler, β globulin zincir oluşumunun azalmasına bağlı oluşur ve gen bozukluğu toplumlarda %3 ile %10 arasında bir sıklıkta izlenmektedir. β talasemi için 200 den fazla gen mutasyonu tanımlanmıştır. Akdeniz, Afrika ve Güneydoğu Asya’da sıklıkla izlenmektedir (3, 6, 7). β talasemiler dört grupta incelenir.

1- β^0 - **Talasemi Major:** Akdeniz anemisi olarak da bilinir. β globulin zincirinin oluşmamasına

bağlı olarak HbA oluşmamaktadır. Yaşamın 3-4. aylarında başlayan, derin anemi ile seyreden ve sık transfüzyon ihtiyacı olan ciddi bir hematolojik hastalıktır. Bu hastalıkta klinik olarak gelişme geriliği, halsizlik, solgunluk, iştahsızlık, huzursuzluk, enfeksiyona meyil, hepatomegali ve splenomegali izlenir. İnefektif eritropoeze ve ekstremiteler hematopoeze bağlı olarak, yüz ve kafa kemiklerinden başlayan kemiklerde deformiteler ve tipik bir yüz görünümü ortaya çıkar. Hb düzeyi 7 g/dl’nin altındadır. Hb elektroforezinde HbA hemen hemen yoktur ve yerini HbF almıştır. HbA2 normal, düşük veya hafif artmış olabilir (3, 6, 7).

2- β^+ **Talasemi İntermedia:** β globulin zincirinin oluşumunun azalmasına bağlı olarak HbA miktarı azalır. Genellikle bir yaşından sonra tanı konulur. Klinik daha ılımlı, anemi daha hafiftir. Hb düzeyi 7-10 g/dl arasındadır. Hastalar genellikle düzenli kan transfüzyonu gereksinimi duymazlar (3, 8).

3- β^+ **Talasemi Minör (Taşıyıcı Tip):** Bu bireyler talasemi taşıyıcısıdır ve tedavi gerektirmezler. Talasemi taşıyıcılarında da bebeklik döneminde iyi beslenememe nedeniyle demir eksikliği gelişebilir. Bu nedenle demir eksikliği tanısı konan hastalar demir tedavisi sonrasında değerlendirilmeli ve birlikte bulunabilecek talasemi taşıyıcılığı atlanmamalıdır. Enfeksiyon, gebelik ve stres durumlarında nadiren transfüzyon ihtiyacı duyabilirler (3, 8).

4. **Talasemi minima (Talasemi taşıyıcılığı):** Bulgular talasemi minördeki gibidir, ancak hemoglobin elektroforezi normal saptanır, tanı gen analizi ile konur (6).

ALFA TALASEMİ

α globulin zincir geninin bir tanesinden dört taneye kadar hepsinin delesyonu veya nokta mutasyonu sonucu, silinen gen miktarına bağlı olarak sessiz anemiden yaşam ile bağdaşmayan hastalık durumuna kadar farklı klinik özelliklerde karşımıza çıkabilir. α talasemi bütün dünyada görülebilir. Ancak Güneydoğu Asya ülkelerinde sıklıkla izlenir

(7). α talasemiler, β talasemilere göre daha sık izlenirken çoğunlukla asemptomatik seyreder. β talasemiden en büyük farkı intrauterin dönemde de görülebilmektedir (6).

Hb Barts: α globulin zincirinin dördünün de etkilenmesi sonucu hiç α globulin sentezi olmamaktadır. Fetusda γ -globulin zincirleri bir araya gelerek γ_4 tetramer oluştururlar ve bu tetramer Hb Barts olarak adlandırılır. Bu hastalığa sahip bebek taşıyan annelerin gebeliklerinin 20-26. haftasında hipertansiyon, ultrasonografide polihidroamniyoz ve hidrops fetalis izlenir. Buna sebep olabilen toxoplazma, rubella, CMV ve HSV gibi diğer durumlar ekarte edilmelidir (6, 7). Bu tablo doğumdan sonra ölümlü sonuçlanır.

Hb H (Alfa talesemi intermedia): α globulin genini üç tanesinin ($\alpha\alpha\alpha$) etkilenmesi sonucu farklı derecelerdeki kronik anemi ile karşımıza çıkar. α globulin zincirinin az sentezlenmesi, β globulin zincirinin insoluble globulin zincir HbH tetramerleri oluşturmasına neden olur. Mikrositer anemi, splenomegali ve hemoliz görülebilir. Akut hastalık haricinde demir ve transfüzyon tedavisine gerek yoktur. Genetik danışmanlık gereklidir (6, 7).

α - Talasemi minor: 2 α globulin zincirinin defektine bağlı olarak gelişir. Hafif hipokrom mikrositer bir anemi ile seyreder (6).

α - Talasemisilent: Tek bir α globulin zincir defekti ile karşımıza çıkar. Anemi görülmez veya çok hafif derecede karşımıza çıkar. Demir düzeyi ve Hb tipi tayinlerinde sonuçlar referans aralık içindedir (6, 7). Sadece genetik olarak saptanabilir.

TALASEMİDE LABORATUVAR

Hematolojik hastalıklarının tanısında tam kan sayımı (TKS) ve periferik kan yayma incelemesi özellikle anemili hastanın ilk değerlendirmesinde, ayırıcı tanısında ve daha sonra istenecek olan testlerin seçiminde yönlendirici, basit ve hızlı sonuçlanan testlerdir. TKS değerlendirmesinde Hb miktarından sonra dikkat edilmesi gereken

en önemli parametre eritrositlerin büyüklükleri hakkında bilgi veren ortalama eritrosit hacmi (MCV)'dir. Ayrıca ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama hemoglobin yüzdesel miktarı (MCHC), eritrosit sayısı (RBC) ve eritrosit dağılım genişliğinin (RDW)(anizositozun göstergesi) de ayrı ayrı değerlendirilmesi gerekmektedir (9). Bu parametreler özellikle mikrositer hipokrom anemiler ile talasemi ayırıcı tanısında oldukça yardımcıdır (10). Demir eksikliği anemisinde MVC, MCH, MCHC ve RBC azalırken, RDW'de artış görülmektedir. Talasemi taşıyıcılarında Hb seviyeleri normal veya normalden 1-2 g/dl kadar düşüktür. Genellikle RBC sayısındaki artışa ($>5.0 \times 10^9/L$), hipokromi (MCH düşük) ve mikrositoz (MCV düşük) eşlik ederken RDW değeri normaldir. Anemilerin ayırıcı tanısında bu parametrelerin yanında tüm kan sayım parametrelerinin de değerlendirilmesi gerekirken yaşa ve cinsiyete göre referans aralık kullanılması en önemli unsurlardan biridir.

Modern teknolojinin gelişmesiyle kan sayım cihazlarına eklenen yeni parametreler ile eritropoez hızı ve kemik iliğine sunulan demir miktarı arasındaki denge ve hipokrominin daha etkin değerlendirmesi için hipokromik RBC = Hypo%, retikulosit Hbkontent= CHR ve Low Hb dansitesi = LDH% parametreleri geliştirilmiştir (11).

Tanıda TKS değerlendirilmesinin yanı sıra periferik yayma ile morfolojinin de değerlendirilmesi gerekmektedir. Eritrositlerin şekli, büyüklüğü, rengi, inklüzyon cisimcikleri ve düzenleri ayırıcı tanının yapılmasında anahtar role sahiptir. Talasemide periferik yaymada eritrositlerde hipokromi ve mikrositoz izlenirken, hedef hücresi ve bazofilik noktalanma da görülebilir (9).

Anemili hastada klinik kimya testlerinden demir, demir bağlama kapasitesi, transferrin, transferrin saturasyon indeksi, laktat dehidrogenaz (LDH), bilirubinler, haptoglobulin, soluble transferrin, ferritin, vitamin B12 ve folik asit düzeylerinin bakılması tanıda, ayırıcı tanıda ve hastalığın

izleminde kullanılan rutin laboratuvar testleridir. Serum demir ve demir bağlama değerleri hipokrom mikrositer anemiye neden olan hastalık grupları içerisinde ayırıcı tanıda oldukça yol göstericidir. Demir eksikliği anemisinde, demir düşük ve demir bağlama kapasitesi yüksek seyrederken, talasemi hastasında hastalığın tipine ve derecesine bağlı olarak demir normal veya yüksek, demir bağlama normal veya düşük olarak izlenebilir. Talasemi hastalığının derecesi, anemi derinliği ve transfüzyona bağlı olarak bu parametrelerin sonuçları düzenli takip edilmelidir. Ayrıca ferritin düzeyi ile birlikte değerlendirilmesi tanısal desteği artırır. Serum ferritin düzeyi demir yükünü özellikle karaciğerdeki demir miktarını güçlü yansıttığı için klinik öneme sahip, ucuz ve basit bir testtir. Demir eksikliği anemisinde ferritin düzeyi düşük bulunurken, talasemi vakalarında hastalığın erken dönemleri ve geç dönemlerinde (transfüzyonlara bağlı demir yükünün varlığında) serum düzeylerinde farklılıklar izlenebilir. β talasemili hastalarda ferritin değerleri transfüzyon miktarı ile ilişkilidir (12). Laboratuvarında ferritin düzeyinin dilüsyonlu çalışılması ile serum düzeylerinin tam olarak takibi hem şelasyon tedavilerinin hem de komplikasyonların takibinde önemlidir. Ferritin serum değerinin 1800 ug/L üzerinde olması artmış kardiyak demir düzeyini gösterirken, 2500 ug/l üzerindeki değerler kardiyak komplikasyonların artmış prevalansını gösterir (6, 13). Ancak ferritinin diüurnal ritme sahip bir akut faz reaktanı olması spesifitesinin düşüklüğüne neden olmaktadır (14). Bu nedenle yeni parametrelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlardan biri olan soluble transferrin reseptörü (sTfR) inflamasyondan etkilenmeyen, ferritin ile beraber bakılması ve ferritin indeksinin hesaplanması ile (sTfR/log ferritin) demir eksikliği anemisinin ayırıcı tanısında güvenilir bir belirteçtir (14-16). Anemik hastanın değerlendirilmesinde klinik kimya testlerinden folik asit ve vitamin B12 düzeylerinin bakılması megaloblastik anemi lehine değerlendirmelerde

yardımcı olur. Talasemilerde semptomatik olanlarda sekonder folik asit eksikliği nedeniyle megaloblastik anemi de gelişebilir. Ayrıca talasemilerde izlenebilen intravasküler hemolize bağlı hiperbilirubinemi ve hiperürisemi görülebilir (13).

Demir metabolizmasında etkin olan ve rutin laboratuvar kullanımına yeni eklenen parametrelerden bir diğeri de hepsidin'dir. Talaseminin mortalite ve morbiditesinden sorumlu olan demir yükünün takibinde ve demirin vücut metabolizmasında oldukça önemli bir laboratuvar testidir. Karaciğerde sentezlenen bu peptid hormon plazmadaki demir konsantrasyonunun regülasyonunda ve farklı dokulara taşınmasında rol alır. Hepsidin serum ve idrar seviyeleri ölçülebilirken, idrar düzeylerinin ölçümünün kreatinin ile düzeltilmesi gerekmektedir. Talasemi hastalarında hepsidin seviyesi düşüklüğünün Hb konsantrasyonu ile pozitif, ferritin düzeyi ile negatif korelasyonu izlenmektedir (17, 18).

β talasemide izlenen anemi ve buna bağlı gelişen sekonder hipoksi sonucu serum eritropoietin (EPO) düzeyi dramatik şekilde artmıştır (19). Galanello ve arkadaşları (20) yaptığı çalışmada β talasemi hastalarında var olan HbF miktarının %40'ın üzerinde olduğunda EPO sentezini arttırdığı ve eritropoz üzerinde bağımsız regülatuar bir etki uyguladığını göstermişlerdir.

Talasemi majorlu hastalarda demir yüküne bağlı gelişen hemosiderozis sonucu hepatik fibrozis, hipoparatiroidi (geç dönemde) ve kardiyak yetmezlik gelişir. Karaciğer fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak 25-hidroksi vitamin D (25(OH)D) düzeylerinde azalma görülürken erken dönemde 25(OH)D yetmezliğinin tespiti, kemiğin mineral dengesinin sağlanmasına ve kemik hastalığının önlenmesine yönelik tedavi düzenlenmesini sağlayabilir (21).

TKS, periferik yayma değerlendirmesi ve diğer klinik biyokimya testleri ile hipokrom mikrositer anemilerin tanısında özellikle de demir eksikliği

anemisinde tanı konulabilse bile talasemi tanısı için elektroforez testleri ile Hb oranları, tipleri ve anormal Hb'lerin gösterilmesi gereklidir. Elektroforez, genel olarak, bir çözelti içerisindeki yüklü partiküllerin elektriksel alanda göç ettirilerek ayrıştırılması prensibine dayanan bir analiz yöntemidir. Agaroz jel ile Hb tiplerinin tayini talasemi ve hemoglobinopatili hastaların laboratuvar tanısı için gereklidir. Agaroz jel elektroforezi hem asit hem de alkali pH'da yapılmalıdır (2, 4). Alkali ortamda (alkali pH= 8,6) yapılan elektroforezde Hb F, A, S ve C taraması yapılırken minor varyant olan HbG ve HbD'yi HbS'den, HbE ve HbO'yu HbC'den ayıramaz. Asit Hb elektroforezinde (pH=6) ise HbG ve HbD'nin HbS'den; HbE ve HbO'nun HbC'den ayrılmasına olanak sağlar (2, 4).

Kapiller elektroforez, kapiller izoelektrik odaklama (CIEF) ve Kapiller zone elektroforezi olarak Hb varyantlarının, HbA2 ve HbF miktar tayini için ticari kitleri bulunan otomatize güvenilir sistemlerdir. CIEF, HbF'nin HbA ve varyant hemoglobiner S, C, D, punjab, E ve O Arab'dan iyi ayrılmasını sağlar (22).

HPLC (yüksek performanslı likid kromatografisi), bir tampon gradiyenti ile birlikte bir kolon kartilaj düzeninde iyon değişim reçinesi kullanarak iyonik güç ve/veya tampon pH değişikliklerine bağlı olarak belirli bir Hb kolondan ayrıştırılır ve Hb varlığı bir spektrofotometrik teknik kullanılarak tespit edilir. Hemoglobin fraksiyonun enjeksiyon zamanından ayrılmışan noktaya gelene kadar geçen alıkoyma süresi retansiyon zamanı olarak bilinir. Hemoglobinopati programında HbF, AO, A2/E, D, S ve C'ler için belirlenen pencereler ile retansiyon zamanı kullanılır. Retansiyon zaman skalasında yedi Hb yer alır (HbA, F, S, C, D, E ve A2). Her örnek analizinden sonra kromatogram kopyası otomatik olarak yazdırılır. HbF, HbA'dan ayrı olarak tespit edilirken Hb S, C, D, E de ayrı ayrı izlenmektedir. Bununla birlikte anormal Hb'lerde tespit edilir. Bu test taşıyıcılar, etkilenmiş infantlar ve HbS varyantı taşıyan B

talasemili hastaların ayırımında kullanılır. HbBarts ve HbH analiz başlamadan önce ayırma testlerinden kantifiye edilmeleri zordur. HPLC sistemleri geniş sayıda örnekler için kullanışlı sistemlerdir (2). HPLC sistemlerinde HbA2 ölçümlerinde agaroz jel tekniği ile karşılaştırılmasında HPLC yöntemi ile çalışmada HbA2 ölçümünde daha kesin ve doğru sonuçlar elde edilmektedir (2).

TALASEMİ VE GENETİK

Ülkemizde sık görülen ve klinik laboratuvar testleri ile Hb tip ve oranlarının gösterilmesindeki zorluklar nedeniyle β talasemi ve α talasemi üzerine genetik laboratuvar çalışmaları giderek ön plana çıkmıştır. β talasemiye neden olan HBB gen bölgesi 11 numaralı kromozomun kısa koluna (11p15.4) yerleşmiş üç ekzon ve iki introndan oluşmaktadır. Günümüzde HBB gen bölgesine ait 200'den fazla farklı mutasyon bildirilmiştir. Bu mutasyonlar bölgesel olarak farklılıklar göstermektedir. Bu yüzden hastalığın araştırılacağı kişide bakılacak olan mutasyonların önceliği kişiden kişiye değişmektedir. Yapılan araştırmalarda ülkemizde en sık gözlenen mutasyon IVS-I 110 olarak saptanmıştır. Diğer sık gözlenen mutasyonlar ise IVS-I 1, IVS-I 6, Cod 39, FSC-8, -30, IVS-II 1, IVS-II 745'dir (23). Sadece sık gözlenen mutasyonlar Real Time PCR ve hibridizasyon yöntemleriyle saptanabilir. Tüm gen araştırılması için ekzon ve intron bölgelerini içeren sekans analizi yapılmalıdır. Bunun için elde edilen DNA materyaline β Globulin (HBB) gen bölgesine spesifik primerler kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yapılır. Daha sonra elde edilen PCR oranına DNA dizi analizi uygulanır. Elde edilen veriler Gen Bankası Veri Tabanı'ndaki bilgilere göre yorumlanır. Moleküler genetik tanı; α talasemi tanısında önemli bir yer tutmaktadır. α 1-globini kodlayan HBA1 ve α 2-globini kodlayan HBA2 genlerinin incelenmesinde belli mutasyonlar için hibridizasyon yöntemi kullanılabilir. HBA1 ve HBA2 genleri 16. kromozomun kısa kolunun uç bölgesinde (16p13.3) yerleşik üçer

ekzon ve ikişer introndan oluşmaktadır. Etkilenmiş hastaların %90'unda delesyon, %10'unda ise nokta mutasyonları gözlenir. Türkiye'de en sık gözlenen delesyonlar, 3.7-kb sağ taraf (- α 3.7) ve 4.2-kb sol taraf delesyonudur (- α 4.2). HBA1 ve HBA2 genlerinde 6 kb ile 300 kb arasında değişen 20'den fazla farklı delesyon saptanmıştır. Bunlar içerisinde, --SEA, --FIL ve --MED en sık gözlenen delesyonlar olup homozigot olmaları durumunda HB Bart sendromu gözlenir. Hastalarda en sık gözlenen nokta mutasyon ise HbConstant Spring (HbCS) missense mutasyonudur. Bu delesyonların gösterilebilmesi için HBA1 ve HBA2 genleri için Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) analizi kullanılmaktadır (24). Delesyon saptanmayan ancak klinik şüphesi devam eden hastalarda sık gözlenen mutasyonlardan başlanarak mutasyon analizi yapılması gerekir.

Genetik danışma spesifik genetik hastalık için, hastaların, ailelerinin, yakınlarının ve risk taşıyan tüm kişilerin; hastalığın klinik özelliklerinin (tanı, prognoz ve tedavi olanakları), hastalığın ortaya çıkışında kalıtımın rolünün ve yakın akrabalarında bu hastalığın ortaya çıkma risklerinin, var olan bu risklere karşı prenatal tanı ve çocuk sahibi olmaya yönelik diğer alternatifleri öğrenmelerinin ve sonuç olarak hastalığa hastanın uyumunun artmasının hedeflendiği uzun ve katılımlı bir süreçtir.

Talasemilerde de genetik danışmanlık önemli bir yer tutar. Eğer her iki ebeveyn talasemi taşıyıcı ise her gebelikte %25 olasılıkla normal, %50 olasılıkla talasemi taşıyıcısı, %25 olasılıkla talasemi majör çocuk doğabilir. Eğer ebeveynlerden biri talasemi taşıyıcısı ise doğacak her çocuk %50 ihtimalle taşıyıcı olabilir. Bu nedenle anne ve babaların çocuk sahibi olmadan önce talasemi taşıyıcısı olup olmadıklarını bilmeleri önemlidir. İki taşıyıcının evlenmesi halinde gebeliğin 10-11. haftalarında kordosentez ile doğum öncesi talasemi tanısı konulabilir.

Hızlı gelişen teknoloji ve birikim genetik bilgi sayesinde Preimplantasyon Genetik Tanı (PGT) koruyucu tıbbın en önemli kolu olmaya adaydır. Herediter geçiş gösteren bir hastalığa neden olan genetik değişikliğin doğum öncesi saptanabilmesi için hastalığa neden olan genin yapısının ve özelliklerinin çok iyi biliniyor olması gerekmektedir. Bugüne kadar yapılan araştırmalar sonucu β -talasemi, orak hücreli anemi, hemofili ve kistik fibrosis gibi hastalıklara neden olan genlerin yapısı belirlenmiştir. Bu yüzden Türkiye gibi taşıyıcı sıklığı ve akraba evliliğinin fazla olduğu toplumlar için talasemilerde PGT önem taşımaktadır (25).

β Talasemi Önleme Programlarının en önemli ayaklarını eğitim, tarama programları, genetik danışma, prenatal tanı ve PGT oluşturmaktadır (26). Talasemilerde, PGT yöntemi ile sağlıklı embriyoların saptanmasının yanı sıra HLA tiplemesi işlemi de aynı anda uygulanabilmekte ve embriyoların HLA tipi belirlenebilmektedir. Bu yöntem, aileleri prenatal tanı işlemlerine bağlı tıbbi ve psikolojik travmalardan da korumaktadır. Bunların yanı sıra; PGT, hasta bireylerin ömür boyu karşılaştıkları sağlık problemleri, hastalıkların tedavisindeki komplikasyonlar ve yüksek tedavi maliyetleriyle analiz edildiğinde, ailelerin sağlıklı çocuk sahibi olmalarına yardımcı olması ve hasta bireylere ek bir tedavi olanağı sunması nedeniyle halen gelişmekte olan zahmetli ve kritik öneme sahip bir tekniktir. Uygun doku tipine sahip kemik iliği bulunması durumunda nakil ile kesin tedavi sağlanabilmektedir.

Özetle; talasemilerin tanısı, tedavisi, takibi ve önlenmesi halk sağlığı açısından önemli bir yer tutmaktadır. Giderek ön plana çıkan genetik testler ile β talasemi ve α talasemi tanısının konması yanı sıra PGD ile hastalığın önlenmesi de amaçlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. GH Whipple, WL Bradford. Mediteranean Disease-Thalassemia (erythroblasticanemia of Cooley). J Pediatr, 1936; 9: 279-311
2. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory Investigation of Hemoglobinopathies and Thalassemias: Review and Update Clinical Chemistry, 2000; 46: 1284-90.
3. Rund D, Rachmilewitz E. B-Thalassemia. N Engl J Med, 2005; 353: 1135-46.
4. Aydınok Y. Thalassemia Hematology, 2012; 1: 28-31
5. Canatan D. Dünyada ve Türkiye’de Talasemi ve Anormal hemoglobinler Türk Hematoloji Derneği 5. Ulusal Talasemi Gençlik Kampı. İzmir-Türkiye. 2004
6. Higgins T, Eckfeldt JH, Barton JC, Doumas BT. Hemoglobin, Iron and Bilirubin Chapter 32. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE eds. TietzTextbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics Fifth Edition. USA: Elsevier Saunders, 2012: 985-1030.
7. Muncie HL Jr, Campbell J. Alpha and B Thalassemia Am Fam Physician, 2009; 80: 339-44.
8. Olivieri NF. The B Thalassemias N. Engl J Med, 1999; 341: 99-109.
9. Albayrak D, Albayrak C. Anemik hastada iyi öngörü Türk Pediatri Arşivi, 2009; 6: 1-5.
10. Ford J. Redbloodcellmorphology. Int J Lab Hamatol, 2013; 35(3): 351-7.
11. Herklotz R, Risch L, Huber AR. Conventional and new laboratory parameters in the evaluation of hematologic disease. Ther Umsch, 2004; 61:93-102.
12. Martin A, Thompson AA. Thalassemias. Pediatr Clin North Am. 2013; 60:1383-91.
13. Carson SM, Martin MB. Effective Iron Chelation Practice for Patients With B-Thalassemia Major. Clin J Oncol Nurs, 2014;18:102-11.
14. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Biomarkers of hypochromia: the contemporary assessment of iron status and erythropoiesis. Biomed Res Int, 2013;2013:603786. doi: 10.1155/2013/603786.
15. Tripatara A, Srichana N, LamoolP, Amnuaykan S, Hongart P, Jetsrisuparb A. Relationship between Plasma Ferritin Level and Siderocyte Number in Splenectomized β -Thalassemia/HbE Patients. Anemia, 2012; 2012: 890471.
16. Skikne BS. Serum Transferin Receptor. Am J Hematol, 2008; 83: 872-5.
17. Nemeth E. Heparidine in β thalassemia. Ann N Y AcadSci, 2010; 1202: 31-5.
18. Hendy OM, Allam M, Allam A, Attia MH, El Taher S, Eldin MM, et al. Heparidine levels and iron status in β -thalassemia major patients with hepatitis C virusinfection. Egypt J Immunol, 2010; 17: 33-44.
19. Rivella S. The role of in effective erythropoiesis in nontransfusion-dependent thalassemia. Blood Review, 2012; 26:12-5
20. Jalali MT, Mohseni A, Keikhaei B, Latifi M. Evaluation of diagnostic efficacy of serum sTfR assay in iron-deficiency anemia and B-thalassemia trait in Shafa hospital, Ahvaz, Iran 2010. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2012; 16: 1441-5.
21. Soliman A, De Sanctis V, Yassin M. Vitamin D status in thalassemia Major: An Update. Med J Hematol Infect Dis, 2013; 5; e2013057
22. Jenkins M, Ratnaik S. Capillary electrophoresis of hemoglobin. Clin Chem Lab Med, 2003;1: 747-54.
23. Bilgen T, Arikan Y, Canatan D, Yeşilipek A, Keser I. The association between intragenic SNP haplotypes and mutations of the β globin gene in a Turkish population. Blood Cells Mol Dis, 2011; 46: 226-9.
24. Guvenc B, Yıldız SM, Tekinturhan F, Dincer S, Akyuzluer I, Okten S, Erkman H. Molecular characterization of alpha-Thalassemia in Adana, Turkey: A single center study. Acta Haematol, 2010; 123: 197-200.
25. Kuliev A, Rechitsky S, Verlinsky O, Ivakhnenko V, Evsikov S, Wolf G, et al. Strom, Y. Verlinsky. Preimplantation Diagnosis of Thalassemias. J Assist Reprod Genet, 1998; 15: 219-25.
26. Nielsen P, Engelhardt R, Grosse R, Janka G, Harmatz P, et al. Italian Society of Hematology guidelines for Thalassemia and non-invasive iron measurements. Haematologica, 2009; 94: 294-5.

A

AFŞAR İ.	1/1
AKÇAY A.	4/201
AKIN L.	2/99
AKSOY A.	2/67
AKSOY-GÖKMEN A.	2/89
AKSU N.	2/67
AKTAŞ D.	2/99
AKTAŞ E.	3/131
ARSLANYILMAZ M.	2/99
ASLAN D.	2/99
AŞCI Z.	2/61
AYYILDIZ A.	2/75

B

BABALIK M.	4/179
BABÜR C.	1/27
BALCI M.	3/147
BELDER N.	1/45
BOYACIOĞLU Z.İ.	2/81
BRİTO K.	4/165

C - Ç

CAÑETE R.	4/165
CESARETLİ Y.	1/9
CİLİV E.F.	1/19
ÇAKMAKÇI M.L.	4/187
ÇAVUŞ Ç.	2/89
ÇETİN F.	2/67
ÇINARKA H.	4/179
ÇÖPÇÜ H.E.	1/41
ÇÖPLÜ N.	1/19
ÇULHA G.	4/171

D

DEMİR E.	3/113
DEMİR N.	4/179
DEMİRCİ M.	1/1
DEMİREL H.	4/201
DOĞAN N.	1/27
DOĞRAMACI Ç.A.	4/171
DUMAN R.	3/147

E

ERDOĞAN B.	1/45
ERDOĞAN E.	3/125
ERTEK M.	1/19
EVRAKOS-AKSÖZ B.	4/207

F

FİDANOĞLU P.	1/45
-------------------	------

G

GONZÁLEZ M.E.	4/165
GÖNEN İ.	3/141
GÜL S.	3/107
GÜLKAN B.	4/171
GÜNAY G.	4/187
GÜNEŞ-ALTUNTAŞ E.	3/155
GÜNGÖR S.	1/1 - 2/89
GÜNTAŞ G.	4/221
GÜRESER A.S.	2/81
GÜRKAN Y.	2/67

H

HASANOĞLU H.C.	1/35
---------------------	------

I - İ

IRMAK H.	1/9
İLHAN M.N.	1/19
İLK Ö.	1/45

J

JİMÉNEZ P.R. 4/165

K

KARACA Ş. 2/89

KARADUMAN-YALÇIN F. 1/35

KARAHAN A.G. 4/187

KAVAKLI A. 1/9

KAYA O. 3/141

KAYNAR P. 1/9

KELEKÇİ K.H. 2/89

KILIÇ H. 1/35

KOÇ S. 4/201

KÖSE C. 1/27

KUK S. 3/125

M

MUMCUOĞLU İ. 2/67

Ö

ÖZDAĞ H. 1/45

ÖZKUL M.H. 2/93

ÖZTAN Ş. 1/41

ÖZTÜRK D.B. 3/107

ÖZTÜRK-KAYMAK A. 3/147 - 4/221

ÖZÜNEL L. 2/81

P - R

PEKTAŞ B. 2/89

RAJABLİ F. 1/45

S - Ş

SAVAŞ N. 4/171

SEZAK N. 1/1

SOUNOUVE K.M. 4/165

SÖNMEZ Ç. 4/221

SÖZEN H. 3/141

ŞAHİN İ. 3/125

ŞAHİN M.F. 4/201

ŞENGÜL C. 4/179

ŞENLİK Z.B. 1/19

ŞENTÜRK A. 1/35

ŞERİFHAN-İLGÜN M. 1/1

T

TAYLAN-ÖZKAN A. 1/27 - 2/81

TUNÇEL-BAŞOĞLU M. 1/41

U

USLU H. 2/75

UYAR M. 2/93

UYAR Y. 3/125

UZ-GÜL E. 3/107

UZUN B. 1/1 - 2/89

V

VALDÉS R. 4/165

Y

YAĞMUR G. 4/201

YAZAR S. 3/125

YAZICI Y. 4/179

YILMAZ A. 2/75

YILMAZ H. 4/179

YILMAZ M.S. 3/107

YILMAZ Ö. 3/113

YILMAZ S. 2/93

YİĞİT N. 3/131

YÜRÜK M. 3/125

71. CİLT YILLIK DİZİN / 71. ISSUE ANNUAL INDEX

Sayı / Number: 1 Cilt / Vol: 71 Yıl / Year: 2014

1. Berrin UZUN, Serdar GÜNGÖR, Nurbanu SEZAK, İlhan AFŞAR, Müjde ŞERİFHAN-İLGÜN, Mustafa DEMİRCİ..... 1 - 8
Yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç yüzdelerindeki değişim
Changes in resistance percentage to antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* strains isolated from blood cultures of intensive care unit patients
2. Pınar KAYNAR, Ayşe KAVAKLI, Yıldırım CESARETLİ, Hasan IRMAK..... 9 - 18
Özel tıbbi amaçlı diyet gıdaların besin ögesi içerikleri yönünden incelenmesi
Evaluation of the nutritional values of dietary foods for special medical purposes
3. Nilay ÇÖPLÜ, Mustafa Necmi İLHAN, Emine Fusun CİLİV, Zeynep Belma ŞENLİK, Mustafa ERTEK..... 19 - 26
Aile hekimleri ve uzmanlar arasında antimikrobilyallerin akılcı reçetelendirilmesi: tutum ve talepler
Rational prescription of antibiotics among family physicians and specialists: attitudes and demands
4. Nihal DOĞAN, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN, Cahit BABÜR, Cem KÖSE..... 27 - 34
Sağlıklı görünümülü Eskişehir sokak köpeklerinde leishmaniosis ve toksoplazmosis seroprevalansının araştırılması
Seroprevalance of leishmaniosis and toxoplasmosis in healthy appeared street dogs in Eskişehir
5. Ayşegül ŞENTÜRK, Hatice KILIÇ, Funda KARADUMAN-YALÇIN, Hatice Canan HASANOĞLU..... 35 - 40
Antitüberküloz tedaviye bağlı geç oluşan addison olgusu
Addison's Disease occurring in late stage of antituberculosis treatment
6. Mürşide TUNÇEL-BAŞOĞLU, Şule ÖZTAN, H. Eray ÇÖPÇÜ..... 41 - 44
Nadir bir yara enfeksiyonu etkeni: *Achromobacter xylosoxidans* (olgu sunumu)
A rare wound infection agent: *Achromobacter xylosoxidans* (a case report)
7. Pelin FİDANOĞLU, Nevin BELDER, Beyza ERDOĞAN, Özlem İLK, Farid RAJABLİ, Hilal ÖZDAĞ..... 45 - 60
Genom projeleri 5N1H: ne, nerede, ne zaman, nasıl, neden ve hangi popülasyonda?
Genome projects 5W1H: what, where, when, why, how and in which population?

Sayı / Number: 2 Cilt / Vol: 71 Yıl / Year: 2014

1. Zerrin AŞCI..... 61 - 66
Afyon Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi çalışanlarında HBV, HCV ve HIV seroprevalansı
Seroprevalance of HBV, HCV and HIV among health care workers in the Afyon Pediatrics, Obstetrics and Gynecology Hospital
2. Feyza ÇETİN, İpek MUMCUOĞLU, Altan AKSOY, Yakup GÜRKAN, Neriman AKSU..... 67 - 74
Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılıkları
Microorganisms isolated from blood cultures and their antimicrobial susceptibilities
3. Ahmet YILMAZ, Hakan USLU, Ahmet AYYILDIZ..... 75 - 80
Erzurum merkezindeki bazı okullardaki lavabo-tuvalet muslukları ve sularının mikrobiyolojik yönden incelenmesi
Microbiological examination of waters from faucets of washbasin-toilets in some schools at the city centre of Erzurum
4. Leyla ÖZÜNEL, Zehra İlkey BOYACIOĞLU, Ayşe Semra GÜRESER, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN..... 81 - 88
Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesinde derin trekeal aspirat örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık paternlerinin değerlendirilmesi
Evaluation of antimicrobial susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* strains that were isolated from deep tracheal aspirate specimens in Çorum Hitit University Training and Research Hospital
5. Bayram PEKTAŞ, Ayşegül AKSOY-GÖKMEN, Kıymet Handan KELEKÇİ, Berrin UZUN, Serdar GÜNGÖR, İbrahim ÇAVUŞ, Şemsettin KARACA..... 89 - 92
Glucantime ile tedavi edilen yurtdışı kaynaklı bir kutanöz leishmaniosis olgusu
CAN imported cutaneous leishmaniosis case treated with glucantime
6. Melek UYAR, Süleyman YILMAZ, M. Haluk ÖZKUL..... 93 - 98
Kronik nazal enfeksiyonlarda unutulmuş bir patojen olarak *Klebsiella ozaenae*
Klebsiella ozaenae as a forgotten pathogen in chronic nasal infections
7. Müsenna ARSLANYILMAZ, Dilek ASLAN, Levent AKIN, Dilber AKTAŞ..... 99 - 106
Tularemisi: güncel değerlendirmeler
Updated assessment on tularemia

71. CİLT YILLIK DİZİN / 71. ISSUE ANNUAL INDEX

Sayı / Number: 3 Cilt / Vol: 71 Yıl / Year: 2014

1. Serdar GÜL, Doğan Barış ÖZTÜRK, Muhittin Serkan YILMAZ, Esen UZ-GÜL..... 107 - 112
Ankara halkının kendi kendine antibiyotik kullanımı hakkındaki bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi
Evaluation of public knowledge and attitudes regarding self medication with antibiotics in Ankara
2. Ersin DEMİR, Ökkeş YILMAZ..... 113 - 124
Deneysel diyabetin karaciğer dokusunda oluşturduğu bazı değişiklikler üzerine çam yağının etkisi
The effect of pine oil on some alterations in liver tissue of experimental diabetes
3. Yunus UYAR, Merve YÜRÜK, Emrah ERDOĞAN, Salih KUK, İzzet ŞAHİN, Süleyman YAZAR..... 125 - 130
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2011-2013 yılları arasında başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı
Distribution of intestinal parasites in patients presenting at the Erciyes University Medical School Parasitology Laboratory between 2011 and 2013
4. Nimet YİĞİT, Esin AKTAŞ..... 131 - 140
Amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazolün kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerine karşı antifungal aktivitesinin mikrodilüsyon ve disk diffüzyon yöntemleri ile belirlenmesi
Activities of amphotericin B, fluconazole and voriconazole against *Candida* bloodstream isolates determined by broth microdilution and disk diffusion methods
5. İbak GÖNEN, Onur KAYA, Hamdi SÖZEN..... 141 - 146
Laboratuvar kaynaklı bruselloz: iki olgu sunumu
Laboratory acquired brucellosis: a report of two cases
6. Rahmi DUMAN, Ayşegül KAYMAK, Mehmet BALCI..... 147 - 154
Bir halk sağlığı problemi olan şaşılıkların mitokondriyal sitopatilerle birlikteliği
The association of strabismus- a public health problem- with mitochondrial cythopathies
7. Evrim GÜNEŞ-ALTUNTAŞ..... 155 - 164
Engeller teknolojisinde bakteriyosinlerin kullanımı
Usage of bacteriocins in hurdle technology

Sayı / Number: 4 Cilt / Vol: 71 Yıl / Year: 2014

1. Roberto CAÑETE, Pablo Rodriguez JIMÉNEZ, Kokou M. SOUNOUVE, Katia BRİTO, Ronaldo VALDÉS, María E. GONZÁLEZ.... 165 - 170
Blastocystis sp. infection in patients with gastrointestinal complaints: a Cuban study
Gastrointestinal şikayeti olan hastalarda *Blastocystis* sp. enfeksiyonu: bir Küba araştırması
2. Gülnaz ÇULHA, Çiğdem Asena DOĞRAMACI, Burcu GÜLKAN, Nazan SAVAŞ..... 171 - 178
Kutanöz leishmaniasis ve Hatay ilindeki durumu
Cutaneous leishmaniasis and its status in Hatay province, Turkey
3. Nağihan DEMİR, Yelda YAZICI, Halit ÇINARKA, Hülya YILMAZ, Canan ŞENGÜL, Mesiha BABALIK..... 179 - 186
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı akut alevlenmesi olan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci
Antibiotic resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease
4. Gizem GÜNEY, Aynur Gül KARAHAN, Mehmet Lütfü ÇAKMAKÇI..... 187 - 200
Chlorella vulgaris'in biyoflokülanlarla sıvı ortamlardan ayrılması
Separation of *Chlorella vulgaris* from liquid phase using bioflocculants
5. Gülhan YAĞMUR, Hüsrev DEMİREL, Muhammed Feyzi ŞAHİN, Arzu AKÇAY, Sermet KOÇ..... 201 - 206
Anaerob bakterilerin neden olduğu toplum kaynaklı plevrapulmoner enfeksiyona bağlı gelişen ölümcül sepsis vakası
A case of community-acquired pleuropulmonary infection and fatal septicemia caused by anaerobic bacteria
6. Begüm EVRANOS-AKSÖZ..... 207 - 220
Tüberküloz tedavisinde yeni ilaç adayları
New drug candidates in tuberculosis treatment
7. Çiğdem SÖNMEZ, Ayşegül ÖZTÜRK-KAYMAK, Gülcan GÜNTAŞ..... 221 - 228
Halk sağlığı problemi olan talasemilerde laboratuvar
Laboratory on thalassemia which is a public health problem

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

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

Makale Türü/Article Type:

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

Makale Başlığı/Article Entitled :

Sayın Editör,

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

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

Dear Editor,

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

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

(...1) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...2) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...3) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...4) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...5) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

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

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

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

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

Tel/Phone : +90 312 565 55 79

Faks/Fax : +90 312 565 54 55

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

