

Cilt 38

Sayı 2

Antibiyotik ve Kemoterapi
(ANKEM) Derneği

2024

Bulletin of Antimicrobial
Chemotherapy

ANKEM DERGİSİ



Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği
Society of Antimicrobial
Chemotherapy

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

Editörler Kurulu

Editör

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

Yardımcı Editörler

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

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

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

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

İÇİNDEKİLER

Contents

ARAŞTIRMALAR/RESEARCH ARTICLES

- **Batı Anadolu'daki Bazı Yaygın Küçük Memeli Türlerinin *Orthohantavirüs* Taşıyıcılığı Açısından Değerlendirilmesi** 30
Evaluation of Some Common Small Mammal Species in Western Anatolia for Orthohantavirus Carriage
Dr Öğr Üyesi Ceylan POLAT, Dr Öğr Gör Sercan IRMAK, Prof Dr Mustafa SÖZEN,
Prof Dr İbrahim Mehmet Ali ÖKTEM
- **E Vitamini ve Çörek Otu Yağı İçeren Poli-3-Hidroksibutirat-Ko-3-Hidroksiheksaonat-Jelatin Mikrofiber Tekstil Lifleri: Antibakteriyel Etkinlik ve Yara İyileşmesine Katkı** 37
Poly-3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyhexaonate-Gelatin Microfiber Textile Fibers Containing Vitamin E and Black Cumin Oil: Antibacterial Activity and Contribution to Wound Healing
Dr Emine KUTLU, Prof Dr Fatih Mehmet EMEN, Doç Dr Naciye ERKAN,
Dr Cansu OLGUNER, Ece KUTLU, Prof Dr Kumar SUDESH
- **Kan Kültürlerinde Tespit Edilen *Candida* İzolatlarının Dağılımı ve Antifungal Duyarlılıklarının Ticari Bir Sıvı Mikrodilüsyon Testi ile Belirlenmesi** 53
Distribution of Candida Isolates Detected in Blood Cultures and Determination of Antifungal Susceptibilities by a Commercial Broth Microdilution Test
Dr Mehmet İlker TOSUN, Doç Dr Özlem KIRIŞCI
- **HPV Eğitiminin Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Öğrencilerinin HPV Farkındalığı Üzerine Etkisi: Ön Test-Son Test Deseni Yaklaşımı** 62
The Effect of HPV Training on HPV Awareness of Students of Health Services Vocational School: Pretest-Posttest Design Approach
Öğr Gör Aslıhan YENİKAPI, Öğr Gör Dr Elif AYDIN



Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği
Society of Antimicrobial
Chemotherapy

Yazışma Adresi /

Correspondence Address

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

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

Yayın türü; Yerel Süreli

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

ANKEM Dergisi Serbest Erişimli (Open Access) bir dergidir.

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

- **Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Yıllara Göre Antibiyotik Direnç Paterninin İncelenmesi** 71
An Investigation of the Antibiotic Resistance Pattern of Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from Blood Cultures Over the Years
Uzm Dr Duygu BEDER, Doç Dr Fatma ESENKAYA TAŞBENT, Prof Dr Metin DOĞAN

OLGU SUNUMLARI/CASE REPORTS

- **Müsilaj Teması Sonrası *Streptococcus pyogenes* İle Gelişen Yumuşak Doku Enfeksiyonu** 79
Soft Tissue Infection with Streptococcus pyogenes after Mucilage Contact
Doç Dr Yeşim ÇAĞLAR, Dr Arş Gör Muhammet ÖKSÜZOĞLU
- **Epiteloid Karsinomlu Hastada *Campylobacter coli* Enfeksiyonuna Bağlı Gelişen Bakteriyemi: Olgu Sunumu** 84
Bacteremia Due to Campylobacter coli Infection in a Patient with Epithelioid Carcinoma: A Case Report
Dr Ersin ŞENTÜRK, Doç Dr Fatma AVCIOĞLU, Doç Dr Oktay Halit AKTEPE, Doç Dr Mustafa BEHÇET, Dr Yusuf AFŞAR, Prof Dr Muhammet KURTOĞLU

- **ANKEM Dergisi Yazım Kuralları** 2024,38(1)'e
Editorial Rules of Journal of ANKEM bakınız

BATI ANADOLU'DAKİ BAZI YAYGIN KÜÇÜK MEMELİ TÜRLERİNİN ORTOHANTAVİRÜS TAŞIYICILIĞI AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ceylan POLAT¹, Sercan IRMAK², Mustafa SÖZEN³, İbrahim Mehmet Ali ÖKTEM⁴

C. Polat: 0000-0003-1511-4177, S. Irmak: 0000-0002-1577-8208, M. Sözen: 0000-0002-1911-605X, İ. M. A. Öktem: 0000-0002-3185-8355

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

²Balıkesir Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, BALIKESİR

³Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ZONGULDAK

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

ÖZ

Hantaviridae ailesinin üyesi olan ortohantavirüsler, kemirici kaynaklı RNA virüsleridir. Enfekte kemiricilerin çıkartı ve sekresyonlarındaki viral partiküllerin aerosolizasyonu ve nadiren de enfekte kemiricilerle direkt temas yolu ile bulaşan ortohantavirüsler, Avrasya'da renal sendromlu kanamalı ateş ve epidemik nefropati olgularına, Amerika kıtasında ise hantavirüs kardiyopulmoner sendrom olgularına neden olabilen önemli halk sağlığı sorunlarıdır. Türkiye'de de enfeksiyonlara neden oldukları bildirilmiş ve küçük memelilerdeki varlıkları gösterilmiştir.

Bu çalışma ile renal sendromlu kanamalı ateş olgularının bildirildiği bazı Batı Anadolu illerinde dolaşımda olan ortohantavirüslerin ve olası konak türlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında yedi farklı lokaliteden yakalanan 49 adet küçük memeliye ait serum ve akciğer dokusu örnekleri kullanılmıştır. Hem moleküler hem de serolojik yöntemler ile taranan örneklerde, Ortohantavirüs enfeksiyonuna yönelik bir pozitiflik saptanmamıştır. Bu durum, örneklem alanlarının zamansal, bölgesel ve iklimsel özelliklerinden kaynaklanmış olabilir.

Batı Anadolu'daki küçük memelilerin Ortohantavirüs taşıyıcılıklarının değerlendirilmesi, bölgeden bildirilmiş vakalar olması nedeniyle önem taşımaktadır. Bu çalışmanın örneklemini sınırlı olduğundan, olası konak türlerini ve farklı dönemlerde yapılmış örneklemeleri içeren kapsamlı bir çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Ortohantavirüs, *Microtus*, *Apodemus*, *Crocidura*, Anadolu, Türkiye

ABSTRACT

Evaluation of Some Common Small Mammal Species in Western Anatolia for *Orthohantavirus* Carriage

Orthohantaviruses, members of the *Hantaviridae* family, are rodent-borne RNA viruses. They transmitted by aerosolization of viral particles in the excretions and secretions of infected rodents and rarely by direct contact with infected rodents. They are an important public health concerns that cause hemorrhagic fever with renal syndrome and epidemic nephropathy cases in Eurasia and hantavirus cardiopulmonary syndrome cases in the Americas. They have also been reported to cause infections in Turkey and their presence in rodents have been indicated.

We aimed to determine the circulating orthohantaviruses and possible host species in some provinces of Western Anatolia where hemorrhagic fever with renal syndrome cases have been reported. Serum and lung tissue samples of 49 rodents collected from seven localities during a one-week field study were used. No positivity for *Orthohantavirus* infection was detected in the samples screened by both molecular and serologic methods. This situation may be related to the temporal, regional and climatic characteristics of the sampling areas.

The evaluation of rodents in Western Anatolia in terms of *Orthohantavirus* carriage is important due to the cases reported from the region. Since the sample size of this study was limited, a comprehensive study which includes possible host rodent species and samples collected from different periods is needed.

Keywords: *Orthohantavirus*, *Microtus*, *Apodemus*, *Crocidura*, Anatolia, Turkey

İletişim adresi: Ceylan POLAT. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA
e-posta: ceylan.polat@hacettepe.edu.tr

Received/Geliş: 26.03.2024 Accepted/Kabul: 29.04.2024 Published Online/Online Yayın: 30.08.2024

Atıf/Cite as: Polat C, Irmak S, Sözen M, Öktem İMA. Batı Anadolu'daki bazı yaygın küçük memeli türlerinin *Orthohantavirus* taşıyıcılığı açısından değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2024;38(2):30-36.

GİRİŞ

Ortohantavirüsler, tek iplikli, negatif polariteli, üç segmentli RNA genomuna sahip zarflı virüslerdir⁽²⁶⁾. Bulaş, enfekte konağa ait dışkı, idrar gibi çıkartılarında ve salya gibi sekresyonlarında bulunan viral partiküllerin solunması ve nadiren enfekte konaklarla doğrudan temas yoluyla gerçekleşmektedir. Konak türlerin yayılımı, bu virüslerin epidemiyolojisinde önemli rol oynamaktadır⁽¹¹⁾.

Dünya'da her yıl 150-200 bin kişiyi etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunu olan *Ortohantavirüs* kaynaklı enfeksiyonlar, Avrupa ve Asya'da görülen (Eski Dünya ortohantavirüsleri) renal sendromlu kanamalı ateş ve epidemik nefropati tablolarına neden olurken, Amerika kıtasında (Yeni Dünya ortohantavirüsleri) hantavirüs kardiyopulmoner sendromuna neden olmaktadır⁽⁹⁾. Türkiye'de de görülen ve dönem dönem salgınlara neden olan bu virüsler, ülkemizde ilk olarak 2009 yılındaki salgın ile birlikte dikkat çekmiştir⁽⁶⁾. Yapılan çalışmalarda, *Ortohantavirus dobravaense* (DOBV) ve *Ortohantavirus puumalaense* (PUUV) kaynaklı vakalar bildirilmiştir^(1,2,4,6-8,10,15,16,20,21,25). Yaban hayatı surveyans çalışmalarında ise küçük memelilerde DOBV, PUUV ve *Ortohantavirus tulaense* (TULV) varlığı saptanmıştır^(13,14,17-19).

Ortohantavirüs enfeksiyonlarında, yüksek ateş, miyalji ve halsizlik gibi spesifik olmayan bulguları nedeniyle tanı koyulması zordur ve virüse karşı doğrudan etkili bir antiviral ajan bulunmamaktadır. Bu nedenle enfeksiyondan korunma önem taşımaktadır. Yaban hayatı surveyansının yapılması, zoonotik virüslerden kaynaklanabilecek olası salgınlara karşı hazırlığın önemli bir parçası haline gelmiştir⁽²²⁾. Riskli bölgelerin belirlenmesi ve olası salgın bölgelerinin öngörülebilmesi, halk sağlığı güvenliği açısından kilit öneme sahiptir.

Bu çalışmada, renal sendromlu kanamalı ateş olgularının bildirildiği bazı Batı Anadolu illerinde dolaşımda olan ortohantavirüslerin ve olası konak türlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma planı için Dokuz Eylül Üniversitesi, Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu'na başvurulmuş ve 28/2016 numaralı karar ile onaylanmıştır.

Örnekler

Ortohantavirüs varlığının değerlendirilebilmesi için, 2016 yılında bir haftalık saha çalışması ile Balıkesir, Kütahya ve İzmir Bozdağ'daki yedi farklı lokaliteden canlı yakalama kapanları ile yakalanan küçük memelilere ait dokular ve serum örnekleri kullanıldı (Tablo 1). Memelilerin tür tayinleri, saha çalışmaları sırasında fenotipik olarak yapıldı ve olası bir pozitiflik saptanması durumunda moleküler yöntemler ile doğrulanması planlandı.

Küçük memelilere ait dokular, RNA stabilize edici solüsyon (RNAlater, Invitrogen, ABD) içerisinde -80°C'de, serum örnekleri ise doğrudan -80°C'de saklandı.

Tablo 1. Örneklem yapılan lokalitelerin koordinatları.

İl	Bölge	Enlem	Boylam	Küçük memeli türleri (n)
Kütahya	Çavdarhisar	39.18671	29.60044	<i>Apodemus</i> spp. (4) <i>Mus macedonicus</i> (2) <i>Crocidura leucodon</i> (1) <i>Microtus hartingi</i> (2)
	Akpınar Köyü	39.56989	30.12729	<i>Microtus hartingi</i> (8)
İzmir	Bozdağ	38.332140°	28.115745°	<i>Microtus subterraneus</i> (4)
	Bozdağ Yaylası	38.351177°	28.107274°	<i>Apodemus</i> spp. (1) <i>Apodemus mystacinus</i> (2) <i>Apodemus</i> spp. (1)
Balıkesir	Geçmiş Köyü	39.54630	27.35180	<i>Mus macedonicus</i> (2)
	Güre Köyü	39.61892	26.89033	<i>Apodemus flavicollis</i> (4) <i>Mus macedonicus</i> (2)
	Çağış Yerleşkesi	39.54340	28.00793	<i>Apodemus</i> spp. (7) <i>Mus macedonicus</i> (9)

Moleküler Tarama

Nükleik Asit İzolasyonu ve cDNA Eldesi

Küçük memelilere ait akciğer dokuları, TRIzol (Thermo Fisher Scientific, ABD) içerisinde, steril çelik boncuklar yardımı ile homojenize edildi. Doku homojenizasyonunu takiben, guanidin-tiyosiyanat-fenol-kloroform yöntemi⁽³⁾ ile total nükleik asit izolasyonu yapıldı.

Elde edilen RNA'lar ters transkripsiyon yöntemi ile cDNA'ya çevrildi. Bu amaçla, "random hexamer" primer, ters transkriptaz enzimi, RNaz inhibitörü, deoksinükleotit trifosfat karışımı (dNTP) ve tampon içeren ticari kit (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanıldı. Reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde, her bir reaksiyon için 100 µM "random hexamer", 200 U RevertAid RT enzimi, 20 ünite (U) RiboLock RNase inhibitörü ve 20 mM dNTP kullanıldı.

Çalışmada, Helsinki Üniversitesi Viral Zoonozlar Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen *Orthohantavirus dobravaense*'ye ait RNA pozitif kontrol olarak kullanıldı.

RT-PZT ve Nested PZT

Örneklerin taranmasında, *Orthohantavirüs* genomunda RNA-bağımlı RNA polimeraz enzimini kodlayan L-segmentteki korunmuş bölgeleri tanıyan ve bilinen tüm orthohantavirüslere özgül pan-hantavirus primer setleri kullanıldı⁽¹²⁾.

Tepkimeler, toplam hacimleri 25 µL olacak şekilde hazırlandı. Her iki reaksiyonda da 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTP, 10 µM ileri primer, 10 µM geri primer (Tablo 2) ve 2.5 U Taq DNA polimeraz (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanıldı.

Tablo 2. Pan-hantavirus taramasında kullanılan primerler⁽¹²⁾.

Primer	Polarite	Reaksiyon	Dizi
HanLF1	Sense	RT-PZT	5'-ATG TAY GTB AGT GCW GAT GC-3'
HanLR1	Antisense	RT-PZT	5'-AAC CAD TCW GTY CCR TCA TC-3'
HanLF2	Sense	Nested PZT	5'-TGC WGA TGC HAC IAA RTG GTC-3'
HanLR2	Antisense	Nested PZT	5'-GCR TCR TCW GAR TGR TGD GCA A-3'

Y: C, T B: C, G, T W: A, T D: A, G, T R: A, G H: A, C, T I: Inosine

RT-PZT koşulları; 94°C'de 1 dakika ön denatürasyonun ardından 4°C'lik değişim içeren bir "touch-down" basamağı (94°C 30 saniye, 60-56°C arasından her beş döngüde 2°C düşecek şekilde 30 saniye, 72°C 1 dakika olacak şekilde toplam 15 döngü) ve ardından 20 döngülük bir basamağı (94°C 30 saniye, 52°C 30 saniye, 72°C 1 dakika) takiben 72°C'de 5 dakikalık bir son uzama basamağından oluştu. Nested PZT koşulları ise, 94°C'de 1 dakika ön denatürasyonu takiben 35 döngülük 94°C 30 saniye, 53°C 30 saniye, 72°C 1 dakika basamağı ve 72°C'de 5 dakikalık bir son uzama basamağından oluştu. Elde edilen PCR ürünleri, %1.5'lük agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülendi ve hedef bölge büyüklüğüne uygun bant (390 baz çifti) varlığı araştırıldı.

Serolojik Tarama

Orthohantavirüse karşı antikor varlığının belirlenmesi için, DOBV, PUUV ve HTNV rekombinant nükleokapsid antijenleri ile kaplı ELISA plakları ve immunoblot şeritleri (Euroimmun, Almanya) kullanıldı. Serolojik testlerde, Polat ve ark.⁽¹⁷⁾ tarafından kemirici serumlarına göre optimize edilen prosedürler uygulandı.

ELISA testi için her serum bir örneği 1/50 oranında fosfatlı tampon (PBS) ile seyreltildi. 100 µL seyreltilmiş serum örneği eklenen kuyucuklar, orbital çalkalayıcı inkübatörde 37°C'de bir saat inkübe edildi. Her bir örnek için çift kuyucuk kullanıldı. İnkübasyon sonrasında kuyucuklar, 300 µL deterjan içeren yıkama tamponu (Euroimmun, Almanya) ile üçer kez yıkandı. Her kuyucuğa 100 µL 1/10.000 oranında PBS ile seyreltilmiş "horseradish" peroksidaz enzimi ile işaretli keçi anti-fare IgG konjugatından (Millipore, ABD) eklenerek, orbital çalkalayıcı inkübatörde 37°C'de bir saat inkübe edildi. Ardından yıkama basamağı yukarıda anlatılan şekilde tekrarlandı. Kuyucuklara 100 µL 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidin/hidrojen peroksit (TMB/H₂O₂) kromojen/substrat solüsyonu (Euroimmun, Almanya) eklendi ve plak, 15 dakika süre ile oda sıcaklığında, karanlık ortamda inkübe edildi. İnkübasyonu takiben kuyucuklara 100 µL 0.5 M sülfirik asit (H₂SO₄) eklenerek tepkime durduruldu ve optik dansiteleri (OD), tepkimenin durdurulmasını takip eden 30 dakika içerisinde, mikropalak okuyucu fotometre ile 450 nm dalga boyunda (referans dalga boyu 620 nm) ölçüldü. OD değeri, 0,326 ve üzerinde olan örnekler pozitif olarak değerlendirildi.

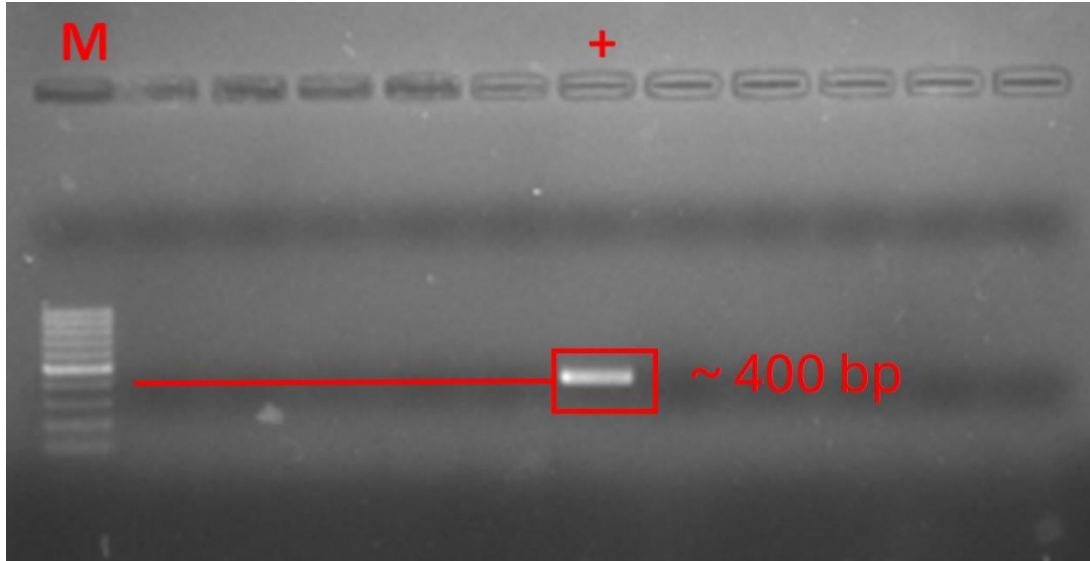
İmmunoblot testi için ise DOBV, PUUV ve HTNV rekombinant nükleokapsid antijenleri emdirilmiş şeritler, inkübasyon tepsi içerisinde 1.5 ml bloklama tamponu (Euroimmun, Almanya) ile 15 dakika boyunca oda sıcaklığında, çalkalayıcıda inkübe edildi. Her bir şeride 1.5 ml 1/100 oranlarında 1x dilüsyon tamponu (Euroimmun, Almanya) ile seyreltilen serum eklendi ve oda sıcaklığında, çalkalayıcı üzerinde 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyonu takiben immunoblot şeritleri, üçer kez 1.5 ml 1x dilüsyon tamponu ile beşer dakika yıkandı. Yıkama sonrasında 1.5 ml 1/5.000 oranında 1x dilüsyon tamponu ile seyreltilen alkalen fosfataz enzimi ile işaretli keçi anti-fare IgG konjugatı (Santa Cruz Biotechnology, ABD) eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Yıkama basamağı yukarıda anlatılan şekilde tekrarlandı. Her bir şerit üzerine 1.5 ml NBT/BCIP (nitrobluetetrazoliumchloride/5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate) substrat solüsyonu (Euroimmun, Almanya) eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında şeritler, üçer kez birer dakika distile su ile yıkandı ve şeritler üzerindeki bant yoğunlukları, şeritler kuruduktan sonra değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmada 19'u *Apodemus*, 15'i *Mus*, 14'ü *Microtus* ve biri *Crocidura* cinsi olmak üzere toplam 49 adet küçük memeli yakalandı. Bu küçük memelilerin tümünün akciğer dokularında moleküler tarama yapılırken, serum örneği alınabilen 20 bireye ait örnekler serolojik olarak da tarandı.

Polat ve ark.⁽¹⁷⁾ tarafından kemirici serum örnekleri için optimize edilen prosedüre göre optik dansite (OD) değeri 0.326 ve üzerinde olan örnekler, pozitif olarak değerlendirildi. 20 bireyden dördünde *Orthohantavirüs* açısından düşük düzeyde seropozitiflik saptandı. Ancak bu pozitiflikler, immunoblot testi ile doğrulanamadı.

Çalışmada yer alan küçük memelilerin virüs taşıyıcılıkları açısından moleküler olarak taranması sonucunda, örneklerde hedef bölge büyüklüğüne uygun bant gözlenmedi (Şekil 1).



Şekil 1. Küçük memelilerin doku örneklerine ait nested PZT ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.

M: Marker (100-1000 bp, her bir çizgi 100 bp'lik artış ifade etmektedir), **+**: *Orthohantavirus dobravaense* pozitif kontrol

TARTIŞMA

Ciddi klinik tablolara neden olabilen *Orthohantavirüs* kaynaklı enfeksiyonlarda, yüksek ateş, miyalji ve halsizlik gibi spesifik olmayan bulguların gözlenmesi ve tanısının zor olması, vireminin kısa sürmesi, virüse karşı doğrudan etkili bir antiviral ajanın bulunmaması, enfeksiyondan korunmayı öne çıkarmaktadır. Bu nedenle, ortohantavirüsler gibi zoonotik etkenlerin neden olabileceği salgınlara karşı hazırlıklı olmak ve riskli bölgeleri belirleyebilmek için yaban hayatı sürveyansının yapılması önem taşımaktadır.

Türkiye'de 2009-2018 yılları arasında %5,1 mortalite oranıyla toplam 251 *Ortohantavirüs* kaynaklı vaka bildirilmiştir⁽²³⁾. Ayrıca, yaban hayatı monitörizasyonu çalışmaları sırasında küçük memelilerin DOBV, PUUV ve TULV taşıyıcılığının serolojik ve moleküler yöntemler ile saptanmış olması, ortohantavirüslerin Trakya ve Kuzey Anadolu'daki dolaşımını ortaya koymuştur^(13,14,17-19).

Çalışma kapsamında yakalanan küçük memelilere ait örnekler hem serolojik hem de moleküler yöntemler ile taranmıştır. Serolojik tarama için kullanılan ve eşik OD değeri 0.326 olan ELISA testi ile, dört örnekte düşük düzeyde seropozitiflik saptanmış, ancak immunoblot testi ile doğrulanamamıştır. Örneklemin farklı cins ve türde küçük memeli örneklerinden oluştuğu göz önünde bulundurulduğunda, ELISA testi için belirlenen eşik OD değerinin, farklı türler için değişkenlik gösterebileceği düşünülebilir. Bu yüzden örneklerin değerlendirilmesinde, ELISA testinin yanı sıra altın standart olan immunoblot testi de dikkate alınmıştır.

Bu çalışmadaki örneklerin moleküler taramasında kullanılan ve L-segmenti hedef alan pan-hantavirus primerleri, yaygın olarak kullanılmaktadır⁽¹²⁾. Fakat bu primerlerin duyarlılığının düşük olduğu, viral yükü düşük olan örneklerde ve yeni bir *Ortohantavirüs*'ün saptanmasında performansının düşük olabileceği bildirilmiştir⁽⁵⁾. Bu nedenle virüsün L-segmenti yerine, oldukça korunmuş bir bölge olan S-segmentini hedef alan yöntemlerin tercih edilmesi, duyarlılığı arttırabilir.

Çalışma kapsamında toplanan örneklem grubunda *Ortohantavirüs* varlığına rastlanmamıştır. Herhangi bir pozitiflik saptanmamasında, örneklem alanlarının dönemsel, bölgesel ve iklimsel özelliklerinin rolü olabilir. *Ortohantavirüs* enfeksiyonlarında, besin miktarındaki artışın küçük memeli popülasyonlarındaki artışa neden olmasından dolayı belirli dönemlerde artış gözlenebilmektedir⁽²⁴⁾. Bu nedenle örneklemin yapıldığı zaman ve lokaliteler, bu artışın gözlenmediği bir döneme rastlamış olması olasıdır. Diğer yandan daha önce yapılan çalışmalarda pozitiflik saptanmış olan Trakya, Kuzey ve Doğu Anadolu'daki lokalitelerin iklimsel özellikleri, bu çalışma kapsamında örneklem yapılan ve Batı Anadolu'da yer alan lokalitelerden farklılık göstermektedir. Bu iklimsel özellikler, bir RNA virüsü olan *Ortohantavirüs*'ün dış ortam şartlarında enfektivitesini sürdürmesi için uygun şartları sağlamıyor olmayabilir.

Bu çalışma, Batı Anadolu'daki küçük memelilerin *Ortohantavirüs* taşıyıcılıklarının değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır. Ancak bölgedeki durumun detaylı şekilde ortaya konabilmesi için farklı türlerinden oluşan, farklı dönemlerde örneklem yapılmış daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Zoonotik enfeksiyonlar açısından riskli oluşturabileceği düşünülen bölgelerde düzenli yaban hayatı monitörizasyonu ile olası etkenlerin varlığı saptanabilecek ve bölgelerin risk durumu ortaya konabilecektir.

Etik Kurul Onayı: Çalışma planı, Dokuz Eylül Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (28/2016 numaralı karar) tarafından onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: The study plan was approved by the Local Ethics Committee for Animal Experiments (decision number 28/2016) of Dokuz Eylul University.

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

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

Teşekkür

Araştırmanın saha çalışmalarına katkı sağlayan Dr. Ortaç Çetintaş ve Prof. Dr. Ferhat Matur'a teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Akar N, Çalışkan E, Öztürk CE, et al. Seroprevalence of hantavirus and *Borrelia burgdorferi* in Düzce (Turkey) forest villages and the relationship with sociodemographic features. *Turk J Med Sci.* 2019;49(2):483-9. doi: 10.3906/sag-1807-160
2. Cesur S, Unverdi S, Ciftci A, et al. The seroprevalence of hantavirus in patients with chronic renal failure in two provinces of Central Anatolia. *KLİMİK Derg.* 2012;25(3):103-6. doi:10.5152/kd.2012.29

3. Chomczynski P, Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty- something years on. *Nat Protoc.* 2006;1(2):581-5. doi:10.1038/nprot.2006.83
4. Çelebi G, Öztoprak N, Öktem İMA, et al. Dynamics of Puumala hantavirus outbreak in Black Sea Region, Turkey. *Zoonoses Public Health.* 2019;66(7): 783-97. doi: 10.1111/zph.12625
5. Erdin M, Stanoeva KR, Mögling R, et al. External quality assessment of orthohantavirus and lymphocytic choriomeningitis virus molecular detection and serology in Europe, 2021. *Euro Surveill.* 2023;28(40):pii=2300054. doi:10.2807/1560-7917.ES.2023.28.40.2300054
6. Ertek M, Buzgan T. An outbreak caused by hantavirus in the Black Sea region of Turkey, January-May 2009. *Euro Surveill.* 2009;14(20):19214. doi: 10.2807/ese.14.20.19214-en
7. Gozalan A, Kalaycioglu H, Uyar Y, et al. Human Puumala and Dobrava hantavirus infections in the black sea region of Turkey: A cross-sectional study. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013;13(2):111-8. doi: 10.1089/vbz.2011.0939
8. Gözel MG, Engin A, Elaldi N, Bakir M, Dökmetaş I, Uyar Y. First cases of hemorrhagic fever with renal syndrome from the Middle Anatolia Region of Turkey and the first case of hantavirus and crimean-congo hemorrhagic fever virus co-infection in a patient. *Turkiye Klinikleri J Med Sci.* 2013;33(1):224-8. doi: 10.5336/medsci.2011-22742
9. Jonsson CB, Figueiredo LTM, Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(2):412-41. doi: 10.1128/CMR.00062-09
10. Kaya S, Yilmaz G, Erensoy Ş, Yağcı Çağlayık D, Uyar Y, Köksal I. Hantavirus infection: Two case reports from a province in the Eastern Black Sea Region, Turkey. *Mikrobiyol Bul.* 2010;44(3):479-87.
11. Klein SL, Calisher CH. Emergence and persistence of hantaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2007;315:217-52. doi: 10.1007/978-3-540-70962-6_10
12. Klempa B, Fichet-Calvet E, Lecompte E, et al. Hantavirus in African wood mouse, Guinea. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(5):838-40. doi: 10.3201/eid1205.051487
13. Laakkonen J, Kallio-Kokko H, Öktem MA, et al. Serological survey for viral pathogens in Turkish rodents. *J Wildl Dis.* 2006;42(3): 672-6. doi: 10.7589/0090-3558-42.3.672
14. Oktem İMA, Uyar Y, Dincer E, et al. Dobrava-belgrade virus in *Apodemus flavicollis* and *A. uralensis* mice, Turkey. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(1):121-5. doi: 10.3201/eid2001.121024
15. Oncul O, Atalay Y, Onem Y, et al. Hantavirus infection in Istanbul, Turkey. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(2): 303-4. doi: 10.3201/eid1702.100663
16. Ozkan O, Tukek T, Yildiz E, Ayozturk Velioglu E, Gursu M, Ozturk S. Hantavirus infections and renal manifestations: Case report and update. *Turkish J Nephrol.* 2013;22(1):129-32. doi: 10.5262/tndt.2013.1001.23
17. Polat C, Karataş A, Sözen M, Matur F, Abacıoğlu H, Öktem MA. Yabani kemiricilerde Eski Dünya Hantavirüs IgG antikorlarının saptanması için ELISA ve immunoblot yöntemlerinin optimizasyonu. *Mikrobiyol Bul.* 2016; 50(2):245-55. doi: 10.5578/mb.23161
18. Polat C, Sironen T, Plyusnina A, et al. Dobrava hantavirus variants found in *Apodemus flavicollis* mice in Kırklareli province, Turkey. *J Med Virol.* 2018;90(5):810-8. doi: 10.1002/jmv.25036
19. Polat C, Ergünay K, Irmak S, et al. A novel genetic lineage of Tula orthohantavirus in Altai voles (*Microtus obscurus*) from Turkey. *Infect Genet Evol.* 2019;67:150-8. doi: 10.1016/j.meegid.2018.11.015
20. Polat C, Ergin Ç, Akkaya Y, Oktem İMA. Investigation of Orthohantavirus seroprevalence in northern rural areas of Denizli Province, Turkey. *Jpn J Infect Dis.* 2020;73(3):201-4. doi: 10.7883/yoken.JJID.2019.330
21. Sarigüzel N, Hofmann J, Canpolat AT, et al. Dobrava hantavirus infection complicated by panhypopituitarism, Istanbul, Turkey, 2010. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(7):1180-3. doi: 10.3201/eid1807.111746
22. Sikkema RS, Koopmans MPG. Preparing for emerging zoonotic viruses, "Bamford DH, Zuckerman M (eds): Encyclopedia of Virology, 4. baskı" kitabında s. 256-66, Academic Press, London (2021) doi: 10.1016/B978-0-12-814515-9.00150-8.

23. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı, 1. baskı, Artı6 Medya Tanıtım Matbaa Ltd. Şti., Ankara (2019).
24. Tersago K, Verhagen R, Vapalahti O, Heyman P, Ducoffre G, Leirs H. Hantavirus outbreak in Western Europe: reservoir host infection dynamics related to human disease patterns. *Epidemiol Infect.* 2011;139(3):381-90. doi: 10.1017/S0950268810000956
25. Uyar Y, Çağlayık DY, Korukluoğlu G, et al. Investigation of hantavirus infections among CCHFV negative cases in the Western Black Sea Region of Turkey. *Acta Med Mediterr.* 2014;30(4):855-60.
26. Vaehri A, Henttonen H, Voutilainen L, Mustonen J, Sironen T, Vapalahti O. Hantavirus infections in Europe and their impact on public health. *Rev Med Virol.* 2013;23(1):35-49. doi: 10.1002/rmv.1722

E VİTAMİNİ VE ÇÖREK OTU YAĞI İÇEREN POLİ-3-HİDROKSİBUTİRAT-KO-3-HİDROKSİHEKSAONAT-JELATİN MİKROFİBER TEKSTİL LİFLERİ: ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİK VE YARA İYİLEŞMESİNE KATKI

Emine KUTLU^{1*}, Fatih Mehmet EMEN¹, Naciye ERKAN², Cansu OLGUNER³, Ece KUTLU³, Sudesh KUMAR⁴

E. Kutlu: 0000-0003-0211-1006, F. M. Emen: 0000-0002-4974-2940, N. Erkan: 0000-0001-9502-1696, C. Olguner: 0000-0001-7744-9015, E. Kutlu: 0009-0004-7001-3517, S. Kumar: 0000-0003-4756-9192

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 15100, BURDUR

²Akdeniz Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Mülkiyet Koruma ve Güvenlik Bölümü, 07058 ANTALYA

³Antalya Bahçeşehir Koleji, Anadolu Lisesi, Parkorman Kampüsü, ANTALYA

⁴Sains Malezya Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Okulu, 11800 Penang, MALEZYA

ÖZ

Mikrofiber tekstil lifleri ile yara bakımında avantaj sağlayabilen ürünler geliştirilebilmektedir. Bu çalışmada poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat-jelatin içeren mikrofiber tekstil lifleri (PJ) ile E vitamini ve çörek otu yağı içeren ve biyolojik olarak parçalanabilen poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat-jelatin mikrofiber tekstil lifleri (PJ-ÇE) elektrospinning yöntemi kullanılarak hazırlandı. Liflerin yapısal karakterizasyonları Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile gerçekleştirildi. Mikrofiber tekstil liflerinin termal davranışları Termogravimetri (TG)/Diferansiyel Termal Analiz (DTA)/Diferansiyel Termogravimetri (DTG) kombine sistemiyle, yüzey morfolojileri ise Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) tekniği ile incelendi. PJ ve PJ-ÇE liflerinin antibakteriyel etkinlikleri, tekstillerin antibakteriyel aktivite test yöntemiyle (JIS L 1902: 2002) *Escherichia coli* ATCC 35150 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı araştırıldı. PJ ve PJ-ÇE liflerinin yara iyileşmesine in vitro etkisi L929 fibroblast hücreleri üzerinde incelendi. Elektrospinning tekniğiyle dayanıklı PJ ve PJ-ÇE lifleri elde edilebildiği yapısal testlerle gösterilmiştir. Antibakteriyel çalışma sonuçlarına göre PJ liflerinin *E. coli* üzerinde yüksek, *S. aureus* üzerinde ise düşük antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. PJ-ÇE liflerinin antibakteriyel etkinliği ise, PJ liflerine göre *E. coli* üzerinde daha düşük, *S. aureus* üzerinde daha yüksek bulunmuştur. PJ-ÇE liflerine maruz kalan L929 fibroblast hücrelerinde hasarın onarımında artış gözlenmiştir. PJ-ÇE liflerinin yeni kompozit yara örtülerinin geliştirilmesinde kullanım açısından umut vaat ettiği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: antibakteriyel aktivite, Elektrospinnig, jelatin, mikrofiber örtüler, poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksanoat, yara iyileşmesi

ABSTRACT

Poly-3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyhexaonate-Gelatin Microfiber Textile Fibers Containing Vitamin E and Black Cumin Oil: Antibacterial Activity and Contribution to Wound Healing

Products that can provide advantages in wound care can be developed with microfiber textile fibers. In this study, microfiber textile fibers containing poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexaonate-gelatin (PJ) and biodegradable poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexaonate-gelatin microfiber textile fibers containing vitamin E and black cumin oil (PJ-ÇE) were prepared using electrospinning method. Structural characterization of the fibers was carried out by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). The thermal behavior of the microfiber textile fibers was investigated by Thermogravimetry (TG)/Differential Thermal Analysis (DTA)/Differential Thermogravimetry (DTG) combined system and their surface morphology was investigated by Scanning Electron Microscopy (SEM) technique. The antibacterial activities of PJ and PJ-ÇE fibers were investigated against *Escherichia coli* ATCC 35150 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strains by the textile antibacterial activity test method (JIS L 1902: 2002). The in vitro effect of PJ and PJ-ÇE fibers on wound healing was investigated on L929 fibroblast cells. It was shown by structural tests that durable PJ and PJ-ÇE fibers can be obtained by

İletişim adresi: Emine Kutlu, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 15100, BURDUR
e.posta: emine1044@gmail.com

Received/Geliş: 29.04.2024 Accepted/Kabul: 03.07.2024 Published Online/Online Yayın: 30.08.2024

Atf/Cite as: Kutlu E, Emen FM, Erkan N, Olguner C, Kutlu E, Kumar S. E vitamini ve çörek otu yağı içeren Poli-3-Hidroksibutirat-KO-3-Hidroksiheksaonat-Jelatin mikrofiber tekstil lifleri: Antibakteriyel etkinlik ve yara iyileşmesine katkı. ANKEM Derg. 2024;38(2):37-52.

electrospinning technique. According to the results of the antibacterial study, PJ fibers were found to have high antibacterial activity on E. coli and low antibacterial activity on S. aureus. The antibacterial activity of PJ-ÇE fibers was found to be lower on E. coli and higher on S. aureus compared to PJ fibers. An increase in damage repair was observed in L929 fibroblast cells exposed to PJ-ÇE fibers. PJ-ÇE fibers were thought to be promising for use in the development of new composite wound dressings.

Keywords: antibacterial activity, Electrospinning, gelatin, microfiber dressings, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate, wound healing

GİRİŞ

Hasar görmüş dokuyu yenilemeyi, iyileştirmeyi veya işlevini sürdürmeyi amaçlayan çalışmalar doku mühendisliğinin ilgi alanına girmektedir ve bu bakımdan biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyobenzerlik ve antibakteriyel özelliklere sahip biyomalzemelerin kemik ve kıkırdak doku mühendisliği ile yara iyileştirme uygulamaları bu alanın temel araştırma konularındandır. Dünya genelinde yaralanma, hastalık veya travmadan kaynaklanan doku kaybı ve hasarı, önemli sağlık sorunlarından biridir ve bu nedenle yoğun çalışmalara konu olmaktadır⁽⁸⁾.

Yara iyileşmesi, doku hasarının meydana geldiği andan itibaren başlayan bir süreçtir. Bu süreç; doku bütünlüğünü ve homeostaziyi yeniden oluşturmak, aktive etmek ve yeniden koordine etmek için çeşitli hücre tiplerini (bağışıklık hücreleri, endotelial hücreler, keratinositler ve fibroblastlar) ve yolaklarını içerir⁽³⁰⁾. Etkili yara yönetiminin sağlanamadığı ya da sürecin gecikmesi, bozulması gibi durumlarda aşırı inflamasyon ve kalıcı enfeksiyonlar görülebildiği gibi; anormal yara iyileşmesi (keloid, hipertrofik skar oluşumu vb.) de görülebilir ve yara akut fazdan kronik faza geçebilir^(38,17).

Bu noktada dokuların yeniden yapılandırılması için kök hücreler, biyosinyaller, büyüme faktörleri, doku nakilleri, biyomedikal cihazların implantasyonu en yaygın kullanılan tedavi stratejileri içerisinde yer almaktadır⁽³⁵⁾. Ancak her ne kadar doku nakilleri umut verici ve etkili bir yöntem olsa da doku nakillerini sınırlandırıcı etmenler (uygun donör bulunabilirliği ve uyumluluğu, pahalı ve acı verici olması gibi) alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesini teşvik etmiştir^(9,11). Bu alternatif yöntemlerin içerisinde hasar görmüş bölgeye iskele kullanarak doku rejenerasyonunu iyileştirmeyi amaçlayan yaklaşımlar öne çıkmaya başlamıştır^(14,22,45). Özellikle son yaklaşımlarda, hücre-iskele yapıları, hücrelerin doğal dokularındaki gibi hücre çoğalması için uygun bir ortam sağlamak amacıyla yapay bir hücre dışı matrisi (HDM) üretilmesi oldukça önemli hale gelmiştir^(39,21). Son yıllarda karşılaşılan sorunları çözmek, biyolojik ve mekanik performansı arttırmak amacıyla maddelerin nano boyutlarda göstermiş oldukları çeşitli özelliklerinin kullanıldığı nanoteknoloji alanından yararlanılmaktadır⁽¹³⁾. Özellikle yara iyileştirme araştırmalarında yara filmlerinin (örtü) geliştirilmesi çığır açan çalışmalar içerisinde yer almaktadır⁽²⁰⁾.

Daha önceleri yara iyileşmesinde doğal ya da sentetik bandajlar, hidrofik pamuk, sargı bezleri ve gazlı bezler gibi malzemeler yara eksüdasının buharlaşmasına izin vererek yarayı kuru tutmak ve bakterilerin oluşturabileceği enfeksiyonlardan yara bölgesini korumak amacıyla yaygın olarak kullanılırlardı. Ancak; son yıllarda tercih edilen tedavilerde yara çevresini nemli tutan, epitel hücrelerinin hareket etmesine izin veren, bakteriyel yükü azaltan ve oksijen sirkülasyonunu izin veren interaktif ve biyoaktif yara örtüleri yer almaktadır⁽⁶⁾. Teknolojideki ilerlemeler, biyomalzemeler alanındaki gelişmeler ve artan bilgi; yeni nesil yara bakımında biyo-parçalanır, biyo-uyumlu, gelişmiş terapötik yara iyileştirme tasarımlar ile fonksiyonlarını tamamladıktan sonra implantasyon bölgesinde *in vivo* olarak parçalanarak ve rezorpsiyona uğrayarak biyolojik sistemden uzaklaştırılan polimerlerin biyomalzemelerde kullanılmasına imkan sağlayarak enfeksiyon gelişme riskini ortadan kaldırmaktadır^(2,25).

Kitosan, alginat, kolajen, dekstran, hyaluronik asit ve jelatin gibi polimerlerin yanı sıra poli(laktik asit) (PLA), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), poli(glikolik asit) (PGA), poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) ve poliüretan gibi sentetik polimerler yara örtülerinin tasarımında yaygın olarak kullanılmaktadırlar^(25,28). Biyopolimerler arasında polihidroksialkanoatlar (PHA'lar) çevresel koşullar altında bozunabilirlikleri nedeniyle ilgi odağı haline gelirken; poli(3-hidroksibütirat) (PHB) ile PHA türlerine ait komonomerlerin kopolimerleri daha iyi işlenebilirlik, daha

yüksek esneklik ve dayanıklılık göstermeleri ile ön plana çıkmaktadır. Bunlar doğal biyolojik olarak parçalanabilen bir poliesterler ailesidir. Kopolimerleri olan poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksiheksanoat) (PHBH) ve poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) (PHBV) bu ailenin tipik örnekleridir⁽¹¹⁾. Bu örnekler arasında, yalnızca PHBV ticari olarak üretilmekte ve yara pansumanı, ilaç salımı, doku mühendisliği gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksiheksanoat) (PHBH), dokumasız kumaş ve fiber üretimi gibi işleme yöntemlerinde kullanılabilir. Ayrıca, PHBHx tabanlı materyallerin fibroblastlar, kondrositler, sinir hücreleri ve osteoblastlar için biyoyumuşluğa sahip olduğu gösterilmiştir^(34,5,16,10). Jelatin, kolajenin asit ya da alkali hidrolizinden elde edilen tek sarmallı bir protein olup kolaylıkla degradasyona uğrayabilmektedir. B tipi jelatinin biyoyumlu olduğu, A tipi jelatinin ise viskoz çözeltiler oluşturduğu belirtilmiştir⁽²⁷⁾. Ayrıca jelatin düşük maliyet, biyolojik olarak parçalanabilirlik, düşük antijenite gibi sahip olduğu özelliklerden dolayı doku mühendisliği alanında araştırmacıların ilgisini üzerine çekmeyi başarmıştır. Bunun yanı sıra, jelatinde hücre tutunması bakımından öneme sahip olan hücrelerdeki integrin reseptörlerinin tanınmasına yönelik peptit dizileri bulunur. Tüm bu özelliklerinin yanında, jelatin cildin yenilenmesinde önem arz eden nanolifli yapılar oluşturma eğilimindedir. Bu nanolifli yapılar, yüksek gözeneklilik, geniş spesifik yüzey alanı ve iyi geçirgenliğe sahip olmaları sayesinde hücre tutunmasını, göçünü ve çoğalmasını destekleyen hücre dışı matrisi biyolojik olarak taklit edebilir⁽⁴⁶⁾. Bu sayede doku mühendisliğinde yapı iskele bileşeni olarak yaygın olarak kullanılan jelatin, iskelelerde hücrelerin migrasyonunu, yayılmasını ve proliferasyonunu önemli ölçüde iyileştirme özelliğine sahiptir⁽³⁷⁾.

Yara tedavisinde önemli bir diğer bileşik grubu ise mineral ve vitaminlerdir. A, C ve E vitaminleri iyileşme sürecinde çok gereklidir. Literatürde yara örtülerinden vitamin ve mineral salımı ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Vitamin ve mineraller daha çok oral takviye olarak kullanılmaktadır. Ancak, bazı çalışmalarda açık yanık yaralarında vitamin uygulamasının yaraların iyileşmesinde olumlu sonuçlar gösterdiği raporlanmıştır⁽²⁶⁾. Özellikle yara iyileşmesi performansının artırılması amacıyla nanokompozit yapıdaki yara örtülerinin içerisine yara iyileşmesi sürecini destekleyen aktif bileşenler katkı maddesi olarak ilave edilmektedir. Bunların arasında antimikrobiyal ajanlar, antibiyotikler, büyüme faktörleri, yara iyileşmesine katkı sağlayan bitkisel ekstraktlar sayılabilir⁽⁴⁾. Çörek otu yağı da bunlardan biridir. İçeriğindeki aktif bileşenler anti-inflamatuar, antioksidan, antimikrobiyal ve yara iyileştirici terapötik ve farmakolojik özelliklere sahiptir⁽³⁾.

Doku mühendisliğinde seçilen malzemenin yanı sıra iskele morfolojisi, doku rejenerasyon süreci için önemli bir faktördür. İskelelerin gereksinimleri arasında bulunan yüksek bağlantılı gözenekli yapı ve uygun yüzey özellikleri iskele morfolojisi ile ilişkilidir ve iskele yapısı kullanılan üretim teknikleri tarafından belirlenir⁽¹⁴⁾. Elektrospinnig, doğal ve sentetik polimerlerle gözenekli ve nanofibröz polimerik doku mühendisliği iskelelerinin üretiminde en yaygın tekniktir⁽⁴⁰⁾. Özellikle polimerik nanofiberler için oldukça basit ve etkili bir yöntemdir. Bu bakımdan elektrospinnig nanofiberleri, doğal HDM'i taklit eden benzer morfolojileri ve hücre-iskele etkileşimini iyileştiren yüksek yüzey alanı ve yüksek gözeneklilik gibi özelliklerinden dolayı doku mühendisliği iskeleleri için yaygın olarak kullanılmaktadır⁽³⁶⁾.

Bu çalışmada iki farklı mikrofiber tekstil lifi ile jel hazırlanarak yapısal ve antibakteriyel özellikleri incelenmiş, yara iyileşme testleri gerçekleştirilmiştir.

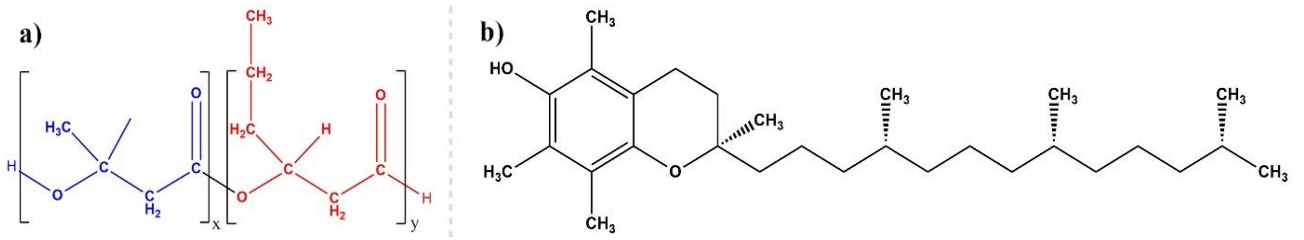
GEREÇLER VE YÖNTEM

Polimer İçeren Jellerin Hazırlanması

PJ ve PJ-ÇE jelleri literatüre uygun olarak hazırlandı⁽¹³⁾. PJ jeli için, poli-3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksiheksanoat (PHBH_x) kopolimeri Prof. Dr. Sudesh KUMAR'dan (Sains Üniversitesi, Malezya) temin edildi. 1.2 g poli-3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksiheksanoat kopolimeri 4 mL kloroform (Sigma-Aldrich, ABD) ve 1 mL diklorometan (Sigma-Aldrich, ABD) çözücü karışımında 2 saat oda sıcaklığında karıştırılarak çözüldü. Bir başka beherde 1.2 g jelatin (Sigma-Aldrich, ABD) 5 mL distile suda 45°C'de 2 saat karıştırılarak çözüldü. Poli-3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksiheksanoat çözeltisinden 4 mL ve jelatin çözeltisinden 1 mL alınarak ayrı bir beherde karıştırılarak PJ jeli elde edildi.

PJ-ÇE jeli için, 1.2 g poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat kopolimeri 4 mL kloroform ve 1 mL diklorometan çözücü karışımında 2 saat oda sıcaklığında karıştırılarak çözüldü. Ayrıca 1.2 g jelatin ise 5 mL distile suda 45 °C'de 2 saat karıştırılarak çözüldü. Poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat kopolimer çözeltilisinden 4 mL ve jelatin çözeltilisinden 1 mL alınarak ayrı bir beherde karıştırıldı ve bu karışımın üzerine 100 µL E vitamini (Arifoğlu, Türkiye), 100 µL çörek otu yağı (CYN LIFE, Türkiye) eklenerek 5 dakika daha karıştırılarak PJ-ÇE jeli elde edildi.

Poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat kopolimerinin ve E vitamini'nin genel yapısı Şekil 1'de gösterildi.



Şekil 1. Poli-3-hidroksibutirat-co-3-hidroksiheksaonat kopolimerinin (a) ve E vitamini'nin (b) yapısı.

PJ ve PJ-ÇE Liflerinin Elektrosinning yöntemiyle Hazırlanması

PJ ve PJ-ÇE lifleri oda sıcaklığında elektrosinning sistemi kullanılarak elde edildi. PJ ve PJ-ÇE jelleri elektrosinning düzeneğine ayrı ayrı alınarak 1 mL/dk akış hızında, 15 cm mesafede, 19 kV voltaj uygulandı. Sonrasında toplama kollektöründe mikrofiber tekstil lifleri olarak toplandı^(13,41). Elektrosinning düzeneği (a) ile PJ (b) ve PJ-ÇE (c) mikrofiber örtülerinin görüntüsü Şekil 2'de verildi.



Şekil 2. (a) Elektrosinning düzeneği ile elde edilen (b) PJ ve (c) PJ-ÇE liflerinin görüntüsü.

Mikrofiber Tekstil Liflerinin Yapısal Karakterizasyonları

Elde edilen liflerin yapı aydınlatma çalışmaları için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) tekniği (Shimadzu marka IR Affinity-1S model ATR -FT-IR spektrofotometre, Japonya) kullanıldı. Ölçümler 4000-800 cm^{-1} aralığında gerçekleştirildi. TG/DTG/DTA eğrileri ise SII TG/DTA 7200 (Seiko, Japonya) kullanılarak kaydedildi ve liflerin termal davranışlarının incelenmesi için kullanıldı. PJ ve PJ-ÇE liflerinin yüzey morfolojisi LEO 1430 taramalı elektron mikroskopu (SEM) (Zeiss, Almanya) ile elde edilen görüntüler kullanılarak incelendi. Faz-kontrast hücre görüntüleri Soptop ICX41 (Sunny Instruments, Çin) inverted mikroskop ile alındı.

2.2. Antibakteriyel Aktivite

PJ ve PJ-ÇE lifleri için, tekstillerin antibakteriyel aktivite test yöntemiyle (JIS L 1902: 2002) *Escherichia coli* ATCC 35150 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı etkinlikleri araştırıldı^(12,32). Gram pozitif patojen temsilcisi olarak *S. aureus* ve Gram negatif patojen temsilcisi olarak ise *E. coli* referans bakteri suşları seçildi. PJ ve PJ-ÇE liflerinden 0.4 g alınarak 121°C sıcaklıkta 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Steril PJ ve PJ-ÇE lifleri steril test tüplerine yerleştirildi. Test tüplerine Mueller Hinton Broth II (OXOID, Almanya) içerisinde *E. coli* için 4.3×10^7 ve *S. aureus* için 3.8×10^7 cfu/mL'ye ayarlanmış 200 μL bakteri süspansiyonu eklenerek 37°C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her tüpe 10 mL steril nötralizasyon solüsyonu (%0.9 NaCl (Fluka, İsviçre) ve %0.2 Tween 20 (Merck, Almanya)) ilave edildi. Karıştırılan tüpten 1 mL alınarak Mueller Hinton besiyeri içeren tüplere aktarıldı ve 10^3 bakteri olacak düzeye kadar seri dilüsyon yapıldı. Her seyreltme tüpünden 100 μL alınarak Plate Count Agar (PCA, Merck, Almanya) besiyerine ekildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Her örnek, paralel olarak 3 kez incelendi ve inkübasyon sonunda her lif için ortamdaki ortalama bakteri sayısı belirlendi. Mikrofiber tekstil liflerinin antibakteriyel aktivitesi, test yönteminde önerilen ve aşağıda verilen formüle göre hesaplandı.

Bakterilerin azaltılması (Log cfu) = log cfu (negatif kontrol) - log cfu (mikrofiber tekstil lifi)

Üremedeki logaritmik azalma 0.5'ten küçük ise antibakteriyel aktivite yok, 0.5 – 1.0 arasında ise düşük aktivite, 1.0'dan büyük ise yüksek aktivite olarak değerlendirildi^(12,43).

L929 Hücre Kültürü ve Yara İyileşme Testi

PJ ve PJ-ÇE liflerinin yara iyileşmesi üzerine etkisi, L929 (Adheran özellikli fare fibroblastları) hücre hattında *in vitro* olarak test edildi. Bu hücre hattı, genel olarak ilaç metabolizması ve oksidatif kaynaklı sitotoksikite çalışmalarında sık kullanıldığı için tercih edildi. Hücreler için temel olarak "Dulbecco's Modified Eagle Medium" (DMEM) kullanıldı. Çoğalmayı desteklemek için DMEM son konsantrasyon %10 olacak şekilde "Fetal Bovine Serum" (FBS) ile takviye edildi. Ayrıca antimikrobiyal ajan olarak %1 oranında penisilin-streptomisin ve amfoterisin B eklendi. Hücreler 37°C'de %5 CO_2 içeren atmosferde üretildi ve %70-80 civarında yoğunluğa geldikten sonra 6 kuyucuklu plakalara 0.5×10^6 hücre/kuyucuk konsantrasyonunda ekilerek yara iyileştirme protokolüne tabi tutuldu.

PJ ve PJ-ÇE lifleri 1 hafta (7 gün boyunca) bir narın sallayıcı (gentle shaker) üzerinde besiyeri içerisinde bekletildi. Hücrelerin üreme durumları ekimden 24 saat sonra mikroskopta kontrol edilerek yara testi için çizik atılmasına uygunluklarına karar verildi. Ardından plakadaki her bir kuyucuğun tabanına 200 μL 'lik sarı pipet ucuyla plakanın üst kısmından alt kısmına doğru bir çizik atıldı ve bu noktada (0. saat) hücrelere ait görüntüler alındı. Her plaka PJ lifleri, PJ-ÇE lifleri ve kontrol olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Daha önceden ilgili liflerin içinde bekletilen besiyeri veya kontrol için boş besiyeri, 0.2 μm 'lik filtrelerden süzülerek çizilen kuyucuklara eklendi. Ardından 24, 48 ve 72 saat süreyle hücrelerdeki iyileşme süreci takip edildi⁽¹⁾. Ayrıca, 0. saat örneklerinde çizik oluşturulması sonucu meydana gelen boşluklarda 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sonrası eş yüzey alanı başına çoğalan hücrelerin mikroskop ile sayımı yapılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. İki paralel deneme ile gerçekleştirilen yara iyileşme testi sonucu elde edilen hücre sayım değerlerinin ortalaması alınarak sonuçlar ifade edilmiştir. Ortalama değerler arasında ve kontrol grubu örneklerine göre önemli farkları belirlemek için Duncan Çoklu Aralık testi kullanılmıştır ($\alpha = 0.05$).

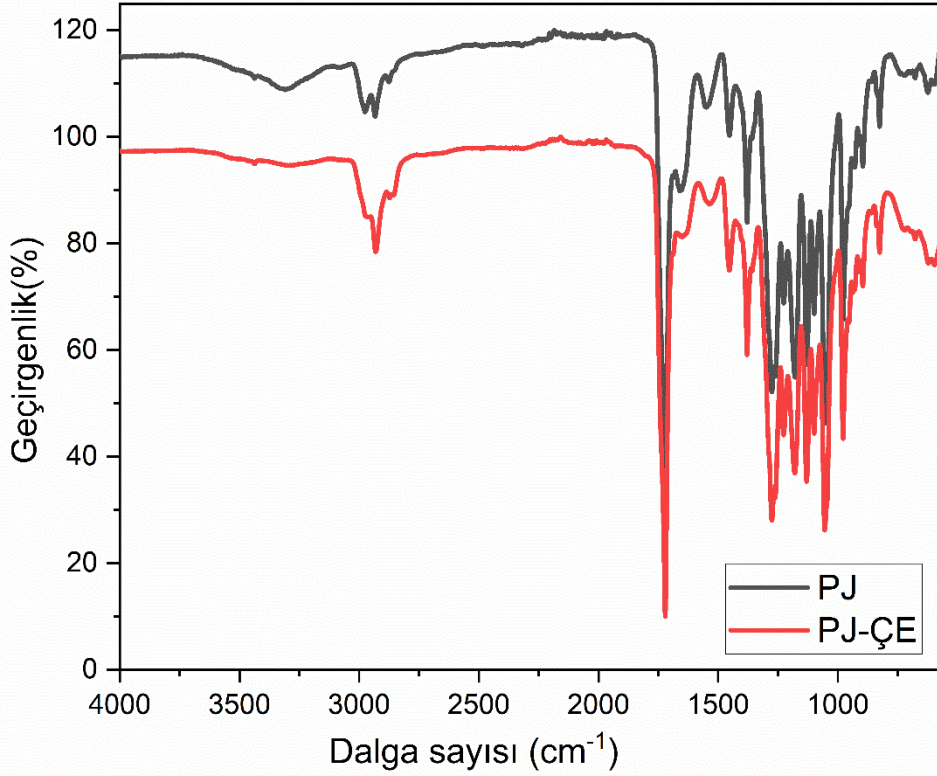
BULGULAR

Yapı Karakterizasyon Çalışmaları

FT-IR Sonuçları

PJ ve PJ-ÇE liflerine ait FT-IR spektrumları Şekil 3'te verilmiştir. PJ nin içerisinde bulunan jelatinin %85-92 oranlarında protein içermektedir ve fonksiyonel grupları poli-3-hidroksibutirat-co-3-hidroksiheksaonat kopolimerinin fonksiyonel grupları ile benzerdir. PJ liflerinin FT-IR spektrumunda 3319 cm^{-1} 'de pik maksimumuna sahip yayvan absorpsiyon bandı O-H gerilme titreşimlerine aittir ve bu bölgede jelatinin yapısındaki N-H titreşim bantları ile örtülmektedir. $2970\text{-}2870\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen bantlar ise PJ liflerinin yapısında bulunan alifatik C-H gruplarının (metil ve metilen) simetrik ve asimetric gerilme titreşimlerine aittir. 1739 cm^{-1} 'de gözlenen keskin bant karbonil grubunun (C=O) simetrik gerilme titreşimine, 1273 cm^{-1} 'de gözlenen zayıf bant ise C-O gerilme titreşimine aittir⁽³³⁾.

PJ-ÇE liflerinin FT-IR spektrumunda ise 3290 cm^{-1} 'de gözlenen zayıf bant PJ-ÇE nin yapısındaki O-H gerilme titreşimine aittir. Bu aralıkta jelatinin yapısındaki N-H gruplarına ait gerilme titreşimleri ve E vitamininin yapısındaki aromatik C-H ile O-H gerilme titreşim bantlarıyla örtüşmektedir. $2972\text{-}2862\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen bantlar alifatik C-H gruplarının simetrik ve asimetric gerilme titreşimlerine aittir ve eklenen E vitamini ve çörek otu yağı yapıdaki alifatik zincir gruplarını arttırdığından alifatik C-H gruplarının simetrik ve asimetric gerilme titreşimlerine ait piklerin şiddeti artmıştır. 1720 cm^{-1} 'de gözlenen keskin bant karbonil grubunun (C=O) simetrik gerilme titreşimine, 1270 cm^{-1} 'de gözlenen bant ise C-O gerilme titreşimine aittir. 1450 cm^{-1} 'deki gözlenen titreşim bandı aromatik C=C gerilme titreşimlerine atfedilir. 1379 cm^{-1} 'de gözlenen bant C-N gerilme titreşimine, $1224\text{-}1128\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen bant ise düzlem içi C-H bükülme titreşimine aittir. Ayrıca $1053\text{-}979\text{ cm}^{-1}$ 'de düzlem dışı C-H eğilme titreşimleri gözlenmektedir. C-H titreşimlerinin düzlem dışı bükülme titreşimleri 823 cm^{-1} 'de görülmektedir^(24,44). PJ liflerinin fonksiyonel gruplar ile PJ-ÇE liflerinin içerisinde bulunan çörekotu yağı ve E vitamininin yapısındaki fonksiyonel gruplar benzer olduğundan PJ-ÇE ve PJ liflerinin FT-IR spektrumları benzemektedir.



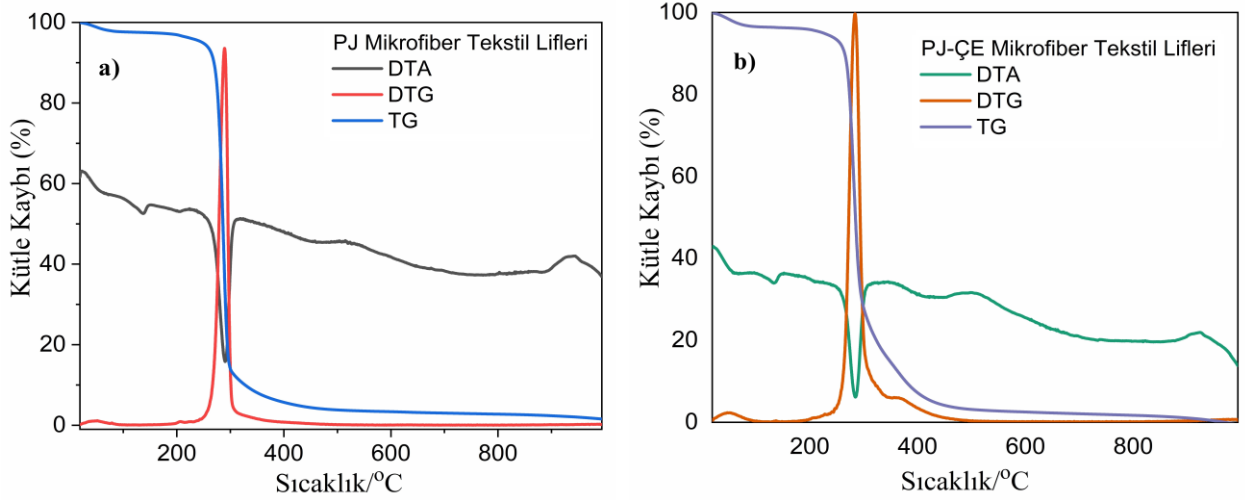
Şekil 3. PJ ve PJ-ÇE liflerinin FT-IR spektrumları.

PJ ve PJ-ÇE Liflerinin Termal Analizi

PJ ve PJ-ÇE liflerinin termal analiz çalışmaları için 25-900°C sıcaklık aralığında elde edilen TG/DTG/DTA eğrileri Şekil 4'te ve termal gravimetrik analiz sonuçları Tablo 1'de verilmektedir.

PJ liflerinin TG eğrisinde 25-100°C sıcaklık aralığında %2.35 kütle kaybı görülmektedir ve mikrofiber tekstil liflerinde adsorplanmış su buharlaşmaktadır. TG ve DTG eğrileri bozunmanın tek basamakta gerçekleştiğini göstermektedir. Birinci bozunma basamağı 180-395°C aralığında %91.81 kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. DTA eğrisinde 194-318°C aralığında 288°C'de pik maksimumuna sahip birinci bozunma basamağına karşılık gelen keskin endotermik bir pik gözlenmektedir.

PJ-ÇE liflerinin TG eğrisinde 25-100°C sıcaklık aralığında liflerin yapısında nem olarak adsorplanmış suyun %2.35 kütle kaybı ile uzaklaştığı gözlenmektedir. PJ-ÇE liflerinin TG ve DTG eğrilerinde bozunmanın 190-490°C aralığında tek basamakta ve %93.27'lık kütle kaybı ile gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu basamakta, yapıda bulunan proteinlerin bozunduğu ve düşük enerjili moleküller arası bağların kopması anlaşılmaktadır^(19,42). DTA eğrisinde 210-345°C aralığında termal bozunmaya karşılık gelen ve 283°C'de pik minimumuna sahip keskin endotermik bir pik gözlenmektedir. İkinci aşama, 250-600°C sıcaklık aralığında protein bozunması ve düşük enerjili moleküller arası bağların kopması olarak gözlenmektedir⁽¹⁹⁾.



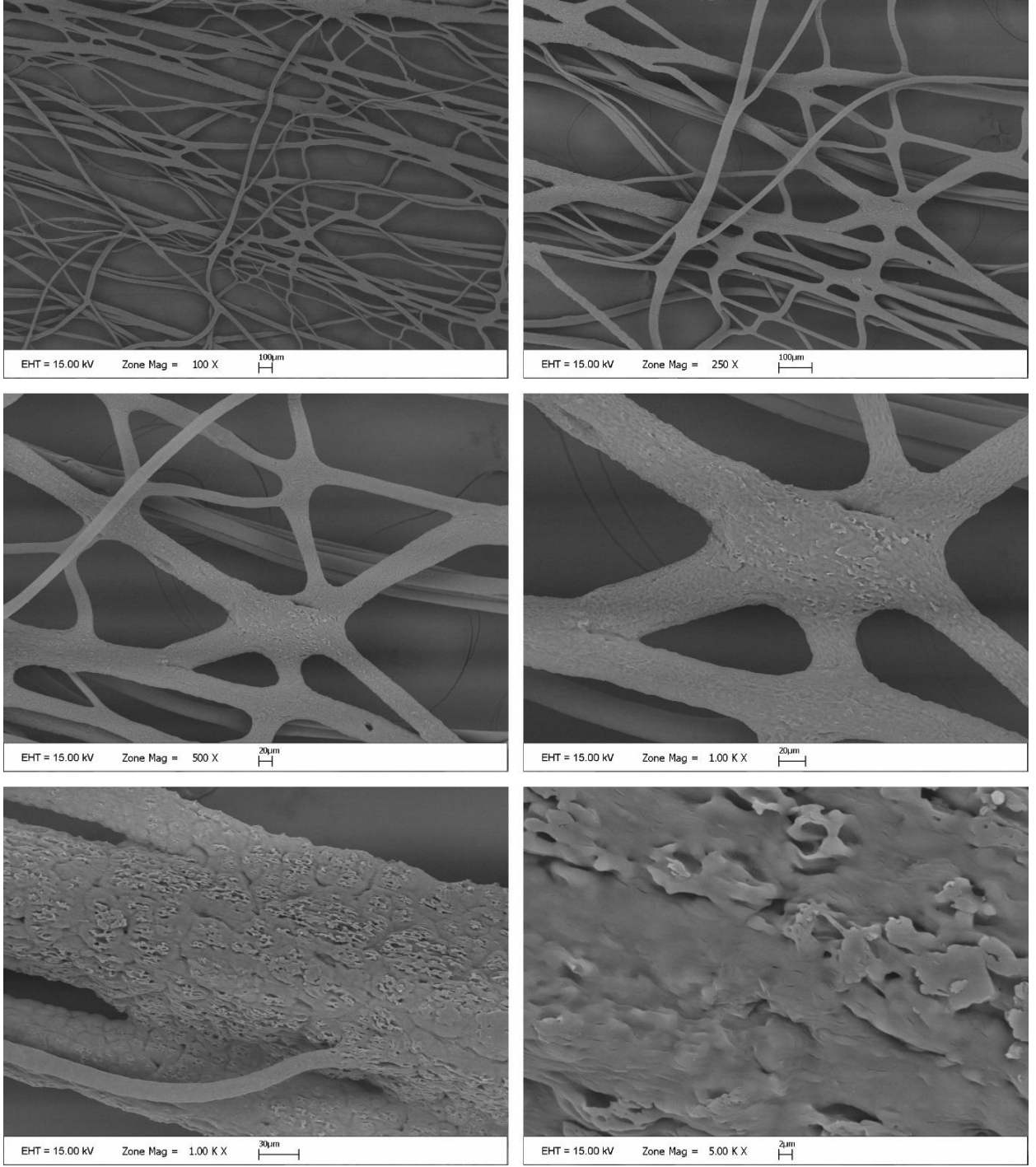
Şekil 4. (a) PJ ve (b) PJ-ÇE liflerinin termal analizi.

Tablo 1. PJ ve PJ-ÇE liflerinin termal gravimetrik analiz sonuçları.

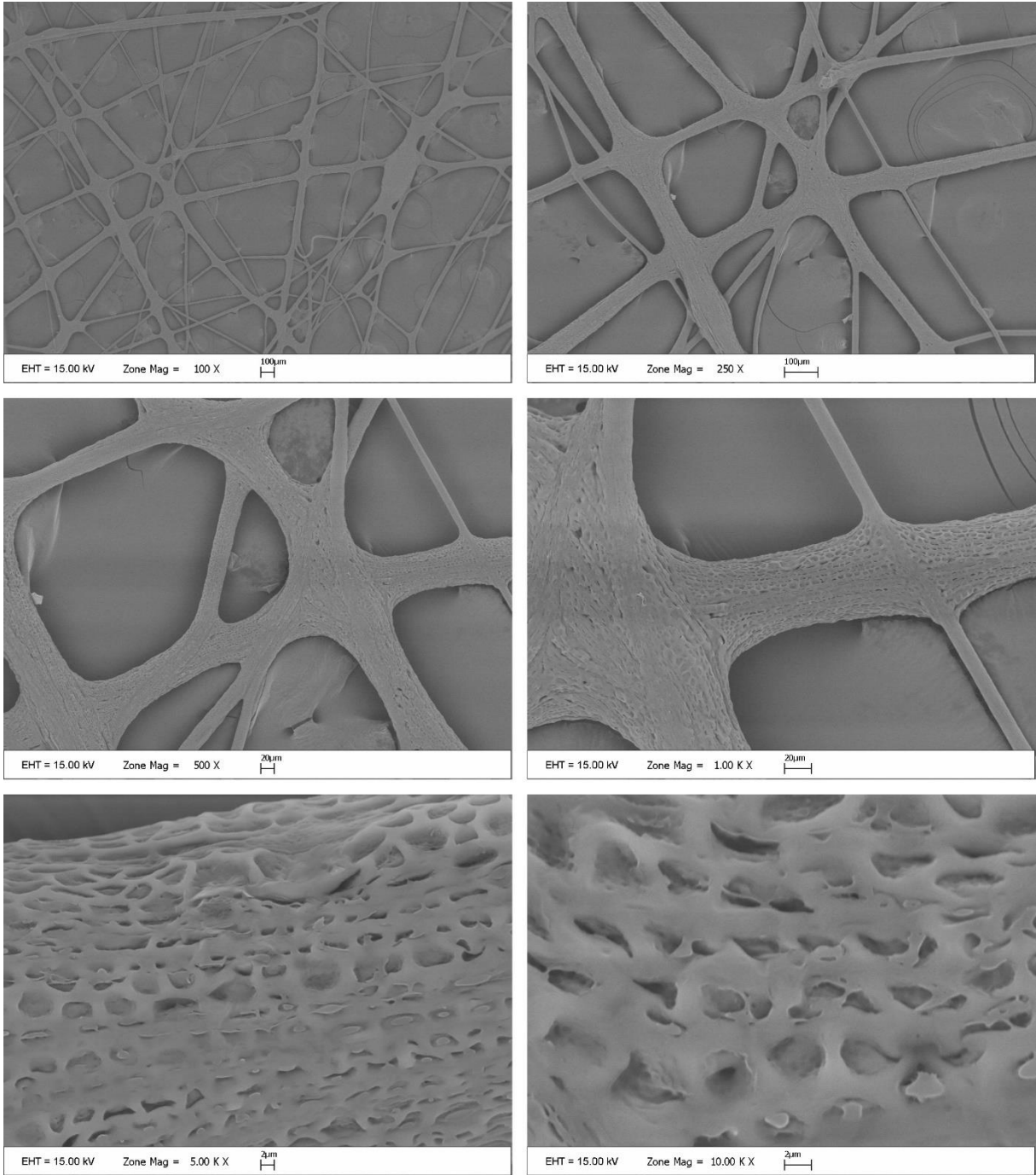
Mikrofiber Tekstil Lifleri	Bozunma Basamağı	TG Sıcaklık Aralığı (°C)	Kütle Kaybı (%)	Kalan (%)
PJ	Nem	25-100	2.35	97.65
	I	180-395	91.81	5.84
PJ-ÇE	Nem	25-100	2.35	97.65
	I	190-490	93.27	4.38

PJ ve PJ-ÇE Liflerinin SEM Analizi

PJ ve PJ-ÇE liflerinin yüzey morfolojisi SEM analizi ile incelenmiştir. SEM mikrograflarında, PJ liflerinin lif yüzeylerinin pürüzlü olduğu, gözeneklerin çok küçük ve az olduğu; PJ-ÇE liflerinin ise liflerin gözenek oranının arttığı görülmektedir. PJ liflerine ait SEM görüntüleri Şekil 5'te, PJ-ÇE liflerine ait SEM görüntüleri ise Şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 5. PJ liflerine ait SEM görüntüleri.



Şekil 6. PJ-ÇE liflerine ait SEM görüntüleri.

Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

PJ ve PJ-ÇE liflerinin antibakteriyel etkinlikleri, tekstillerin antibakteriyel aktivite test yöntemine göre (JIS L 1902: 2002) araştırılmıştır^(12,31). Test sonucunda 24 saat sonunda gözlenen bakteri sayısı Tablo 2’de özetlenmiştir. Antibakteriyel analiz sonuçları PJ liflerinin *E. coli* üzerinde yüksek, *S. aureus* üzerinde ise düşük antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Çörekotu yağı ve E vitamini içeren PJ-ÇE liflerinin *E. coli* üzerinde yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu; ancak, bu aktivitenin PJ liflerinden az olduğu gözlenmiştir. Tersine, *S. aureus* üzerindeki antibakteriyel aktivite yine düşük olmakla birlikte PJ liflerinden fazla bulunmuştur.

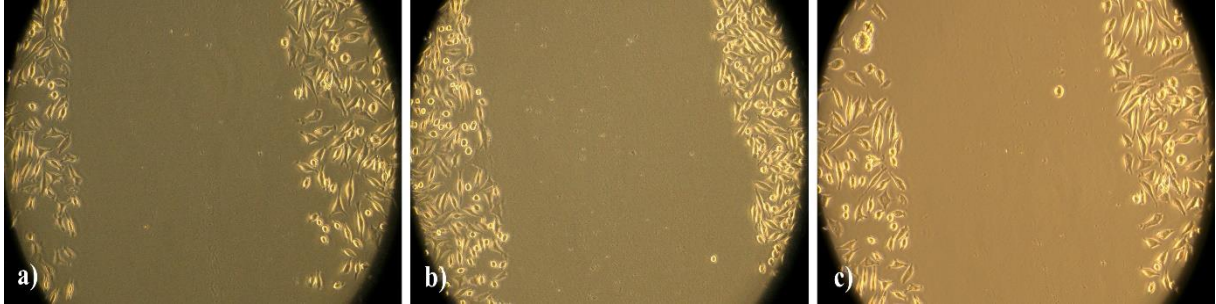
Tablo 2. PJ ve PJ-ÇE lifleri için JIS L 1902 yöntemine göre elde edilen antibakteriyel aktivite sonuçları.

Mikrofiber Tekstil Lifleri	Bakteri	Kontaminasyon Miktarı (KOB/ml)	Log	Son Sayım (KOB/ml)	Log	Log Farkı*
PJ	<i>E. coli</i>	4.3×10^7	7.63	3.2×10^5	5.50	2.13
	<i>S. aureus</i>	2.8×10^7	7.44	4.8×10^6	6.68	0.76
PJ-ÇE	<i>E. coli</i>	4.3×10^7	7.63	5.4×10^5	5.73	1.9
	<i>S. aureus</i>	2.8×10^7	7.44	3.8×10^6	6.59	0.85

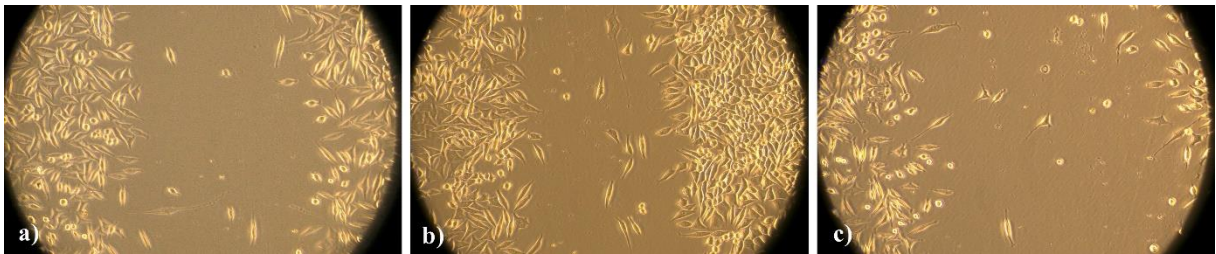
*Log farkı ≤ 0.5 ise antimikrobiyal aktivite yok; 0.5-1 ise düşük antimikrobiyal aktivite, >1 ise yüksek antimikrobiyal aktivite

Yara İyileştirme Testi Sonuçları

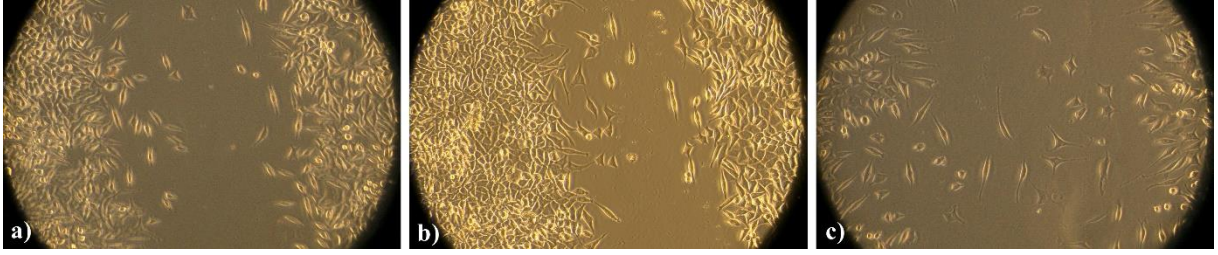
PJ liflerinin (a), PJ-ÇE liflerinin (b) ve kontrol grubunun (c) L929 fibroblast hücreleri üzerindeki 0. saat, 24. saat, 48. saat ve 72. saatteki yara iyileşmesine ait görüntüleri sırasıyla Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9 ve Şekil 10’da verilmiştir. SEM görüntülerinde, PJ liflerini içeren örneklerde hasarın kontrol grubuna göre 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sonrasında benzer oranda kapandığı görülmüştür. Ancak, PJ-ÇE lifleri varlığında L929 hücrelerinin sayıca arttığı ve hücre hasarının daha hızlı olarak onarıldığı gözlenmiştir.



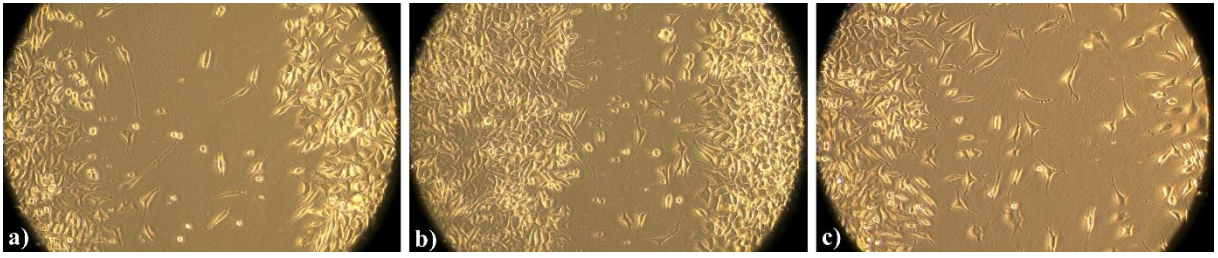
Şekil 7. L929 fibroblast hücrelerinin PJ lifleri (a), PJ-ÇE lifleri (b) ve kontrol grubuna (c) ait 0. saat görüntüleri.



Şekil 8. L929 fibroblast hücrelerinin PJ lifleri (a), PJ-ÇE lifleri (b) ve kontrol grubuna (c) ait 24. saat görüntüleri.

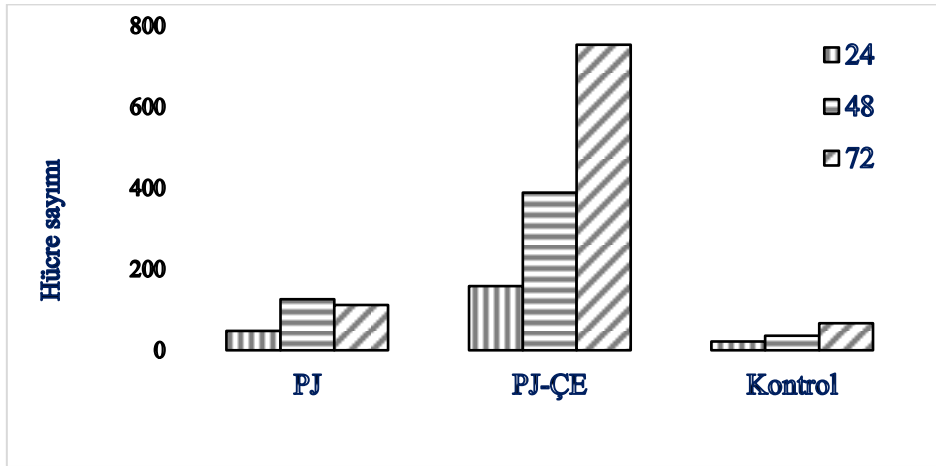


Şekil 9. L929 fibroblast hücrelerinin PJ lifleri (a), PJ-ÇE lifleri (b) ve kontrol grubuna (c) ait 48. saat görüntüleri.



Şekil 10. L929 fibroblast hücrelerinin PJ lifleri (a), PJ-ÇE lifleri (b) ve kontrol grubuna (c) ait 72. saat görüntüleri.

Hücre kültüründe oluşturulan hasarın PJ ve PJ-ÇE lifleri ile muamelesi sonrasında hasarlı kısımda çoğalan hücrelerin sayımları Şekil 11’de özetlenmiş, örneklerin hücreler üzerindeki yara iyileştirme potansiyeli buna göre değerlendirilmiştir. Grafikte görülen hücre sayım değerleri üç paralel denemenin ortalaması olarak sunulmuş, PJ-ÇE liflerine maruz kalan gruptaki hücre artışının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$).



Şekil 11. PJ ve PJ-ÇE lifleri ve kontrol grubunun 0. saatte çizik oluşturulan boşlukta 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonrasında çoğalan hücrelerin mikroskop sayım sonuçları.

(* ve ** işaretleri aynı koşullardaki kontrol örneğine göre sırası ile $\alpha = 0.01$ ve $\alpha = 0.05$ seviyesinde önemli farklar olduğunu ifade etmektedir).

TARTIŞMA

Bu alanda yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada poli(3-hidroksibutirat-co-3-hidroksiheksanoat) (PHBHHx)-Jelatin kopolimeri içeren nanolif yapılı nanokompozit yara örtüsü ilk kez hazırlanmıştır. Ayrıca çörek otu yağı ve E vitamini bu nanolif içerisine katılarak yeni nanokompozit bir yara örtüsü elde edilmiştir. Elde edilen nano-lifli yüzeyin yara örtüsü olarak kullanım performansı L929 fibroblast hücreleri üzerinde, antibakteriyel aktivitesi ise *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde *in vitro* ortamda değerlendirilmiştir. Bu yönüyle çalışmamız özgün bir çalışma niteliği taşımaktadır.

PHBHHx'ler, polihidroksialkanoat (PHA) ailesinin bir üyesidirler. Özellikle biyolojik olarak parçalanabilir olmaları, toksisitesinin olmaması, poli(3-hidroksibutirat)'a kıyasla sahip olduğu gelişmiş termal stabilite ve umut verici mekanik özellikleri nedeniyle sağlık alanında kullanılabilecek önemli bir biyopolimerdir. Jelatin ise, düşük antijenite, iyi biyo-bozunabilirlik ve fizyolojik ortamda biyoyoumluluk gibi özellikleri sayesinde biyomedikal uygulamalarda, yara bakımı ve doku mühendisliğinde yer alan bir biyopolimerdir. Gözenekli jelatin örtüler yaralarda meydana gelen sızıntılarını emer, nemi korur ve yara iyileşmesini destekler. İlaveten jelatin bazlı örtüler hücre göçü ve yeni doku gelişimi için mekanik ve yapısal desteklerdir. Jelatin, yara pansuman malzemesi olarak kullanılan umut verici bir biyopolimerdir. Ancak; jelatinin antibakteriyel etkinliğe sahip olmaması nedeniyle yara enfeksiyonlarını veya yaranın bakteriyel istilasını önleme konusunda yetersiz kalması, hızlı bozunma süresi ve oldukça hidrofilik yüzeye sahip olması nedeniyle yara örtülerinin geliştirilmesinde temel malzeme olarak tek başına kullanılmak için dezavantajlıdır. Bu nedenle, çalışmada jelatin diğer bir biyopolimer olan PHBHHx ile birleştirilerek hibrit bir mikrofiber örtü tasarlanmıştır. Bu örtüye yara iyileştirmesini hızlandırma ve antibakteriyel özellik kazandırma amacıyla çörekotu yağı ve E vitamini eklenmiştir. Literatürde yara örtülerinden yaraya vitamin ve mineral salımına ilişkin çalışmalar nadirdir ve genellikle bu ajanlar oral takviye olarak kullanılmaktadırlar. Yapılan bir çalışmada, açık yara üzerine lokal olarak A vitamini, C vitamini, glukoz ve gentamisin uygulanarak üzerine kolajen tabaka-biyolojik örtü (katman) ile kaplanmıştır. Ardından A vitamininin geri kalanı, C vitamini, glukoz ve gentamisin biyolojik örtünün üzerine de uygulanarak yara daha sonra beş katlı gazlı bezle kapatmıştır. Bu uygulama sonucunda yaraların daha iyi ve daha hızlı bir iyileşme süreci sağlandığını raporlanmıştır^(23,26). Diğer bir çalışmada, biyobozunur ve biyoyoumlu bir polimer olan polivinil alkol (PVA) ile cilt rahatsızlıklarında antibakteriyel, antioksidan ve antienflamatuar özellikleri ile bilinen sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) yağından elektrospinning yöntemi ile uçucu yağ yüklü nanolifli yara örtüleri elde edilmiştir. Ancak, herhangi bir antibakteriyel aktivite sonuçları raporlanmamıştır⁽²⁹⁾. Doğancı ve ark.⁽¹⁵⁾ polivinil alkol (PVA) ile farklı oranlarda ozon yağı kullanarak elektrospinnig tekniğiyle kompozit yara örtüleri elde etmişler, antibakteriyel etkinlik araştırması yapmamışlardır.

Polimerik yara örtülerinin en güncel olarak kabul edilen türü, elektrospinning yöntemiyle elde edilen nanofiber yapısındaki polimerik sistemlerdir. Nanofiberler, geleneksel örtülerle karşılaştırıldığında, üretim yönteminden kaynaklanan nano boyutta olmaları ve gözenekli yapıları sayesinde çok geniş yüzey alanına sahiptirler. Bu özellikleri sayesinde biyoaktif yara örtüsü olarak kullanılmaları bakımından ön plana çıkmaktadırlar. Farklı özellikteki polimerlerin bir araya getirilerek hazırlanan kompozit yara örtüleri, yara iyileşme sürecinin ihtiyaçlarını karşılayarak kısa sürede ve tam bir yara iyileşmesi sağlayabilir. Literatürde nanofiberlere antimikrobiyal etkinlik kazandırmaya çalışan denemeler de bulunmaktadır. Bir çalışmada, yara örtüsü uygulamaları için elektrospinning yöntemi kullanarak farklı oranlarda gentamisin yüklü polivinil alkol ve jelatin (PVA/JEL) nanofiberleri elde edilmiştir. Gentamisin içeren nanofiberlerin (*S. aureus* ATCC 29213 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853'ye karşı antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, malzemedeki gentamisin miktarı arttıkça nanofiberlerin mekanik mukavemetinin zayıfladığını ancak antibakteriyel özelliklerinin önemli ölçüde iyileştiğini göstermiştir⁽⁷⁾.

Polimerik yara örtüleri, daha çok cilt yaralarının tedavisinde kullanılan tıbbi ürünlerdir. Cilt yaraları yaşayan veya risk altında olan bireyler; özellikle ameliyat sonrası hastalar, diyabetik hastalar, basınç ülseri olan hastalar ve yanık hastaları, bu tür yaraların tedavisinde ve korunmasında polimerik yara örtülerinden fayda sağlayabilirler. Kompozit yara örtüleri, hasta veya hastalık türüne göre çeşitli ilaç ya da ajanlarla modifiye

edilebilir. Gelişen teknoloji yardımıyla kendine özgü, zor yara tipleri için özelleştirilmiş tedavi yaklaşımlarında kullanılacak malzemeler geliştirilebilir ve kronik yaraların iyileştirilmesinde yeni olanaklar yaratabilir. Bu çalışmada, E vitamini ve çörekotu ile geliştirilen PJ-ÇE liflerinin yara iyileşmesini destekleme konusunda umut verici olduğu sonucuna varılmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

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

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

KAYNAKLAR

1. Alkaya E. Farklı Tuzlardan Elde Edilen Hipokloröz Asitin Keratinosit Ve Fibroblast Hücrelerine Etkisi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, <https://hdl.handle.net/11499/45787> (erişim tarihi 30.05.2024).
2. Anju S, Prajitha N, Sukanya VS, Mohanan PV. Complicity of degradable polymers in health-care applications. *Mater Today Chem.* 2020;16:100236. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2019.100236>.
3. Aras C. Çörek Otu Yağı Katkılı Nanokompozit Poliüretan Nanolifli Yüzey Üretimi, Karakterizasyonu ve Yara Örtüsü Olarak Kullanım Performansının Araştırılması, <https://www.proquest.com/docview/2579336967>. (erişim tarihi 12.04.2024).
4. Balusamy B, Senthamizhan A, Uyar T. Electrospun Nanofibers for Wound Dressing and Tissue Engineering Applications. *Hacettepe J Biol Chem.* 2020;48(5):459-81. <https://doi.org/10.15671/hjbc.789186>.
5. Bian YZ, Wang Y, Aibaidoula G, Chen GQ, Wu Q. Evaluation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) conduits for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials.* 2009;30(2):217-25. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.09.036>.
6. Boateng JS, Matthews KH, Stevens HNE, Eccleston GM. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. *J Pharm Sci.* 2008;97(8):2892-923. <https://doi.org/10.1002/jps.21210>.
7. Cesur S. Gentamisin Yüklü Poli(Vinil Alkol)/Jelatin Nanofiberlerin Elektroçirme Yöntemiyle Yara Örtüsü Malzemesi Olarak Üretimi. *Konya J Eng Sci.* 2022;10(4):878-88. <https://doi.org/10.36306/konjes.1124919>.
8. Chapekar MS. Tissue Engineering: Challenges and Opportunities. *J Biomed Mater Res - Part A.* 2000;53(6):617-20. <https://doi.org/10.1002/1097-4636>.
9. Chen G, Ushida T, Tateishi T. Scaffold Design for Tissue Engineering. *Macromol Biosci.* 2002;2(2):67-77. <https://doi.org/10.1002/1616-5195>.
10. Cheng ML, Chen PY, Lan CH, Sun YM. Structure, mechanical properties and degradation behaviors of the electrospun fibrous blends of PHBHHx/PDLLA. *Polymer (Guildf).* 2011;52(6):1391-401. <https://doi.org/10.1016/J.Polymer.2011.01.039>.
11. Çolpankan Güneş O. Production of antibacterial, biodegradable and biocompatible materials for tissue engineering applications. 2019. Doktora tezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>
12. Demirdogen RE, Kilic D, Emen FM, et al. Novel antibacterial cellulose acetate fibers modified with 2-fluoropyridine complexes. *J Mol Struct.* 2020;1204. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127537>.
13. Demirdogen RE, Yeşilkaynak T, Tishakova T, Emen FM. Antibacterial Cellulose Acetate Microfibers Containing Pyridine Derivative Complexes. 2021;15(2):217-25.
14. Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar DS. Polymeric scaffolds in tissue engineering application: A review. *Int J Polym Sci.* 2011;2011. <https://doi.org/10.1155/2011/290602>.
15. Doganci E, Doganci MD, Bulus GS, Bulus E. Ozon Yağı İçeren Nanoteknolojik Yara Örtüsü Üretimi ve Karakterizasyonu. *Atatürk Üniversitesi Kim Derg.* 2022;2(1):1-5.
16. Eraslan K, Aversa C, Nofar M, et al. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBH): Synthesis, properties, and applications - A review. *Eur Polym J.* 2022;167:111044. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111044>.

17. Foulkes R, Man E, Thind J, Yeung S, Joy A, Hoskins C. The regulation of nanomaterials and nanomedicines for clinical application: current and future perspectives. *Biomater Sci.* 2020;8(17):4653-64. <https://doi.org/10.1039/d0bm00558d>.
18. Hasan A, Morshed M, Memic A, Hassan S, Webster TJ, Marei HES. Nanoparticles in tissue engineering: Applications, challenges and prospects. *Int J Nanomedicine.* 2018;13:5637-55. <https://doi.org/10.2147/ijn.s153758>.
19. Hoque MS, Benjakul S, Prodpran T. Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Food Hydrocoll.* 2011;25(1):82-90. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.05.008>.
20. Kamoun EA, Kenawy ERS, Chen X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *J Adv Res.* 2017;8(3):217-33. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.005>.
21. Kim SH, Turnbull J, Guimond S. Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. *J Endocrinol.* 2011;209(2):139-51. <https://doi.org/10.1530/joe-10-0377>.
22. Kobolak J, Dinnyes A, Memic A, Khademhosseini A, Mobasheri A. Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. *Methods.* 2016;99:62-8. <https://doi.org/10.1016/j.jymeth.2015.09.016>.
23. Kurtoğlu AH, Karataş A. Current Approaches To Wound Therapy: Modern Wound Dressings. *Ankara Ecz Fak Derg J Fac Pharm. Ankara.* 2009;38(3):211-32. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000562.
24. Kutlu E, Emen FM, Yıldırım K, et al. Novel thiourea derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*: synthesis, characterization and molecular docking studies Novel thiourea derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*: synthesis,. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem.* 2023;0(0):1-10. <https://doi.org/10.1080/10426507.2023.2201503>.
25. Las Heras K, Igartua M, Santos-Vizcaino E, Hernandez RM. Chronic wounds: Current status, available strategies and emerging therapeutic solutions. *J Control Release.* 2020;328:532-50. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.09.039>.
26. Lazovic G, Colic M, Grubor M, Jovanovic M. The Application of Collagen Sheet in Open Wound Healing. *Ann Burns Fire Disasters.* 2005;18(3):151.
27. Maaz Arif M, Khan SM, Gull N, Tabish TA, Zia S, Ullah Khan R, et al. Polymer-based biomaterials for chronic wound management: Promises and challenges. *Int J Pharm.* 2021;598:120270. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120270>.
28. Mir SH, Nagahara LA, Thundat T, Mokarian-Tabari P, Furukawa H, Khosla A. Review-Organic-Inorganic Hybrid Functional Materials: An Integrated Platform for Applied Technologies. *J Electrochem Soc.* 2018;165(8):B3137-56. <https://doi.org/10.1149/2.0191808jes/xml>.
29. Pala N, Aral N, Nergis B. Sarı Kantaron Yağı Katkılı PVA Nanoliflerin Emülsiyon Elektroelime Yöntemi İle Üretimi. *J Text Eng.* 2022;29(128):267-71. <https://doi.org/10.7216/teksmuh.1222500>.
30. Pancur S, BiLensoy E, Çalış S. Use of Biodegradable Natural and Synthetic Polymers in Wound Dressing. *Fabad J Pharm Sci.* 2022;47(3):419-42. <https://doi.org/10.55262/fabadezcacilik.1185870>.
31. Pinho E, Magalhães L, Henriques M, Oliveira R. Antimicrobial activity assessment of textiles: Standard methods comparison. *Ann Microbiol.* 2011;61(3):493-8. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0163-8>.
32. Pinho E, Soares G, Henriques M, Grootveld M. Antibacterial activity of textiles for wound treatment. *AATCC J Res.* 2015;2(5):1-7. <https://doi.org/10.14504/ajr.2.5.1>.
33. Pulingam T, Appaturi JN, Gayathiri M, Sudesh K. TiO₂ loaded on glycidol functionalized poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) nanobiocomposite film for photocatalytic and antibacterial activities. *Int J Biol Macromol.* 2023;253(P6):127216.

34. Qu XH, Wu Q, Liang J, Zou B, Chen GQ. Effect of 3-hydroxyhexanoate content in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) on in vitro growth and differentiation of smooth muscle cells. *Biomaterials*. 2006;27(15):2944-50. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.013>.
35. Sahithi K, Swetha M, Ramasamy K, Srinivasan N, Selvamurugan N. Polymeric composites containing carbon nanotubes for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*. 2010;46(3):281-3. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.01.006>.
36. Smith LA, Liu X, Ma PX. Tissue engineering with nano-fibrous scaffolds. *Soft Matter*. 2008;4(11):2144-9. <https://doi.org/10.1039/B807088C>.
37. Su K, Wang C. Recent advances in the use of gelatin in biomedical research. *Biotechnol Lett*. 2015;37(11):2139-45. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1907-0>
38. Summa M, Russo D, Penna I, et al. A biocompatible sodium alginate/povidone iodine film enhances wound healing. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;122:17-24. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.10.004>.
39. Top N, Gokce H. Artificial Bone Scaffold Design in Tissue Engineering. *Selçuk-Teknik Derg*. 2019;18(1302-6178):3.
40. Vasita R, Katti DS. Nanofibers and their applications in tissue engineering. *Int J Nanomedicine*. 2006;1(1):15-30. <https://doi.org/10.2147/nano.2006.1.1.15>.
41. Wagner A, Poursorkhabi V, Mohanty AK, Misra M. Analysis of porous electrospun fibers from poly(l-lactic acid)/poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) blends. *ACS Sustain Chem Eng*. 2014;2(8):1976-82. <https://doi.org/10.1021/sc5000495>
42. Wang P, Li Y, Zhang C, Feng F, Zhang H. Sequential electrospinning of multilayer ethylcellulose/gelatin/ethylcellulose nanofibrous film for sustained release of curcumin. *Food Chem*. 2020;308:125599. <https://doi.org/10.1016/J.Foodchem.2019.125599>.
43. Wiegand C, Abel M, Ruth P, Elsner P, Hipler UC. In vitro assessment of the antimicrobial activity of wound dressings: influence of the test method selected and impact of the pH. *J Mater Sci Mater Med*. 2015;26(1):18. <https://doi.org/10.1007/s10856-014-5343-9>.
44. Yeşilkaynak T, Özkömeç FN, Çeşme M, et al. Synthesis of new thiourea derivatives and metal complexes: Thermal behavior, biological evaluation, in silico ADMET profiling and molecular docking studies. *J Mol Struct*. 2022;1269:133758. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133758>
45. Yırtmaz T. Kemik doku rejenerasyonu için Ballıbaşa ekstre ile kaplanmış gümüş nanopartikül katkılı Kitosan/PCL nanofiber üretimi ve karakterizasyonu. <https://www.proquest.com/docview/2787193124> (erişim tarihi 20.05.2024).
46. Zheng Y, Liang Y, Zhang D, et al. Gelatin-Based Hydrogels Blended with Gellan as an Injectable Wound Dressing. *ACS Omega*. 2018;3(5):4766-75. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00308>.

KAN KÜLTÜRLERİNDE TESPİT EDİLEN *CANDIDA* İZOLATLARININ DAĞILIMI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ TİCARİ BİR SIVI MİKRODİLÜSYON TESTİ İLE BELİRLENMESİ

Mehmet İlker TOSUN, Özlem KIRIŞCI

M. İ. Tosun: 0000-0001-9126-1211, Ö. Kirişci: 0000-0003-4784-8183

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KAHRAMANMARAŞ

ÖZ

Candidemi özellikle yoğun bakım hastalarında daha sık görülen, mortalite ile sonuçlanabilen önemli bir klinik tablodur. Bu çalışmamızda, kan kültürlerinden izole edilen Candida izolatlarının tanımlanması, antifungal duyarlılıklarının ve bu antifungallere ait MİK değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ocak 2022-Ocak 2024 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan kültürleri geriye dönük olarak incelenmiştir. Kan kültürlerinden elde edilen Candida izolatlarının tür tanımlanmasında BD Phoenix M50 (Becton Dickinson, ABD) otomatize sistemi kullanılmıştır. Antifungallerin MİK değerlerinin belirlenmesinde MICRONAUT-AM (Bruker, ABD) sıvı mikrodilüsyon testi kullanılmıştır. İzolatların antifungal duyarlılık kategorileri EUCAST standartlarına göre değerlendirilmiştir. Çalışmaya belirtilen tarihler arasında kan kültürlerinden izole edilen toplam 96 tane Candida dahil edilmiştir. En sık saptanan tür Candida albicans (%46.9) olmuştur. Kandidemi olgularının büyük çoğunluğunun 65 yaş üstü hastalar (%59.3) olduğu ve %92.7'sinin yoğun bakım ünitesi (YBÜ) hastası olduğu görülmüştür. Antifungal duyarlılık testleri sonucunda bütün izolatlar amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. Candida türleri arasında antifungallere en yüksek duyarlılık oranları Candida parapsilosis'te görülmüştür. En düşük MİK değerleri mikafungin ve en yüksek MİK değerleri flukonazolde tespit edilmiştir. Kan kültüründe Candida üremesi YBÜ hastaları ve ileri yaş hastalarda belirgin bir şekilde daha sık görülmüştür. Özellikle YBÜ hastaları ve ileri yaş grubundaki hastalar kandidemi yönünden daha dikkatli takip edilmelidir. İzole edilen Candida'ların antifungal duyarlılıklarının tür düzeyinde farklılık gösterdiği görülmüştür. Candida'ların tür düzeyinde tanımlanması ve yapılan antifungal duyarlılık çalışmaları, ampirik ve terapötik tedavi süreçlerinin doğru ve etkili yönetilmesi açısından oldukça önemlidir.

Anahtar kelimeler: Antifungal duyarlılık, Candida, Kan kültürü, Kandidemi

ABSTRACT

Distribution of *Candida* Isolates Detected in Blood Cultures and Determination of Antifungal Susceptibilities by a Commercial Broth Microdilution Test

Candidemia is an important clinical condition that is more common especially in intensive care patients and can result in mortality. In this study, we aimed to identify Candida isolates isolated from blood cultures, determine their antifungal susceptibilities and minimum inhibitory concentration (MIC) values of these antifungals.

Blood cultures sent to Medical Microbiology Laboratory between January 2022 and January 2024 were examined retrospectively. BD Phoenix M50 (Becton Dickinson, USA) automated system was used for species identification of Candida isolates obtained from blood cultures. MICRONAUT-AM (Bruker, USA) broth microdilution test was used to determine the MIC values of antifungals. Antifungal susceptibility categories of the isolates were evaluated according to EUCAST standards.

A total of 96 Candida isolated from blood cultures between the specified dates were included in the study. The most frequently detected species was Candida albicans (46.9%). It was observed that the majority of candidemia cases were patients over the age of 65 (59.3%) and 92.7% were intensive care unit (ICU) patients. As a result of antifungal susceptibility tests, all isolates were found to be susceptible to amphotericin B. Among Candida species, the highest susceptibility rates to antifungals was observed in Candida parapsilosis. The lowest MIC values were detected in micafungin and the highest MIC values in fluconazole. Candida growth in blood culture was seen significantly more frequently in ICU patients and older patients. Especially ICU patients and patients in the older age group should be monitored more carefully for candidemia.

İletişim adresi: Mehmet İlker Tosun, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KAHRAMANMARAŞ

e-posta: ilkertosun1991@gmail.com

Received/Geliş: 22.04.2024 Accepted/Kabul: 09.07.2024 Published Online/Online Yayın: 30.08.2024

Atıf/Cite as: Tosun Mİ, Kirişci Ö. Kan kültürlerinde tespit edilen *Candida* izolatlarının dağılımı ve antifungal duyarlılıklarının ticari bir sıvı mikrodilüsyon testi ile belirlenmesi. ANKEM Derg. 2024;38(2):53-61.

It was observed that the antifungal susceptibilities of the isolated Candida species differed at the species level. Identification of Candida at the species level and antifungal susceptibility studies are very important for the correct and effective management of empirical and therapeutic treatment processes.

Keywords: Antifungal susceptibility, Blood culture, Candida, Candidemia

GİRİŞ

Candida türleri cilt, mukozalar, genital sistem ve gastrointestinal sistemde flora elemanı olarak bulunmaktadır. Bununla birlikte konak immünitesine ait bazı sorunlarda fırsatçı enfeksiyon etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır⁽¹⁷⁾. İmmünoşüpresif tedavi alan, organ nakli alıcısı hastalar, malignite hastaları gibi hasta gruplarının artışı, girişimsel işlemlerin daha sık yapılması ve hastaların yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) kalış sürelerinin artması gibi faktörlere bağlı olarak *Candida* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar giderek artmaktadır⁽⁸⁾.

Candida albicans, kandidemilerde karşımıza en sık çıkan etkindir. Bununla birlikte, albicans dışı *Candida* türlerinin sıklığı da artış göstermektedir⁽²⁷⁾. Bütün *Candida* enfeksiyonlarına bakıldığında büyük çoğunluğunda (yaklaşık %92-95) beş *Candida* türü saptanmaktadır. Bunlar; *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* ve *Candida krusei*'dir^(3,23). Bunlara ek olarak, 2009 yılında Japonya'da tanımlandıktan sonra dünya genelinde yayılan *Candida auris* bazı merkezlerde baskın tür olarak bildirilmiştir⁽³¹⁾.

Günümüzde antifungallerin profilaktik veya ampirik tedavi amaçlı uygulamaları artmıştır. Bunun sonucunda antifungal ilaçlara duyarlılık azalmış ve tedavi direnci gittikçe artan bir sorun haline almıştır. Bunun neticesinde kandidemi ve invaziv *Candida* enfeksiyonlarında morbidite ve mortalite oranları yüksek seyretmektedir^(5,24). Farklı *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık paternleri farklılık göstermektedir. Ayrıca bazı türlerin bazı antifungal ajanlara intrinsek dirençli olduğu bilinmektedir. Bu nedenle *Candida* türlerine bağlı gelişen enfeksiyonlarda tür düzeyinde tanımlama ve antifungal duyarlılık çalışmaları yapılması; tedavinin şekillendirilmesi ve enfeksiyonun seyrinin takip edilmesi açısından büyük önem taşımaktadır⁽²⁰⁾.

Bu çalışmada, Ocak 2022-Ocak 2024 tarihleri arasında çeşitli klinik birimlerden laboratuvarımıza gönderilen kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin tanımlanması ve antifungal duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2022-Ocak 2024 tarihleri arasında çeşitli klinik birimlerden gelen kan kültürü sonuçları geriye dönük olarak incelendi. Aynı hastadan izole edilen ve aynı antifungal direnç profiline sahip olan örneklerden sadece bir tanesi çalışmaya dahil edildi.

Hastalardan steril koşullarda alınıp kan kültür şişelerine inoküle edilen kan kültürü örnekleri laboratuvarımızda BACTEC FX TOP (Becton Dickinson, ABD) otomatik kan kültürü cihazında inkübe edildi. Pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden Gram boyama yapıldı. Şişelerden %5 koyun kanlı Columbia agar (Becton Dickinson, ABD), çikolata agar (Becton Dickinson, ABD) ve "Eosin Methylene Blue" (EMB) agar (Becton Dickinson, ABD) besiyerlerine ekilerek 37°C'de, 24 saat süre ile inkübe edildi. Gram boyamasında maya hücreleri görülen örnekler ayrıca Sabouraud dekstroz agara ekildi. Sabouraud dekstroz agar ve koyun kanlı agar besiyerinde üreyen maya kolonilerinin tanımlanmasında BD Phoenix M50 (Becton Dickinson, ABD) otomatize tanımlama sistemi kullanıldı. Antifungal ajanların minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin belirlenmesinde European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standart sıvı mikrodilüsyon yöntemini temel alan ticari bir test olan MICRONAUT-AM Anti Fungal Agents MIC Test (Bruker, ABD) kullanıldı. İzolatların antifungal duyarlılık kategorileri EUCAST kriterlerine göre değerlendirildi⁽¹⁴⁾. EUCAST rehberinde türe özgü klinik sınır değerleri belirtilmeyen izolatlarda ise sadece MİK değerleri verildi.

Bu çalışma Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu (Oturum no: 2023/18 ve Karar No: 01) onayı ile gerçekleştirildi.

BULGULAR

Çalışmaya Ocak 2022-Ocak 2024 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen 96 *Candida* izolatı dahil edilmiştir. En sık saptanan tür *C. albicans* (%46.9) olmuştur. Çalışmaya dahil edilen hastaların 47'si (%48.9) kadın ve 49'u (%51.1) erkektir. Hastaların yaş dağılımına bakıldığında, dokuzu (%9.4) çocuk ve 87'si (% 90.6) erişkin hastalardan oluşmaktadır. Kandidemi olgularının büyük çoğunluğunun (%59.3) 65 yaş üstü hastalar olduğu görülmektedir. İzole edilen *Candida* türlerinin sayıları ve yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. İzole edilen *Candida* türlerinin sayıları ve yaş gruplarına göre dağılımı [n (%)]*.

<i>Candida</i> türü	0-18 yaş	19-65 yaş	>65 yaş	Toplam
<i>C. albicans</i>	5 (11.1)	18 (40.0)	22 (48.9)	45 (100)
<i>C. glabrata</i>	0	7 (24.1)	22 (75.9)	29 (100)
<i>C. parapsilosis</i>	2 (16.7)	3 (25.0)	7 (58.3)	12 (100)
<i>C. kefyr</i>	1	1	2	4
<i>C. tropicalis</i>	1	1	2	4
<i>C. krusei</i>	0	0	1	1
<i>C. lusitaniae</i>	0	0	1	1
Toplam	9 (9.4)	30 (31.3)	57 (59.3)	96 (100)

* Satır yüzdesi verilmiştir. İzolat sayısı <10 olan türlerde oran verilmemiştir.

İzole edilen *Candida* türlerinin kliniklere göre dağılımına bakıldığında yedi hastanın (%7.3) servislerde ve 89 hastanın (%92.7) yoğun bakım ünitelerinde tedavi edildiği görülmüştür. *Candida* türlerine ayrı ayrı bakıldığında *Candida kefyr* dışındaki türler belirgin olarak YBÜ'deki hastalardan daha fazla izole edilmiş, *C. kefyr* üremesi olan hastalar ise sayıca servis ve YBÜ'ye eşit olarak dağılmıştır. İzole edilen *Candida* türlerinin kliniklere göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. İzole edilen *Candida* türlerinin kliniklere göre dağılımı [n (%)]*.

<i>Candida</i> türü	Servis	Yoğun Bakım Ünitesi
<i>C. albicans</i>	3 (6.7)	42 (93.3)
<i>C. glabrata</i>	0 (0.0)	29 (100.0)
<i>C. parapsilosis</i>	2 (16.7)	10 (83.3)
<i>C. kefyr</i>	2	2
<i>C. tropicalis</i>	0	4
<i>C. krusei</i>	0	1
<i>C. lusitaniae</i>	0	1
Toplam	7 (7.3)	89 (92.7)

* Satır yüzdesi verilmiştir. İzolat sayısı <10 olan türlerde oran verilmemiştir.

Candida türlerinde saptanan antifungal duyarlılık oranları Tablo 3'te gösterilmektedir. Bütün izolatlar amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. *Candida* türleri arasında antifungallere en yüksek duyarlılık *C. parapsilosis*'te gözlenmiştir.

Tablo 3. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık oranları n (%)*.

<i>Candida</i> türü	APH	ANF	FCA	ITR	MIF	POS	VOR
<i>C. albicans</i> (n=45)	45 (100)	38 (84.4)	41 (91.1)	38 (84.4)	40 (88.9)	38 (84.4)	38 (84.4)
<i>C. glabrata</i> (n=29)	29 (100)	25 (86.2)	-**	-	26 (89.7)	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (n=12)	12 (100)	12 (100)	10 (83.3)	12 (100)	12 (100)	12 (100)	11 (91.7)
<i>C. tropicalis</i> (n=4)	4	4	3	3	-	2	4
<i>C. krusei</i> (n=1)	1	0	-***	-	-	-	-

APH: Amfoterisin B, ANF: Anidulafungin, FCA: Flukonazol, ITR: İtrakonazol, MIF: Mikafungin, POS: Posakonazol, VOR: Vorikonazol

*EUCAST rehberinde türe özgü klinik sınır değerleri bulunmayan *C. kefyr* ve *C. lusitanae*'da duyarlılık durumu belirtilmemiştir. İzolat sayısı <10 olan türlerde oran verilmemiştir.

** *C. glabrata* izolatlarının tümü flukonazole doza bağımlı duyarlı (I) bulunmuştur. Bu tür için flukonazole duyarlı kategorisi bulunmamaktadır.

****C. krusei* flukonazole intrensek dirençlidir.

MICRONAUT-AM Anti Fungal Agents MIC Test ile elde edilen antifungal MİK değerlerine ilişkin bilgiler Tablo 4'te gösterilmiştir. En düşük antifungal MİK değerleri mikafungin ve en yüksek MİK değerleri flukonazol için tespit edilmiştir.

Tablo 4. Farklı türlerde saptanan antifungal MİK değerlerinin aralığı, geometrik ortalamaları ile MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri (µg/ml)*.

Antifungal		<i>C. albicans</i> (n=45)	<i>C. glabrata</i> (n=29)	<i>C. parapsilosis</i> (n=12)	<i>C. kefyr</i> (n=4)	<i>C. tropicalis</i> (n=4)
APH	MİK aralığı	0.03-0.5	0.03-0.5	0.125-0.25	0.06-0.25	0.125-0.5
	GM	0.083	0.173	0.140	0.123	0.250
	MİK ₅₀	0.125	0.25	0.125	0.125	0.25
	MİK ₉₀	0.25	0.25	0.125	0.25	0.25
ANF	MİK aralığı	0.02-8	0.016-0.125	0.03-0.5	0.016-0.06	0.016-0.06
	GM	0.017	0.024	0.220	0.025	0.031
	MİK ₅₀	0.016	0.016	0.25	0.016	0.016
	MİK ₉₀	0.5	0.03	0.5	0.016	0.016
CAS	MİK aralığı	0.016-1	0.03-8	0.016-2	0.03-0.06	0.06-0.125
	GM	0.062	0.0950	0.142	0.048	0.087
	MİK ₅₀	0.06	0.06	0.125	0.06	0.06
	MİK ₉₀	0.125	0.125	0.25	0.06	0.06
FCA	MİK aralığı	0.05-32	0.5-128	0.125-4	0.25-0.5	2-128
	GM	0.839	9.455	1.414	0.315	8.0
	MİK ₅₀	1	8	2	0.25	2
	MİK ₉₀	2	16	4	0.5	2
ITR	MİK aralığı	0.03-2	0.002-4	0.03-0.06	0.03-0.06	0.03-0.4
	GM	0.081	0.765	0.033	0.033	0.193
	MİK ₅₀	0.03	2	0.03	0.03	0.03
	MİK ₉₀	0.25	4	0.03	0.06	0.06
MIF	MİK aralığı	0.002-0.25	0.016-8	0.06-0.25	0.03-0.06	0.016-0.016
	GM	0.009	0.016	0.116	0.033	0.016
	MİK ₅₀	0.016	0.016	0.125	0.03	0.016
	MİK ₉₀	0.02	0.16	0.125	0.06	0.016
POS	MİK aralığı	0.008-8	0.016-8	0.008-0.03	0.002-0.02	0.03-8
	GM	0.026	0.515	0.010	0.010	0.206
	MİK ₅₀	0.016	0.5	0.008	0.002	0.03
	MİK ₉₀	0.25	1	0.016	0.016	0.25
VOR	MİK aralığı	0.008-8	0.016-8	0.008-2	0.008-0.016	0.03-0.125
	GM	0.021	0.177	0.024	0.010	0.061
	MİK ₅₀	0.008	0.125	0.016	0.008	0.03
	MİK ₉₀	0.125	0.25	0.03	0.016	0.06

GM: Geometrik ortalama, APH: Amfoterisin B, ANF: Anidulafungin, FCA: Flukonazol, ITR: İtrakonazol, MIF: Mikafungin, POS: Posakonazol, VOR: Vorikonazol

*Tabloda izolat sayısı 1 olan türlere yer verilmemiştir.

TARTIŞMA

Son yıllarda *Candida* türlerinin sebep olduğu enfeksiyonlar giderek artmaktadır. Antifungal direnci ve uygun tedavinin uygun zamanda uygulanmaması gibi nedenlerle morbidite ve mortalite artışı görülmektedir⁽²⁵⁾.

Ülkemizden *Candida* enfeksiyonu olgularının yaşa göre dağılımını inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Savcı ve ark.⁽³⁰⁾ farklı klinik örneklerinden *Candida* üreyen hastaların %74'ünün erişkin hastalar olduğunu bildirmişlerdir. Çalışkan ve ark.⁽⁹⁾ kandidemi gözlenen hastaların yaş dağılımını incelediklerinde, hastaların %70'inin erişkin olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde hastaların büyük çoğunluğunun (%90.6) erişkin yaş grubunda olduğu görülmüştür. Ayrıca hastaların %59.3'ünün 65 yaş üstü hastalar olduğu saptanmıştır. Yaş artışı ile birlikte kronik hastalık ve malignite prevelansının artması, immün süpresif tedavilerin

daha sık uygulanması, yaşlı bireylerde bağışıklık sisteminde zayıflama gibi faktörlerden ötürü *Candida* enfeksiyonlarının sıklığının arttığı söylenebilir⁽³⁰⁾.

Literatürde *Candida* enfeksiyonlarının servislere göre dağılımı da incelenmiştir. Turan ve ark.'nın⁽³⁴⁾ çalışmasında *Candida* enfeksiyonlarının yarından fazlası (%52.9) YBÜ'de görülmüştür. Kılınçel ve ark.'nın⁽¹⁶⁾ çalışmasında *Candida* izole edilen hastaların büyük çoğunluğunun (%86.4) YBÜ'de tedavi görmekte olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda da beklenildiği üzere *Candida* izole edilen hastaların büyük çoğunluğunun (%92.7) YBÜ hastası olduğu görülmüştür. Ayrıca, *C. glabrata* izolatlarının tamamının YBÜ'de görülmesi dikkat çekmiştir. Bu duruma yoğun bakım ünitelerinde hastalar arası sağlık çalışanları kaynaklı bulaş ve kontamine olmuş girişimsel enstrümanların neden olması olasıdır⁽¹³⁾. Bu açıdan YBÜ'de hastaların invaziv kandidiyazis ve kandidemi yönünden daha yakın takip edilmesi önemlidir. *Candida* enfeksiyonlarının YBÜ'de daha sık olarak görülmesinde; üriner kateterizasyon, intravasküler kateter gibi invaziv işlemlerin daha sık yapılması, çoklu antimikrobiyal kullanımı ve uzun süre hastanede yatış gibi faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir⁽²⁰⁾.

Candida türlerinin hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanması, uygun tedavinin erken dönemde uygulanabilmesi açısından önemlidir⁽²⁶⁾. Çalışmamızda, *C. albicans* ve *C. glabrata* türlerinin baskın olduğu gözlenmiştir. Literatürde de kandidemilerde karşımıza en sık çıkan etkenler *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*'dir⁽²⁸⁾. Kandidemilerde enfeksiyona neden olan türlerin çeşitliliği ve dağılımı farklı coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. *C. albicans* Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık saptanan tür iken, Güney Amerika ve Asya'da non-*albicans* türler daha sık olarak görülmektedir^(2,5,15). Ayrıca, *C. auris*, nozokomiyal salgınlara sebep olabilen ve birçok antifungale direnç gösterebilen yeni bir tür olarak karşımıza çıkmış ve bazı merkezlerde en sık görülen kandidemi etkeni olarak bildirilmiştir⁽³¹⁾. Merkezimizde çalışma süresi içinde *C. auris* izolatı tanımlanmamıştır.

Ülkemizden farklı çalışmalarda da enfeksiyonlarda etken olarak gözlenen *Candida* türleri irdelenmiştir. Sav ve ark.'nın⁽²⁹⁾ klinik örneklerde *Candida* türlerinin dağılımını araştırdığı çalışmalarında en sık görülen tür *C. albicans* (%65.8) iken, bunu sırayla *C. parapsilosis* (%12.3), *C. glabrata* (%12.3), *C. krusei* (%5.3) ve *C. tropicalis* (%1.8) izlemiştir. Atalay ve ark.'nın⁽¹⁾ kan kültürlerinde izole ettikleri *Candida* türlerinin dağılımını araştırdığı çalışmasında *C. albicans* (%68), *C. parapsilosis* (%14.5), *C. glabrata* (%9), *C. krusei* (%4.1) ve *C. tropicalis* (%3.1) oranlarında tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde en sık görülen tür *C. albicans* (%46.9) olmuştur. Daha sonra sırasıyla *C. glabrata* (%30.3), *C. parapsilosis* (%12.5), *C. tropicalis* (%4.2), *C. kefyr* (%4.2) ve *C. krusei* (%1.04) görülmüştür. Benzer çalışmalara göre non-*albicans* türlerin sıralamasında farklılık görülmesinde, çalışmaların farklı coğrafi bölgelerde yapılması ve enfeksiyonların primer kaynak aldığı yerlerin farklılığı etkili olabilir^(10,35).

Günümüzde invaziv *Candida* enfeksiyonları ve kandidemi görülme sıklığının artışı, beraberinde ampirik antifungal kullanımının daha yaygın hale gelmesine yol açmıştır. Bunun bir sonucu olarak kliniklerde antifungallere direnç oranlarının yükseldiği görülmektedir⁽²²⁾. Bundan dolayı *Candida* enfeksiyonlarında etkili ve uygun bir tedavinin planlanmasında antifungal duyarlılık çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır⁽²¹⁾. Antifungal duyarlılık çalışmalarında EUCAST referans yöntem olarak sıvı dilüsyon yöntemini önermektedir⁽³²⁾. Bizim çalışmamızda *Candida* izolatlarının antifungal duyarlılıklarının belirlenmesinde ticari bir sıvı mikrodilüsyon testi olan MICRONAUT-AM testi uygulanmıştır. MICRONAUT-AM testi EUCAST ilkeleri doğrultusunda geliştirilmiş bir yöntemdir ve sonuçlar EUCAST standartlarına göre değerlendirilmektedir⁽¹⁹⁾.

Yapılan çalışmaların birçoğunda *Candida* enfeksiyonlarında amfoterisin B direnci çok düşük seviyelerde tespit edilmiş veya dirence hiç rastlanmamıştır^(22,23). Bizim çalışmamızda farklı *Candida* türlerinin tamamı amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. Bu yönüyle çalışmamız diğer çalışmalar ile uyumlu niteliktedir.

Flukonazol, etki spektrumunun geniş olmasından ötürü yaygın olarak kullanılan bir antifungaldir. Ancak, bu yaygın kullanım sonucunda flukonazole karşı dirençte artış görülmektedir⁽¹³⁾. Erdem ve ark.'nın⁽¹²⁾ nozokomiyal *Candida* enfeksiyonlarını değerlendirdikleri çalışmasında toplam 114 *Candida* olgusunda flukonazol direnci %7 oranında tespit edilmiştir. Çalışmamızda *Candida* izolatlarının tamamı değerlendirildiğinde flukonazol direnci diğer çalışmalara benzer şekilde yüksek (%8.8) bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda antifungaller arasında en yüksek MİK değerlerinin flukonazolde bulunması, flukonazole karşı direnç artışı açısından uyarıcı bir durumdur.

Vorikonazol, flukonazole dirençli bazı *Candida* türlerinin tedavisinde faydalı olan geniş spektrumlu bir antifungal ilaçtır⁽⁶⁾. Kılınçel ve ark.'nın⁽¹⁶⁾ kan kültürlerinde üreyen *Candida* türlerinin antifungal duyarlılıklarını VITEK 2 tam otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) kullanarak araştırdıkları çalışmada tüm izolatlar için vorikonazol direnci %12 ve Bayram ve ark.'nın⁽⁴⁾ çalışmada tüm izolatlar için (ATB Fungus 3 (bioMérieux, Fransa) vorikonazol direnci %30 bulunmuştur. Çalışmamızda, vorikonazol direnci %14.7 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen verilerin, otomatize sistemleri kullanan literatürle uyumlu olduğu görülmüştür.

Ekinokandinlerin, azol grubu antifungallere dirençli *Candida* türleri dahil olmak üzere geniş bir kullanım yelpazesi vardır⁽⁶⁾. Bununla birlikte artan ekinokandin kullanımının, *Candida* türlerinde kaspofungin direncinde artışa neden olduğu belirtilmektedir⁽²⁾. *Candida* türleri arasında ekinokandine direnç oranları oldukça değişken olabilmektedir. Kılınçel ve ark.⁽¹⁶⁾ *Candida* izolatlarında mikafungin direncini VITEK 2 sistemi ile %19 bulmuştur. Kooshki ve ark.⁽¹⁸⁾ çalışmada Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) yöntemiyle 23 *Candida* izolatının %17.4'ünü kaspofungine dirençli bulmuş; ancak, önerilen şekilde mikafungin veya anidulafungin ile test ederek doğrulama yapmamışlardır. Çalışmamızda test edilen tüm izolatlar ele alındığında mikafungin direnci %9.3, anidulafungin direnci ise %13.2 olarak bulunmuştur. Ancak, referans bir antifungal duyarlılık yöntemiyle doğrulama yapılamamıştır. Çalışmamızdaki tüm izolatlarda ekinokandin grubu antifungallere karşı bulduğumuz direnç oranları yüksektir. Tespit edilen yüksek direnç oranlarının test yönteminden kaynaklanmış olabileceği gibi; hastanemizdeki ekinokandinlerin kullanım yoğunluğuna, izolatların büyük çoğunluğunun YBÜ'de tedavi gören hastalara ait olmasına, dirençli suşların klonal yayılım olasılığına ve izolat sayımızın az olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Beder ve ark.⁽⁵⁾ VITEK 2 sistemi kullanarak, *C. albicans*'ta antifungal direnç oranlarını albicans-dışı *Candida* türlerine göre daha yüksek bulmuştur. Çalışmamızda da benzer şekilde *C. albicans*'ta antifungallere direnç oranı albicans-dışı *Candida*'lara göre daha yüksek bulunmuştur. Ece⁽¹¹⁾ kan kültüründen izole edilen *Candida* izolatlarının tamamının amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve vorikonazole duyarlı olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde tüm izolatlar amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. Ayrıca, çalışmamızda *C. glabrata* ve *C. parapsilosis* izolatları amfoterisin B, azol grubu ve ekinokandinlere yüksek oranda duyarlı bulunmuştur.

Şanlı ve ark.'nın⁽³³⁾ *Candida* izolatlarının antifungal duyarlılıklarını VITEK 2 Compact® (bioMérieux, Fransa) sistemi ile belirledikleri çalışmada 5 yıl içinde 41 *C. tropicalis* test edilmiştir. Bu izolatlarda flukonazole %4.9, mikafungine %4.9 ve vorikonazole %2.6 direnç tespit edilmiştir. Beder ve ark.⁽⁵⁾ tarafından yapılan çalışmada test edilen 16 adet *C. tropicalis* izolatında VITEK 2 sistemiyle amfoterisin B, kaspofungin, mikafungin ve vorikonazole direnç saptanmamıştır. Çalışmamıza dahil edilen dört *C. tropicalis* izolatının tamamı amfoterisin B, kaspofungin ve vorikonazole, üçü flukonazole duyarlı bulunmuştur. Çalışmamız sınırlı sayıda *C. tropicalis* içermekle birlikte, ülkemizden diğer çalışmalara benzer şekilde antifungallere duyarlılığı yüksek olduğu gözlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda *Candida* türlerinin genel olarak amfoterisin B'ye duyarlı olduğu kabul edilmekte ve sürveyans çalışmaları %100'e yakın amfoterisin B duyarlılık oranları bildirilmektedir. Ekinokandinlerin genel antifungal spektrumları sınırlı olsa da, azol dirençli suşlar dahil olmak üzere çoğu *Candida* türüne karşı fungisidal etkilidirler. Son yıllarda sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda MİK değerlerinde yükselme gözlenmektedir. Bu durum, özellikle doğal olarak yüksek ekinokandin MİK değerlerine sahip olan *C. parapsilosis* gibi türlerde direnç oranlarının artabileceğini düşündürmekle birlikte, henüz yüksek duyarlılık oranları devam etmektedir⁽⁷⁾. Çalışmamızda en yüksek ekinokandin duyarlılık oranları *C. parapsilosis*'te tespit edilmiştir. Yine de, *C. parapsilosis*'in ekinokandin MİK değerlerinin takip edilmesi gereken bir parametre olduğu söylenebilir.

Merkezimizde 2 yıllık süre içinde kan kültürlerinde en sık izole edilen türler *C. albicans* ve *C. glabrata* olmuştur. Kan kültüründe *Candida* üremesi YBÜ hastaları ve ileri yaş hastalarda belirgin bir şekilde daha sık görülmüştür. İzole edilen *Candida* türlerinde yüksek duyarlılık oranları saptanmakla birlikte antifungal duyarlılıklarının tür düzeyinde farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Sonuçlarımızın ışığında özellikle YBÜ hastaları ve ileri yaş grubu hastaların kandidemi yönünden daha dikkatli takip edilmesi, kan kültürlerinden izole edilen *Candida*'ların tür düzeyinde tanımlanması ve antifungal duyarlılık durumunun test edilmesi gerekliliği tekrar vurgulanmaktadır. Bu veriler, ampirik tedavilerin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Bu sayede *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde uygun olmayan ve gereksiz ilaç kullanımı önlenerek antifungallere direncin ve bu ilaçlara bağlı gelişen yan etkilerin azaltılmasına katkı sağlanacaktır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu (Oturum no: 2023/18 ve Karar No: 01) tarafından onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Kahramanmaraş Sütçü İmam University Medical Research Ethics Committee (Session no: 2023/18 and Decision No: 01).

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

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

KAYNAKLAR

1. Atalay MA. Distribution of Candida species isolated from blood cultures and in vitro susceptibilities to amphotericin B and fluconazole. *Selcuk Med Journal*. 2012;28(3):149-51.
2. Aydoğan S, Samadzade R, Maçın S, Hatice T, Fındık D. Pandemi döneminde kan kültürlerinden izole edilen Candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Mantar Derg*. 2022;13(3):105-10. <https://doi.org/10.30708.mantar.1192975>
3. Bakir M, Cerikcioglu N, Barton R, Yagci A. Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital. *APMIS*. 2006;114(9):601-10. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2006.apm_359.x
4. Bayram Y, Gültepe B, Özlük S, Güdücüoğlu H. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Candida kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. *Van Tıp Derg*. 2012;19(4): 177-81.
5. Beder D, Taşbent FE, Doğan M. Kan kültürlerinde tespit edilen Candida izolatlarının dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *ANKEM Derg*. 2020;34(3):77-85. <https://doi.org/10.5222/ankem.2020.077>
6. Ben-Ami R. Treatment of invasive Candidiasis: A narrative review. *J Fungi*. 2018;4(3):97. <https://doi.org/10.3390/jof4030097>
7. Branco J, Miranda IM, Rodrigues AG. Candida parapsilosis virulence and antifungal resistance mechanisms: A comprehensive review of key determinants. *J Fungi*. 2023;9(1):80. <https://doi.org/10.3390/jof9010080>
8. Cleveland AA, Harrison LH, Farley MM, et al. Declining incidence of Candidemia and the shifting epidemiology of Candida resistance in two US Metropolitan Areas, 2008–2013: results from population-based surveillance. *PloS one*. 2015;10(3):e0120452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120452>.
9. Çalışkan E, Dede A, Güven GB. Kan kültürlerinde saptanan Candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *ANKEM Derg*. 2013;27(1):25-30. <https://doi.org/10.5222/ankem.2013.025>
10. Çiçek B, Yılmaz H, Mutlu YE, Esen Ş, Birinci A. Candida epidemiyolojisindeki değişikliklerin araştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2015;49(3):423-31.
11. Ece G. Distribution of yeast-like fungi at a university hospital in Turkey. *JJM*. 2014;7(12). <https://doi.org/10.5812/jjm.13141>
12. Erdem F, Tuncer EG, Oral B, Karakoç E, Demiröz AP, Tülek N. Candida türlerine bağlı nozokomiyal enfeksiyonların epidemiyolojik ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2012;46(4):637-48.
13. Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A. Kan kültürlerinden izole edilen Candida türlerinin dağılımının ve antifungal duyarlılıklarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. *ANKEM Derg*. 2015;29(3):105-13. <https://doi.org/10.5222/ankem.2015.0105>
14. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Breakpoint tables for interpretation of MICs for antifungal agents https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Clinical_breakpoints/AFST_BP_v10.0_200204_updatd_links_200924.pdf (Erişim tarihi: 04/04/2024)
15. Falagas ME, Roussos N, Vardakas KZ. Relative frequency of albicans and the various non-albicans Candida spp among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: A Systematic Review. *IJID*. 2010;14(11):e954-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2010.04.006>

16. Kılınçel Ö, Akar N, Karamurat ZD, ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2018;48(4):256-63. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2018.256>
17. Koçak BY, Kuloğlu F, Çelik AD, Akata F. Bir üçüncü basamak hastanesinde erişkin kandidemi olgularının epidemiyolojik özellikleri ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul.* 2011;45(3):489-503.
18. Kooshki P, Rezaei-Matehkolaei A, Mahmoudabadi AZ. The patterns of colonization and antifungal susceptibility of *Candida*, isolated from preterm neonates in khorrabad, south west of Iran. *JMM.* 2018;28(2). <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2018.02.010>
19. MICRONAUT antifungal susceptibility testing https://www.merlindiagnostika.de/fileadmin/mediapool/downloads/Produkte/Resistenzbestimmung/1875129_MICRONAUT-AM_03-2020_eBook.pdf (Erişim tarihi: 01/07/2024)
20. Müderris T, Yurtsever SG, Baran N, Özdemir R, Güngör S, Aksoy-Gökmen A, Kaya S. Kan kültürlerinde izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılık paternlerinin son beş yıldaki değişimi. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2019;76(3):231-42. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2019.65902>
21. Özbek E, Tekay F, Pirinçioğlu HÇ. Yoğun bakım hastalarına ait çeşitli örneklerden izole edilen *Candida* izolatlarında antifungal direnç. *Dicle Med J.* 2012;39(2):207-12. <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2012.02.0128>
22. Öztürk T, Özseven AG, Çetin ES, Selçuk K. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* suşlarının tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. *KTD.* 2013;14(1):17-22. <https://doi.org/10.18229/ktd.91638>
23. Papon N, Courdavault V, Clastre M, Bennett RJ. Emerging and emerged pathogenic *Candida* species: beyond the *Candida albicans* paradigm. *PLoS Pathogens.* 2013;9(9):e1003550. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003550>
24. Perlin DS, Rautemaa-Richardson R, Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: Prevalence, mechanisms, and management. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(12):e383-92. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30316-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30316-X)
25. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive mycoses in North America. *Crit Rev Microbiol.* 2010;36(1):1-53.
26. Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, et al. Practice guidelines for the treatment of Candidiasis. *Clin Infect Dis.* 2000;30(4):662-78. <https://doi.org/10.1086/313749>
27. Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJS. *Candida* species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol.* 2013;62(1). <https://doi.org/10.1099/jmm.0.045054-0>
28. Sarıgüzel FM, Koç AN, Karagöz S. Kan kültürlerinden izole edilen maya türlerinin Vitek 2 sistemi ile tanımlanması ve antifungal duyarlılıkları. *Harran Univ Tıp Fak Derg.* 2015;12(2):261-8.
29. Sav H, Demir G, Atalay MA, Koç AN. Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2013;70(4):175-80. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2013.37267>
30. Savcı Ü, Yılmaz N. Çeşitli örneklerden izole edilen *Candidalar*ın tür dağılımı ve antifungal direnç oranları. *Turk Clin Lab.* 2017;8(3):85-90. <https://doi.org/10.18663/tjcl.340562>
31. Sikora A, Hashmi MF, Zahra F. *Candida auris*. [Updated 2023 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563297/> (Erişim tarihi: 11/06/2024)
32. Srinivasan A, Lopez-Ribot JL, Ramasubramanian AK. Overcoming antifungal resistance. *Drug Discov Today Technol.* 2014;(11):65-71. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2014.02.005>
33. Şanlı K, Kömürcü SZM, Şahin AS. Kan kültürlerinde üretilen yoğun bakım ünitesi hastalarında *Candida* epidemiyolojisi ve antifungal direnç değişiminin incelenmesi, 2015-2019. *Dicle Med J.* 2021;48(4):796-805. <https://doi.org/10.5798/dicletip.1037792>
34. Turan D, Aksaray S. Merkez mikoloji laboratuvarının bir yıllık *Candida* verileri: Hangi örnek, hangi tür, ne kadar dirençli? *Mikrobiyol Bul.* 2022;56(3):493-505. <https://doi.org/10.5578/mb.20229709>
35. Tümbay E. Çev. Fırsatçı Mikozlar, "Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (eds). *Tıbbi Mikrobiyoloji, Atlas Kitapçılık, Ankara 6. Baskı, 2010*" kitabında s.751-9.

HPV EĞİTİMİNİN SAĞLIK HİZMETLERİ MESLEK YÜKSEKOKULU ÖĞRENCİLERİNİN HPV FARKINDALIĞI ÜZERİNE ETKİSİ: ÖN TEST-SON TEST DESENİ YAKLAŞIMI

Aslıhan YENİYAPI, Elif AYDIN

A. YeniYapı: 0000-0002-0105-9229, E. Aydın: 0000-0003-0877-453X

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tavşanlı Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, KÜTAHYA

ÖZ

İnsan papilloma virüsü dünyadaki en yaygın cinsel yolla bulaşan hastalıktır. HPV enfeksiyonlarının yol açtığı en yaygın hastalık olan rahim ağzı kanseri, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde yaygın olan ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Sağlık hizmetleri meslek yüksekokulu öğrencileri gelecekte HPV pozitif bireylere danışmanlık sunabilecek bir popülasyon olmalarının yanı sıra, yaşça genç olmaları nedeniyle HPV enfeksiyonu risk grubunda bulunmaktadır.

Bu çalışmanın amacı; sağlık hizmetleri meslek yüksekokulu öğrencilerine verilen HPV eğitiminin etkinliğini ve öğrencilerin HPV enfeksiyonu, testleri ve aşılama programları hakkındaki farkındalıklarını tespit etmektir.

HPV eğitiminin sağlık teknisyeni adaylarının HPV farkındalığını nasıl etkilediğini bulmak için bu çalışmada tek grup ön test-son test deseni yaklaşımı kullanılmıştır. Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tavşanlı Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'nun dört bölümünde öğrenim gören 280 öğrenciden 174'ü gönüllü olarak katılmıştır. Çalışma verileri 33 madde ve 4 alt boyuttan oluşan "Human Papilloma Virüs Bilgi Ölçeği" (HPV-BÖ) kullanılarak toplanmış ve analiz edilmiştir.

Katılımcıların %66.7'sinin kadın olduğu, %81.6'sının ailesinde kanser öyküsü olmadığı ve %66.1'inin cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında bilgi sahibi olduğu görülmüştür. HPV-BÖ toplam puanı ortalaması ön testte 8.45±6.10 iken, son testte 17.88±6.46'ya yükselmiştir.

Bu çalışma, katılımcıların HPV, HPV enfeksiyonu ve HPV aşısı hakkındaki bilgi ve güvenlerinin eğitim sonrasında arttığını göstermiştir.

Anahtar kelimeler: İnsan papilloma virüsü, farkındalık, öğrenci, eğitim

ABSTRACT

The Effect of HPV Training on HPV Awareness of Students of Health Services Vocational School: Pretest-Posttest Design Approach

Human papillomavirus is the most common sexually transmitted disease in the world. Cervical cancer, the most common disease caused by HPV infections, is a serious public health problem, especially in low and middle income countries. Health services vocational school students are a population who may provide counseling to HPV positive individuals in the future, and they are at risk for HPV infection due to their young age.

The aim of this study was to determine the effectiveness of HPV education provided to health services vocational school students and their awareness on HPV infection, testing, and vaccination programs.

In this study, a one-group pretest-posttest design approach was used to find out how HPV training affects the HPV awareness of health technician candidates. Of the 280 students studying in 4 departments of Kütahya Health Sciences University Tavşanlı Health Services Vocational School, 174 students participated voluntarily. The study data were collected and analysed using the 'Human Papilloma Virus Knowledge Scale'(HPV-KS) consisting of 33 items and 4 sub-dimensions.

It was observed that 66.7% of the participants were female, 81.6% had no family history of cancer and 66.1% had knowledge about sexually transmitted diseases. Pre-test HPV-KS total knowledge mean score was 8.45±6.10, increasing to 17.88±6.46 post-test.

This study showed that the knowledge and confidence of the participants about HPV, HPV infection and HPV vaccine increased after training.

Keywords: Human papillomavirus, awareness, student, education

İletişim adresi: Aslıhan YeniYapı, Tavşanlı Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Yeni Mah. Şehit Ali Gaffar Okkan Cd. No 2 43300 Tavşanlı/KÜTAHYA

e-posta: aslihanyeniyapi@gmail.com

Received/Geliş: 24.07.2024 Accepted/Kabul: 18.08.2024 Published Online/Online Yayın: 30.08.2024

Atıf/Cite as: YeniYapı A, Aydın E. HPV eğitiminin Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu öğrencilerinin HPV farkındalığı üzerine etkisi: ön test-son test deseni yaklaşımı. ANKEM Derg. 2024;38(2):62-70.

GİRİŞ

Dünyada cinsel yolla bulaşan en yaygın enfeksiyon insan papilloma virüsüdür (HPV)^(25,29). Özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu olan HPV enfeksiyonlarının neden olduğu en önemli hastalık rahim ağzı kanseridir⁽⁸⁾.

Yaklaşık 200 farklı HPV genotipi vardır ve bunların yaklaşık 20'sinin kansere neden olduğu bilinmektedir⁽²⁹⁾. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı HPV genotiplerinden on ikisini (genotip 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 ve 59) serviks için kanserojen olarak sınıflandırmıştır⁽³²⁾. Servikal kanserlerin neredeyse tamamı "yüksek riskli" genotipler olarak bilinen HPV 16/18'den kaynaklanmaktadır^(29,32).

Servikal kanser, HPV'nin neden olduğu tek hastalık değildir⁽²⁹⁾. HPV'nin neden olduğu diğer kanserler arasında anal, vajinal, vulvar, penil ve orofarengeal (ağız, boğaz, dil ve bademcikler) kanserler yer almaktadır^(28,29). Ayrıca, anogenital siğillerin %96-100'üne iki HPV genotipi (HPV 6/11) neden olmaktadır^(29,32). Anogenital siğiller ölümcül değildirler; ancak, bir kişinin yaşam kalitesini olumsuz etkileyebilir ve sağlık sistemlerine mali yük getirebilirler. Kanserojen HPV genotipleri, insanların çoğunda belirgin bulgular olmadan yıllarca latent kalabilir ve sonunda kanser gelişimine neden olabilirler⁽²⁹⁾.

Serviks kanseri, özellikle düşük gelirli ülkelerde olmak üzere, HPV ile ilişkili kanserler arasında dünya çapında en yüksek prevalansa sahiptir⁽²⁵⁾. Dünya genelinde her yıl tahmini 630000 yeni kanser vakası teşhis edilmektedir ve kanser vakalarının %4.5-5.2'si doğrudan HPV ile bağlantılıdır. Coğrafi konum, cinsiyet, yaş, bağışıklık sisteminin zayıf olması ve cinsel sağlığı etkileyen davranışlar (cinsel partner sayısı, cinsel uygulamalar veya tütün kullanımı gibi) HPV enfeksiyonunun prevalansını ve kalıcılığını etkilemektedir. Örneğin, kanserlerin erkeklerde %0.8'i, kadınlarda ise %8.6'sı HPV enfeksiyonlarıyla ilişkilidir⁽²⁹⁾.

İlk HPV aşısı 2006 yılında lisans almıştır. HPV aşısı, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2009 yılından beri tavsiye edilmektedir⁽⁸⁾. HPV aşısının amacı, kanserojen HPV genotiplerinin bulaşını engellemek ve bu sayede agresif rahim ağzı kanserlerini engellemektir⁽²³⁾. HPV aşıları, ergenlik öncesi kız ve erkek çocuklarda HPV enfeksiyonunu ve HPV enfeksiyonu ile ilişkili hastalıkları önlemede oldukça etkili bulunmuştur. Ancak, halihazırda enfeksiyonu olan kadınlarda virüsün kalıcılığını ortadan kaldırmamakta veya viral yükü azaltmamaktadır. Ayrıca, 26 yaşından sonra HPV aşılmasının etkinliği önemli ölçüde azalmaktadır⁽¹⁸⁾.

DSÖ'nün Aralık 2022 tarihli raporunda ülkelerin ulusal aşılama programları gözden geçirilmiş, 125'inde kız çocuklar için HPV aşısının programda bulunduğu, bunlardan 47'sinde erkek çocukların da dahil edildiği belirtilmiştir⁽³⁴⁾. DSÖ Serviks Kanseri Eliminasyon Stratejisi ile hedef olarak HPV aşılama oranlarının 2030 yılına kadar tüm genç kızlarda %90'a çıkarılması, yaşam boyu servikal tarama oranlarının iki katına çıkarılarak %70'e yükseltilmesi ve pre-invaziv lezyonların ve invaziv kanserin %90 oranında tedavi edilmesini belirlemiştir⁽⁸⁾. Bu hedeflere ulaşılması halinde rahim ağzı kanserinin bir halk sağlığı sorunu olmaktan çıkabileceği öngörülmektedir. Ancak, DSÖ 20 yıl içinde dünya genelinde insanların sadece %15'inin HPV aşısı yaptırmış olacağını öngörmektedir⁽⁶⁾.

Sağlık okullarında okuyan öğrenciler, sağlık profesyoneli olmaya aday oldukları için gelecekte HPV ile enfekte kişilere danışmanlık yapmaları olası bir topluluk oluşturmaktadırlar⁽²²⁾. Ayrıca genç bir popülasyon olduklarından dolayı, kişisel olarak da HPV enfeksiyonu için risk altındadırlar⁽⁷⁾. Toplumun önemli bir bölümünü oluşturan sağlık okulu öğrencileri HPV enfeksiyonu ve bağışıklama konusunda yeterince bilgilendirilmelidirler^(7,22). Bu çalışmada sağlık hizmetleri meslek yüksekokulu öğrencilerine verilen HPV eğitimi ile HPV enfeksiyonu, testi, aşısı ve aşı programlarına yönelik farkındalığın belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın örnekleme

HPV eğitiminin sağlık teknikeri adaylarının HPV farkındalığını nasıl etkilediğini bulmak için bu çalışmada tek grup ön test-son test deseni yaklaşımı kullanılmıştır. Çalışmanın evrenini Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tavşanlı Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'nun Fizyoterapi Teknikerliği (FT), İş ve Uğraşı Terapisi (Ergoterapi Teknikerliği, İUT), Ağız ve Diş Sağlığı Teknikerliği (ADT) ve Dezenfeksiyon, Sterilizasyon ve Antisepsi Teknikerliği (DSAT) programlarına kayıtlı birinci ve son sınıf öğrencileri oluşturmuştur. Çalışmada örneklem seçimi yapılmadan tüm nüfusa ulaşılması hedeflenmiştir. Eğitime katılmayı kabul etmeyen 106 öğrenci analiz dışı bırakılmıştır. Çalışma tamamlandığında, çalışmaya katılmayı tercih eden toplam 174 öğrenci (%62.14) çalışmaya dahil edilmiştir.

Verilerin toplanması

Veriler, 26 Mayıs 2024 tarihinde ankete katılmayı kabul eden öğrencilerden toplanmıştır. Eğitim öncesinde veri toplama formları dağıtılmış ve çalışma hakkında bilgi verilmiştir. Tek sayfalık veri toplama aracının ön sayfasına ön test, arka sayfasına ise son test basılmıştır. Halk Sağlığı Uzmanı'nın sunumu eğitimin temelini oluşturmuştur. Eğitim bir saat sürmüştür. Kullanılan materyaller ile HPV, HPV epidemiyolojisi, tarama testleri ve aşılar hakkında eğitim verilmiştir.

Veri Toplama Araçları

Araştırma verileri Kişisel Bilgi Formu ve HPV Bilgi Ölçeği (HPV-BÖ) ile toplanmıştır

Kişisel Bilgi Formu

Araştırmacı tarafından literatürden yararlanılarak oluşturulan bu form, öğrencilerin bazı tanıtıcı özellikleri (yaş, sınıf, bölüm, aile kanser hastası birey olma durumu, cinsel yolla bulaşan hastalıklar (CYBE) hakkında bilgi) içermektedir.

HPV Bilgi Ölçeği

Orjinali Waller ve ark. ⁽³³⁾ tarafından geliştirilmiş, Türkçe güvenilirlik ve geçerliliği Demir tarafından yapılan ölçek kullanılmış, ölçeğin iki maddesi kapsam dışı bırakılmıştır ⁽¹¹⁾. Katılımcılara ölçeğin toplam 33 maddelik son hâli uygulanmıştır. Testin birinci bölümünde "Eğer "Bugüne kadar HPV'yi duydum" cevabını verdiyseniz, şimdi size HPV hakkında neler bildiğinizi sormak istiyoruz." cümlesi mevcuttur. Bu soruya hem evet hem de hayır yanıtı verenler birinci bölümü doldurmuştur. Ölçeğin skorlanmasında her doğru cevaba bir puan verilirken, yanlış yanıtlar ve "bilmiyorum" yanıtları sıfır olarak puanlanmaktadır. Ölçekten elde edilebilen puan 0 ile 33 arasındadır ve daha yüksek puanlar daha yüksek bilgiye işaret etmektedir.

Veri Analizi

Verileri analiz etmek için SPSS for Windows 25.0 paketi kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğunu değerlendirme Kolmogorov Smirnov testi kullanılmıştır. Karşılaştırma analizlerinde bağımlı gruplar t testi (Paired-Samples t) ve ki-kare testi kullanılırken, veri analizinde tanımlayıcı istatistikler (yüzde, aritmetik ortalama ve standart sapma) kullanılmıştır. Anlamlılık eşiği olarak $p < 0.05$ kullanılmıştır.

Araştırmanın Etik Yönü

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 17 Mayıs 2024 tarihinde etik kurul izni alındıktan (2024/07-15) sonra, araştırmaya katılmayı kabul eden bireylere eğitim öncesinde ve sonrasında anket formu uygulanmıştır. HPV-BÖ'nin Türkçe geçerlik ve güvenilirlik çalışmasını gerçekleştiren Feyza Demir Bozkurt'tan, ölçeğin araştırmada kullanılabilmesi için izin alınmış ve kendisinden en güncel hali alınmıştır ⁽¹¹⁾.

Araştırmanın Sınırlılıkları

Sonuçların temsil kabiliyeti ve genellenebilirliği, sınırlı örneklem büyüklüğü ve sadece bir üniversitenin dahil edilmesi nedeniyle kısıtlı olmuştur.

BULGULAR

Çalışmaya katılan öğrencilerin % 66.7'si kadın, %33.3'ü erkek olup yaş ortalaması 20.14±0.17'dir. Çalışmaya dahil edilenlerin demografik bilgileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Öğrencilerin tanıtıcı bilgileri.

Özellik	Ortalama (\bar{x})	Standart Sapma (SS)	Değer aralığı
Yaş	20.14	0.17	18-38
	Sayı (n)		Yüzde (%)
Cinsiyet			
Kadın	116		66.7
Erkek	58		33.3
Sınıf			
1.Sınıf	102		58.6
2.Sınıf	72		41.4
Bölüm			
DSA*	50		28.7
ADS**	22		12.7
İUT***	34		19.5
FTR****	68		39.1
Ailede kanser olma durumu			
Var	32		18.4
Yok	142		81.6
CYBE hakkında bilgi*****			
Var	115		66.1
Yok	59		33.9

*DSA: Dezenfeksiyon, Sterilizasyon ve Antisepti, **ADS: Ağız ve Diş Sağlığı, ***İUT: İş ve Uğraş Terapisi, ****FTR: Fizyoterapi, *****CYBE: Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar

Çalışmaya katılan öğrencilerin HPV ve HPV aşısını duyma oranları sırasıyla %75.3 ve %49.4 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Elde edilen p değeri ki-kare analizi ile elde edilmiştir.

Tablo 2. Öğrencilerin HPV ve HPV aşısını duyma durumunun cinsiyete göre dağılımı (eğitim öncesi).

Bugüne kadar, HPV'yi duymuş muydunuz?	Kadın		Erkek		χ^2	df	p*
	n	%	n	%			
Evet	93	53.4	38	21.8	6.253	2	0.044
Hayır	19	10.9	19	10.9			
Bilmiyorum	4	2.2	1	0.8			
Bugüne kadar, HPV aşısını duymuş muydunuz?	Kadın		Erkek		χ^2	df	p*
	n	%	n	%			
Evet	60	34.4	26	14.9	0.747	2	0.688
Hayır	45	25.8	26	14.9			
Bilmiyorum	11	6.3	6	3.7			
Toplam	116	66.5	58	33.5			

χ^2 : Ki-kare testi, df: serbestlik derecesi (degrees of freedom)

Çalışmaya katılan öğrencilerin HPV'yi daha önce duyma durumlarına göre HPV-BÖ puanları karşılaştırıldığında; "evet" cevabını veren öğrencilerin puan ortalamasının daha yüksek olduğu ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Öğrencilerin HPV'yi duyma durumlarının HPV-BÖ düzeyi puanına etkisi (eğitim öncesi).

Bugüne kadar, HPV'yi duymuş muydunuz?	Ortalama ± Standart Sapma	İstatistik Değeri
Evet	10.22±5.23	F=29.569 p=0.000*
Hayır	2.92±5.04	
Bilmiyorum	4.40±5.77	

*ANOVA testi

Öğrencilerin tanıtıcı özelliklerine göre HPV-BÖ ölçeği puanlarındaki değişim Tablo 4'te özetlenmiş, tüm alt gruplarda son test puanları ön test puanlarından daha yüksek çıkmıştır. Kadın ve erkek öğrencilerin HPV-BÖ ön test puanları birbirine yakın hesaplanmıştır, eğitim sonrasında kadın öğrencilerin HPV-BÖ son test puanları, erkek öğrencilere göre küçük bir farkla yüksek bulunmuştur. 1. ve 2. sınıf öğrencilerinin HPV-BÖ ön test puanları benzer çıkmıştır, fakat eğitimden sonra 1. Sınıf öğrencilerinin HPV-BÖ son test puanları 2. sınıf öğrencilerine göre biraz daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. İUT bölümü HPV-BÖ ön test puanları en düşük hesaplanan grup olmuştur. Fakat eğitim sonrasında son test puanındaki artış ile diğer gruplara yakınlaşmıştır. Ailesinde kanser hastalığı bulunan öğrencilerin HPV-BÖ ön test puanları olmayanlara göre yaklaşık 1 puan daha yüksek bulunmuştur. Eğitim sonrasında son test puanındaki artış ile diğer gruba yakınlaşmıştır. CYBE bilgisi olmadığını bildiren öğrencilerin HPV-BÖ ön test puanları, bilgisi olduğunu bildirenlere göre daha düşük bulunmuştur. Eğitim sonrasında son test puanındaki artış ile iki grup arasındaki fark azalmıştır.

Tablo 4. Öğrencilerin ön test son test HPV-BÖ puanlarının tanıtıcı özelliklerine göre dağılımı.

Tanıtıcı Özellikler	Eğitim öncesi test	Eğitim sonrası test	İstatistik Değeri	
	Ortalama ± Standart Sapma	Ortalama ± Standart Sapma	t*	p
Cinsiyet				
Kadın	8.80±6.16	19.44±5.78	19.264	0.000
Erkek	7.77±5.96	14.75±6.66	9.204	0.000
Sınıf				
1.sınıf	8.50±5.35	19.03±5.20	16.675	0.000
2.sınıf	8.40±7.06	16.25±7.66	12.316	0.000
Bölüm				
DSA	10.46±6.93	20.02±4.65	12.521	0.000
ADS	10.77±5.11	18.68±5.48	6.390	0.000
İUT	3.76±4.74	12.41±7.41	8.059	0.000
FTR	8.58±5.06	18.79±6.13	12.672	0.000
Ailede kanser hastalığı				
Var	9.53±6.47	19.46±7.11	8.103	0.000
Yok	8.21±6.01	17.52±6.28	18.640	0.000
CYBE bilgisi				
Var	10.59±5.66	19.38±5.65	15.738	0.000
Yok	4.30±4.61	14.96±6.98	13.092	0.000

* Eşleştirilmiş Örnekler t testi

Öğrencilerin HPV eğitiminin farkındalık üzerindeki etkisini belirlemek için ön test ve son test HPV-BÖ puan ortalamaları karşılaştırıldığında; öğrencilerin ön test puan ortalaması 8.45±6.10 iken, son testte 17.88±6.46'ye yükselmiş ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (t=20.289, p=0.000) (Tablo 5).

Tablo 5. Öğrencilerin ön test son test HPV-BÖ puan dağılımı.

HPV-BÖ	Ön Test	Son Test	İstatistik Değer	
	Ortalama ± Standart Sapma	Ortalama ± Standart Sapma	t*	p
HPV Genel Bilgi Alt Boyutu	6.16 ±3.94	10.12±3.50	13.710	0.000
HPV Testi Alt Boyutu	0.56±0.95	2.25±1.45	15.297	0.000
HPV Aşılı Alt Boyutu	1.07±1.40	2.70±1.51	13.411	0.000
HPV Aşı Programları Alt Boyutu	0.66±1.05	2.74±1.40	17.764	0.000
HPV Toplam	8.45±6.10	17.88±6.46	20.289	0.000

*t testi

TARTIŞMA

Sağlık hizmetleri meslek yüksekokulunda öğrenim görmekte olan üniversite öğrencilerine verilen HPV eğitiminin HPV farkındalığı üzerine etkisinin belirlenmeye çalışıldığı bu araştırmada öğrencilerin katılımı %62.14 oranında olmuştur. Araştırmacının ön test sonuçlarına göre; genel HPV bilgisi, tarama, aşı ve aşı programları hakkında bilgi açıkları saptanmıştır. Öğrencilerin HPV-BÖ alt ölçek ve toplam ölçek skorlarında ortalama değerlere sahip oldukları ve her üç alt başlıkta da bilgi eksikleri olduğu tespit edilmiştir. Eğitim sonrası yapılan son testte HPV-BÖ alt ölçek ve toplam ölçek skorlarında artış olduğu gözlenmiştir. Öğrencilerin HPV farkındalık seviyesinin eğitim öncesine göre yükseldiği belirlenmiştir.

Rahim ağzı kanseri, Türkiye'de 15 yaş ve üzeri 30 milyon kadın için bir risk faktörüdür. Mevcut tahminlere göre, serviks kanseri, 2356 kadına tanı konduktan sonra yılda 1280 kadının hayatına mal olmaktadır. Türkiye'de rahim ağzı kanseri 15-44 yaş arası kadınlarda dördüncü sırada yer almaktadır ve kadınlarda tüm kanserler arasında en sık görülen 13. kanser türüdür. Genel popülasyondaki kadınların %4'ünün hayatlarının bir aşamasında HPV-16/18 ile enfekte olduğu düşünülmektedir ve bu genotipler invaziv serviks kanseri vakalarının %67.6'sı ile bağlantılıdır. Normal sitolojiye sahip kadınlarda tahmini HPV prevalansı %12'dir^(12,26).

Bu bulgular, Türkiye'nin HPV ile mücadele konusundaki kararlı çabalarını sürdürmesi gerektiğini göstermektedir. Bu durumda, HPV, HPV testi ve HPV aşılama konusunda güçlü bir kamu bilinci oluşturulmalıdır. Çünkü, sağlık hizmetlerine katılımı etkileyen en önemli faktörlerden biri hastalık hakkında bilgi ve eğitimidir^(12,13). Sağlık okullarında okuyan öğrenciler, sağlık profesyoneli adayları olduklarından HPV ile enfekte kişilere danışmanlık yapabileceklerdir. Ayrıca genç nüfus oldukları için HPV enfeksiyonu ve ilgili sorunlar açısından risk altındadırlar^(7,22). Bu nedenle, yüksek toplumsal farkındalık sağlamak için farkındalığı yüksek sağlık çalışanları yetiştirmek önemlidir. Bu nedenle, sağlık çalışanlarının ve sağlık eğitimi alan öğrencilerin farkındalık düzeylerinin düzenli olarak tespit edilmesi, izlenmesi ve gözden geçirilmesi önem taşımaktadır.

Çalışmanın sonuçlarına göre, öğrencilerin %75.3'ü HPV'yi daha önce duyduklarını ifade etmiştir. Hedef kitlesi sağlık ile ilgili bölüm okuyan öğrencilerin olduğu benzer çalışmalarda da öğrencilerin HPV'yi duyma oranının yüksek olduğu görülmüştür^(3,7,24,27). Bunun sebebi sağlık alanında eğitim görmeleri ve enfeksiyon hastalıkları ile ilgili eğitim almaları olabilir.

Bu çalışmada, kadın öğrencilerin erkeklere kıyasla HPV'yi duyma oranlarının yüksek olduğu görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu bulguya benzer şekilde HPV'yi duyma oranının kadınlarda yüksek olduğu benzer çalışmalar mevcuttur^(1,14,19,21,30). Literatüre göre, HPV hakkındaki bilgi düzeyi kadınlarda erkeklere göre daha yüksektir. Bu açıdan bulgularımız literatürle uyumludur.

Çalışmamızda kadın öğrencilerin HPV aşısını duyma oranı erkek öğrencilere göre yüksek olsa da aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Hu ve ark'nın⁽¹⁴⁾ yaptığı çalışmada da HPV aşı bilgisinin kadınlarda erkeklerden yüksek olduğu saptanmıştır. İliyasu ve ark'nın⁽¹⁶⁾ sağlık öğrencileri arasında HPV aşısı ile ilgili çalışmasında cinsiyet ile HPV aşı bilgisi arasında kadınların lehine anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

Çalışmamızda kadın öğrencilerin eğitim sonrasında HPV-BÖ son test puanları, erkek öğrencilere göre küçük bir farkla yüksek bulunmuştur. Bu durum kadın öğrencilerin eğitimi daha verimli değerlendirdiğini düşündürmektedir. İliyasu ve ark'nın⁽¹⁶⁾ HPV bilgi düzeyini incelediği araştırmasında kadınların HPV bilgisinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada, beklenebileceği gibi, HPV'yi daha önce duyan öğrencilerin ön testte HPV-BÖ puanlarının anlamlı olarak daha yüksek puan olduğu tespit edilmiştir. Turhan Çakır ve ark'nın⁽³¹⁾ çalışmasında, HPV enfeksiyonu ile ilgili bilgilere daha sık maruz kalan tıp fakültesi öğrencileri, diğer fakülte öğrencilerine göre HPV-BÖ toplam puan açısından daha iyi performans göstermiştir. Karki ve ark'nın⁽¹⁷⁾ yaptıkları çalışmaya göre, HPV'den haberdar olan üniversite öğrencileri virüs hakkında orta düzeyde bir performans sergilemiştir. Ağadayı ve ark'nın⁽²⁾ çalışmasında, çalışma gruplarının önemli bir bölümü HPV'den ve HPV aşılarını duyduklarını belirtmiş ve bu katılımcıların daha yüksek puan alma eğiliminde oldukları gözlenmiştir. Bu sonuçlar araştırmamızda gördüğümüz örüntüyü desteklemekte ve bilgi düzeyleri ile HPV farkındalığı arasında bir ilişki olduğunu ima etmektedir.

Bu çalışmada İUT öğrencilerinin HPV-BÖ ön test puanlarının diğer bölümlerde öğrencilerin puanlarına göre düşük çıkmıştır, eğitim sonrasında son test puanındaki artış ile diğer gruplara yakınlaştığı görülmüştür. Başlı ve ark'nın⁽⁷⁾ yaptıkları araştırmada, ebelik ve hemşirelik bölümlerindeki öğrencilerinin HPV konusunda beslenme ve diyetetik bölümündeki öğrencilerden daha bilgili olduğu bulunmuştur. İbrahim ve ark'nın⁽¹⁵⁾ çalışmasında, Irak'taki hemşirelik ve tıp öğrencilerinin yarısından fazlasının HPV ve aşıları hakkında bilgi sahibi oldukları saptanmıştır. DSA, ADS ve FTR öğrencilerindeki daha yüksek bilgi düzeylerinin eğitim müfredatlarıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Üniversitemizde, İUT programının müfredatında mikrobiyoloji veya enfeksiyon hastalıkları dersi bulunmamaktadır.

Çalışmada ailesinde kanser hastalığı olan öğrencilerin HPV-BÖ ön test puanları daha yüksek bulunmuştur. Genç Koyucu' nun⁽¹²⁾ ebelik öğrencileriyle yaptığı çalışmasında da ailede kanser öyküsü bulunan öğrencilerin HPV-BÖ toplam puanları daha yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlar, öğrencilerin HPV bilgisine ilişkin farkındalıklarında sosyal çevrenin önemini ve yakın çevrede yaşanan bazı hastalıkların bu farkındalık üzerindeki artan etkisini ortaya koymaktadır.

CYBE hakkında bilgi sahibi olduğunu belirten öğrencilerin HPV-BÖ ön test puanları yüksek hesaplanmıştır. Yapılan benzer çalışmaların sonucu bu bulguyu destekler niteliktedir^(5,10,20,31).

Öğrencilere verilen eğitimden sonra uygulanan testten elde edilen HPV-BÖ toplam puanı ve alt boyut puanlarının, eğitim öncesine göre yüksek olduğu görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. HPV eğitiminin öğrencilerin HPV farkındalıklarını artırdığı görülmüştür. Yapılan farklı ön test-son test çalışmalarında da, katılımcıların eğitim sonrasında CYBH ve HPV hakkında bilgi düzeylerinin arttığı görülmüş ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur^(4,9).

Çalışmamızın sınırlılıkları; yalnızca bir üniversitede yürütülmesi ve çıktılarının tüm ülkeye genellenememesidir. Ülke verilerini elde edilebilmesi için çok merkezli çalışmaların planlanması uygun olacaktır.

HPV ile ilgili eğitim alan sağlık hizmetleri meslek yüksekokulu öğrencilerinin eğitim öncesi ve sonrası HPV farkındalığı üzerine etkisini inceleyen bu çalışmada kadın öğrencilerin HPV bilgi düzeyinin erkek öğrencilere göre daha yüksek olduğu fakat verilen eğitim ile birlikte hem kadın hem de erkek öğrencilerin HPV bilgi düzeyinin yükseldiği belirlenmiştir. Öğrenciler başlangıçta HPV hakkında yeterince bilgi sahibi olmamasının sebebi, toplumda cinsel yolla bulaşan hastalıkların tabu olarak görülmesi ve üzerinde konuşulmasının ülkemizde hoş karşılanmaması olabilir. Sağlık alanında eğitim gören üniversite öğrencileri gelecekte toplumsal farkındalığın artırılmasına aktif olarak katkıda bulunacaklardır. Bu nedenle, müfredata öğrencilerin HPV ve HPV aşısı hakkında iyi bilgilendirilmelerini garanti altına alacak düzenlemelerin faydalı olacağına inanılmaktadır. Öğrencilerin katılabileceği sosyal merkezlerde eğitim oturumları düzenlenmesi ve onlara yeterli bilgi verilmesi tavsiye edilmektedir.

Etik Kurul Onayı: Çalışma planı, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylanmıştır (Tarih: 17.05.2024, No: 2024/07-15).

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: The study plan was approved by the Kütahya Health Sciences University Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee (Date: 17.05.2024, No: 2024/07-15).

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

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

KAYNAKLAR

1. Adjei Boakye E, Tobo BB, Rojek RP, Mohammed KA, Geneus CJ, Osazuwa-Peters N. Approaching a decade since HPV vaccine licensure: Racial and gender disparities in knowledge and awareness of HPV and HPV vaccine. *Hum Vaccin Immunother.* 2017;13(11):2713-22.
2. Ağadayı E, Karademir D, Karahan S. Knowledge, Attitudes and Behaviors of Women who have or have not had human papillomavirus vaccine in Turkey about the Virus and the vaccine. *J Community Health.* 2022;47(4):650-7.
3. Alsanafi M, Salim NA, Sallam M. Willingness to get HPV vaccination among female university students in Kuwait and its relation to vaccine conspiracy beliefs. *Hum Vaccin Immunother.* 2023;19(1):1-10.
4. Aşçı Ö, Gökdemir F, Çiçekoğlu E. Hemşirelik öğrencilerine akran eğitimciler ile verilen üreme sağlığı eğitiminin etkinliği. *HSP.* 2016;3(3).
5. Barnard M, George P, Perryman ML, Wolff LA. Human papillomavirus (HPV) vaccine knowledge, attitudes, and uptake in college students: Implications from the precaution adoption process model. *PLoS One.* 2017;12(8):e0182266.
6. Basu P, Malvi SG, Joshi S, et al. Vaccine efficacy against persistent human papillomavirus (HPV) 16/18 infection at 10 years after one, two, and three doses of quadrivalent HPV vaccine in girls in India: A multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol.* 2021;22(11):1518-29.
7. Başlı M, Aksu H, Toptaş B. bir üniversitede öğrenim gören sağlık yüksekokulu öğrencilerinin human papilloma virüs ve HPV aşısı ile ilgili bilgi ve görüşleri. *J Ankara Health Sci.* 2019;8(1):1-17.
8. Bruni L, Saura-Lazaro A, Montoliu A, et al. HPV vaccination introduction worldwide and WHO and UNICEF estimates of national HPV immunization coverage 2010-2019. *Prev Med.* 2021;144:106399.
9. Dağlı E, Aktaş Reyhan F, Şişman H, Alptekin D. Evaluation of the effectiveness of online training for syrian refugee women on human papilloma virus awareness: A quasi-experimental study. *Turkiye Klinikleri J Health Sci.* 2024;9(2):294-301.
10. Daylan Koçkaya P, Çakır EE, Terzi SC, ve ark. Üniversite öğrencilerinin human papilloma virüs ile ilgili bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi. *Acta Med. Nicomedia.* 2024;7(1):30-7.
11. Demir Bozkurt F, Ozdemir S. Validity and reliability of a Turkish version of the human papillomavirus knowledge scale: A methodological study. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2023;24(3):177-86.
12. Genç Koyucu R. Ebelik öğrencilerinin human papilloma virüs ile ilgili bilgi durumlarının analizi: Tanımlayıcı anket çalışması. *Androl Bul.* 2022;24(2):118-26.
13. Hansen BT, Hukkelberg SS, Haldorsen T, Eriksen T, Skare GB, Nygard M. Factors associated with non-attendance, opportunistic attendance and reminded attendance to cervical screening in an organized screening program: a cross-sectional study of 12,058 Norwegian women. *BMC Public Health.* 2011;26(11):264.
14. Hu Q, Rui Y, Jiang J, et al. Awareness regarding human papillomavirus and willingness for vaccination among college students with or without medical background in Guizhou Province. *Hum Vaccin Immunother.* 2024;20(1): 2295992.
15. Ibrahim WA, Daniel S, Hussein NR, Assafi MS, Othman R. Knowledge of human papillomavirus (HPV) and the HPV vaccine among medical and nursing students of duhok, Iraq. *Women Health Bull.* 2019;6(1):1-6.
16. Iliyasu Z, Galadanci HS, Muhammad A, Iliyasu BZ, Umar AA, Aliyu MH. Correlates of human papillomavirus vaccine knowledge and acceptability among medical and allied health students in Northern Nigeria. *J Obstet Gynaecol.* 2022;42(3):452-60.
17. Karki I, Dobbs PD, Larson D, Maness SB. Human papillomavirus (HPV) knowledge, beliefs, and vaccine uptake among United States and international college students. *J Am Coll Health.* 2022;70(8):2483-90.
18. Kechagias KS, Kalliala I, Bowden SJ et al. Role of human papillomavirus (HPV) vaccination on HPV infection and recurrence of HPV related disease after local surgical treatment: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2022;378: e070135.
19. Khalil J, Boutros S, Hassoun A, Hallit S, Barakat H. Human papillomavirus vaccine knowledge and conspiracy beliefs among secondary school students in Lebanon. *BMC Pediatr.* 2023;23(1):363.

20. Kızılca Çakalöz DÖ, Gizem Ö, Çoban A, Karaçam Z. Ebelik öğrencilerinin servikal kanser ve HPV aşısı hakkında bilgi ve düşüncelerinin belirlenmesi. *J Adnan Menderes Univ Health Sci.* 2018;2(2):55-64.
21. Kops NL, Hohenberger GF, Bessel M et al. Knowledge about HPV and vaccination among young adult men and women: Results of a national survey. *Papillomavirus Res.* 2019;7:123-8.
22. Kunt İşgüder Ç, Oktay G, Yılmaz Doğru H, et al. Sağlık Yüksek Okulu Öğrencilerinin HPV Aşısı Bilgi Düzeyinin Değerlendirilmesi. *J Contemp Med.* 2017;7(1):1-7.
23. Lei J, Ploner A, Elfström KM et al. HPV vaccination and the risk of invasive cervical cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(14):1340-8.
24. Özdemir K, Şahin S, Ünsal A. Üniversitede öğrenim gören kız öğrencilerin HPV bilgi düzeyinin incelenmesi (Sakarya, Türkiye). *Androl Bul.* 2021;23(2):97-104.
25. Roman BR, Aragones A. Epidemiology and incidence of HPV-related cancers of the head and neck. *J Surg Oncol.* 2021;124(6):920-2.
26. Sabates R, Feinstein L. The role of education in the uptake of preventative health care: The case of cervical screening in Britain. *Soc Sci Med.* 2006;62(12):2998-3010.
27. Sarı C, Küçük U, Adıgüzel L, Demirbağ BC. Üniversite öğrencilerinin HPV, HPV aşısına ilişkin görüş ve düşünceleri ile aşılama sıklığının belirlenmesi. *J Adnan Menderes Univ Health Sci.* 2023;7(3):461-71.
28. Shamseddine AA, Burman B, Lee NY, Zamarin D, Riaz N. Tumor immunity and immunotherapy for HPV-related cancers. *Cancer Discovery.* 2021;11(8):1896-912.
29. Shapiro GK. HPV vaccination: An underused strategy for the prevention of cancer. *Curr Oncol.* 2022;29(5):3780-92.
30. Thompson EL, Wheldon CW, Rosen BL, Maness SB, Kasting ML, Massey PM. Awareness and knowledge of HPV and HPV vaccination among adults ages 27-45 years. *Vaccine.* 2020;38(15):3143-8.
31. Turhan Çakır A, Porsuk İ, Çalbıyık F ve ark. Üniversite öğrencilerinin HPV, HPV tarama testi ve HPV aşısına ilişkin bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi: Kesitsel bir çalışma. *Med J West Black Sea.* 2021;5(3):472-80.
32. Turki Jalil A, Karevskiy A. The cervical cancer (CC) epidemiology and human papillomavirus (HPV) in the middle east. *Int J Environ Eng Educ.* 2020;2(2):7-12.
33. Waller J, Ostini R, Marlow LA, McCaffery K, Zimet G. Validation of a measure of knowledge about human papillomavirus (HPV) using item response theory and classical test theory. *Prev Med.* 2013;56(1):35-40.
34. WHO. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper (2022 update). *Wkly Epidemiol Rec.* 2022;97(50):645-72.

KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SUŞLARININ YILLARA GÖRE ANTİBİYOTİK DİRENÇ PATERNİNİN İNCELENMESİ

Duygu BEDER¹, Fatma ESENKAYA TAŞBENT², Metin DOĞAN²

D. Beder: 0000-0001-5647-8458, F. Esenkaya Taşbent: 0000-0003-4190-5095 M. Doğan: 0000-0003-3471-4768

¹Meram Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, KONYA

²Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

ÖZ

Pseudomonas aeruginosa, yüksek mortaliteyle seyreden enfeksiyonlara yol açan fırsatçı bir patojendir. Bu çalışmada üniversite hastanesinde yatan hastaların kan kültürlerinde tespit edilen *P. aeruginosa* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere karşı direnç profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada Ocak 2018-Aralık 2023 tarihleri arasında kan örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik direnç profilleri retrospektif olarak incelenmiştir. Klinik izolatlar konvansiyonel yöntemler, VITEK 2 Compact (bioMérieux, Fransa) veya Phoenix (BD Diagnostic Systems, ABD) otomatize sistemleri ile tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları otomatize sistemleri ile test edilmiş ve European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerileri dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

En yüksek direnç imipenem (n=162, %39.4), meropenem (n=134, %32.6) ve piperasilin/tazobaktama (n=130, %31.6) karşı tespit edilmiştir. En etkili antibiyotiklerin ise amikasin (n=15, %3.6) ve tobramisin (n=17, %4.1) olduğu belirlenmiştir. Antibiyotiklerin direnç oranları yıllara göre incelendiğinde piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem ve levofloksasin direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken (p<0.05), siprofloksasin, amikasin, tobramisin ve gentamisin direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p>0.05).

Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre uygulanan tedavi protokolü ve akılcı antibiyotik kullanımı ile direnç oranlarının azalacağı düşünülmektedir. Bu nedenle düzenli sürveyans takibi yapılmalı ve tedavide uygun antibiyotik kombinasyonları seçilmelidir.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, antimikrobiyal direnç, karbapenem

ABSTRACT

An Investigation of the Antibiotic Resistance Pattern of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Blood Cultures Over the Years

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogen that leads to infections with high mortality rates. This study aimed to determine the resistance profile of *P. aeruginosa* isolates against various antibiotics detected in blood cultures of patients hospitalized in university hospital.

In this study, the antibiotic resistance profiles of *P. aeruginosa* isolates, obtained from blood samples between January 2018 and December 2023, were retrospectively examined. Clinical isolates were identified using conventional methods, VITEK 2 Compact (bioMérieux, France) and Phoenix (BD Diagnostic Systems, USA) automated systems. Antibiotic susceptibilities were tested with automated systems, and evaluated by taking into account the recommendations of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

The highest resistance was observed against imipenem (n=162, 39.4%), meropenem (n=134, 32.6%), and piperacillin/tazobactam (n=130, 31.6%). The most effective antibiotics were determined to be amikacin (n=15, 3.6%) and tobramycin (n=17, 4.1%). When examining the resistance rates of antibiotics over the years, statistically significant difference was found for the resistance rates of piperacillin/tazobactam, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem and levofloxacin (p<0.05). However, no statistically significant differences were observed for the resistance rates of ciprofloxacin, amikacin, tobramycin, and gentamicin (p>0.05).

İletişim adresi: Duygu Beder. Meram Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, KONYA

e-posta: duyguzel29@gmail.com

Received/Geliş: 08.07.2024 Accepted/Kabul: 20.08.2024 Published Online/Online Yayın: 30.08.2024

Atf/Cite as: Beder D, Esenkaya Taşbent F, Doğan M. Kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının yıllara göre antibiyotik direnç paterninin incelenmesi. ANKEM Derg. 2024;38(2):71-78.

It is thought that resistance rates will decrease with the treatment protocol applied according to antibiotic sensitivity test results and rational use of antibiotics. Therefore, regular surveillance monitoring should be conducted and appropriate antibiotic combinations should be selected for treatment.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa, antimicrobial resistance, carbapenem*

GİRİŞ

Pseudomonas spp. immünsupresif ve/veya hastanede yatan hastalarda enfeksiyonlara yol açan nonfermentatif Gram negatif bir basildir. Bakteriyemi, pnömoni, endokardit, üriner sistem, solunum sistemi, dış kulak yolu, santral sinir sistemi, deri ve yumuşak doku enfeksiyonu etkeni olarak bildirilmektedir⁽²¹⁾.

Pseudomonas aeruginosa'nın neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonunun kliniği diğer gram negatif bakterilere benzemektedir ancak mortalite ve morbidite oranları daha yüksektir. Ayrıca *P.aeruginosa*'nın kan kültüründe görülme sıklığı da giderek artmaktadır⁽¹²⁾. Yapılan son çalışmalarda bakteriyemi raporlanan hastalarda *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*'den sonra en sık tespit edilen üçüncü Gram negatif patojen olarak gösterilmektedir^(15,25). Yoğun bakım ve yanık ünitelerinde, mekanik ventilatör uygulanan, kanser kemoterapisi verilen ve/veya geniş spektrumlu antibiyotik kullanılan birimlerde bu etken daha fazla kolonize olmakta ve bu durum invaziv enfeksiyonlara neden olmaktadır⁽⁹⁾.

P.aeruginosa; antistafilokokal penisilinler, amoksisilin-klavulanat, ampisilin-sulbaktam, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler, sefotaksim, seftriakson gibi bazı üçüncü kuşak sefalosporinler, trimetoprim-sülfametoksazol ve nalidiksik asit dahil birçok kemoterapötik ajana karşı intrinsik dirençlidir⁽³¹⁾.

Son zamanlarda sıkça tespit edilen bu tür intrinsik direncinin dışında geliştirdiği yeni direnç mekanizmaları nedeniyle önemi artan bir patojen haline gelmiştir⁽¹⁵⁾. *P.aeruginosa* direnç oranları; tarih aralığına, farklı coğrafik bölgelere, hatta aynı coğrafik bölgenin farklı hastane ve kliniklerine göre değişiklik göstermektedir⁽²⁰⁾. Direnç oranlarının artması, mortalite oranlarında, hastanedeki yatış süresinde ve tedavi maliyetlerinde artışa yol açmaktadır⁽²¹⁾. Bu nedenle izole edilen suşlar düzenli olarak takip edilmeli, rutin tedavide yer alan antibiyotiklere karşı gelişen direnç oranları tespit edilmeli ve tedavi kriterleri bu sonuçlara göre revize edilmelidir.

Bu çalışmanın amacı Ocak 2018- Aralık 2023 tarihleri arasında kan örneklerinden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç profilini belirlemek ve uygun tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde antibiyotik kullanım politikalarına yol göstermektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için, Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul onayı alınmıştır (Tarih: 15.09.2023 ve Karar no:4545).

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2018 - Aralık 2023 tarihlerini içeren altı yıllık süreçte kan kültürlerinde her bir hasta için tespit edilen bir izolat değerlendirmeye alınarak 411 *P.aeruginosa* suşunun antibiyotik direnç oranları retrospektif olarak incelenmiştir. Kan örnekleri BACTEC 9120 otomatik kan kültürü sisteminde (Becton Dickinson, ABD) 5 gün süreyle izlenmiş, bu süre içerisinde pozitif sinyal veren kan kültürü örnekleri Eozin Metilen Mavisini (EMB) ve %5 koyun kanlı agar ekilmiş, 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Üreme tespit edilen örneklerde bakteri tanımlaması konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, oksidaz testi, fermentasyon ve pigment oluşturma özelliği) ve otomatize sistemler kullanılmıştır. Laboratuvarımızda 2018-2020 yılları arasında VITEK 2 Compact (bioMérieux, Fransa) ve 2018-2020 yılları arasında Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostics, ABD) otomatize sistemi kullanılmış, bu sistemler ile bakteri tanımlaması ve antibiyotik duyarlılık testleri gerçekleştirilmiştir. Antibiyotik duyarlılık sonuçları European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerilerine göre değerlendirilmiştir⁽³⁰⁾. Çalışma kapsamında değerlendirilen suşların piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem, siprofloksasin, levofloksasin, amikasin, gentamisin ve tobramisine karşı gelişen direnç oranları yıllara göre incelenmiştir. Kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC27853 kullanılmıştır.

Verilerin istatistiksel analizi SPSS (Statistical Package for Social Sciences) ver.23 istatistik paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma, minimum ve maksimum değerler ile, kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar Pearson Ki-Kare ve Fisher-Freeman-Halton Exact testi ile, oranlara ait çoklu karşılaştırmalar ise Bonferroni düzeltilmiş z testi ile incelenmiştir. Önem düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Hastaların 247 (%60)'si erkek, 164 (%40)'ü kadındır. Hastaların yaşları 0 ile 94 yaş aralığında olup, yaş ortalaması 55.15 (standart sapma: ± 25.38) olarak bulunmuştur. Çalışmada çocuk hastalara ait 60 (%14.5) örnek bulunmaktadır ve bu hastaların yaş ortalamaları 5.16 (standart sapma: ± 5.81) olarak tespit edilmiştir. Hastaların 248'inin (%60.3) yoğun bakım üniteleri, 150'sinin (%36.5) dahili servisler ve 13'ünün (%3.2) cerrahi servislerde yatmakta olduğu belirlenmiştir. Reanimasyon yoğun bakım ünitesinde 82 (%20), beyin ve sinir cerrahi yoğun bakım ünitesinde 63 (%15.3), acil serviste 60 (%14.5), göğüs hastalıkları yoğun bakım ünitesinde 55 (%13.4) hasta belirlenmiştir. Yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalar ise 2021 yılında (%73) en yüksek, 2023 yılında (%50.8) en düşük oranda tespit edilmiştir. İzole edilen *P.aeruginosa* suşlarının yıllara göre klinik dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. *P.aeruginosa* suşlarının yıllara göre klinik dağılımı [n (%)].

Klinik	2018 (n=62)	2019 (n=63)	2020 (n=74)	2021 (n=92)	2022 (n=55)	2023 (n=65)	Toplam (n=411)
Yoğun Bakım	34 (54.8)	38 (60.3)	44 (59.5)	67 (73)	32 (58.2)	33 (50.8)	248 (60.3)
Dahili Servisler	24 (38.8)	23 (36.5)	27 (36.5)	24 (26)	22 (40)	30 (46.2)	150 (36.5)
Cerrahi servisler	4(6.4)	2(3.2)	3(4)	1 (1)	1 (1.8)	2(3)	13(3.2)

En yüksek direnç oranları %39.4 ile imipenem, %32.6 ile meropenem ve %31.6 ile piperasilin\tazobaktama karşı görülmüştür. En etkili antibiyotiklerin sırasıyla %3.6 ve %4.1 direnç oranı ile amikasin ve tobramisin olduğu belirlenmiştir. Suşların yıllara göre antibiyotik direnç oranları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. *P.aeruginosa* suşlarında yıllara göre antibiyotik direnci [n (%)].

Antibiyotik	2018 (n=62)	2019 (n=63)	2020 (n=74)	2021 (n=92)	2022 (n=55)	2023 (n=65)	Toplam (n=411)	p
Piperasilin /tazobaktam	11 (17.7)	23 (36.5)	22 (29.7)	49 (53.2)	16 (29)	9 (13.8)	130 (31.6)	<0.001
Seftazidim	11 (17.7)	15 (23.8)	21 (28.3)	46 (50)	16 (29)	13 (20)	122 (29.6)	<0.001
Sefepim	11 (17.7)	14 (22.2)	18 (24.3)	44 (47.8)	15 (27.2)	10 (15.3)	112 (27.2)	<0.001
İmipenem	14 (22.5)	19 (30.1)	27 (36.4)	54 (58.6)	31 (56.3)	17 (26.1)	162 (39.4)	<0.001
Meropenem	12 (19.3)	15 (23.8)	20 (27)	52 (56.5)	25 (45.4)	10 (15.3)	134 (32.6)	<0.001
Siprofloksasin	13 (20.9)	10 (15.8)	16 (21.6)	16 (17.3)	17 (30.9)	10 (15.3)	82 (19.9)	0.288
Levofloksasin	14 (22.5)	14 (22.2)	19 (25.6)	35 (38)	24 (43.6)	10 (15.3)	116 (28.2)	0.002
Amikasin	4 (6.4)	2 (3.1)	2 (2.7)	1 (1.1)	2 (3.6)	4 (6.1)	15 (3.6)	0.446
Tobramisin	3 (4.8)	4 (6.3)	3 (4)	2 (2.2)	2 (3.6)	3 (4.6)	17 (4.1)	0.850
Gentamisin	8 (12.9)	6 (9.5)	5 (6.7)	6 (6.5)	3 (5.4)	1 (1.5)	29 (7)	0.205

Piperasilin/tazobaktam için; en yüksek direnç 2021 yılında görülmüş, 2023 yılında ise en düşük direnç oranı tespit edilmiştir. 2021 yılında görülen direnç oranının 2018, 2020, 2023 yıllarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu; 2023 yılında görülen direnç oranının 2019 ve 2021 yıllarına göre anlamlı şekilde düşük olduğu belirlenmiştir.

Seftazidim için; 2021 yılında görülen direnç oranının 2018, 2019 ve 2023 yıllarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sefepim için; 2021 yılında görülen direnç oranının 2018, 2019, 2020 ve 2023 yıllarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir. 2023 yılındaki direnç oranlarının ise 2022 ve 2021'den anlamlı oranda düşük olduğu görülmüştür.

İmipenem ve meropenem için; 2021 yılında görülen direnç oranlarının 2018, 2019 ve 2023 yıllarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu; 2022 yılında görülen direnç oranlarının da 2018 ve 2023 yıllarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir.

Levofloksasin için; 2023 yılında görülen direnç değerlerinin 2021 ve 2022 yıllarına göre anlamlı şekilde düşük olduğu belirlenmiştir.

Siprofloksasin, amikasin, tobramisin ve gentamisin direnç oranları yıllara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$).

P. aeruginosa suşlarında üç ya da daha fazla antibiyotik grubuna kombine direnç oranı 2018 yılında 7/62 (%11.2), 2019 yılında 14/63 (%22.2), 2020 yılında 17/74 (%22.9), 2021 yılında 45/92 (%48.9), 2022 yılında 18/55 (%32.7), 2023 yılında 9/65 (%13.8) olmak üzere altı yıllık süreçte 110/411 (%26.7) olarak tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

P. aeruginosa'nın dirençli suşlarında son yıllarda ciddi artışlar görülmüştür. Bu nedenle tedavi algoritmasının oluşturulması ve mortalite oranlarının azaltılması için enfeksiyon etkenlerinin antimikrobiyal direnç profilinin belirlenmesi önem arz etmektedir⁽²⁸⁾.

P. aeruginosa genellikle invaziv girişimlerin yapıldığı ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanıldığı yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyon etkeni olarak görülmektedir. Çalışmamızda da literatür verileri ile uyumlu olarak *P. aeruginosa* en sık yoğun bakım ünitelerinde (%60.3) tespit edilmiştir^(13,27).

P. aeruginosa'ya bağlı enfeksiyonların tedavisinde antipsödomonal penisilinler, seftazidim ve sefepim gibi bazı sefalosporinler ve karbapenemler tercih edilmektedir⁽¹⁸⁾. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yayınlanan, Türkiye'nin de dahil olduğu 29 ülke verisi içeren Orta Asya ve Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (CAESAR) 2023 raporuna göre, 2021 yılı için 22.479 *P. aeruginosa* suşu incelenmiş ve en yüksek direnç florokinolonlar (%18.7) ve piperasilin/tazobaktam (%18.7) için bildirilmiştir. Bunu %18.1 ile karbapenem ve %15.8 ile aminoglikozid direnci izlemektedir. İncelenen tüm izolatların %69'u tüm antimikrobiyallere duyarlı bulunmuştur. Sürveyans ağına dahil olan Avrupa birliği ülkelerinde 2017-2021 yılları arasında piperasilin/tazobaktam ve seftazidim direnç oranlarında anlamlı değişiklik yokken, diğer antimikrobiyallerde önemli ölçüde direnç azalması görüldüğü raporlanmıştır. CAESAR 2023 Türkiye verilerine göre, 2021 yılı için en yüksek direnç oranı %39 ile karbapenem grubu kemoterapötik ajanlarda tespit edilmekte iken karbapenemleri %33.1 ile florokinolonlar ve %32.5 ile piperasilin/tazobaktam izlemektedir. En düşük dirence sahip antimikrobiyal grubu aminoglikozidler (%17.8) olarak bildirilmiştir⁽³³⁾. Bu çalışmada ise kan kültürlerinde üreyen *P. aeruginosa* suşları incelenmiş ve CAESAR Türkiye verilerine benzer olarak, 2018-2023 yılları arasındaki toplam direnç oranlarında en yüksek karbapenem direnci (imipenem: %39.4, meropenem: %32.6) tespit edilmiş olup bunu %31.6 ile piperasilin/tazobaktam, %29.6 ile seftazidim ve %28.2 ile levofloksasin direnci izlemektedir. En düşük direnç oranlarına sahip antimikrobiyaller ise amikasin (%3.6) ve tobramisin (%4.1) olarak bulunmuştur. Çalışmamızda 2023 yılında diğer yıllara göre aminoglikozid grubu kemoterapötikler hariç diğer antimikrobiyallerin direnç oranlarında önemli bir düşüş görülmüştür.

Piperasilin/tazobaktam, geniş spektrumlu bir antipsödomonal penisilindir ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında gerek profilaksizde gerekse tedavide çok sık tercih edilmektedir^(6,26).

Uluslararası literatür verileri değerlendirildiğinde, yapılan bir çalışmada 1997-2016 tarihleri arasında *P.aeruginosa* için direnç oranları değerlendirilmiş ve piperasilin/tazobaktam direnç oranı %18 olarak raporlanmıştır⁽²⁴⁾. Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde ise piperasilin/tazobaktam direncinin %22.4-29 arasında değiştiği bildirilmiştir^(3,7,13). CAESAR 2023 Türkiye verilerine göre, 2021 yılı için piperasilin/tazobaktam direnci %32.5 olup 2017'den 2021 yılına kadar düşme eğilimindedir⁽³³⁾.

Bizim araştırmamızda 2023 yılı için piperasilin/tazobaktama %13.8 oranında direnç tespit edilmiştir. 2023 yılında görülen direnç oranının 2019 ve 2021 yıllarına göre anlamlı şekilde düşük olduğu belirlenmiştir. Buna göre Avrupa ülkelerinde piperasilin/tazobaktam direncinde son altı yıldır istatistiksel olarak anlamlı değişiklik yokken, Türkiye verilerinde ve bizim çalışmamızda azalma eğilimi tespit edilmiştir⁽³³⁾.

P.aeruginosa, seftazidim ve sefepim hariç, sefalosporin grubu antibiyotiklerin birçoğuna doğal dirençlidir. Bu iki ajan uzun süredir *P.aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilmektedir. Özellikle seftazidim ampirik tedavide çok sık tercih edilen antibiyotiklerdendir. Yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa* direnç oranları Amerika Birleşik Devletleri'nde seftazidim için %16.1, sefepim için %9.5, aynı çalışmada Avrupa ve Ortadoğu'da seftazidim için %24, sefepim için %13.1 olarak tespit edilmiştir⁽²³⁾. Ülkemizde yapılan çalışmalarda *P.aeruginosa* için seftazidim direncinin %29.4-70, sefepim direncinin ise %27.7-65 arasında değiştiği bildirilmiştir^(7,8,10). Bildirilen direnç oranlarındaki bu farklılığın uygulanan tedavi protokollerinin farklı olmasından kaynaklanabileceği kanaatindeyiz. CAESAR 2023 Türkiye verilerine göre, 2021 yılı için seftazidim direnci %28.1 olarak verilmiş ve son altı yıl içinde direnç oranında önemli bir değişiklik olmadığı raporlanmıştır⁽³³⁾. Bizim çalışmamızda 2023 yılı için seftazidime %20 ve sefepime %15.3 oranında direnç tespit edilmiştir. Sefepim direncinde de yıllar içinde düşme eğilimi görülmektedir.

Karbapenemlerin hastanede yatan hastalarda sık kullanılmaları direnç problemini de beraberinde getirmiştir⁽¹⁰⁾. *P.aeruginosa* enfeksiyonlarında karbapenem direncinin Güney Amerika'da % 42.8-62.8. arasında değiştiği raporlanmıştır^(16,19). Avrupa birliği ülkelerine ait sörveyans raporunda *P.aeruginosa* enfeksiyonlarında piperasilin/tazobaktam ve florokinolonlardan sonra üçüncü en yüksek direnç oranı karbapenemlere aittir. Aynı raporun Türkiye verilerinde ise en yüksek direnç bulunan antimikrobiyal grubu karbapenemler olarak bildirilmiş olup, karbapenem direncinin Türkiye'de %25-50 aralığında olduğu not edilmiştir⁽³³⁾. Ülkemizde yapılan çeşitli literatür çalışmaları incelendiğinde, *P.aeruginosa* için imipenem direncinin %42-80.5 meropenem direncinin ise %28.9-71.1 arasında değiştiği görülmektedir^(1,5,28,32). Bizim çalışmamızda 2023 yılı için kan kültürlerinde üreyen 65 *P. aeruginosa* suşunda imipeneme %26.1, meropeneme %15.3 oranında direnç tespit edilirken, 2018-2023 yılları arasındaki imipenem ve meropeneme toplam direnç sırasıyla %39.4 ve %32.6'dır. *Pseudomonas* suşlarında izlenen yüksek karbapenem direncinin, özellikle yatan hastalarda karbapenemlerin ampirik tedavide sık tercih edilen kemoterapötikler olması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda kan kültürlerinde üreyen *P.aeruginosa* suşlarında, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, meropenem ve imipenem için 2021 yılı direnç oranlarının yüksek olması dikkat çekmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastaların diğer yıllara kıyasla 2021 yılında yüksek oranda tespit edilmesinin bu durumun sebebi olabileceği düşüncesindeyiz. Ayrıca Covid-19 pandemi sebebiyle antimikrobiyal yönetimin güçleşmesi bu süreçte bu antibiyotiklerin daha sık kullanılmasına yol açmış olabilir. 2023 yılında ise yine piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, meropenem ve imipenem için diğer yıllara göre düşen direnç oranları ümit vericidir.

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde tek başına veya beta laktam antibiyotiklerle kombine kullanılan kinolonlar için uluslararası literatür incelendiğinde siprofloksasin direncinin Yemen'de %64.3, Lübnan'da ise %27 olduğu raporlanmıştır^(4,17). CAESAR 2023 verilerine göre ise *P. aeruginosa*'da %3.3- 48.0 arasında florokinolon direnci bildirilmiştir. Aynı sörveyans ağının Türkiye verilerine bakıldığında yıllar içinde florokinolon direncinde önemli bir değişiklik olmadığı, 2021 yılı için %33.1 olduğu raporlanmıştır⁽³³⁾. Ulusal çalışmalar değerlendirildiğinde siprofloksasin direncinin %24-35 arasında değiştiği görülmektedir^(3,7,34). Levofloksasin direncini ise Bakar ve ark. %34, Uğur ve ark. %49 olarak raporlamışlardır^(22,32). Bizim çalışmamızda altı yıllık toplam verilere göre siprofloksasine %19.9, levofloksasine %28.2 oranında direnç tespit edilmiş olup, 2023 yılı için hem siprofloksasin hem de levofloksasin direnci %15.3 olarak bulunmuştur. Hastanemizin *P. aeruginosa* enfeksiyonlarındaki siprofloksasin ve levofloksasin direnç oranları ülkemizde bildirilen yayınlara göre daha düşük görülmektedir. Bu sebeple *P. aeruginosa*'nın ampirik tedavisinde siprofloksasinin ve levofloksasinin tercih edilebileceklerini düşünmekteyiz.

Aminoglikozidler konsantrasyon bağımlı ve bakterisid etkili, nefrotoksik ve ototoksik yan etkilere sahip kemoterapötik ajanlardır⁽²⁹⁾. Uluslararası literatür verilerine göre 1997-2016 yıllarına ait bir antimikrobiyal surveyans çalışmasında amikasin direnç oranı %9.5, tobramisin direnç oranı %15.4 olarak bildirilmiştir⁽²⁴⁾. CAESAR 2023 surveyans verilerine göre ise Avrupa birliği ülkelerinde *P. aeruginosa*'da %0.0-41.7 arasında aminoglikozid direnci bildirilmiş ve direncin son yıllarda düşme eğiliminde olduğu raporlanmıştır⁽³³⁾. Ülkemiz literatür verileri incelendiğinde ise amikasin direnç oranının %7-29.5 arasında, gentamisin direnç oranının ise %12-25.6 arasında değiştiği raporlanmıştır^(11,13,20). Yapılan bir çalışmada ise tobramisin direnç oranı %16 olarak bildirilmiştir⁽²⁾. CAESAR 2023 surveyans raporunda 2021 yılı için ülkemiz aminoglikozid direnci %17.8 olarak görülmektedir⁽³³⁾. Bizim çalışmamızda 2023 yılı için %3.6 direnç oranı ile aminoglikozit grubu içinde en etkili kemoterapötik ajan amikasin olarak belirlenmiş olup, %4.1 oranında tobramisine, %7 oranında gentamisine direnç geliştiği tespit edilmiştir. *Pseudomonas* enfeksiyonlarında tedavi sırasında yeni direnç mekanizmaları görülebilmektedir. Bu durumu engellemek amacıyla başta beta laktam antibiyotikler ile aminoglikozitler olmak üzere kombine tedaviler kullanılmaktadır⁽¹³⁾. Amikasinin ve tobramisinin kendilerine en az direnç gelişmiş antibiyotikler olmaları sebebiyle ampirik kombine tedavi için iyi birer seçenek olabileceklerini düşünmekteyiz. CAESAR 2023 antimikrobiyal surveyans raporunun Türkiye verilerinde, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, karbapenemler, florokinolonlar ve aminoglikozidlerden üç ya da daha fazlasına kombine olarak dirençli olma oranı 2021 yılı için %28.1 olup, 2017'den itibaren yıllar içinde önemli oranda değişmediği bildirilmiştir⁽³³⁾. Bizim çalışmamızdaki üç ya da daha fazla antimikrobiyal ilaca kombine direnç oranı %26.7 olup, Dünya Sağlık Örgütü Türkiye verileriyle uyumludur.

Karbapenem direncinin artması, uzun yıllar önce yan etkileri nedeniyle kullanımı kısıtlanan kolistin, önemli bir tedavi seçeneği haline getirmiştir⁽²⁸⁾. Kolistin ile ilgili güncel veriler değerlendirildiğinde bir noktaya dikkat edilmelidir. Literatürde kolistin duyarlılığında geçerliliği olan tek testin sıvı mikro dilüsyon tekniği olduğu ifade edilmektedir. VITEK-2 ve Phoenix gibi otomatize cihazların kolistin dirençli belirlediği sonuçlara güvenilebileceği, duyarlı belirlediği sonuçlara ise güvenilemeyeceği raporlanmaktadır⁽³²⁾. Bu nedenle çalışmamızda VITEK-2 ve Phoenix otomatize sistemi kullanılarak ulaşılan kolistin duyarlılık sonuçlarına, yanıltıcı olabileceği düşüncesiyle yer verilmemiştir.

P. aeruginosa antibiyotik direncinin yıllar içerisinde değişimini değerlendiren araştırmalarda farklı sonuçlar raporlanmıştır. Kanada'da 2007-2016 yılları arasında *P.aeruginosa* direnç oranlarının incelendiği bir araştırmada siprofloksasin, sefepim, amikasin ve gentamisin direnç oranlarında azalış ve meropenem direnç oranlarında artış bildirilmiştir⁽¹⁴⁾.

Ulusal literatüre bakıldığında ise Giresun'da 2015-2018 tarihleri arasında yapılan bir çalışmada piperasilin/tazobaktam, amikasin direnç oranlarında artış ve imipenem, siprofloksasin seftazidim direnç oranlarında azalış tespit edilmiştir. Gentamisin, meropenem, levofloksasin ve sefepim direnç oranları ise yıllara göre değişmektedir⁽³²⁾. Denizli'de 2017-2021 yılları arasında yapılan çalışmada piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem, siprofloksasin, amikasin ve gentamisin direnç oranlarının yıllar içinde farklılık gösterdiği bildirilmiştir⁽²⁰⁾. Bizim çalışmamızda ise piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem ve levofloksasin direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken ($p < 0.05$), siprofloksasin, amikasin, tobramisin ve gentamisin direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$). Literatürde farklı sonuçların bildirilmesi çalışmanın yapıldığı tarih aralığının, tedavi uygulamalarının ve hastaların klinik özelliklerinin farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde etkin antimikrobiyal ajan olarak kullanılan kolistine karşı güvenilir duyarlılık sonuçlarının referans mikrodilüsyon yöntemleri uygulanmadığı için verilememesi ve elde edilen verilerin tek merkezli olması çalışmamızın kısıtlılığını oluşturmaktadır.

Sonuç olarak 2023 yılı direnç oranlarımız ile toplam direnç oranları ve önceki yıllara ait direnç oranlarını karşılaştırdığımızda; aminoglikozidler haricinde karbapenemler de dahil diğer antimikrobiyallere direnç oranlarında düşüş görülmektedir. Diğer yandan *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir alternatif olan amikasin ve tobramisin gibi aminoglikozidlerde direncin artması uyarıcı niteliktedir. Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde antimikrobiyal ajan kısıtlılığının önüne geçilmesi için, antimikrobiyal surveyans çalışmaları titizlikle yapılmalı ve antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre uygun tedavi algoritmaları oluşturulmalıdır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (15.09.2023/ Sayı: E.4545).

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Necmettin Erbakan University Non-interventional Clinical Researches Ethics Committee (15.09.2023/ Number: E.4545).

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

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

KAYNAKLAR

1. Akel NU, Tekintaş Y, Yılmaz FF, ve ark. Klinik *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının virülans özellikleri ve epidemiyolojik ilişkisi. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2019;76(4):395-404.
2. Aktaş E, Terzi HA, Külah C, ve ark. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi: Çeşitli antibiyotiklere azalan duyarlılık. *ANKEM Derg.* 2010;24(4):188-92.
3. Avcioğlu F, Karabörk Ş, Kurtoğlu MG, Behçet M. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnç oranları: üç yıllık değerlendirme. *ANKEM Derg.* 2019;33(2):43-8.
4. Badulla WFS, Alshakka M, Mohamed Ibrahim MI. Antimicrobial resistance profiles for different isolates in Aden, Yemen: A cross-sectional study in a resource-poor setting. *Biomed Res Int.* 2020;2020:1810290. doi: 10.1155/2020/1810290
5. Balasar M, Doğan M, Kandemir A, Feyzioğlu B, Haşimov Z, Baykan M. Infection agents and antibiotics resistance ratios at urine cultures. *Selçuk Tıp Derg.* 2013;30(2):54-7.
6. Buehrle DJ, Shields RK, Chen L, et al. Evaluation of the in vitro activity of ceftazidime-avibactam and ceftolozane-tazobactam against meropenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(5):3227-31.
7. Ceken N, Duran H, Bülent A. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının 4 yıllık direnç profili. *Pamukkale Tıp Derg.* 2021;14(2):306-11.
8. Celiloğlu C, Tolunay O, Çelik T, Sucu A, Yurtçu E, Çelik Ü. Çocuk yoğun bakım ünitesindeki hastane enfeksiyonlarının değerlendirilmesi. *J Pediatr Inf.* 2017;11(3):129-34.
9. Dağı HT, Arslan U, Fındık D, Tuncer İ. Kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. *ANKEM Derg.* 2011;25(2):107-10.
10. Demirdal T, Şen P, Erkan Y, Selçuk K, Nemli SA, Demirci M. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının direnç profilleri: Beş yıllık değerlendirme. *Ortadoğu Tıp Derg.* 2017;9(3):108-12.
11. Erdoğan MM, Acun Delen L, Erdoğan E. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Derg.* 2021;9(1):230-37.
12. Güney M, Bedir O, Kılıç A, Başustaoğlu AC. GATA Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında hemokültür örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç durumları. *Gülhane Tıp Derg.* 2011;53(2):119-22.
13. Kal Çakmaklıoğulları E, Kuru C. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları: Farklı örnek türlerinde değerlendirme. *ANKEM Derg.* 2019;33(2):37-42.
14. Lagacé-Wiens PR, Adam HJ, Poutanen S, et al. Trends in antimicrobial resistance over 10 years among key bacterial pathogens from Canadian hospitals: results of the CANWARD study 2007-16. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(4):22-31.
15. Lehnbecher T, Averbuch D, Castagnola E, et al. 8th European Conference on Infections in Leukaemia: 2020 guidelines for the use of antibiotics in paediatric patients with cancer or post-haematopoietic cell transplantation. *Lancet Oncol.* 2021;22(6):e270-e80.

16. Matos EC, Matos HJ, Conceição ML, Rodrigues YC, Carneiro IC, Lima KV. Clinical and microbiological features of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* in patients hospitalized in intensive care units, *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016;49(3):305-11.
17. Moghnieh R, Araj GF, Awad L, et al. A compilation of antimicrobial susceptibility data from a network of 13 Lebanese hospitals reflecting the national situation during 2015-2016. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8(1):1-17.
18. Muhammad A, Ali I, Owais M, Khan SN, Afridi IQ, Ali N. Evaluation of antibiotics pattern of extended spectrum beta-lactamase producing multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Adv Life Sci*. 2020;7(3):146-50.
19. Nichols WW, de Jonge BL, Kazmierczak KM, Karlowsky JA, Sahm DF. In vitro susceptibility of global surveillance isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to ceftazidime-avibactam (INFORM 2012 to 2014), *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(8):4743-9.
20. Öner SZ, Kaleli İ, Demir M, Mete E, Çalışkan A, Ergin Ç. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik direnci ve yıllar içindeki değişimi. *ANKEM Derg*. 2022;36(1):9-15.
21. Özener GG, Kara AA, Çelebi MY, ve ark. Çocuk hematoloji/onkoloji hastalarında *Pseudomonas* spp. kan dolaşım enfeksiyonlarının özelliklerinin değerlendirilmesi. *ANKEM Derg*. 2023;37(2):38-48.
22. Öztürk Bakar Y, Gönüllü N, Akkuş S, Sadunoğlu Güler M, Aygün G. Alt colunum yolu örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *ANKEM Derg*. 2017;31(3):92-8.
23. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalized in intensive care units in United States and European hospitals (2009-2011). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;78(4):443-8.
24. Shortridge D, Gales AC, Streit JM, Huband MD, Tsakris A, Jones RN. Geographic and temporal patterns of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* over 20 years from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-2016. In *Open Forum Infectious Diseases*, 6. baskı, No. 1, s.63-8, Oxford University, US (2019).
25. Stergiotis M, Ammann RA, Droz S, Koenig C, Agyeman PKA. Pediatric fever in neutropenia with bacteremia-Pathogen distribution and in vitro antibiotic susceptibility patterns over time in a retrospective single-center cohort study. *PLoS One*. 2021;16(2):e0246654.
26. Suntur BM, Kuşcu F, Hava K, Dalkıran PA. Piperasilin/tazobaktama bağlı nötropeni gelişen bir olgu sunumu. *Ege Tıp Derg*. 2015;54(3):148-50.
27. Şafak B, Kılınç O, Tunç N, Topçu B. Türkiye’de Bir Devlet Hastanesinde 2010-2016 yılları arasında *Pseudomonas aeruginosa* antimikrobiyal duyarlılık sonuçları. *ANKEM Derg*. 2018;32(1):31-6.
28. Şenol A, Balın ŞÖ. Yoğun bakım üniteleri’nde sık görülen enfeksiyonlar, Gram-negatif mikroorganizmalar, antibiyotik direnci. *KSÜ Tıp Fak Derg*. 2021;16(1):35-9.
29. Tanyel E. Aminoglikozidler. *Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics*. 2017;10(1):66-70.
30. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters Version 10.0 January 2020. <https://www.eucast.org>
31. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Expected Resistant Phenotypes Version 1.2 January 2023. <https://www.eucast.org>
32. Uğur M, Genç S. Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Üç Yıllık Direnç Profili. *Türk J Soc Intens*. 2019;17(3):130-7.
33. World Health Organization, Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023–2021 data. August 2023. [https://www.who.int/europe/groups/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-\(caesar\)](https://www.who.int/europe/groups/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-(caesar)).
34. Yapıcı O, Akgüneş A, Akgül S, Ekinci B, Pekintürk NS. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının direnç durumunun yıllar içindeki değişimi. *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Derg*. 2018;5(1):1-4.

MÜSİLAJ TEMASI SONRASI *STREPTOCOCCUS PYOGENES* İLE GELİŞEN YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONU

Yeşim ÇAĞLAR, Muhammet ÖKSÜZOĞLU

Y. Çağlar: 0000-0003-2298-7531, M. Öksüzöğlü: 0000-0002-8582-621X

Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BALIKESİR

ÖZ

Küresel ısınma etkisiyle, deniz bitkilerinin salgıladıkları organik maddelerden müsilaj oluşmaktadır. Müsilajın bazı patojen bakterileri konsantre etme özelliği bulunmaktadır ve bol miktarda bakteri ve virüs barındırmaktadır. *Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus agalactiae* için hayvanlar taşıyıcı olmasa bile ters-zoonoz olarak etkeni taşıyabilmektedir. Grup A Streptokoklar (GAS); yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olmaktadır. İnsanlarda doğrudan nekrotizan fasiite sebep olan etkenlerin yanı sıra, evcil hayvanlar ve bazı su canlılarından insanlara bulaşan ve nekrotize fasiite sebep olan zoonoz karakterli etkenler de mevcuttur. Bu raporda; müsilaj teması sonrası *S. pyogenes* enfeksiyonu gelişen ve seyrinde hipoestezi gözlenen bir olgu sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: hipoestezi, *Streptococcus pyogenes*, yumuşak doku enfeksiyonu, yüzme

ABSTRACT

Soft Tissue Infection with *Streptococcus pyogenes* after Mucilage Contact

Mucilage is produced from organic substances secreted by marine plants due to global warming. Mucilage has the ability to concentrate some pathogenic bacteria and harbours abundant bacteria and viruses. For *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*, even if animals are not hosts, they can carry the agent as reverse zoonosis. Group A Streptococci (GAS) cause soft tissue infections. In addition to the agents that directly cause necrotizing fasciitis in humans, there are also zoonotic agents that are transmitted from domestic animals and some marine organisms to humans and cause necrotizing fasciitis. In this report, a case of *S. pyogenes* infection after mucilage contact and observed hypoesthesia during its course was presented.

Keywords: hypoesthesia, soft tissue infection, *Streptococcus pyogenes*, swimming

GİRİŞ

Küresel ısınmanın, karasal alanlardaki bozucu etkisi gibi, denizlerde de doğal dengeyi bozan etkileri bulunmaktadır. Bu bozucu etkilerden birisi de müsilajdır. Müsilaj, denizdeki bitkisel planktonun çevresel faktörlerin tetiklemesiyle suya salgıladıkları organik maddelerden oluşmaktadır. Müsilaj, bol miktarda bakteri ve virüs barındırmaktadır⁽⁹⁾.

Deniz salyası olarak da adlandırılan müsilajın, yüksek miktarda patojenik bakterileri potansiyel olarak konsantre etme özelliği vardır. *Streptococcus agalactiae* ve *Streptococcus pyogenes* için hayvanlar taşıyıcı olmasa bile ters-zoonoz olarak etken taşınabilmektedir^(10,11).

S. pyogenes tarafından oluşturulan impetigo, farenjit, kızıl, sepsis, selülit, nekrotizan fasiit, streptokokal toksik şok sendromu gibi akut enfeksiyonlar ve bunların süpüratif olmayan sekelleri (akut romatizmal ateş, akut glomerulonefrit) halen tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı problemidir^(7,24).

İletişim adresi: Yeşim Çağlar, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BALIKESİR
e-posta: yesim.alpay@hotmail.com

Received/Geliş: 27.03.2024 Accepted/Kabul: 15.05.2024 Published Online/Online Yayın: 30.08.2024

Atıf/Cite as: Çağlar Y, Öksüzöğlü M. Müsilaj teması sonrası *Streptococcus pyogenes* ile gelişen yumuşak doku enfeksiyonu. ANKEM Derg. 2024;38(2):79-83.

Grup A Streptokoklar (GAS); selülitte, nekrotizan fasiite kadar yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olmakta ve yaralanmalar, kesik, yanık, böcek ısırığı veya ameliyata bağlı olarak ciltte meydana gelen bir açıklık sonucu deri bütünlüğünün bozulması, etkenin vücuda girişine ve derin dokulara yayılmasına zemin hazırlamaktadır⁽¹²⁾. İnsanlarda direk nekrotizan fasiite sebep olan etkenlerin yanı sıra, evcil hayvanlar ve bazı su canlılarından insanlara bulaşan ve nekrotize fasiite sebep olan zoonoz karakterli etkenler de mevcuttur⁽²¹⁾. Bu etkenler genellikle yaşlı, diyabet gibi kronik hastalığı olanlarda, alkol bağımlılarında ve HIV gibi immunsupresif tabloya yol açan hastalık mevcut bireylerde yaygın olarak görülmektedir^(3,5). Sağlıklı kişilerde de hastalık yapabilmektedir.

Burada; müsilaj barındıran denize girerek, birlikte yüzen üç aile bireyinde alt ekstremitte, diz ve bacak bölgelerinde sinek ısırığı nedeniyle deri bütünlüğünün bozulduğu noktalarda benzer lezyonlar oluşan bir aileden, takip ettiğimiz; *S. pyogenes* ile yumuşak doku enfeksiyonu tespit edilen ve seyrinde hipoestezi gözlenen bir olgunun sunumu planlanmıştır.

OLGU

25 yaşında erkek hasta, acil servise ateş, sağ diz ve altında enfekte yara, akıntı, ağrı ve ateş yakınması ile başvurduktan sonra ortopedi tarafından değerlendirilerek, debridman önerilmemesi üzerine kliniğimize danışıldı. Hastanın servise yatışı yapıldı. Kültür için örnek alınarak nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonu şüphesiyle meropenem tedavisi başlandı. Yoğun müsilajlı suda yüzdükten sonra, sağ diz altında küçük bir lezyon oluşan hastanın, aynı ekstremitenin farklı bölgelerinde de benzer lezyonlar olduğu öğrenildi. Lezyon bölgelerinin sinek ısırığı nedeniyle erezyone deri bölgeleri olduğu anlaşıldı. (Şekil-1) Beraber denize girdiği iki yakınında da benzer lezyonlar olduğu bilgisi alındı (Hasta yakınlarının lezyonlarının fotoğrafları tarafımızdan görüldü, doğrulandı). Hastanın başka hastanede ortopedi polikliniğine üç defa başvurusu var. Önceki tedavilerine ait net bilgi alınamadı. Aldığı tedavilerden yarar görmediği ancak tedavi uyumunun tam olmadığı öğrenildi. Diz kapağındaki 4x4 cm'lik enfekte yaradan akıntı, çevre dokuda kızarıklık, ısı artışı ve son üç gündür olan ateş, üşüme, titreme şikayetleri mevcuttu. Genel durumu iyi, vital bulguları stabil olan hastanın ek hastalığı olmayıp, sigara ve alkol kullanımı mevcuttu. Laboratuvar bulguları şu şekildeydi: Lökosit 13900/mm³ (% 80 nötrofil), CRP 161, sedimentasyon 37 mm/s, hemoglobin 13 mg/dL, hematokrit 40, platelet 306000/mm³, açlık kan şekeri 99 mg/dL, BUN 9.81 mg/dL, kreatinin 0.75 mg/dL, Na 137 mEq/L, K 4.7 mEq/L, toplam bilirubin 0.20, ALP 91 U/L, AST 40 U/L, ALT 34 U/L, kreatinin kinaz 149 U/L. Kan kültüründe üreme olmadı. Takiplerde alınan yara kültüründe *S. pyogenes* üredi. Nekrotizan fasiite progresse olmadı. Serviste meropenem 3x1 g iv tedavisi ile takip edilen hastanın antibiyotik tedavisi ampicilin-sulbaktam 4x1.5 gr iv ile değiştirildi.

Yara çevresinde şiddetli ağrı ve sağ diz altında his kaybı tarifleyen hasta nöroloji kliniğine danışıldı. Sağ diz altında yüzeysel dokunma duyusu kaybı, motor güç kaybı görülmedi, kas kuvvetleri 5/5 idi. Dizdeki ödeme ikincil bası sonucu gelişen peroneal nöropati şüphesiyle *elektromiyografi* (EMG) istendi. EMG normal gözlemlendi. *Manyetik rezonans* (MR) görüntüleme; ödem, geçirilmiş penetran travmaya sekonder değişiklikler; selülit olarak raporlandı. Hastanın takiplerde, kliniğinin ve laboratuvar değerlerinin düzelmesi üzerine oral antibiyoterapi ve poliklinik kontrolü önerisiyle taburcu edildi.



Şekil 1. *Streptococcus pyogenes* ile gelişen yumuşak doku enfeksiyonu.

TARTIŞMA

Gelişmiş ülkelerde, invazif enfeksiyonların oranı %2.5-3.5 iken, mortalite oranı %7-15 olarak bildirilmiştir^(6,16-18). İnvazif enfeksiyonlar ve mortalite oranları karşılaştırıldığında, gelişmekte olan ülkelerin oranlarının, gelişmiş ülkelere oranla anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir^(1,19,22).

Türkiye'den 73 beta-hemolitik streptokok kökeninin incelendiği çalışmada; 65 izolatin, GAS olduğu referans laboratuvarında doğrulanmış, GAS suşlarının 18'i yumuşak doku, 10'u apse, 8'i steril vücut sıvısı ve 7'si kan örneklerinden ve suşların çoğu, ülkemizin kuzey ve orta bölgelerinde yer alan merkezlerden izole edilmiştir⁽²⁵⁾. İnvazif GAS enfeksiyonlarının sıklığında, 2020-2021 yıllarında, pandemi nedeniyle alınan önlemlerin bir sonucu olarak düşüşler olmuş ancak 2022-2023 sezonunda, başta Avrupa ülkeleri ve ABD olmak üzere, tüm dünyada ve ülkemizde hem invazif GAS enfeksiyonlarında artış görülmüştür.

Bizim bildirdiğimiz olguda; müsilaj kaynaklı olduğu düşünülen bir streptokoksik yumuşak doku enfeksiyonu saptanmıştır. Müsilaj barındıran denize girerek, birlikte yüzen üç aile bireyinde alt ekstremitelerde diz ve bacak bölgelerinde benzer lezyonlar oluşmuştur. Hepsinde ortak özellik; ekstremitelerde sinek ısırığı nedeniyle deri bütünlüğünün bozulduğu noktalar olup birinin ilimizde olmasıyla başvurusu sonucu, yatırılarak takip edilebilmiştir. Müsilaj içerisinde kolonize olan bakterinin, aynı anda birden fazla kişiyi enfekte etmiş olma ihtimali, minör travma bölge invazyonu, üç olguda da inkübasyon süresi, lezyonların ortaya çıkış süresi aynı sürelerde oluşu gibi nedenler, kişiler arası bulaştan daha yüksek ihtimal olarak düşünülmüştür. Bununla beraber, *S. pyogenes*'in bulaşıcı özelliği bilinmeli ve ortam ya da kişiler arası temas açısından gerekli önlemler alınmalıdır.

Mikroorganizmaya bağlı enfeksiyon sıklıkla ekstremitelerde ve özellikle bacaklarda görülmektedir⁽¹⁴⁾. Barker ve arkadaşlarının⁽²⁾, 36 hastayı içeren serilerinde lezyonların yerleşimi, üç hasta hariç ekstremitelerde ve kalçadır. Bizim olgumuzda da, tek taraflı alt ekstremitelerde lezyon mevcut olup, diğer iki yakınında da aynı şekilde lezyonlar mevcuttu.

GAS enfeksiyonu hasarlı deriden, sağlam deriden ya da enfeksiyonu olan kişi ile yakın temasla bulaşabilir. İnvazif karakterde olabilir. Herhangi bir kutanöz lezyon, dermal bariyeri kesintiye uğratır. Bakteri duvarı, M proteinleri ve adhezinler, kolonizasyona izin verir⁽²³⁾. Vaka kontrollü bir çalışmada; GAS nekrotizan fasiit vakalarının, yakın zamanda künt travma öyküsü olma olasılığı, kontrol grubuna göre 5.97 kat daha fazla gözlenmiştir. Şiddetli selülit olan hastaların künt travma geçirme olasılığı, kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmamıştır⁽¹⁵⁾. Bizim olgumuzda majör ya da künt travma öyküsü olmayıp, sinek ısırıkları sonrası kaşıma ile erezyone dokuların olduğu bölgelerde selülitik lezyonlar mevcut idi. Nekrotizan fasiit; yumuşak doku ve fasyaların hızla yayılan nekrozu ile karakterize, uygun tedavi edilmez ise fulminan seyirli olabilen bir durumdur. Başlangıçta ufak eritemli görünüm 24-72 saatte nekroze duruma geçiş yapabilir. Bakteremi sıklıkla eşlik edebilir. Cerrahi kesi alanları, yanıklar, böcek ısırığı, varisella lezyonu predispozisyon oluşturabilir. Tedavide erken debridman önemlidir. Olgumuzda acil başvurusunda ortopedi debridman gerekliliği görmemesi üzerine servisimize yatırılarak parenteral antibiyoterapi başlanmıştır. İncelemede nekrotizan fasiit düşündürmekle beraber, hızlı tanı ve hastanın yatırılarak acilen antibiyoterapi başlanması ile nekrotizan fasiite progresyonun engellendiği düşünülmüştür. Olgunun takiplerinde, detaylı muayeneler ve görüntüleme ile nekrotizan fasiit dışlanmıştır. Ödeme bağlı gözlenen hipoestezi ve nöropatik ağrı mevcut tedavi ile düzelmiştir. Çoğunlukla bacaklarda, yüksek ateş ve ağrı ile birlikte inflamatuvar bir bölgenin aniden ortaya çıkması, eritem ve ödeme ek olarak; lezyonların hızlı yayılımı sonucu kutanöz hipoestezi ortaya çıkabilir^(4,13). GAS enfeksiyonu nadiren akut motor-duysal aksonal nöropati veya vaskülitik nöropati varyantlarının nedeni olabilir^(8, 25).

Küresel ısınma etkisiyle, deniz bitkilerinin salgıladıkları organik maddelerden müsilaaj oluşmaktadır. Müsilaajın bazı patojen bakterileri konsantre etme özelliği bulunmaktadır. Öncül ve arkadaşlarının 2023 yılında "müsilaajdaki patojen mikroorganizmaların potansiyel klinik tehlikeleri" hakkındaki yazdıkları derlemelerinde son yıllarda önem kazanan bu konunun detayları ve olgu sunumları burada gündeme getirdiğimiz konuyu destekler niteliktedir⁽²⁰⁾.

Burada müsilaaj teması sonrası GAS ile oluşmuş ve hipoestezi ile seyreden yumuşak doku enfeksiyonu olan bir olguyu sunduk. Enfeksiyon, nekrotizan fasiit hatta hayatı tehdit eden tablolara ilerleme potansiyeline sahip olup, nekroz varlığında acil cerrahi debridman planlanmalıdır. Hızı tanı ve tedavi önemli olup, progresyon önenebilir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Etik Onay: Hastadan aydınlatılmış onam alınmıştır.

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

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

Ethical Approval: Informed consent was obtained from the patient.

KAYNAKLAR

1. Avire NJ, Whiley H, Ross K. A review of Streptococcus pyogenes: public health risk factors. Prevent Control Pathog. 2021;10(2):248.
2. Barker FG, Leppard BJ, Seal DV. Streptococcal necrotising fasciitis: comparison between histological and clinical features. J Clin Pathol. 1987;40(3):335-41.
3. Frazee BW, Fee C, Lynn J, et al. Community-acquired necrotizing soft tissue infections: a review of 122 cases presenting to a single emergency department over 12 years. J Emerg Med. 2008;34(2):139-46.
4. Goh T, Goh LG, Ang CH et al. Early diagnosis of necrotizing fasciitis. Br J Surg. 2014;101(1):e119-25.
5. Gül K. Diyabetes mellitus sınıflama, tanı ve tarama testlerine genel bakış. KSU Tıp Fak Der. 2015;10(2):12-6.
6. Hoge CW, Schwartz B, Talkington DF, Breiman RF, MacNeill EM, Englender SJ. The changing epidemiology of invasive group A streptococcal infections and the emergence of streptococcal toxic shock-like syndrome. A retrospective population-based study. JAMA. 1993;269(3):384-49.

7. Hollm-Delgado MG, Allard R, Pilon PA. Invasive group A streptococcal infections, clinical manifestations and their predictors, Montreal, 1995-2001. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(1):77-82.
8. Islam Z, Jacobs BC, van Belkum A, et al. Axonal variant of Guillain-Barre syndrome associated with *Campylobacter* infection in Bangladesh. *Neurology.* 2010;74(7):581-87.
9. Kavzoğlu T, Çölkesen İ, Sefercik UG, Öztürk MY. Marmara Denizi'ndeki müsilaj oluşumlarının çok zamanlı optik ve termal uydu görüntülerinden makine öğrenme algoritması ile tespiti ve analizi. *Harita Derg.* 2021;87(166):1-9.
10. Lau SK, Woo PC, Tse H, Leung KW, Wong SS, Yuen KY. Invasive *Streptococcus iniae* infection outside North America. *J Clin Microbiol.* 2003;41(3):1004-49.
11. Lee AS, Dyer JR. Severe *Streptococcus zooepidemicus* infection in a gardener. *Med J Aust* 2004;180(7):366.
12. Luca-Harari B, Darenberg J, Neal S, et al. Clinical and microbiological characteristics of severe *Streptococcus pyogenes* disease in Europe. *J Clin Microbiol.* 2009;47(4):1155-65.
13. Madsen MB, Skrede S, Perner A, Arnell P, Nekludov M, Bruun T, et al. Patient's characteristics and outcomes in necrotising soft-tissue infections: results from a Scandinavian, multicentre, prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 2019;45(9):1241-51.
14. Marcet VJ, Carter JD, Vasey FB. Soft tissue disease. *Rheum Dis Clin North Am.* 2003;29(1):77-88.
15. Nuwayhid ZB, Aronoff DM, Mulla ZD. Blunt trauma as a risk factor for group A streptococcal necrotizing fasciitis. *Ann Epidemiol.* 2007;17(11):878-81.
16. O'Brien KL, Beall B, Barrett NL, et al. Epidemiology of invasive group A streptococcus disease in the United States, 1995-1999. *Clin Infect Dis.* 2002;35(3):268-76.
17. O'Grady KA, Kelpie L, Andrews RM, et al. The epidemiology of invasive group A streptococcal disease in Victoria, Australia. *Med J Aust.* 2007;186(11):565-59.
18. O'Loughlin RE, Roberson A, Cieslak PR, et al. The epidemiology of invasive group A streptococcal infection and potential vaccine implications: United States, 2000-2004. *Clin Infect Dis.* 2007;45(7):853-62.
19. Orioux, A., Prevel, R., Dumery, M. et al. Invasive group A streptococcal infections requiring admission to ICU: a nationwide, multicenter, retrospective study (ISTRE study). *Crit Care.* 2024;28(1):4.
20. Öncül O, Aktaş Z. Potential clinical hazards of pathogenic microorganisms in mucilage. "Albay M (eds): Mucilage problem in the sea of Marmara, 1. Baskı" kitabında s.21-91, İstanbul University Publication No:5316, İstanbul (2023).
21. Öztürk AS, Köse Sİ. Gizli Tehdit: Et Yiyen Zoonoz Bakteriler. *KSÜ Tıp Fak Derg.* 2019;14(1):42-8.
22. Steer AC, Lamagni T, Curtis N, Carapetis JR. Invasive group a streptococcal disease: epidemiology, pathogenesis and management. *Drugs.* 2012;72(9):1213-27.
23. Stevens DL. Invasive group A streptococcal disease. *Infect Agents Dis.* 1996;5(3):157-66.
24. Topkaya AE, Balıkcı A, Aydın F. Türkiye'de invazif streptokok enfeksiyonlarının epidemiyolojisi, klinik ve mikrobiyolojik özellikleri, 2010-2011. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48(1):1-13.
25. Uncini A. Guillain-Barré syndrome: what have we learnt during one century? A personal historical perspective. *Rev Neurol.* 2016;172(10):632-44.

EPİTELOİD KARSİNOMLU HASTADA *CAMPYLOBACTER COLI* ENFEKSİYONUNA BAĞLI GELİŞEN BAKTERİYEMİ: OLGU SUNUMU*

Ersin ŞENTÜRK¹, Fatma AVCIOĞLU¹, Oktay Halit AKTEPE², Mustafa BEHÇET¹, Yusuf AFŞAR¹,
Muhammet KURTOĞLU¹

E. Şentürk: 0000-0003-3940-3766, F. Avcıoğlu: 0000-0002-6011-7775, O. H. Aktepe: 0000-0003-3540-0701,
M. Behçet: 0000-0002-5676-6983, Y. Afşar: 0000-0003-3316-3618, M. Kurtoğlu: 0000-0002-7057-2501

¹Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BOLU

²Bolu Abant İzzet Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dahili Tıp Bilimleri, Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı, BOLU

ÖZ

Campylobacter türleri akut bakteriyel gastroenterit etkenleri arasında yer almasına rağmen nadiren de olsa immünsüprese ve ileri yaş grubunda olan hastalarda invaziv hastalıklara neden olabilmektedir. *Campylobacter*; mikroaerofilik, nonfermentatif, Gram negatif bir bakteridir. *Campylobacter* türlerinin mikroaerofilik olması ve seçici besiyeri gereksinimi nedeniyle normal laboratuvar şartlarında üretilmesi zor gibi görülsede uygun şartlar sağlandığında bu mümkün olabilmektedir. Gelişen tanınal laboratuvar hizmetleri ile *Campylobacter* türlerinin tanısında gen bölgelerini hedefleyen moleküler tanı yöntemleri ortaya çıksa da halen altın standart yöntem bakterinin izolasyonudur. Bu olguda; yaklaşık dört ay önce epiteloid karsinom (kolon ve rektum) tanısı alan, sigmoid kolon-rektumu birlikte alınarak kolostomi yapılan, hastanemiz tıbbi onkoloji kliniğinde kemoterapi tedavisi gören, kan kültüründen *Campylobacter coli* izole edilen ve şifa ile tedavi edilerek taburcu olan 56 yaşında kadın bir hasta sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: *Campylobacter*, İmmünsüpresyon, Sepsis

ABSTRACT

Bacteremia Due to *Campylobacter coli* Infection in a Patient with Epithelioid Carcinoma: A Case Report

Campylobacter species, despite being among the causative agents of acute bacterial gastroenteritis, rarely may lead to invasive diseases in immunosuppressed and elderly individuals. *Campylobacter* is a microaerophilic, nonfermentative, Gram-negative bacterium. Although it may seem difficult to cultivate *Campylobacter* species under normal laboratory conditions due to their microaerophilic nature and selective medium requirements, it becomes possible when appropriate conditions are provided. Although molecular diagnostic methods targeting gene regions have emerged in the diagnosis of *Campylobacter* species with improved diagnostic laboratory services, isolation of the bacteria is still the gold standard method. In this case report, we present a 56-year-old female patient who was diagnosed with epithelioid carcinoma (colon and rectum) about four months ago, underwent colostomy by removal of sigmoid colon and rectum together, received chemotherapy treatment in the medical oncology clinic of our hospital, *Campylobacter coli* was isolated from blood culture, and was treated with cure and discharged.

Keywords: *Campylobacter*, Immunosuppression, Sepsis

İletişim adresi: Fatma Avcıoğlu. Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BOLU

e-posta: fatmaavcioglu@yahoo.com.tr

Received/Geliş: 15.03.2024 Accepted/Kabul: 02.07.2024 Published Online/Online Yayın: 30.08.2024

*7. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur. PP-24 (Muğla, 2024)

Atıf/Cite as: Şentürk E, Avcıoğlu F, Aktepe OH, Behçet M, Afşar Y, Kurtoğlu M. Epiteloid karsinomlu hastada *Campylobacter coli* enfeksiyonuna bağlı gelişen bakteriyemi: Olgu sunumu. ANKEM Derg. 2024;38(2):84-89.

GİRİŞ

Campylobacter türleri akut bakteriyel gastroenterit etkenleri arasında yer almaktadır. *Campylobacter* türlerine bağlı olarak gelişen akut gastroenteritler nadiren sistemik invaziv hastalıklara neden olurlar. *Campylobacter* türlerinin ekstraintestinal yayılımı genellikle immünsüprese ve ileri yaş grubundaki hastalarda bildirilmiştir. *Campylobacter* türlerine bağlı görülen intestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonların çoğunluğunda etken genellikle *Campylobacter jejuni* türüdür. Daha nadir görülmesine rağmen *Campylobacter coli*'de etken olarak görülebilir⁽¹⁸⁾. Ulusal bazlı laboratuvar surveyans sistemlerindeki tanımlama eksikliklerinden dolayı *Campylobacter* türlerine bağlı oluşan enfeksiyonların epidemiyolojik verileri tam olarak bilinmemektedir. Tanı konulan *Campylobacter* olgularının daha az olmasından dolayı *Campylobacter* enfeksiyonlarının kontrol ve önlem stratejilerinde de eksiklikler mevcuttur. Bu yüzden de bilinen hasta sayısı ile gerçek hasta sayısı arasında büyük bir fark olduğu düşünülmektedir⁽⁸⁾.

Campylobacter ailesindeki türler; sporsuz, kapsülsüz, oksidaz pozitif, hareketli, genellikle kıvrık, spiral ve martı kanadı şeklinde olabilen Gram negatif basillerdir. *Campylobacter* türlerinin mikroaerofilik olması ve seçici besiyeri gereksinimi nedeniyle normal laboratuvar şartlarında üretilmesi zor gibi görülsede uygun şartlar sağlandığında bu mümkün olabilmektedir. *Campylobacter* enfeksiyonlarının kesin tanısı mikrobiyolojik incelemeye dayanır ve kültür "altın standart" tanı yöntemidir. Gelişen tanısal laboratuvar hizmetleri ile *Campylobacter* türlerinin tanısında gen bölgelerini hedefleyen moleküler tanı yöntemleri ortaya çıksa da halen standart yöntem bakterinin izolasyonudur⁽²²⁾.

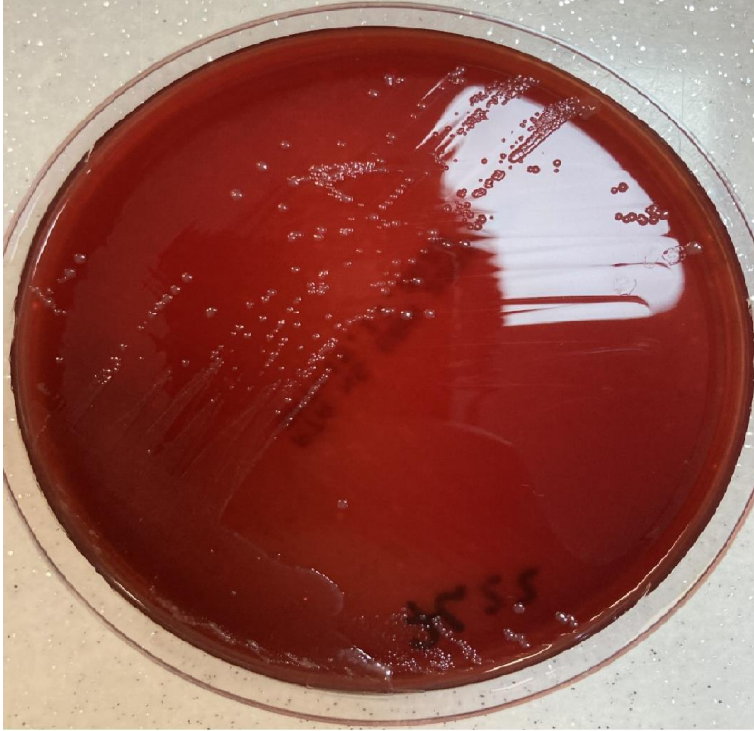
Otomatik kan kültürü sistemleri bakteriyeminin tespitinde tanısal mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılmaktadır. Fakat kan kültür şişesinde pozitif sinyal olmasına rağmen pasaj yapılan besiyerlerinin uygun koşullarda inkübasyonu sağlanamadığı durumlarda *Campylobacter* ile ilişkili bakteriyeminin gözden kaçması olasıdır. Kan Dolaşımı Örneklerinin Laboratuvar İncelemesi Rehberi'nde Gram boyama sonuçlarına göre olası etkenlere yönelik protokoller bu gibi durumlarda laboratuvarlarımıza ışık tutmaktadır⁽¹⁴⁾. Bu çalışmada immünsüprese bir hastada bakteriyemiye neden olan *Campylobacter* enfeksiyonu olgusunun sunulması amaçlanmıştır.

OLGU

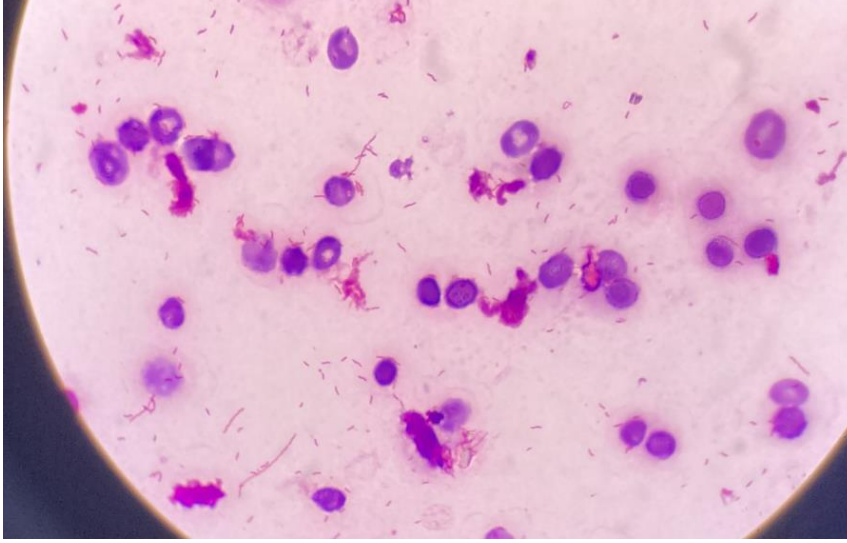
Yaklaşık dört ay önce epiteloid sarkom (kolon ve rektum) tanısı alan, sigmoid kolon-rektumu birlikte alınarak kolostomi yapılan ve hastanemiz Tıbbi Onkoloji kliniğinde kemoterapi tedavisine başlanan 56 yaşında kadın hasta, 3. kür tedavisini aldıktan sonra genel durumunun iyi, vitallerinin de stabil seyretmesi üzerine taburcu edilmiştir. Bir hafta sonrasında hasta; genel durum bozukluğu, oral alım azlığı, ateş ve idrar kaçırma şikayetleriyle Acil polikliniğine başvurmuştur. Hastanın yapılan fizik muayenesinde epigastrik hassasiyet dikkat çekmiştir. Yapılan tetkiklerinde Hb:4.4 g/dL (N: 11.5 – 17.5 g/dL), WBC: 0.09 K/uL³ (N: 4.5 – 11 K/uL), Platelet: 12.000 K/uL (N: 140 – 400 K/uL), K+: 2 mmol/L (N: 3.5 – 5.5 mmol/L) olarak bulunmuştur. Hastanın laboratuvar bulguları değerlendirilerek, potasyum replasmanı, trombosit süspansiyonu verilmesi planlanarak, ateş etiyojisi açısından iki set aerobik kan kültürü ve idrar kültürü alınarak tedavi ve takip açısından Onkoloji servisine yatışı yapılmıştır. Aynı gün ateş yüksekliğinin devam etmesi ve buna hipotansiyon, taşikardi eklenmesi üzerine hastadan tekrar iki set aerobik kan kültürü alınarak Enfeksiyon Hastalıkları birimine danışılmış ve hastaya meropenem 3x1gr; vankomisin 2x1gr tedavisine ampirik olarak başlanmıştır. Aynı gün içerisinde laboratuvarımıza Acil ve Onkoloji kliniklerinden gönderilen dört set aerobik kan kültürü örnekleri BacT/Alert 3D (bioMérieux, St. Laurent, Quebec) otomatize kan kültür cihazında inkübe edilmiştir. Kan kültür örneklerinin üçünden ikinci gün, birinden ise üçüncü gün pozitif sinyal alınmıştır. Kan kültüründen yapılan Gram boyamada Gram negatif kıvrık, martı kanadı şeklinde basiller görülmüştür. Kan kültür şişesinden (BacT/ALERT® FA, BioMérieux, Fransa) alınan örnek %5-7 koyun kanlı agar, çikolata agar ve Eozin Metilen Mavisini (EMB) (RTA Laboratuvarları, Gebze / Kocaeli – TÜRKİYE) agara ekilerek aerobik ve mikroaerofilik koşulları oluşturmak için jar içine Gas Pak EZ Campy container system sachets (Becton and Dickinson, ABD) konularak 37°C ve 42°C' de inkübe edilmiştir. 48 saat sonra çikolata agar ve koyun kanlı agar plaklarında şeffaf ve nemli görümlü zor üreyen (Şekil 1), Gram negatif martı kanadı morfolojisinde (Şekil 2) boyanan koloniler görülmüştür. Kolonilere yapılan konvansiyonel testlere göre bakterinin katalaz ve oksidaz testlerinin pozitif olması üzerine *Campylobacter* cinsi bakteri düşünülmüştür. Tür düzeyinde tanımlama için hippurat hidrolizi (Merck, Almanya)

indoksil asetat disk testi (Merck, Almanya), sefalotin ve nalidiksik asit (Oxoid, İngiltere) duyarlılık ve son olarak "triple sugar iron" (TSI) agarda (RTA Laboratuvarları, Gebze/ Kocaeli – TÜRKİYE) H₂S üretiminin tespiti yapılmıştır^(4,9). Hippurat hidrolizi olumsuz, indoksil asetat disk testi olumlu olan, sefalotin ve nalidiksik asite dirençli olup TSI'da H₂S üretimi olmayan örnekler *Campylobacter coli* olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, aynı kolonilere VITEK® 2 (bioMérieux, Fransa) cihazı kullanılarak yapılan identifikasyon işlemi de tür *Campylobacter coli* olarak tanımlanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık yönteminde Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST)⁽⁶⁾ standartlarına göre 20 mg/L β-NAD ekli %5 at kanlı Mueller Hinton Fastidious (MHF) (bioMérieux, Fransa) agar kullanılarak duyarlılık testi yapılmış ve mikroaerofil koşullarda 48 saatlik inkübasyon sonunda, sonuçlar değerlendirilmiştir. Bakteri; siprofloksasine (5 µg) artmış dozda duyarlı, eritromisine (15 µg) duyarlı, tetrasikline (30 µg) duyarlı olarak raporlanmıştır. *Campylobacter* izolasyonu ile Gram negatif bakteriyemi olduğu anlaşılan hastanın antibiyotik duyarlılık yöntemi sonuçlarına göre ampirik olarak başlanan meropenem ve vankomisin tedavisi sonlandırılmış siprofloksasin 2x400mg 14 gün olacak şekilde tedavisine devam edilmiştir. Tedavi sonrası hastadan alınan kontrol kan kültür örneklerinde herhangi bir üreme saptanmaması, ilerleyen günlerde genel durumunun iyi olması ve hastanın takiplerinde aktif şikayetinin olmaması nedeniyle reçetesi düzenlenip önerilerde bulunularak taburcu edilmiştir. Hastadan yazılı olarak onam alınmıştır.

Şekil 1. Kanlı agarda şeffaf ve nemli görünümlü koloniler.



Şekil 2. Gram negatif martı kanadı morfolojisinde boyanan koloniler.



TARTIŞMA

Campylobacter enfeksiyonlarının dünyada sıklığı %1-35 oranında değişmekle beraber ülkemizde *Campylobacter* sıklığını %1-13 oranında gösteren çalışmalar mevcuttur⁽⁵⁾. Ayrıca Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Tanı Rehberi'ne göre görülme sıklığının %0.63 ila %16.4 arasında değişebileceği ve bazı bölgelerde *Salmonella* ve *Shigella* türlerinden daha sık izole edildiği bildirilmiştir⁽²²⁾. *Campylobacter*'e bağlı gelişen enfeksiyonlar klinik olarak akut başlangıçlı, sıklıkla kendini sınırlayan, ateşin eşlik ettiği ve karın ağrısının ön planda olduğu ishalleri bir hastalık tablosu olarak görülmektedir. Ciddi komplikasyonlar nadir olarak görülmekle birlikte gastroenterit gelişen hastaların %1' inden azında bakteriyemi tespit edilebilmektedir^(1,15). Skirrow ve ark.'nın⁽²⁰⁾ yapmış olduğu çalışmada bu oran %0.1 olarak bulunmuş olup; yaş aralığı ve predispozan faktörler gibi durumlarla bu oranın değiştiği görülmüştür. *Campylobacter* bakteriyemisinde gastrointestinal semptomlar olmadan da ateşli bir hastalık şeklinde klinik seyir görülebilmektedir⁽¹⁸⁾. Yuki ve ark.'nın⁽¹⁹⁾ yaptıkları çalışmada gastrointestinal bulguların daha çok (%90.5) *C. jejuni*' nin etken olduğu gastroenterit tablosunda, ateş bulgusunun ise *C. fetus* ve *C. coli*' nin etken olduğu gastroenterit tablosunda görüldüğü farkedilmiştir. Nielsen ve ark.'nın⁽¹⁸⁾ yapmış olduğu çalışmada bakteriyemili hastaların %41' inde gastrointestinal bulguların görülmediği bildirilmiştir. İmmünsüprese hastalar veya altta yatan predispozan faktörleri (hematolojik maligniteler, kardiyovasküler bozukluklar, karaciğer hastalığı ve HIV enfeksiyonu) olan bireylerde, *Campylobacter* bakteriyemi riskinde artış görülebilmektedir⁽¹⁶⁾. Hussein ve ark.'nın⁽¹²⁾ yapmış olduğu tek merkezli 16 yıllık *Campylobacter* bakteriyemili hastaların epidemiyolojisi ve insidansına yönelik çalışmada 65 hastanın %57'sinin immünsüpresif tedavi aldığı görülmüştür. Komorbid hastalıkların eşlik etmediği hasta sayısı ise %15.4 olarak rapor edilmiştir. Ayrıca bu hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ise *C. jejuni* %50.8, *C. coli* %10.8, *C. fetus* %7.7 ve diğer %30.7 olduğu saptanmıştır. İmmünsüprese hastalarda *Campylobacter* enfeksiyonu çoklu ve uzamış antibiyotik tedavisine ihtiyaç duyabilmektedir. İmmünsüprese hastalar ve ileri yaş hasta grubunda daha sık olmakla birlikte *Campylobacter* bakteriyemisinde ölüm oranı %4 ile %16 arasında bildirilmiştir⁽¹⁵⁾. Benjamin ve ark.'nın⁽⁷⁾ yapmış olduğu çalışmada kan kültüründen izole edilen 76 *Campylobacter* bakteriyemili hastada bakteriyemiye bağlı komplikasyonlar sonucu atfedilebilir ölüm oranının %3 olduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmalarla uyumlu olarak bizim olgu sunumumuzda hastanın immünsüprese olduğu ve buna bağlı olarak *Campylobacter* bakteriyemisi olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, hastanın ateş bulgusunun baskın olduğu ve kolostomisinin olmasına bağlı olarak enterit tablosunun maskelenmiş olabileceği düşünülmüştür.

Campylobacter türlerinin neden olduğu bakteriyemilerde erken tanı ve uygun tedavinin verilmemesi sonucunda mortalite riski artmaktadır. Bu yüzden antibiyotik duyarlılık sonuçları raporlanıncaya kadar ampirik olarak tedaviye başlanabilmektedir. İmipenem, sefotaksim, kloramfenikol, siprofloksasin ve amoksisilin/klavunat gibi antibiyotiklerin de kullanımı önerilmektedir⁽¹¹⁾. *C. jejuni/coli* suşlarının karbapenemler haricinde beta-

laktamlara, penisilin ve dar spektrumlu sefalosporinlere karşı dirençli olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle son dönemlerde kümes hayvanlarında kinolon kullanımının yaygınlaşması sebebiyle florokinolon dirençli *Campylobacter* enfeksiyonlarının oranında artış olduğu görülmüştür^(10,17,21). Ülkemizde de siprofloksasin direncini %60-70 oranında bildiren çalışmalar mevcuttur^(2,5,13). Yüksek direnç gelişimi sebebiyle kinolon kullanımında dikkatli olunması önerilmektedir. Bunun yanında düşük maliyetli, güven aralığının geniş olması, uygulama kolaylığı bakımından eritromisin tedavide tercih edilebilmektedir. Ayrıca florokinolonlar ve tetrasiklinlerin aksine, eritromisin çocuklara ve hamile kadınlara da güvenle uygulanabileceği; buna karşın fazla kullanımı neticesinde direnç gelişebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır⁽¹⁾. 2020 yılında bir tez çalışmasında en az iki antibiyotige dirençli *Campylobacter* oranı %70.1 olarak raporlanmıştır⁽³⁾. Bu yüzden antimikrobiyallere karşı artan direncin yakın takibi açısından tedavisi planlanan hastalara kültür ve antibiyogram duyarlılık testinin yapılması önemlidir. Bizim olgumuzda yaptığımız antibiyogram duyarlılık testi sonuçlarına göre izole etmiş olduğumuz *C. coli* bakterisi siprofloksasine artmış dozda duyarlı olarak bulunmuştur. Hastaya 14 gün boyunca verilen siprofloksasin 2x400mg tedavisine cevap verdiği, kontrol kan kültür sonuçlarında üreme olmaması ile anlaşılmıştır.

Sonuç olarak *Campylobacter* enfeksiyonlarının; özellikle immünsüprese hastalarda dolaşım yolu enfeksiyonlarının nadir bir sebebi olması, bakterinin kolay üretilmemesi, klinik olarak etkene ait spesifik bulguların olmaması gibi sebeplerden dolayı bu enfeksiyonlar göz ardı edilebilmekte ve tanı ve tedavisine geç kalınabilmektedir. Kan dolaşımı enfeksiyonlarında özellikle immünsüprese hastalarda gastrointestinal semptomları olsun veya olmasın *Campylobacter*'lerin bakteriyemi etkeni olarak görülebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Etik Onay: Hastadan yayın için yazılı aydınlatılmış onam alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Approval: Written informed consent was obtained from the patient for publication.

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

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

KAYNAKLAR

1. Allos BM. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. Clin Infect Dis. 2001;32(8):1201-6. <https://doi.org/10.1086/319760>
2. Avcu G, Bal SZ, Saz EU, Aydemir Ş, Vardar F. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk acil servisine başvuran akut gastroenteritli çocuklarda bakteriyel etkenlerin prevalansı. J Pediatr Inf. 2016;10(2):49-53. <https://doi.org/10.5152/ced.2016.2301>
3. Beyza Ö. Hastanemizde klinik örneklerden izole edilen *Campylobacter* spp.' lerin antibiyotiklere direnç durumlarının araştırılması. [Tıpta Uzmanlık Tezi (Tez No: 642135)] İstanbul: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2020 Erişim adresi: [https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=Ux2tNIUqPHSDjVgFxxQWgQ&no=hMzHNFBTDy6kFxr_DsZB8g] (son erişim tarihi: 24.06.2024)
4. Bilgehan H. Vibrionaceae ve *Campylobacter* bölüm 27.61 *Campylobacter*lerin izolasyonu ve identifikasyonunda uyulması gereken önemli kurallar "Bilgehan H (ed): Klinik Mikrobiyolojik Tanı 5. baskı" kitabında s.462-464, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, İzmir (2009).
5. Borucu R, Tanrıverdi YÇ, Birinci A. Klinik örneklerden *Campylobacter* türlerinin üretilmesinin araştırılması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bil Derg. 2019;5(1):15-9. <https://doi.org/10.30934/kusbed.455330>
6. EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0 [Internet]. https://www.Eucast.Org/Ast_of_Bacteria/. 2022. Erişim adresi: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf] (son erişim tarihi: 24.06.2024)

7. Feodoroff B, Lauhio A, Ellström P, Rautelin H. A nationwide study of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* bacteremia in Finland over a 10-year period, 1998-2007, with special reference to clinical characteristics and antimicrobial susceptibility. *Clin Infect Dis*. 2011;53(8):99-106. <https://doi.org/10.1093/cid/cir509>
8. Gillespie IA, O'Brien SJ, Frost JA et al. A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: a tool for generating hypotheses. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(9):937-42. <https://doi.org/10.3201/eid0809.010817>
9. Güney M, Başustaoglu AC. Gülhane askeri tıp akademisi eğitim hastanesi' nde akut bakteriyel gastroenterit etkenleri arasında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli*'nin yeri ve bunların antimikrobiklere duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2010;40(3):183-92. Erişim adresi: https://tmc.dergisi.org/pdf/pdf_TMC_387.pdf (son erişim tarihi: 24.06.2024).
10. Habib I, Mohamed MI, Khan M. Current State of Salmonella, *Campylobacter* and Listeria in the food chain across the arab countries: a descriptive review. *Foods*. 2021;10(10):2369. <https://doi.org/10.3390/foods10102369>
11. Haşçelik G. *Campylobacter* türleri "Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (ed): Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 2 cilt 4. Baskı" kitabında s.1935-41 Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul (2017).
12. Hussein K, Raz-Pasteur A, Shachor-Meyouhas Y. et al. *Campylobacter* bacteraemia: 16 years of experience in a single centre. *Infect Dis*. 2016;48(11-12):796-9. <https://doi.org/10.1080/23744235.2016.1195916>
13. Ilktac M, Ongen B, Humphrey TJ, Williams LK. Molecular and phenotypical investigation of ciprofloxacin resistance among *Campylobacter jejuni* strains of human origin: high prevalence of resistance in Turkey. *APMIS*. 2020;128(1):41-7. <https://doi.org/10.1111/apm.13005>
14. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD) Rehberleri: Tıbbi mikrobiyoloji uzmanları için kan dolaşım örneklerinin laboratuvar incelemesi rehberi, düzeltilmiş 2. Baskı, rehberinde s.37-38. Ankara (2022). Erişim adresi: https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/KLİMUD%20Rehberleri_Kan%20Dolasimi_ver02.pdf (son erişim tarihi: 24.06.2024).
15. Mearelli F, Casarsa C, Breglia A, Biolo G. Septic shock with multi organ failure due to fluoroquinolones resistant *Campylobacter* *Jejuni*. *Am J Case Rep*. 2017;18(279):972-4. <https://doi.org/10.12659/AJCR.904337>
16. Najjar I, Paluca F, Loukidis K, Tarr PE. Recurrent *Campylobacter* enteritis in patients with hypogammaglobulinemia: review of the literature. *J Clin Med*. 2020;9(2):553. <https://doi.org/10.3390/jcm9020553>
17. Nelson JM, Chiller TM, Powers JH, Angulo FJ. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. *Clin Infect Dis*. 2007;44(7):977-80. <https://doi.org/10.1086/512369>
18. Nielsen H, Hansen KK, Gradel KO et al. Bacteraemia as a result of *Campylobacter* species: a population-based study of epidemiology and clinical risk factors. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(1):57-61. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02900.x>
19. Otsuka Y, Hagiya H, Takahashi M. et al. Clinical characteristics of *Campylobacter* bacteremia: a multicenter retrospective study. *Sci Rep*. 2023;13(1):647-53. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-27330-4>
20. Skirrow MB, Jones DM, Sutcliffe E, Benjamin J. *Campylobacter* bacteraemia in England and Wales, 1981-91. *Epidemiology and Infection*. 1993;110(3):567-73. <https://doi.org/10.1017/S0950268800050986>
21. Sproston EL, Wimalarathna HML, Sheppard SK. Trends in fluoroquinolone resistance in *Campylobacter*. *Microb Genomics*. 2018;4(8):1-8. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000198>
22. T.C Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı Enterik Patojenler BMT-10 *Campylobacter* Enfeksiyonları "Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi Cilt 1." rehberinde s.243-45, Ankara (2014). Erişim adresi: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_1.pdf (son erişim tarihi: 24.06.2024)