

İçindekiler

Contents

Sayfa (page)

ARAŞTIRMA MAKALELERİ

- ***Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarında duyarlılık oranları** 1
Sensitivity ratios in Mycobacterium tuberculosis complex isolates
Asist Dr Beyza ÖNCEL, Prof Dr Ayşegül KARAASLAN, Prof Dr Arzu İLKİ,
Prof Dr Güner SÖYLETİR
- **Tam idrar tetkiki ve idrar kültürünün gebe popülasyonunda karşılaştırması** 6
Comparison of urinalysis and urine culture test in pregnancy
Uzm Dr Nihan ÇEKEN, Dr Öğr Üyesi Esin AVCI
- **Gümüşhane ili içme sularından izole edilen *Escherichia coli* izolatlarında antibiyotik direnci ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının araştırılması** 12
An investigation of antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamase presence in Escherichia coli strains isolated from drinking water collected from Gümüşhane province
Yrd Doç Dr Figen KAYSERİLİ ORHAN, Prof Dr Ülkü ALTOPARLAK, Bio Levent ODACI
- **Solunum yolu örneklerinde *Streptococcus pneumoniae*'nin saptanmasında optokin duyarlılığı, safrada erime ve *psaA* polimeraz zincir reaksiyonu yöntemlerinin yeri** 18
The role of optochin sensitivity, bile solubility and psaA polymerase chain reaction methods in the diagnosis of Streptococcus pneumoniae in respiratory tract samples
Uzm Dr Barış CAN, Prof Dr M.Derya AYDIN

Sahibi / Owner

Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği
adına Dernek Başkanı Prof. Dr.
Bülent GÜRLER (On behalf of the
Society of Antimicrobial Chemot-
herapy)

Editör / Editor

Prof. Dr. Derya AYDIN

Yardımcı Editörler / Associate Editors

Doç. Dr.
Dolunay GÜLMEZ KIVANÇ
Uzm. Dr.
D. Bahar AKGÜN KARAPINAR

Yazışma Adresi / Correspondence Address

Prof. Dr. Derya AYDIN
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

Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği
Society of Antimicrobial
Chemotherapy

Hazırlık ve Baskı:



LOGOS YAYINCILIK TİC. A. Ş.
Yıldız Posta Cad. Sinan Apt. No. 36
D.66/67 34349 Gayrettepe-İstanbul
Tel: (0212) 288 05 41-(0212) 288 50 22
Faks: (0212) 211 61 85
e-mail: logos@logos.com.tr
http://www.logos.com.tr

Yılda 1. sayı Nisan, 2. sayı Ağustos, 3. sayı Aralık olmak üzere üç sayı (dört ayda bir) yayınlanır.

ISSN 1301 - 3114
e-ISSN 2667 - 7652

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.
www.ankemdernegi.org.tr

- **VITEK-MS sistemi ile karbapenemaz üretiminin hızlı tespiti** 24

Rapid detection of carbapenemase detection by VITEK-MS

Araş Gör Gülşen ALTINKANAT GELMEZ, Uzm Dr Barış CAN,

Prof Dr Ufuk HASDEMİR, Prof Dr Güner SÖYLETİR

OLGU SUNUMU

- **Diş tedavisini takiben gelişen, *Streptococcus anginosus*'a bağlı, omuz eklemine tutan bir septik artritis olgusu** 31

A case of septic arthritis of shoulder joint due to Streptococcus anginosus following a dental treatment

Doç Dr Ali İlgin OLUT, Dr Funda BALAYLAR, Dr Mehmet Umut ÇAYIRÖZ,

Doç Dr Taşkın ALTAY

- **ANKEM Dergisi Yazım Kuralları** III-IV

Editorial Rules of Bulletin of ANKEM

- **34. ANKEM Akılcı Antibiyotik Kullanımı Kongresi** V

Mycobacterium tuberculosis Kompleksi

Suşlarında Duyarlılık Oranları

Beyza Öncel ©
Ayşegül Karahasan ©
Arzu İlki ©
Güner Söyletir ©

Sensitivity Ratios in Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates

ÖZ

Amaç: Tüberküloz tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak halen önemini korumakta, özellikle dirençli suşlarla infekte olan hastalarda ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmak-tadır. Bu çalışmanın amacı klinik örneklerden izole edilmiş Mycobacterium tuberculosis komp-lexsi (MTK) suşlarının primer anti-tüberküloz ilaçları olan izoniazid (INH), rifampisin (RIF), streptomisin (SM) ve etambutole (ETM) karşı geliştirdikleri direnç oranlarının tespit edilmesi-dir.

Yöntem: Ocak 2011-Eylül 2017 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen 15,172 örnek işle-me alınmış, Kinyoun ve Auramin-Rhodamin boyama ile preparatlar hazırlanıp, Löwenstein-Jensen ve Middlebrook 7H9 besiyerlerine ekimi yapılmıştır. MTK olduğu saptanan 251 suşun pri-mer anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılıkları BACTEC MGIT 960 otomatize sistem cihazı ile saptan-mıştır. Suşların 181'i (% 72) test edilen tüm ilaçlara duyarlı iken ilaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 20, % 5.2, % 9.6 ve % 8.2 olarak bulunmuştur. En az izoniazid ve rifampisine direnç gösteren çok ilaca dirençli MTK suş sayısı 10 (% 4) olarak bulunmuştur.

Sonuç: Tüberküloz hastalığı günümüzde hala önemini korumaktadır. Tüberküloz tanısı koyabilmek ve tedavide direnç gelişimini önlemek için her hastaya kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması, verilerin elde edilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Mycobacterium tuberculosis, antimikrobiyal ilaç direnci, antitüberküloz anti-biyotikler

ABSTRACT

Introduction: Tuberculosis remains a serious public health problem in the world and causes seri-ous morbidity and mortality, particularly in patients infected with resistant strains. The aim of this study was to determine the resistance rates of Mycobacterium tuberculosis complex (MTC) strains isolated from clinical samples against isoniazid (INH), rifampicin (RIF), streptomycin (SM) and ethambutol (ETM) which are primary anti-tuberculosis drugs.

Method: Between January 2011 and September 2017, 15,172 samples were sent to the labora-tory. Preparations with Kinyoun and Auramine-Rhodamine staining were prepared and cultivated in Löwenstein-Jensen and Middlebrook 7H9 media. The primary anti-tuberculosis drugs suscepti-bility of 251 MTC strains was determined by BACTEC MGIT 960 automated system device. While 181 (72 %) of the strains were susceptible to all drugs tested, the total resistance rates for each of the drugs were 20 %, 5.2 %, 9.6 % and 8.2 % for INH, RIF, SM and ETM, respectively. The num-ber of multi-drug resistant MTC strains was 10 (4 %).

Conclusion: Tuberculosis disease still remains important today. In order to diagnose tuberculosis and to prevent the development of resistance in treatment, it is necessary to study the culture and antibiotic susceptibility tests and to obtain data.

Keywords: Mycobacterium tuberculosis, antimicrobial drug resistance, antitubercular antibiotics

Alındığı tarih: 23.11.2018

Kabul tarihi: 14.02.2019

Yayın tarihi: 30.04.2019

Beyza Öncel

Marmara Üniversitesi Pendik EAH
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
Fevzi Çakmak Mah., Mimar Sinan Cad.
No:10, Üstköy, Pendik
İstanbul - Türkiye
✉ beyza.asker1@gmail.com
ORCID: 0000-0002-2857-8635

A. Karahasan 0000-0002-1560-2624

A. İlki 0000-0003-3887-7003

G. Söyletir 0000-0001-5695-731X

Marmara Üniversitesi Pendik EAH
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
Fevzi Çakmak Mah., Mimar Sinan Cad.
No:10, Üstköy, Pendik
İstanbul - Türkiye



GİRİŞ

Tüberküloz (TB), tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak halen önemini korumaktadır. Dünya Sağlık Örgütü 2018 Global Tüberküloz Raporu'na göre 2017 yılında 10 milyon yeni TB vakası saptanmış, insidans 133/100,000 olarak verilmiştir⁽¹⁹⁾. Tüm dünyada özellikle Asya ve Afrika'da önemli bir hastalık ve ölüm sebebi olan TB, 2017 yılında 1,3 milyon kişinin ölümüne sebep olmuştur. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Türkiye'de Verem Savaşı 2017 Raporu'na göre ülkemizde 2015 yılında 8,100'ü (% 55.8) erkek ve 6,400'ü (% 44.2) kadın toplamda 14,500 yeni tüberküloz olgusu kayıtlara girmiştir⁽¹⁶⁾.

Tüberkülozun önlenmesi ve tedavisi için mikobakterilerin hızlı ve doğru tanısı önem taşımaktadır. Tanı için kullanılan yayma mikroskopisi oldukça hızlı ve ucuz bir yöntem olmasına karşın düşük duyarlılığı ve negatif prediktif değeri açısından sınırlı bir değeri vardır. Tanı için altın standart kültürdür⁽¹⁷⁾.

TB tedavisinde birinci seçenek ilaçlar; izoniazid (INH), rifampisin (RIF), etambutol (ETM) ve streptomisin (SM). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi ve DSÖ tarafından tüberkülozun başlangıç tedavisinde birinci seçenek ilaçların kombine kullanımı önerilmektedir. Ancak, dünyada olduğu gibi Türkiye'de de birinci seçenek anti-TB ilaçlara direnç önemli bir sorundur⁽⁶⁾.

İlaça direnç surveyansının yapılması tüberküloz kontrol ve tedavi programlarının temelini oluşturur. Bu çalışmada, laboratuvarımızda izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTK) izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlardan INH, RIF, SM ve ETM'e tekli ve çoklu direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2011-Eylül 2017 tarihleri arasında gelen 8,282 pulmoner ve 6,890 ekstrapulmo-

ner örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Klinik örneklerin N-asetil-L-sistein (NALC) ve sodyum hidroksit (NaOH) ile homojenizasyonu ve dekontaminasyonu yapılırken, steril kabul edilen (plevra sıvısı, beyin omurilik sıvısı gibi) örnekler dekontaminasyona tabi tutulmadan, miktarı yeterli ise santrifüj edilerek ekim işlemine alınmıştır. Örneklerden mikrobiyolojik inceleme için Kinyoun ve Auramin-Rhodamin boyama ile preparatlar hazırlanmıştır. Kültür için işlenmiş örneklerin Löwenstein- Jensen katı besiyerine (Becton Dickinson, ABD) ve içerisinde Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri bulunan MGIT tüplerine (Mycobacterial growth indicator tubes, BD, ABD) üretici önerileri doğrultusunda ekimi yapılmıştır. Katı ve sıvı besiyerine yapılan ekimler sekiz hafta inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda üreme olmaması durumunda örnekler negatif olarak değerlendirilmiştir. Üreme olduğunda, aside dirençli basil varlığını saptamak için besiyerinden Kinyoun boyama ile preparatlar hazırlanmıştır. MTK tanımlanması için MPT64 antijenini saptayan immunokromatografik yöntem kullanılmıştır. Duyarlılık testleri, streptomisin, izoniazid, rifampisin ve etambutol (SİRE) kiti kullanılarak nonradyometrik bir yöntem olan BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) sistemi ile, üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Bir hastanın aynı tür örneğinde birden çok kez üreyen MTK izolatına antibakteriyel duyarlılık testi yapılmış ise bu hastanın ilk izolatu çalışmaya alınmıştır. Duyarlılık testlerinin kalite kontrolünde, denenen ilaçlara duyarlı olduğu bilinen *M.tuberculosis* ATCC 27294 (H37Rv) suşu kullanılmıştır. Laboratuvarımızda GeneXpert MTB/RIF (Cepheid, ABD) testi ile moleküler yöntemlerle MTK varlığı ve rifampisin direnci belirlenebilmektedir. Mikobakteri kültürü istenen her hastada moleküler test istenmediği için bu veriler çalışmamıza dahil edilmemiştir.

Çalışmanın yapıldığı laboratuvar Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Ulusal antimikrobiyal direnç surveyans programına, NEQAS (National External Quality Assessment Site) ve Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü dış kalite kontrol programına dahildir.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 15,172 örneğin % 55'inin solunum örneği, % 45'inin solunum yolu dışındaki örnekler olduğu gözlenmiştir. Değerlendirilen 15,172 örneğin 355'inde MTK, 71'inde tüberküloz dışı mikobakteri saptanmıştır. Üreme saptanan bu 426 örneğin 147'sinde (% 34.5) yayma pozitifliği görülmüştür.

Aynı hastaya ait MTK kökenlerinden bir tanesi alınarak toplam 251 örnek için antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Bu suşların 159'u (% 63.3) solunum sistemi, 92'si (% 36.7) solunum sistemi dışı örneklerden izole edilmiştir (Tablo 1).

Table 1. Antibiyotik duyarlılık testleri yapılan *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı.

	Örnek tipi	Sayı (%)
Solunum sistemi örnekleri	Balgam	72 (28.6)
	Bronkoalveolar lavaj	76 (30.2)
	Trakeal aspirat	4 (1.5)
	Plevra sıvısı	7 (2.7)
Solunum sistemi dışı örnekler	İdrar	6 (2.3)
	Doku-Apse	64 (25.4)
	Steril vücut sıvıları	14 (5.5)
	Açlık mide suyu	8 (0.3)
Toplam		251

Table 2. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izolatlarının tek ve çok ilaca direnç oranları.

	Direnç saptanan antibiyotik	Sayı (%)
Tek ilaca direnç	INH	29 (11.5)
	RIF	4 (1.5)
	SM	6 (2.4)
	ETM	8 (3)
İki ilaca direnç	INH+RIF	2 (0.7)
	INH+SM	7 (2.7)
	INH+ETM	2 (0.7)
Üç ilaca direnç	INH+SM+ETM	4 (1.5)
Dört ilaca direnç	INH+RIF+SM+ETM	8 (3)
Çok ilaca direnç	En az INH ve RIF	10 (4)
Toplam		251

INH: Isoniazid, RIF: Rifampisin, SM: Streptomisin, ETM: Etambutol

İzole edilen MTK suşlarının antitüberküloz duyarlılık testleri sonucunda 181 (% 72) suş test edilen tüm ilaçlara duyarlı bulunurken, 70 suş için bir veya birden fazla ilaca karşı direnç gözlenmiştir. İlaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 20, % 5.2, % 9.6 ve % 8.2 olarak bulunmuştur. Tek ilaca ve birden fazla ilaca direnç oranları Tablo 2'de gösterilmiştir. En az INH ve RIF'e direnç gösteren çok ilaca dirençli MTK suş sayısı 10 (% 4) olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Günümüzde tüberküloz hala önemini korumakta, özellikle dirençli suşlarla enfekte olan hastalarda ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Bu nedenle MTK'in saptanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması, uygun tedavi rejimlerinin saptanması büyük öneme sahiptir^(1,12).

Laboratuvarımızda tüberküloz tanısında Kinyoun ve Auramin-Rhodamin boyama ile ARB aranması ve kültür testleri kullanılmaktadır. Mikroskopik inceleme tüberküloz tanısında basit, hızlı, ucuz ve özgül bir yöntem olmasına rağmen düşük duyarlılığa sahiptir⁽¹⁴⁾. Direkt preparat duyarlılığının % 22 ile % 78 arasında olduğu bildirilmiştir⁽⁷⁾. Nitekim çalışmamızda yayma pozitiflik oranı % 34.5 saptanmıştır.

Laboratuvarımızda, kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçlanma süresini Löwenstein Jensen besiyerine göre daha aza indiren otomatize sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemler ile laboratuvarımıza yaklaşık altı yıllık bir süre içinde tüberküloz ön tanısı ile gönderilen örneklerin % 2.8'inde kültür pozitifliği elde edilmiştir. 2011 yılında Kurtoğlu ve ark.'nın⁽¹¹⁾ yaptığı çalışmada tüm örnekler arasında kültürde saptama oranı bizim çalışmamızın sonucuyla benzer olup % 2.8 bulunmuştur. Aydın ve ark.'nın⁽⁴⁾ yaptığı çalışmada bu oran % 5.8 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda kültür pozitifliği oranının düşük olması hastanemizin göğüs hastalıkları dal hastanesi olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

Özmen ve ark.'nın⁽¹³⁾ 2014- 2016 yılları arasında Erzurum Bölge Tüberküloz Laboratuvarı'na gelen örneklerden MTK olduğu saptanan 120 suşla yaptığı

çalışmada, suşların 106'sının (% 88.3) her dört antibiyotiğe duyarlı olduğu saptanmıştır. Aydın ve ark.'nın⁽⁴⁾ 2005-2010 yılları arasında yaptığı çalışmada 212 kültür pozitif tüberkülozlu hastanın 55'inde (% 26) INH, RIF, SM ve ETM'den herhangi birine karşı direnç saptanmış; ilaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 17.5, % 5.7, % 13.7 ve % 5.7 olarak bildirilmiştir. Türkiye'nin değişik bölgelerinde son yıllarda yapılan çalışmalarda da tek başına INH, RIF, ve SM ve ETM için direnç oranları % 12-18.2, % 0-10.1, % 4-15.8, % 0-6 arasında değişmektedir^(2,5,8,9,18). Bizim çalışmamızda antibiyogramı yapılan 251 suşun 70'inde (% 28) dört ilacın herhangi birine karşı direnç saptanmış, ilaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 20, % 5.2, % 9.6 ve % 8.2 olarak bulunmuştur.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda en sık tek ilaca direncin INH ve SM'e karşı olduğu bildirilmiştir^(3,13). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde INH ve SM direncinin diğer antibiyotiklere karşı daha yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle INH direnci yüksekliğinin, bu ilacın hem profilaksi hem de tedavide sıklıkla kullanılması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

İspanya'da 15 yıllık verilerle yapılan bir çalışmada 1,207 suşun 207'sinde (% 17.2) INH, RIF, SM ve ETM'den herhangi birine karşı direnç saptanmış, ilaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 5.3, % 1, % 3, % 0.2 olarak bulunmuştur⁽¹⁰⁾. Bu direnç oranları aynı yazarların önceki çalışmalarındaki direnç oranlarından daha düşük bulunmuştur. Bu durum sürveyans çalışmalarının klinik dikkati arttırması ve bölgedeki antitüberküloz ilaç direncine göre doğru tedavi verilmesiyle açıklanabilir.

Çalışmamızda, 10 (% 4) izolatin en az INH ve RIF'a direnç gösteren çok ilaca dirençli (ÇİD) MTK suşu olduğu tespit edilmiş olup, bu oran ülkemizdeki diğer çalışmalara yakın değerlerdedir. Özmen ve ark.'nın⁽¹³⁾ yaptığı çalışmada ÇİD MTK suş sayısı 4 (% 3.3) olarak saptanmış, Aydın ve ark.'nın⁽⁴⁾ yaptığı çalışmada ÇİD MTK suş sayısı 10 (% 4.8) olarak bulunmuştur. Tüberküloz Laboratuvar Sürveyans Ağı (TuLSA) grubu tarafından 2011 yılında yapılmış olan ve ülke-

mizdeki birçok tüberküloz laboratuvarı ve verem savaş dispanserinin katıldığı çok merkezli çalışmada ise tespit edilen ÇİD MTK oranı % 3.5'tir⁽¹⁵⁾.

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2018 yılı raporuna göre yeni vakaların % 3,5'i tedavi görmüşlerin % 18'i ÇİD tüberküloz olarak belirlenmiştir⁽¹⁹⁾. Küresel Tüberküloz 2016 Raporu ÇİD-TB haritalarında Türkiye'de yeni tüberküloz olgularında Rifampisin dirençli(RD)/ÇİDTB oranı % 3-5.9 aralığında, önceden tedavi görmüş tüberküloz olgularında RD/ÇİD-TB oranı ise % 12-29.9 aralığında verilmiştir⁽¹⁶⁾. Elde edilen bu veriler ışığında, bölgemizde son yıllarda ÇİD MTK oranının ülke ve dünya geneli ortalama ile uyumlu olduğu dikkati çekmektedir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçların primer veya kazanılmış bir direnç olup olmadığı bilinmemektedir. Hasta bilgileri ve klinik seyri hakkındaki verilere laboratuvarla ulaşmak pek mümkün olmamaktadır. Bu husus çalışmanın kısıtlılığı olarak belirtilebilir.

Kullanılan antibiyotiklere karşı oluşan direnç sorunu tedavi protokollerini etkilemekte, hastanın tedaviye uyumunu zorlaştırmakta ve tedavi maliyetlerini artırmaktadır. Bu sebeple tüberküloz tedavisinde direnç gelişimini önlemek ve tedavinin sağlıklı bir şekilde yapılabilmesi için her hastaya kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması, verilerin elde edilmesi gerekmektedir. Bölgesel düzeyde elde edilen bu verilerin sürekli olarak takibi, ülkemizde başarılı bir tüberküloz sürveyans programının uygulanmasına büyük katkı sağlayacaktır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

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

KAYNAKLAR

1. Abubakar I, Zignol M, Falzon D, et al. Drug-resistant tuberculosis: time for visionary political leadership. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(6):529-39. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70030-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70030-6)
2. Artan C, Deniz E, Biraderoğlu H, et al. Solunum yolu örneklerinden izole edilen *Mycobacterium*

- tuberculosis kompleksi izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2013;27(4):179-83.
3. Aslan G, Delialioğlu N, Emekdas G ve ark. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının izoniazid, rifampisin, streptomisin ve etambutol duyarlılıklarının BACTEC yöntemi ile belirlenmesi. ANKEM Derg. 2005;19(1):43-7.
 4. Aydın F, Kaklıkkaya N. Klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. Mikrobiyol Bul. 2011;45(1):36-42.
 5. Aydın O, Beğendik Cömert F, Külah C, et al. Zonguldak ilinde izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının primer anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılığının BACTEC MGIT 960 sistemi ile belirlenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2008;38(2):61-70.
 6. Babacan F, Hasdemir U. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks, "Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds.) Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Etkenlere göre Enfeksiyonlar Cilt 2, 3. baskı", kitabında s.2283-2302, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, (2008).
 7. Berlin OGW. *Mycobacteria*, "Baron EJ, Finegold SM (eds.) Diagnostic Microbiology, Missouri: Mosby Company; 1990:597.
 8. DüNDAR D, Sönmez Taner GG. *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Klimik Derg. 2009;22(2):52-4.
 9. Ekşi F, Zer Y, Karslıgil T, et al. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının major antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2009;39(3-4):89-93.
 10. Gutiérrez-Aroca JB, Ruiz P, Vaquero M, et al. Surveillance of drug-resistant tuberculosis in Spain (2001-2015). Microbial Drug Resistance. 2018;24(6):839-43.
 11. Kurtoğlu MG, Yüksekaya Ş, Özdemir M, et al. Bir eğitim ve araştırma hastanesinin mikobakteriyoloji laboratuvarında direkt preparat ve kültür sonuçlarının karşılaştırılması. Selçuk Üniversitesi Tıp Derg. 2011;27(2):69-72.
 12. Nachega JB, Chaisson RE. Tuberculosis drug resistance: a global threat. Clin Infect Dis. 2003;36(Suppl 1):24-30. <https://doi.org/10.1086/344657>
 13. Özmen E, Aslan A, Uçar M, Erzurum bölge tüberküloz laboratuvarında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarının primer anti-tüberküloz ilaçlara direnç oranları. ANKEM Derg. 2017;31(2):53-8.
 14. Parrish NM, Carroll KC. Role of the clinical mycobacteriology laboratory in diagnosis and management of tuberculosis in low-prevalence settings. J Clin Microbiol. 2011;49(3):772-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.02451-10>
 15. Sezen F, Albayrak N, Özkara Ş ve ark. Ulusal tüberküloz laboratuvar surveyansına ilk adım; Ankara, 2011. Mikrobiyol Bul. 2015;49(2):143-55. <https://doi.org/10.5578/mb.9170>
 16. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı. Türkiye'de Verem Savaşı 2017 Raporu, Sağlık Bakanlığı, Ankara (2017).
 17. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi, (2014).
 18. Uçar E, Kılıç A, Ceyhan İ ve ark. Ülkemizin yedi farklı bölgesinden 2003-2006 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının majör anti-tüberküloz ilaçlara direnç oranları. Mikrobiyol Bul. 2010;44(1):11-9.
 19. World Health Organisation. Global Tuberculosis Control: WHO report 2018. https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/

Tam İdrar Tetkiki ve İdrar Kültürünün Gebe Populasyonunda Karşılaştırılması*

Nihan Çeken ©

Esin Avcı ©

Comparison of Urinalysis and Urine Culture Test in Pregnancy

Öz

Amaç: Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) gebelikte en sık görülen enfeksiyonlardandır. Gebelikte mekanik ve hormonal faktörlerin yol açtığı fizyolojik değişiklikler nedeniyle idrar yolu enfeksiyonu riski artar. Ayrıca mesanenin yetersiz boşalması nedeniyle, idrarın bir kısmı burada kalarak bakteri üremesine zemin hazırlar. Bu çalışmada amacımız 1. basamak aile hekimlerine başvuran gebelerde ÜSE sıklığını belirlemek ayrıca tam idrar tetkiki (TİT) ve kültür sonuçları arasındaki uyumu saptamaktır.

Yöntem: Laboratuvar bilgi sisteminde 2014 yılı süresince Aile Sağlığı Merkezleri'nden (ASM, birinci basamak sağlık merkezleri) Halk Sağlığı Laboratuvarı'na gönderilen, gebelere ait toplam 1295 TİT ve idrar kültür istemi saptanmıştır. Laboratuvarımıza kabul edilen ve eş zamanlı kültür ile TİT istemi bulunan 1191 örnek çalışmaya alınmıştır. TİT, Labumad UriSed (77 Electronica, Budapest, Hungary) cihazında yapılmıştır. Kültür çalışması konvansiyonel yöntemler ile mikrobiyoloji uzmanı tarafından gerçekleştirilmiştir. Kültür altın standart olarak kabul edilerek TİT-kültür karşılaştırması gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Kültür analizi sonucu üremesi olan 107 numunenin 41'inde TİT sonucunda pozitif özellikli saptanmıştır. Bunlar bakteri/lökosit varlığı ve nitrit pozitifliğidir. Kültürlerde 92 *Escherichia coli*, sekiz *Klebsiella* spp., beş *Proteus mirabilis* ve iki diğer idrar yolu patojeni saptanmıştır. Örneklerin 292'sinde (% 24.5) kontaminasyon saptandığından örnek tekrarı istenmiş, 768 örnekte ise üreme olmamıştır.

Sonuç: Çalışmamızda TİT'in duyarlılığının düşük özgüllüğünün yüksek olduğu görülmüştür. Bu nedenle, gebelerde tek başına idrar yolu enfeksiyonunu dışlamakta TİT yetersiz kalmış ve gebelerde tüm gebelik süreci boyunca mutlaka en az bir kez idrar kültür istemi yapılması yararlı olabilecektir. Ayrıca, kontaminasyon sayılarının yüksek olması, idrar kültür test değerlendirilmesinde preanalitik sürecin önemli bir yer tuttuğunu çalışmamız bir kez daha göstermiştir.

Anahtar kelimeler: gebelik, idrar kültür testi, tam idrar analizi

ABSTRACT

Objective: Urinary tract infections (UTI) are one of the most commonly diagnosed infections in pregnancy. The risk of urinary tract infection increases due to physiological changes caused by mechanical and hormonal factors. In addition, due to inadequate discharge of the bladder, some of the urine remains and prepares the suitable environment for bacterial growth. The aim of this study was to determine the incidence of UTIs in pregnant women who applied to primary care physicians and to determine the concordance between complete urinalysis and culture results.

Method: A total of 1295 urinalysis and urine culture requests of pregnant women submitted to Public Health Laboratory from Family Health Centers (FHC, primary healthcare centers) during 2014 were detected in the Laboratory Information System (LIS). Of these, 1191 accepted specimens with simultaneous urine culture and urinalysis requests were included the study. Urinalyses were done in LabUMat-UriSed (77 Electronica, Budapest, Hungary). Culture was performed with conventional methods by the microbiology specialist. Urinalysis-culture result comparison was made by accepting culture as the gold standard.

Results: Of the 107 culture positive specimens, 41 had positive urinalysis result. Those are presence of bacteria/leucocyte and positive nitrit result. In cultures, 92 *Escherichia coli*, eight *Klebsiella* spp., five *Proteus mirabilis* and two other urinary tract pathogens were detected. Repeat testing was requested in 292 (24.5 %) samples because of contamination and no growth was detected. No growth was detected in 768 of the specimens.

Conclusion: In our study, low sensitivity and high specificity were detected for urinalysis. Therefore, urinalysis could not rule out UTI and at least one compulsory urine culture submission during the pregnancy period might be beneficial. In addition, high contamination rate showed the importance of preanalytical phase in evaluation of urine culture results once again.

Keywords: pregnancy, urine culture test, urinalysis

Alındığı tarih: 25.01.2019

Kabul tarihi: 22.04.2019

Yayın tarihi: 30.04.2019

Esin Avcı

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Denizli - Türkiye

✉ hekimesin@gmail.com

ORCID: 0000-0002-9173-0142

N. Çeken 0000-0003-1877-7320

Balıkesir Devlet Hastanesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Balıkesir - Türkiye

*33. ANKEM Akılcı Antibiyotik

Kullanımı Kongresi'nde sunulmuştur.

Sözlü bildiri No:SB17-45

(2-6 Mayıs 2018, Fethiye)



© Telif hakkı Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Derneği'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Society of Antimicrobial Chemotherapy. This journal published by Logos Medical Publishing. Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), kısa üretra ve üretranın anatomik olarak anal bölgeye yakın olması nedeni ile kadınlarda daha sıklıkla karşımız çıkmaktadır. Gebelikte ortaya çıkan anatomik, fizyolojik ve hormonal değişiklikler normal popülasyona göre enfeksiyon sıklığını arttırmaktadır^(2,17). İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) asemptomatik bakteriüriden akut piyelonefrite kadar değişebilen çok farklı klinik durumları içermektedir. Asemptomatik bakteriüri hastada semptom olmaksızın idrarda belirgin bakteri olması durumuna denmektedir⁽⁷⁾. Gebelerde asemptomatik bakteriüri % 4-7 oranında görülebilmekte ve semptomatik ÜSE, postpartum ÜSE'ye veya pyelonefrite yol açabilmektedir⁽¹⁸⁾. Bu populasyonda en sık rastlanan suş ise toplum kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarına benzer şekilde *Escherichia coli* olarak saptanmıştır⁽¹⁰⁾.

Asemptomatik bakteriürinin monitorizasyonu ve takibi, Sağlık Bakanlıkları hedefinde yer alan maternal ve fetal sağlığın geliştirilmesi doğrultusunda önemli bir yer kaplamaktadır. Tanı konulmamış bakteriürinin yan etkileri nedeni ile aile hekimine başvuran gebe kadınlarda mutlaka idrar kültürü yapılmalıdır⁽¹³⁾.

Bu hedeften yola çıkarak halk sağlığı laboratuvarımıza gelen gebe idrar örneklerinde ÜSE ön tanısında hızlı bir test olarak kullanılan tam idrar tetkiki (TİT) ile altın standart olmakla birlikte daha uzun zaman alan idrar kültürü sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Uşak ili Aile Sağlığı Merkezleri'nde (ASM) çalışan aile hekimlerinin 2014 yılı boyunca ASM'lere başvuran gebeler için yaptıkları TİT ve idrar kültür istemleri Uşak ili Halk Sağlığı Laboratuvarı Laboratuvar Bilgi Sistemi'nden (LBS) retrospektif olarak alınmıştır.

Çalışmaya uygun olmayan numune, yanlış kap kullanımı, kapağın açık kalması, barkotsuz numune, istemin yanlış yapılması/yapılmaması, beklemiş numune çalışmamızda ret nedenleri olarak tanımla-

nan preanalitik hatalardır.

Preanalitik hataların azaltılmasına yönelik aile hekimlerine ve de aile sağlığı elemanlarına yılda en az 1 kez eğitim verilmiştir.

Örnek Analizi:

Tam idrar tetkiki analizleri LabUMat&UriSed (77 Elektronik Kft, Budapeşte, Macaristan) cihazında gerçekleştirilmiştir. LabUMat kısmı kimyasal analizleri gerçekleştirirken, UriSed kısmında dijital görüntüleme yöntemi ile tam saha görüntüsü elde edilmiştir. TİT analiz⁽²⁰⁾ sonucuna göre pozitif olarak kabul edilen eşik (cut-off) değerleri aşağıdaki şekildedir: Mikroskopide her alanda >10 lökosit >100 bakteri; kimyasal test sonucunda lökosit pozitifliği, nitrit pozitifliği.

Tam idrar tetkiki ile eş zamanlı gelen gebe idrar örneklerinden idrar kültürü çalışılmıştır. Örnekler % 5 koyun kanlı agar ve Eosin Methylene Blue (EMB) agar plaklarına ekilmiş ve 37°C'de 18-24 saat aerob koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 10³ CFU/ml ve üzeri üreme saptanan örnekler işleme alınmıştır⁽⁷⁾. Konvansiyel yöntemler kullanılarak TSI (Üç şekerli demir agar), indol, metil kırmızısı, Voges-Proskauer, sitrat ve üre besiyeri kullanılarak tanımlanmıştır⁽¹⁾. Üremesi olan grubun antibiyogramı gerçekleştirilmiştir^(4,5). Kontaminasyon olarak değerlendirilen örnekler çalışma dışı bırakılmıştır. Kontaminasyon için; karışık bir üreme komplike olmayan poliklinik hastalarında büyük olasılıkla kontaminasyonu işaret edebildiğinden yada düşük seviyelerde <10⁴/ml deri ve dış ile iç genital bölgelerde bulunan organizmalar kontaminasyon olarak değerlendirilir⁽¹¹⁾. Üreyen mikroorganizmalar konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmıştır.

İstatistiksel Analiz:

Kültür altın standart kabul edilerek, idrarın kimyasal ve mikroskopik incelemesi ile karşılaştırılmıştır.

Karşılaştırma için TİT sonuçları dört gruba ayrılmıştır.

1. Grup: Lökosit >10 /hpf + Bakteri >100 /hpf + Lökosit pozitif + Nitrit pozitif

2. Grup: Lökosit >10 /hpf + Bakteri >100 /hpf +

Nitrit pozitif

3. Grup: Bakteri >100 /hpf + Nitrit pozitif

4. Grup: Çalışmaya alınan dört TİT bulgusu da negatif

SPSS 15 kullanılarak idrar yolu enfeksiyonu göstergesi olabilecek testlerin tanısal doğruluk parametreleri ve güven aralığı hesaplanmış ve TİT'in kültür istemini öngörmedeki performansı değerlendirilmiştir. Her bir grup için tanısal testlerin performansı ve güven aralıkları hesaplanmıştır.

BULGULAR

Laboratuvar Bilgi Sisteminden geriye dönük olarak alınan verilere göre; 1295 gebeye ait aynı anda TİT ve/veya idrar kültür analiz istemi gerçekleş-

tirilmiştir. Çalışmaya alınmayan örnek sayısı 104'tür. Bunlardan 19'u numunenin çalışmaya uygun olması (yanlış kap, kapak açılması, barkodsuz numune), 68'ü sadece kültür istemi yapılmış olması, 17'si ise sadece TİT istemi yapılmış olması nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır. Eşzamanlı TİT ve kültür istemi olan ve çalışmaya kabul edilen örnek sayısı 1191'dir. İdrar kültüründe 768 örnekte üreme saptanmamış, 292 örnekte kontaminasyon gözlenmiş, 24 örnekte ise belirgin olmayan üreme kabul edilmiştir (10^2 - 10^3 CFU/ml)⁽⁷⁾ (Tablo 1). Üreyen mikroorganizmalar ve sayıları Tablo 2'de verilmiştir. Gram negatif bakterilerde en sık izole edilen *E.coli*, *Klebsiella* spp. ve *Proteus* spp. izolatlarına en etkili antibiyotikler amikasin, piperasilin-tazobaktam, seftazidim ve kinolon grubu olarak bulunmuştur. Üreme saptanan 107 örneğin belirtilen TİT sonuç gruplarına dağılımı ile TİT sonucu ile ÜSE tanısının duyarlılığı ve özgüllüğü Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 1. Kültür sonuçlarına göre örnek dağılımları ve yüzdesi.

Kültür Sonuçları	Örnek n (%)
Belirgin bakteriüri (> 10^3 cfu/ml)	107 (9.0)
Belirgin olmayan bakteriüri (10^2 - 10^3 cfu/ml)	24 (2.0)
Kontaminasyon	292 (24)
Üreme yok	768 (65)
Toplam	1181 (100)

Tablo 2. Üreyen mikroorganizmaların sayı ve yüzde dağılımları.

Üreyen Mikroorganizmalar	n (%)
Escherichia coli	92 (86.0)
Proteus spp.	5 (7,5)
Klebsiella spp.	8 (5.0)
Pseudomonas spp.	1 (0.75)
Citrobacter spp.	1 (0.75)

TARTIŞMA

Üriner sistem enfeksiyonlarının gebelik komplikasyonları asemptomatik bakteriüriden ciddi pyelonefrite kadar geniş bir klinik yelpazede gözlenmektedir⁽⁹⁾. Schieve ve ark.⁽¹⁵⁾ yaptıkları çalışmalarında gebeliği boyunca ÜSE geçiren kadınların prematüre ve preterm düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma riskinin arttığını göstermişlerdir. Bu nedenle aile hekimleri tarafından şikayeti olmayan bir gebede ilk antenatal vizitte (geç ilk veya erken ikinci trimester) ve üçüncü trimesterde tarama amaçlı

Tablo 3. Kültür üreme sonuçlarının TİT ile karşılaştırılması, karşılaştırma sonuçlarına göre idrar analizinin duyarlılık ve özgüllük oranları.

TİT grupları	TİT sonuçları				Kültür pozitif örnek sayısı	Duyarlılık	Özgüllük
	Lökosit (strip)	Nitrit (strip)	Bakteri >100 (mikroskopi)	Lökosit >10 (mikroskopi)			
1. grup	+	+	+	+	11	%10	%29
2. grup	-	+	+	+	12	%21	%31
3. grup	-	+	+	-	18	%38	%55
4. grup	-	-	-	-	66	%38	%29

idrar kültürü çalışılmalı ve yüksek yanlış negatiflik nedeni ile gebe sadece dipstick idrar taraması ile değerlendirilmemelidir^(3,8).

Sonuçlar incelendiğinde 66 örnekte üreme olmasına karşın herhangi bir TİT bulgusu saptanamadığı görülmüştür. Çalışmamız TİT'in kültür yerine geçebilecek bir test olmadığını⁽³⁾ desteklemiştir. LBS verilerine bakıldığında bu 66 gebeye ait ÜSE ön tanısı olmadığı rutin gebe kontrolü için başvurdıkları görülmüş ve bu hastalarda asemptomatik bakteriüri varlığı saptanmıştır. Ülkemizde de asemptomatik bakteriüri sıklığı % 4-12 arasında bildiren çalışmalar mevcuttur⁽¹⁴⁾.

Gram negatif patojenler için anlamlı olan kültürde saf Gram negatif basil ($\geq 10^5$ CFU/ml) üremesi idrar yollarının akut bakteriyel enfeksiyonları ile ilişkilidir⁽¹¹⁾. Ancak, gebe kadınlarda ÜSE'nin potansiyel olarak ciddi sekelleri göz önüne alındığında, bakteriyolojik incelemede üreme sınırları 10^3 olarak kabul edilmiştir.

Tam idrar tahlili zaman ve para kaybını önleyen ve hızlı sonuç elde ederek tedaviye erken başlanmasına yarayan bir test iken kültür en az 48 saat sonra sonuçlanan, zahmetli bir testtir. Ancak, çalışmamız TİT'in gebelerdeki idrar yolu enfeksiyonlarını saptamadaki duyarlılığının düşük olduğuna işaret etmiştir. Bulgular kültür pozitifliğini öngördürmede TİT'in duyarlılığının düşük özgüllüğünün yüksek olduğunu göstermiştir. Bazı çalışmalar ise bulgularımızın aksi yönünde TİT'in duyarlılığının yüksek olduğunu göstermişlerdir^(5,8,9,16). Ancak çalışmamıza benzer şekilde Mokube ve ark.⁽¹³⁾ 102 gebede yaptığı çalışmada nitrit pozitifliği duyarlılığını % 8, lökosit esterazın duyarlılığını % 20.8 bulmuş, bu iki testin özgüllüklerini daha yüksek saptamışlardır⁽¹³⁾. D'souza'nın 100 gebede, idrar kültür testine karşın strip duyarlılığını ortaya koydukları çalışmasında orta akım idrar örneklerinde stripte özellik saptanmaz ise ileri tetkikin gerekli olmadığı, protein ve kan pozitif çıkarsa tedavi verilmeden kültüre örnek gönderilmesi gerektiği ve de nitrit pozitif saptanırsa örneğin kültür için gönderilmesi ama antibiyotik başlanması gereke-

bilir önerilerinde bulunmuştur⁽⁶⁾. Bizim çalışmamızda stripte nitrit pozitifliği ve mikroskopide bakteri varlığında TİT'in özgüllüğünün en yüksek olduğu görüldüğünden bakteriyolojik testler öncesi profilaktik antibiyotik başlanabileceği görüşüne destek olmaktadır. Sezgin'in⁽¹²⁾ 982 çocuk hastada gerçekleştirdiği TİT-idrar kültürü çalışmasında nitrit pozitifliği ile kültürde üreme arasındaki uyum %85 oranında bulunmuş, tanısal performans ölçütlerinin lökosit pozitifliğine göre daha değerli bulgular ortaya koyduğu görülmüştür.

Biz de çalışmamızda her ne kadar TİT in duyarlılığının düşük olmasına karşın özgüllüğü yüksek olduğundan, antenatal vizitlerde ilk önce TİT çalışılması gerekliliğini maliyet etkinliği açısından önerebiliriz. Tincello 898 gebe örneğinde gerçekleştirdiği TİT duyarlılık ve özgüllük çalışmasında strip kullanımının yılda tek başına 4000 avro kazanç sağladığını ortaya koymuştur. İdrar örneklerinin kültür çalışmasına gönderilmeden strip ile analizinin önemli olduğunu ortaya koymuşlardır⁽¹⁹⁾.

Çalışmamızda *Proteus* spp.'nin % 60 oranında ampisilin ve tazobaktama, *Klebsiella* spp.'nin % 28.50 oranında kinolon grubu ajanlara ve *E.coli*'nin ise % 17.39 oranında piperasilin tazobaktama dirençli olduğunu gördük. Benzer şekilde Sibi ve ark.'nın⁽¹⁷⁾ 395 gebe idrarında yaptıkları çalışmada en dirençli suşların *E.coli* ve *Klebsiella* türlerinin olduğunu, en çok direncin ise eritromisin ve amoksisiline karşı geliştiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızın kısıtlılıkları, örneklerin Aile Sağlığı Merkezleri'nden laboratuvarımıza transfer araçları ile taşınması ve örnek toplama aşamasında preanalitik evrenin kontrol edilememesi idi. Bu süreçlerin kontaminasyon oranını yükselttiğini ve gerçek idrar kültürü üremelerini maskeleyiğini düşünmekteyiz. Transfer araçlarımızda nakil sürecini çok yakından takip eden "data logger" sıcaklık takip sistemi kurularak uzaktan erişimle örneklerin sıcaklıkları takip edilmiştir. Ayrıca yılda en az bir kez aile hekimlerine ve aile sağlığı elemanlarına idrar kültür alımı ve de örneklerin taşınması/nakli süreçleri ilgili eğitimler verilmiştir. Tüm bu önlemlere

rağmen çalışmamızda preanalitik ret oranları kayda değer oranda yüksekti.

Sonuçlarımız, hızlı sonuç veren TİT'in asla kültür yerine kullanılabilecek bir tanısal test olmadığını açıkça göstermektedir. Kültür sonuçları ile TİT arasında mutlak korelasyon beklenmemekle birlikte strip testlerde yanlış pozitiflik yada negatiflik göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak maliyet etkinliği açısından strip nitrit pozitifliğinin ve mikroskopide bakteri varlığının gereksiz kültür testleri açısından yönlendirici olabileceğini destekler yönde bulgularımızı da ortaya koyduk. Özellikle ÜSE bir sonucu olarak ciddi komplikasyonlar ile karşı karşıya kalabilecek gebe toplumunda kültürün her trimesterde mutlaka TİT'de pozitif bulgu varlığına bakılmaksızın çalışılması gereklidir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

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

KAYNAKLAR

1. Bilgehan H. Bölüm: 19 İdrar yolu enfeksiyonlarının mikrobiyolojik incelemesi. "Klinik mikrobiyoloji tanı 4. Baskı" kitabında s 379, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir (2004).
2. Chandel LR, Kanga A, Thakur K, et al. Prevalance of pregnancy associated asymptomatic bacteriuria: a study done in a tertiary care hospital. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of India*. 2012;62(5):511-4. <https://doi.org/10.1007/s13224-011-0071-2>
3. Cengiz B, Söylemez F. Gebelik ve idrar yolu enfeksiyonları. *T Klin J Gynecol Obst*. 2001;11
4. Clinical and Laboratory Standards Institute, M100-S24, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - Eleventh Edition January (2014).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Eleventh Edition, M02-A11 Vol. 32 No. 1 Replaces M02-A10 Vol. 29 No. 1, January (2012).
6. D'souza Z. Urinary tract infection during pregnancy- dipstick urinalysis vs. culture and sensitivity. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2004;24(1):22-4. <https://doi.org/10.1080/01443610310001620233>
7. İnan D. İdrar yolu enfeksiyonları, "Topcu WA, Söyletir G, Doğanay M (eds): Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 4. baskı" kitabında s. 1356, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul (2017).
8. Kacmaz B, Ozenc C, Altan A, et al. Evaluation of rapid urine screening tests to detect asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Jpn J Infect Dis*. 2006;59(4):261-3.
9. Khalesi N, Nastaran K, Ali J, Leila A. Evaluation of maternal urinary tract infection as a potential risk factor for neonatal urinary tract infection. *J Family Reprod Health* 2014;8(2):59-62.
10. Koçoğlu E, Karabay O, Koç İnce N, et al. Toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz ve bazı antibiyotiklere direnç sıklığının araştırılması. *ANKEM Derg*. 2007;21(1):5-9.
11. Lynne SG. Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı, 3. baskı (Çeviri Editörü Ahmet Başustaoğlu, Şinasi Taner Yıldırım) Ankara, Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. (2014).
12. Milletli Sezgin F, Nar R. Evaluation of urinary culture and urinalysis results of pediatric patients prediagnosed with urinary tract infection. *Pamukkale Medical Journal*. 2017;10(3):242-8. <https://doi.org/10.5505/ptd.2017.35002>
13. Mokube MN, Atashili J, et al. Bacteriuria amongst pregnant women in the Buea Health District, Cameroon: Prevalence, predictors, antibiotic susceptibility patterns and diagnosis. *Plos One*. 2013;8(8):e71086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071086>
14. Sarı O. Gebelerde asemptomatik bakteriüri sıklığı. *Konuralp Tıp Derg*. 2011(1):9-13.
15. Schieve LA, Handler A, Hershow R, et al. Urinary tract infection during pregnancy: Its association with maternal morbidity and perinatal outcome. *Am J Public Health*. 1994;84(3):405-10. <https://doi.org/10.2105/AJPH.84.3.405>
16. Schmiemann G, Kniehl E, Gebhardt K, et al. The Diagnosis of urinary tract infection: A systematic review. *Dtsch Arztebl Int*. 2010;107(21):361-7. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2010.0361>
17. Sibi G, Kumari P, Kabungulundabungi N. Antibiotic sensitivity pattern from pregnant women with uri-

- nary uract infection in Bangalore. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2014;7(Suppl 1): S116-20.
[https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60216-9](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60216-9)
18. Szweda H, Jozwik M. Urinary tract infections during pregnancy, an updated overview. Dev Period Med. 2016;20(4):263-72.
19. Tincello DG, Richmond DH. Evaluation of reagent strips in detecting asymptomatic, bacteriuria in early pregnancy: prospective case series. BMJ. 1998;316(7129):435-7.
<https://doi.org/10.1136/bmj.316.7129.435>
20. Urinalysis Approved Guideline Third Edition Volume 29 Number 4 ISSN 0273-3079. (2009).

Gümüşhane İli İçme Sularından İzole Edilen *Escherichia coli* İzolatlarında Antibiyotik Direnci ve Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması

Figen Kayserili Orhan 
Ülkü Altoparlak 
Levent Odacı 

An Investigation of Antibiotic Resistance and Extended Spectrum Beta-Lactamase Presence in *Escherichia coli* Strains Isolated from Drinking Water Collected from Gümüşhane Province

ÖZ

Su kaynaklı enfeksiyonlar dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Arıtma tesisi çıkışında bakteriyel standartları sağlayan içme suyu, dağıtım sırasında kirlenebilmekte ve bakteri sayısında artış meydana gelebilmektedir. Antimikrobiyal ajanların insanlardaki kullanım alanları dışında, hayvan yetiştiriciliği ile tarımda da kullanılması, antimikrobiyal dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkmasına ve bunların doğaya özellikle su ve toprağa bulaşmasına katkıda bulunmaktadır.

Bu çalışmada Gümüşhane ili Halk Sağlığı Laboratuvarı'na kontrol izleme analizleri için getirilen içme sularından izole edilen *Escherichia coli* izolatlarında toplumda yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı direnç paterninin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya 2016 yılı Haziran-Eylül ayları arasında, Gümüşhane ili ve çevresinden numune alma koşullarına uygun olarak alınan ve laboratuvara getirilen su örneklerinden izole edilen 50 adet *E.coli* izolatuvarı dahil edilmiştir. Örnekler membran filtrasyon yöntemi ile süzildükten sonra Chromogenic Coliform Agar (CCA-sartorius, Almanya) besiyerine ekim yapılmış ve 36±2 °C'de 21±3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Buradan izole edilen *E.coli* suşları standartta belirtildiği şekilde doğrulamaya alındıktan sonra suşların disk difüzyon yöntemi ile klinik tedavide sıklıkla kullanılan 13 adet antibiyotiğe karşı direnci test edilmiş ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı araştırılmıştır.

Çalışma sonunda *E.coli* izolatlarının 38'i test edilen tüm antibiyotiklere karşı duyarlı bulunurken, 12'si çeşitli antibiyotiklere dirençli ya da orta duyarlı bulunmuştur. İzolatlar sefoksitine % 16 dirençli, % 6 orta duyarlı; seftazidime % 2 dirençli; seftazidime % 2 dirençli; ampicilin sulbaktam % 2 dirençli, % 2 orta duyarlı; piperasiline % 2 dirençli; sefuroksime % 2 dirençli, % 6 orta duyarlı bulunmuştur. Trimetoprim/sülfametoksazol, ertapenem, ampicilin, gentamisin ve amikasinine karşı herhangi bir dirence ve GSBL varlığına rastlanılmamıştır.

Bu çalışma, içme suyunda fekal kirlilik indikatörü olan *E.coli* izolatlarının bulunması içme suyunda fekal bir bulaşın olduğunu gösterirken, üreyen *E.coli* izolatlarında antibiyotiklere direnç yönünden bu bölgede halk sağlığını tehdit edecek boyutta olmadığını düşündürmüştür.

Anahtar kelimeler: antibiyotik direnci, *Escherichia coli*, içme suyu

ABSTRACT

Waterborne infections are important causes of morbidity and mortality worldwide. Drinking water that adheres to the bacterial standards at the water treatment plant output, may be contaminated during distribution and an increase in bacterial count may occur. The use of antimicrobial agents in animal husbandry and agriculture in addition to the uses in humans, contributes to the emergence of antimicrobial resistant microorganisms and their transmission to nature, especially to water and soil. The aim of this study was to determine the resistance of *E.coli* isolates isolated from drinking water and brought to the Public Health Laboratory of Gümüşhane province for control and follow-up analysis.

The study included 50 *E.coli* isolates isolated from the water samples collected from the samples taken from the province of Gümüşhane and its surroundings from June to September 2016. The samples were drained by membrane filtration method and cultured on Chromogenic Coliform Agar (CCA-sartorius, Germany) and incubated at 36 ± 2 °C for 21 ± 3 hours. The isolated *E.coli* strains were confirmed as described in the standard and the resistance of the strains to 13 antibiotics, which were frequently used in clinical treatment, were tested by disc diffusion method and the presence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) was investigated.

At the end of the study, 38 of the *E.coli* isolates were susceptible to all tested antibiotics, while 12 of them were resistant or intermediate to various antibiotics. The isolates were 16 % resistant, 6 % intermediate to cefoxitin; 2 % resistant to cefepime; 2 % resistant to ceftazidime; 2 % resistant, 2 % intermediate to ampicillin sulbactam; 2 % resistant to piperacillin; 2 % resistant, 6 % intermediate to cefuroxime. There was no resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole, ertapenem, ampicillin, gentamicin and amikacin, and no ESBL presence.

This study showed fecal contamination in drinking water, because *E.coli* isolates, which are the indicator of fecal contamination were detected in drinking water. However, in terms of antimicrobial resistance in *E.coli* isolates, it suggested that the problem was not at threatening levels for the public.

Keywords: antibiotic resistance, drinking water, *Escherichia coli*

Alındığı tarih: 06.02.2019

Kabul tarihi: 22.04.2019

Yayın tarihi: 30.04.2019

Figen Kayserili Orhan

Atatürk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri

Meslek Yüksekokulu

Erzurum - Türkiye

figen.kayserili@hotmail.com

ORCID: 0000-0002-1839-3434

Ü. Altoparlak 0000-0003-4154-2116

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Erzurum - Türkiye

L. Odacı 0000-0002-9802-9439

Gümüşhane Halk Sağlığı Laboratuvarı

Gümüşhane - Türkiye



© Telif hakkı Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Derneği'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Society of Antimicrobial Chemotherapy. This journal published by Logos Medical Publishing. Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

GİRİŞ

Ülkemiz doğal su kaynakları yönünden oldukça zengindir. Ancak hızlı şehirleşme içilebilir suyun kalitesini dünya genelinde hızla azaltmakta ve bunu engellemek için pek fazla önlem alınmamaktadır. Sağlıklı ve güvenilir bir içme suyunun temin edilerek tüketiciye ulaştırılması toplum sağlığı için son derece önemlidir⁽¹¹⁾.

İçme sularının mikroorganizma yükü ve bu mikroorganizmaların antibiyotik direnci halk sağlığı açısından önem arz etmektedir⁽²⁾. Antibiyotik dirençli bakteriler (ARB) ve antibiyotik direnç genleri (ARG), hem klinik hem de doğal ortamlarda, dünya çapında artık endişe verici boyuttadır⁽¹⁹⁾.

İçme suyu, *Escherichia coli* bakterisinin doğal yaşam ortamı değildir ve bu bakteriler temiz suda çoğalmazlar. *E.coli*'nin içme suyunda tespit edilmesi, bir ya da daha fazla aşamada doğrudan ya da dolaylı olarak suda fekal bulaşın göstergesidir⁽¹¹⁾.

İnsan bağırsak florasında R-plazmidleri taşıyan bakteriler yaygın olarak bulunur ve enterik bakterilerin rezervuarı olan kanalizasyon sularının arıtılmaksızın sucul ortamlara katılması, bu tip dirençli bakterilerin ve R-plazmidlerinin çevreye yayılmasına sebep olur⁽⁹⁾. Bir araştırmada, denizlerdeki bakteri popülasyonları arasında konjugasyon yoluyla yüksek düzeyde plazmid transferinin gerçekleştiği saptanmıştır⁽⁵⁾.

Bu çalışmada Gümüşhane içme sularından izole edilen toplam 50 *E.coli* izolatının toplumda yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı direnç profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Membran Filtrasyon Yöntemi ile *E.coli* Tayini

Araştırmada materyal olarak, içme sularında fekal kirlilik indikatörü olan *E.coli* kullanılmıştır. Kontrol izleme analizi için 250 ml'lik steril tiyosülfat içeren numune kaplarında laboratuvara getirilen su numuneleri bekletilmeden işleme alınmış ve analizler TS EN ISO 9308-1 standardına göre gerçekleştirilmiştir. 100 ml su numunesi 0.45 µm por çaplı memb-

ran filtreden süzölmüş ve CCA agar besiyeri (Sartorius-Almanya) üzerine konularak 36±2°C de, aerob ortamda 21±3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra bakteri üremesi görülen plaklara standartta belirtildiği şekilde doğrulama yapılmış ve her bir plaktaki bir koloniden alınan *E.coli* örneği Eozin Metilen Blue (EMB) agara ekim yapılmış ve üreyen bakteriler konvansiyonel yöntemlerle doğrulanmıştır⁽¹⁶⁾.

İzolatların Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi

İzole edilen *E.coli* suşlarının antibiyotik duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır. 0.5 McFarland (10⁵ cfu/ml) bulanıklığına ayarlanmış bakteri süspansiyonları Mueller Hinton agara ekilerek 24 saat sonunda izolatların toplam 13 adet antibiyotiğe karşı direnç test edilmiş, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) varlığı ise çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmış ve sonuçlar EUCAST kılavuzlarına göre değerlendirilmiştir^(4,15). Testin kalite kontrolü için *E. coli* ATCC 25922 referans suşu kullanılmıştır.

BULGULAR

İzole edilen *E.coli* izolatlarının 38'i test edilen tüm antibiyotiklere duyarlı bulunurken, 12'si çeşitli antibiyotiklere dirençli ya da artmış dozda duyarlı bulunmuştur. Çalışılan izolatların hiçbirinde GSBL varlığına rastlanılmamıştır. Antibiyogram testi sonuçları Tablo'da verilmiştir.

Tablo. Test edilen izolatların antibiyotik direnç oranları (%).

Antibiyotik	Duyarlı	Artmış dozda duyarlı	Dirençli
Amikasin	100	0	0
Ampisilin sulbaktam	96	2	2
Ertapenem	100	0	0
Gentamisin	100	0	0
İmipenem	100	0	0
Piperasilin tazobaktam	100	0	0
Piperasilin	98	0	2
Siprofloksasin	100	0	0
Sefepim	98	0	2
Sefoksitin	78	6	16
Sefuroksim	92	6	2
Seftazidim	98	0	2
Trimetoprim sülfametoksazol	100	0	0

TARTIŞMA

Dünya üzerinde bozulmamış araziler hariç, yüzey sularında antibiyotiklerin tespit edilemediği bir alan bulmak artık zordur. Nehirler, kanalizasyonlar, okyanus suyu ve içme suyu da dahil olmak üzere çeşitli sucul ortamlarda antibiyotik direnci tespit edilmiştir^(18,12).

Günümüzde akuatik ortamlarda ARB ve ARG'lerin ortaya çıkışı ile ilgili artan bir endişe vardır ve su ortamı antibiyotik direncinin kazanılması ve yayılması için ideal bir ortam sağlar. ARB'lerin ortaya çıkışı ve yayılması, 21. yüzyılda küresel halk sağlığı için üçüncü en büyük tehdit olarak kabul edilmektedir⁽¹⁰⁾.

Antibiyotikler insan ve hayvanlarda sadece tedavi edici olarak kullanılmayıp, koruyucu ya da büyüme promotörü olarak da kullanılabilir. Spiramisin, tilosin, karbadoks, virginiamisin, monensin gibi büyüme promotörleri, insanların tedavisinde kullanılmamasına rağmen, diğer antibiyotiklere karşı çapraz direnç geliştirdiği düşünülmektedir⁽⁸⁾.

Sulardan izole edilen mikroorganizmaların antibiyotik direnç oranları bize bulaşmanın kentsel ya da kırsal kaynaklı olduğu hakkında bilgi verebilmektedir. Örneğin izole edilen bakterilerde çoklu antibiyotik direncinin olması, bulaşın antibiyotik kullanımı yoğun olan bir bölgeden olduğunu ya da hastane kökenli kanalizasyon suyu ile kontaminasyonun göstergesi olabilir⁽¹¹⁾.

Günümüzde çevresel örneklerde antibiyotik direncine odaklanan çalışmaların çoğu, atık su arıtma tesis çıkışlarına yakın tarımsal havza ve nehirler gibi antropojenik faaliyetlerden önemli ölçüde etkilenen ciddi kirlilik veya sulara sahip su ortamlarında yapılmaktadır. Ancak içme suyu kaynağı gibi özel bir su ortamında antibiyotik direncinin varlığı ve dağılımı, her zaman ihmal edilmektedir. Literatürlere göre, içme suyu kaynaklarındaki antibiyotik direncinin oranı ciddi bir endişe kaynağıdır. Yurdumuzda bu konuda çalışmalar yapılmış ve enterik bakteriler arasında R plazmidlerine bağlı direnç özelliği oranının yüksek olduğu belirtilmiştir^(3,17).

E.coli, insan ve diğer sıcakkanlı hayvanların

bağırsak florasındaki yaygın bakterilerden birisidir ve antibiyotik baskısına her zaman maruz kalmaktadır. *E.coli* su ortamında diğer bakterilere göre daha uzun süre (4 ile 12 hafta) yaşaması sebebiyle, ARG'lerin yaygınlaştırılmasına da katkıda bulunurlar. 1890'larda, su arıtma güvenliğinin biyolojik göstergesi olarak seçilen *E.coli* canlı ve cansız yüzeylerde biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olup, oluşturduğu biyofilm yapısıyla zorlu çevre koşullarına, antibiyotiklere ve dezenfektanlara dirençli hale gelir ve antibiyotik direnç genleri için bir rezervuar görevi görür⁽⁶⁾.

E.coli'nin sucul ortamlarda iyi hayatta kalabilen bir fırsatçı patojen olması ve antibiyotik direnç yayılımı için vektör olarak görülen yatay gen transferinde oldukça usta olması sebebiyle çalışmamızda bu bakteri tercih edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda sağlıklı kişilerin dışkı örneklerinin % 80.5'inin antibiyotiklere dirençli bakteri içerdiği tespit edilmiştir ve izole edilen bakterilerin % 98'inin *E.coli* olduğu bildirilmiştir. Büyük bir arıtma tesisinin atık suyunda 10^3 CFU/ml dirençli koliform bakteri izole edilmiş ve bunların % 17'sinde antibiyotiklere karşı altı kat direnç tespit edilmiştir⁽¹⁴⁾. Akkan ve ark.⁽¹⁾ hastane atık sularıyla kontamine edilen deniz suyundan izole ettikleri Gram negatif bakterilerde sefazoline % 85, sefuroksime % 28, sefotaksime % 8 ve sefepime karşı % 5 oranında direnç tespit etmişlerdir. Ayrıca, izolatların % 91'inin çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi referans değer olan 0.2'nin üzerinde saptamışlardır. Hastane atık sularının deşarj edildiği deniz suyundan izole edilen Gram negatif bakterilerin önemli oranda antibiyotik direncine sahip olduğunu ve bunun halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceği sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda test edilen 13 antibiyotiğin altısına karşı dirençli *E.coli* izolatları bulunmuştur. Çalışmamızda en fazla direnç sefalosporin grubunda görülmüştür (% 16 sefoksitin, % 2 sefepim, % 2 seftazidim, % 2 sefuroksim). Test edilen *E.coli* izolatlarının birinde 2. 3. ve 4. kuşak sefalosporinlere karşı (sefoksitin, seftazidim ve sefepime) direnç saptanmıştır. Bir izolatta ise sefoksitin, sefuroksim, piperasilin ve ampisilin sulbaktama karşı direnç görülmüştür. İki

izolat sefoksitin ve sefuroksime (2. kuşak sefalosporin), bir izolat sefoksitine, bir izolat ise sefuroksime orta duyarlı bulunmuştur.

Üçüncü kuşak sefalosporinlerle yapılan bir araştırmada, doğal dirençlilik frekans yüzdesinin, yüksek düzeyde olduğu ve bunun nozokomiyal atıklarla sucul ortama katılan antibiyotiklerden kaynaklandığı belirtilmiştir⁽⁹⁾. Çalışmamızda en fazla direnç 2. kuşak sefalosporin grubundan sefoksitine (% 16) karşı görülmüştür.

Florokinolonlar tıp ve veteriner hekimliğinde yaygın olarak kullanılan antibiyotikler arasındadır. Siprofloksasin ise en çok tüketilen florokinolon grubu antibiyotiktir. Tetrasiklinler, sülfonamidler ve beta-laktamlar gibi antibiyotikler, sadece bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için değil aynı zamanda gıda için kullanılan hayvanların büyüme hızını arttırmada gıda katkı maddeleri olarak da kullanılmaktadır⁽¹⁹⁾. Çalışmamızda florokinolon grubundan siprofloksasin çalışılmış ve herhangi bir dirence rastlanılmamıştır.

Reinthal ve ark.⁽¹⁴⁾ Güney Avusturya'daki üç ayrı kanalizasyon arıtma tesisinden çıkan çamurdan izole ettikleri 767 *E.coli* izolatını, 24 farklı antibiyotik için test etmişler ve en yüksek direnci bir hastanenin kanalizasyonunu arıtan tesisten izole edilen *E.coli* suşlarında bulmuşlardır. Test edilen antimikrobiyal ajanlar arasında, penisilin grubundaki en yüksek direnç oranlarını ampisilin (% 18) ve piperasiline (% 12) karşı bulmuşlardır. Sefalosporin grubunda sefalotin % 35 ve sefuroksim-aksetil için % 11; kinolonlar grubunda nalidiksik asit için % 15 ve trimetoprim/sülfametoksazol için % 13 ve tetrasiklin için % 57 oranında direnç belirlemişlerdir.

Efuntoye ve ark.⁽⁷⁾ Nijerya'da 50 adet su kuyusundan topladıkları 200 su örneğinde yaptıkları çalışmada 96 izolatta yedi farklı cins bakteri izole etmiş (*Escherichia*, *Bacillus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ve *Alcaligenes*) ve en yüksek oranda direncin *E.coli* izolatlarında olduğunu bildirmişlerdir (% 36.5). İzole edilen *E.coli*'lerin tümü amoksisilin/klavulanik asite dirençli bulunmuş, streptomisin, tetrasiklin, ampisilin ve vankomisine direnç oranları ise sırasıyla % 71.4, % 80, % 82.9, % 88.6 olarak bulunmuş ve en az direnç ofloksasine karşı

belirlenmiştir (% 8.6).

Özgümüş ve ark.⁽¹²⁾ tarafından 2000-2002 yılları arasında Rize'de yapılan bir çalışmada, toplam 51 adet içme suyu noktasından (36 musluk suyu ve 15 kaynak suyu) koliformların varlığını tespit etmek amacıyla 457 su örneği alınmış ve izole edilen *E.coli* izolatları disk difüzyon yöntemi ile antibiyotiklere direnç yönünden test edilmiştir. Tüm *E.coli* izolatlarının test edilen bir veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olduğu, suşların 49'unun (% 41.8), test edilen üç veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olduğu ve çok dirençli fenotip olarak tanımlandığı belirtilmiştir. İzolatların yaklaşık % 47'si ampisiline, % 19.6'u trimetoprim-sülfametoksazole, % 17.9'u amikasin, % 15.3'ü netilmisine, % 13.6'sı gentamisine, % 12.8'si tetrasikline ve % 2.5'i kloramfenikole direnç göstermiştir. Musluk ve kaynak sularından izole edilen *E.coli* izolatları arasında toplam antibiyotik direnç oranları arasında anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir.

Patoli ve ark.⁽¹³⁾ Pakistan'da 2010 yılında yaptıkları bir araştırmada, 42 adet içme suyundan izole edilen 27 *E.coli* izolatının % 93'ünün bir antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu ve izolatların % 63'ünün çoklu ilaç direncine sahip olduğunu belirtmişlerdir. En yüksek direnç nalidiksik asite (% 92.6), ardından ampisiline (% 88.8), seftriaksona (% 40.7), siprofloksasine (% 37.0), seftazidime (% 25.2), sefotaksim (% 18.5) ve gentamisine (% 18.5) karşı görülmüştür. *E.coli* izolatların tümü amikasin, karşı duyarlı bulunmuştur.

Chen ve ark.⁽³⁾ 2017 yılında Çin'de yaptıkları çalışmada, içme suyu kaynaklarından izole edilen toplam 200 *E.coli* izolatının antimikrobiyal ajanlara karşı direnç profilini belirlemişler ve bunlar arasında, 99 izolatın (% 49.5) test edilen 18 antibiyotiğin en az birine karşı dirençli olduğunu ve antibiyotik direnç indeksini 0.13 olarak bildirmişlerdir. En sık antibiyotik direncinin tetrasikline (% 42), ardından ampisiline (% 29), piperasiline (% 27) ve trimetoprim/sülfametoksazole (% 25.5) karşı olduğunu bildirmişlerdir. İmipenem ve meropenem karşı direnç görülmemiştir. Farklı su kaynaklarından farklı mevsimlerde izole edilen *E.coli* izolatlarının farklı antibiyotik direnç profillerinin değişebileceğini, su kaynaklarının iyi

korunması ve daha az yeni kirlilik sayesinde *E.coli*'nin antibiyotik direnç seviyelerinin azaltılabileceğini ve bazı su kalitesi parametrelerinin antibiyotik direnci seviyelerini etkileyebileceği sonucuna varmışlardır.

Hastane ortamlarında klinik örneklerden elde edilen *E.coli* izolatlarının antibiyotik direncini gösteren çalışmalar oldukça fazla olmasına rağmen, çevre örneklerinden izole edilen *E.coli* izolatlarının antimikrobiyal direncini belirleyen çalışmalar oldukça azdır ve su ortamında antibiyotik dirençli bakterilerin genotipi ve modelleri hakkında çok az veri mevcuttur.

Antibiyotiklerin yanlış ve aşırı kullanımından kaçınarak antibiyotik tüketimini azaltmak dirençli kökenlerin oluşmasını önleyen en etkili yöntemdir. Akılcı antibiyotik kullanım politikalarını belirlenmesi ve uygulanması, infeksiyonların erken tanı imkanlarının artmasıyla viral infeksiyonlar için gereksiz antibiyotik kullanımını ve hayvan yemlerine antibiyotik katılmasını önlemek antibiyotik dirençli bakterilerin çoğalması ve çevreye yayılmasına engel olmak için alınacak önlemlerdir. Ayrıca halkın kitle iletişim araçlarıyla bilinçlendirilmesi, reçetesiz antibiyotik verilmesinin önlenmesi ve insanların antibiyotiklerin rasyonel kullanımı ve antibiyotik içeren atıkların güvenli bir şekilde bertaraf edilmesi konusunda insanlara eğitim verilmesi etkili olabilecek diğer önlemlerdir⁽¹¹⁾.

Sonuç olarak çalışmamızdaki sınırlı sayıda suş ile saptadığımız bulgulara dayanarak, Gümüşhane ilinde içme suyundan izole edilen *E.coli* izolatlarının antimikrobiyal direnç paterni yönünden temel bir veri sağlanmış olup, direncin endişe verici boyutta olduğu ancak kesin bir yargıya varmak için, daha fazla izolatla yapılacak fenotipik ve genotipik çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

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

KAYNAKLAR

1. Akkan T, Kaya A, Dinçer S. Hastane atık sularıyla kontamine edilen deniz suyundan izole edilen Gram negatif bakterilerin sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı direnç düzeyleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2011;41(1):18-21.
2. Aktürk S, Matyar F, Dinçer S. Adana-Tufanbeyli yol hattındaki çeşme sularından izole edilen Gram negatif bakterilerin antibiyotik dirençlerinin incelenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2010;40(1):54-9.
3. Chen Z, Yu D, He S, et al. Prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in drinking water sources in Hangzhou City. Front Microbiol. 2017;16(8):1133. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01133>
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-first Informational Supplement. CLSI Document M100-S21, CLSI, Wayne, PA. (2014).
5. Dikbaş N, Kotan R, Dadaşoğlu F. İçme sularından izole edilen bakterilerin tanısı ve yağ asidi metil esterleri ile antibiyotik duyarlılıkları arasındaki ilişkinin belirlenmesi. The Journal of Food. 2009;34(4):225-30.
6. Edberg SC, Rice EW, Karlin RJ, et al. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. Symp Ser Soc Appl Microbiol. 2000;(29):106-16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2000.tb05338.x>
7. Efuntoye MO, Apanpa MO. Status of contamination and antibiotic resistance of bacteria from well water in Ago-Iwoye, Nigeria. J Appl Biosci. 2010;35:2244-50.
8. Hirsch R, Ternesa T, Haberera K, et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. Sci Total Environ. 1999;109:118. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(98\)00337-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00337-4)
9. Karayakar F, Ay Ö, Cıçık B. Mersin kıyı şeridinden alınan su örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının bazı antibiyotiklere karşı plasmid kökenli dirençliliğin saptanması.

- Eko Çev Kor. 2004;13(52):28-32.
10. Lyimo B, Buza J, Subbiah M, et al. Comparison of antibiotic resistant *Escherichia coli* obtained from drinking water sources in northern Tanzania: a cross-sectional study. BMC Microbiol. 2016;16(1):254. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0870-9>
 11. Özaslan A. Adana içme suyunda fekal koliform düzeyinin belirlenmesi ve antibiyotik dirençlilik frekansı. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi, Adana (2009).
 12. Özgumus OB, Celik-Sevim E, Alpay-Karaoglu S, et al. Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* strains isolated from tap and spring waters in a coastal region in Turkey. J Microb (Seoul, Korea). 2007;45(5):379-87.
 13. Patoli AA, Patoli BB, Mehraj V. High prevalence of multidrug resistant *E.coli* in drinking water sample from Hyderabad. Gomal J Med Sci. 2010;8(1):23-6.
 14. Reinthaler FF, Posch J, Feierl G, et al. Antibiotic resistance of *E.coli* in sewage and sludge. Water Res. 2003;37(8):1685-90. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00569-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00569-9)
 15. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1.3, January 5, (2014).
 16. Türk Standardları Enstitüsü, TS EN ISO 9308-1. Su kalitesi *E.coli* ve koliform bakterilerin tespiti ve sayımı, Aralık (2014).
 17. Vural HC, Akçin A. İzmit körfezinden izole edilen *Escherichia coli*'lerde R plazmidlerine bağlı "bulaşıcı tipte antibiyotik direnç özelliğinin" belirlenmesi. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2011;17(Suppl A):23-30.
 18. Yang S, Carlson K. Evolution of antibiotic occurrence in a river through pristine, urban and agricultural landscapes. Water Res. 2003;37(19):4645-56. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00399-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00399-3)
 19. Wang C, Gu X, Zhang S, et al. Characterization of antibiotic-resistance *Escherichia coli* isolates from a lake. Arch Environ Contam Toxicol. 2013;65(4):635-41. <https://doi.org/10.1007/s00244-013-9932-2>

Solunum Yolu Örneklerinde *Streptococcus pneumoniae*'nin Saptanmasında Optokin Duyarlılığı, Safrada Erime ve *psaA* Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemlerinin Yeri

Barış Can ©
M. Derya Aydın ©

The Role of Optochin Sensitivity, Bile Solubility and *psaA* Polymerase Chain Reaction Methods in the Diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* in Respiratory Tract Samples

ÖZ

Streptococcus pneumoniae; pnömoni, bakteriyemi ve menenjit gibi hayatı tehdit eden ciddi infeksiyonların yanısıra otit, sinüzit gibi sık rastlanan infeksiyonlara da yol açan önemli bir patojendir. *S.pneumoniae*'nin hızlı ve doğru tanısı, infekte hastaların uygun tedavi görmesinde son derece önemlidir. Çalışmamızda rutin tanıda kullandığımız fenotipik testlerin özgüllük ve duyarlılığının, altın standart yöntem olarak kullandığımız *psaA* PCR ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Klinik örneklerden izole edilen 90 adet alfa hemolitik streptokok suşu optokin duyarlılığı ve safrada erime-damlatma testlerine göre; *S.pneumoniae* olduğu bilinen (optokine duyarlı ve safrada erime-damlatma testi pozitif) 30 suş (Grup 1), *S.pneumoniae* olmayan (optokine dirençli ve safrada erime-damlatma testi negatif) 50 suş (Grup 2) ve *S.pneumoniae* şüpheli (optokine dirençli ama safrada erime-damlatma testi pozitif) 10 suş (Grup 3) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Tüm izolatlara *psaA* PCR ve safrada erime-tüp testi uygulanmış; Grup 1 deki suşlar pozitif, Grup 2 ve 3'teki suşlar ise negatif olarak bulunmuştur. Grup 3'teki 10 suşa API 20 Strep testi yapılmış ve viridans grup streptokok olarak tanımlanmıştır. Bu bulgulara göre safrada erime-tüp testinin; damlatma testine göre daha özgül, *psaA* PCR yöntemiyle ise benzer özgüllüğe sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Optokin duyarlılığı, safrada erime, *psaA* PCR

ABSTRACT

Streptococcus pneumoniae; in addition to serious life-threatening infections such as pneumonia, bacteremia and meningitis, is also an important pathogen which causes common infections such as otitis and sinusitis. The rapid and accurate diagnosis of *S.pneumoniae* is extremely important for the appropriate treatment of infected patients. In our study, we aimed to compare the specificity and sensitivity of the phenotypic tests used in routine diagnosis with the *psaA* PCR we used as the gold standard method. 90 strains isolated from the clinical specimens were grouped according to their optochin sensitivity and bile solubility: 30 *S.pneumoniae* strains (optochin sensitive and bile solubility-drip test positive) (Group 1), 50 non-pneumococcus strains (optochin resistant and bile solubility-drip test negative) (Group 2) and 10 *S.pneumoniae* suspicious strains (optochin resistant but bile solubility-drip test positive) (Group 3) *psaA* PCR and bile solubility-tube test were applied to all isolates; the strains in Group 1 were positive and the strains in Groups 2 and 3 were negative. The 10 strains in Group 3 were determined as viridans group streptococci in API 20 Strep test. According to these findings, bile solubility-tube test was found to be more specific than the drip test and similar to *psaA* PCR method.

Keywords: Optochin sensitivity, bile solubility, *psaA* PCR

Alındığı tarih: 27.02.2018
Kabul tarihi: 22.04.2019
Yayın tarihi: 30.04.2019

Barış Can
Marmara Üniversitesi Pendik EAH
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
İstanbul - Türkiye
✉ drbarisc@hotmail.com
ORCID: 0000-0002-1966-4240

M. D. Aydın 0000-0002-5812-4861
Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
İstanbul - Türkiye



GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae; pnömoni, bakteri-yemi, menenjit ile otitis media ve sinüzit gibi üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olur. Pnömonokoklar; toplum kaynaklı pnömoni, menenjit, splenektomili hastalarda sepsis, otitis media ve sinüzitin en sık nedenidir. Özellikle çocuklarda olmak üzere konjunktivitinin sık etkenlerinden birisidir. *S.pneumoniae*, tüm yaş gruplarında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir⁽⁷⁾.

S.pneumoniae'nin hızlı ve doğru tanısı, infekte hastaların uygun tedavi görmesinde son derece önemlidir. *S.pneumoniae*'nin tanısına yaklaşım açısından laboratuvarlar arasında farklılıklar vardır. Daha ucuz ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle optokin duyarlılığı ve safrada erime yöntemleri sık olarak kullanılmaktadır. Genelde pnömonokok tanısı klasik yöntemlerle basittir fakat atipik pnömonokokların (kapsülsüz, optokine dirençli, safrada erimeyen) ve atipik streptokokların (optokine duyarlı) varlığında, pnömonokokları diğer alfa hemolitik suşlardan ayırt etmek zorlaşır^(5,10,19).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi, mikroorganizmaların tanısında yüksek duyarlılığa sahip, hızlı bir yöntemdir. Pnömonokokların klinik örneklerden tanımlanması amacıyla pnömonokok virülans genlerinin tespitine dayalı amplifikasyon yöntemleri geliştirilmiştir^(4,9).

Pnömonokok virülans genlerinden biri olan pnömonokok yüzey adhezin A (*psaA*) geni hem aşı çalışmalarında hem de tanıda kullanılmaktadır. Morrison ve ark. *S.pneumoniae*'nin 90 serotipinde de *psaA* geninin varlığını PCR yöntemiyle göstermişlerdir. Verhelst ve ark., yaptıkları çalışmada üç genle (*ply*, *lytA*, *psaA*) yapılan PCR çalışmalarını karşılaştırmışlar ve pnömonokok suşlarının tanısında *psaA* PCR yönteminin spesifik olduğunu bildirmişlerdir^(11,14,18).

Çalışmadaki amacımız, tipik *S.pneumoniae* suşlarında ve pnömonokok şüpheli alfa hemolitik streptokok suşlarında optokin duyarlılığı ve safrada erime (damlatma ve tüp) yöntemlerinin özgüllük ve duyarlılığını *psaA* PCR testini altın standart olarak kullanarak araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakterioloji Bilim Dalı'na gönderilen klinik örneklerden (balgam, boğaz salgısı, burun sürüntüsü, kan, kulak akıntısı, trakeal aspirat, beyin omurilik sıvısı ve konjunktiva sürüntüsü) izole edilen 90 alfa hemolitik streptokok suşu incelenmeye alınmıştır. Bu suşlar rutin laboratuvar sonuçlarına göre; *S.pneumoniae* olduğu bilinen (optokine duyarlı ve safrada erime-damlatma testi pozitif) 30 suş (Grup 1); *S.pneumoniae* olmayan (optokine dirençli ve safrada erime-damlatma testi negatif) 50 suş (Grup 2) ve *S.pneumoniae* şüpheli (optokine dirençli ama safrada erime-damlatma testi pozitif) 10 suş (Grup 3) olarak gruplandırılmıştır. Tüm suşlara *psaA* PCR ve safrada erime-tüp testi uygulanmıştır. Sonuç olarak optokin duyarlılığı ve safrada erime (damlatma ve tüp) testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri altın standart yöntem olarak kullandığımız *psaA* PCR sonuçlarına göre değerlendirilmiştir.

Fenotipik testler:

Hastalardan alınan örnekler % 5 koyun kanlı besiyerine ekilmiş, 37°C'de % 5-10 CO₂'li ortamda 18-24 saatlik inkübasyondan sonra üremeler değerlendirilmiştir. *S.pneumoniae* tanımlanması Gram boyanma, katalaz negatifliği, koloni morfolojisi, alfa hemoliz, safrada erime ve optokin duyarlılığına göre yapılmıştır.

Safrada erime: Safra tuzu (sodyum deoksikolat) bakterinin erimesine neden olan, indirekt etkili bir maddedir; otolitik enzim sentezini aktive ederek etkisini gösterir. Safrada erime-damlatma testinde % 5 koyun kanlı besiyerinde üreyen kolonilerin üzerine % 2'lik sodyum deoksikolat damlatılmış ve 35°C'de 30 dakika bekledikten sonra erime olup olmadığı gözlenmiştir. Safrada erime-tüp testinde ise kontrol ve test olmak üzere iki ayrı tüp kullanılmıştır. 0,5 ml % 0,9'luk serum fizyolojik içerisinde 0,5-1 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Test tüpüne 0,5 ml % 10'luk sodyum deoksikolat, kontrol tüpüne 0,5 ml serum fiz-

yolojik eklenmiş ve 35°C'de iki saat inkübe edilmiştir. Test tüpünde berraklaşma görülüp kontrol tüpü bulanık ise safrada erime tüp testi pozitif olarak değerlendirilmiştir⁽²⁰⁾.

Optokine duyarlılık: Safrada erimesi olan ve/veya koloni morfolojisi *S.pneumoniae*'ye benzeyen kolonilerin saf kültüründen % 5 koyun kanlı agar ekim yapıp ortasına 5 µg optokin (ethyl-hydrocupreine hydrochloride) içeren 6 mm çapında disk yerleştirilmiş ve 35°C'de, % 5 CO₂'li ortamda 24 saat inkübe edilerek inhibisyon zonuna göre (>14 mm=duyarlı) değerlendirilmiştir⁽⁵⁾.

Bakteri tanımlanması: Safrada erime-damlatma testi ile pozitif, safrada erime-tüp testi ile negatif olan suşların tanımlanması için API 20 Strep yarı otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) kullanılmıştır. İnokülasyon, inkübasyon ve test sonuçlarının okunması üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır.

PsaA PCR:

Klinik örneklerden elde ettiğimiz suşların genotipik tanımlaması için *psaA* PCR gen amplifikasyon metodu kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonu için 18-24 saatlik inkübasyon sonrası üreyen koloniler eküvyonla alınarak 200 µl steril distile suda süspanse edilmiş ve daha sonra 10 dakika kaynatılmıştır. Kaynatıldıktan sonra 10,000 g'de 2 dakika santrifuj edilmiş ve supernatant kısmı PCR reaksiyonunda kalıp DNA olarak kullanılmıştır. Hemen kullanılmayan örnekler -20°C'de saklanmıştır. Uyguladığımız PCR yönteminde, *S.pneumoniae*'nin yüzeyindeki 37 kDa'luk bir protein olan *psaA*'yı kodlayan gen hedef olarak kullanılmıştır. *PsaA* geninin 838 bp'lik parçasını amplifiye etmek için P1(5'-CTT TCT GCA ATC ATT CTT G -3') ve

P2(5'-GCC TTC TTT ACC TTG TTC TGC-3') primerleri kullanılmıştır. Amplifikasyon karışımı toplam hacmi 50 µl (Distile su (35.7 µl), Tampon 10x (5 µl), dNTP mix 10 mM (1 µl), MgCl₂ 25 mM (2 µl), P1 primer (0.5 µl), P2 primer (0.5 µl), Taq DNA polimeraz (0.3 µl), DNA ekstraktı (5 µl) olacak şekilde hazırlanmıştır. Amplifikasyon koşulları denatürasyon basamağı 94°C'de 5 dk, uzama basamağı 40 siklus 95°C'de 30 sn, 52°C'de 30 sn, 72°C'de 2 dk ve sonlanma basamağı 72°C'de 8 dk olacak şekilde termal döngü cihazında (Techne/Progene) gerçekleştirilmiştir. *PsaA* PCR yönteminin özgüllüğünün belirlenmesi amacıyla kontrol suş olarak üst solunum yolu florasındaki çeşitli bakteriler (*Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*) ve pozitif kontrol olarak da *S.pneumoniae* ATCC 49619 suşu kullanılmıştır⁽¹¹⁾.

BULGULAR

Bu çalışmada tüm izolatlar *psaA* PCR ve safrada erime-tüp testi uygulanmış; Grup 1'deki suşlar pozitif, Grup 2 ve 3'teki suşlar ise negatif olarak bulunmuştur. Grup 3'teki 10 suşa API 20 Strep testi yapılmış ve viridans grup streptokok olarak tanımlanmıştır. Üç gruba uygulanan *psaA* PCR ve fenotipik test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre optokin duyarlılığı ve safrada erime-tüp testinin duyarlılık ve özgüllükleri % 100 olarak saptanmıştır. Safrada erime-damlatma testinin duyarlılığı % 100, özgüllüğü ise % 83 olarak saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen suşların fenotipik ve genotipik test sonuçları.

Grup	Suş Sayısı (n)	Optokine Duyarlılık (%)	Safrada Erime (%)		PsaA PCR pozitifliği (%)
			Damlatma	Tüp	
Grup 1	30	100	100	100	100
Grup 2	50	0	0	0	0
Grup 3	10	0	100	0	0

Tablo 2. Çalışmada kullanılan testlerin duyarlılık ve özgüllük sayı ve oranları.

Test	Gerçek pozitif (n)	Yalancı pozitif (n)	Yalancı negatif (n)	Gerçek negatif (n)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Optokine duyarlılık	30	0	0	60	100	100
Safrada erime-damlatma testi	30	10	0	50	100	83
Safrada erime-tüp testi	30	0	0	60	100	100

TARTIŞMA

S.pneumoniae'nin infeksiyon etkeni olarak tanısı bakterinin infeksiyon bölgesinden izolasyonuna dayanır. Pnömonoklara yönelik laboratuvar tanı yöntemleri mikroskopi, kültür, antijen saptama ve nükleik asit tabanlı testler olarak sıralanabilir⁽¹⁵⁾.

Kanlı agarda alfa hemoliz oluşumu, pnömokokları üst solunum yolunun diğer normal flora üyeleri olan viridans streptokoklardan ayırt etmek için yeterlidir ve bunun için safrada erime deneyi ve optokin duyarlılığı gibi testlere ihtiyaç duyulur. Geleneksel yöntemlerle yapılan *S.pneumoniae* tanısında atipik suşların varlığı nedeniyle bazen zorluklar yaşanabilir. Yapılan çalışmalarda optokine dirençli veya safrada erimeyen pnömokokların ve optokine duyarlı viridans streptokokların varlığı bildirilmiştir^(7, 10,12,18).

Kajjalainen ve ark.⁽⁵⁾ mikrobiyoloji laboratuvarlarında genellikle optokin duyarlılığının standart metod olarak kullanıldığını ve atipik koloni morfolojisi olan veya optokine dirençli suşlarda safrada erime deneyinin uygulandığını söylemişlerdir. Optokine duyarlı ve safrada erime testi pozitif bir alfa hemolitik streptokok pnömokok olarak kabul edilebilir. Eğer suşun koloni morfolojisi farklıysa ya da kan veya beyin omurilik sıvısı gibi bir örnekten izole edilmiş ise ileri inceleme için iyi bir neden oluşturur. Örneğin genotipik testlerle bakterinin virülans genleri araştırılabilir. Optokine dirençli, safrada eriyen, kapsüllü bir suş pnömokok olabilir fakat kapsülsüz, optokine dirençli veya safrada erimeyen bir bakteriye pnömokok tanısı konmamalıdır.

Morrison ve ark.⁽¹¹⁾ tanımladıkları primer setiyle yaptıkları PCR ile tüm pnömokok serotiplerinde *psaA* geninin varlığını göstermişlerdir. Ayrıca kullandıkları *psaA* PCR yönteminin özgüllüğünü göstermek için viridans grup streptokokları da içeren çeşitli cins

(n=30) ve türde (n=14) bu yöntemi denemişler ve negatif sonuç almışlardır.

Verhelst ve ark.⁽¹⁸⁾ optokine dirençli 49 pnömokok benzeri suşta yaptıkları çalışmada beş farklı genotipik yöntemi [AccuProbe, *psaA*, *lytA*, *ply* ve ARDRA (amplified rDNA restriction analysis)] karşılaştırmışlardır. Tüm testlerde kapsüllü ve tipik koloni morfolojisine sahip 11 pnömokok suşu pozitif olarak, 20 alfa hemolitik streptokok suşu da negatif olarak saptanmıştır. Geriye kalan 18 suş bir veya daha fazla sayıda testte pnömokok karakteristiği göstermiştir. En büyük problem AccuProbe yöntemiyle pozitiflik veren yedi suşta ortaya çıkmıştır. Bunların hepsi kapsülsüz ve *psaA* spesifik PCR negatif olarak saptanmış, bazıları *ply* ve *lytA* spesifik PCR pozitif bulunmuş, bazıları da safrada erimiştir. Sonuç olarak gerçek pnömokokları tanımlama edmedeki en iyi genotipik tekniğin Morrison ve ark.'nın⁽¹¹⁾ tanımladıkları *psaA* spesifik PCR olduğu ve optokine dirençli kapsüllü serotiplerde doğru sonuçlar verdiği belirtilmiştir.

Messmer ve ark.⁽⁹⁾ tiplendirilemeyen (kapsülsüz) pnömokok suşları ve *S.pneumoniae* ile yakın ilişkili atipik streptokokların tanısında dört farklı yöntemi (*lytA* PCR, *psaA* PCR ve iki farklı primer setiyle *ply* PCR) denemiş ve bunları diğer laboratuvar testleriyle (optokine duyarlılık, safrada erime, Quellung reaksiyonu ve AccuProbe) karşılaştırmışlardır. Tiplendirilemeyen pnömokoklar hem PCR yöntemleri hem de diğer laboratuvar testleriyle tanınmışlardır. Ancak sık kullanılan fenotipik laboratuvar testleri atipik streptokokları, tiplendirilemeyen pnömokoklardan ayırt edememişlerdir. Atipik streptokoklarla karıştırılabilen bu suşların tanısında *psaA* ve *lytA* PCR metodlarının güvenilir olduğu bildirilmiştir^(13,16,17,18).

El Alia ve ark.⁽²⁾ yaptıkları çalışmada *S.pneumoniae*'nin belirlenmesinde 16S rRNA bazlı Spne-PCR yöntemini diğer dört genotipik yöntemle (*psaA*, *lytA*, *ply*,

spn9802-PCR) karşılaştırmışlar ve denedikleri dört genotipik yöntemden sadece *psaA* PCR'ın *S.pneumoniae* ile *Streptococcus pseudopneumoniae*'yı net bir şekilde ayırt edebildiğini saptamışlardır.

Suşun izole edildiği örneğin ve altta yatan hastalığın bilinmesi özellikle atipik suşların identifikasyonu açısından önemlidir. Yapılan çalışmalarda optokine dirençli pnömokok suşlarının genellikle kan ve beyin omurilik sıvısından, tiplendirilemeyen (kapsül-süz) suşların ise konjunktivit olgularından izole edildiği bildirilmiştir^(1,4).

Kellogg ve ark.'nın⁽⁶⁾ yaptıkları çalışmada da bizim çalışmamıza benzer bir şekilde safrada erime-tüp testinin özgüllüğü damlatma testine göre daha yüksek olarak bulunmuştur.

Sık enfeksiyon etkenlerinden biri olan *S.pneumoniae*'nin identifikasyonunun özellikle atipik suşlarda önemli bir sorun olduğu gözlenmektedir. *S.pneumoniae*, başta penisilin olmak üzere birçok antibiyotik karşı direnç kazandığından bakterinin hızlı ve doğru tanısı tedaviyi yönlendirme açısından da önem taşımaktadır.

Safrada erime-tüp testinin kolay, ucuz ve özgüllük oranının yüksek olması nedeniyle PCR deneylerinden önce yapılması önerilmektedir. Sonuçlar değerlendirilirken safrada erimeyen atipik pnömokokların varlığı unutulmamalıdır^(18,19,20).

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-316 / 03112003

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

Funding: This study was supported by Istanbul University Research Fund. Project No: T-316/03112003

KAYNAKLAR

1. Carvalho MGS, Steigenralt AG, Thompson T, et al. Confirmation of nontypeable *Streptococcus pneumoniae*-like organisms isolated from outbreaks of epidemic conjunctivitis as *Streptococcus pneumoniae*. J Clin Microbiol. 2003;41(9):4415-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.9.4415-4417.2003>
2. El Aila NA, Emler S, Kaijalainen T, et al. The development of a 16S rRNA gene based PCR for the identification of *Streptococcus pneumoniae* and comparison with four other species specific PCR assays. BMC Infect Dis. 2010;10:104. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-104>
3. Harimurti K, Saldi SR, Dewiasty E, et al. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in adults infected with human immunodeficiency virus in Jakarta, Indonesia. J Infect Public Health. 2016;9(5):633-8. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.01.004>
4. Ing J, Mason EO, Kaplan SL, et al. Characterization of nontypeable and atypical *Streptococcus pneumoniae* pediatric isolates from 1994 to 2010. J Clin Microbiol. 2012;50(4):1326-30. <https://doi.org/10.1128/JCM.05182-11>
5. Kaijalainen T, Rintamaki S, Herva E, et al. Evaluation of gene-technological and conventional methods in the identification of *Streptococcus pneumoniae*. J Microbiological Methods. 2002;51(1):111-8. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(02\)00061-1](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(02)00061-1)
6. Kellogg JA, Bankert DA, Elder CJ, et al. Identification of *Streptococcus pneumoniae* revisited. J Clin Microbiol. 2001;39(9):3373-5. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3373-3375.2001>
7. Levinson W. ÇE: Şener B, Esen B. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. 14. Baskı, s.123, LANGE, Güneş Tıp Kitabevleri (2018).
8. Martin-Galiano AJ, Balsalobre L, Fenoll A et al. Genetic characterization of optochin-susceptible viridans group streptococci. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(10):3187-94. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.10.3187-3194.2003>
9. Messmer TO, Sampson JS, Stinson A, et al. Comparison of four polymerase chain reaction assays for specificity in the identification of *Streptococcus pneumoniae*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004;49(4):249-54. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2004.04.013>
10. Miernyk KM, DeByle CK, Rudolph KM. Evaluation of two matrices for long-term, ambient storage of bacterial DNA. Biopreserv Biobank. 2017;15(6):529-34. Epub 2017 Nov 13. <https://doi.org/10.1089/bio.2017.0040>
11. Morrison KE, Lake D, Crook J, et al. Confirmation of *psaA* in all 90 serotypes of *Streptococcus pneumoniae* by PCR and potential of this assay for identification and diagnosis. J Clin Microbiol. 2000;38(1):434-7.
12. Pikis A, Campos JM, Rodriguez WJ, et al. Optochin resistance in *Streptococcus pneumoniae*: mechanism.

- nism, significance, and clinical implications. J Infect Dis. 2001;184(5):582-90.
<https://doi.org/10.1086/322803>
13. Sanz JC, Ríos E, Rodríguez-Avial I, et al. Identification of *Streptococcus pneumoniae* *lytA*, *plyA* and *psaA* genes in pleural fluid by multiplex real-time PCR. Enferm Infect Microbiol Clin. 2018;36(7):428-30.
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.07.007>
 14. Scott JAG, Marston EL, Hall AJ, et al. Diagnosis of pneumococcal pneumonia by *psaA* PCR analysis of lung aspirates from adult patients in Kenya. J Clin Microbiol. 2003;41(6):2554-9.
<https://doi.org/10.1128/JCM.41.6.2554-2559.2003>
 15. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi-etkenlere göre enfeksiyonlar, 4.Baskı, s.1794, Nobel Tıp Kitabevleri (2017).
 16. Tsar HY, Hsueh PR, Teng LJ, et al. Bacteremic pneumonia caused by a single clone of *Streptococcus pneumoniae* with different optochin susceptibilities. J Clin Microbiol. 2000;38(1):458-9.
 17. Veerasamy J, Jayarajan J. Atypical pneumococcal isolate from blood. Int J Appl Basic Med Res. 2018;8(1):61-3.
https://doi.org/10.4103/ijabmr.IJABMR_459_16
 18. Verhelst R, Kaijalainen T, De Baere T, et al. Comparison of five genotypic techniques for identification of optochin-resistant pneumococcus-like isolates. J Clin Microbiol. 2003;41(8):3521-5.
<https://doi.org/10.1128/JCM.41.8.3521-3525.2003>
 19. Whatmore AM, Efstratiou A, Pickerill AP, et al. Genetic relationships between clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus mitis*: characterization of "Atypical" pneumococci and organisms allied to *S.mitis* harboring *S.pneumoniae* virulence factor-encoding genes. Infect Immun. 2000;68(3):1374-82.
<https://doi.org/10.1128/IAI.68.3.1374-1382.2000>
 20. Winn W, Allen S, Janda W, et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Gram-Positive Cocci Part II: Streptococci, Enterococci, and the 'Streptococcus-Like' Bacteria, 6.baskı, s.672-764, Lippincott Williams Wilkins, Philadelphia (2006).

VITEK-MS Sistemi ile Karbapenemaz Üretiminin Hızlı Tespiti*

Gülşen Altınkanat Gelmez ©

Barış Can ©

Ufuk Hasdemir ©

Güner Söyletir ©

Rapid Detection of Carbapenemase Detection by VITEK-MS

Öz

Son yıllarda karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* kaynaklı enfeksiyonların dünya çapında artması önemli halk sağlığı sorunudur. Araştırmacılar, mikroorganizmanın kısa sürede tanımlanmasına olanak sağlayan MALDI-TOF sisteminin antibiyotik duyarlılık testlerinde de kullanılabileceğini gösteren çalışmalar bildirilmektedir. Çalışmamızda karbapenemaz üretiminin hızlı saptanmasına yönelik olarak ertapenemin karbapenemazlar tarafından hidrolizinin VITEK-MS (bioMérieux, Fransa) sistemi tarafından tespit edilebilirliği değerlendirilmiştir. Çalışmamıza çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli (n=86) ve duyarlı (n=20) toplam 106 *Klebsiella pneumoniae* kökeni dahil edilmiştir. KPC, NDM, IMP, VIM ve OXA-48 genlerinin varlığını PCR ile tespit edilmiştir. Bakteri süspansiyonları 4 McFarland bulanıklığında hazırlanmış, 0.5 µg/ml'lik ertapenem ile muamele edildikten sonra iki ve dört saat inkübe edilip analiz edilmek üzere VITEK-MS RUO (bioMérieux, Fransa) sistemine aktarılmıştır. Karbapenem dirençli 86 *K.pneumoniae* kökeninin *bla*_{OXA-48} (n=39), *bla*_{NDM} (n= 37), *bla*_{IMP} (n=8) ve *bla*_{KPC} (n=2) karbapenemaz genlerini taşıdığı tespit edilmiştir. Tüm antibiyotiklere duyarlı olan kökenlerde hiçbir karbapenemaz genine rastlanmamıştır. Ertapenemin tek başına sahip olduğu spektrumlar çalışma kökenlerinin ertapenem ile muamele edilip inkübe edilmesi sonucu elde edilen spektrumlar ile karşılaştırıldığında; iki saatlik inkübasyon sonrasında NDM, IMP ve KPC geni pozitif kökenlerin tamamında ertapenem hidrolizi gözlenirken, OXA-48 geni pozitif olan 14 kökende ertapenem hidrolizinin zayıf olduğu tespit edilmiştir. Dört saatlik inkübasyon sonrası OXA-48 geni pozitif olan kökenlerin sadece % 64.1'inde ertapenem hidrolizi gözlemlenmiştir. İki ve dört saat inkübasyon sonrası karbapenemaz geni içermeyen kökenlerin hiçbirinde ertapenem hidrolizi gözlemlenmemiştir. Rutin laboratuvarla mikroorganizmaların hızlı tespitinde önemli başarı sağlayan MALDI-TOF sistemlerinin antibiyotik duyarlılık testlerinde de benzer başarı göstermesi oldukça ümit vericidir. Ancak OXA-48 pozitif kökenlerin saptanmasını kolaylaştıracak farklı protokollerin geliştirilmesi gereklidir. MALDI-TOF sistemleri ile kısa sürede, düşük maliyetle karbapenemaz üretiminin tespit edilmesi özellikle salgınların çok daha kısa sürede kontrol altına alınmasında önemli katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: ertapenem, karbapenemaz, *Klebsiella pneumoniae*, MALDI-TOF

ABSTRACT

In recent years, the increasing of infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) is an important public health problem in the worldwide. Some researchers have been reported studies showing that MALDI-TOF MS system can also be used in antibiotic susceptibility testing. The aim of this study was to evaluate the performance of VITEK-MS (bioMérieux, France) system based on ertapenem hydrolysis for the detection of carbapenemase activity. One hundred-six *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from various clinical samples were tested in this study, which included 86 carbapenem resistant and 20 carbapenem susceptible isolates. The presence of KPC, NDM, IMP, VIM ve OXA-48 genes were detected by PCR. After the 4 McFarland bacterial suspensions was treated with 0.5 mg/ml of ertapenem, the suspension was incubated for 2h and 4h, and transferred to VITEK-MS RUO (bioMérieux, France) system for analysis. Eighty-six carbapenem resistant *K.pneumoniae* strains had *bla*_{OXA-48} (n=39), *bla*_{NDM} (n= 37), *bla*_{IMP} (n=8) ve *bla*_{KPC} (n=2) genes. No carbapenemase gene was found in the carbapenem susceptible *K.pneumoniae* strains. According to results of VITEK MS, ertapenem hydrolysis was observed in all of the NDM, IMP, and KPC after 2h of incubation. Poor hydrolysis was observed in 14 OXA-48 positive strains within 2h. After 4h of incubation strong ertapenem hydrolysis was observed in 64.1 % of the OXA-48 positive strains. All non-carbapenemase producing strains were detected as negative. According to our study results, the detection of NDM, IMP and KPC using VITEK-MS seems to be a rapid, reliable and cost-effective method for routine laboratory. Since similar results were not observed in OXA-48, different protocols should be developed for the detection of these enzymes. The detection of carbapenemases by MALDI-TOF-MS systems in a short time will make a significant contribution especially in controlling the outbreaks.

Keywords: carbapenemase, ertapenem, *Klebsiella pneumoniae*, MALDI-TOF

Alındığı tarih: 12.03.2019

Kabul tarihi: 22.04.2019

Yayın tarihi: 30.04.2019

Gülşen Altınkanat Gelmez

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Başbüyük Mah. Maltepe Başbüyük
Yolu Sok. No: 9/1, 34854 Maltepe
İstanbul - Türkiye

✉ gulsenaltinkanat@yahoo.com

ORCID: 0000-0003-0274-628X

B. Can 0000-0002-1966-4243

U. Hasdemir 0000-0002-1606-0804

G. Söyletir 0000-0001-5695-731X

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Başbüyük Mah. Maltepe Başbüyük
Yolu Sok. No: 9/1, 34854 Maltepe
İstanbul - Türkiye

*Çalışmamız 21-24 Nisan 2018'de Madrid'de düzenlenen 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) kongresinde sunulmuştur.



© Telif hakkı Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Derneği'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Society of Antimicrobial Chemotherapy. This journal published by Logos Medical Publishing. Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

GİRİŞ

Son yıllarda karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin neden olduğu enfeksiyonların sıklığının tüm dünyada giderek artması oldukça endişe verici bir durumdur. Karbapenemazları kodlayan genler sıklıkla diğer antibiyotiklere ait direnç genlerini de barındıran konjugatif plazmid ve transpozonlarda taşınmaktadır. *Enterobacteriaceae* ailesinde en sık gözlemlenen karbapenemazlar sınıf A (KPC, GES), sınıf B (IMP, VIM, NDM) ve Sınıf D (OXA-48)'dir. Bu mobil genetik elementler türler arasında ve kişiden kişiye kolaylıkla yayılım gösterebilmektedir^(8,17). Bu nedenle antimikrobiyal yönetimin ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin erken aşamada etkili olabilmesi için karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* taşıyıcılarını veya enfeksiyonlarını rutin laboratuvarında tespit eden hızlı, güvenilir ve uygun maliyetli testlere ihtiyaç vardır. Karbapenemaz genlerinin moleküler yöntemlerle tespit edilmesi altın standart olmakla birlikte deneyimli personel ve spesifik ekipman gerektirmesi, pahalı olması nedeniyle rutin laboratuvarında uygulanması zordur. Öte yandan, ticari moleküler paneller yalnızca en yaygın beş karbapenemaz genini (*KPC*, *NDM*, *OXA-48*, *IMP*, *VIM*) tespit etmek üzere geliştirilmiştir. Ancak bu paneller yeni bulunan karbapenemaz genlerini tespit edemezler^(19,20). Son yıllarda, *Enterobacteriaceae*'deki karbapenemaz aktivitesinin saptanması için birçok fenotipik yöntem (Modifiye Hodge testi, karbapenem inaktivasyon yöntemi, immünokromatografik testler vb.) geliştirilmiştir. Farklı çalışmalarda, bu yöntemlerin duyarlılıklarının ve özgüllüğünün karbapenemaz türüne göre değiştiği bildirilmiştir. Bu testlerin bazıları uygulaması özen ve deneyim gerektiren ve uzun inkübasyon sürelerine ihtiyaç duyan testlerdir. Özellikle CARBA NP testi karbapenemlerin hidrolizi sonucu oluşan pH değişikliğine bağlı olarak karbapenemaz üretimini tespit edebilen hızlı bir test olmasına rağmen OXA-48 pozitif kökenlerin tespitinde yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, daha doğru, hassas ve kullanımı kolay fenotipik yöntemlere ihtiyaç vardır.

Matriks destekli lazer desorpsiyon/ionizasyon

uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) mikroorganizmaların tür ve cins düzeyinde hızlı tanımlanmasında kullanılmak üzere rutin mikrobiyoloji laboratuvarına giren önemli bir teknolojidir. Konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırıldığında kısa sürede sonuç veren etkili bir sistemdir. Bu sistemler ile kısa sürede etkenin tür düzeyinde belirlenmesi uygun antimikrobiyal tedavinin başlanmasına % 11-44 arasında katkı sağladığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir⁽¹⁰⁾. Son yıllarda araştırmacılar bu sistemlerin sadece mikroorganizmaların tanımlanmasında değil aynı zamanda antibiyotik duyarlılık testlerinde de kullanılabileceğini gösteren çalışmalar bildirmektedir. Özellikle beta laktamaz ve karbapenemazların antibiyotikleri hidroliz etmesi sonucu oluşan değişikliklerin MALDI-TOF MS aracıyla saptanmasına yönelik çalışmalar tüm dünyada hız kazanmıştır^(3,7,12-14,16,18,21,24).

Çalışmamızda VITEK-MS (bioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, Fransa) sistemi kullanılarak ertapenem hidrolizi aracıyla karbapenemaz üretiminin hızlı saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bakterilerin Seçimi: Çalışmamızda, Marmara Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden etken olarak izole edilen ve otomatize sistem (VITEK Compact, bioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, Fransa) ile ertapenem, meropenem ve imipenemden en az birine dirençli saptanan 86 *Klebsiella pneumoniae* kökeni dahil edilmiştir. Negatif kontrol grubu olarak tüm antibiyotiklere duyarlı saptanan 20 *K.pneumoniae* kökeni kullanılmıştır.

DNA ekstraksiyonu ve Karbapenemaz genlerinin amplifikasyonu: Çalışmaya dahil edilen *K.pneumoniae* kökenleri % 5 koyun kanlı agara pasajlanıp bir gecelik inkübasyona bırakılmıştır. DNA izolasyonu için, inkübasyon sonrası üreyen kolonilerden 2-3 adet alınıp 250 µl distile su içerisinde bakteri süspansiyonu hazırlanarak 95°C'de 10 dakika ısıtılmıştır. Bakteri süspansiyonu 5 dakika 13,000 x g'de santrifüj edildikten elde edilen süpernatant polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) kalıp DNA olarak kullanılmıştır.

Tablo 1. PCR’da kullanılan primerler ve amplifikasyon koşulları.

Primer	Dizi	Boyut(bp)	Amplifikasyon Koşulları	Referans
OXA-48-R	5'-TTG GTG GCA TCG ATT ATC GG-3'	743	94°C 5 dk, 35 siklus (94°C 60 sn, 56°C 45 sn, 72°C 60 sn), 72°C 7 dk	1
OXA-48-F	5'-GAG CAC TTC TTT TGT GAT GGC-3'			
NDM-R	5'-GGG CAG TCG CTT CCA ACG GT-3'	475	95°C 5 dk, 30 siklus (95°C 30 sn, 60°C 40 sn, 72°C 50 sn), 72°C 6 dk	22
NDM-F	5'-GTA GTG CTC AGT GTC GGC AT-3'			
IMP-R	5'-GAA GGY GTT TAT GTT CAT AC-3'	587	95°C 5 dk 35 siklus (95°C 45 sn, 60°C 45 sn, 72°C 1 dk), 72°C 8 dk	23
IMP-F	5'-GTA MGT TTC AAG AGT GAT GC-3'			
VIM-R	5'-GTT TGG TCG CAT ATC GCA AC-3'	389	95°C 5 dk, 35 siklus (95°C 45 sn, 60°C 45 sn, 72°C 1 dk), 72°C 8 dk	23
VIM-F	5'-AAT GCG CAG CAC CAG GAT AG-3'			
KPC-R	5'-TGT CAC TGT ATC GCC GTC-3'	880	95°C 5 dk, 35 siklus (95°C 45 sn, 60°C 45 sn, 72°C 1 dk), 72°C 8 dk	9
KPC-F	5'-CTC AGT GCT CTA CAG AAA ACC-3'			

Ambler sınıflandırmasına göre en sık gözlemlenen karbapenemazlar olan sınıf A (KPC), sınıf B (NDM, IMP, VIM) ve sınıf D (OXA-48) beta-laktamazları kodlayan genler spesifik primerler ve amplifikasyon koşulları kullanılarak PCR ile tespit edilmiştir (Tablo 1)^(1,9,22,23). Her bir reaksiyon için 10X PCR tamponu, 2 mM dNTP, 3 pmol primer, 2.5 mM MgCl₂, 1 U Taq DNA polimeraz ve 2 µl of genomik DNA içeren 50 µl’lik PCR karışımı hazırlanıp amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri, % 1.5’luk agaroz jelde yürütülüp, etidyum bromid varlığında ultraviyole ışığı altında görüntülenmiştir.

Karbapenemaz üretiminin fenotipik tespiti:

Karbapenemaz üretiminin fenotipik olarak saptanması MALDI-TOF MS sistemi kullanılmıştır. Çalışmada ertapenemin piyasadaki mevcut ticari formu olan Invanz IV/IM (1 gr) (Merck Sharp&Dohme) etken madde olarak kullanılmıştır. Cihaz kalibrasyonu, LaunchPad version 2.9.3 software programında *E.coli* ATCC 8739 standart kökeni kullanılarak yapılmıştır. % 5 koyun kanlı agarda 18-24 saat inkübe edilen kökenlerden % 0.9’luk NaCl’de 4 McFarland bakteri süspansiyonu hazırlanıp 13,400 g’de santrifüj edilmiştir. Süpernatant atıldıktan sonra pellet üzerine 20 µl ertapenem (0.5 µg/ml) eklenip 2 saat ve 4 saat inkübe edilmiştir⁽¹⁵⁾. İnkübasyon sonrası tekrar santrifüj edilen örneklerin süpernatant kısmından 1 µl VITEK-MS (bioMérieux SA, Marcy-l’Étoile, Fransa) slaytına aktarıldıktan sonra üzerine 1 µl α-siyano-4-hidroksisülsamik asit (CHCA) matriks solüsyonu eklenmiştir. Analiz işleminin gerçekleştirmek üzere üreticinin önerileri doğrultusunda VITEK-MS RUO (bioMérieux SA, Marcy-l’Étoile, Fransa) sistemine aktarılmıştır. sistemi kullanılarak ertapenemin tek

başına spektrumları ile bakteri-ertapenem birlikteliklerinde elde edilen spektrumlar karşılaştırılmıştır. Ertapenemin tek başına sahip olduğu spektrumların (388, 430, 476, 497 Da), test edilen kökenlerde gözlemlenmemesi karbapenemaz üretimi açısından pozitiflik olarak değerlendirilmiştir^(5,6,14,15,25). Çalışmamızda pozitif kontrol köken olarak; *K.pneumoniae* ATCC BAA-1705(KPC-2 pozitif köken), *K.pneumoniae* IMP-1 pozitif köken, *P.aeruginosa* VIM-4 pozitif köken, *K.pneumoniae* 05-506 (NDM-1 pozitif köken), *K.pneumoniae* 4936 (OXA-48 pozitif köken), negatif kontrol köken olarak da *E.coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 kullanılmıştır^(1,2,26).

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 86 *K.pneumoniae* kökeninin *bla*_{OXA-48} (n=39), *bla*_{NDM} (n=37), *bla*_{IMP} (n=8) ve *bla*_{KPC} (n=2) karbapenemaz genlerini taşıdığı moleküller olarak tespit edilmiştir. Kökenlerin hiçbirinde *bla*_{VIM} geni tespit edilmemiştir. Negatif kontrol grubunda ise test edilen karbapenemaz genlerinin hiçbir saptanmamıştır.

Ertapenemin tek başına sahip olduğu spektrumlar (388, 430, 476, 497Da) çalışma kökenleri-ertapenem birlikteliklerinde saptanan spektrumlar ile karşılaştırıldığında; 2 saatlik inkübasyon sonrasında *bla*_{NDM}, *bla*_{IMP} ve *bla*_{KPC} geni pozitif kökenlerin tamamında ertapenem hidrolizi gözlenirken, *bla*_{OXA-48} geni pozitif olan kökenlerde ertapenem hidrolizinin zayıf olduğu tespit edilmiştir. Dört saatlik inkübasyon sonrası *bla*_{OXA-48} geni pozitif olan kökenlerin sadece 25’inde (% 64.1) ertapenem hidrolizi gözlemlenmiştir. İki ve 4 saat inkübasyon sonrası karbapenemaz

geni içermeyen kökenlerin hiçbirinde ertapenem hidrolizi gözlemlenmemiştir. Testin özgüllüğü 2. ve 4. saatte % 100 iken, duyarlılığı sırasıyla % 70.9 ve % 83.7 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Karbapenemaz üretiminin VITEK-MS ile analiz sonuçları.

VITEK MS ile karbapenem hidrolizi	Karbapenemaz Pozitif (n)	Karbapenemaz Negatif (n)
Karbapenem hidrolizi pozitif		
2. saat	61	20
4. saat	72	20
Karbapenem hidrolizi negatif		
2. saat	25	20
4. saat	14	20

TARTIŞMA

Günümüzde antibiyotik direnci halk sağlığını tehdit eden çok önemli bir sorundur. Son yıllarda tüm dünyada karbapenem direncinde geline nokta endişe verici düzeylerde. Karbapenem direncine neden olan en önemli mekanizma karbapenemaz üretimidir. Şimdiye kadar 100'den fazla karbapenemaz enzimi tanımlanmıştır⁽⁴⁾. Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin neden olduğu enfeksiyonların sıklığının artması ve yeni geliştirilen antimikrobiyallerin sayısının azalması nedeniyle bu dirençli mikroorganizmaların yayılımının önlenmesinde yeni stratejilere ihtiyaç vardır. Bu hedefe ulaşmanın önemli bir basamağı da direnç mekanizmasının en erken sürede belirlenmesidir. Bu amaçla rutin mikrobiyoloji laboratuvarında direnç mekanizmaların saptanmasına yönelik hızlı tanı testlerinin geliştirilmesine ihtiyaç doğmuştur.

Karbapenem direncinin saptanması rutin laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılık testleri, fenotipik ve genotipik yöntemler kullanılarak yapılmaktadır. Bu amaçla rutin laboratuvarında kullanılmak üzere birçok fenotipik yöntem (Modifiye Hodge, karbapenem inaktivasyon metodu, CARBA-NP vs.) geliştirilmiştir. Her ne kadar bu yöntemlerin bazıları antibiyotik duyarlılık rehberleri (EUCAST, CLSI) tarafından önerilse de yapılan çalışmalarda bu testlerin farklı özgüllük ve duyarlılıklara sahip olduğu belirlenmiştir. Şu ana kadar geliştirilen fenotipik yöntemler tüm karbapene-

nemaz tiplerini saptayabilme yeteneğine sahip değildir. Özellikle OXA-48 pozitif kökenlerin bu fenotipik yöntemlerle tanımlanmasında sıkıntılar vardır^(16,24). Ayrıca bu yöntemlerin birçoğu uzun inkübasyon sürelerine ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle gerek enfeksiyon kontrol önlemlerinin yapılması gerekse uygun tedavi protokollerinin oluşturulabilmesi geciktirmektedir. Genotipik testlerde ise aynı gün içerisinde sonuç alınabilmesine rağmen daha pahalı olması ve deneyimli personel ve ekipman ihtiyacı nedeniyle rutin laboratuvarlarda kullanımları zordur.

Konvansiyonel tanımlama yöntemleri ile kıyaslandığında çok sayıda mikroorganizmanın cins ve tür düzeyinde doğru ve kısa sürede tanımlanmasına olanak sağlayan MALDI-TOF MS sistemlerinin rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanıma girmesi önemli bir devrim yaratmıştır. MALDI-TOF sistemleri son yıllarda önemli direnç mekanizmalarına sahip mikroorganizmaların ayırt edilmesinde de kullanılmaya başlamıştır. Direncin bu yöntemle ortaya konabilmesi hücre duvar yapıları ve proteomdaki değişikliklerin saptanmasına ya da enzimlerin (beta laktamaz, karbapenemaz vb.) antimikrobiyaller üzerinde yaptığı değişikliklerin saptanmasına dayanmaktadır. Bu sayede rutin laboratuvarında çok kısa sürede mikroorganizmanın herhangi bir enzimatik dirence sahip olup olmadığı tespit edilebilmektedir^(3,11,12,13).

Karbapenemaz aktivitesinin MALDI-TOF MS ile tespiti için her ne kadar standart bir protokol bulunmasa da farklı yöntemler kullanılarak birçok çalışmada yapılmıştır. Bu çalışmalarda testlerin duyarlılıkları % 77-100, özgüllükleri % 94-100 arasında değişmektedir. Yalancı negatif sonuçlar çoğunlukla OXA-48 pozitif kökenlerde tespit edilmiştir^(3,7,14,12,13,16,18,21,24). Çalışmamızda ise KPC, NDM ve IMP tipi karbapenemazların VITEK MS ile tespiti 2 saat gibi kısa bir sürede sağlanmıştır. Ayrıca negatif kontrol grubunda yalancı pozitiflik saptanmamıştır. Bu karbapenemaz tipleri için testin duyarlılık ve özgüllüğü % 100'dür. Ancak inkübasyon süresi 4 saate uzatılmasına rağmen OXA-48 tipi karbapenemazların sadece % 64.1'i tespit edilebilmiştir. Bu nedenle testin duyarlılığı % 83.7 olarak tespit edilmiştir. Literatürdeki diğer çalışmalara benzer şekilde kullandığımız protokol ile

OXA-48'lerin yaklaşık 1/3 tespit edilememiştir. İlk olarak Türkiye'de tanımlanan OXA-48 enzimi daha sonra Orta Doğu, Hindistan, Kuzey Afrika ve birçok Avrupa ülkesinde bildirilmeye başlanmıştır^(1,18). Ülkemizde en sık karşılaşılan karbapenemaz olması nedeniyle oldukça önemlidir. Bu nedenle ülkemiz gibi OXA-48'in yaygın görüldüğü ülkelerde bu enzimin kısa sürede tespiti enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınabilmesi için oldukça önemlidir. MALDI-TOF ile OXA-48'lerin tespit edilememesi diğer fenotipik testlerde olduğu gibi düşük hidroliz aktivitesine bağlanmaktadır. Bunun yanı sıra ülkemizde ikinci sıklıkla karşılaşılan karbapenemaz NDM'dir ve bu enzimlerin tespiti de oldukça önemlidir. Çalışmamızda kullanılan yöntem ile NDM pozitif kökenlerin kısa sürede tespit edilmesi bu enzimlere sahip mikroorganizmaların yayılımının önlenmesinde ve antimikrobiyal yönetimine büyük katkı sağlayacaktır.

MALDI-TOF MS'in en önemli avantajı üreme gözlemlenen klinik örneklerden identifikasyon sonrası çok kısa sürede karbapenemaz üretimi hakkında bilgi sahibi olunabilir. Aynı zamanda tek bir slayt üzerinde çok sayıda kökenin aynı anda çalışılabilmesi mümkündür. Bu kadar kısa sürede sonuç alınabilmesi bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların yönetiminde ve yayılımlarının önlenmesinde kritik önem taşımaktadır. Özellikle salgın şüphesi olan durumlarda hızlı sonuç elde edebilmek için oldukça avantajlıdır. Uygulanması oldukça kolaydır ve değerlendirmenin bilgisayar aracılığı olması sonuçların yorumlanmasındaki hataları minimize etmektedir. Cihazın temini yapıldıktan sonra test maliyeti oldukça ucuzdur. Eş zamanlı olarak birden fazla enzimatik kaynaklı direnç profili test edilebilir. Bu yöntemin en önemli dezavantajı ise diğer karbapenem direnç mekanizmalarını saptayamamaktadır. OXA-48 pozitif kökenlerin tespitindeki zorluklar mevcut yöntemler ile hala zor gibi gözükmektedir. OXA-48 üreten kökenlerin daha iyi tespit edilebilmesi için yeni protokoller geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onayı: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı alınmıştır. (01.03.2016/270)

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: Approval was obtained from Marmara University Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee. (01.03.2016 / 270)

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

KAYNAKLAR

1. Aktaş Z, Kayacan CB, Schneider I, et al. Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase, OXA-48, persists in *Klebsiella pneumoniae* in Istanbul, Turkey. *Chemotherapy*. 2008;54(2):101-6. doi: 10.1159/000118661. Epub 2008 Feb 25. PubMed PMID: 18303258. <https://doi.org/10.1159/000118661>
2. Aktaş Z, Kayacan CB. Investigation of metallo-beta-lactamase producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* by E-test, disk synergy and PCR. *Scand J Infect Dis*. 2008;40(4):320-5. <https://doi.org/10.1080/00365540701704698>
3. Burckhardt I, Zimmermann S. Using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours. *J Clin Microbiol*. 2011;49(9):3321-4. <https://doi.org/10.1128/JCM.00287-11>
4. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):969-76. doi: 10.1128/AAC.01009-09. Epub 2009 Dec 7. Review. PubMed PMID: 19995920 <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
4. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):969-76. doi: 10.1128/AAC.01009-09. Epub 2009 Dec 7. Review. PubMed PMID: 19995920; PubMed Central PMCID: PMC2825993. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
5. Carvalhaes CG, Cayô R, Visconde MF, et al. Detection of carbapenemase activity directly from blood culture vials using MALDI-TOF MS: a quick answer for the right decision. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69(8):2132-6. <https://doi.org/10.1093/jac/dku094>
6. Carvalhaes CG, da Silva AC, Streling AP, et al. Detection of c carbapenemase activity using VITEK

- MS: interplay of carbapenemase type and period of incubation. *J Med Microbiol.* 2015;64(8):946-7.
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.000102>
7. Chong PM, McCorrister SJ, Unger MS, et al. MALDI-TOF MS detection of carbapenemase activity in clinical isolates of Enterobacteriaceae spp., *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* compared against the Carba-NP assay. *J Microbiol Methods.* 2015;111:21-3.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.01.024>
8. Cohen Stuart J, Leverstein-Van Hall MA; Dutch working party on the detection of highly resistant micro-organisms. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36(3):205-10.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.05.014>
9. Cole JM, Schuetz AN, Hill CE, et al. Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase genes. *J Clin Microbiol.* 2009;47(2):322-6.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01550-08>
10. Hammoudi D, Moubareck CA, Sarkis DK. How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. *J Microbiol Methods.* 2014;107:106-18.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.09.009>
11. Hrabák J, Chudácková E, Papagiannitsis CC. Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(9):839-53.
<https://doi.org/10.1111/1469-0691.12678>
12. Hrabak J, Walkova R, Studentova V, et al. Carbapenemase activity detection by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2011;49(9):3222-7.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00984-11>
13. Hrabák J, Chudácková E, Walková R. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: from research to routine diagnosis. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(1):103-14.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00058-12>
14. Hoyos-Mallecot Y, Cabrera-Alvargonzalez JJ, Miranda-Casas C, et al. MALDI-TOF MS, a useful instrument for differentiating metallo- β -lactamases in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. *Lett Appl Microbiol.* 2014;58(4):325-9.
<https://doi.org/10.1111/lam.12203>
15. Johansson A, Ekelöf J, Giske CG, et al. The detection and verification of carbapenemases using ertapenem and matrix assisted laser desorption ionization-time of flight. *BMC Microbiol.* 2014;14:89.
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-89>
16. Knox J, Jadhav S, Seviour D, et al. Phenotypic detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and the Carba NP test. *J Clin Microbiol.* 2014;52(11):4075-7.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02121-14>
17. Lee CR, Lee JH, Park KS, et al. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. *Front Microbiol.* 2016;7:1-30.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00895>
18. Mirande C, Canard I, Croix Blanche SB, et al. Rapid detection of carbapenemase activity: benefits and weaknesses of MALDI-TOF MS. *Eur J Microbiol Infect Dis.* 2015;34(11):2225-34.
<https://doi.org/10.1007/s10096-015-2473-z>
19. Morency-Potvin P, Schwartz DN, Weinstein RA. Antimicrobial stewardship: How the microbiology laboratory can right the ship. *Clin Microbiol Rev.* 2016;30(1):381-407.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00066-16>
20. Osei Sekyere J, Govinden U, Essack SY. Review of established and innovative detection methods for carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *J Appl Microbiol.* 2015;119(5):1219-33
<https://doi.org/10.1111/jam.12918>
21. Ovia-o M, Barba MJ, Fernández B, et al. Rapid detection of OXA-48-Producing Enterobacteriaceae by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2016;54(3):754-9.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02496-15>
22. Perry JD, Naqvi SH, Mirza IA, et al. Prevalence of faecal carriage of Enterobacteriaceae with NDM-1 carbapenemase at military hospitals in Pakistan, and evaluation of two chromogenic media. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(10):2288-94.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkr299>
23. Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, et al. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. *J Clin Microbiol.* 2005;43(7):3129-35.
<https://doi.org/10.1128/JCM.43.7.3129-3135.2005>

24. Tijet N, Boyd D, Patel SN, et al. Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(9):4578-580.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00878-13>
25. Vogne C, Prod'homme G, Jaton K, et al. A simple, robust and rapid approach to detect carbapenemases in Gram-negative isolates by MALDI-TOF mass spectrometry: validation with triple quadrupole tandem mass spectrometry, microarray and PCR. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(12): O1106-12.
<https://doi.org/10.1111/1469-0691.12715>
26. Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(12):5046-54.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00774-09>

Diş Tedavisini Takiben Gelişen, *Streptococcus anginosus*'a Bağlı, Omuz Eklemine Tutan Bir Septik Artrit Olgusu

Ali İlgin Olut ©
Funda Balaylar ©
Mehmet Umut Çayıröz ©
Taşkın Altay ©

A Case of Septic Arthritis of Shoulder Joint Due to *Streptococcus anginosus* Following Dental Treatment

Öz

Romatolojik acil durumlar içinde sınıflanan septik ya da piyojenik artrit olarak da bilinen bakteriyel artritler erken tanı konulamaz ve uygun tedavi yapılamazsa kalıcı eklem harabiyetine yol açabilmektedir. Enfeksiyonun oluşma yolu ve hastaya bağlı risk faktörlerine göre enfeksiyon etkenleri değişiklik gösterir. Tüm olgularda en sık görülen etkenler % 75-80 oranında Gram pozitif koklardır ancak immün yetmezlik, iv ilaç alışkanlığı, ileri yaşlar veya iatrojenik olgularda gram negatif basiller de etken olabilirler.

Streptococcus anginosus grubu bakteriler hareketsiz, fakültatif anaerob, diğer tüm streptokoklar gibi katalaz negatif gram pozitif koklar olup özellikle ağız boşluğu olmak üzere tüm gastrointestinal sistemin normal florasında bulunur. *S.anginosus*'a bağlı enfeksiyonların diğer streptokok enfeksiyonlarından farklı olarak en önemli karakteristiği apse oluşturma eğilimidir ve diğer düşük virülanslı streptokoklardan farklı olarak izolasyonunda gerçek patojen olarak kabul edilmelidir. Diş apseleri, gingivitis gibi minör oral kavite enfeksiyonlarından, derin boyun enfeksiyonlarına, metastatik akciğer, karaciğer, beyin apselerine yol açabilmektedir. Literatürde kemik ve eklem tutulumu çok nadiren bildirilmiştir.

Bu sunumda sol omuzda şişlik ve ağrı şikayeti ile başvuran immün kompetan, 64 yaşındaki kadın hastada, diş tedavisinden bir ay sonra gelişen septik artrit tablosu bildirilmektedir. Hastanın başvurusundaki sinoviyal sıvı incelemesinde 26,000 lökosit/mm³, % 82 polimorfonükleer lökosit saptanması ve gram boyamada mikroorganizma görülmemesi üzerine ampirik piperasilin-tazobaktam+daptomisin iv tedavisi başlanmıştır. Kültür sonucunda dördüncü günde *S.anginosus* üremesi saptanınca piperasilin-tazobaktam kesilip tedaviye iv daptomisin ile devam edilerek 14 güne tamamlanmıştır. Hasta amoksisilin-klavulanik asit 1000 mg 2x1 oral antibiyoterapi ile taburcu edilmiş, iki hafta sonunda kontrolünde klinik iyileşme saptanarak tedavisi sonlandırılmıştır.

Anahtar kelimeler: diş tedavisi, septik artrit, *Streptococcus anginosus*

ABSTRACT

Septic arthritis is classified in acute rheumatologic emergencies and prompt diagnosis and treatment is critical for prognosis since the infection may lead to permanent destruction. Etiology varies due to routes of infection and host factors. Gram positive cocci are responsible in most of the cases (75-80 %) but in case of immune suppression, elderly patients, intravenous drug usage and iatrogenic cases, Gram negative bacilli may also be involved.

S.anginosus group are non-motile, facultative anaerobe and catalase-negative Gram-positive cocci that are recognized as normal flora of the human oral cavity and gastrointestinal tract.

The unique characteristic of the *S.anginosus* group that sets these streptococci apart from other pathogenic streptococci is their ability to cause abscesses and should be considered as true pathogens when isolated. Infections vary from dental abscesses, gingivitis and other periodontal infections to deep neck infections, metastatic lung, liver, intra-abdominal and brain abscesses. In the literature soft tissue infections, septic arthritis and osteomyelitis are very rarely reported.

In this case report we present a case of septic arthritis due to *S.anginosus* in an otherwise immunocompetent 64 year old woman that presented with pain and swelling of the left shoulder one month after a dental treatment. The sinovial fluid analyses revealed a WBC count of 26,000/mm³ with 82 % polymorphonuclear leukocytes with a negative Gram stain. The patient was started on empirical intravenous treatment with piperacillin-tazobactam and daptomycin. At the fourth day, the synovial fluid culture results yielded *S.anginosus*, then piperacillin-tazobactam was stopped and daptomycin continued till the 14th day. The patient was discharged with oral amoxicillin-clavulanic acid 1 gr/day for 14 days. After two weeks the therapy was stopped due to clinical improvement.

Keywords: dental treatment, septic arthritis, *Streptococcus anginosus*

Alındığı tarih: 17.01.2019
Kabul tarihi: 25.04.2019
Yayın tarihi: 30.04.2019

Ali İlgin Olut

S.B.Ü. İzmir Bozyaka Eğitim Araştırma
Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Kliniği
İzmir - Türkiye

✉ iolut@yahoo.com

ORCID: 0000-0003-4129-6453

F. Balaylar 0000-0001-1884-2121

S.B.Ü. İzmir Bozyaka EAH
Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Kliniği
İzmir - Türkiye

M. U. Çayıröz 0000-0002-5493-5499

Bucak Devlet Hastanesi
Burdur - Türkiye

T. Altay 0000-0002-6917-934X

S.B.Ü. İzmir Bozyaka EAH
Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği
İzmir - Türkiye

GİRİŞ

Septik artrit, eklemlerdeki sinoviyal zar ve sinoviyal sıvının (SS) bakteriyel, viral ya da fungal etkenlerle oluşan iltihabıdır. Sinoviyal zar oldukça vasküler bir yapıdır ancak koruyucu bazal membranı olmadığı için mikroorganizmaların kolaylıkla yerleşmesi için uygun bir alan teşkil eder⁽¹⁸⁾.

Bakteriler eklem ve eklem sinoviyasına en sık olarak vücuttaki diğer bir enfeksiyon odağından hematogen yolla, daha seyrek olarak da lokal travma (açık kırıklar, eklem içi cerrahi girişimler, artroplastik ameliyatları vs.) veya osteomyelit, selülit, bursit gibi komşu bir enfeksiyon odağından gelirler. En sık tutulan eklem % 45 oranında diz eklemidir ve bunu kalça, ayak bileği, dirsek, el bileği ve omuz eklemleri takip eder^(16,17). Septik artrit atağı akut bir tablodur. Olgularda genellikle ateş yükselmesi, halsizlik, iştahsızlık, bulantı vb. sistemik bulgulara ek olarak eklemde şişlik, kızarıklık, sıcaklık artışı, hassasiyet ve hareket kısıtlılığı gibi lokal inflamasyon bulguları vardır. Kesin tanı sinovyal sıvının steril koşullarda aspire edilerek makroskopik, mikroskopik, mikrobiyolojik ve biyokimyasal değerlendirilmesi ile konulur. Sinovyal sıvıdaki lökositlerin 50,000/mm³ üzerinde ve polimorf çekirdekli lökositlerin % 80 üzerinde olması akut bakteriyel enfeksiyon lehinedir⁽¹¹⁾. Hücre sayısının 20,000-50,000/mm³ arasında olması tanıyı zorlaştırabilir, lökosit sayısının 20,000/mm³'ün altında olması ise enfeksiyon olasılığını azaltır⁽¹¹⁾. Gram boyaması ile Gram pozitif bakteriler % 75-80, Gram negatif bakteriler % 40-50, gonokoklar ise % 20-25 oranında gözlemlenebilir. SS'de etken üretme oranı ise ortalama % 60 civarındadır ve % 14'lük bir kısımda ek olarak kan kültürü ile tanı konulmaktadır. Bu yüzden SS'ya ek olarak kan kültürü alınması da önemlidir⁽¹¹⁾.

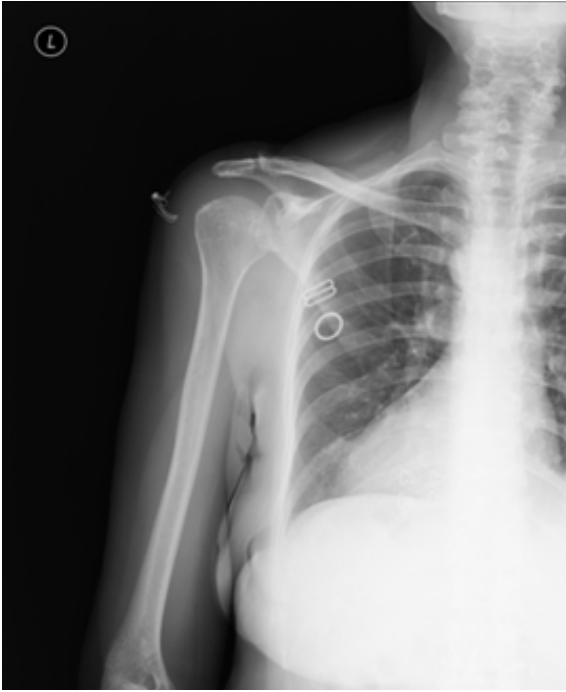
Oral ve gastrointestinal sistemin normal florasında bulunan ve çoğunlukla ağız içinde lokal enfeksiyonlara yol açan *S.anginosus* suşu bakteremi ile birlikte genellikle apse oluşumu ile karakterize sistemik enfeksiyonlara yol açabilir⁽⁹⁾. Bununla birlikte kas ve iskelet sistemi tutulumu oldukça nadir olarak bildirilmektedir⁽⁹⁾. Bu olgu sunumunda 64 yaşında

kadın hastanın sol omzunda diş tedavisini takiben bir ay sonra gelişen *S.anginosus*'a bağlı septik artrit bildirilmektedir.

OLGU

Altmış dört yaşında kadın hasta sol omuzda bir haftadır olan ağrı, şişlik ve hareket kısıtlılığı nedeniyle başvurmuştur. Travma öyküsü olmayan hastanın anamnezinde yaklaşık bir ay önce diş tedavisi yaptırdığı öğrenilmiştir.

Fizik muayenesinde vücut sıcaklığı 36.4°C saptanırken, sistemik enfeksiyon hastalığına ait muayene bulgusu saptanmamıştır. Hareket sistemi muayenesinde sol omuz hareketleri kısıtlı ve ağrılı olduğu gözlenmiştir. Diğer eklemlerin muayenesi olağan bulunmuştur. Rutin laboratuvar incelemesinde tam kan sayımında lökosit: 6130/mm³, C-reaktif protein (CRP): 146 mg/L, sedimentasyon 132 mm/saat, kan biyokimyasında karaciğer ve böbrek fonksiyonları normal sınırlarda saptanmıştır. Sol omuz eklem grafisinde dejeneratif değişiklikler ve eklem aralığında artışı olduğu görülmüştür (Resim). Hastanın sol omuz ekleminden steril koşullar altında 20 ml sinovyal sıvı aspire edilmiştir. SS incelemesinde 26.000 lökosit/mm³ + % 85 polimorfonükleer lökosit saptanması ve Gram boyamada bakteri gözlenmemesi üzerine ampirik olarak piperasilin-tazobaktam 3x4.5 g/gün iv ve daptomisin 1x400 mg/gün iv başlanmıştır. Hastanın SS kültüründe dördüncü günde *Streptococcus anginosus* üremesi saptanınca piperasilin-tazobaktam kesilip tedaviye daptomisin ile devam edilmiştir. Damar içi antibiyoterapisi 14 güne tamamlanan hastada kontrol CRP: 21 mg/L, sedimentasyon 56 mm/saat olarak saptanması ve enfeksiyon kliniğinde belirgin gerileme olması üzerine oral amoksisilin/klavulanik asit 1000 mg 2x1 14 gün kullanım önerisi ile taburcu edilmiştir. Taburculuktan 14 gün sonrasındaki kontrolünde sol omuzdaki ağrı ve hareket kısıtlılığının gerilemesi ve CRP değerinin 5 mg/L düşmesi üzerine tedavi sonlandırılmıştır. Hastanın 30 gün sonraki kontrolünde eklemde ağrı ve hareket kısıtlılığı gözlenmemiştir.



Resim. Sol omuzu tutan septik artrit ve çevre yumuşak dokuda yaygın ödem.

TARTIŞMA

Septik artrit etiyolojisinde en sıklıkla Gram pozitif bakteriler sorumlu tutulmakta ve olguların yaklaşık % 80'ini oluşturmaktadır. Özellikle *Staphylococcus aureus* extraselüler matriks proteinlerine bağlanan yüzeyel adezyon molekülleri içerdiğinden septik artritlerin en sık etkenidir⁽⁸⁾.

Streptokokkal septik artritler non-gonokokal septik artritlerin % 15-30'unu oluşturmakta ve çoğunlukla *Streptococcus pyogenes* (Grup A), *Streptococcus agalactiae* (Grup B) ve pnömokoklara bağlı gelişmektedir^(3,8). Viridans streptokoklar, özellikle ağız ve gastrointestinal sistem florasında yer alan düşük patojeniteye, yüksek antimikrobiyal duyarlılığa sahip Gram pozitif koklardır. Diş çürükleri ve enfektif endokarditin başlıca etkenlerinden olmalarına karşılık septik artrit etiyolojisinde nadiren yer almaktadırlar⁽¹⁾. Kapsamlı yorum ve derlemelerde etkenler arasında sayılmamakla birlikte diz, çene, sternoklavikular, sakroiliak eklemlerin tutulduğu olgular bildirilmektedir^(6,8,14,19).

Viridans grubu üyeleri arasında olan *S.anginosus*

enfeksiyonları genellikle ağız içi, baş boyun, pulmoner ve intraabdominal yerleşimli olup tipik olarak apse oluşumu ile karakterizedir^(9,12). Çok nadir olarak septik artritte izole edilmişlerdir⁽³⁾. Literatürde *S.anginosus*'a bağlı beş adet olgu bildirilmiştir^(4,7,10,20,22). Olgulardan üçü diz, biri sternoklavikular ve biri de supraklavikular eklem tutulumu olup üç olguda önemli derecede predispozan durum bildirilmiştir (bir hastada romatoid artrit, bir hastada steroid tedavisi, bir hastada gut, diabetes mellitus ve steroid tedavisi). Beş hastanın dördüne cerrahi drenaj yapılmış, dört hasta penisilin, bir hasta da üç hafta ampicilin tedavisini takiben altı hafta sefazolin ile tedavi görmüştür. Sternoklavikular ve supraklavikular eklem tutulumu olan hastalar tümüyle iyileşmiş, diz tutulumu olan üç hastada enfeksiyon temizlenmesine rağmen kalıcı eklem destrüksiyonuna bağlı hareket kısıtlılığı devam etmiştir^(7,10).

Literatürde diş tedavisini takiben gelişen septik artrit olguları yer almaktadır ancak bunların büyük kısmı protez eklemlerde görülmekte ve tedavi sonrası oluşan bakteremiye bağlı geliştiği öngörülmektedir^(2,5,13,21). Al Himdani ve ark.⁽¹⁾ kanal tedavisini takiben gelişen grup C streptokoklara bağlı kalça eklem artritini rapor etmişler ve literatürde yer alan benzer olguları da göz önüne alarak eklem protezi olan hastalara diş tedavisinden iki saat önce ve dört saat sonra oral 625 mg amoksisilin-klavulanik asit ile profilaksi önermişlerdir.

Diş tedavisini takiben doğal eklemden gelişen septik artrit çok nadiren bildirilmiştir. Papaioannides ve ark.⁽¹⁴⁾ ve Patrick ve ark.⁽¹⁵⁾ invazif bir diş tedavisini takiben üçüncü ve dördüncü haftalarda gelişen *Streptococcus sanguinis*'e bağlı iki diz eklem artritini bildirmişler ve yakın zamanda diş tedavisi sonrası gelişen septik artritlerde oral streptokokların da ön planda düşünülmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Olgumuz literatürde *S.anginosus*'a bağlı rapor edilen altıncı septik artrit olup diş tedavisini takiben gelişen ilk olgudur. Son olgu Balentine ve ark.⁽²⁾ tarafından 1989'da bildirilmiş, yazarlar üç haftalık damar içi ampicilin ile tedavi ettikleri ve sonrasında akut rekürrens ve sepsis ile başvuran olgularını ve literatürdeki olguların göreceli olarak yüksek morbidite ile seyret-

mesini göz önüne alarak tedavinin altı haftaya tamamlanmasını önermişlerdir. Olgumuz iki hafta damar içi iki hafta da oral tedavi ile iyileşme saptanmış olup sonrasında rekürrens gözlenmemiştir. Ancak immün supresif durumunun veya eklemi ilgilendiren predispozan faktörlerin bulunmaması göz ardı edilmemelidir.

Sonuç olarak, oral viridans streptokoklara bağlı septik artritlerin, oldukça nadir görülmekle ve kapsamlı rehberlerde etkenleri arasında yer almamakla birlikte yakın zamanda diş tedavisi sonrası gelişen septik artritlerde olası etkenler arasında ön planda akla gelmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

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

KAYNAKLAR

1. Al-Himdani S, Woodnutt D. Group C streptococcal septic arthritis of a prosthetic hip joint following dental treatment. *BMJ Case Rep.* 2015;22:1-4. <https://doi.org/10.1136/bcr-2015-211203>
2. Balentine LT, Papasian CJ, Burdick C. Septic arthritis of the knee due to *Streptococcus anginosus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1989;12(2):189-91. [https://doi.org/10.1016/0732-8893\(89\)90012-6](https://doi.org/10.1016/0732-8893(89)90012-6)
3. Blankstein A, Amsallem JL, Rubinstein E, et al. Septic arthritis of the acromioclavicular joint. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1985;103(6):417-8. <https://doi.org/10.1007/BF00435451>
4. Edson RS, Osmon DR, Berry DJ. Septic arthritis due to *Streptococcus sanguis*. *Mayo Clin Proc.* 2002;77(7):709-10. <https://doi.org/10.4065/77.7.709>
5. Fazili T, Riddell S, Kiska D, et al. *Streptococcus anginosus* group bacterial infections. *Am J Med Sci.* 2017;354(3):257-61. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2017.05.011>
6. Goldenberg DL, Reed JI. Bacterial arthritis. *N Engl J Med.* 1985;312(12):764-71. <https://doi.org/10.1056/NEJM198503213121206>
7. Houston BD, Crouch ME, Finch RG. *Streptococcus MG-intermedius* (*Streptococcus milleri*) septic arthritis in a patient with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1980;7(1):89-92.
8. Hynd RF, Kloforn RW, Wong JK. *Streptococcus anginosus-constellatus* infection of the sternoclavicular joint. *J Rheumatol.* 1984;11(5):713-5.
9. Jacobson JJ, Matthews LS. Bacteria isolated from late prosthetic joint infections: dental treatment and chemoprophylaxis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987;63(1):122-6. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(87\)90352-5](https://doi.org/10.1016/0030-4220(87)90352-5)
10. Johnson CC, Tunkel AR. Viridans streptococci, groups C and G streptococci, and *Gemella morbillorum*, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 6.baskı" kitabında s.2434-51, Churchill Livingstone, Philadelphia (2005).
11. Kaandorp CJ, Dinant HJ, van de Laar MA, et al. Incidence and sources of native and prosthetic joint infection: a community based prospective survey. *Ann Rheum Dis.* 1997;56(8):470-5. <https://doi.org/10.1136/ard.56.8.470>
12. Lever AM, Owen T, Forsey J. Pneumoarthropathy in septic arthritis caused by *Streptococcus milleri*. *Br Med J.* 1982;285(6334):24. <https://doi.org/10.1136/bmj.285.6334.24>
13. Maderazo EG, Judson S, Pasternak H. Late infections of total joint prostheses: a review and recommendations for prevention. *Clin Orthop.* 1988;229(229):131-42. <https://doi.org/10.1097/00003086-198804000-00017>
14. Papaioannides D, Boniatsi L, Korantzopoulos P, et al. Acute septic arthritis due to *Streptococcus sanguis*. *Med Princ Pract.* 2006;15(1):77-9. <https://doi.org/10.1159/000089391>
15. Patrick MR, Lewis D. Short of a length: *Streptococcus sanguis* knee infection from dental source. *Br J Rheumatol.* 1992;31(8):569. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/31.8.569-a>
16. Peters RH, Rasker JJ, Jacobs JW, et al. Bacterial arthritis in a district hospital. *Clin Rheumatol.* 1992;11(3):351-5. <https://doi.org/10.1007/BF02207192>
17. Pioro MH, Mandell BF. Septic arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 1997;23(2):239-58. [https://doi.org/10.1016/S0889-857X\(05\)70328-8](https://doi.org/10.1016/S0889-857X(05)70328-8)
18. Ross JJ. Septic arthritis of native joints. *Infect Dis Clin North Am.* 2017;31(2):203-18. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2017.01.001>
19. Seviour PW, Dieppe PA. Sternoclavicular joint infecti-

- on as a cause of chest pain. Br Med J. 1984;288(6411): 133-4.
<https://doi.org/10.1136/bmj.288.6411.133>
20. Stratton CV, Sexton D, Baron EL. Infections due to the *Streptococcus anginosus* (*Streptococcus milleri*) group. Uptodate, Literature review current through Nov 2018.
21. Sullivan PM, Johnston RC, Kelley SS. Late infection after total hip replacement, caused by an oral organism after dental manipulation: a case report. J Bone Joint Surg Am. 1990;72:121-3.
<https://doi.org/10.2106/00004623-199072010-00019>
22. Vartian C, Lerner PI, Shlaes DM, et al. Infections due to Lancefield group G streptococci. Medicine (Baltimore) 1985;64(2):75-88.
<https://doi.org/10.1097/00005792-198503000-00001>

ANKEM DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği'nin yayın organı olan ANKEM Dergisi; antimikrobiklere direnç başta olmak üzere mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıkları alanlarındaki çalışma, derleme, olgu sunumu, yayın tanıtması ve haberleri yayınlar. Dergide yayınlanan çalışmalarla ilgili görüşler ve bunlara yayın sahibinin cevaplarına "Editöre mektup" bölümünde yer verir.

Gönderilecek makalelerde araştırma ve yayın etiğine uygunluk en başta aranan özelliklerdir.

ANKEM Dergisi 29. ciltten itibaren yılda üç sayı (Nisan, Ağustos, Aralık) olarak yayınlanmakta, her sayıda araştırma makalesi ağırlıklı olmakta, derleme ve olgu sunumuna az sayıda yer verilmektedir.

Makaleler microsoft word programında yazılmış olmalı ve ankem@ankemdernegi.org.tr adresine gönderilmelidir. Ayrıca makalenin tam metin olarak başka bir dergide yayınlanmadığını (yayınlanmışsa tekrar yayınlama isteği için gerekçeyi), yazarların makalenin ANKEM Dergisinde yayınlanmasını ve tüm içeriğini onayladıklarını bildiren ve bütün yazarların imzaladığı, Bio, Dr, Uzm Dr, Prof Dr.... gibi akademik unvanlarını da içeren bir yazı ve gerekli olduğunda Etik Kurul onayı posta ya da faksla Dernek adresine gönderilmelidir. Yazımacı yazarın posta adresi, tel, GSM, faks numaraları ve e-posta adresi belirtilmelidir. Makale önceden yapılmış bir sunu ile ilgili ise sununun yapıldığı toplantı isim-tarih-yer ve sunu numarası ile bildirilmelidir. Herhangi bir destek alınmışsa belirtilmelidir.

ANKEM Dergisinde yayınlanacak araştırma makaleleri editörler kurulunca hem kapsamı, hem düzeni bakımından uygun görülmelidir. Bu tür makaleler ANKEM formatına göre düzenlendikten sonra yazarlar ve adresler gizlenerek en az üç bilimsel hakeme gönderilir. Bir ciltteki makaleler için ANKEM'e yardımcı olan hakemler cildin 3. sayısında listelenmekte ve kendilerine teşekkür edilmektedir. Makalelerin yayınlanıp yayınlanmamasına, düzeltildikten sonra yayınlanmasına, yayınlanma önceliğine hakem raporlarını dikkate alarak editörler kurulu karar verir. Editörler kurulunun makalenin mesajını değiştirmeyen düzeltmeleri ve kısaltmaları yapma yetkisi vardır. Makale ile ilgili bilimsel ve hukuki sorumluluk yazarlara aittir. Derleme makaleler lüzum görülürse hakeme gönderilir.

1. Yazım ve dil düzeni:

Makaleler Türkçe veya İngilizce olarak yayınlanır. Dilimize yerleşmiş terimler yazım kurallarımıza göre kullanılmalı, Türk Dil Kurumu'nun hazırladığı "Yeni Yazım Kılavuzu" ve "Türkçe Sözlük" esas alınmalıdır.

Metin içinde kullanılan (tablo ve kaynaklardakiler dışında) Lâtince mikroorganizma adları italik yazılmalıdır. İlk kullanıldığında tam olarak yazılan mikroorganizma adı, daha sonraki kullanışlarında cins adının ilk harfi kullanılarak kısaltmalıdır:

Escherichia coli *E.coli* gibi

Stafilokok, streptokok gibi Türkçe'ye yerleşmiş cins adları ve antibiyotik adları Türkçe olarak yazılmalıdır.

Yanında birim gösterilmeyen ondan küçük sayılar yazı ile yazılmalı, rakam ile yazılan sayılara takılar kesme işareti ile eklenmelidir.

beş hasta, suşların 38'i gibi

Sıra belirten sayılar: beşinci, 118. veya 118'inci gibi yazılmalıdır.

% işaretinden, birim eklenen sayılardan, ard arda yazılan sayılar arasındaki virgüllerden sonra bir harflik boşluk bırakılmalıdır.

% 18, 10 ml, Tablo 1, 2, 3, 4 1., 2., 3. sıra gibi

Boyama yöntemi olan Gram büyük harfle ve Gram (-) yerine Gram negatif şeklinde yazılmalıdır.

Cümleler zorunluluk olmadıkça rakamla gösterilen sayılarla başlamamalıdır.

Makaleler bir zorunluluk olmadıkça "mişli geçmiş" kipi ile yazılmalıdır.

2. Yazı formu:

Bir çalışma ile ilgili makaleler BAŞLIK, İNGİLİZCE BAŞLIK, ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ, GEREÇ VE YÖNTEM, BULGULAR, TARTIŞMA, KAYNAKLAR bölümlerini içermelidir. TEŞEKKÜR yazmak isteniyorsa kaynaklardan önceye konulmalıdır.

Derleme makaleler yazarın uygun göreceği şekilde bölümlere ayrılır.

Başlıkta yazar adlarında, soyadlar büyük harfle olmak üzere, ön adlar da açık olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştığı kuruluş adresi en kısa şekli ile yazar adlarının altında gösterilmeli, yazarlar farklı kuruluşlarda çalışıyorlarsa adlar ve kuruluşlar sayılarla belirtilmelidir.

ÖZ, yazının içeriğini, bulgularla ilgili önemli hususları içermeli ve okuyucuya makalenin bütünü hakkında yeterli bilgi verecek uzunlukta olmalıdır ve 250 kelimeyi geçmemelidir. Özden sonra 4-6 "Anahtar kelimeler" konmalıdır. Bu sözcükler konu indekslerinde kullanılacağından itina ile seçilmeli, uygunluğu Türkiye Bilim Terimleri (<http://www.bilimterimleri.com>)'nden kontrol edilmeli ve harf dizinine göre sıralanmalıdır.

ABSTRACT yazılırken özete sadık kalınmalıdır. Abstract'tan sonra (anahtar kelimelere karşılık) 4-6 "Keywords" Türkçe anahtar sözcükleri bulduğunuz sayfadaki MeSH karşılığında yer alan sözcüklerden seçilmelidir.

GİRİŞ konuyu anlamayı kolaylaştıracak bilgileri ve çalışmanın amacını kısa ve özlü bir şekilde vermelidir.

GEREÇ VE YÖNTEM bölümü konuyla ilgili kişilerce esasen bilinenleri tekrar anlatmamalı, kolay erişilebilecek kaynakların gösterildiği anlatım tercih edilmelidir.

BULGULAR, çalışmanın sonuçlarını gerekiyorsa tablo ve şekillerin yardımı ile vermelidir. Şekil, grafik ve fotoğraf çok gerekmedikçe kullanılmamalıdır.

TARTIŞMA bölümü bulgular ve tabloların tekrarı olmamalı, bulguların önemli yönlerini vurgulamalı ve başka araştırmacıların bulguları ile karşılaştırmalıdır.

Makale, tablo ve şekiller dışında 10 sayfayı, kaynak

sayısı (derlemeler dışında) 25'i geçmemelidir. Daha uzun makaleler editörler kurulunca gerekli görülürse kabul edilir, kurulca kısaltılabilir veya yazardan kısaltması istenebilir.

3. Tablo ve şekil düzeni:

Tablolar alt ve üst çizgiler ve gereğine göre ara çizgileri içermeli (gereksiz yatay ve dikey çizgilerden kaçınılmalı), arap rakamları ile sıralanmalı, tablo adı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır.

Tablonun adı içeriğine uygun en kısa şekilde olmalıdır. Bulguların kolay anlaşılması için tablolar halinde verilmesine gayret edilmeli, ancak metin içinde birkaç cümle ile belirtilen hususlar için ayrıca tablo düzenlenmemelidir. Metin içinde tablodaki bilgiler gereksiz yere tekrar edilmemeli, önemli hususların belirtilmesi ile yetinilmelidir.

Tablolarda (ve metinde) ortalamalar ve yüzde oranları anlamlı değilse tam sayıdan sonra yürütülmemeli (veya anlamlı olduğu kadar yürütülmeli), en yakın sayıya yuvarlanarak gösterilmelidir.

Örneğin:

34 suşun 13'ünü % 38 olarak belirtmek anlamayı kolaylaştırıcı olabilir, fakat bu oran % 38.2 şeklinde uzatılmamalıdır. Uzatmadaki ilk rakamın binde bir olasılığı gösterdiği, ancak büyük sayılarda bu olasılığı belirtmek hakkı olacağı düşünülmelidir.

Ortalamalar anlamlı olacak ve kolay anlaşılacak şekilde verilmelidir. Örneğin eritrosit sayımlarının ortalaması 4,365,248 değil, 4,365,000 olarak verilmelidir.

Makaleye ancak çok gerekli ise eklenecek siyah-beyaz şekil, grafik, kimyasal formül, fotoğraf, mikrofotografılar "Şekil" olarak adlandırılıp sıralanmalıdır. Renkli şekil, grafik, fotoğraf..... kullanılmamalıdır.

4. Kaynakların düzenlenmesi:

Kaynakların yazım şekli "Vancouver" kaynak gösterme stiline uygun olmalıdır. Aşağıdaki örnekler ve dergimizin web sayfasındaki yazım kurallarından da örnek alınabilir. (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

Yararlanılan bütün eserler kaynak olarak verilmeli, fakat sayıyı arttırma amacıyla kaynak kullanılmamalıdır. Yararlı olacak Türkçe kaynaklar göz ardı edilmemelidir.

Kaynakların tamamının metin içinde kullanılmış olması ve metin içinde kullanılanların tamamının da kaynaklar listesinde yer alması gereklidir.

Kaynaklar listesi **harf dizinine** göre sıralanmalı ve metin içinde cümle sonuna konacak paranteze numarası yazılmalıdır: "...gösterilmiştir^{1,5,6}" gibi.

Metinde kaynak verilirken yazar adı kullanılıyorsa kaynak numarası yazar adının yanına yazılmalıdır. Smith ve Jones'a⁽⁴⁾ göre....., ikiden fazla yazar varsa Smith ve ark.'a⁽⁴⁾ göre..... gibi. Kaynak listesi hazırlanırken altı veya daha az sayıdaki yazarların tümünün adları kullanılmalı, yedi ve daha fazla yazarlı kaynaklarda ilk üç yazar adından sonra "et al." veya "ve ark." kısaltması kullanılmalıdır. Sıralamada bütün

yazar adları aynı olan kaynaklar için yıl, aynı yılda ve dergide ise cilt ve sayfa numarası dikkate alınmalı, aynı yılda farklı dergide olan kaynaklardan metin içinde önce geçene önde yer verilmelidir.

Kaynak verilirken aşağıdaki örnekler esas alınmalı, noktalamalar, sözcük ve harf aralıkları, büyük harfler, dergi, cilt, sayı, sayfa numaraları buna göre yazılmalıdır. Dergi adları: Uluslararası dergiler "PubMed Journals Database", yerli dergiler "http://www.atifdizini.com/Journals/tr-index.html" adresindeki şekilde kısaltılmalıdır.

9. Hindler JF, Stelling J. Analysis and presentation of cumulative antibiograms: a new consensus guideline from the clinical and laboratory standards institute. Clin Infect Dis. 2007;44(6):867-73.

<https://doi.org/10.1086/511864>

İnternette kullanılan kaynaklarda,

Yazarlı ise; ANKEM Dergisi yazım kurallarına uygun olarak yazar adı, konu başlığı, sayfanın ait olduğu kurum, erişim adresi ve erişim tarihi şeklinde,

Töreci K. Ankem Dergisinin genç yazarlarına, ANKEM Derneği, <http://www.ankemderneği.org.tr/?sp=konuk0606> (erişim tarihi 1.1.2015)

Yazarlı değil ise; konu başlığı, sayfanın ait olduğu kurum, erişim adresi ve erişim tarihi şeklinde verilmelidir.

Inappropriate antibiotic use for pneumonia common. Medscape Infectious Diseases, <http://www.medscape.com/viewarticle/876918>, (erişim tarihi 30.03.2017)

Kaynak olarak kitap ve kitap bölümü kullanıldığında yazım şekli ve noktalama işaretleri bakımından aşağıdaki örnekler esas alınmalıdır:

Kitap:

4. Baron EJ, Peterson LR, Fingeold SM. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 9. baskı, s.168-204, Mosby Co., London (1994).

Kitap bölümü:

4. Swenson JM, Hindler JA, Peterson LR. Special tests for detecting antibacterial resistance, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): Manual of Clinical Microbiology, 6. baskı" kitabında s.1356-72, ASM Press, Washington (1995).

Yerli kitaplarda basımevinin değil, yayınlayan kuruluşun adı ve varsa yayın numarası kullanılmalıdır.

"İst Tıp Fak Yayını No.20, İstanbul (2001)" gibi. Dergi adları Index Medicus'daki gibi kısaltılmalıdır.

Kongre bildirileri:

ANKEM Kongrelerindeki özetler ve sunuların ANKEM Dergisinde yayınlanması gibi bir dergide yayınlanan bildiriler dergideki diğer makaleler gibi kaynak verilir.

Özel bir kongre kitabında yayınlananlar şu örneğe göre kaynak verilebilir:

1. Akyüz Z, Dinç U, Güler NC ve ark. Hastanemizde 2005-2008 yılları arasında kan örneklerinden izole edilen kandida türlerinin dağılımının belirlenmesi, XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı, s.846-7, Bodrum (2008) (sayfa yerine Poster no. da olabilir).

34. ANKEM

AKILCI ANTİBİYOTİK KULLANIMI
KONGRESİ

34.

ANKEM KONGRESİ

1-5 Mayıs 2019

Grand Yazıcı Club Turban
Kongre Merkezi / Marmaris

www.2019ankem.org

KONGRE BAŞKANLARI

Prof. Dr. Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD.

16059 Görükle / Bursa

mkemal@uludag.edu.tr

Prof. Dr. Derya AYDIN

Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji AD.

34010 Topkapı / İstanbul

mdaydin@hotmail.com

KONGRE SEKRETERLERİ

Prof. Dr. Sebahat AKSARAY

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Haydarpaşa Numune EAH

Tıbbiye Cad. 34668 Üsküdar/İstanbul

aksaray@hotmail.com

Prof. Dr. Tutku SOYER

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çocuk Cerrahisi AD. 06230 / Ankara

soyer.tutku@gmail.com

ANKEM Derneği Merkezi

Topkapı Mh. Turgut Özal Millet Cd.

No:176 Kat:5 Daire:16 Fatih, İSTANBUL

Tel: 0 212 219 93 40 Faks:0 212 219 93 41

e-mail: ankem@ankemdernegi.org.tr



Organizasyon Sekreteryası

burkon
TURİZM & KONGRE

444 9 443

kongre@burkon.com

“Sağlık için aşılan,
Antibiyotiği akılcı kullan”

