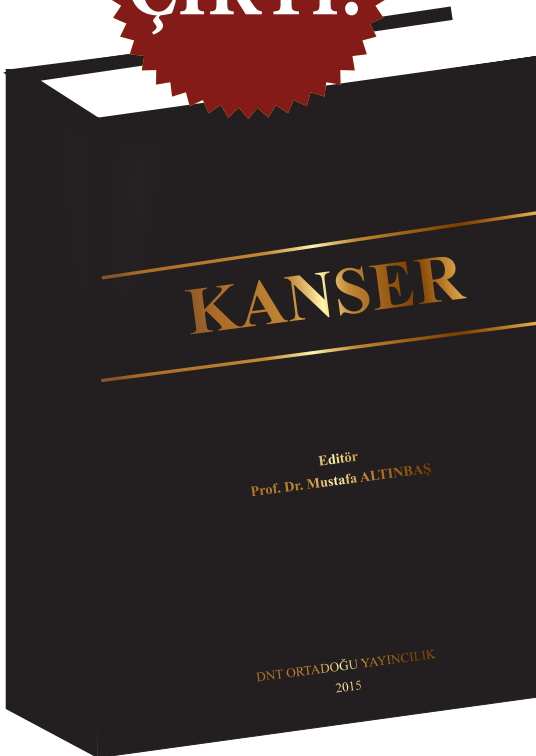




**Ortadoğu**  
Yayincılık

**ÇIKTI!**



# TÜRKİYE'DE BİR İLK!

154 UZMAN DOKTORUN HAZIRLADIĞI

## KAYNAK KİTAP

**Satış Noktaları**

Dost Kitabevi  
Nobel Kitabevi  
Güneş Kitabevi

**SİPARİŞ HATTI: 0 554 571 56 52**

# ORTADOĞU TIP DERGİSİ

## ORTADOĞU MEDICAL JOURNAL

### ONURSAL EDİTÖR / HONORARY EDITOR

Dr. Sadi KAYA

### EDİTÖR/ EDITOR

Dr. Mustafa ALTINBAŞ

### EDİTÖR YARDIMCILARI / CO-EDITORS

Dr. Mustafa PAÇ

Dr. Mitat KOZ

Dr. Murat ALBAYRAK

Dr. Aydın ÇİFCİ

Dr. Salih CESUR

Dr. Remzi SAĞLAM

Dr. Mustafa Sancar ATAÇ

Dr. Serkan TURSUN

### YAYIN YÜRÜTME KURULU / EDITORIAL BOARD

Dr. Mustafa ÖZTÜRK

Dr. Mehmet İLERİ

Dr. Süleyman GÖKDUMAN

Dr. Metin ÖZSOY

Dr. Şevki Mustafa DEMİRÖZ

### İmtiyaz Sahibi / Franchise Owner

DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş. adına

Dr. Eyüp ÖZEREN

### Genel Koordinatör / General Coordinator

Uğur C. SEVİM

### Yazı İşleri-Redaksiyon (Redaction)

Dr. Metin ÖZSOY

### Grafik Tasarım / Graphic Design

Başak AY KARABAK

### Yayına Hazırlayan / Publisher

DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş.

Bayındır 2 Sok. No: 63/12 Kızılay / ANKARA

GSM: 0554 571 56 52

www.dntortadoguyayincilik.com

E-posta: dnt.ortadoguyayin@gmail.com

Mart 2017, Cilt:9 Sayı:1

ÜÇ AYDA BİR YAYINLANIR

DERGİ ABONELİK ÜCRETİ: 120 TL (4 SAYI)

Yazılarınız Dergipark Üzerinden Dikkate Alınacaktır.

Makale Gönderim Adresi

http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ortadogutipdersisi

ORTADOĞU TIP DERGİSİ

TÜRK TIP DİZİNİ, ULAKBİM, EBSCO ve TÜRKİYE ATIF DİZİNİ

KAPSAMINDADIR.

### EDİTÖRDEN / EDITORIAL

Bu sayımızla sizlere yeniden hitap etmekten dolayı mutluyum, zira 9. yılımıza girmiş bulunuyoruz. Bu sayımızdan itibaren Ortadoğu Tıp Dergimizde yer alan yayınlara DOI numarası verebiliyoruz. Geçmiş sayılarda yer alan yayınlara da mümkün olduğunca DOI numarası vermenin gayreti içinde olacağız. Dergimizin daha çok sayıda uluslararası indekslerde taranması için uğraş veriyoruz.

Dergi kalitesinin artması için editöryal değerlendirmeyi daha sıkı tutuyoruz ve redaksiyon çalışmalarımızda yoğun ve titiz çalışma yürütüyoruz. Bu vesile ile bir kez de sizlerin huzurunda mesai arkadaşlarıma özverili ve yoğun çalışmaları için kalbi teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu sayımızda, aşağıda yer alan başlıklardaki çalışmalarını sizlere sunuyoruz.

### MAKALELER

1-Adıyaman ilinde hepatit C virüsü dağılımının belirlenmesi

2-Hemodiyaliz hastalarında hepatit E, hepatit G ve TTV seroprevalansı

3-Klebsiella pneumoniae izolatlarının antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesi

4-Klinik örneklerden izole edilen stafylokoklarda linezolid direnci ve antibiyotik duyarlılıkları

5-Tüberküloz laboratuvarımıza gönderilen T-Spot. TB test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi

6-The comparison of methods used for the detection of biofilm formation that cause antibiotic resistance of Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus

### DERLEMELER

1-Çocukluk çağıının gizli tehlikesi; subklinik hipotiroidi

2-Nörobruselloz

### VAKA SUNUMLARI

1-Yaygın makülopapüler döküntü ile seyreden bir bruselloz olgusu

2-İmmünkompromize bir hastada pnömokok menenjit

3-Orofaringeal tularemi olgusu

Dergimize verdiğiniz yakın destek için teşekkür ediyorum. Dergimizde yayımlanan yazılar için, hoşgörünüze sığınarak cüzi bir meblağ talep edeceğimizi duyurmak isterim. Acil yayımlanma taleplerinde Dergiye yapılacak mali destek, Dergimizin sorunsuz yaşaması ve kalitenin yüksek tutulması için önem kazanmaktadır. Belirtmek isterim ki, Sağlık Bakanlığının ilaç reklamları hususundaki yaklaşımı bizi buna mecbur bırakmıştır. Anlayışla karşılayacağınızı umuyoruz.

Dergimizde yayınladığımız çalışmalar konusunda görüşlerinizi bekleriz.

Müteakip sayılarda buluşmak ümidi ile esen kalın!

Saygılarımla,

PROF. DR. MUSTAFA ALTINBAŞ

EDİTÖR





# PROGRESYONU GECİKTİR

## Metastatik Enteropankreatik Nöroendokrin Tümörlerde Lanreotid

Martyn E. Caplin, D.M., Marianne Pavel, M.D., Jaroslaw B.Ćwikła, M.D., Ph.D., Alexandria T. Phan, M.D., Markus Raderer, M.D., Eva Sedláčková, M.D., Guillaume Cadiot, M.D., Ph.D., Edward M. Wolin, M.D., Jaume Capdevila, M.D., Lucy Wall, M.D., Guido Rindi, M.D., Ph.D., Alison Langley, M.Sc., Séverine Martinez, B.Sc., Joëlle Blumberg, M.D., and Philippe Ruszniewski  
N Engl J Med 2014; 371:224-233

Anrezektabl, lokal ileri veya metastatik grad 1 ve grad 2 (Ki67 indeksi %10'a kadar) olan, orta bağırsak, pankreatik veya orijini bilinmeyen (arka bağırsak hariç) gastroenteropankreatik nöroendokrin tümörleri (GEP-NETler) bulunan yetişkin hastaların tedavisi<sup>1</sup>



Somatuline® autogel® 120 mg  
birinci basamak anti tümöral  
tedavide fark yaratır<sup>2</sup>

**HEM MİDGUT HEM DE PANKREATİK  
TÜMÖR KONTROLÜ İÇİN  
ONAYLANAN İLK VE TEK  
SOMATOSTATİN ANALOĞU**

1.Somatuline Autogel KÜB  
2.Caplin M et al., NEJM 2014, 371(3):224-233

**SOMATULINE® AUTOGEL®** 60 mg, 90 mg ve 120 mg, uzatılmış salımlı enjeksiyonluk çözelti içeren kullanıma hazır şırınga. **Etkin madde:**60,90,120 mg/lık her bir kullanıma hazır dolu enjektör çözeltinin her miligramında 0.246 mg lanreotide karşılık gelen süper doyurulmuş lanreotid asetat çözeltisi içerir. **Terapötik endikasyonlar:** SOMATULINE® AUTOGEL® ameliyat ve/veya radyoterapi sonrası, kandaki Büyüme Hormonu (GH) ve İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1) düzeyleri normal olmayan akromegali hastalarının tedavisinde veya bu haller dışında medikal tedaviye ihtiyaç duyan hastalarda endikedir. Akromegali tedavisinde amaç, GH ve IGF-1 seviyelerini düşürerek, mümkünse normal değerlere getirmektir. Anrezektabl, lokal ileri veya metastatik grade 1 ve grade 2 (Ki67 indeksi %10'a kadar) olan, orta barsak, pankreatik veya orijini bilinmeyen (arka barsak hariç)gastroenteropankreatik nöroendokrin tümörleri (GEP-NETler) bulunan yetişkin hastaların tedavisinde endikedir. Nöroendokrin tümörler (özellikle karsinoid) ile ilişkili semptomların tedavisinde endikedir. **Pozoloji ve uygulama şekli:** Akromegali:İlk kez bir somatostatın analogu alacak olan hastalar için önerilen başlangıç dozu her 28 günde bir uygulanan 60 mg SOMATULINE® AUTOGEL®'dir. Doz, tüm hastalar için, hastanın tedaviye verdiği yanıtı göre bireysel olarak belirlenmelidir.(semptomlardaki azalma ve/veya GH ve/veya IGF-1 seviyelerindeki düşüş değerlendirilerek).İstenen yanıt elde edilemiyorsa doz artırılabilir.GH konsantrasyonları 1 ng/mL'nin (yaklaşık 2 mU/L) altında, IGF-1 serum konsantrasyonları normal seviyede olan ve akromegalinin geri dönüşümlü belirtilerinin çoğunun kaybolduğu hastalarda aylık doz düşürülmelidir. Bu, eğer uygunsuzsa, 42-56 günlük artan aralıklarla SOMATULINE® AUTOGEL® 120 mg uygulaması ile gerçekleştirilebilir. Her 28 günde bir uygulanan SOMATULINE® AUTOGEL® 60 mg veya 90 mg ile kontrol altında olan hastalar için (GH konsantrasyonları 2.5 ng/mL'nin (yaklaşık 5 mU/L) altında fakat 1 ng/mL'nin (yaklaşık 2 mU/L) üzerinde olup, IGF-1 seviyeleri normal düzeyde) doz idame ettirilmeli veya alternatif olarak, sırasıyla 56 veya 42 günlük artan aralıklarla SOMATULINE® AUTOGEL® 120 mg verilebilir. Klinik semptomları ve biyokimyasal parametreleri yeterince kontrol edilemeyen (GH konsantrasyonları halen 2.5 ng/mL'nin (yaklaşık 5 mU/L) üzerinde veya IGF-1 değerleri normalin üzerinde (yaşa göre)) hastalarda SOMATULINE® AUTOGEL® dozu, maksimum her 28 günde bir 120 mg olacak şekilde artırılabilir.Semptomlar, GH ve IGF-1 seviyeleri tüm hastalarda düzenli olarak kontrol edilmelidir.Anrezektabl, lokal ileri veya metastatik grade 1 ve grade 2 (Ki67 indeksi %10'a kadar) olan,orta barsak, pankreatik veya orijini bilinmeyen (arka barsak hariç) gastroenteropankreatik nöroendokrin tümörleri (GEP-NETler) bulunan yetişkin hastaların tedavisi:Önerilen doz, 28 günde bir 120 mg SOMATULINE® AUTOGEL® uygulamasıdır. Tümörün kontrolü için ihtiyaç duyulan süre boyunca SOMATULINE® AUTOGEL® tedavisi sürdürülmelidir. Nöroendokrin tümörlere ilişkin semptomların tedavisi:Önerilen başlangıç dozu, her 28 günde bir uygulanan 60-120 mg'dır. Semptomatik rahatsızlığın derecesine göre doz ayarlanmalıdır. **Özel popülasyonlara ilişkin ek bilgiler:** Pediatrik popülasyon:SOMATULINE® AUTOGEL®'in çocuklar ve adolesanlarda kullanımı ile ilgili yeterli güvenlik ve etkililik verisi olmadığından, çocuklarda ve adolesanlarda SOMATULINE® AUTOGEL® kullanımı önerilmez. Geriyatrik Popülasyon:Lanreotidin geniş bir terapötik pencereye sahip olması sebebiyle, geriyatrik hastalarda özel bir doz ayarlamasına gerek yoktur .Böbrek/karaciğer yetmezliği:Lanreotidin geniş bir terapötik pencereye sahip olması sebebiyle, böbrek veya karaciğer yetmezliği olan hastalarda özel bir doz ayarlamasına gerek yoktur. **Kontrendikasyonlar:** Lanreotid veya ilgili peptidlere karşı veya içeriğindeki yardımcı maddelerden herhangi birine karşı aşırı duyarlılık durumlarında kontrendikedir.Özel kullanım uyarıları ve önlemleri: Lanreotid safra kesesinin motilitesini azaltabilir ve safra taşı oluşumuna yol açabilir.Lanreotid tedavisine başlandığında veya doz değişikliği yapıldığında kan glukoz düzeyleri gözlenmelidir ve tüm antidiyabetik tedaviler buna göre ayarlanmalıdır.Her ne kadar klinik hipotirodizm nadirse de (< %1), akromegalisi olan hastaların lanreotid ile tedavisi sırasında tiroid fonksiyonlarında hafif azalmalar görülmüştür. Klinik olarak gerektiğinde tiroid fonksiyon testleri yapılmalıdır. Alta yatan kardiyak problemleri olmayan hastalarda lanreotid, bradikardi eşliğinde ulaşmadan kalp atım hızında azalmaya yol açabilir. Lanreotid tedavisinden önce kardiyak rahatsızlıkları olan hastalarda sinüs bradikardisi oluşabilir. Bradikardisi olan hastalarda lanreotid ile tedavi başlatırken dikkatli olunmalıdır. **Diğer tıbbi ürünler ile etkileşimler ve diğer etkileşim şekilleri:** Lanreotidin farmakolojik gastrointestinal etkileri, eş zamanlı uygulanan ilaçların (siklosporin de dahil) intestinal emilimini azaltabilir. Siklosporinin lanreotid ile eş zamanlı uygulaması,siklosporinin bağıl biyoyararlanımını azaltabilir; bu da terapötik seviyeleri idame ettirebilmek amacıyla siklosporin doz ayarlamasını zorunlu kılar.İnsülin, glitazonlar, repaglinid, sülfonilüreler ile beraber kullanımda hipoglisemi veya hiperglisemi riski bulunmaktadır. Endojen glukagon salgısındaki azalmaya veya artmaya takiben antidiyabetik tedaviyi ihtiyacı azaltabilir veya artırabilir. Hasta hipoglisemi riski nedeniyle bilgilendirilmelidir. Kendi kendine yapılan glisemik gözlem desteklenmeli ve lanreotid ile tedavi sırasında antidiyabetik tedavinin doz adapte edilmelidir. Bradikardi indükleyici ilaçların (örneğin beta blokerler) eş zamanlı uygulanması, lanreotid ile ilişkili kalp atım hızındaki hafif azalmanın üzerinde aditif etki yapabilir. Bu eş zamanlı ilaç tedavilerinde doz ayarlaması gerekli olabilir. Yayınlanmış mevcut sınırlı veriler somatostatın analoglarının, sitokrom P450 enzimleri ile metabolize olduğu bilinen bileşiklerin metabolik klerensini azaltabileceğini belirtmektedir. Bu durum büyüme hormonunun baskılanmasına bağlı olabilir. Lanreotidin bu etkiye sahip olabileceği hariç tutulduğundan, başlıca CYP3A4 ile metabolize olan ve düşük terapötik indekse sahip olan (örneğin kinidin, terfenadin) diğer ilaçlar ile dikkatli kullanılması gerekir. **Gebelik ve laktasyon:** **Gebelikte kategorisi:** C. Laktasyon Dönemi:SOMATULINE® AUTOGEL®'in insan sütüyle atılıp atılmadığı bilinmemektedir. Birçok ilacın insan sütüyle atılması sebebiyle, laktasyon süresince lanreotid uygulamasında dikkatli olunmalıdır. **Araç ve makine kullanımı üzerindeki etkiler:**SOMATULINE® AUTOGEL®'in araç ve makine kullanımı üzerine düşük veya orta dereceli etkisi bulunmaktadır. Araç ve makine kullanımı üzerine etkisine ilişkin herhangi bir çalışma yapılmamıştır fakat SOMATULINE® AUTOGEL® ile baş dönmesi rapor edilmiştir (bkz. Bölüm 4.8). Eger hasta etkilenmişse araç veya makine kullanmamalıdır. **İstenmeyen etkiler:** Lanreotid ile tedaviyi takiben beklenen en yaygın advers etkiler gastrointestinal bozukluklar (en yaygın rapor edilenler diyare ve karın ağrısıdır, bu etkiler genellikle hafif veya orta dereceli olup geçicidir), kolelitiazis (genellikle asemptomatik) ve enjeksiyon bölgesi reaksiyonlarıdır (ağrı, nodüller ve endürasyon). Bağırsık sistemi hastalıkları:Bilinmeyen: Alerjik reaksiyon (anjioödem, anafaksi, hipersensitivite).Metabolizma ve beslenme hastalıkları:Yaygın: Hipoglisemi, iştah kaybı, hiperglisemi, şeker hastalığı (DM).Sinir sistemi hastalıkları:Yaygın: Baş dönmesi, baş ağrısı, halsizlik.Kardiyak hastalıklar:Yaygın: Sinüs bradikardisi.Gastrointestinal hastalıklar:Çok yaygın: Diyare, karın ağrısı, yumuşak gaita.Yaygın: Bulantı, kusma, kabızlık, gaz, karın şişliği, karın rahatsızlığı, hazımsızlık, steator.Hepato-bilier hastalıklar:Çok yaygın: Kolelitiazis (safra kesesi taş oluşumu)Yaygın: Safra kesesi genişlemesi.Deri ve deri altı doku hastalıkları:Yaygın: Saç dökülmesi, hipotrikoz.Kas-iskelet bozukluklar, bağ doku ve kemik hastalıkları:Yaygın: Musküloskeletal ağrı, kas ağrısı.Genel bozukluklar ve uygulama bölgesine ilişkin hastalıklar Yaygın: Kuvvetsizlik, yorgunluk, enjeksiyon bölgesi reaksiyonları (ağrı, kitle, sertlik, nodül,kaşıntı)Laboratuvar bulguları:Yaygın: Artmış ALT, anormal AST, anormal ALT, artmış kan bilirubin, artmış kan glukoz düzeyi, artmış glukozize hemoglobin, kilo kaybı, pankreas enzimlerinde azalma. **Saklamaya yönelik özel tedbirler:** Orijinal ambalajı içinde +2 °C ile +8 °C arasında (buzdolabında) saklanmalıdır. Orijinal ambalajında saklayınız. **Ambalajın niteliği ve içeriği:** SOMATULINE® AUTOGEL®, paslanmaz çelik iğne, plastik iğne kılıfı (LDPE) ve piston tapan (bromobutil kauçuk) ile otomatik güvenlik sistemli kullanıma hazır şırınga (seffaf polipropilen) içinde temin edilir. Bir kutu, otomatik güvenlik sistemli 0.5 mL kullanıma hazır şırınga ve bir iğne (1.2 mm x 20mm) içermektedir. Ticari takdim şekli ve (KDV dahil) perakende satış fiyatı: 1.887,85 TL (60 mg), 2.284,16 TL (90 mg), 2.781,93 TL (120 mg) (20.02.2017). Sosyal Güvenlik Kurumlarına geri ödemesi yapılmaktadır. Ruhsat sahibi: GEN İLAÇ VE SAĞLIK ÜRÜNLERİ SAN. ve TİC. A.Ş. Mustafa Kemal Mah. 2119. Sokak No:3 D.2-3 06520 Çankaya Ankara Tel: (0312) 219 62 19 Üretici Firma: İPSEN PHARMA BIOTECH, Parc d'Activités du Plateau de Signes, Chemin départemental n°402, 83870 Signes, Fransa.Ruhsat tarihi: 13.09.2005. KÜB yenilenme tarihi: 21.12.2015 Ruhsat no: 118/39 (60mg), 118/40 (90mg), 118/41 (120mg). Daha geniş bilgi için firmamıza başvurunuz. Reçete ile satılır. www.genilac.com.tr

# İÇİNDEKİLER

## INDEX

### EDİTÖRDEN

#### Orijinal Makale (Original Article)

<b>Adıyaman ilinde hepatit C virüsü genotip dağılımının belirlenmesi.....</b>	<b>1</b>
Determination of hepatitis C virus genotype distribution in Adıyaman province	
Sadık Akgün, Gülnur Tarhan, Hakan Sezgin Sayiner, İlkey Akgün, Selçuk Kök	
<b>Hemodiyaliz hastalarında hepatit E, hepatit G ve TTV seroprevalansı.....</b>	<b>6</b>
The seroprevalance of hepatitis E, hepatitis G and TTV in haemodialysis patients	
Neziha Yılmaz, Aydın Çıfci, Mehmet Balcı, Coşkun Kaya, Salih Cesur, Mehmet Uyar, Seda Sabah, Yalçın Erdoğan, Mehmet İbiş	
<b>Klebsiella pneumoniae izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının değerlendirilmesi.....</b>	<b>12</b>
The evaluation of antibiotic resistance status of klebsiella pneumoniae	
Elmas Pınar Kahraman, Engin Karakeçe, Fergül Erdoğan, Habib Uluyurt, Mehmet Köroğlu, İhsan Hakkı Çiftci	
<b>Klinik örneklerden izole edilen stafilkoklarda linezolid direnci ve antibiyotik duyarlılıkları.....</b>	<b>19</b>
Linezolid resistance and antimicrobial susceptibility in Staphylococci isolated from clinical specimens	
Ayşegül Dokutan, Demet Haciseyitoğlu, Yasemin Çağ, Elvin Pazar Yıldırım, Ayşe Batırel, Serdar Özer, Nevriye Gönüllü	
<b>Tüberküloz laboratuvarımıza gönderilen T-Spot. TB test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi.....</b>	<b>24</b>
Retrospective evaluation of T-Spot. TB test results that sent to our tuberculosis laboratory	
Yeliz Tanrıverdi Çaycı, Ferhan Korkmaz, Asuman Birinci	
<b>The comparison of methods used for the detection of biofilm formation that cause antibiotic resistance of Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus .....</b>	<b>28</b>
Staphylococcus epidermidis ve Staphylococcus aureus antibiyotik direncine sebep olan biyofilm oluşumunun belirlenmesi için kullanılan metotların kıyaslanması	
Sahra KIRMUSAOĞLU	
<b>Derleme (Review)</b>	
<b>Çocukluk çağının gizli tehlikesi; subklinik hipotiroidi.....</b>	<b>34</b>
Insidious danger in childhood era's: subclinical hypothyroidism	
Ayşegül Alpcan, Ayça Törel Ergür, Serkan Tursun	
<b>Nörobruseloz.....</b>	<b>39</b>
Neurobrucellosis	
Esra Tanyel	
<b>Vaka Sunumu (Case Report)</b>	
<b>Yaygın makülopapüler döküntü ile seyreden bir bruselloz olgusu.....</b>	<b>42</b>
A case of brucellosis presenting with diffuse maculopapular rash	
Serkan Tursun, Mehmet Ali Taş	
<b>İmmünkompromize bir hastada pnömokok menenjit.....</b>	<b>45</b>
Pneumococcal meningitis in an immunocompromised patient	
Fatih Temoçin, Necla Eren Tülek, Ebru Aktepe, Fatma Şebnem Erding, Günay Tuncer Ertem, Meryem Demirelli	
<b>Orofaringeal tularemi olgusu.....</b>	<b>47</b>
A case of oropharyngeal tularemia	
Çiğdem Ataman Hatipoğlu, Taliha Karakök, Salih Cesur, Cemal Bulut, Nesrin Ata, Esra Kaya Kılıç, Sami Kınıklı, Ali Pekcan Demiröz	

#### Dergi Yazım Kuralları (Instruction)

## DANIŞMA KURULU / ADVISORY BOARD

Dr. Cengiz AKALAN	Dr. Osman Nuri DİLEK	Dr. Muhammad Amanullah KHAN	Dr. Murat SÖNMEZER
Dr. Hüseyin AKAN	Dr. Ömer DİZDAR	Dr. Muzaffer KIRIŞ	Dr. Ömer ŞAKRAK
Dr. Hakan AKBULUT	Dr. İbrahim DOĞAN	Dr. Hakan KORKMAZ	Dr. Mustafa ŞAHİN
Dr. İbrahim AKDAĞ	Dr. Ayşenur DOSTBİL	Dr. Faruk KÖSE	Dr. Şaziye ŞAHİN
Dr. Ramazan AKDEMİR	Dr. Emir DÖNDER	Dr. Tankut KÖSEOĞLU	Dr. İrfan ŞENCAN
Dr. İstemihan AKIN	Dr. Murat DURANAY	Dr. Bahadır KÜLAH	Dr. Dilek ŞENEN
Dr. Mehmet Ali AKKUŞ	Dr. Engin DURSUN	Dr. Sayoki G. MFINANGA	Dr. İrfan TAŞTEPE
Dr. Duygu AKSOY	Dr. Şamil ECİRLİ	Dr. Aysel MİLANLIOĞLU	Dr. Oğuz TEKİN
Dr. Didem ALİEFENDİOĞLU	Dr. Yahya Cem ERBAŞ	Dr. Jamal MUSAYEV	Dr. Ali Teoman TELLİOĞLU
Dr. Murat ALBAYRAK	Dr. Behzat Rüchan ERGÜN	Dr. Nermin MUTLUER	Dr. Yasin TOKLU
Dr. Murat ALPER	Dr. Fikret ERGÜNGÖR	Dr. Öner ODABAŞ	Dr. Ahmet TOLU
Dr. Mehmet Akif ALTINBAŞ	Dr. Salim ERKAYA	Dr. Dilek KOŞAN OĞUZ	Dr. Murat TULMAÇ
Dr. Şadıman KIYKAÇ ALTINBAŞ	Dr. Kuddusi ERKILIÇ	Dr. Abdurrahman OĞUZHAN	Dr. Sualp TURAN
Dr. Mustafa ALTINDIŞ	Dr. Mikhail EROPKIN	Dr. Harika OKUTAN	Dr. Sualp TURGUT
Dr. Ayşe Gül KOÇAK ALTINTAŞ	Dr. Hamit ERSOY	Dr. Metin ORHAN	Dr. Serkan TURSUN
Dr. Ömer ANLAR	Dr. Gülfem ERSÖZ	Dr. Mustafa ÖVDEN	Dr. Necla TÜLEK
Dr. Rajae El AOUAD	Dr. Ertuğrul ERTAŞ	Dr. İbrahim ÖZCAN	Dr. Hakan TÜRKÇAPAR
Dr. Turgut ANUK	Dr. Elif Gül YAPAR EYİ	Dr. Kürşat Murat ÖZCAN	Dr. Ahmet UÇANER
Dr. Levent ARAL	Dr. Lanfranco FATTORINI	Dr. Fatih ÖZCAN	Dr. Engin UÇAR
Dr. Ferda ARTÜZ	Dr. Ethem GELİR	Dr. Arif ÖZDEMİR	Dr. Mehmet Emin ULUDAĞ
Dr. Doğan ATLIHAN	Dr. Faysal GÖK	Dr. Ahmet ÖZET	Dr. Vasfi ULUSOY
Dr. Metin AYDIN	Dr. Erol GÖKA	Dr. Füsün ÖZMEN	Dr. Selman ÜNVERDİ
Dr. Nursel AYDIN	Dr. Ülker GÜL	Dr. Onur ÖZLÜ	Dr. Yaprak ÜSTÜN
Dr. Mehmet Deniz AYLI	Dr. Mustafa GÜLŞEN	Dr. Ayşe Gül YILMAZ ÖZPOLAT	Dr. Hakan YAKUPOĞLU
Dr. Murat BAVBEK	Dr. Mehmet GÜMÜŞ	Dr. Berkant ÖZPOLAT	Dr. Bülent YALÇIN
Dr. Fahri BAYRAM	Dr. Hamit HANCI	Dr. Cihan ÖZTOPÇU	Dr. Samet YALÇIN
Dr. Ünal BAYIZ	Dr. Şamil HIZLI	Dr. Adnan ÖZTÜRK	Dr. Ayşe Filiz YAVUZ
Dr. Aydın BİLGİN	Dr. Abdurrahim İMAMOĞLU	Dr. Faruk ÖZTÜRK	Dr. Metin YILDIRIMKAYA
Dr. Cemal BULUT	Dr. Levent İNAN	Dr. Figen ÖZTÜRK	Dr. Nesligül YILDIRIM
Dr. Mustafa CENGİZ	Dr. Mehmet İLERİ	Dr. Gülay ÖZTÜRK	Dr. Derviş YILMAZ
Dr. Mehmet CITIRIK	Dr. İsmail İŞLEK	Dr. Ayşenur PAÇ	Dr. Nezih YILMAZ
Dr. Abdurrahman COŞKUN	Dr. Seyed Mohammad JAZAYERİ	Dr. Janusz Tadeusz PAWESKA	Dr. Ömer YILMAZ
Dr. Mustafa ÇETİN	Dr. Defne KALAYCI	Dr. Ömer Faruk RECEP	Dr. Özcan YILMAZ
Dr. Aydın ÇİFCİ	Dr. Süleyman KALMAN	Dr. Remzi SAĞLAM	Dr. Sinan YOL
Dr. S. Selçuk ÇOMOĞLU	Dr. Sefa KAPICIOĞLU	Dr. Sinan SARICAOĞLU	Dr. Tahir YOLDAŞ
Dr. Aliye ESMAOĞLU ÇORUH	Dr. Alp KARDEMİR	Dr. Hikmet SARIKATIPOĞLU	Dr. Fulden YUMUK
Dr. Nevzat DABAK	Dr. Nurettin KARAOĞLANOĞLU	Dr. Pathom SAWANPANYALERT	Dr. Yüksel YUTTAŞ
Dr. Bülent DEMİRBEK	Dr. Mustafa KARAOĞLANOĞLU	Dr. Meral SAYGUN	Dr. Nazmi ZENGİN
Dr. Birol DEMİREL	Dr. Erkan KAPTANOĞLU	Dr. İbrahim Serdar SERİN	Dr. Nurullah ZENGİN
Dr. Özgür DEREN	Dr. M. Evvah KARAKILIÇ	Dr. Birgül Asuman SEVİN	
Dr. Nesrin DİLBAZ	Dr. Oskay KAYA	Dr. Tezcan SEZGİN	

## Adıyaman ilinde hepatit C virüsü genotip dağılımının belirlenmesi

### *Determination of hepatitis C virus genotype distribution in Adıyaman province*

Sadık Akgün<sup>1</sup>, Gülnur Tarhan<sup>1</sup>, Hakan Sezgin Sayiner<sup>2</sup>, İlkay Akgün<sup>3</sup>, Selçuk Kök<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman

<sup>2</sup>Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman

<sup>3</sup> Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Yoğun Bakım Ünitesi, Adıyaman

<sup>4</sup>Starmed Tıbbi Ürün İthalat ve İhracat Limited Şirketi, Gaziantep

Geliş Tarihi: 07.09.2016

Kabul Tarihi: 28.10.2016

DOI:10.21601/ortadogutipdergisi.291125

### Öz

**Amaç:** Hepatit C virus (HCV) enfeksiyonu Türkiye’de ve dünyada en önemli karaciğer hastalıklarından biridir. HCV yüksek düzeyde genetik heterojenite göstermektedir. Tüm dünyada şimdiye kadar altı majör tipi ve çok sayıda alt tipi tanımlanmıştır. Dünyanın farklı bölgelerinde HCV genotipleri ve alt tiplerinin dağılımı değişmektedir. Bu çalışmanın amacı Adıyaman ilinde kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda HCV genotip dağılımını belirlemektir.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada kronik HCV enfeksiyonlu 71 (26 kadın, 45 erkek) hasta değerlendirildi. Viral genotipler dizi analizi (ABI Prism 310 Genetic Analyzer) ve HCV-RNA Real Time PCR genotipleme performans paneli (PHW 202, BBI Diagnostics) ile üretici firmanın önerilerine göre çalışılarak belirlendi.

**Bulgular:** 71 hastanın 51’inde (%71,83) genotip 1b gözlemlendi. HCV-RNA pozitif olan örneklerin geri kalanında; 6 hastada genotip 1a (%8,45) ve 8’inde (%11,27) genotip 2b enfeksiyonu gösterildi. Geri kalan 6 örneğin 3’ünde (%4,22) genotip 1 ve 3’ünde (%4,22) genotip 3a olarak tespit edildi. Genotip ve ya alt tip dağılımı bakımından kadın ve erkek cinsiyet yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.

**Sonuç:** Sonuçlarımıza göre genotip 1b Adıyaman ilinde baskın olarak saptandı. Ancak zamanla diğer genotiplerinde ortaya çıktığı gösterilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Hepatit C virüsü, genotip, alt tip, Adıyaman ili



## Abstract

**Aim:** Hepatitis C Virus (HCV) infection is one of the most important liver diseases in Turkey and worldwide. HCV shows high degree of genetic heterogeneity; consequently six major genotypes and multiple subtypes of HCV have been identified so far in world. Distribution of HCV genotypes and subtypes in different regions of the world is variable. The objective of this study was to determine the distribution of genotypes of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C infection in Adiyaman province.

**Material and Method:** Serum samples from 71 patients (26 female, 45 male) with chronic HCV infection were analyzed in this study. Viral genotypes were determined by using sequences analysis (ABI Prism 310 Genetic Analyzer) and HCV-RNA Real Time PCR genotyping performance panel (PHW 202, BBI Diagnostics) working according to the manufacturer's instructions.

**Results:** Genotype 1b was observed in 51 of the 71 patients (71.83%). The remainder of HCV-RNA positive specimens; In 6 patient was showed infection with subtype 1a (8.45%) and 8 with subtype 2b (11.27%). The rest of 6 specimen were determined genotype 1 and subtip 3a as 4.22%. There were no statistical differences between female and male patients groups for distribution of genotype or subtype.

**Conclusion:** According to our results, we found genotype 1b was dominant in Adiyaman province of Turkey. Our results were similar with others performed in this area. In addition, dominant HCV genotype was 1b; however, the other genotypes have been increasingly determined.

**Keywords:** Hepatitis C virus, genotype, subtype, Adiyaman province

## Giriş

Hepatit C virüs (HCV)'ü Flaviviridae ailesi içinde yer alan, zarflı tek iplikli bir RNA virüsüdür. Bu virüsün neden olduğu enfeksiyonlar çoğunlukla klinik belirti vermeyen, tedavi edilmediğinde ciddi karaciğer yetmezliği ve hepatoselüler karsinoma (HSK) ile sonuçlanan hastalık tablosu şeklindedir. Enfekte kişilerin toplumda bir rezervuar oluşturması enfeksiyonun yayılımında ana kaynaktır [1,2]. Dünya Sağlık Örgütü, Dünyadaki tahmini hepatit C prevalansını %3 olarak belirlemiş ve 170 milyon insanın enfekte olduğunu bildirmiştir [3]. HCV, akut hepatitlerin %20'sinden, kronik hepatitlerin %70'inden, son dönem sirozun %40'ından, hepatoselüler karsinomun %60'ından ve karaciğer transplantasyonunun %30'undan sorumludur. Akut enfeksiyonların yaklaşık %85'inin kronikleşmesi, hastalığın ciddiyetinin en önemli göstergesidir [4,5]. HCV, diğer RNA virüsleri gibi çok kolay genomik değişikliğe uğramaktadır. Kronikleşmede virüsün hızlı replike olması ve bu replikasyon sırasında ortaya çıkan RNA transkripsiyonundaki hatalar önemli rol oynamaktadır. Bu hatalar sonucu, kronik hepatit C'li hastalarda HCV'nin farklı genetik sekansları ile heterojen bir topluluk oluşmaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda HCV'nin en az 6 genotipi ve 80'den fazla alt tipi vardır [6,7]. Bunlardan genotip 1a, 1b, 2a, 2b, 3a tüm dünyada yaygın olarak görülürken, genotip 4, 5, 6 sadece belli bölgelerde bulunmaktadır [8]. Ülkemizde en sık görülen ve tedaviye yanıtı diğerlerine göre daha düşük düzeyde olan genotip 1b'dir [9-19].

HCV enfeksiyonunun tanısı virüsün yapısal ve yapısal olmayan proteinlerine karşı oluşan anti-HCV antikorlarının gösterilmesi ile konulmaktadır. Ancak, virüs genomunun mutasyonlarla değişiklik göstermesi nedeniyle antikorun varlığı koruyuculuğu göstermemektedir [20,21]. Henüz antikorların oluşmadığı erken dönemde olgularda genetik materyalin (HCV-RNA) gösterilmesi ile de tanı konabilmektedir. HCV-RNA düzeyinin ve genotipin belirlenmesi ile HCV'nin neden olduğu enfeksiyonun tedavisi, tedaviye yanıtı ve hastalığın prognozu belirlenebilmektedir [22].

Farklı genotipler ve karaciğer hastalığının prognozu arasında ilişki tam olarak belirlenmemiştir. Bununla birlikte bazı genotiplerle antiviral tedaviye cevap arasında ilişki olduğu ortaya konmuştur [23]. Tedavi süreci, farklı genotipler için değişken olabileceğinden, tedavi öncesinde genotiplerin belirlenmesi etkili tedavi planlamasının yapılmasında önem taşımaktadır [24]. Bu çalışmada, Adiyaman ilinde HCV ile kronik olarak enfekte hastalarda HCV genotip dağılımının ve virüsün moleküler epidemiyolojisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Mart 2013- Şubat 2016 tarihleri arasında Adiyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin poliklinik ve kliniklerinden mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen ve HCV varlığı anti-HCV (ARCHITECT i2000 SR cihazı ve Anti-HCV Reagent kit, Abbott) ve HCV-RNA (Fluorion HCV QNP 2.1 Real-Time PCR Kiti, İontek) testleri ile kanıtlanmış toplam 71 (26 kadın, 45



erkek) hasta ile yapıldı. Hastaların serum örneklerinde HCV-RNA izolasyonu viral RNA extraction kiti (Zinexts, MagPurix Viral RNA Extraction Kiti, Taiwan) ile yapıldı. Viral yük tayini fluorion® HCV QNP 2.1 Real-Time PCR Kiti (Iontek, Türkiye) ile yapıldı. HCV- RNA viral yükü 8,8 IU/ml, lineer aralığı; 25-3,91x10<sup>8</sup> arasında olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Farklı genotiplerin saptanması ve kantitasyonu; hem karşılaştırmalı dizi analizi hem de HCV-RNA genotip performans panelinin (PHW 202, BBI Diagnostics) analiz edildiği bir real-time PCR çalışmasıyla gösterildi. İstatistiksel analizler, SPSS ve 11,5 paket programıyla Bağımsız örneklem t testi ve Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı, P < 0.05 değeri

anlamli kabul edildi.

### Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 71 hastanın tümü kronik hepatit C hastası olup, 26 (36,62%)'sı kadın, 45 (63,38%)'i erkekti. Hastaların yaş ortalaması 67 idi. HCV-RNA pozitif bulunan 71 hastanın 3'ünde (%4,22) genotip 1, 6'sında (%8,45) genotip 1a, 51'inde (%71,83) genotip 1b, 8'inde (%11,27) genotip 2b ve 3'ünde (%4,22) genotip 3a tespit edildi (Tablo 1). Genotip 1b'nin en baskın tip olduğu ve bu tip ile enfekte bireylerde yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı arasında istatistiksel olarak fark olmadığı saptandı (P > 0.05).

**Tablo 1.** HCV genotip dağılımı

Cinsiyet n (%)	Genotip 1			Genotip 2	Genotip 3	Toplam n (%)
	1	1a	1b	2b	3a	
<b>Kadın 26 (36.62)</b>	-	6 (8,45)	28 (3,43)	-	-	34 (47,88)
<b>Erkek 45 (63.38)</b>	3 (4,22)	-	23 (32,40)	8 (11,27)	3 (4,22)	37(52,12)
<b>Toplam</b>	3 (4,22)	6 (8,45)	51 (71,83)	8(11,27)	3(4,22)	71 (100)

### Tartışma

HCV enfeksiyonu özellikle gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere tüm dünyada yaygındır ve kronik hepatit C enfeksiyonu halk sağlığı ve ekonomik açıdan önemli bir problemdir. Günümüze kadar etkili bir aşısı ve tedavisinin bulunamaması enfeksiyonu ve hastalığının önemini arttırmaktadır [1,4]. HCV enfeksiyonunun görülme sıklığı, dünyada da olduğu gibi Türkiye'de de hızlı bir şekilde artmaktadır [11,19]. Hepatit C virüsü ile enfekte hastalarda kronik enfeksiyon gelişmesinde rol oynayan konağa ve virüse ait faktörler mevcuttur. Bunlardan konağa ait faktörler; hastanın yaşı, hastalığın süresi, alkol kullanımı, karaciğerin histolojik özelliği, diğer hepatit virüsleri ile ko-enfeksiyon, virüsün bulaşma yolu, viral yük ve virüsün genotipik değişkenliğidir [25,26].

HCV'nin hücrel ve humoral immün yanıtı yönelik, protein kodlayan gen bölgesindeki mutasyonlar immün sistemden kaçmasında önemli rol oynar. Ayrıca HCV genotipinin, interferon tedavisine yanıtı etkileyen bağımsız bir faktör olduğu kabul edilmektedir [27]. Bu nedenle, kronik HCV'li olgularda genotipin araştırılması, tedaviye yanıtı ve tedavi süresini belirlemede önemlidir. Bu doğrultuda HCV genotiplerinin belirlenmesi, önemli epidemiyolojik bilgi sağlar ve tedavi protokolünün belirlenmesinde önem taşır. Dünya genelinde genotip dağılımlarında farklılıklar görülebilmektedir. Amerika'daki sonuçlar ile Japonya,

Avrupa ve Orta Doğu ülkelerinde belirgin şekilde farklılık görülmektedir [28-30]. Son yıllarda Avrupa kaynaklı çalışmalarda genotip 1b, 2a ve 2c'de azalma saptanırken, genotip 1a, 3a ve 4a'da artış saptanmıştır. Avrupa'da özellikle intravenöz ilaç kullanım alışkanlığı olanlarda baskın tip 4a'dır [31]. Türkiye'de yapılan çalışmalarda dünya geneliyle benzer olarak baskın HCV genotipinin 1b olduğu gösterilmiştir [11-16].

Adıyaman ilinde HCV genotip dağılımını belirlemek amacı ile yaptığımız genotiplendirme çalışması sonucunda, 71 hastanın 51(%71,83)'inde genotip 1b en fazla oranda saptandı. Geri kalan 20 hastanın 8 (%11,27) 'inde genotip 2b, 6 (%8,45)'sında genotip 1a tespit edildi. 6 hastanın 3(%4,22)'ünde genotip 1 ve diğer 3 (%4,22)'ünde ise genotip 3a saptandı (Tablo 1). Yalçın ve ark.'nın 1999 yılında Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde 28 hasta ile yaptıkları bir araştırmada, tüm hastalarda %100 oranında genotip 1b saptanmıştır [10]. Araştırmamız, bu çalışma ile kıyaslandığında genotip 1b oranının %71,83 oran ile daha düşük düzeyde olduğu gözlemlendi. Ancak 71 hasta örneği ile yaptığımız bu araştırmada genotip 1b haricinde genotip 2b (%11,27), genotip 1a (%8,45), genotip 1 (%4,22) ve genotip 3a (%4,22) olmak üzere farklı genotipler de saptandı.

Yıldız ve ark.'nın 2002 yılında yaptıkları kapsamlı çalışmada HCV genotipleri arasında birinci sıklıkta %66,7-100 oranla genotip 1b, ikinci sıklıkla %5,8-33,3

oranında genotip 1a ve daha az sıklıkla genotip 2a, 3a, 4, 4c bildirilmiştir [32]. Çalışmamızda 71 hastanın 51'inde saptadığımız (%71,83) genotip 1b oranı bu çalışma ile uyumlu bulunmuştur. Bu çalışma ile diğer genotipler için benzer oranlar elde edilmiş olup, 2a, 4, 4c genotiplerine rastlanmamıştır. Ülkemizde bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da, benzer sonuçlar bulunmuştur. Abacıoğlu ve ark.'nın çalışmasında İzmir bölgesinde genotip 1b %75,8 ve genotip 1a %19,1 oranında tespit edilmiştir. Bu araştırmacılar tarafından çalışmamızda saptanmayan genotip 2 %3,4 ve genotip 4 %2,2 oranında saptanmıştır [9]. HCV'nin genomik yapısının kor bölgesinde çok az mutasyon olmasına karşın, diğer bölgelerde ise mutasyona çok fazla uğrayan genomik alanlar bulunmaktadır [33]. Genom üzerinde oluşan bu mutasyonlar zamanla genomik yapılar arasındaki farklılıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır [34-36]. Bizim çalışmamızda olduğu gibi diğer çalışmalarda da yıllar içinde genotip 1b oranının gittikçe azaldığı, diğer farklı genotiplerin değişen oranlarda ortaya çıktığı gözlenmiştir. Avrupa'daki çalışmalara benzer şekilde; genotip 1b'de azalma olurken genotip 1a ve genotip 3a'nın ortaya çıktığı saptanmıştır. Tüm bu mutasyonların bir araya gelerek yeni bir genotip oluşması için yıllar geçmesi ve genomik yapıda %31-34 oranında değişiklik gerekmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda Adıyaman ilindeki HCV hastalarında genotip 1b baskın olarak saptandı, Ancak zamanla diğer genotiplerin de ortaya çıktığı belirlendi.

### Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkara dayalı bir ilişkisi yoktur.

### Kaynaklar

1. Aman W, Mousa S, Shiha G, Mousa SA. Current status and future directions in the management of chronic hepatitis C. *J Virol*, 2012; 9: 57.
2. Sherlock S, Dooley J. Hepatitis C Virus. *Diseases of the Liver and Biliary System*. 11th edition 2002; 305-316.
3. [www.who.int/immunization/topics/hepatitis/en/](http://www.who.int/immunization/topics/hepatitis/en/).
4. Ray SC, Thomas DL, Hepatitis C. "Mandel G, Bennet JE, Dolin R (eds). *Mandel, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7. press, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2010; 2157-2185.
5. Massard J, Ratzu V, Thabut D, et al. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 2006; 44: 19 - 24.
6. Rho J, Ryu JS, Hur W, et al. Hepatitis C virus (HCV) genotyping by annealing reverse transcription-PCR products with genotype-specific capture probes. *J Microbiol*, 2008; 46(1): 81-87.
7. Jimenez-Mendez R, Uribe-Salas F, López-Guillen P, Cisneros-Garza L, Castañeda-Hernandez G. Distribution of HCV genotypes and HCV RNA viral load in different regions of Mexico. *Ann Hepatol*, 2010; 9(1): 33-39.
8. Sievert W, Altraif I, Razavi HA, et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Asia, Australia and Egypt. *Liver Int*, 2011; 31: 61-80.
9. Abacıoğlu YH, Davidson F, Tuncer S, et al. The distribution of hepatitis C virus genotype in Turkish patients. *J Viral Hepat* 1995; 2: 297-301.
10. Yalçın K, Değertekin H, Akkız H. HCV genotypes in HCV related chronic hepatitis in Southeast Anatolia. *Turk J Gastroenterol*, 1999; 10:249-52.
11. Yıldız E, Oztan A, Sur F, et al. Molecular characterization of a full genome Turkish hepatitis C virus 1b isolate (HCV-TR1): A predominant viral form in Turkey. *Virus Gene* 2002; 25: 169-177.
12. Bozdayı AM, Aslan N, Bozdayı G, Turkyılmaz AR, Sengezer T, Wend U, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B, C and D viruses in Turkish patients. *Arch Virol*, 2004; 149:2115-2129.
13. Çil T, Özekinci T, Göral V, Altıntaş A. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde hepatit C virüsü genotipleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 2007; 27(4): 496-500.
14. Ozbek E, Ozekinci T, Mese S, Atmaca S. Hepatitis C virus genotypes are changing in the Southeast of Turkey. *Biotechnol Biotechnol Eq*, 2009; 23(4): 1521-1523.
15. Şanlıdağ T, Akcalı S, Ozbakkaloğlu B, Ertekin D, Akduman E. Distribution of hepatitis C virus genotypes in Manisa region, Turkey. *Mikrobiyol Bul*, 2009; 43(4): 613-618.
16. Çelik C, Bakıcı MZ, Kaygusuz R, Ertürk R. Sivas yöresindeki HCV genotip dağılımlarının araştırılması. *Viral Hepatit Derg*, 2010; 16(3): 106-10.
17. Kalaycı R, Altındış M, Gülamber G, Demirtürk N, Akcan Y, Demirdal T. Genotype distribution of chronic hepatitis B and hepatitis C patients and investigation of the resistance patterns in hepatitis B cases. *Mikrobiyol Bul*, 2010; 44(2): 237-243.
18. Aktaş E, Ogedey ED, Külah C, Beğendik Cömert F. Hepatitis C virus genotypes in a province of Western Black-Sea region, Turkey. *Mikrobiyol Bul*, 2010; 44(4): 647-650.
19. Karşılığil T, Savaş E, Savaş MC. Genotype distribution and 5' UTR nucleotide changes in hepatitis C virus. *Balkan Med J*, 2011; 28(3): 232-6.
20. Chevaliez S, Pawlotsky JM. Hepatitis C virus serologic and virologic tests and clinical diagnosis of HCV-related liver disease. *Int J Med Sci*, 2006; 3: 35-40.
21. Akıncı E, Bodur H. HCV Enfeksiyonlarında klinik ve Tanı. *Viral Hepatit* 2007. *Viral Hepatit Savaşım Derneği*, 2007: 220 – 226.

22. Pawlotsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology* 2002; 122: 1554-1568
23. Abdel-Hamid M, El-Daly M, Molnégren V, et al. Genetic diversity in hepatitis C virus in Egypt and possible association with hepatocellular carcinoma. *J Gen Virol*, 2007; 88(5): 1526-31.
24. Gheorghe L, Iacob S, Grigorescu M et al. High sustained virological response rate to combination therapy in genotype 1 patients with histologically mild hepatitis C, *J Gastrointest Liver Dis*, 2009;18(1):51-6.
25. Hollinger FB. Factors contributing to the evolution and outcome of cirrhosis in hepatitis C. *Clinics in Liver Disease*, 1999; 3:741-755.
26. Ramalho F, Costa A, Pires A et al: Correlation of genotypes and route of transmission with histologic activity and disease stage in chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*, 2000,45:182-187.
27. Thomas DL, Lemon SM. Hepatitis C. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000: 1736-1760.
28. Sherlock S, Dooley J. Chronic HCV infection. *Diseases Of The Liver And Biliary System*. 9th ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1993: 357-369.
29. Zein NN, Rakela J, Krawitt EL, Reddy KR, Tominaga T, Persing DH. Hepatitis C virus genotypes in the United States: Epidemiology, pathogenicity, and response to interferon therapy. Collaborative Study Group. *Ann Intern Med* ,1996;125:634-639.
30. Kurosaki M, Enomoto N, Murakami T, Sakuma I, Asahina Y, Yamamoto C, et al. Analysis of genotypes and amino acid residues 2209 to 2248 of the NS5A region of hepatitis C virus in relation to the response to interferon-beta therapy. *Hepatology*, 1997; 25:750-753.
31. Gower E, Estes C, Blach S, Shearer K.R, Razav H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J of Hepatology*, 2014; 61(1): 45-57.
32. Yıldız E, Oztan A, Sur F, et al. Molecular characterization of a full genome Turkish hepatitis C virus 1b isolate (HCV-TR1): A predominant viral form in Turkey. *Virus Gene*, 2002; 25: 169-177.
33. Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med*, 1995;332:1463-1466.
34. Pozzato G, Kaneko S, Moretti M, Croce LS, Franzin F, Unoura M, et al. Different genotypes of hepatitis C virus are associated with different severity of chronic liver disease. *J Med Virol* 1994;43:291-296.
35. Lindsay KL. Therapy of hepatitis C: Overview. *Hepatology* 1997; 26(3):71-77.
36. Reed KE, Rice CM. Molecular characterization of hepatitis C virus. In: Reesink HW, ed. 2nd ed. *Hepatitis C Virus*. Basel: Karger, 1998;1-37

Sorumlu Yazar: Gülnur Tarhan,  
Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı, Adıyaman,  
E-mail: gulnur.tarhan@yahoo.com

## Hemodiyaliz hastalarında hepatit E, hepatit G ve TTV seroprevalansı

### *The seroprevalance of hepatitis E, hepatitis G and TTV in haemodialysis patients*

Neziha Yılmaz<sup>1</sup>, Aydın Çifci<sup>2</sup>, Mehmet Balcı<sup>1</sup>, Coşkun Kaya<sup>3</sup>, Salih Cesur<sup>4</sup>, Mehmet Uyar<sup>5</sup>, Seda Sabah<sup>1</sup>, Yalçın Erdoğan<sup>6</sup>, Mehmet İbiş<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yozgat

<sup>2</sup> Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kırıkkale

<sup>3</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, Samsun

<sup>4</sup> Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

<sup>5</sup> Konya Halk Sağlığı Müdürlüğü, Konya

<sup>6</sup> Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Yozgat

<sup>7</sup> Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Anabilim Dalı, Ankara

Geliş Tarihi: 25.02.2016

Kabul Tarihi: 03.05.2016

DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.271051

### Öz

**Amaç:** Hemodiyaliz hastaları kan, kan ürünleri, perkütan yaralanma veya fekal-oral yolla bulaşabilen hepatit virüsleri açısından risk grubunda yer alır. Bu çalışmada, hemodiyaliz hastalarında Hepatit E, Hepatit G ve TTV seropozitifliğinin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya 66 hemodiyaliz hastası (30 kadın, 36 erkek) ve 66 kontrol (43 kadın, 23 erkek) olmak üzere toplam 132 kişi dahil edildi. Çalışmada anti-HEV, anti HGV ve anti-TTV IgG düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışıldı. İstatistiksel analizler SPSS programı ile yapıldı. Elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Students t testi, Fischer exact testi ve Mann Whitney-U testleri kullanıldı. P < 0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan 66 hasta ve 66 sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması sırasıyla; 54,9 ve 47,2 idi. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması karşılaştırıldığında hasta grubunun yaş ortalaması daha yüksekti.

Anti-TTV IgG ve anti-HEV IgG pozitifliği hemodiyaliz hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Hasta ve kontrol grubunda anti-HGV IgG pozitifliği tespit edilmedi. Hemodiyaliz hasta grubunda anti-TTV IgG ve anti-HEV IgG pozitifliği ile hemodiyaliz süresi, yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

**Sonuç:** Hemodiyaliz hastaları, TTV, hepatit E virüsü ve diğer hepatit virüslerinin bulaşı açısından yüksek risk taşırlar. Bu nedenle, hemodiyaliz ünitelerde temizlik ve dezenfeksiyon kurallarına uyulması HEV ve TTV gibi hepatit virüslerinin bulaşını önlemek için gereklidir.

**Anahtar sözcükler:** Hemodiyaliz hastaları, hepatit E, hepatit G, TTV, seroprevalans



## Abstract

**Aim:** Patients with hemodialysis are in the risk group for hepatitis viruses which can be transmitted by blood or blood product, needle-stick injury or fecal-oral route. The present study was aimed to determine the seropositivity of Hepatitis E, Hepatitis G and TTV, in hemodialysis patients.

**Materials and Methods:** A total of 132 people, consisting 66 hemodialysis patients (30 female, 36 male) and 66 controls (43 female, 23 male), was included in the study. Anti-HEV, anti-HGV and anti-TTV IgG levels were measured by ELISA method. Statistical analysis was performed with SPSS software. The results of the statistical evaluation Students t test, Fisher's exact test and Mann-Whitney tests were used. The value of  $P < 0.05$  was considered as statistically significant.

**Results:** The age average of the 66 patients and healthy subjects in the study was 54.9 and 47.2 years, respectively. When the age average of patient group and control group were compared, the average age of the patient group was higher than the control group. Anti-TTV-IgG and anti-HEV IgG positivities were higher in hemodialysis patients than in the control group. Anti-HGV-IgG positivity was not noted in patients and the control group. There was no statistically significant relationship between anti-TTV IgG and anti-HEV IgG positivities and the duration of hemodialysis, age and gender.

**Conclusion:** Hemodialysis patients are at a high risk of transmission of TTV, hepatitis E virus and other hepatitis viruses. Therefore, complying with the rules of cleaning and disinfection in hemodialysis units are necessary for prevent transmission of hepatitis viruses, such as HEV, and TTV.

**Keywords:** Hemodialysis patients, hepatitis E, hepatitis G, TTV, seroprevalence

## Giriş

Son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle kronik diyaliz tedavisi alan hastaların hepatotropik virüs enfeksiyonu riskinin arttığı uzun süredir bilinmektedir. Bunlar arasında en iyi tanımlananları, Hepatit B ve C virüsleridir. Parenteral yolla bulaşan ve kronik hepatite neden olan hepatit B ve hepatit C enfeksiyonlarının sıklığı kan ürünleriyle sıklıkla temas eden hemodiyaliz hastalarında normal popülasyondan daha yüksektir [1,2].

Hemodiyaliz hastalarında hepatite neden olan hepatit E (HEV), Hepatit G (HGV), transfüzyonla bulaşan virus (TTV) viruslerinin sıklığına ilişkin çeşitli çalışmalar yapılmıştır ve Transfusion transmitted virus (TTV)'un bulaş yolu tam olarak aydınlatılamasa da, hemodiyaliz hastalarında TTV seroprevalansı %9,3-83 arasında değişmektedir [3-13].

HEV başlıca fekal-oral yolla bulaşmasının yanı sıra parenteral ve vertikal yollarla da bulaşabilmektedir. Hemodiyalize giren hastalar kan yoluyla bulaşan enfeksiyon etkenleri açısından yüksek risk taşırlar. Pek çok çalışmada hemodiyaliz hastalarında HEV seroprevalansının normal popülasyondan daha yüksek olduğu bildirilmiştir [8-11].

HGV ise başlıca kontamine kan ve kan ürünleri aracılığıyla bulaşır. Hemodiyaliz hastaları sıklıkla kan transfüzyonu

ihtiyacı gerektirdiğinden HGV açısından yüksek risk taşırlar. Farklı çalışmalarda HGV prevalansının hemodiyaliz hastalarında yüksek olduğu rapor edilmiştir [12,13].

TTV virus ise nonA, non E hepatitli hastaların serumlarından tanımlanmıştır. TTV genellikle parenteral yolla bulaşır ancak yakın zamandaki bazı çalışmalar fekal oral yolla da bulaşabileceğini düşündürmektedir. Hemodiyaliz hastalarında TTV sıklığına ilişkin sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalarda hemodiyaliz hastalarında TTV sıklığının normal popülasyondan yüksek olduğu bildirilmiştir [14,15].

Bu çalışmanın amacı, kronik böbrek yetmezliği nedeniyle hemodiyalize giren hastalarda HEV-IgG, TTV-IgG HGV-IgG antikor seroprevalansının araştırılması ve olası hastalık riskinin belirlenmesidir.

## Gereç ve Yöntemler

Kırıkkale ilinde kronik böbrek yetmezliği nedeniyle hemodiyalize giren 66 hasta (30 kadın, 36 erkek), 66 sağlıklı (43 kadın, 23 erkek) olmak üzere toplam 132 kişi çalışmaya dahil edildi. Çalışma için Yozgat Bozok Üniversitesi Etik Kurul Onayı ve hasta ile sağlıklı gönüllülerden Bilgilendirilmiş Onam Formları alındı. Hasta ve kontrol grubundan aseptik koşullarda 8-10 ml kan alınarak serumları ayrıldı. Çalışma yapıncaya dek tüm kan serumları -20 0Cde saklandı. Ticari ELISA (AMS,

HEV IgG ve HGV ELISA kiti, U.K; Cusabio, Human transfusion transmitted virus /hepatitis H virus antibody ELISA kit, PR China) kitleri kullanılarak hemodiyaliz hastaları ve kontrol grubunda anti-HEV IgG, anti-TTV IgG ve anti-HGV IgG antikorları araştırıldı. Testlerin tüm aşamasında üretici firmaların önerilerine uyuldu. Elde edilen sonuçlar yaş ortalaması, cinsiyet, hemodiyaliz süresine göre istatistiksel olarak karşılaştırıldı

İstatistiksel Analiz: Analizler SPSS programı ile yapıldı ve elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Students t testi, Fischer exact testi ve Mann Whitney-U testleri kullanıldı.  $P < 0.05$  değeri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### Bulgular

Çalışmaya alınan 66 hemodiyaliz hastasının 30'u kadın, 36'sı erkek, kontrol grubunun 43'ü kadın, 23'ü erkek idi. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması sırasıyla 54,9 ve 47,2 idi. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması karşılaştırıldığında hasta grubunun yaş ortalaması daha yüksek idi ( $P=0,004$ ).

Çalışma ve kontrol grubunda anti- HGV IgG pozitifliği saptanmadı. Hemodiyalize giren 66 hastanın 58 inde (%88) anti-TTV IgG pozitif iken, 28'inde (%42) anti-HEV IgG pozitif olarak saptandı. Kontrol grubunda yer alan 66 kişinin 24'ünde (%36) anti-TTV IgG pozitifliği, 13'ünde (%20) ise anti-HEV IgG pozitifliği saptandı. Hemodiyaliz hastaları ve kontrol grubunda anti-TTV IgG ve anti-HEV IgG seropozitiflik oranları Tablo 1'de gösterildi.

**Tablo 1.** Hemodiyaliz ve kontrol grubunda anti HEV IgG ve anti-TTV IgG seropozitiflik oranları

Serolojik gösterge/ Çalışma grubu	Hemodiyaliz hastası (n:66), Sayı (%)	Kontrol grubu (n:66), Sayı (%)	P değeri
Anti-TTV IgG pozitiflik	58 (88)	24 (36)	0.000
Anti-HEV IgG pozitiflik	28 (42)	13 (20)	0.005

Hemodiyaliz hastalarında anti-TTV IgG ve anti-HEV IgG pozitifliği kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ( $P < 0.05$ ). Hemodiyaliz süreleri ve yaş ortalamaları göz önüne alındığında anti-TTV IgG ve anti-HEV IgG pozitifliği ile hemodiyaliz süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $P > 0.05$ ).

### Tartışma

Hemodiyaliz hastaları hepatit virüslerine bağlı infeksiyonlar açısından yüksek risk grubunda yer alırlar [16].

Kan ve kan ürünleri ile parenteral yolla bulaşabilen hepatit G ve TTV prevalansının hemodiyaliz hastalarında sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir [12-17].

Başlıca fekal-oral yolla bulaşan, parenteral ve vertikal yolla da bulaşabileceği bildirilen hepatit E virüsünün prevalansının da hemodiyaliz hastalarında normal popülasyondan daha yüksek olduğu bildirilmiştir [8-11].

TTV, ilk defa 1997 yılında bilinen viral hepatit etkenlerinin saptanamadığı posttransfüzyonel hepatit geçiren ve isminin baş harfleri TT (Torgue Teno) olan Japon bir hastadan izole edilmiştir. Bulaş yolu genellikle parenteral olmakla beraber, kan dışında birçok vücut sıvısından ve sekresyonundan (tükürük, semen, anne sütü, ter ve gaita) izole edilmiş olup enteral, vertikal ya da seksüel yolla da bulaş olabileceği bildirilmiştir [18-21]. Değişik merkezlerde yapılan çalışmalarda TTV-DNA pozitifliği, sağlıklı kan donörlerinde %1-12 iken kronik hemodiyaliz hastalarında %29,5-61 arasında değiştiği rapor edilmiştir [16,22].

Yaptığımız bu çalışmada, 66 hemodiyaliz hastasının 58'inde (%88) anti-TTV IgG, 28'inde (%42) anti-HEV IgG pozitifliği saptanırken, 66 hastanın hiçbirinde anti-HGV IgG pozitifliği saptanmadı. Popülasyonu temsilen seçilen 66 sağlıklı bireyin 24'ünde (%36) anti-TTV IgG pozitifliği, 13'ünde (%20) anti-HEV IgG pozitifliği saptanırken, hiçbirinde anti-HGV IgG pozitifliği saptanmadı. Anti-HEV IgG seropozitiflik oranı, kontrol grubunda hemodiyaliz hastalarına göre daha düşük bulundu. Hemodiyaliz hastalarında TTV ve HEV seropozitiflik oranlarındaki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı idi ( $P < 0,005$ ).

TTV infeksiyonuna normal popülasyonda yaygın olarak rastlanmaktadır. Avrupa genelinde donörlerde %10'un altında TTV DNA pozitifliği bildirilirken, bu oran İtalya'da %18'lere, Gambiya'da ise %83'lere yükselmektedir [234]. TTV DNA pozitifliği ülkemizde %4,5-30 arasında bildirilmiştir [25,26].

Irshad ve ark. [27] çalışmasında ise normal popülasyonla hemodiyaliz hastalarında TTV seroprevalansı arasında fark saptanmamış ve kanla bulaşan diğer viral hepatitlerle birlikteliği arasında bir ilişki bulunmamıştır. Usta ve ark. [28] yaptıkları bir çalışmada TTV DNA renal transplant hastalarında %51,5 oranında pozitif saptanmış ve bu sonuç sağlıklı kontrol grubuna göre (%7) istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur. Aynı çalışmada TTV'nin

renal graft reddine önemli bir etkisi olmadığı, herhangi bir karaciğer hasarı oluşturmadığı bildirilmiş; kan transfüzyon hızı, toplam diyaliz süresi ya da transplant sonrası süreler bakımında TTV pozitif ve negatif hastalar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Burra ve ark. [29]'nın çalışmasında karaciğer transplant hastalarında TTV'nin karaciğer hasarı üzerine etkisi gösterilememiştir.

Hemodiyaliz hasta grubunda anti-TTV IgG pozitifliği ile hemodiyaliz süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Hemodiyaliz hastalarında anti-TTV IgG ve anti-HEV-IgG seropozitifliği ile yaş ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Sunduğumuz çalışmada hemodiyaliz hastalarında ve kontrol grubunda anti-HGV-IgG pozitifliği saptanmadı. Kumar ve ark. [12] Hindistan'da 100 hemodiyaliz hastası ve 100 sağlıklı kontrol grubunda HGV seroprevalansını, diğer hepatotrop virüslerle ilişkisini ve etkisini araştırmışlardır. Hasta ve kontrol grubunda HGV-RNA düzeyini revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) yöntemiyle araştırmışlardır. Çalışmada hemodiyaliz hastalarının 6'sında (%6) HGV-RNA pozitifliği, kontrol grubunun sadece 3'ünde (%3) pozitiflik bildirilmiştir. Çalışmada HGV-RNA pozitif saptanan altı hastanın 2'sinde (%33,3) HGV ve HCV mikst enfeksiyonu saptanırken, HGV ile HBV arasında koenfeksiyon saptanmıştır. Çalışmada hemodiyaliz hastaları ile sağlıklı kontrol grubunda HGV seroprevalansı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Sunduğumuz çalışmada hemodiyalize giren 66 hastanın 28'inde (%42) anti-HEV IgG pozitif olarak saptanırken, kontrol grubunda yer alan 13 (%20) kişide anti-HEV IgG pozitifliği saptandı. Ülkemizde anti-HEV pozitifliği ile ilgili yapılan çalışmalar, HEV enfeksiyonu sıklığının giderek artmakta olduğunu işaret etmektedir [30-34]. Adana bölgesinde yapılan bir çalışmada anti-HEV seroprevalansı normal popülasyonda %7, kronik hepatitlerde %7,3 ve değişik tanımlı hastalarda %20 oranında belirlenirken, bu oranlar Antalya'da sağlık personelinde yapılan bir çalışmada %11,7 ve İzmir'de Ege Üniversitesi sağlık personelinde %3,7 olarak rapor edilmiştir [30-32]. Aydın ve ark. [33,34] yaptıkları karşılaştırmalı bir çalışmada da, Diyarbakır yöresinde ortalama %29 oranında olan anti-HEV seroprevalansı, Trabzon yöresinde %3 olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde değişik çalışma gruplarının hemodiyaliz hastalarında yapmış oldukları çalışmalarda ise %12 ile %23,5 arasında değişen oranlarda anti-HEV pozitifliği bildirilmektedir [35].

Stefanidis ve ark. [10] Yunanistan'da yaptıkları çalışmada 351 hemodiyaliz hastasının 17'sinde (%4,8) Anti-HEV

antikor pozitifliği saptamışlardır. Çalışmada hemodiyaliz hastalarında anti-HEV prevalansının kan donörlerine (bu grupta anti-HEV prevalansı %0,26 olarak belirlenmiştir) göre anlamlı oranda yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışmada anti-HEV antikor pozitifliği ile yaş, cinsiyet, hemodiyaliz süresi, hepatit B ve hepatit C virus enfeksiyonu göstergeleri, önceki transfüzyon öyküsü ve daha önceden yükselmiş aminotransferaz enzimleri arasında ilişki saptanmamıştır.

Uçar ve ark. [8] Hatay'da hemodiyaliz hastalarında yaptıkları çalışmada 92 hemodiyaliz hastasının 19'unda (%20,6) anti-HEV IgG pozitifliği saptamışlardır. Çalışmada anti-HEV IgG pozitifliği ile anti-HEV IgG negatif hastalar arasında hemodiyaliz süresi, kan transfüzyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki bildirmemişlerdir. Çalışmada saptanan %20,6 anti-HEV seropozitiflik oranının aynı hasta grubu için Türkiye'nin Batı bölgesi illerinden (%10-16) yüksek, Güneydoğu Anadolu bölgesi (%23) içinse yakın oranda olduğu bildirilmiştir.

Ayoola ve ark. [9] Suudi Arabistan'da yaptıkları çalışmada, 83 hemodiyaliz hastası (grup 1), 400 cinsiyet ve yaş yönünden eşleştirilmiş sağlıklı kontrol grubu (grup 2) ve hastaneye başvuran hastada anti-HEV IgM ve anti-HEV IgG sıklığını araştırmışlardır. Çalışmada anti-HEV prevalansı hemodiyaliz hastalarında %4,8, sağlıklı kontrol grubunda ise %0,3 olarak belirlenmiştir. HEV prevalansı hemodiyaliz hastalarında kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek saptanmıştır. Bunun aksine, anti-HEV IgG pozitifliği açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (sırasıyla; %7,2 ve %10,8).

Bizim yaptığımız çalışmada anti-HEV pozitifliği tüm çalışma grubunda %31; hemodiyaliz grubunda %42 iken kontrol grubunda %20 olarak saptandı. Hastalarımızda saptadığımız bu oranın yüksek olması, ülkemizde özellikle belirli gruplarda HEV enfeksiyonunun önemli bir problem haline gelmeye başladığını düşündürmektedir. Başlıca bulaş yolu fekal oral yol olan HEV'nun kan transfüzyonu ile gönüllülere bulaştırılabilmiş olması parenteral bulaş ihtimalini desteklemektedir [35,36]. Sonuç olarak; kronik böbrek yetmezliği olan hemodiyaliz hastalarında anti-HEV IgG pozitifliğinin kontrol grubundan daha yüksek olması, en azından parenteral bulaş riskinin yüksek olduğu bu tür hasta gruplarında, tek bulaş yolunun fekal-oral yol olamayacağı ve parenteral bulaşın da olabileceğini düşündürmektedir [36,37].

Sunduğumuz çalışmada TTV ve HEV seropozitifliği ile yaş arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Yapılan çalışmalarda başlıca fekal-oral yolla bulaşan

hepatit A virüsü (HAV) ne karşı seropozitifliğinin yaşla arttığı bildirilmektedir [38,39]. Ankara ilinde yapılan bir çalışmada da hem HAV hem de HEV'ne karşı seropozitifliğin yaşla arttığı bildirilmiştir [40]. Çalışmamızın kısıtlılığı, hemodiyaliz hasta grubunun yaş ortalaması ile kontrol grubunun yaş ortalamasının uyumluluk göstermemesi, hastaların yaş ortalamasının kontrol grubundan yüksek olması idi. Ancak çalışmamızda yaptığımız regresyon analizinde yaş faktörünün seropozitiflik açısından risk faktörü olmadığını saptadık.

Hemodiyaliz hastaları, sık kan transfüzyonu, parenteral enjeksiyon, kateter takılması gibi invaziv girişimler yapılması nedeniyle özellikle parenteral yolla bulaşan TTV ve HGV açısından risk taşıırken, hemodiyaliz cihazlarında ve ünitelerinde yeterli temizlik ve dezenfeksiyon yapılmaması durumunda hepatit E virüsü ve diğer hepatit virüsleri açısından yüksek risk taşırlar.

Sonuç olarak, hemodiyalize giren hastalarda HEV, TTV seropozitifliğinin yüksek olması nedeniyle, hepatit virüslerinin bulaşının önlenmesi için bu ünitelerde temizlik, dezenfeksiyon işlemlerinin ve enfeksiyon kontrolüne yönelik standart önlemlerin (el yıkama, eldiven ve önlük gibi koruyucu ekipmanların kullanımı vb.) titizlikle uygulanması gerektiği görüşüdeyiz.

### Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkara dayalı bir ilişkisi yoktur.

### Kaynaklar

1. Sırmatel F, Sırmatel Ö, Usalan C, Barloğlu C, Göymen A, ve ark . Hemodiyaliz hastalarında viral Hepatit B ve C seroprevalansı. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2008; 22 (1): 23-28
2. Gatedo DE, Mc Ligevo SO, Okatlı FA, Kayima JK. Seroprevalance of hepatitis B and C in maintenance dialysis in a public hospital in a developing country. *S Afr Med J* 2003; 93: 380-4.
3. Kheradpezhoh M, Taremi M, Gachkar L, Aghabozorgi S, Khoshbaten M. Presence and significance of transfusion-transmitted virus infection in Iranian patients on maintenance hemodialysis. *J Microbiol Immunol Infect* 2007; 40: 106-11.
4. Gallian P, Berland Y, Olmer M, et al. TT virus infection in French hemodialysis patients: study of prevalence and risk factors. *J Clin Microbiol* 1999;37: 2538-42.
5. Chattopadhyay S, Rao S, Das BC, Singh NP, Kar P. Prevalence of transfusion-transmitted virus infection in patients on maintenance hemodialysis from New Delhi, India. *Hemodial Int* 2005; 9: 362-6.
6. Valtuille R, Frankel F, Gomez F, et al. The role of transfusion-transmitted virus in patients undergoing hemodialysis. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 86-88.
7. Schroter M, Feucht HH, Zollner B, Schafer P, Laufs R. Prevalence of a novel DNA virus (TTV) among patients on maintenance hemodialysis. *Nephron* 2001; 87: 139-42.
8. Uçar E, Cetin M, Kuvandik C, Helvaci MR. Hepatitis E virus seropositivity in hemodialysis patients in Hatay province, Turkey. *Mikrobiyol Bul.* 2009 Apr;43(2):299-302.
9. Ayoola EA, Want MA, Gadour MO, Al-Hazmi MH, Hamza MK. Hepatitis E virus infection in haemodialysis patients: a case-control study in Saudi Arabia. *J Med Virol.* 2002 ; 66:329-34.
10. Stefanidis I, Zervou EK, Rizos C, Syrganis C. Hepatitis E virus antibodies in hemodialysis patients: an epidemiological survey in central Greece. *Int J Artif Organs.* 2004 ;27: 842-7.
11. Taremi M, Khoshbaten M, Gachkar L, EhsaniArdakani M, Zali M. Hepatitis E virus infection in hemodialysis patients: a seroepidemiological survey in Iran. *BMC Infect Dis.* 2005 May 17;5:36.
12. Kumar D, Arora A, Singh NP. Hepatitis G virus infection in hemodialysis patients from urban Delhi. *Ren Fail.* 2005; 27:87-93.
13. Ozdarendeli A, Toroman ZA, Kalkan A, Kilic SS, Ozden M, Doymaz MZ. Prevalence and genotypes of hepatitis G virus among hemodialysis patients in Eastern Anatolia, Turkey. *Med Princ Pract.* 2005 ; 14(2):102-6.
14. Rivanera D, Lozzi MA, Idili C, Lilli D. Prevalence of TT virus infection in Italian dialysis patients. *Pathol Biol .* 2009 Feb;57(1):97-100.
15. Kheradpezhoh M, Taremi M, Gachkar L. Presence and significance of transfusion-transmitted virus infection in Iranian patients on maintenance hemodialysis. *J Microbiol Immunol Infect.* 2007 ; 40(2):106-11
16. Chan YJ, Hsu YH, Chen MC et al. TT virus infection among hemodialysis patients at a medical center in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2000;33:14-8).
17. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 92-7.
18. Simmonds P, Davidson F, Lycett C, et al. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet* 1998; 352: 191-5.
19. Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, et al. Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J Med Virol* 1998; 56:128-32.



20. Schroter M, Polywka S, Zollner B, Schafer P, Laufs R, Feucht HH. Detection of TT virus DNA and GB virus type C/Hepatitis G virus RNA in serum and breast milk: determination of mother-to-child transmission. *J Clin Microbiol* 2000; 38:745-7.
21. Okamoto H. History of discoveries and pathogenicity of TT viruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 2009; 331: 1-20.
22. Tanaka H, Miyano M, Yukawa S. Detection of TT virus in Japanese hemodialysis patients. *Nippon Rinsho* 1999; 57: 1410-2
23. Prescott LE, Simmonds P. Global distribution of transfusion-transmitted virus. *N Engl J Med* 1998; 339: 776-7.
24. Desai SM, Muerhoff AS, Leary TP, et al. Prevalence of TT virus infection in US blood donors and populations at risk for acquiring parenterally transmitted viruses. *J Infect Dis* 1999; 179: 1242-4.
25. Tunçbilek S, Coşkun D, Çetinkaya F, Hizel N, Tahtakılıç P. İstanbul'da kan donörlerinde TT virusu (TTV) prevalansının araştırılması. *Flora* 1999; 4: 273-7.
26. Türkoğlu S. TTV'nin farklı hasta gruplarında araştırılması. *Türk Mikrobiol Cem Derg* 2001; 31:259-61.
27. Irshad M, Mandal K, Singh S, Agarwal SK. Torque teno virus infection in hemodialysis patients in North India. *Int Urol Nephrol* 2010; 42: 1077-83.
28. Usta M, Dilek K, Ersoy A, et al. Prevalence of transfusion transmitted virus infection and its effect on renal graft survival in renal transplant recipients. *Scand J Urol Nephrol* 2002; 36: 473-7.
29. Burra P, Masier A, Boldrin C, et al. Torque Teno Virus: any pathological role in liver transplanted patients? *Transpl Int* 2008; 21: 972-9.
30. Erdurak FO, Dünder İH, Saltoğlu N, Yaman A, Çetiner S. Subtropik bir bölge olan Adana yöresinde anti-HEV sıklığı. II. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu. Ankara, 1994. Program Kitabı, s. 146.
31. Gültekin M, Ögünç D, Çolak D. Sağlık personelinde HEV seroprevalansı. II. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu. Ankara, 1994. Program Kitabı, s. 148.
32. Özacar T, Zeytinoğlu A, Yetişin A. Sağlık çalışanlarında anti-HEV araştırılması (ön çalışma). II. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu. Ankara, 1994. Program Kitabı, s. 150.
33. Aydın K, Koksal I, Çaylan R, Ayaz C, Usta T, Günel A. Hepatit E seropozitifliğinin iki bölgede araştırılması. II. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu. Ankara, 1994. Program Kitabı, s. 151.
34. Hoşoğlu S, Ayaz C, Kökoğlu ÖF, Geyik MF, Demirel M. Endemik bölgede yaşayan erişkinlerde anti-HEV prevalansını etkileyen faktörler. *Viral Hepatit Derg* 1997; 3: 79-82.
35. Bozdayı G, Verdi H, Derici Ü, Duranay M, Rota S, Uzunalımoğlu Ö. Hemodiyaliz hastalarında HEV ve HCV enfeksiyonları arasındaki ilişkinin araştırılması. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Derg* 2001; 10: 41-4.
36. Chauhan A., Jameel S., Dilawan JB., Chawla YK., Kaur U., Ganguly Nk., Hepatitis E virus transmission to a volunteer. *Lancet* 1993; 341:149-150
37. Courtney MG., O'Mohoney M, Albloushi S., Sachithanadan S., Walshe J., Carmody M., Donoghue J., Parfney N., Shattock AG., Fielding J. Hepatitis E virus antibody prevalence. *Lancet* 1994; 344: 166
38. Dökmetaş İ. HAV İnfeksiyonunun Epidemiyoloji ve Patogenezi. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E, eds. *Viral Hepatit 2007*. 1. Baskı. İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği, 2007:51-60.
39. Çitil BE, Sayiner HS, Akgün S, Aksöz S. Adıyaman ilinde hepatit A seroprevalansı. *Journal of Contemporary Medicine* 2015; 5 (3):157-162.
40. Cesur S, Akin K, Doğaroğlu I, Birengel S, Balık I. Hepatitis A and hepatitis E seroprevalence in adults in the Ankara area. *Mikrobiyol Bul.* 2002 ;36(1):79-83.

Sorumlu Yazar: Salih Cesur,

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ulucanlar Cad. Altındağ-Ankara

E-mail: scesur89@yahoo.com

## Klebsiella pneumoniae izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının değerlendirilmesi

### *The evaluation of antibiotic resistance status of klebsiella pneumoniae*

Elmas Pınar Kahraman<sup>1</sup>, Engin Karakeçe<sup>2</sup>, Fergül Erdoğan<sup>2</sup>, Habib Uluyurt<sup>2</sup>, Mehmet Köroğlu<sup>1,2</sup>, İhsan Hakkı Çiftci<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

<sup>2</sup>Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya

Geliş Tarihi: 20.02.2016

Kabul Tarihi: 16.06.2016

DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.291133

### Öz

**Amaç:** Klebsiella türleri nazofarinks ve barsakta bulunabilen, az rastlanan bir patojendir fakat ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır. İnsanlardan en sık izole edilen türler olan Klebsiella pneumoniae (K. pneumoniae) ve Klebsiella oxytoca, üriner sistem, safra kesesi, cerrahi alan enfeksiyonu, bakteriyemi, pnömoni, çeşitli organ apseleri gibi enfeksiyonlarda etken olarak saptanan

bakterilerdir. K. pneumoniae kaynaklı bu enfeksiyonların içerisinde en sık rastlanan üriner sistem enfeksiyonları, toplum kökenli ve sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlar içinde en sık görülen enfeksiyon şeklidir. Üriner enfeksiyonlarda genellikle ampirik tedavi başlandığı için etkenlerin ve antibiyotik duyarlılık paternlerinin bilinmesi tedavi başarısı için gerekli ve önemlidir. Bu nedenle çalışmamızda, hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 871 K. pneumoniae izolatının antibiyotik duyarlılıkları araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Nisan 2014-Ekim 2015 tarihleri arasında Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen 871 K. pneumoniae izolatı dahil edilmiştir. İzolatlar eosin metilen blue (EMB) agar ve kanlı agara ekimi yapılmış ve örnekler 37°C’de 18-24 saat süre ile inkübe edilmiştir. Tanımlama ve antibiyogram çalışmalarında Vitek 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılmış, duyarlılık sonuçları CLSI ve EUCAST kriterleri esas alınarak belirlenmiştir. Çalışmamızda izolatlar için tanımlayıcı istatistiksel analizler SPSS version 20.0 (SPSS, Inc., ABD) programı kullanılarak yapılmıştır.

**Bulgular:** K. pneumoniae izolatları sıklıkla idrar 415’i (%48), 91’i (%10) kan, 76’sı (%9) yara, 52’si (%6) trakea-aspirat, 19’u (%2) balgam ve 218’i (%25) diğer klinik örneklerden izole edilmiştir. Genişlemiş spekturumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi bütün izolatlarda %55 oranında saptanmıştır. GSBL üreten izolatların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilen tek beta laktam antibiyotik olan karbapenem grubuna %37 oranında direnç saptanmıştır. GSBL pozitif suşların direnç değerleri; AN, AMC, CRO, CIP, CAZ, FEP, GM, IPM, MEM, SXT, TZP antibiyotikleri için sırasıyla %8, %34, %24, %51, %28, %1, %8, %5, %7, %6, %3 olarak bulunmuştur.

**Sonuç:** Çalışmamızın sonuçları ve diğer yurtiçi ve yurtdışı yayınlarda rapor edilen oranlara paralel olarak, GSBL üreten K. pneumoniae izolatlarının yüksek oranda bulunması ve bu izolatların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oranlarının da yüksek olması, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında GSBL saptama testlerinin yapılması ve her hastanenin kendi verilerini değerlendirerek antibiyotik politikalarını belirlemesi gerektiği kanaatindeyiz.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal direnç, GSBL, Klebsiella pneumoniae, sefalosporin

## Abstract

**Aim:** Klebsiella species can be found in the nasopharynx and intestine, rare pathogen but causes serious infections. Those kinds isolated from people most frequently from Klebsiella pneumoniae (K. pneumoniae) and Klebsiella oxytoca; like urinary tract, gallbladder, surgical site infection, bacteremia, pneumonia and abscesses in various organs infections bacteria identified as a factor. Urinary tract infections are the most common infections among community acquired and health care related infections. Thus treatment is usually given empirically, it is necessary and important to know the pathogens and the antibiotic susceptibility patterns of these pathogens in urinary tract infections for the success of treatment. Therefore in this study, antimicrobial susceptibility of 871 K. pneumoniae strains isolated from various clinical samples was investigated in our hospital.

**Material and Method:** Between the April 2014-October 2015, sent to Sakarya University Training and Research Hospital medical microbiology laboratory isolated from various clinical specimens 871 K. pneumoniae isolates were included to study. Isolates, eosin methylene blue (EMB) agar and blood agar cultivation was carried out and samples were incubated at 37 °C for 18-24 hours. Vitek 2 (bioMérieux, France) automatised system was used for identification and antibiotic susceptibility tests, and susceptibility results were determined according to the guidelines of CLSI and/or EUCAST. Using the SPSS version 20.0 (SPSS, Inc., USA) program was performed descriptive statistical analysis of the isolates in our study .

**Results:** K. pneumoniae strains were frequently isolated from urine (415, 48%), blood (91, 10%), wound (76, 9%), tracheal aspirate (52, 6%), sputum (19, %2) and (218, %25) other samples. The rates of ESBL production that was detected in all isolated-strain were 55% . The resistance rate was 37% in all isolates-strains for the only beta-lactam antibiotic, carbapenem group that can be used in the treatment of infections caused by ESBL producing strains. Resistance values of ESBL producing strains; for AN, AMC, CRO, CIP, CAZ, FEP, GM, IPM, MEM, SXT, TZP antibiotics respectively were found to be 8%, 34%, 24%, 51%, 28%, 1%, 8%, 5%, 7%, 6%, 3%.

**Conclusion:** There is a high rate of ESBL-producing K. pneumoniae isolates and also to the high rate of resistance to antimicrobial agents of these strains., making ESBL detection tests in the clinical microbiology laboratory and we believe that each hospital should periodically evaluate its own data and concordantly assess its antibiotic use policies.

**Keywords:** Antimicrobial resistance, ESBL, Klebsiella pneumoniae, cephalosporins

## Giriş

Klebsiella pneumoniae (K.pneumoniae) başta üriner sistem olmak üzere pek çok infeksiyonda etken olarak saptanabilmektedir (Çalışkan vd. 2015, Shehabi vd. 2000, Arman 2008) [1,2,3]. İnfeksiyonların kolonizasyon, hastanede uzun süre kalma, geçirilmiş cerrahi müdahale öyküsü, damar içi ya da üriner katater uygulanması ve gereksiz antibiyotik kullanımıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir [4]. Son yıllarda antibiyotiklerin kullanım hataları dirençli bakterilerin oluşturduğu infeksiyonlarının artmasındaki en önemli faktörlerden biri olarak gösterilmektedir (Akalin 2003, Özgüneş 2005) [5,6].

K. pneumoniae birçok antibiyotiğe direnç kazanabilen bir bakteri olup genellikle ampisiline doğal dirençli olduğu bildirilmektedir [7]. K. pneumoniae'nin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde çoğunlukla sefalosporin ve aminoglikozid grubu antibiyotikler tercih edilmektedir [8].

Ancak K. pneumoniae izolatları genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimleri ile sefalosporin karşı dirençte geliştirmekte ve bu ajanların kullanımı sınırlanmaktadır. Bu yüzden K. pneumoniae ile ilişkili infeksiyonlarında sıklıkla karbapenemler tercih edilmeye başlamıştır [9]. Karbapenem kullanımının takip eden süreçte de bu antibiyotiklere karşı direnç bildirimleri yapılamaya başlamıştır [10].

K. pneumoniae izolatlarında hem uygun tedavi rejiminin belirlenmesi hem de direnç gelişiminin önlenmesi açısından direnç durumlarının izlenmesi önem kazanmıştır. Çalışmamızda hastanemizin tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 871 K. pneumoniae izolatının antibiyotik direnç durumlarının irdelenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Nisan 2014-Ekim 2015 tarihleri arasında Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi

tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen 871 *K. pneumoniae* izolatı dahil edilmiştir. İzolatlar eosin metilen blue (EMB) agar ve kanlı agara ekimi yapılmış ve örnekler 37°C'de 18-24 saat süre ile inkübe edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan suşların kesin bakteri tanımlaması ve antibiyogram çalışmalarında Vitek 2 (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılmıştır. Bakteri tanımlaması Vitek 2 GN (bioMerieux, Fransa) kolorimetrik kartı, antibiyotik duyarlılık ve GSBL tespiti ise AST-N91 (bioMerieux, Fransa) kartı kullanılarak belirlenmiştir.

Antibiyotik duyarlılık sonuçları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ve/veya European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (EUCAST) kriterlerine uygun olarak belirlenmiştir [11,12]. Ayrıca Antibiyogram Yorumlama Kriterleri ve Kısıtlı Bildirim Kuralları (AYK-KBK) klavuzuna göre direnç bildirimleri sınıflandırılmıştır (Tablo 1) [13]. Klinik örneklerden izole edilen suşlar hasta kayıtlarına göre retrospektif olarak incelenmiştir. Çalışmamızda izolatlar ait tanımlayıcı istatistiksel analizler SPSS version 20.0 (SPSS, Inc., ABD) programı kullanılarak yapılmıştır.

**Tablo 1.** Rutin olarak test edilmesi ve bildirilmesi gereken antibiyotiklerin önerilen gruplandırılması

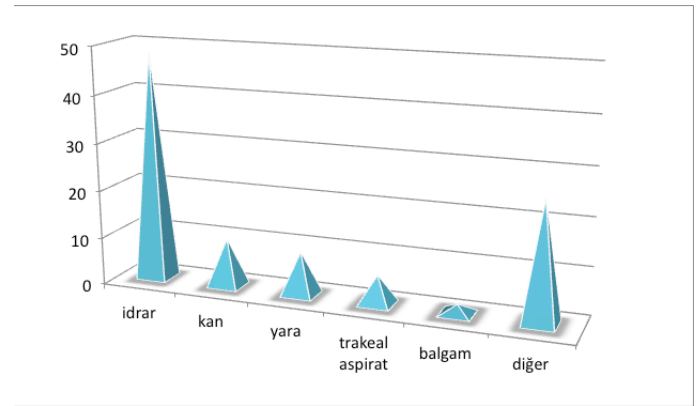
Organizma	Birincil Test Edilecek ve Bildirilecek Antimikrobiyaller (Grup A)	Birincil Test Edilecek ve Bildirilecek Antimikrobiyaller (Grup B)	Birincil Test Edilecek ve Bildirilecek Antimikrobiyaller (Grup C)	Birincil Test Edilecek ve Bildirilecek Antimikrobiyaller (Grup U)	Diğer
Enterobacteriaceae	Ampisilin (AM) Sefazolin (CZ) Gentamisin (GM) Tobramisin (TOB)	Amikasin (AN) Amoksisilin-klavulanat (AMC) Ampisilin-sulbaktam (SAM) Piperasilin-tazobaktam (TZP) Sefuroksim(CXM) Sefepim (FEP) Sefoksitin (FOX) Sefotaksim (CTX) veya Seftriakson (CRO)	eftazidim (CAZ) Kloramfenikol (CHL) Tetrasiklin (TE)	Ofloksasin (OX) Nitrofurantoin (NIT) Sülfisoksazol (SFL)	Siprofloksasin (CIP) Yüksek düzey gentamisin (HLG) Yüksek düzey streptomisin (HLS) İmipenem (IPM) Meropenem (MEM) Netilmisin (NET) Trimetoprim-sülfametoksazol (SXT)



## Bulgular

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 871 hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunun antibiyotiklere karşı kazanmış olduğu direnç yüzdeleri AYK-KBK sınıflandırmasına göre Tablo 2'de verilmiştir. Antibiyotik direnç oranları sırasıyla en fazla netilmisin, sefepim, amoksisilin-klavulanat, seftriakson, seftazidim, piperasilin-tazobaktam, trimetoprim-sulfametoksazol için bildirilmiştir. Elde edilen verilere göre izolatların %89'u kısıtlı bildirilmesi gereken A grubu antibiyotiklerinden ampisiline dirençlidir. A grubunda yer alan gentamisine karşı direnç oranı da %30'un üzerinde bulunmuştur. A, B, C ve U grubundaki diğer antibiyotiklere karşı direnç bildirimi, kart değişimi vb. nedenlerle Vitek 2 cihazı tarafından yapılamamıştır. İzolatlar sıklık sırasıyla 415'i (%48) idrar, 91'i (%10) kan, 76'sı (%9) yara, 52'si (%6) trakeal aspirat, 19'u (%2) balgam ve 218'i (%25) diğer

klirik örneklerinden izole edilmiştir (Şekil 1). Amikasin bütün suşlara in-vitro olarak en etkili antibiyotik olarak bulunmuştur. Günümüzde bildirimi sıkça artan karbapenem direnci ise %37 oranında bulunmuştur. Tüm suşların %55'inde GSBL üretimi saptanmıştır.



Şekil 1. *K. pneumoniae* izole edilen klinik örneklerin oranları (%)

Tablo 2. *K. pneumoniae* izolatlarının çalışılan antibiyotiklere direnç durumu

Antibiyotikler	Dirençli (%) (n=871)*	Duyarlı (%)	
Ampisilin (AM)	89	11	A
Gentamisin (GM)	37	63	
Amikasin( AN)	33	67	
Amoksisilin-klavulanat (AMC)	63	37	B
Piperasilin-tazobaktam (TZP)	53	47	
Sefepim (FEP)	74	26	
Seftriakson (CRO)	62	38	C
Seftazidim (CAZ)	61	39	
Siprofloksasin (CIP)			
Yüksek düzey gentamisin (HLG)			
Yüksek düzey streptomisin (HLS)			
İmipenem (IPM)			
Meropenem (MEM)			
Netilmisin (NET)			
Trimetoprim-sülfametoksazol (SXT)			

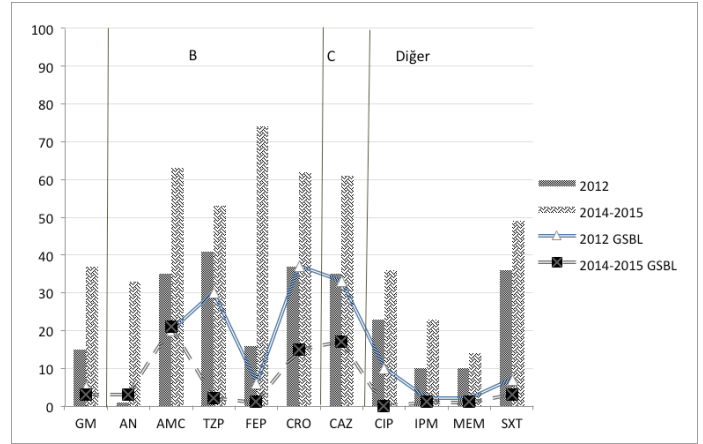
\* Dirençli ve orta dirençli suşların toplamıdır.

GSBL pozitif suşların direnç değerleri; AN, AMC, CRO, CIP, CAZ, FEP, GM, IPM, MEM, SXT, TZP antibiyotikleri için sırasıyla %8, %34, %24, %51, %28, %1, %8, %5, %7, %6, %3 olarak bulunmuştur. GSBL pozitif suşların tümü seftriakson ve diğer üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli olarak değerlendirilmekte ve bu suşlarla oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılmamaktadır [14]. Buradaki veriler (Şekil 2) üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı gelişen yüksek direnç oranlarının nedenini vurgulamak amacıyla belirtilmiştir.

### Tartışma

Klebsiella türleri nazofarinks ve bağırsak florasında bulunabilen, az rastlanan bir patojendir fakat uygun şartlar sağlandığında ciddi infeksiyonlara sebep olmaktadır. Günümüzde antibiyotiklerin gereksiz ve yoğun kullanımına bağlı olarak çoklu ilaca dirençli Gram negatif çomaklar gelişmektedir. Çoklu ilaca dirençli Gram negatif çomaklar geliştirdikleri direnç mekanizmaları ile bir tek antibiyotik grubuna değil, genel olarak birçok antimikrobiyal maddeye karşı bağışıklık kazanırlar [15]. Çeşitli antibiyotiklere direnç mekanizmaları sayesinde karşımıza toplum ve hastane kaynaklı infeksiyon etkenleri olarak çıkmaktadırlar. Son yıllarda özellikle yoğun bakım hastalarında dikkati çeken çoklu dirençli suşlar sayesinde GSBL, yüksek düzey AmpC beta laktamaz, oksasilinaz, karbapenemaz üreterek tam dirençli hale gelen K. pneumoniae izolatları için antibiyotik tedavisi büyük bir sorun haline gelmiştir [16].

Ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışma olan MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 2007 verilerine göre K. pneumoniae suşlarının %40,5'i GSBL pozitif bulunmuştur [17]. Ülkemizdeki yapılan bölgesel çalışmalarda ise farklı sonuçlar elde edilmiştir. K. pneumoniae suşlarındaki GSBL oranları Şimşek ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada %42 olarak bulunurken bir başka çalışmada ise %74 olarak bildirilmiştir [18,19]. 2007-2008 yılları arasında yapılan başka bir çalışmaya göre 41 K. pneumoniae suşunun %24 oranında GSBL oluşturduğu bildirilmiştir [20]. Bölgemizde 2012 yılında yapılan çalışmada K. pneumoniae suşlarındaki GSBL %67 oranında bildirilmiştir [21]. Bizim çalışmamızdaki GSBL oranı ise %55 olarak belirlenmiştir. Yorumlama yaparken oranlar arasındaki farklılıkların sebebi olarak antibiyotik durumlarındaki bölgesel farklılıklar düşünülebileceği gibi çalışılan örnek sayıları arasındaki farkı da göz önünde bulundurmak gerekir.



**Şekil 2:** Hastanemizde 2012 yılında yapılan bir çalışma ile 2014-2015 bulgularının karşılaştırılması. Çizgi grafiği ile gösterilen değerler GSBL pozitif K.pneumoniae suşlarının antibiyotik direnç verileri (%) [21]

Enterobacteriaceae ailesindeki giderek artan karbapenem direnci, bu bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisini oldukça zorlaştırmaktadır. Karbapenem dirençli K. pneumoniae ilk kez 1997'de Amerika, 2001 yılında da ülkemizden izole edilen bir suştan bildirilmiştir [22,23]. Tunçcan ve arkadaşları ise E.coli ve Klebsiella suşlarında imipenem ve ertapenem direnci saptamamışlardır [24]. HİTİT surveyans çalışmasında, K. pneumoniae'de imipenem direnci %1,3 olarak bulunmuştur [25]. Karbapeneme dirençli K. pneumoniae oranı CDC National Healthcare Safety Network 2008 verilerinde A.B.D.'de % 3,6-10,8 olarak bildirilirken, EARRS verilerinde Avrupa'da %0,6 olarak bildirilmiştir [26,27].

İzole edildiği materyale göre değişmekle birlikte ülkemizde karbapenem direnci sıklıkla görülmeye başlanmıştır. Pehlivan ve arkadaşları 2014 yılı içinde yoğun bakım hastalarından alınan idrar örneklerinde meropenem direncini %2,6, imipenem direncini %29; aynı oranları sırasıyla steril vücut sıvılarında %22,7 ve %38,6 ve yara-trakeal aspirat örneklerinde ise %36,1 ve %52,8 olarak tespit etmişlerdir [28]. Kibar ve arkadaşları 2014 yılı kan kültürlerine imipenem direncini %47, meropenem direncini %45 olarak bildirmişlerdir [29]. Bölgemizde K. pneumoniae karbapenem direnci ilk kez 2011 senesinde karşılaşılmıştır [30]. Daha sonra bölgemizde Terzi ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları çalışmada karbapenem direncini %9 oranında bulduklarını bildirmişlerdir [21]. Bizim çalışmamızda ise % 37 olarak tespit edilmiştir. Ancak cihazda saptanan karbapenem

dirençli suşlar direncin doğrulanması için konvansiyonel yöntemlerle tekrar çalışılmaya alınmıştır. Vitek 2 cihazında karbapenem dirençli olan suşların %30'u duyarlı olarak bulunmuştur. Bu nedenle karbapenem direnci saptanan suşlar mutlaka doğrulanma çalışması yapıldıktan sonra direnç sonuçları verilmelidir. *K. pneumoniae* 'deki karbapenem direnci, klinik önemi dünya çapında artan bir konu olmasının yanında bölgemizde de gittikçe artan oranların gözlenmesi bu suşların dikkatle izlenmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır. Henüz AYK-KBK'de Enterobacteriaceae ailesindeki bakteriler için karbapenem direnci bildirim yeri almasa da önümüzdeki yıllarda gittikçe artan direnç nedeniyle yer alacağı düşünülmektedir.

GSBL' ler oksimino sefalosporinler ve aztreonamın yanı sıra birinci kuşak sefalosporinleri ve geniş spektrumlu olanlar da dahil penisilinleri de hidrolize uğrattırır [31]. Bu nedenle GSBL pozitif suşlar penisilin, sefalosporin (sefamisin grubu hariç) ve aztreonama duyarlı veya orta duyarlı olarak tespit edilse de, bu sonuçlar dirençli olarak değiştirilmelidirler. Yapılan rutin duyarlılık deneylerinde (disk difüzyon, mikrodilüsyon, hızlı otomatize testler) bazı GSBL (+) suşları yanlışlıkla duyarlı olarak tanınabilir [32]. Çalışmamızda düşük çıkan direnç verilerinin otomatize sistemin hatalı duyarlılık tanımlaması yaptığı ihtimalini düşündürmektedir. Ayrıca grafikte ve yapılan analizler sonucu elde edilen direnç verilerindeki tutarsızlıklar, Vitek 2 cihazında antibiyotik duyarlılık çalışmasının yapıldığı AST-N091 kartının değişmesine ve/veya örneklerin cihaza yüklemesindeki hatalara bağlanmıştır. Bu nedenle sonuçların doğruluğunun artırılması amacıyla suşların manuel olarak da kontrolünün yapılması önerilmektedir.

Sonuç olarak GSBL sıklığının yüksek bulunduğu çalışmamızda GSBL üreten suşların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılabilen tek beta-laktam antibiyotik olan karbapenem grubuna direnç oranı yüksek bulunmuştur. Sefalosporinlere karşı ise direnç gelişiminde artış olduğu tespit edilmiştir. Bulunan yüksek direnç oranları ile GSBL üretimi arasında doğru orantılı bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Ek olarak amikasin duyarlılık oranları yüksektir. Günümüzde dirençli suşların tedavisinde kullanabileceğimiz antibiyotiklerin sayısı giderek azalmaktadır. Bütün bu veriler antibiyotik duyarlılıklarının bölgesel değişimlerinin periyodik olarak izlenmesinin, direnç ve duyarlılık durumundaki değişimlerin ortaya konmasının, direnç oranlarının azaltılması açısından

bilinçli antibiyotik kullanımının önemini gözler önüne sermektedir. İnfeksiyon hastalıklarında etkene yönelik en uygun antimikrobialleri test etmek, test sonuçlarını kısıtlı olarak bildirmek ve bu sayede hastanın tedavisi için en uygun seçenekleri klinisyene sunmak ve direnç gelişimini mümkün olduğunca engelleyecek esasların belirtilmesi amacıyla direnç bildirim çalışmaları AYK-KBK talimatları göz önünde bulundurulmalıdır.

### **Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi**

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkarı dayalı bir ilişkisi yoktur.

### **Kaynaklar**

1. Çalışkan E, Dede A, Aytar AA, Güven GB, Kaş E. Ayaktan Başvuran Hastalarda Üriner Sistem İnfeksiyonuna Neden Olan *Escherichia Coli* Ve *Klebsiella* Spp. Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Oranlarının Ve Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Varlığının Değerlendirilmesi. *ANKEM Derg* 2015; 29(2): 47-53.
2. Shehabi AA, Mahafzah A, Baadran I, Qadar FA, Dajani N. High incidence of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates to extended-spectrum  $\beta$ -lactam drugs in intensive care units. *Diagn. Microbiol Infect Dis* 2000; 36(1): 53-56.
3. Arman Ç. Çocukluk Çağı Üriner Sistem İnfeksiyonlarına Yol Açan Etkenlerin Dağılımı ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması (Uzmanlık Tezi). İstanbul, 2008.
4. Aydemir A, Yalçı A, Pişkin N, Gürbüz Y, Türkyılmaz R. *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının geniş-spektrumlu beta-laktamaz üretme ve antibiyotik direnç oranları. *Klinik Dergisi* 2006; 19(2): 63-8
5. Akalın H. Çoğul dirençli gram negatif bakteriler. In: Doğanay M, Ünal S, eds. Hastane İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003: 269-272.
6. Özgüneş I. Akılcı antibiyotik kullanımında hastane pratiğinde sorunlar. *Ankem Dergisi* 2005; 19(2): 185-189.
7. Diren Ş. Antibiyogram Yorumu. Çocuklarda Akılcı Antibiyotik Kullanımı Sempozyum Dizisi 2002; 33:19-24.
8. Şihca S, Demirdöğen E, Dığrak M. Kahramanmaraş'ta Kliniklere Başvuran Hastalardan İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* Suşlarının Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi, *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi /Karaelmas Science and Engineering Journal* 2012; 2(1): 47-52.
9. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *Am J Infect Control* 2006; 34(5 Suppl 1): 20-28.
10. Yavuzdemir Ş, Aysev AD, Güriz H. Hastane Kökenli GSBL Yapan 50 *Klebsiella pneumoniae* Suşunun Bazı Antibiyotiklere Direnç Oranları ve GSBL Belirlenmesinde Disklerarası Mesafenin Önemi. *Flora* 2001; 6(3): 196-200.

11. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI document M100-S21. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA. 2011.
12. EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Break point tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 5.0, valid from 2015-01-01.
13. T.C Sağlık Bakanlığı Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) - Antibiyogram yorumlama kriterleri ve kısıtlı bildirim kuralları, AMD-TB-03, Sürüm: 1.0, 2014.
14. Aykan ŞB, Çiftçi İH. Türkiye’de İdrar Kültürlerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Durumu: Bir Meta-Analiz. Mikrobiyol Bul 2013; 47(4): 603-618.
15. Vasireddy D, Yusi D, Berrak SG, Lichtenberger J. Factors Affecting Refusal Rates of the Birth Dose of Hepatitis B Vaccine: A Single Center Study. J Pediatr Inf 2014; 8(4): 159-164.
16. Balıkcı H, Açıkgöz ZC, Güvenman S, Çelikkilek N, Özdem B. *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. İzolatlarında Plazmid Kaynaklı AmpC Beta-Laktamaz Üretimini Araştırılması. Mikrobiyol Bul 2014; 48(1): 82-93.
17. Eraksoy H, Basustaoğlu A, Korten V et al. Susceptibility of bacterial isolates from Turkey-a report from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) Program. J Chemother 2007; 19(6): 650-657.
18. Şimşek M, Çağlar K, Sultan N. Klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında karbapenemaz, İBL ve GSBL yapısının incelenmesi. Kırıkkale Üniversitesi Bilimde Gelişmeler Dergisi 2013; 2(1):37-43.
19. Ece G. Kan kültüründe üreyen izolatların dağılım ve antibiyotik duyarlılık profilinin incelenmesi. Med Bull Haseki 2013; 51(4): 151-156.
20. Al-Muhtaseb M, Kaygusuz A. Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz(GSBL) sıklığı. ANKEM Derg 2008; 22(4): 175-182.
21. Terzi HA, Karakeçe E, Çiftçi İH. *Klebsiella* spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. Acibadem Dergisi 2013; 4(2): 68-71.
22. MacKenzie FM, Forbes KJ, Doraia John T, Amyes SG, Gould IM. Emergence of a carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet 1997; 350(9080): 783.
23. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48(1): 15-22.
24. Tunçcan ÖG, Ketten DT, Dizbay M, Hızıl K. Hastane kaynaklı *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarının eropenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılığı. ANKEM Derg 2008; 22(4): 188-192.
25. Gür D, Gülay Z, Arıkan AÖ ve ark. Türkiye’de hastane izolatu Gram negatif bakterilerde yeni beta-laktam antibiyotiklere direnç ve GSBL tipleri: Çok merkezli HİTİT süreyansının sonuçları. Mikrobiyol Bul 2008; 42(4): 537-544.
26. Strategy for the control of Antimicrobial Resistance in Ireland (SARI) Hospital Antimicrobial Stewardship Working Group, Health Protection Surveillance Centre (HSPC), Guidelines for antimicrobial stewardship inhospitals in Ireland (2009). Available at [https://www.hpsc.ie/A-Z/Microbiology Antimicrobial Resistance / InfectionControlandHAI/Guidelines/](https://www.hpsc.ie/A-Z/Microbiology%20Antimicrobial%20Resistance%20Infection%20Control%20and%20HAI/Guidelines/)(accessed January 2016)
27. Hidron AI, Edwards JR, Patel J et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. Infect Control Hosp Epidemiol 2008; 29(11): 996-1011.
28. Pehlivan A, Karakoç AE, Yücel M, Yağcı S, Üzmez E, Özışık AD. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2014 yılı *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının analizi. 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 18-22 Kasım 2015, Antalya. Kongre Kitabı: 243.
29. Kibar F, Etiz P, Gök G, Ekenoğlu Y, Güler Ö, Yaman A. Kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının incelenmesi . 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 18-22 Kasım 2015, Antalya. Kongre Kitabı: 238.
30. Çiftçi İH, Karakeçe E, Aşık G, Demiray T, Er H. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşlarında OXA-48 ve KPC varlığının araştırılması. ANKEM 2013; 27(2): 49-54.
31. Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D. Önemli ve Sorunlu Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi 2004; 85-94.
32. Kandemir O, Ersöz G, Şahin E, Kaya A. Hastanede yatarak tedavi gören hastalardan soyutlanan Gram negatif bakterilerde genişletilmiş spektrumlu ve induklenebilir kromozomal beta-laktamaz sıklığı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2002; 32(3-4): 207-211.

Sorumlu yazar: Elmas Pınar Kahraman

Adres: Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

E-mail: [elmaspnar11@gmail.com](mailto:elmaspnar11@gmail.com), [elmas.kahraman@ogr.sakarya.edu.tr](mailto:elmas.kahraman@ogr.sakarya.edu.tr)



## Klinik örneklerden izole edilen stafilocoklarda linezolid direnci ve antibiyotik duyarlılıkları

### *Linezolid resistance and antimicrobial susceptibility in staphylococci isolated from clinical specimens*

Ayşegül Dokutan<sup>1</sup>, Demet Haciseyitoğlu<sup>1</sup>, Yasemin Çağ<sup>2</sup>, Elvin Pazar Yıldırım<sup>3</sup>, Ayşe Batirel<sup>2</sup>, Serdar Özer<sup>2</sup>, Nevriye Gönüllü<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul-Türkiye

<sup>2</sup>Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul-Türkiye

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye

Geliş Tarihi: 24.06.2016

Kabul Tarihi: 01.09.2016

DOI: 10.21601/ortadogutipdersisi.293147

### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada, hastanemizde klinik örneklerde üreyen bazı stafilocoklarda linezolide direnç tespit edilmesi üzerine, linezolide ve diğer antibiyotiklere direnç durumunu araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** 1 Ocak 2014-31 Mart 2015 tarihleri arasında, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında, yatan hastalara ait çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 883 stafilocok suşu çalışmaya alınmıştır. Suşların antibiyotiklere duyarlılıkları geleneksel yöntemlere ilaveten VITEK2 Otomatize Sistemi (bioMérieux, Fransa) çalışılmıştır. Linezolide dirençli olduğu saptanan suşlar antibiyotik gradient test (Etest, bioMérieux, Fransa) ile doğrulanmıştır.

**Bulgular:** Sekiz yüz seksen üç stafilocok suşunun 183'ü S.aureus (%20,7) ve 700'ü koagülaz negatif stafilocok (KNS) (%79,3) olarak tanımlanmıştır. Bu suşların %14,1'i yoğun bakım ünitesi (YBÜ) kökenli olup %79,7'ü kan örneklerinden izole edilmiştir. Yüzseksenüç S.aureus suşunun %34'ü ve 700 KNS suşunun %79'u metisiline dirençli olarak bulunmuştur. YBÜ'nde yatan hastaların örneklerinde üreyen 125 KNS suşu arasından kanda üreyen 3 suşta (%2,4) linezolid direnci saptanmıştır. Bu suşlardan 2 tanesi metisiline dirençli S. epidermidis, 1 tanesi metisiline dirençli S. hominis olarak tanımlanmıştır.

**Sonuç:** Ülkemizde 2005 yılından beri kullanımda olan bu antibiyotiğe direnç düşük gibi görünse de direncin artma ihtimali mevcuttur. Bu nedenle, uzun süreli kullanımlarda ve klinik yanıt elde edilmediği durumlarda direnç takibinin yapılması uygun olacaktır.

**Anahtar Sözcükler:** Staphylococcus aureus, koagülaz negatif stafilocok (KNS), linezolid, direnç

## Abstract

**Aim:** Having detected linezolid resistance in a number of staphylococcal strains isolated from clinical specimens in our hospital, in this study, we aimed to investigate the resistance profile of staphylococci to linezolid and other antimicrobial drugs.

**Materials and Methods:** A total of 883 staphylococcal strains isolated in the Clinical Microbiology Laboratory taken from various clinical specimens from hospitalized patients in Kartal Dr. Lutfi Kırdar Training and Research Hospital from 1 January 2014 to 31 March 2015 were included in our study. Antimicrobial susceptibilities of these isolates were tested by VITEK2 Automatized System (bioMérieux, France) in addition to conventional methods. The detection of the strains identified as linezolid-resistant was confirmed by Antibiotic Gradient Test (E-Test, bioMérieux, France).

**Results:** Out of the 883 staphylococcal isolates, 183 (20.7%) and 700 (79.3%) were identified as *S.aureus* and coagulase-negative staphylococci (CNS), respectively. Among them, 14.1% were isolated from intensive care unit (ICU) patients, 79.9% were isolated from blood specimens. Thirty-four per cent of 183 *S.aureus* isolates and 79% of 700 CNS isolates were found to be methicillin-resistant. Among 125 CNS blood isolates from ICU patients, three (2.4%) isolates were resistant to linezolid. While two of these isolates were methicillin-resistant *S.epidermidis*, the third isolate was methicillin-resistant *S. hominis*.

**Conclusion:** Although the rate of resistance to linezolid, an antibiotic used clinically in our country since 2005, appears to be low, it has a potential to increase. Therefore, investigation into resistance is suggested, particularly in case of long-term linezolid use and unresponsiveness to treatment.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, coagulase negative staphylococci (CNS), linezolid, resistance

## Giriş

Dünyada çoğul dirençli stafilokok enfeksiyonlarının görülme sıklığı giderek artmaktadır. Özellikle metisilin dirençli stafilokokları bütün  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı dirençli kılmakta ve tedavi seçeneklerini de kısıtlamaktadır. Antibakteriyel tedavilerdeki çok önemli gelişmelere karşın, bu suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisi güçleşmekte, salgınlar olabilmekte, hastaların hastanede yatış süreleri uzamakta ve bu durum ciddi maliyetlere sebep olmaktadır. Tüm bu sebeplerden tedavide yeni antibiyotiklerin kullanımı zorunlu hale gelmiştir [1].

Son yıllarda kullanıma giren oksazolidinon grubundan tamamen sentetik yapıda olan linezolid, ribozomun 50S alt ünitesine bağlanarak protein sentezinin başlamasını engelleyerek etki eder. Linezolid, bakteriyostatik etkili bir ilaç olmasına rağmen dokulara dağılımının ve santral sinir sistemine geçişinin iyi olması, zamana bağlı olarak bakterisidal aktivite göstermesi nedeniyle de büyük avantajlar sağlamaktadır [2-6]. Stafilokoklarda linezolid direnç mekanizması genellikle 23S ribozomun V. bölgesinde meydana gelen nokta mutasyonları sonucunda gelişir. Bu durum daha sık olarak 23S rRNA'da bulunan 2576 pozisyonundaki aminoasitte görülmekte olup sonuçta linezolid hedef bölgeye bağlanamamakta ve etki gösterememektedir [7]. Yine plazmid kaynaklı CFR (kloramfenikol-florfenikol direnç) geninin kazanılması ile de direnç gelişebilmektedir [8].

Bu çalışmada hastanemizde klinik örneklerde üreyen stafilokok cinsi bakterilerde linezolid dirençli bazı suşların tespit edilmesi üzerine, linezolid ve diğer antibiyotiklere direnç durumunu araştırmayı amaçladık.

## Gereç ve Yöntemler

Kartal Dr. Lutfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 1 Ocak 2014-31 Mart 2015 tarihleri arasında yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen 883 stafilokok suşu çalışmaya dahil edildi. Bir hastanın birden fazla örneğinde üreme olması durumunda ilk ve tek izolat çalışmaya alındı. Bakterilerin tanımlanmalarında bakteri morfolojisi, Gram boyama, katalaz ve koagülaz testi ile birlikte VITEK2 (BioMérieux, Fransa) otomatize sisteminden yararlanıldı. Metisilin direncine sefoksitin ve oksasiline minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlendirilerek karar verildi. Gentamisin, siprofloksasin, trimetoprim/sulfametoksazol, moksifloksasin, eritromisin, klindamisin, vankomisin, teikoplanin, tetrasiklin, rifampisin, fusidik asit ve linezolid duyarlılıkları otomatize sistem ile çalışıldı. Otomatize sistemde linezolid dirençli bulunan stafilokokların linezolid, vankomisin, teikoplanin ve tigesikline MİK değerlerini belirlemek için antibiyotik gradiyent test (ETest, AB BioMérieux/Fransa) kullanıldı. Antimikrobiyal gradiyent test için bu suşların 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonları hazırlanıp Mueller-Hinton agaraya yayıldıktan sonra üzerine test stripleri yerleştirildi ve 16-20 saatlik inkübasyon süresi sonunda bakterilerin %90'ının inhibe edildiği elips şeklindeki inhibisyon alanının sribi kestiği konsantrasyon değeri MİK değeri olarak belirlendi. Tigesiklin dışındaki antibiyotiklerin sınır değerlerinin yorumlanmasında "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" 2014 kriterleri esas alındı [9]. Tigesiklin için Food and Drug Administration önerileri kullanıldı [10].  $p \leq 0.5$  ise duyarlı kabul edildi.

## Bulgular

Hastanemiz merkez mikrobiyoloji laboratuvarında yatan hastalardan izole edilen 883 stafilocok suşunun 125 tanesi (%14,1) anestezi ve reanimasyon acil kliniğinde yoğun bakımda yatmakta olan hastalara aitti. Tüm suşların servislere göre dağılımı Tablo 1’de görülmektedir. Tüm suşların 704’ü (%79,7) kan örneklerinden izole edilmiş olup izolatların örneklere göre dağılımı Tablo 2’de gösterilmektedir.

**Tablo 1.** Stafilocok izolatlarının elde edildiği kliniklerin dağılımı

Klinikler	Sayı (%)
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği	259 (29,3)
Anestezi ve Reanimasyon Acil Kliniği	125 (14,1)
Göğüs Hastalıkları Kliniği	122 (13,8)
İç Hastalıkları Kliniği	87 (10)
Yanık ve Yara Tedavi Merkezi	81 (9,2)
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği	49 (5,5)
Nöroloji Kliniği	28 (3,2)
Ortopedi ve Travmalotoji Kliniği	24 (2,7)
Üroloji Kliniği	21 (2,4)
Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği	20 (2,3)
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği	16 (1,8)
Beyin Cerrahi Kliniği	12 (1,4)
Tıbbi Onkoloji Kliniği	11 (1,2)
Genel Cerrahi Kliniği	6 (0,7)
Nefroloji Kliniği	5 (0,6)
Kulak Burun Boğaz Kliniği	4 (0,5)
Organ Nakli Cerrahi Kliniği	3 (0,3)
Radyasyon Onkolojisi Kliniği	3 (0,3)
Göğüs Cerrahisi Kliniği	3 (0,3)
Göz Hastalıkları Kliniği	2 (0,2)
Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği	2 (0,2)
Genel Toplam	883 (100)

**Tablo 2.** İzolatların örneklere göre dağılımı

Örnekler	n (%)
Kan	704 (79,7)
Yara	126 (14,4)
Kateter Ucu	21 (2,4)
İdrar	11 (1,2)
BOS	9 (1)
Balgam	3 (0,3)
Trakeal Aspirat	2 (0,2)
Diğer	7 (0,8)
Genel Toplam	883 (100)

İzole edilen stafilocok suşlarının 183’ü (%20,7) *S. aureus* ve 700’ü (%79,3) koagülaz negatif stafilokok (KNS) olarak tanımlanmıştır. KNS izolatlarının tür düzeyine göre dağılımı Tablo 3’de izlenmektedir. Yüz seksen üç *S. aureus* suşunun 63’ü (%34) ve 700 KNS suşunun 554’ü (%79) metisiline dirençli (MR) olarak bulunmuştur. Suşların tamamı vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. Suşların diğer antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 4’te görülmektedir.

**Tablo 3.** KNS izolatlarının türlere göre dağılımı

Bakteri adı	n (%)
<i>Staphylococcus hominis</i> ssp <i>hominis</i>	329 (47)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	221 (31,6)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	98 (14)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15 (2,1)
<i>Staphylococcus capitis</i>	11 (1,7)
<i>Staphylococcus warneri</i>	8 (1,1)
<i>Staphylococcus auricularis</i>	5 (0,7)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	4 (0,6)
<i>Staphylococcus intermedius</i>	4 (0,6)
<i>Staphylococcus cohnii</i> ssp <i>urealyticus</i>	2 (0,3)
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1 (0,1)
<i>Staphylococcus caprae</i>	1 (0,1)
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	1 (0,1)
Genel Toplam	700 (100)

**Tablo 4.** Stafilocokların antibiyotiklere duyarlılık durumları

Antibiyotikler*	<i>S. aureus</i> (n=183)		KNS (n=700)	
	Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)	Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
CN	166 (91)	17 (9)	477 (68)	223 (32)
CIP	138 (75)	45 (25)	352 (50)	348 (50)
SXT	163 (89)	20 (11)	537 (77)	163 (23)
MXF	161 (88)	22 (12)	430 (61)	270 (39)
ERY	149 (81)	34 (19)	172 (25)	528 (75)
CLI	153 (84)	30 (16)	394 (56)	306 (44)
VA	183 (100)	0	700 (100)	0
TEC	183 (100)	0	700 (100)	0
TET	145 (79)	38 (21)	218 (31)	482 (69)
RA	13 (7)	170 (93)	29 (4)	671 (96)
FA	176 (96)	7 (4)	300 (43)	400 (57)
LZD	183 (100)	0	697(99,6)	3 (0,4)

\*CN: gentamisin, CIP: siprofloksasin, SXT: trimetoprim/sulfametoksazol, MXF: moksifloksasin, ERY: eritromisin, CLI: klindamisin, VA: vankomisin, TEC: teikoplanin, TET: tetrasiklin, RA: rifampisin, FA: fusidik asit, LZD: linezolid.

Yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'nde yatan hastaların örneklerinde üreyen 125 KNS suşu arasında kanda üreyen 3 suşta (%2,4) linezolid direnci olduğu görülmüştür. Linezolide dirençli stafilocok üremeleri olan bu 3 hastanın YBÜ yatış tanıları sırasıyla pnömoni, sol üst ekstremite dolaşım bozukluğu ve pulmoner embolidir. Hastalarda üreme görüldüğünde bir hasta 41, diğer iki hasta 22 günden beri YBÜ'nde yatmaktaydı ve sırasıyla 14, 22 ve 24 gün süre ile linezolid kullanım öyküleri mevcuttu. Hastaların demografik özellikleri ve izolatların antibiyotik MİK değerleri Tablo 5'te görülmektedir.

**Tablo 5.** Hastaların demografik özellikleri ve izolatların antibiyotik MİK değerleri

	1. Olgu	2. Olgu	3. Olgu
Üreme tarihi	29.08.2014	15.08.2014	20.02.2015
Örnek	Kan	Kan	Kan
Etken	S.epidermidis	S.hominis	S.epidermidis
Yattığı Klinik	YBÜ	YBÜ	YBÜ
Yaş (Yıl)	82	34	54
Cinsiyet	Erkek	Erkek	Kadın
Altta yatan hastalıklar	Alzheimer	İV ilaç bağımlılığı	DM, meme Ca
Üreme zamanı (YBÜ günü)	41	22	22
CVP kateteri	Evet	Evet	Evet
Linezolid dozu (mg/gün)	16800/14	26400/22	28800/24
30 günlük yaşam	Hayır	Evet	Evet
Linezolid MIC değeri (µg/ml)	32	48	64
Teicoplanin (µg/ml)	8	≥0,5	≥0,5
Vankomisin (µg/ml)	1	1	1
Tigesiklin (µg/ml)	0,25	≥0,12	≥0,12
Moksifloksasin (µg/ml)	1	4	4
Klindamisin (µg/ml)	≥8	2	2
Eritromisin (µg/ml)	0,5	0,5	0,5
Siprofloksasin (µg/ml)	4	≥8	≥8
Gentamisin (µg/ml)	≥16	8	4
Trimetoprim/sulfametoksazol (µg/ml)	20	≥10	≥10

## Tartışma

Metisiline duyarlı stafilocoklarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde β-laktam grubu antibiyotikler kullanılırken, metisiline dirençli stafilocoklar 5.kuşak sefalosporinler hariç tüm beta-laktam grubu ilaçlara dirençlidir. Son zamanlarda bu suşlarda β-laktam dışı antibiyotiklere de direnç gelişimi artmış olup, özellikle MRSA enfeksiyonlarında morbidite

ve mortalite oranı da yükselmiştir. MRSA ve MRKNS suşlarının neden olduğu hastane enfeksiyonlarının tedavisinde uzun süreden beri glikopeptid grubundan vankomisin ve teikoplanin ilk ve tek seçenek olarak kullanılmaktadır. Bu durum son yıllarda vankomisin ve teikoplanine karşı orta duyarlı ve hatta dirençli izolatların bildirilmesiyle sonuçlanmıştır [11]. Yeni bir antibiyotik olan linezolid özellikle vankomisine orta dirençli ve dirençli stafilocokların neden olduğu hastane enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif olarak görülmektedir. Fakat son yıllarda linezolide karşı da direnç gelişimi gözlenmeye başlamış olup daha önce uzun süreli linezolid kullanımıyla direnç gelişiminin paralel olduğu da saptanmıştır [12,13].

Dünyada linezolid direnci ile ilgili ilk raporu 2001 yılında Tsiodras ve ark. sunmuşlardır. Bu çalışmaya göre; 85 yaşında periton diyalizi hastasında MRSA'ya bağlı peritonit tablosu gelişmiş ve dört hafta süreyle linezolid kullanılmış, daha sonra yapılan kültürlerde linezolide dirençli ilk MRSA izolatı izole edilmiş olup, linezolid MİK değeri > 32 µg/ml olarak belirlenmiştir [13]. Bender ve ark. Ocak 2012-Nisan 2013 tarihleri arasında 8 Alman hastanesinde salgına sebep olduğundan şüphelendikleri 36 linezolide dirençli S.epidermidis suşunun 6 tanesinde direncin cfr geni kaynaklı olduğunu saptamışlardır [14]. Madrid'teki YBÜ'nde linezolide dirençli S. aureus salgını saptanmış olup, salgının uzun süreli linezolid kullanımı ile nozokomiyal bulaşa bağlı olduğu ve linezolid direncinin cfr geni kaynaklı olduğu sonucuna varılmıştır [12]. Japonya'da 2006-2008 yılları arasında toplam 6 hastaneden gelen klinik izolatlardan üretilen 11 MRSA suşunda G2576T mutasyonuna bağlı linezolid direnci bulunmuştur [15]. Jones ve ark.'nın 2007 de 23 ülkenin katıldığı çok merkezli çalışmada linezolid direnci S.aureus için %0,03, KNS için %0,28 olarak bildirilmiştir [16]. Seral ve ark. Mart 2008-Ağustos 2009 yılları arasında İspanya'da yoğun bakımda yatan hastalardan üretilen, katater enfeksiyonu ile ilişkili MRKNS suşlarında %21,1 oranında linezolid direnci rapor etmişlerdir [17]. Birleşik Devletler'de 2006 yılında yapılan çok merkezli çalışmada linezolid direnci S.aureus'ta %0,1, KNS de %1,6 olarak rapor edilmiştir [18]. Suudi Arabistan'da Baddour ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, 512 MRSA suşunun %4,9'unu linezolide dirençli belirlemişlerdir [19].

Türkiye'de stafilocoklarda linezolid direncini araştıran çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmuştur. Ertem ve ark. 2008-2009 yılları arasında hastane kaynaklı 120 stafilocok suşunda linezolid direnci bildirmemişlerdir [20]. Ağalar ve ark. metisiline dirençli 276 stafilocok suşunda linezolid direncini %3 olarak belirlemişlerdir [21]. Efe ve ark. 100 MRSA suşunda yaptıkları çalışmada linezolide



direnç saptamamıştır [1]. Cesur ve ark. Türkiye’de yedi ildeki hastanelerin YBÜ’inde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen 260 MRSA suşunun hiçbirinde linezolid, vankomisin ve teikoplanin direnci bildirmemişlerdir [22].

Sunduğumuz çalışmada 700 KNS suşu arasında aynı zamanda metisiline de dirençli olan 3 suşta (%0,034) linezolid direnci saptadık. İzole edilen *S. aureus* suşlarında ise linezolid direnci saptamadık. Olgularımızda hastaların yoğun bakıma yatışlarının 41. ve 22. günlerinde üreme olması, uzun süre antibiyotik kullanımına ilaveten 14, 22 ve 24 gün linezolid kullanımı sonrasında direnç gelişmesi literatürle uyumlu bulunmuştur. Ancak çalışmamızın sınırlayıcı yanı linezolid direncinin genotipik yöntemlerle doğrulanamamış olmasıdır.

Sonuç olarak; linezolid direncinin artma ihtimali ve salgınlara yol açma potansiyeli nedeniyle, uzun süreli kullanımlarda ve klinik yanıt elde edilmediği durumlarda linezolid direncinin araştırılması ve izlenmesi uygun olacaktır.

### Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkara dayalı bir ilişkisi yoktur.

### Kaynaklar

1. Efe Ş, Sımrtaş M, Özakin C. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisine dirençli enterokok suşlarının in vitro Linezolid duyarlılığı. *Mikrobiyol Bul.* 2009; 43: 639-43.
2. Mendes RE, Deshpande LM, Jones RN. Linezolid update: stable in vitro activity following more than a decade of clinical use and summary of associated resistance mechanisms. *Drug Resist Updat.* 2014; 17(1-2):1-12.
3. Küçükbayrak A, Özdemir D. İki yeni protein sentez inhibitörü: Linezolid ve streptograminler (Kinopristin/Dalfoprustin). *İnfeksiyon Derg.* 2006; 20(2): 145-51.
4. Hancock RE. Mechanism of action of newer antibiotics for gram-positive pathogens. *Lancet Infect Dis.* 2005; 5(4): 209-18.
5. Bozdoğan B, Appelbaum PC. Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 2004; 23:113-9.
6. Diekema DJ, Jones RN. Oxazolidinone antibiotics. *Lancet.* 2001; 358(9297):1975-82.
7. Altun U H, Sancak B. *Staphylococcus aureus*’un Tedavisinde Yeni Antibiyotikler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2010; 40 (2): 63-74.
8. Cui L, Wang Y, Li Y, et al. (2013) Cfr-Mediated Linezolid-Resistance among Methicillin-Resistant Coagulase-Negative *Staphylococci* from Infections of Humans. *PLoS ONE* 8(2): e57096. doi:10.1371/journal.pone.0057096.
9. CLSI. Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational supplement. CLSI document M100-S24. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standarts Institute; 2014.
10. George A. Pankey. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56: 470-80.

11. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother.* 1997; 40: 135-46.
12. Garcia MS, Torre MA, Morales G, et al. Clinical outbreak of linezolid-resistance *Staphylococcus aureus* in intensive care unit. *JAMA* 2010; 303(22): 2260-4.
13. Tsiodras S, Gold HS, Sakoulas G, et al. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *Lancet.* 2001; 358(9277):207-8.
14. Bender J, Strommenger B, Steglich M, et al. Linezolid resistance in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* from German hospitals and characterization of two cfr-carrying plasmids. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(6):1630-8.
15. Ikeda-Dantsuji Y, Hanaki H, Sakai F ,et al. Linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from 2006 through 2008 at six hospitals in Japan. *J Infect Chemother.* 2011; 17:45-51.
16. Jones RN, Kohno S, Ono Y, Ross JE, Yanagihara K. ZAAPS International Surveillance Program (2007) for linezolid resistance: results from 5591 Gram-positive clinical isolates in 23 countries. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 64(2):191-201.
17. Seral C, Sáenz Y, Algarate S, et al. Nosocomial outbreak of methicillin- and linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* associated with catheter-related infections in intensive care unit patients. *International Journal of Medical Microbiology.* 2011; 301(4):354-8.
18. Jones RN, Fritsche TR, Sader HS, Ross JE. LEADER surveillance Program results for 2006: an activity and spectrum analysis of Linezolid using clinical isolates from the United States(50 medical centers). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007; 59:309-17.
19. Baddour MM, Abuelkheir MM, Fatani AJ. Trends in antibiotic susceptibility patterns and epidemiology of MRSA isolates from several hospitals in Riyadh, Saudi Arabia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006; 5: 30.
20. Ertem T G, Öztürk B, Hatipoğlu A Ç, et al. Staflok ve Enterokok İzolatlarının Linezolid, Daptomisin, Teikoplanin ve Fusidik Aside İn Vitro Duyarlılığı. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2013; 33(6):1381-7.
21. Ağalar C, Göçmen J S, Kılıç D, Kaygusuz S, Karabıçak Ç. Üçüncü basamak bir referans hastanesinde izole edilen metisilin dirençli stafilocok suşlarında duyarlılık. *JCEI /2012; 3(1):71-4.*
22. Cesur S, Irmak H, Şimşek H, ve ark. Türkiye’de Yedi İldeki Hastanelerin Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen MRSA Suşlarında VISA-VRSA Araştırılması ve Antibiyotik Duyarlılık Durumlarının Saptanması. *Mikrobiyol Bul.* 2012; 46(3): 352-8.

Sorumlu Yazar: Demet Hacıseyitoğlu

Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi,  
Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı,

Kartal, İstanbul-Türkiye, Tel: 0(216) 4413900 E-mail:  
demet634@gmail.com

## Tüberküloz laboratuvarımıza gönderilen T-Spot. TB test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi

*Retrospective evaluation of T-Spot. TB test results that sent to our tuberculosis laboratory*

Yeliz Tanrıverdi Çaycı, Ferhan Korkmaz, Asuman Birinci

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun

Geliş Tarihi: 17.03.2016

Kabul Tarihi: 25.06.2016

DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.293217

### Öz

**Amaç:** T-Spot.TB testi tüberkülozun tanısında kullanılan ve interferon gamma salınımına dayanan bir testtir. Bu testte hastanın lenfositlerinin tüberküloz spesifik antijenlerle (ESAT-6 ve CFP10) uyarımını takiben T-lenfositlerinden interferon gamma üretimi ölçülmektedir. Çalışmamızda Tüberküloz Laboratuvarına gönderilmiş olan serum örneklerinde T-Spot.TB sonuçlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tüberküloz Laboratuvarına Aralık 2013-Mart 2015 yılları arasında gönderilmiş olan klinik örnekler retrospektif olarak incelenmiştir. Serum örnekleri heparinli tüpe 6 ml olacak şekilde alınmış ve laboratuvarımıza gönderilmiş ve üretici firma önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Bu testte yıkanmış ve sayılmış periferik mononükleer hücrelerde, tüberküloz spesifik antijenlerle (ESAT-6 ve CFP10) uyarımını takiben interferon gamma üretimi ölçülmektedir. Spotlar sayılmakta, 6 ve üzeri pozitif olarak kabul edilmektedir.

**Bulgular:** Toplam 141 hastanın serum örneği çalışılmıştır, serum örneği gönderilmiş olan hastaların yaş ortalaması 33.03 (9 aylık-83 yaş) olarak saptanmıştır. Bu örneklerden 28 hasta örneğinde T-Spot.TB pozitifliği görülmüştür. T-Spot.TB pozitifliği görülen hastalardan 18 (%64,2) hastada EZN boyama, tüberküloz kültürü ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testleri istenmemiş olup sadece T-Spot.TB çalışılmıştır. T-Spot.TB çalışılmış olan 141 örneğin 3 (%2,1) tanesinde kültür pozitifliği saptanmış olup, hem kültür hem T-Spot.TB pozitifliği sadece 2 (%1,4) hastada saptanmıştır.

**Sonuç:** T-Spot.TB testinde BCG aşılınması ve çevresel mikobakterilerle maruziyete bağlı yalancı pozitiflik görülmemesi bu testi, tüberkülin deri testiyle kıyaslandığında ön plana çıkartmaktadır. Ayrıca latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında daha özgül ve duyarlı olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle bu testin ilerleyen dönemlerde daha ön plana çıkacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Latent tüberküloz enfeksiyonu, tanı, T-Spot.TB, IGRA

## Abstract

**Aim:** T-Spot.TB test is a test used for the diagnosis of tuberculosis and based on interferon gamma release. In this test, with following stimulation of tuberculosis specific antigens of the patient's lymphocytes (ESAT-6 and CFP10) interferon gamma production from T-lymphocytes is measured. In our study, it is aimed to investigate the T-Spot. TB result in serum samples which were sent to the Tuberculosis Laboratory.

**Materials and Methods:** Clinical specimens which were sent to Ondokuz Mayıs University Medical Faculty Hospital tuberculosis laboratory between December 2013- March 2015 were analyzed retrospectively. Serum samples were taken to be 6 ml heparin tubes and sent to our laboratory and has been tested in accordance with manufacturer recommendations. This assay used, early secreted antigenic target 6-kDa protein (ESAT-6) and culture filtrate protein 10 (CFP10), to stimulate interferon-production in washed and enumerated peripheral blood mononuclear cells. Spots were counted and assays with 6 or more spots were considered positive.

**Results:** A total of 141 patient's serum samples were studied, the average age of patients whose serum samples were sent is detected 33.03 (9 months-83 yearsold). Twentyeight patients in the case of this example, the T-Spot.TB positivity was observed. In 18 patients (64.2%) who has positivity of T-Spot.TB, EZN staining, tuberculosis culture and polymerase chain reaction (PCR) were not tested, only the T-Spot.TB has been studied. Three (2.1%) of 141 samples which was studied is detected culture positive, both culture positivity and the T-Spot.TB positivity was detected in only 2 (1.4%) patients.

**Conclusion:** In T-Spot.TB test, false positive results is not seen like BCG vaccination and exposure to environmental mycobacterias and forefront this test when compared with the tuberculin skin test. Also it is indicated to be more independent and responsive in the diagnosis of latent tuberculosis infection. Therefore we think that this test will be more forefront in the forthcoming years.

**Keywords:** Latent tuberculosis infection, diagnosis, T-Spot.TB, IGRA

## Giriş

Mycobacterium tuberculosis zorunlu aerob, aside dirençli basildir. Basil aktif hastalığa neden olmakla beraber latent de kalabilmektedir [1]. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2014 verilerine göre dünyada dokuz milyon tüberküloz (TB) hastası ve iki milyardan fazla latent tüberküloz enfeksiyonlu (LTE) kişi vardır [2]. LTE 'li semptomsuz bireylerin %10'unda aktif tüberküloz gelişebilmektedir [3]. Koruyucu ilaç tedavisi ile LTE'li bireylerden aktif hastalık gelişme riski %75-90 oranında azalmaktadır [4]. Bu sebepten dolayı LTE'li bireylerin tanısı ve tedavisi büyük önem taşımaktadır. TNF-alfa antagonisti ilaçlar birçok inflamatuvar hastalıkta son seçenek tedavi olarak kullanılmaktadır. TNF-alfa antagonisti ilaçların kullanımında tüberküloz riski ön plandadır. Ülkemizde 2002'de Romatoloji Araştırma ve Eğitim Derneği (RAED) ve Göğüs hastalıkları uzmanları ile İstanbul'da oluşturulan kılavuzda anti-TNF tedavisi başlanması düşünülen her hastada, anamnez, akciğer grafisi ve TCT (PPD) ile latent TB varlığı araştırılmalı ve dışlanmalıdır kararı yer almıştır. Günümüzde TB hastalığını dışlamakta sorun olmamasına karşılık LTE'yi belirlemek özellikle de immünsüpresif kişilerde zordur. Bu grup hastalarda

TB riski yüksek olduğu için LTE'un belirlenmesi ve profilaksi uygulanması önemlidir [5]. Tüberküloz basilinin saflaştırılmış protein türevi (PPD), M. tuberculosis, Mycobacterium bovis, Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) suşu ve pek çok tüberküloz dışı mikobakterilerce (non-tuberculosis mycobacteria (NTM)) paylaşılan kaba bir antijen karışımıdır [6]. Kullanılan antijenin NTM ve BCG'de bulunması PPD'nin özgüllüğünü düşürmektedir. İmmünsüpresyon, malnutrisyon, miliyer tüberküloz, viral enfeksiyon, viral aşilar, ileri yaş gibi durumlar testin duyarlılığını düşürmektedir. Ayrıca hastanın test için hastanın iki kez çağırılması gerekliliği, hem testin uygulama aşamasının hem de değerlendirme aşamasının subjektif olması testi olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle son yıllarda LTE tespiti için farklı test arayışları içine girilmiştir. Bu testler T-Spot testi ve interferon gama salınım testleridir. Son 20 yıl içinde M. tuberculosis genomunda olan, Region of Difference-1 (RD-1) bölgesi tanımlanmıştır [7]. Bu DNA bölgesinde iki protein kodlanmaktadır; "Early Secretory Antigenic Target-6" (ESAT-6) ve "Culture Filtrate Protein-10" (CFP-10). Bu antijenler M. marinum, M. kansasii, M. szulgai ve M. flavescens dışındaki tüberküloz dışı mikobakterilerin çoğunda ve BCG aşısı kökeninde bulunmamaktadır [8].

T-Spot.TB testinde hastanın lenfositlerinin tüberküloz spesifik antijenlerle (ESAT-6 ve CFP10) uyarımını takiben T-lenfositlerinden interferon gamma üretimi ölçülmektedir. Bu antijenlerin NTM ve BCG'de bulunmaması T-Spot.TB testinin özgülüğünü artırmaktadır. T-Spot.TB testine benzer IFN-gama ölçümüne dayalı başka testlerde bulunmaktadır.

Çalışmamızda Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tüberküloz Laboratuvarına gönderilmiş olan serum örneklerinde T-Spot.TB sonuçlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntemler

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tüberküloz Laboratuvarı'na Aralık 2013- Mart 2015 yılları arasında gönderilmiş olan klinik örnekler retrospektif olarak incelenmiştir. Analiz için T.Spot.TB (Oxford, Immunotec, İngiltere) kiti kullanılmıştır. Testte heparinli tüplere alınmış serum örnekleri çalışılmaktadır. Örnek laboratuvarında işleme alındığında, serum steril plastik bir kaba alınarak üzerine 150 µl T-cellxtend eklenir ve oda ısısında bir süre beklendikten sonra bir dizi santrifüj işleminden geçirilerek mononükleer hücreler serumdan izole edilir. Elde edilen süspansiyon antijen kaplı 4 kuyucuklu plağına alınır. Bu kuyucuklarda pozitif kontrol, negatif kontrol, Panel A ve Panel B bakılır. Hazırlanan plak 37 C'de %5'lik CO2 etüvde 16-20 saat inkübe edilir. İnkübasyondan sonra bir dizi yıkama, konjugat ve substrat ekleme işleminden sonra kamera yardımıyla spotlar incelenir. Altı veya daha fazla spot görülmesi T-Spot.TB pozitifliği olarak değerlendirilir.

### Bulgular

Toplam 141 hastaya ait serum örneği çalışılmıştır, serum örneği gönderilmiş olan hastaların yaş ortalaması 33.03 (9 aylık-83 yaş) olarak saptanmıştır. Bu örneklerden 28'inde (%19,8) T-Spot.TB pozitifliği görülmüştür. T-Spot.TB pozitifliği görülen hastalardan 18 (%64,2) hastada EZN boyama, tüberküloz kültürü ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testleri istenmemiş olup sadece T-Spot.TB çalışılmıştır. T-Spot.TB çalışılmış olan 141 örneğin 3 (%2,1)'ünde kültür pozitifliği saptanmış olup, hem kültür hem T-Spot.TB pozitifliği sadece 2 (%1,4) hastada saptanmıştır. Çalışılan serum örneklerinin pozitif ve negatifliklerine göre servis dağılımları Tablo 1'de verilmiştir. Kültür pozitifliği ve negatifliğine göre T-Spot TB test sonuçları ise Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** T-Spot.TB çalışılmış hasta örneklerinin kliniklere göre dağılımları.

Klinik	Pozitif	Toplam
Romatoloji	14	67
Pediyatri	4	31
Nefroloji	2	11
Enfeksiyon	2	9
Genel Cer.	1	7
Gastroloji	1	5
Göğüs Has.	2	3
Onkoloji	0	2
Üroloji	0	2
Nöroloji	0	1
Koroner	1	1
Hematoloji	0	1
Dahiliye	1	1
Toplam	28	141

**Tablo 2.** Kültür pozitifliği ve negatifliğine göre T-Spot. TB test sonuçlarının değerlendirilmesi

	Kültür(+)	Kültür(-)
Tspot TB(+)	2	8
T spot TB(-)	1	32
Toplam	3	40

T-Spot.TB çalışılması için en fazla örnek, romatoloji servisinde (n:67, %47,5) gönderilirken, romatolojiyi pediatri (n:31, %21,9) ve nefroloji (n:11, %7,8) servisleri takip etmiştir. Pozitif 28 örneğin 14'ü (%50) romatoloji servisinde gelmiştir.

T-Spot.TB testi pozitif saptanmış olan 28 hastadan; 15 romatoloji hastasının 13'ünde, 1 kardiyoloji hastasında ve 2 nefroloji hastasında immünespresif tedavi öncesi latent tüberkülozü ekarte etmek için T-Spot.TB testi istendiği saptanmıştır. Çocuk enfeksiyon hastalıkları servisinde bir hastada enfeksiyon odağı bulunmadığı ve tüberküloz aile öyküsü olduğu için T-Spot.TB istendiği görülmüştür. Geriye kalan 11 hastada tüberküloz semptomları görüldüğü için T-Spot.TB testi istenmiştir.

T-Spot.TB pozitifliği görülen 28 hastanın 15'ine PPD testi yapılmıştır. Dört hastada PPD 5 mm'nin altında iken 6 hastada 6-14 mm arası, 5 hastada ise 15 mm'nin üzerinde olduğu saptanmıştır. PPD'si 15 mm'nin üstünde olan 3 hastanın, immünespresif tedavi alacak olan romatoloji hastası, böbrek nakli yapılacak nefroloji hastası ve tüberküloz tanısı almış olan pediatri hastası olduğu görülmüştür. T-Spot.TB pozitifliği görülen 28 hastadan 5'ine aktif tüberküloz tanısı konmuş ve tedavi başlanmıştır.



## Tartışma

T-Spot.TB test, LTE tanısında kullanılan periferik kan mononükleer hücrelerin, in vitro koşullarda, özgül antijenlerle uyarıldığına IFN-gama salınan T-hücrelerin sayısının çift sandviç ELISA yöntemi ile belirlenmesine dayalı bir yöntemdir. Bu test ve bu testin bir diğer alternatifi olan Quantiferon Gold-Tb testi son yıllarda LTE tanısında tüberkülin cilt testi (PPD)'nin alternatifi olup, duyarlılık ve özgüllükleri PPD cilt testinden daha yüksektir [5].

Sunduğumuz çalışmada kültür pozitifliği saptanan 3 hastanın 2'sinde T-Spot.TB pozitifliği saptanmıştır. T-Spot.TB pozitifliği görülen 28 hastadan 5'ine aktif tüberküloz tanısı konmuştur. Meier ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 72 akciğer ve akciğer dışı TB hastaların 70'inde T-Spot.TB pozitifliği saptandığı görülmüştür [9]. Cruz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kültür ile doğrulanmış tüberküloz hastalığı olan çocuklarda PPD ve T-Spot.TB duyarlılığın sırasıyla %77 ve %92 olduğu ve T-Spot.TB testinin BCG yapılmış olan hastalarda daha spesifik olduğu görülmüştür [10].

Chapman ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada T-Spot. TB testinin HIV negatif hastalarda %100 duyarlılığa, HIV pozitif hastalarda %90 duyarlılığa sahip olduğu görülmüştür [11], Brock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, aşısızlarda RD1'e dayalı testler için %100 özgüllük, aşılılarda ise %89 özgüllük saptamışlardır [12]. IFN-gama salınımına dayalı T-Spot.TB testi RD1 genindeki antijene özgü olduğundan birçok NTM ve BCG antijeni ile çapraz reaksiyon vermeyeceğinden dolayı testin özgüllüğü yüksektir. Böylece gereksiz tedavi, ilaç yan etkileri ve maliyet azaltılmış olacaktır. İmmünesupresif hastalık, malnutrisyon, ileri TB, yaşlılık, viral enfeksiyon, viral aşılar, TNF-alfa öncesi immünesupresif tedaviden az etkilenmesi testin duyarlılığını artırır. Bu gibi durumlarda LTE'nunu saptaması tedaviyi yönlendirir veya ilerde bu hastanın TB olma ihtimalini güçlendirir. Hastanın bir kez gelmesi, daha kısa sürede sonuçlanması da testin avantajlarından. Maliyetin daha yüksek olması ise testin dezavantajıdır.

Sonuç olarak, T-Spot.TB testi tüberkülin cilt testine göre duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olması nedeniyle özel hasta gruplarında (TNF-alfa blokörü kullanacaklar, immünesupresif hastalar vb.) kullanılması uygun olacaktır. Çıkar Çatışması: Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkar dayalı ilişkisi yoktur.

## Kaynaklar

1. Levinson W, Jawets E. Lange Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Mikobakteriler. Editör: Özgünen T. 2006, Ankara: Güneş Tıp Kitabevi p:159-165.
2. [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/) (Erişim Tarihi: Mayıs 2015)
3. Tufariello JM, Chan J, Flynn JL. Latent tuberculosis: Mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 578-90.
4. Herrera V, Perry S, Parsonnet J, Banaei N. Clinical applications and limitations of interferon gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection. *Clin Infect Dis* 2011;52:1031-7.
5. Çağatay T. TNF-a Antagonisti Kullanacak Hastalarda Latent Tüberkülozun Belirlenmesinde IGRA Testleri (Quantiferon-Elispot) ve PPD'nin Yeri. *Turk J Dermatol* 2012; 6: 62-4.
6. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000; 356: 1099-104.
7. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC, Stover CK. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J Bacteriol* 1996; 178:1274-82.
8. Pai M, Denkinger CM, Kik SV et al. Gamma interferon release assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27:3-20.
9. Meier T, Eulenbruch HP, Wrighton SP, Enders G, Regnath T. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T.SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2005) 24: 529-536.
10. Cruz AT, Geltemeyer AM, Starke JR, Flores JA, Graviss EA, Smith KC. Comparing the Tuberculin Skin Test and T-SPOT.TB Blood Test in Children, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. North American Region; 2007. *Pediatrics*, 2011;127:e31-8.
11. Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells. *AIDS* 2002; 16: 2285-9.
12. Brock I, Munk ME, Kok JA, Andersen P. Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5: 462-7.

Sorumlu yazar: Yeliz Tanrıverdi Çaycı,  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD Atakum-Samsun  
İletişim: E-mail:yeliztanriverdi@gmail.com

*The comparison of methods used for the detection of biofilm formation that cause antibiotic resistance of Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus*

## **Staphylococcus epidermidis ve Staphylococcus aureus antibiyotik direncine sebep olan biyofilm oluşumunun belirlenmesi için kullanılan metotların kıyaslanması**

Sahra Kırmusaoğlu

T.C. Haliç University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, 34445, Istanbul, Turkey

Geliş Tarihi: 23.03.2017

Kabul Tarihi: 30.03.2017

DOI:10.21601/ortadogutipdergisi.299940

### **Abstract**

**Aim:** This study was performed to compare microtiter plate method, tube method ve Congo red agar screening methods used for the detection of biofilm formation by Staphylococcus spp. such as Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis of which treatment can be impossible and hard, and infections such as host and indwelling device-associated infections can be recurrent.

**Materials and Methods:** In this study 121 isolates were used and microtiter plate method was used as gold standard method. Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value parameters were calculated.

**Results:** The sensitivity, specificity of tube method and Congo red agar methods were 97%, 100% and 87%, 94% respectively.

**Conclusion:** This study revealed that tube method is more reliable method than Congo red agar method. Tube method can be recognized as the main screening method for the identification of biofilm producer bacteria in the laboratories. By the usage of reliable biofilm detection method, wrong diagnoses and recurrent infections can be prevented.

**Keywords:** Biofilm formation, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, microtiter plate method, tube method, Congo red agar method

## Öz

**Amaç:** Bu çalışma, tedavileri imkansız ve zor olan, konak ve yabancı cisim ilişkili infeksiyonlar gibi tekrarlayabilen infeksiyonları olan *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* gibi Stafilkoklar tarafından oluşturulan biyofilmin belirlenmesinde kullanılan mikrotitre plak metodu, tüp metot ve Kongo kırmızısı agar metodunu tarama metodlarını kıyaslamak için gerçekleştirildi.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada, 121 izolat kullanıldı ve altın standart metot olarak mikrotitre plak metodu kullanıldı. Sensitivite, spesifisite, pozitif tahmin değeri ve negatif tahmin değeri parametreleri hesaplandı.

**Bulgular:** Tüp metot ve Kongo kırmızısı agar metodlarının sensitivite, spesifisite, sırasıyla %97, %100 ve %87, %94'dür.

**Tartışma:** Bu çalışma tüp metodun, Kongo kırmızısı agar metottan daha güvenilir olduğunu gösterdi. Tüp metot, laboratuvarlarda biyofilm oluşturan bakteri identifikasyonu için ana tarama testi olarak tavsiye edilebilir. Güvenilir biyofilm belirleme metodunun kullanımı ile yanlış tanımlar ve tekrarlayan infeksiyonlar önlenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Biyofilm oluşturma, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, mikrotitre plak metodu, tüp metot, Kongo kırmızısı agar metodu

## Introduction

*Staphylococcus* is a main cause of nosocomial and environmental infections. *Staphylococcus* have gained attention due to its ability to produce biofilm that cause biofilm-associated infections and responsibility of one-half of prosthetic device-associated infections [1]. *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) cause indwelling device-related infections. *Staphylococcus aureus* cause host infections such as osteomyelitis [2], septic arthritis [3], ocular infections, endocarditis, chronic wound infections, and chronic rhinosinusitis [4].

Biofilm formation that begins with the adherence of the bacteria to a surface continues with the aggregation formed by cell-cell adhesion [5]. Adherence of bacteria is mediated by surface adhesins such as surface protein G (SasG) [5] and fibronectin binding proteins (FnbA and FnbB) of *S. aureus* [6]. Aggregation that is mediated by the synthesis of either polysaccharide intercellular adhesion/poly-N-acetylglucosamine (PIA/PNAG) [6, 7] is formed in cell clusters till multi-layer structured biofilms formed.

Biofilm has an important role in the pathogenesis of staphylococcal infections. The bacteria within the biofilm resist antibiotics, antimicrobials and immune system [4]. Biofilms are produced on the outer and inner surfaces of indwelling medical devices such as prosthetic heart valves, intravenous catheters and stents [8], on the host tissues such as heart valves (endocarditis) [4], teeth [9], in the middle ear of patients with otitis media [10], in the lungs of patients with cystic fibrosis (CF) (chronic bronchopneumonia) [11], in chronic osteomyelitis and prosthetic joint infections [2,3,12], in chronic wounds and in chronic rhinosinusitis [4] by bacteria.

There are different biofilm detection methods [13-18]. To reduce probability in detection of false negatives biofilm screening methods must be tested and compared with each other. In this study tube method and Congo red agar methods were compared according to microtiter plate method as a gold standard.

The aim of this study is to compare microtiter plate method, tube method ve Congo red agar screening methods used for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* of which treatment can be impossible and hard, and infections such as host and indwelling device-associated infections can be recurrent.

## Materials and Methods

The Bacteria. 121 isolates of *Staphylococcus* which were used as test microorganisms were obtained from Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Medical Microbiology Laboratory, Bolu; Turkey. All of the isolates were identified as *S. epidermidis* and *S. aureus* according to colonial and microscopic morphology, positive catalase for both, negative and positive coagulase, respectively. All isolates were tested for biofilm production in triplicates.

Congo red agar method (CRA). Strains of *Staphylococcus* were inoculated on Congo red agar media (CRA) (Merck TM) as described by Freeman et al. (1989) to identify whether strains were biofilm producer or not (15). The CRA medium was constructed by mixing 0.8 g of Congo red and 36 g of sucrose (Sigma, Missouri, EUA) to 37g/L of BHI (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England). After incubation period that was 24 h at 37°C, morphology of staphylococcal colonies that undergone to

different colours were differentiated as biofilm producers or not. Black colonies with a dry crystalline consistency indicated biofilm producers, whereas colonies retained pink were non-biofilm producers.

**Tube method (TM).** The biofilm formation of *Staphylococcus* was also detected by this method described by Christensen et al. (1985). The *Staphylococcus* strains was inoculated in polystyrene test tube which contained tryptic soy broth (TSB) and incubated at 24 h at 37°C [19]. The sessile *Staphylococci* of which biofilms formed on the walls of polystyrene test tube were stained with safranin for 1 hour, after planktonic cells were discharged by washing twice with phosphate-buffered saline (PBS). Then, safranin stained polystyrene test tube was washed twice with PBS to discharge safranin stain. After air drying of test tube process, the occurrence of visible film lined the walls and the bottom of the tube indicates biofilm production [19]. These visible films that were measured spectrophotometrically at 540 nm by a microplate reader (Thermo Instruments TM) rated as 1 (weak/non biofilm producers), 2 (intermediate biofilm producers) and 3 (high/strong biofilm producers). The studies were repeated in triplicates.

**Microtiter plate method (MtP).** 200 µl of bacterial suspension of which optical density (OD) had adjusted to approximately 0.600 by a spectrophotometer (Hitachi TM) earlier was inoculated into 96-well flat-bottomed sterile polystyrene microplate (LP Italiana SPA TM) which contained TSB. Uninoculated wells containing sterile TSB were used as controls. Microplates incubated at 24 h at 37°C. The Sessile *Staphylococci* of which biofilms formed on the walls of wells of microplate were stained with safranin for 1 hour, after planktonic cells in wells of microplate had discharged by washing twice with PBS (pH 7.2) and wells had dried at 60 °C for 1 h. Then, safranin stained wells of microplates were washed twice with PBS to discharge safranin stain. After air drying process of wells of microplate, biofilms lined the walls of the microplate were measured spectrophotometrically at 540 nm by a microplate reader (Thermo Instruments TM) The studies were repeated in triplicates. Uninoculated wells containing sterile TSB used as blanks. The blank absorbance values were used to identify whether biofilm formation of *Staphylococcus* strains exist or not. The strains producing biofilm higher than blank corrected mean absorbance value of 0.05 were considered as weak biofilm

producers, and if the value was higher than 0.10 and 0.20, it was revealed intermediate and stronger/higher biofilm producer, respectively. The biofilm production studies of each strain were repeated in triplicates. The cut-off value (ODc) that was calculated for gaining the better results is constructed by three standard deviations (SD) that are higher than the mean OD of the negative control. The ODc was calculated according to the given formula;  $(3 \times \text{SD of negative control}) + \text{the mean OD of negative control} = \text{ODc}$ . The ODc value was calculated for each microplate separately. The negative value stated as zero indicated that bacterium strain tested was a non-biofilm producer, whereas positive value revealed that bacterium strain tested was a biofilm producer. According to the biofilm production, the staphylococcal strains were categorized into not only such groups [20]; 0 (non-biofilm producer), 1 or + (weak biofilm producer), 2 or ++ (intermediate biofilm producer) and 3 or +++ (strong biofilm producer), but also such groups that depend on OD values;  $\text{OD} \leq \text{ODc}$  (non-biofilm producer),  $\text{ODc} < \text{OD} \leq 2 \times \text{ODc}$  (weak biofilm producer),  $2 \times \text{ODc} < \text{OD} \leq 4 \times \text{ODc}$  (intermediate biofilm producer) and  $4 \times \text{ODc} < \text{OD}$  (strong biofilm producer) [21].

### **Statistical analysis**

MtP method was considered as gold standard for this study and compared with data of TM and CRA methods. Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value parameters were calculated. True positives were biofilm producers by MtP, TM and CRA methods whereas true negatives were non-biofilm producers by MtP, TM and CRA methods.

False positives meant that MtP method indicated strains as non-biofilm producers whereas TM and CRA methods indicated that strains as biofilm producers. False negatives meant that MtP method indicated strains as biofilm producer whereas TM and CRA methods indicated that strains as non-biofilm producers.

### **Results**

Among 121 isolates, 54% and 46% isolates were found to be *S. epidermidis* and *S. aureus*, respectively. In this study, 121 isolates were used to compare three biofilm screening methods and MtP method was used as gold standard method. 62 (51%) and 59 (49%) of strains were identified as biofilm producers and non-biofilm producers by the MtP method, respectively (Table 1). 62 (51%) and 48 (40%)





isolates were identified as biofilm producers, 59 (49%) and 73(60%) isolates were identified as non-biofilm producers by TM and CRA, respectively (Table 1).

**Table 1.** The detection of biofilm production by MtP, TM and CRA methods

	Biofilm formation	
	Positive (weak, intermediate, strong)	Negative (non)
<b>MtP</b>	62 (51%)	59 (49%)
<b>TM</b>	62 (51%)	59 (49%)
<b>CRA</b>	48 (40%)	73(60%)

Among 121 isolates, 13 (11%) and 14 (12%) isolates were identified as strong/high biofilm producers, 25 (21%) and 34 (28%) isolates were identified as intermediate biofilm producers, isolates were identified as 83 (69%) and 73 (60%) weak or non biofilm producers by TM and CRA, respectively (Table 2).

**Table 2.** The categorization of biofilm production

Biofilm formation	MtP	TM	CRA	n
<b>Strong/high</b>	13 (11%)	13 (11%)	14 (12%)	121
<b>Intermediate</b>	26 (21%)	25 (21%)	34 (28%)	
<b>Weak/non</b>	82 (68%)	83 (69%)	73 (60%)	
<b>Weak</b>	23 (19%)	24 (20%)	0	
<b>Non</b>	59 (49%)	59 (49%)	73 (60%)	

Any false positive and false negative result was not determined by TM (Table 3). False negative results of 14 (19%) were determined by CRA (Table 3). Any false positive result wasn't determined by CRA (Table 3). 59(100%) of isolates that were actually negative according to MtP method identified as true negative results by both TM and CRA methods. 62 (100%) and 48 (77%) isolates that were actually positive according to MtP method identified as true positive results by TM and CRA, respectively.

**Table 3.** The evaluation of positive and negative results

	TM	CRA
<b>True positive (TP)</b>	62 (100%)	48(77%)
<b>False negative (FN)</b>	0	14 (19%)
<b>False positive (FP)</b>	0	0
<b>True negative (TN)</b>	59 (100%)	59 (100%)

When the results of CRA, TM and MtP methods were compared according to MtP method as a gold standard,

the results revealed that the sensitivity and the specificity of the CRA and TM tests were 77% and 100%, 100% and 100%, respectively (Table 4). The sensitivity of CRA method remained low.

Based on a negative predictive value (NPV), 81% and 100% of nonbiofilm producer strains that were actually negative by MtP were revealed as negative by the CRA and TM method, respectively. Based on positive predictive value (PPV), 100% of biofilm producers strains that were actually positive by MtP were revealed as positive by both of CRA and TM (Table 4).

**Table 4.** Parameters of Tube method and Congo red agar methods against *Staphylococcus* isolates

Screening methods	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)
<b>TM</b>	100%	100%	100%	100%
<b>CRA</b>	77%	100%	100%	81%

## Discussion

All of the methods were effective to detect biofilm production of *S. epidermidis* and *S. aureus* due to acceptable sensitivity and specificity. The sensitivity and the specificity of TM were 100%. This result revealed that correlation was found between the results of the TM and MtP methods. The sensitivity and the specificity of CRA were 77% and 100%. False positive results of 14 (19%) were determined by CRA. The TM represented higher sensitivity than CRA method to detect biofilm formation of *S. epidermidis* and *S. aureus*. These results of TM and CRA methods revealed that TM was better than CRA method in the biofilm detection, due to its' higher sensitivity, and any false positive and negative results of CRA was determined. In the laboratories, TM method can be an alternative to MtP method and TM must be recommended to detect biofilm formation of *S. epidermidis* and *S. aureus* rather than CRA method.

De Castro Melo et al. (2003) indicated that 28.6% of isolates that were actually negative identified as true negative results, and 100% of isolates that were actually positive identified as true positive results by CRA method. They also compared the results of CRA and MtP methods using the MtP method as a gold standard. They indicated that the sensitivity and the specificity of the CRA test were 86% and 100%, respectively [22]. These results suggest that the

CRA method can be used to detect biofilm production by *S. aureus*. But the results of molecular analysis to compare CRA and MtP methods indicated that MtP method was more sensitive [22]. Jain and Agarwal (2009) identified biofilm formation of Staphylococci by CRA and MtP methods, using the MtP as a gold standard. They indicated that the sensitivity and specificity of CRA method against *S. aureus* biofilm were 90.63% and 90.6% respectively [23]. Mathur et al. (2006) indicated that 53.9% of isolates were biofilm producers, and 46% of isolates were non-biofilm producers according to tissue culture plate method (TCP) [25]. Ruzicka et al. (2004) showed that 79 (53.7%) and 64 (43.5%) of *S. epidermidis* isolates were identified as biofilm producers by TM and CRA method, respectively. They indicated that TM was better to identify biofilm formation than CRA [26]. Baqai et al. (2008) indicated that 75% of uropathogens were identified as biofilm producers by TM [27]. Knobloch et al. (2002) indicated that 11 isolates were biofilm producers and 99 isolates were non-biofilm producers according to CRA method. Sensitivity (11%), specificity (92%) of CRA method were very low. 62 isolates were found to be false negative and 3 isolates were false positive. CRA method was not recommended in their study since only 3.8% of *S. aureus* isolates were identified as biofilm producers by CRA method compared to TCP that identified 57.1% of *S. aureus* isolates as biofilm producers [28]. Hassan et al. (2011) determined that 70 (64.7%) of isolates were biofilm producer, and 40 (36.3%) of isolates were non or weak biofilm producers according to TCP method (MtP) [4]. Hassan et al. (2011) determined that 49% isolates were biofilm producer, and 51% isolates were non-biofilm producers. False positive results of three isolates and false negative results of 19 isolates were determined by TM. They determined the sensitivity and specificity of TM as 73%, and 92.5%, respectively. They indicated that there was a correlation between TCP and TM to identify strong biofilm producers [24]. TM was not suggested as a general biofilm screening method, in accordance with other studies [14, 25]. Kumar Gupta et al. (2013) studied CRA and MTP methods to detect biofilm formation of Staphylococcus. They determined that MtP was more specific than CRA method [2]. Dhanawade et al. (2010), demonstrated that MtP and CRA methods were correlated with the molecular analysis [30].

By the usage of reliable biofilm detection method, wrong diagnoses and recurrent infections can be prevented.

## Conflict of Interest

There is no financial or personal relationship which can cause a conflict of interest regarding this article.

## References

1. Fluckiger U, Ulrich M, Steinhuber A, Döring G, Mack D, Landmann R, et al. Biofilm formation, icaA/BC transcription and polysaccharide intercellular adhesin synthesis by staphylococci in a device-related infection model. *Infect Immun* 2005;73:1811–9.
2. Gristina AG, Oga M, Webb LX, Hobgood CD. Adherent bacterial colonization in the pathogenesis of osteomyelitis. *Science* 1985;228:990–3.
3. Trampuz A, Zimmerli W. Prosthetic joint infections: update in diagnosis and treatment. *Swiss Med Wkly* 2005;135:243–51.
4. Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence* 2011;2:445–459.
5. Kuroda M, Ito R, Tanaka Y, Yao M, Matoba K, Saito S, et al. *Staphylococcus aureus* surface protein SasG contributes to intercellular autoaggregation of *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;377:1102–6.
6. O'Neill E, Pozzi C, Houston P, Humphreys H, Robinson DA, et al. A novel *Staphylococcus aureus* biofilm phenotype mediated by the fibronectin-binding proteins, FnBPA and FnBPB. *J Bacteriol* 2008;190:3835–50.
7. Heilmann C, Schweitzer O, Gerke C, Vanittanakom N, Mack D, Götz F. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Mol Microbiol* 1996;20:1083–91.
8. Taconelli E, Smith G, Hieke K, Lafuma A, Bastide P. Epidemiology, medical outcomes and costs of catheter-related bloodstream infection in intensive care units of four European countries: literature- and registry-based estimates. *J Hosp Infect* 2009;72:97–103.
9. Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ. Human oral bacterial biofilms. In: Ghannoum MA, O'Toole GA (ed.). *Microbial biofilms*. Washington, DC: ASM Press; 2004.
10. Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, Nistico A, Nguyen L, Hayes J, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA* 2006;296:202–11.
11. Bjarnsholt T, Jensen PØ, Fiandaca MJ, Pedersen J, Hansen CR, Andersen CB, et al. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol* 2009;44:547–58.



12. Del Pozo JL, Patel R. Infection associated with prosthetic joints. *N Engl J Med* 2009;361:787-94.
13. Christensen GD, Simpson WA, Younger JA et al. Adherence of coagulase negative staphylococci to plastic tissue cultures: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 1995;22:996-1006.
14. Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* 1982;37:318-26.
15. Freeman J, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol* 1989;42:872-4.
16. Donlan RM, Murga R, Bell M et al. Protocol for detection of biofilms on needleless connectors attached to central venous catheters. *J Clin Microbiol* 2001;39:750-3.
17. Aparna MS, Yadav S. Biofilms: microbes and disease. *Braz J Infect Dis* 2008;12(6):526-30.
18. Zufferey J, Rime B, Francioli P, Bille J. Simple method for rapid diagnosis of catheter associated infection by direct Acridine orange staining of catheter tips. *J Clin Microbiol* 1988;26:175-7.
19. Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 1985;22(6):996-1006.
20. Stepanović S, Vuković D, Daki I, Savic B, Vlahovic-Svabic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods* 2000;40:175-179.
21. Stepanović S, Vuković D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukić S, Ćirković I, Ruzicka F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and partial recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS* 2007;115:891-899.
22. De Castro Melo P, Ferreira LM, Filho AN, Zafalon LF, Vicente HIG, de Souza V. Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Braz J Microbiol* 2003; 44(1): 119-124.
23. Jain A, Agarwal A. Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *J Microbiol Methods* 2009;76:88-92.
24. Hassan A, Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A, Iqbal M. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis* 2011;15(4):305-311.
25. Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian J Med Microbiol* 2006;24(1):25-9.
26. Ruzicka F, Hola V, Votava M et al. Biofilm detection and clinical significance of *Staphylococcus epidermidis* isolates. *Folia Microbiol (Praha)* 2004;49(5):596-600.
27. Baqai R, Aziz M, Rasool G. Urinary tract infection in diabetic patients and biofilm formation of uropathogens. *Infect Dis J Pakistan* 2008;17(1):7-9.
28. Knobloch JK, Horsetkotte MA, Rohde H, Mack D. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Med Microbiol Immunol* 2002;191(2):101-6.
29. Kumar Gupta M, Gahlot R, Nigam C, Kumar V. Biofilm: Detection Methods and Correlation with Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus*. *Natl J Lab Med* 2013;2(2):7-10.
30. Dhanawade NB, Kalorey DR, Srinivasan R, Barbudde SB, Kurkure NV. Detection of intercellular adhesion genes and biofilm production in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Vet Res Commun* 2010;34:81-89.

Corresponding Author: Sahra KIRMUSAOĞLU  
T.C. Haliç University, Faculty of Arts and Sciences, Department  
of Molecular Biology and Genetics, 34445, Istanbul, Turkey  
E-mail: kirmusaoglu\_sahra@hotmail.com

## Çocukluk çağının gizli tehlikesi; subklinik hipotiroidi

### *Insidious danger in childhood era's; subclinical hypothyroidism*

Ayşegül Alpcan<sup>1</sup>, Ayça Törel Ergür<sup>2</sup>, Serkan Tursun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Kırıkkale

<sup>2</sup>Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Endokrinoloji BD, Kırıkkale

<sup>3</sup>Özel Ankara Çankaya Yaşam Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü, Ankara

Geliş Tarihi : 21.03.2016

Kabul Tarihi: 30.03.2016

DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.293272

### Öz

Tiroid hormonları; santral sinir sistemi gelişimi, büyüme, gelişme, vücut ısısı regülasyonu, lipit, karbonhidrat ve enerji metabolizması, iskelet sistemi üzerinde önemli role sahiptir. Diğer yönden çocukluk çağında santral sinir sistemi myelinizasyonunda görevli olduğu için önemi farklıdır. Subklinik hipotiroidi, serum tiroid stimulan hormon seviyesinin orta düzeyde artması ile birlikte serum tiroid hormon seviyelerinin normal referans laboratuvar aralığında olmasıdır. Çocuklarda %2 oranında görülmektedir. Etiyolojisinin büyük bir kısmını otoimmün tiroidit ve iyot eksikliği oluşturmaktadır. Asemptomatik olguların zamanında tanımlanması ve tedavisi önemlidir. Olgularda guatr, büyüme-gelişme geriliği veya duraksaması, ders başarısında azalma, negativizm, depresyon, obezite, demir eksikliği anemisi, dislipidemi, kemik yaşı geriliğinde levotiroksin tedavisi başlanması uygundur.

**Anahtar sözcükler:** Çocukluk çağı, subklinik hipotiroidizm

### Abstract

Thyroid hormones have an important role on the central nervous system, growth, development, body temperature regulation, metabolism of lipid, carbohydrate and energy, musculoskeletal system. The other hand, it has a different importance for its role in the myelinization of the central nervous system during the childhood period. Subclinical hypothyroidism (SH), is diagnosed when peripheral thyroid hormone levels are within normal reference laboratory range but serum thyroid-stimulating hormone levels are mildly elevated. Prevalance of subclinical hypothyroidism in chilhood is seen about %2. The majority of its etiology is due to the autoimmune thyroiditis and iodine deficiency. It is important to diagnose and treat the asymptomatic cases in a timely manner. Thyroxin treatment should be started if goiter, growth velocity is slowed down, decline in school success, negativism, depression, obesity, refractory iron deficiency anemia dyslipidemia, bone age retardation.

**Keywords:** Childhood, subclinical hypothyroidism



## Giriş

Tiroid hormonları ve metabolik etkileri: Tiroid hormonları, santral sinir sistemi gelişimi, büyüme- gelişme, vücut ısısı regülasyonu, lipit, karbonhidrat, enerji metabolizması ve iskelet sistemi üzerinde önemli rol sahibidir. Çocukluk çağında santral sinir sistemi myelinizasyonunda görevli olduğu için önemi farklıdır. [1]. Yapılan bir çalışma tiroid hormon eksikliğinin tedavi edilmediğinde günlük IQ'da 6 puanlık bir kayıp olduğu göstermiştir [2].

Serum T3 (triyodotironin) ve T4 (tiroksin) düzeyleri hipotalamus-hipofiz-tiroid aksı tarafından kontrol edilmektedir. Tiroid bezinden salınan T4 ve T3, hipofizden salgılanan tirotropin (TSH) kontrolü altında sekrete olmaktadır. Serum T4 ve T3 düzeyinin azalmasıyla beraber hipotalamustan tirotropin salıverici hormon (TRH) salgılanır. TRH hipofiz bezini tiroid uyarıcı hormonu (TSH) salgılanması için uyarmaktadır [3]. TSH da, tiroid bezinin T4, T3 sentezlemesi ve depo dolaşımına salınmasından sorumludur. TSH salınımı serum tiroksin düzeyine bağlıdır. Artan tiroksin feedback ile TSH'nın hipofizden salgılanmasını baskılamaktadır. TSH pulsatil salınan ve diurnal varyasyon gösteren bir hormondur. TSH'nın düzeyleri yaşa, cinsiyete ve eşlik eden otoantikörlara göre değişiklik göstermektedir [4]. Birçok çalışmada TSH'nın üst sınırı 4,2m UI/L alınmaktadır (Tablo1) [5-8].

**Tablo1.** Yaşa göre tiroid hormon düzeyleri

**Term yenidoğan 4. gün**.....1,3-16mU/L

**Süt çocuğu 1-12 ay**.....0,9-7,7 mU/L

**Prepuberte**....0,6-5,5 mU/L

**Puberte**.....0,5-4,8 mU/L

### Serbest T3

**Çocuk ve erişkinlerde**... 200-400pg/dl

### Serbest T4

**Term yenidoğan 3. gün**.....2,0-4,0 ng/ml

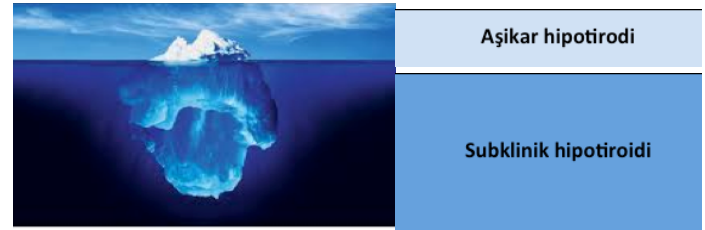
**Süt çocuğu .1-12 ay**.....0,9-2,6 ng/ml

**Prepuberte**....0,8-2,2 ng/ml

**Puberte**.....0,8-2,3 ng/ml

## Tanım

Tiroid hormonlarının yaş ve cinsiyete göre olması gereken değerden düşük olması hipotiroidi, yüksek olması hipertiroidi olarak tanımlanır (Tablo1). Akılda tutulması gereken, sıklıkla gözden kaçan başka bir konu ise subklinik hipotiroidizmdir (SH) [9]. Çocukluk çağında oluşturabileceği sonuçlar nedeniyle erişkinden çok farklı bir öneme sahip olan bu durum iceberg altındaki kısım olduğu için daha tehlikelidir. Gizli seyretmesi nedeniyle çocuklarda ciddi olumsuz etkilere yol açmaktadır (Şekil1) [7-9]. Subklinik hipotiroidizm serum TSH seviyesinin orta-hafif düzeyde (genelde 5-10 mIU/L) artması ile birlikte serum tiroid hormon seviyelerinin normal olması ile karakterizedir [7-10].



**Şekil 1.** Çocuklarda hipotiroidizmin durumu

Marwaha ve arkadaşlarının Hindistan'da yapılmış iki çalışmada beş ile onaltı yaş arası çocuklarda TSH'nın ortalama değeri 3,17 mIU/L, 97 persentil değeri 7,5 mIU/L ölçüldüğü belirtilmiştir [11-12].

Amerikan Endokrinoloji Derneği ve Amerikan Tiroid Derneği tarafından 2005 yılında TSH seviyelerinin 4,5-5 mIU/L arasında tutulması gerektiği açıklanmıştır [10].

## Epidemiyoloji

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırması'nın (NHANES III; National Health and Nutrition Examination Survey) 1327 adolesan ile yaptığı çalışmada %1,7 SH tespit etmiştir [13]. Genel olarak yayınlarda ise çocuklarda %2 erişkinlerde ise %1-10 arasında tespit edilmiştir [4,13,16]. Hindistan'da Marwaha'nın 39961 çocuk ile yaptığı çalışmada %6,1 SH tespit edilmiştir [12]. Lazar ve ark. retrospektif analizlerinde 6 ay ve 6 yaş arasında TSH değeri 5,5-10 mIU/L olan çocukların oranı %2,9 olarak bulunmuştur [16].

## Etiyoloji

Subklinik hipotiroidinin etiyolojisinin büyük bir kısmını (%50-80) otoimmün tiroidit oluşturmaktadır. Bu olgularda tiroid otoantikörleri yüksektir. Nadiren TSH reseptör antiko-ru varlığı da olabilir. Önemli nedenlerden biri de iyot metabolizması ile ilgili olandır. İyotun hem eksikliği hem de fazla alımı ile tiroid sentezi bozulmakta ve SH'ye yol açmaktadır [17,18]. Aşırı iyot maruziyetine en tipik örneklerden biri yenidoğanların göbek temizliğinde iyot içeren solüsyonların kullanılması sonucunda oluşan subklinik hipotiroididir [19]. Diğer risk faktörleri olarak sigara kullanımı, siyah ırk, çevresel faktörlerden soğuk yerde yaşam da sayılabilir [20-21]. Diğer nedenler Tablo 2'de verilmiştir [3,22,23].

**Tablo 2.** Subklinik hipotiroidi nedenleri

- İyot eksikliği
- Otoimmünite (Hashimoto, Çölyak hastalığı..)
- Obezite
- Genetik nedenler (TSH reseptör mutasyonu,..)
- Sendromlar (Down sendromu, Williams Sendromu,..)
- İlaçlar (amiodaron, lityum, sülfonamidler, antitiroid ilaçlar)
- İnfiltratif hastalıklar (amiloidoz, hemakromatozis, tümör,..)
- Laboratuvar hatası

Dual oksidaz 2 (DUOX2) geninde missense mutasyon, fosfodiesteraz 8B gen mutasyonu, tiroid peroksidaz mutasyonları, TSH yükselmesine neden olarak SH kliniği oluşturabilirler [24-26]. Doğumsal hastalıklarla da birliktelik gösterilmiştir [14]. Down sendromlu hastaların %32'sinde, Williams sendromlu hastaların üçte birinde SH tanımlanmıştır [16,17]. Tip 1 diyabet de tiroid disfonksiyonları için predispozan bir faktördür. Soliman ve ark. Tip 1 diyabetli hastalarda (ortalama yaş 10) %11,2 oranında subklinik hipotiroidi tespit edildiğini belirtmiştir [18].

## Klinik ve semptomatoloji

Olgularda çoğu zaman klinik ve semptom tespit edilmese de bazı olgularda guatr, okul başarısında düşüklük, gelişme geriliği, boy ve kilo persentil kaybı, refrakter demir eksikliği anemisi, kolesterol metabolizmasında bozukluk gibi ciddi bulgular gözlenebilmektedir [1-4]. Çocuklarda negativizm, panik atak, depresyon, dikkat dağınıklığı subklinik hipotiroidinin habercisi olabilir [6,27].

Wu ve ark.'nın yaptığı çalışmada SH'li adölesanlarda kog-

nitif fonksiyonların, subklinik hipertiroidili adölesanlara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir [13]. Subklinik hipotiroidili hastalarda panik atak, depresyon, dikkat dağınıklığı, hafıza bozukluğu gibi nörolojik problemler de tanımlanmıştır. Törel Ergür ve arkadaşlarının yaşları 7 ile 17 yaş arasında değişen 20 SH'li hastada uyguladığı WISC-R testinde, stroop testi skorlarının belirgin düşük olduğu gösterilmiştir ki bu da dikkat eksikliğini destekler niteliktedir [27]. Aijaz ve ark. yaptıkları çalışmada SH'li hastalarda dikkat dağınıklığının, sağlıklı kontrollere göre daha sık olduğunu saptamışlardır [4]. İlginç olarak aynı çalışmada levotiroksin ( LT4 ) tedavisinin nöro-kognitif performans üzerinde belirgin etki yapmadığı savunulmuştur.

## İzlem ve Tedavisi

Çocukluk çağı SH'li olguların tedavisinde halen ortak bir fikir birliği bulunmamaktadır. Tarama testlerinin son zamanlarda yaygınlaşması sonucunda saptanan SH'li olgu sayısı, özellikle genç yaş grubunda belirgin artış göstermiştir [28]. Fakat hastalığın tedavisi için çocuk endokrinologları arasında halen uzlaşma yoktur. Çocukluk çağı SH'nin tedavi edilmediği takdirde aşikar hipotiroidiye gidebilme olasılığı oldukça yüksektir. Özellikle yaşamın ilk yılında tedavi edilmeyen olgularda aşikar hipotiroidi ve bunun sonucunda da büyüme-gelişme geriliği ve nörokognitif disfonksiyon oluşma olasılığı akılda tutulmalıdır. Bu nedenle serbest T4 seviyesinin düşük olup TSH seviyesi 10-20mIU/L arasında olan olguların tedavi edilmesi gerektiği konusunda görüşler yoğunlaşmaktadır [10,29].

Prematürelde gözlenen geçici hipotiroidiseminin tedavisi tartışmalıdır. Ancak düşük T4 düzeyleri ile gelişme geriliği ve serebral palsi arasında bir ilişki de gösterilmiştir [30]. Bir araştırmada 27 haftadan küçük olan prematürelere LT4 verilmesi Bayley zihinsel gelişim skorunun kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmasına yol açmıştır [31].

İtalya'da bir çalışmada subklinik hipotiroidisi olan (guatrı olmayan ve tiroid antikörleri negatif olan) 5ile 15 yaş arası 92 çocuk tedavi verilmeden takip edilmiş. Bu çocuklardan 6 tanesinde ilk 6 ay içinde, 16 tanesinde 6-12 ay içinde, 22 tanesinde 12-24 ay içinde TSH düzeyleri normal seviyeye ulaşmış. Hastalardan 54'ünde TSH seviyesi 5-10 mIU/L arasında kalmış, 11 hastada ise TSH 10mIU/L'nin üstüne çıkış göstermiştir. İzlem esnasından bu hastaların hiçbirinde hipotiroidi semptomları ortaya çıkmamıştır [6].

Moore çalışmasında yaşları 10 ile 18 arası olan 18 hafif-or-

ta derece TSH yüksekliği olan, otoimmün tiroid hastalığının eşlik ettiği (tiroid antikorları pozitif) normal T4'lü, guatrı olmayan çocuğu takip ettiğini belirtmiş. Bu çocuklardan 11 tanesi tedavisiz takip edilmiş. Çocuklardan 7 tanesine ise 5-10 yıl boyunca tedavi verilmiş ve tedavi bitiminden 1 yıl sonra test yapılmış. Bu 7 hastanın TSH'sı normal bulunmuş. Tedavi almayan hastalardan 10'unda hafif TSH yüksekliği devam etmiş, yalnız 1 hastada TSH yüksek, T4 düşük seyretmiştir. Tedavi alan 3 hastada (TSH değerleri 50mIU/L iken) izlemde TSH değeri (3-10mIU/L arası) gerilediğini belirtmiştir [32].

İtalya'da otoimmün tiroid hastalığıyla birlikte subklinik hipotiroidisi olan fakat klinik şikayeti olmayan çocuklarda yapılan çalışmada TSH değeri üst limitin 2 katı ve üstü kadar artmış 55 hastaya tedavi verilmiş. Bu hastaların %29'unda hafif yükseklik devam etmiş, %29 hastada normal sınıra dönmüş, %42 hasta ise normal sınırın 2 katının üstünde devam etmiş. Tedavi ile artan TSH değerinin, aşikar hipotiroidi ile bağlantısı açıklanamamış. Artan tiroid volümü ve antiroid antikorların tiroid fonksiyonlarını bozduğu düşünülmüştür [33].

Başka bir çalışmada subklinik hipotiroidili 30 çocuğa tiroksin tedavisi başlanılmış. Tedavi esnasında tiroksin dozu giderek azaltılmış ve izlenen hastaların 14'ünde TSH 5 mIU/L altına düşmüş, 12 hastada TSH 5-9.9 mIU/L arasında seyretmiş, 4 hastada 10-15mIU/L arasında seyretmiş. Bu 30 hastanın hiçbirinde tedavinin kesiminden sonra TSH yüksekliği başlangıç TSH değerinden daha yüksek olmamış ve hiçbirinde hipotiroidi semptomu gelişmediği belirtilmiş [34].

Sonuç olarak; laboratuvar tetkikleri SH ile uyumlu bir çocuk olguda guatr, büyümede yavaşlama, negativizm, depresyon, ders başarısında düşme, obezite semptomlarının yanı sıra demir tedavisine dirençli anemi, dislipidemi, kemik yaşı geriliği mevcutsa LT4 tedavisi başlanmalıdır [22]. Subklinik hipotiroidi saptanan çocuk olgular 3-6 ay aralarla düzenli izlenmelidir. Tiroksin tedavisi esnasında, özellikle infant ve küçük çocuklar daha sık izlenmeli, izlem sırasında büyüme-gelişme ve kemik yaşı değerlendirilmeli, serbest T3 ve serbest T4 düzeyleri takibi yapılmalıdır [10].

### Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkara dayalı bir ilişkisi yoktur.

### Kaynaklar

1. Bernal J, Guadano-Ferraz A, Morte B. Perspectives in the study of thyroid hormone action on brain development and function. *Thyroid* 2003;13:1005-1012
2. Murphy NC, Diviney MM, Donnelly JC et al. The effect of maternal subclinical hypothyroidism on IQ in 7- to 8-year-old children: A case-control review. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2015;55:459-463
3. D. S. Cooper and B. Biondi. Subclinical thyroid disease. *The Lancet*, 2002;379:1142-1154
4. Aijaz NJ, Flaherty EM, Preston T. Neurocognitive function in children with compensated hypothyroidism: lack of short term effects on or off thyroxin. *BMC Endocr Disord.* 2006;6:2
5. M. Cerbone, C. Bravaccio, D. Capalbo et al. Linear growth and intellectual outcome in children with long-term idiopathic subclinical hypothyroidism. *European Journal of Endocrinology* 2011; 164:591-597
6. Wasniewska M, Salerno M, A. Cassio et al., Prospective evaluation of the natural course of idiopathic subclinical hypothyroidism in childhood and adolescence. *European Journal of Endocrinology*, 2009; 160:417-421
7. M. W. Kuiper and E. J. van der Gaag. Subclinical hypothyroidism in children can normalize after changes in dietary intake. *Food and Nutrition Sciences*, 2012;3:411-416
8. A. Rapa, A. Monzani, S. Moia et al. Subclinical hypothyroidism in children and adolescents: a wide range of clinical, biochemical, and genetic factors involved. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2009;94:2414-2420
9. Beardsall K, Ogilvy-Stuart AL. Congenital hypothyroidism. *Current Paediatrics* 2004;14:422-429.
10. Kaplowitz PB. Subclinical hypothyroidism in children: normal variation or sign of a failing thyroid gland? *Int J Pediatr Endocrinol.* Epub 2010 Jun 13
11. Marwaha RK, Tandon N, Desai AK, Kanwar R, Aggarwal R, Sastry A, et al. Reference range of thyroid hormones in healthy school-age children: Country-wide data from India. *Clin Biochem.* 2010;43:51-56.
12. Marwaha RK, Tandon N, Desai A, Kanwar R, Grewal K, Aggarwal R, et al. Reference range of thyroid hormones in normal Indian school-age children. *Clin Endocrinol(Oxf).* 2008;68:369-374.
13. Wu T, Flowers JW, Tudiver F, Wilson JL, Punyasavatsut N. Subclinical thyroid disorders and cognitive performance among adolescents in the United States. *BMC Pediatr.* 2006; 19;6:12.

14. Hak AE, Pols HA, Visser TJ, Drexhage HA, Hofman A, Witteman JC. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Ann Intern Med* 2000;132:270-278.
15. Gussekloo J, van Exel E, de Craen AJ, Meinders AE, Frolich M, Westendorp RG. Thyroid status, disability and cognitive function, and survival in old age. *JAMA* 2004;292:2591-2599.
16. L. Lazar, R. B. D. Frumkin, E. Battat, Y. Lebenthal, M. Phillip, and J. Meyerovitch, Natural history of thyroid function tests over 5 years in a large pediatric cohort, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2009;94:1678-1682
17. Kim YA, Park YJ. Prevalence and risk factors of subclinical thyroid disease. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2014;20-29.
18. Azam HD, Hayat Z, Fida Z, Khan I. Subclinical hypothyroidism in patients with non specific symptoms. *J Med Sci*. 2010;18:191-193
19. Chee YY, Wong KY, Low L. Review of primary hypothyroidism in very low birthweight infants in a perinatal centre in Hong Kong. *J Paediatr Child Health*. 2011;824-831
20. Cho NH, Choi HS, Kim KW, Kim HL, Lee SY, Choi SH, Lim S, Park YJ, Park do J, Jang HC, Cho BY. Interaction between cigarette smoking and iodine intake and their impact on thyroid function. *Clin Endocrinol* 2010;73:264-70.
21. Choi HS, Park YJ, Kim HK, Choi SH, Lim S, Park DJ, Jang HC, Cho NH, Cho BY. Prevalence of subclinical hypothyroidism in two population based-cohort: Ansong and KLoSHA cohort in Korea. *J Korean Thyroid Assoc* 2010;3:32-40.
22. Shriram M, Sridhar M. Subclinical hypothyroidism in children. *Indian Pediatr*. 2014;51:889-895.
23. Papi G, Uberti ED, Betterle C, Carani C, Pearce EN, Braverman LE, Roti E. Subclinical hypothyroidism. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2007;14:197-208
24. De Marco G, Agretti P, Montanelli, Dicosmo C, Bagattini B, De Servi M, et al. Identification and functional analysis of novel dual oxidase 2 (DUOX2) mutations in children with congenital or subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:1335-1339.
25. Grandone A, Perrone L, Cirillo G, Di Sessa A, Corona AM, Amato A, et al. Impact of phosphodiesterase 8B gene rs4704397 variation on thyroid homeostasis in childhood obesity. *Eur J Endocrinol*. 2012;166:255-260.
26. Turkkahraman D, Alper OM, Aydin F, Yildiz A, Pehlivanoglu S, Luleci G, et al. Final diagnosis in children with subclinical hypothyroidism and mutation analysis of the thyroid peroxidase gene (TPO). *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2009;22:845-851.
27. Ergür A.T, Taner Y, Ata E, Melek E, Bakar E.E, Sancak T. Neurocognitive Functions in Children and Adolescents with Subclinical Hypothyroidism *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2012; 4: 21-24
28. Gawlik A, Such K, Dejner A, Zachurzok A, Antosz A, Malecka-Tendera E. Subclinical hypothyroidism in children and adolescents: is it clinically relevant? *Int J Endocrinol*. 2015 e pub.
29. Papi G, Uberti ED, Betterle C: Subclinical hypothyroidism. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2007;14: 197-208.
30. Suzumura H, Nitta A, Tsuboi Y, Watabe Y, Kuribayashi R, Arisaka O. Thyroxine for transient hypothyroxinemia and cerebral palsy in extremely preterm infants. *Pediatr Int*. 2011;53:463-467
31. Dilli D, Eras Z, Andiran N, Dilmen U, Sakrucu ED. Neurodevelopmental evaluation of very low birth weight infants with transient hypothyroxinemia at corrected age of 18-24 months. *Indian Pediatr*. 2012;49:711-715
32. Moore DC. Natural course of 'subclinical' hypothyroidism in childhood and adolescence. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*. 1996;150:293-297
33. Radetti G, Gottardi E, Bona G, Corrias A, Salardi S, Loche S. The natural history of euthyroid Hashimoto's thyroiditis in children. *Journal of Pediatrics*. 2006;149:827-832.
34. Kaplowitz PB, Mehra R. Outcome of children with presumed hypothyroidism when selectively taken off thyroid hormone. In: *Proceedings of the 91st Annual Meeting of the Endocrine Society*; June 2009; Washington, DC, USA.

Sorumlu Yazar: Ayşegül ALPCAN

Yeşilvadi mah. 391. Sk Güventürk Sitesi, A blok 79/26, Yahşihan, Kırıkkale

İletişim: E-mail: ozcalk@yahoo.com



## Nörobruselloz

### *Neurobrucellosis*

Esra Tanyel

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun

Geliş Tarihi: 12.01.2017

Kabul Tarihi: 09.02.2017

DOI:10.21601/ortadogutipdergisi.285452

### Öz

Brusellosis ülkemizde endemik olarak görülen bir zoonotik hastalıktır ve sıklıkla pastörize olmamış süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile bulaşır. Nörobrusellozis hastalığın ciddi bir komplikasyonudur ve hastalığın herhangi bir safhasında gelişebilir. Nörobrusellozda klinik spektrum santral ve periferik olarak sınıflandırılır. En sık görülen klinik tablolar menenjit, meningoensefalit, myelit ve kranial sinir paralizileridir. Nörobruselloz vakalarında psikiyatrik tablolar (depresyon, amnezi, psikoz ve ajitasyon) rapor edilmiştir. Beyin omurilik sıvısının incelemesinde protein konsantrasyonu artmış, glukoz konsantrasyonu azalmış ve başlıca lenfositlerden oluşan orta derecede lökosit artışı mevcuttur. Brusella türlerinin beyin omurilik sıvısından izolasyonu düşük olduğundan nörobruselloz vakalarına en sık serolojik yöntemlerle tanı konulmaktadır. Tedavide doksisiklin, rifampisin, siprofloksasin, seftriakson ve trimetoprim-sülfametaksazol tercih edilir. Etkili tedavi ile sinir sistemi hasarına bağlı sekel azalır.

**Anahtar kelimeler:** Nörobruselloz, klinik tablolar, tedavi

### Abstract

Brucellosis is an endemic zoonotic disease in our country and it is frequently transmitted to humans by ingestion of unpasteurised milk or milk products. Neurobrucellosis is a serious complication of brucellosis and may develop at any stage of disease. The clinical spectrum of neurobrucellosis classified as central and peripheral. The most frequent clinical presentations are meningitis, meningoencephalitis, myelitis and cranial nerve paralyse. The psychiatric manifestations (depression, amnesia, psychosis and agitation) were reported in neurobrucellosis cases. Examination of the cerebrospinal fluid an elevated protein concentration, a depressed glucose concentration and a moderate leukocytosis compodes mainly of lymphocytes. The isolation rate of Brucella species from cerebrospinal fluid is so low, most of the neurobrucellosis cases were diagnosed by serological methods. Doxycycline, rifampin, ciprofloxacin, ceftriaxone and trimethoprim-sulfamethoxazole preferred in the treatment of neurobrucellosis. Effective treatment reduce the sequelae caused by nervous system damage.

**Keywords:** Neurobrucellosis, clinical presentations, treatment

### Giriş

Bruselloz, ülkemizin de içinde bulunduğu birçok ülkede endemik olarak görülen, farklı organ tutulumları ve komplikasyonlarla seyreden zoonotik bir hastalıktır. Sıklıkla çiğ süt ve ürünlerinin tüketilmesi veya enfekte hayvanla direkt temas ile bulaşmaktadır [1]. Nörobruselloz merkezi veya periferik sinir sistemini tutabilir ve sıklığı %5,6-37,5 arasında değişmektedir [1,4]. Güven ve ark. çalışmalarındaki %37,5'lik yüksek oranı çalışma grubunun şiddetli hastalığı olup hastanede yatırılarak takip edilen hastalar olmasına bağlamışlardır [4]. Beş yüz elli yedi bruselloz hastasının değerlendirildiği bir çalışmada ileri yaş ve uzamış hastalık süresinin santral sinir sistemi hasarı gelişmesinde önemli risk faktörü olduğu belirtilmiştir [5]. Nörobruselloz hastaları sıklıkla baş ağrısı, ateş, terleme ve bulantı, kusma yakınma-

ları ile kliniklere başvurmaktadır [3,4,6,7]. Bu hastaların fizik bakısında ense sertliği, Kernig gibi meningeal iritasyon bulguları her zaman görülmemekle birlikte kranial sinir tutulumu, bilinç bulanıklığı, motor defisit, ekstremitelerde güçsüzlük, dizartri, papil ödemi, konfüzyon ve konvülsiyon gibi muayene bulgularına rastlanabilir [6,8].

Nörobruselloz, hastalığın akut fazında mikroorganizmanın sinir dokusuna direkt etkisi ile veya konak dokuda yarattığı inflamatuvar veya immünolojik reaksiyonlara bağlı olarak gelişmektedir [9-11]. Yapılan bir çalışmada nörobruselloz hastalarında, bruselloz olup nörolojik tutulum olmayanlara göre plazma IL-6 seviyelerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca artan IL-6 düzeyi ile depresyon arasında pozitif korelasyon olduğu belirtilmiştir [10].

Hastalık; menenjit, meningoensefalit, miyelit, ensefalit, kraniyal sinir tutulumu, polinöropati/radikulopati, beyin apsesi gibi farklı nörolojik tablolarla seyretmektedir [2,7,8]. Gül ve ark. [6] 187 nörobruselloz hastasını irdeledikleri çalışmalarında en sık komplikasyon olarak kraniyal sinir tutulumu gördüklerini belirtirken, Karsen ve ark. [3] menenjit, Abdolbagi ve ark. [7] meningoensefalit ve menenjit, Demiroğlu ve ark. [8] subakut/kronik menenjit, Buzgan ve ark. da [1] ensefalitin en sık gördükleri nörolojik tablolar olduğunu belirtmişlerdir. Menenjit akut, subakut veya kronik olabilir. Ancak menenjit tespit edilen hastaların <math>< 50\%</math>’da meningeal iritasyon bulguları tespit edilebilir. Yetkin ve ark. 20 nörobruselloz hastasını irdeledikleri çalışmalarında hastaların %27,3’ünde ense sertliği ve diğer meningeal iritasyon bulgularının olduğunu, nörobruselloz düşünülen hastalarda beyin-omurilik sıvısı (BOS) incelemesinin fizik muayene bulgularından daha anlamlı olduğunu belirtmişlerdir [12].

Kraniyal sinirlerden sıklıkla 8, 2, 6 ve 7. sinir etkilenmektedir. Bununla birlikte birkaç kraniyal sinirin aynı anda tutulumu da olabilir [13]. Güven ve ark. nörobruselloz hastalarında en sık 8. kraniyal sinir tutulumu [4], Gül ve ark. da en sık 6. ve 8. kraniyal sinir tutulumu gördüklerini belirtmişlerdir [6,8]. Altıncı kraniyal sinir intrakraniyal yerleşimli en uzun sinir olduğundan sıklıkla etkilenmekte ve horizontal şaşılığa yol açmaktadır. Sekizinci kraniyal sinir tutulumuna bağlı olarak ta işitme kaybı sıklıkla gelişmektedir [6]. Işıkyay ve ark. dokuz yaşında bir çocukta okulomotor sinir paralizisi bildirmişlerdir [13].

Nörobruselloz seyrinde depresyon, amnezi, psikoz, ajitasyon, kişilik değişikliği ve öfori gibi psikiyatrik tablolar görülebilir [4,14]. Shehata ve ark. [10] nörobruselloz hastalarında kognitif fonksiyonlarda azalma, oryantasyon, hafıza ve dikkat bozukluğu, Eren ve ark. [15] sinirlilik, ajitasyon, iritabilite ve orta dereceli depresyon tespit etmişlerdir. Erdem ve ark. 215 nörobruselloz hastasını irdeledikleri çalışmalarında ise hastaların dörtte birinin depresyon tanısı aldığını belirtilmiştir [16].

Nörobrusellozda kanama, tromboz veya transiyel iskemik atak gibi serebrovasküler hastalıklar gelişebilir. Bu tablo mikotik anevrizmaların rüptürü veya damarlarda gelişen inflamatuvar etkiye bağlı olabilir [6]. Periferik nöropati ve radikulopati geliştiğinde proksimal sinir dallarının tutulumuna bağlı olarak sırt ağrısı, arefleksi veya flask paraparezi gelişmektedir [7,11].

## Tanı

Nörolojik semptom ve bulguların varlığında yapılan lomber ponksiyonda BOS’da lenfosit hakimiyetinin ön planda olduğu hücre ve protein artışı ile birlikte glukoz seviyesinde hafif azalma vardır. BOS’da brusella türlerinin izolasyonu ve/veya anti-brusella antikorlarının gösterilmesi ile kesin tanı konulabilir. Tanıda altın standart etkenin kültürde üretilmesidir. *Brucella* spp. kan, kemik iliği, BOS ve steril vücut sıvılarından alınan örneklerde ürer. Kan kültüründe

üreme oranı hastalığın evresi ve önceden antibiyotik kullanımına bağlı olarak değişken olmakla birlikte ülkemizden yapılan çalışmalarda bu oran %12-70 olarak bildirilmiştir [17]. Hastalık retikuloendotelial sistemin hastalığı olduğundan kemik iliği kültürlerinde etkenin izolasyon oranları kan kültürlerine göre %15-20 daha fazladır [18]. Nörobruselloz hastalarının BOS kültüründe etkenin üreme oranı %14-28,8 arasında değişmektedir [3,4,6,16]. Bodur ve ark. 13 nörobruselloz hastasını irdeledikleri çalışmalarında 12 hastanın BOS aglütinasyon testinin pozitif olduğu, sadece üçünün BOS kültüründe üreme olduğunu bildirmişlerdir [19]. Abdolbagi ve ark. ise 16 nörobruselloz hastasından 14’ünün BOS aglütinasyon testinin pozitif olduğunu ve üçünün BOS kültüründe etkenin üredigini bildirmişler [9].

Kültürde üremenin zaman alması, hastalığın evresine bağlı olarak kültür sonuçlarının negatif olması ve etkenin inhalasyon yoluyla laboratuvar çalışanına bulaşabilmesi nedeniyle tanıda sıklıkla serolojik testler kullanılmaktadır. Serum tüp aglütinasyon testi (STAT) tanıda en sık kullanılan yöntemdir. Uygun klinik bulgular varlığında kanda  $STAT \geq 1/160$  olması brusellozu gösterir. Serolojik testler aynı zamanda tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde de kullanılır. Uygun tedavi ile antikor titreleri zamanla düşer ancak anlamlı yüksek titreler uzun süre devam edebilir [17,18]. Bununla birlikte BOS’da antikor seviyeleri düşük olduğundan tüp aglütinasyon testindeki en düşük titre bile pozitif sayılır [4]. Hasta serumunda veya BOS’da oluşan antikorları saptamak için kullanılan diğer bir yöntem de ELİSA’dır. IgM ve IgG ayırımını yapabildiği, aynı anda fazla örnek çalışılması bu yöntemin avantajıdır. ELİSA özellikle kronik ve nörobruselloz hastalarında STAT’dan daha duyarlı bulunmuştur [20,21]. Araj ve ark. nörobruselloz hastalarında BOS’da ELİSA ile antikor tayininin hızlı, güvenilir, sensitif ve spesifik bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir [22]. Ancak CDC (Centers for Disease Control and Prevention) tanıda ELİSA’dan ziyade aglütinasyon temelli testlerin kullanımını önermektedir.

Kan, vücut sıvıları ve dokulardan alınan örneklerde *Brucella* spp. saptanmasında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılabilir. Özellikle hastalığın başlangıç aşamasında serolojik testlerin negatif olduğu dönemde pozitif sonuç verebilir [23].

Radyoloji: Nörobrusellozda radyolojik olarak görülebilecek değişiklikler; inflamatuvar lezyonlar, beyaz cevherde sinyal değişiklikleri, hidrosefali/beyin ödemi veya iskemik vasküler lezyonlardır [24,25]. Erdem ve ark. çalışmalarında nörobrusellozlu hastaların %45’inde anormal radyolojik bulgular geliştiği belirtilmiştir. Parankimdeki lezyonları, kraniyal sinirleri ve spinal kök tutulumunu iyi gösterdiği için tanıda kontrastlı beyin ve vertebra MR en iyi radyolojik yöntemdir [25].

## Tedavi

Brusellozda direnç gelişimi, etkenin intrasellüler yerleşimli olması ve relaps gelişme riski nedeniyle monoterapi önerilmez. Nörobrusellozun tedavisinde ise BOS’a geçebilecek

ve bakterisidal etkili antibiyotikler ikili veya üçlü kombinasyonlarda verilmelidir. Tedavide kullanılacak ilaçlar, doksisisiklin, rifampisin, trimetoprim-sülfametoksazol, siprofloksasin ve seftriaksondur [6,8]. Beta-laktam antibiyotik olan seftriakson *Brucella spp.*'ye etkili ve BOS'a geçişinin iyi olması nedeniyle nörobrusellozun başlangıç tedavisinde oral antibiyotiklerle kombine olarak önerilir. Erdem ve ark. çalışmalarında seftriakson temelli rejimlerin oral tedavilere göre önemli oranda başarılı sonuç verdiğini belirtmişlerdir [16]. Tedavi devamına veya sonlandırılmasına karar verirken hastanın klinik durumunda ve BOS tetkiklerinde düzelme olması gerekir [26]. Tedavi süresi en az altı hafta olmakla birlikte 12 aya kadar uzayabilir [5,6,8].

Steroidlerin tedavideki yeri konusunda kesin görüş birliği olmasa da hastalığın şiddetli formlarında (araknoidit, kraniyal sinir tutulumu, miyelopati, intrakraniyal basınç artımı, optik nörit, poliradikülönöropati ve papil ödeminde) önerilmektedir [2,11]. Nörobruselloz medikal tedaviye iyi yanıt verir, mortalitesi düşük (%0-5,5) olmakla birlikte kalıcı nörolojik sekel oranı yüksektir [6,7].

Sonuç olarak, nörobruselloz farklı klinik tablolarla karşımıza çıkabileceğinden kraniyal sinir tutulumları ve nöropsikiyatrik yakınmalarla başvuran hastalarda brusellozdan şüphelenilmediği takdirde tanı ve tedavi gecikebilir. Özellikle endemik bölgelerde açıklanamayan nörolojik tabloların varlığında bruselloza yönelik incelemeler de yapılmalı, tanıda BOS bulguları ile birlikte kültür ve/veya serolojik testler birlikte kullanılmalı, tedavide BOS'a yüksek oranda geçen ve bakterisidal etkili antibiyotikler kombine edilmelidir.

### Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkarı dayalı bir ilişkisi yoktur.

### Kaynaklar

1. Karsen H, Tekin Koruk S, Duygu F, Yapıcı K, Kati M. Review of 17 cases of neurobrucellosis: clinical manifestations, diagnosis, and management. *Arch Iran Med* 2012;15 (8):491-94.
2. Guven T, Ugurlu K, Ergonul O et al. Neurobrucellosis: clinical and diagnostic features. *Clin Infect Dis* 2013;56 (10):1407-12.
3. Zhao S, Cheng Y, Liao Y, Zhang Z, Yin X, Shi S. Treatment efficacy and risk factors of neurobrucellosis. *Med Sci Mon* 2016; 22:1005-12.
4. Gul HC, Erdem H, Bek S. Overview of neurobrucellosis: a pooled analysis of 187 cases. *Int J Infect Dis* 2009;13:339-43.
5. Tarfarosh S, Manzoor M. Neurological manifestations of brucellosis in an Indian population. *Cureus* 2016;8(7):1-7.
6. Demiroğlu YZ, Turunç T, Karaca S et al. Bruselloza sinir sistemi tutulumu; klinik sınıflama, tedavi ve sonuçlar. *Mikrobiyol Bul* 2011;45(3):401-10.
7. Abdolbagi MH, Rasooli-Nejad M, Jafari S, Hasibi M, Soudbakhsh A. Clinical and laboratory findings in neurobrucellosis: review of 31 cases. *Arch Iran Med* 2008;11: 21-5.
8. Shehata GA, Abdel-Baky L, Rashed H, Elamin H. Neuropsychiatric evaluation of patients with brucellosis. *J Neurovir* 2010;16:48-55.
9. Shakir RA. Neurobrucellosis. *Postgrad Med* 1986;62:1077-79.
10. Yetkin MA, Bulut C, Erdiç FS, Oral B, Tulek N. Evaluation of the clinical presentations in neurobrucellosis. *Int J Infect Dis* 2006; 10: 446-52.
11. Işııkay S, Olmez A. Neurobrucellosis developing unilateral oculomotor nerve paralysis. *Am J Emerg Med* 2012; 30: 5-7.
12. Kuru AS, Metan G, Aygen B, Sümerkan B. Relaps ile seyreden bir nörobruselloz olgusu ve kısa literatür derlemesi. *Erciyes Tıp Derg* 2009;31:66-69.
13. Eren S, Bayam G, Ergönül Ö et al. Cognitive and emotional changes in neurobrucellosis. *J Infect* 2006; 53:184-9.
14. Erdem H, Ulu-Kilic A, Kilic S et al. Efficacy and tolerability of antibiotic combinations in neurobrucellosis: results of the Istanbul Study. *Antimicrob Agents Chemother* 2011:1523-28.
15. Yüce A, Alp-Çavuş S. Türkiye'de bruselloz: genel bakış. *Klinik Derg* 2006;3:87-97.
16. Dağlar DE, Baysan BÖ. İnsanda brusella enfeksiyonlarının tanısında kullanılan tanı yöntemleri. *İnönü Üniv Sağlık Bil Derg* 2014;3 (2):46-8.
17. Bodur H, Erbay a, Akinci E, Colpan A, Cevik MA, Balaban N. Neurobrucellosis in an endemic area of brucellosis. *Scand J Infect Dis* 2003;35:94-7.
18. Balcı M, Kader Ç, Yılmaz N, Uyar M, Erdoğan Y. Endemik bölgelerde bruselloz tanısında serolojik testlerin kombinasyonu. *Kafkas J Med Sci* 2014;4(1):19-22.
19. Araj GF, Lulu AR, Khateeb MI, Saadah MA, Shakir RA. ELISA versus routine tests in the diagnosis of patients with systemic and neurobrucellosis. *APMIS* 1988;96(2):171-6.
20. Araj GF, Lulu AR, Saadah MA, Mousa AM, Strannegard IL, Shakir RA. Rapid diagnosis of central nervous system brucellosis by ELISA. *J Neuroimmunol* 1986;12:73-82.
21. Dizer U, Beker CM, Çiçek H, Güner ÖR, Zeren İ, Pahsa A. Bruselloz tanı yöntemlerinin etkinliğinin araştırılması. *Uludağ Üniv Tıp Fak Derg* 2005;31(2):87-93.
22. Al-Sous MW, Bohlega S, Al-Kawi MZ, Alwatban J, Mclean DR. Neurobrucellosis: clinical and neuroimaging correlation. *Am J Neuroradiol* 2004; 25:395-401.
23. Erdem H, Senbayrak S, Meriç K et al. Cranial imaging findings in neurobrucellosis: results of Istanbul-3 study. *Infection* 2016, DOI 10.1007/s15010-016-0901-3
24. Gul HC, Erdem H, Gorenek L et al. Management of neurobrucellosis: an assessment of 11 cases. *Inter Med* 2008;47:995-1001.

Sorumlu Yazar: Esra Tanyel,

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

Tel: +90 5062488521,

E-posta: estanyel@yahoo.com.tr

## Yaygın makülopapüler döküntü ile seyreden bir bruselloz olgusu

### *A case of brucellosis presenting with diffuse maculopapular rash*

Serkan Tursun<sup>1</sup>, Mehmet Ali Taş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Özel Batman Yaşam Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü, Batman

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları BD, Diyarbakır

Geliş Tarihi: 18.03.2016

Kabul Tarihi: 22.3.2016

DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.293114

### Öz

Bruselloz, tüm dünyada yaygın zoonotik bir hastalıktır ve ülkemizde de birçok bölgede endemik olarak görülmektedir. Klinik seyri sırasında sık olarak retiküloendotelyal sistem organlarının tutulumu gözlenen hastalığın başlıca semptom ve bulguları yüksek ateş, kas-eklem ağrıları, halsizlik, iştahsızlık ve yorgunluktur. Cilt tutulumu nadir görülen bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle bu yazıda ateş yüksekliği ve tüm vücutta yaygın makülopapüler döküntü ile başvuran 12 yaşında bir erkek hasta sunulmuştur.

**Anahtar sözcükler:** Bruselloz, makülopapüler döküntü

### Abstract

Brucellosis is zoonotic diseases in all over the world and also seen endemic in many areas of our country. Involvement of reticuloendothelial system is seen frequently during the clinical course. The most common symptoms and signs are fever, joint pain, myalgia, back pain, anorexia and fatigue. Skin involvement is rarely seen. Thus in this paper we report a 12-year-old boy presenting with fever and diffuse maculopapular rash.

**Keywords:** Brucellosis, maculopapular rash

### Giriş

Bruselloz, ülkemizde birçok bölgede endemik olarak görülen tüm dünyada yaygın bir zoonotik hastalıktır. Esas olarak hayvanlarda hastalık yapan brusella türlerinin insanlara bulaşı enfekte canlı veya ölü hayvanlarla direk temas, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi, enfekte aerosollerin inhalasyonu ve konjunktivaya inokülasyon ile gerçekleşir [1-3]. Hastalığa sebep olan brusella türleri küçük, hareketsiz, Gram negatif kokobasillerdir [1]. Klinik seyri sırasında sık olarak retiküloendotelyal sistem organlarının tutulumu gözlenen hastalığın başlıca semptom ve bulguları yüksek ateş, kas-eklem ağrıları, halsizlik, iştahsızlık ve yorgunluktur [1,2]. Cilt tutulumu nadir görülen bir bulgu olmakla beraber brusellozun birçok hastalığı taklit edebileceği akılda tutulmalıdır. Hastalık seyri sırasında hematolojik, kardiyopulmoner, genitoüriner ve santral sinir sistemi gibi tutulumları görülebilmekte ve bunların sonucunda ciddi morbidite olabilmektedir. Zamanında

ve etkin tedavi edilmemesi kronikleşme, birçok sistemi ilgilendirebilecek komplikasyonlar ve rölapslara neden olabilmektedir [1-3]. Bu nedenle erken tanı ve tedavi komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir. Brusellozda yaklaşık vakaların %5 kadarında döküntü, papül, ülser, abse, eritema nodosum, peteşi, purpura ve vaskülit gibi cilt lezyonları görülebilmektedir [1-5]. Brusellozda her ne kadar cilt bulguları nadir olarak görülse de erken tanı ve tedavi ile, gelişebilecek ciddi morbiditelerin önlenmesi açısından dolayı özellikle ülkemizde ateş yüksekliği ve döküntülü hastaya yaklaşıırken bruselloz da olabileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle bu yazıda ateş yüksekliği ve tüm vücutta yaygın makülopapüler döküntü ile başvuran 12 yaşında bir erkek hasta sunulmuştur.

### Olgu Sunumu

Daha öncesinde bilinen herhangi bir hastalığı bulunmayan, yaklaşık 10 gündür nazofarenjit tanısıyla ayakta tedavi aldığı öğrenilen, 12 yaşında erkek hasta yüksek





rının sayısı sağlıklı bir oran verebilmek için yeterli görülmemektedir. Bu oranı Karacadağ-Öncel ve ark. 24 olgu ile yaptıkları bir çalışmada %6,6 [5]; Ayaz ve ark. ise 59 olgu ile yaptıkları bir çalışmada %3 olarak bildirmişlerdir [5]. Akçalı ve ark. tarafından yapılan prospektif bir çalışmada St. Wright aglütinasyon testi 1/160'ın üzerinde olan 104 bruselloz olgusunda %5,71 oranında cilt tutulumu saptanmıştır [3]. Bruselloz endemik bölgelerde ciddi morbiditeye neden olabileceğinden erken tanı ve tedavi komplikasyonların önlenmesi açısından önemli olmakla birlikte hastalığın çoğu zaman ateş yüksekliği, eklem ağrısı, kas ağrısı, sırt ağrısı, halsizlik, iştahsızlık ve yorgunluk gibi özgün olmayan belirtiler ile seyretmesi tanı konulmasını geciktirmektedir.

Sonuç olarak; yüksek ateş ve döküntü ile başvuran hastalarda bruselloz ilk akla gelen hastalıklardan biri değildir. Ancak brusellozun birçok hastalığı taklit edebileceği akılda tutulmalı ve ülkemiz gibi hastalığın endemik olduğu bölgelerde ateşin eşlik ettiği her durumda bruselloz akla getirilmelidir.

### Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkara dayalı bir ilişkisi yoktur.

### Kaynaklar

1. Young EJ. Brucella species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005:2669-72.
2. Yüce A, Çavuş SA. Türkiye'de Bruselloz: Genel Bakış. Klimik Derg 2006;19:87-97.
3. Akcalı C, Savas L, Baba M, Turunc T, Seckin D. Cutaneous manifestations in brucellosis: a prospective study, Adv Ther 2007;24(4):706-11.

4. American Academy of Pediatrics. Brucellosis. In: Pickering LK, editörs. 2009 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 28th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics 2009:237-9.
5. Ayaz C, Hoşoğlu S, Arıtürk S. Akut bruselloz tedavisinde streptomisin-tetrasiklin ile rifampisin-doksisisiklin kombinasyonlarının karşılaştırılması. İnfeks Derg 1992;4:279.
6. Eda Karacadağ-Öncel, Yasemin Özsürekcı, Ali Bülent Cengiz, Ateş Kara, Mehmet Ceyhan, Melda Çelik, Ashnur Özkaya-Parlakay. Çocukluk çağında bruselloz: Hacettepe Üniversitesi deneyimi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2011;54:135-41.
7. Milionis H, Christou L, Elisaf M. Cutaneous manifestations in brucellosis: case report and review of the literature, Infection 2000;28(2):124-6.
8. Ayasloğlu E, Koçak M, Bozdoğan O. A case of brucellosis presenting with widespread maculopapular rash, Am J Dermatopathol 2009;31(7):687-90.
9. Hüseyin Aytaç Erdem, Meltem Taşbakan, Hüsnü Pullukçu, Oğuz Reşit Sipahi, Esra Erdem Kıvrak, Tansu Yalmazhan: Yaygın makulopapüler döküntü ile setreden bir bruselloz olgusu. ANKEM Derg 2014;28(3):110-3.
10. Solmaz Çelebi, Mustafa Hacıosmanoğlu, Fatih Demirtaş,, Enes Salı, Ülkü Gül, Mustafa Özel. Çocukluk Çağında Bruselloz. J pediatr Inf 2011;5: 59-62.

Sorumlu Yazar: Serkan Tursun

Adres: Ayvalı Mah. Gazze Cad. No 27, Antares Konutları F Blok

Daire 26, Etlik-Ankara/Türkiye

E-posta: drtursun@hotmail.com,

Fax: 0312 3170353

## İmmünkompromize bir hastada pnömokok menenjit

### *Pneumococcal meningitis in an immunocompromised patient*

Fatih Temoçin<sup>1</sup>, Necla Eren Tülek<sup>2</sup>, Ebru Aktepe<sup>2</sup>, Fatma Şebnem Erdoğdu<sup>2</sup>, Günay Tuncer Ertem<sup>2</sup>, Meryem Demirelli<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Yozgat Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği-Yozgat

<sup>2</sup>Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği-Ankara

<sup>3</sup>Zonguldak Atatürk Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği-Zonguldak

Geliş Tarihi: 29.12.2015

Kabul Tarihi: 05.07.2016

DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.293205

### Öz

Erişkinlerde bakteriyel menenjitin en sık nedeni, Meningokok enfeksiyonuna bağlı salgınlar hariç, *S. pneumoniae*'dir. *S. pneumoniae*'ye bağlı menenjitler, sinüzit veya otit odağından direkt yayılım veya bakteriyemiye bağlı olarak gelişir. Burada, immünkompromize bir hastada, otitis media zemininden gelişen 67 yaşında erkek hastada pnömokok menenjit sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** İmmünkompromize, menenjit, *S. pneumoniae*

### Abstract

Except during an epidemic of meningococcal infection, *S. pneumoniae* is the most common cause of bacterial meningitis in adults. Meningitis may result from direct extension from the sinuses or middle ear or from bacteremia. We report here pneumococcal meningitis in a 57 years old male patient with otitis media in immunocompromised patient.

**Keywords:** Immunocompromised, meningitis, *S. pneumoniae*

### Giriş

Menenjit, beyni çevreleyen meningeal zarların ve spinal kordun inflamasyonudur. Sıklıklar bakterilerle oluşmakla birlikte, virus ve mantarlar gibi pek çok mikroorganizma da menenjite yol açabilir [1]. Bakteriyel menenjitlerin %80-85'inden *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae* sorumludur. *Streptococcus pneumoniae* ise bakteriyel menenjitlerin en sık saptanan etkenidir [2,3]. Bu hastalarda genellikle başka bir odakta pnömokok enfeksiyonu vardır (örneğin: pnömoni, otitis media, mastoidit, sinüzit veya endokardit). Splenektomi, multiplmiyelom, hipogamaglobulinemi, alkolizm, malnütrisyon, kronik karaciğer veya böbrek hastalığı, malignensi veya diabetes mellitus gibi durumlarda pnömokok enfeksiyonu riski artar. Buna paralel olarak yaşlılık pnömokok menenjit gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Bakteriyel menenjitli olgularda, yeni gelişen tanı yöntemleri ve tedavi seçeneklerine rağmen, mortalite oranı oldukça yüksektir [4].

Yazımızda otitis media zemininden gelişen, immün baskılanmış hastada kötü prognozla seyreden bir pnömokok menenjit olgusu sunulmuştur.

### Olgu

Altmış yedi yaşında erkek hasta yaklaşık üç gündür olan kulak ağrısı, akıntısı ve baş dönmesi şikâyeti ile hastaneye başvurmuş. Hastaya otit tanısı ile tedavi planlanarak evine yönlendirilmiş. Şikâyetlerinde gerileme olmaması ve bilinç bulanıklığı gelişmesi üzerine tekrar hastaneye başvurmuş. Yapılan tetkiklerinde kan beyaz küresi: 23100/mm<sup>3</sup>, CRP:38 mg/dL (0-0,5 mg/dL) saptanmış. Santral sinir sistemi enfeksiyonu ön tanısı ile lomber ponksiyon yapılmış. BOS mikroskobisinde bol lökosit ve bol eritrosit saptanmış. BOS biyokimyasında protein: 152 mg/dL (15-45 mg/dL), glukoz: 36 mg/dL (Eş zamanlı kan glukozu:105 mg/dL) saptanmış. BOS gram boyamasında gram pozitif diplokoklar görülmüş. Hastaya meropenem 3x2 gr ve vankomisin 4x500 mg tedavisi başlanmıştır. BOS kültüründe *S. pneumoniae* üremiş ve penisilin duyarlı saptanmıştır. Genel durumunun kötüleşmesi üzerine tedavisinin 2. gününde hastanemize sevk edilen hasta kliniğimize yatırıldı. Etken penisilin duyarlı olmasına rağmen otit zemininden gelişmesi ve hastanın genel durumu göz



önüne alınarak başlanan tedaviye devam edildi. Hastanın özgeçmişinde multiplemyelom tanısı olduğu ve 2 yıl önce kemik iliği nakli yapıldığı öğrenildi. Pnömonokok aşısının yapılmadığı öğrenildi. Hastanın kliniğimize yatışı sırasında ateşi: 39,3°, solunum sayısı: 35/dakika, kan basıncı: 110/70 mmHg saptandı. Genel durumu kötü ve sözel ve ağrılı uyaranlara yanıtı olmayan hastanın acil beyin MRG çekildi. Görüntüleme apse saptanmayan olguda ventriküler hemoraji saptandı. Entübasyon ihtiyacı gelişmesi üzerine anestezi yoğun bakıma alınan hasta exitus oldu.

### Tartışma

Pnömonokokal hastalıklar yaşla birlikte görülme sıklığı ve mortalitesi ciddi oranlarda artan önemli bir enfeksiyon grubudur. Özellikle ileri yaş ve immün sistemi baskılanmış hastalarda orta kulak enfeksiyonu, sinüzit, pürülan bronşit, bakteriyel menenjit ve sepsis en önemli pnömonokokal hastalıklardır [5]. Splenektomi, multiplmiyelom, hipogamaglobulinemi, alkolizm, malnütrisyon, kronik karaciğer hastalığı ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı kapsüllü bakteri enfeksiyonlarının sık görüldüğü gruptur. Özellikle bu grup hastalarda, pnömonokokal hastalıkların sıklığı ve şiddeti artış göstermekte ve ciddi bir morbidite ve mortalite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır.

Pnömonokokal hastalıklar içerisinde menenjitler, önemli yer tutmaktadır. Pnömonokoklar bakteriyel menenjit etkenleri içerisinde ilk sırada yer almaktadır [2,3]. Yeni tanı yöntemleri ve uygun tedaviye rağmen pnömonokok menenjitinin mortalitesi %15-30 arasında değişmektedir ve hastalarda genellikle de altta yatan bir nedene bağlı olarak gelişir [6]. İleri yaş ve immün sistemin baskılandığı durumlarda mortalite daha da artmaktadır. Son zamanlarda pnömonokoklarda artan penisilin direnci akılda tutulmalı ve etken izole edilebildi ise penisilin MİK değeri mutlaka çalışılmalıdır. Pnömonokok enfeksiyonlarını önlemeye yönelik, polisakarit kapsülden köken alan 23 valanlı aşı ve son yıllarda onay alan 13 valanlı konjuge aşı bulunmaktadır. Her ne kadar erişkinlerde koruyuculuğu ile ilgili veriler çok yeterli olmasa da, çocuklardaki invaziv pnömonokok enfeksiyonlarında belirgin azalma nedeniyle, bu aşılardan belli risk gruplarına yapılması önerilmektedir. İmmün sistemi baskılanmış kişiler için her iki aşının da belli aralıklarla yapılması tercih edilmektedir [7]. Olgumuzun otitis media

öyküsünün olması, pnömonokok için olası kaynak olarak düşünülmüştür. İleri yaş ve multiplemyelom gibi önemli bir risk faktörü barındırması mevcut tablo için zemin hazırlamış olabilir. Risk faktörü taşıyan bireylerin aşılması bu açıdan büyük önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, sunduğumuz olguda olduğu gibi pnömonokokal enfeksiyon açısından risk taşıyan bireylerin aşılması bu kişilerde daha sonra gelişebilecek menenjit gibi ağır seyirli enfeksiyonlara karşı koruyucu olabilir.

### Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkarı dayalı bir ilişkisi yoktur.

### Kaynaklar

1. Kanra G, Ceyhan M, Kara A. Menenjit I etiopatogenez. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2003; 46: 57-66.
2. Hussein AS, Shafran SD. Acutebacterialmeningitis: a 12 yearreview. Medicine 2000; 79: 360-8.
3. Tülek N, Tanyel E. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonlarına Genel Bakış. Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M. (editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 1375-90.
4. Tunkel Allan R. Approachtothepatientswithcentralnervoussysteminfection. In: Mandel LG, Bennett JE, Dolin R (eds). PrinciplesandPractices of InfectiousDiseases. Philadelphia, sixthedition. Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 1079-83.
5. Levinson W. Gram Pozitif Koklar. Özgünen T. (Çeviri Editörü). Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2008: 106-18.
6. Gerald L. Mandell, John E. Bennett, and Raphael Dolin. In: Mandell, Douglas, andBennett'sPrinciplesandPractice of InfectiousDiseases , Seventh Edition, 2010, 1189-1229.
7. Use of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine and 23-Valent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine for Adults with Immunocompromising Conditions: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices.MMWR; October 12, 2012 / 61(40);816-819

Sorumlu Yazar: Fatih Temoçin

Adres: Yozgat Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Yozgat

E-posta: ftemucin@yahoo.com.tr



## Orofaringeal tularemi olgusu

### *A case of oropharyngeal tularemia*

Çiğdem Ataman Hatipoğlu, Taliha Karakök, Salih Cesur, Cemal Bulut, Nesrin Ata, Esra Kaya Kılıç, Sami Kınıklı, Ali Pekcan Demiröz

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

Geliş Tarihi: 07.01.2016

Kabul Tarihi: 25.03.2016

DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.293310

### Öz

Tularemi ülkemizde endemik olarak görülen zoonotik enfeksiyonlar içerisinde yer almaktadır.

Tüm dünyada en sık görülen tularemi formu ülseroglandüler form olmasına rağmen Türkiye’de en sık görülen formu orofaringeal form tularemidir. Orofaringeal form tularemi kontamine su veya gıdaların ağız yoluyla alınmasıyla bulaşır, su kaynaklı salgınlara neden olabilir.

Bu yazıda beş gün önce kırsal alana gitme öyküsü olan, ancak kaynak suyu içme, vahşi hayvan teması, kemirgen tarafından ısırılma öyküsü olmayan bir orofaringeal tularemi olgusu sunuldu. Hastanın tanısı mikroaglutinasyon testinde 1/320 titrede pozitiflik saptanması ile konuldu. Daha önceden beta-laktam antibiyotik tedavisi alan ancak servikal bölgedeki lenfadenopatisi gerilemeyen olgunun moksifloksasin tedavisi sırasında lenfadenopatisi fistülize olarak spontan drene oldu, ondört gün tedavi sonrası lezyonu geriledi.

**Anahtar Kelimeler:** Tularemi, orofaringeal form, tedavi, spontan drenaj

### Abstract

Tularemia is one of the endemic zoonotic infections seen in Turkey. Although the ulceroglandular form of the disease is the most common form in the world, oropharyngeal tularemia is the most common form in our country. Oropharyngeal tularemia can be acquired by ingesting contaminated water or food and can cause outbreaks.

In this paper, a tularemia case who had a history of being at a rural region five days ago was presented. He hadn't history of bite or contact with wild animals or ingestion of spring water. Diagnosis was made by positivity in microagglutination test with a titer of 1/320. He was given beta-lactam antibiotics prior to the admission but his cervical lymphadenopathy hadn't regressed. During the moxifloxacin therapy cervical lymphadenopathy was fistulated spontaneously and then regressed after 14 days therapy.

**Keywords:** Tularemia, oropharyngeal form, treatment, spontan drainage

### Giriş

Tularemi, etkeni *Francisella tularensis* (F. Tularensis) olan ve bakterinin bulaş şekline göre farklı klinik formlarla görülebilen zoonotik bir enfeksiyondur. Tularemi, enfekte kene ve sinek gibi vektörlerin ısırmasıyla, enfekte kemiricilerle, vahşi hayvanın kendisiyle veya çıkartılarıyla temas ile ya da bu çıkartılarla kontamine olmuş sularla insanlara bulaşır. Hastalık ülkemizde sporadik görülebildiği gibi bazı bölgelerde endemik olarak görülebilmekte ve salgın-

lara neden olabilmektedir. F. tularensis bakterisi ile kontamine olmuş besinlerin ve suyun tüketimi özellikle tularemi epidemilerinde görülen temel bulaş yollarından biridir. Bir diğer bulaş şekli, kontamine aerosollerin inhalasyonu ve infekte hayvanların iyi pişmemiş etlerinin yenmesidir. İnsandan insana bulaşma bildirilmemiştir [1-4].

Burada ülkemizde tulareminin en sık görülen formu olan orofaringeal tularemili bir hasta sunularak literatür gözden geçirilmiştir.

## Olgu

Bir ay önce boğaz ağrısı şikayeti nedeni ile amoksisilin-klavulonat tedavisi verilen 59 yaşında erkek hasta, boyun sol tarafında şişlik oluşmaya başlaması üzerine tekrar doktora başvurmuş. Lezyondan biyopsi yapılmış ve klindamisin reçete edilmiş. Bu tedaviye rağmen boyundaki ağrı ve şişlik artmaya devam etmiş. Biyopsi sonucu apse ile uyumlu olarak raporlanmış. Hasta verilen tedavilerden fayda görmemesi üzerine hastanemiz polikliniğine başvurdu.

Hastanın boğaz ağrısı ve boyunda şişlik hikayesinden yaklaşık beş gün kadar önce Çankırı ilinin kırsal bölgesine gitme öyküsü olduğu öğrenildi. Kaynak suyu içme, vahşi hayvan teması, kemirgen tarafından ısırılma öyküsü yoktu, ancak çalıştığı yerde zaman zaman fare gördüğünü söyledi.

Başvuru anında boyun sol tarafında yaklaşık 3x4cm boyutlarında palpasyonla hassas, üzerinde ısı artışı olan, en şiş yerinde fluktuasyon veren, akıntısız, kırmızı noduler lezyon mevcuttu [ Resim 1]. Orofarinks doğaldı, diğer sistem muayenelerinde patoloji saptanmadı.

Laboratuvar parametreleri; BK 7600/mm<sup>3</sup>, Hb 13,3g/dL, trombosit sayısı 233.000/mm<sup>3</sup>, eritrosit sedimentasyon hızı 38mm/saat, CRP 0,6 mg/dL, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri normaldi. Kırsal alanda bulunma öyküsü olan ve beta-laktam antibiyotik kullanımına rağmen sol servikaldeki lenfadenopatisi gerilemeyen hasta tularemia ön tanısıyla kliniğimize yatırıldı. Tularemia aglütinasyon testi için kan alınarak Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Zoonotik Hastalıklar Referans Laboratuvarı'na gönderildi ve moksifloksasin tedavisi başlandı.

Lezyona yönelik yapılan yüzeysel USG incelemesi 38x27x48 mm boyutlarında yoğun içerikli, cilt altına fistülize olan, lenfadenit ile uyumlu görünüm" şeklinde raporlandı. Hasta kulak burun boğaz kliniğine konsülte edilerek lezyondan aspirasyonla materyal alındı. Kültür ekimi ve gram boyaması yapıldı. Gram boyamada mikroorganizma görülmedi. Kültürde üreme olmadı. Hastanın yatışının üçüncü gününde lezyon kendiliğinden drene olmaya başladı [Resim 2]. Tularemia mikroaglütinasyon testi 1/320 titrede pozitif olarak rapor edildi.

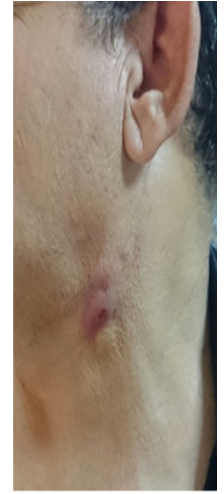
Spontan drenaj sonucunda lezyon boyutları azalan hasta, moksifloksasin tedavisinin yedinci gününde tedavisini 14 güne tamamlaması ve kontrole gelmesi önerilerek taburcu edildi. Kontrole geldiğinde lezyonun boyutlarının daha da küçüldüğü görülerek tedavi sonlandırıldı [Resim 3].



Resim 1.



Resim 2.



Resim 3.

**Resim 1.** Başvuru anında lezyonun görünümü

**Resim 2.** Spontan drene olan lezyonun görünümü

**Resim 3.** Tedavinin 14. gününde lezyonun görünümü

## Tartışma

Tularemia ülkemizde endemik veya sporadik olarak görülebilen, bazen salgınlara neden olabilen zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır [1-4]. Orofaringeal tularemia ülkemizde en sık görülen tularemia formu olup, olguların %0-12'sinde bildirilmektedir [4]. Bu form kontamine su veya gıdanın alınması sonucu gelişmektedir. Ateş, halsizlik gibi sistemik semptomların yanında boğaz ağrısı, büyümüş tonsiller ve eksüdatif tonsillofarenjit ile karakterizedir. Bu nedenle, çoğu zaman *Streptococcus pyogenes*'e bağlı gelişen tonsillofarenjit ön tanısı ile hastalara penisilin veya sefalosporinler gibi beta-laktam antibiyotikler başlanmaktadır. Beta-laktam antibiyotik tedavisine rağmen hastaların semptomlarında gerileme olmaması orofaringeal tularemiayi akla getirmelidir [1,3-5]. Bazı olgularda tonsiller üzerinde difteri membranına benzeyen sarı-beyaz renkli eksüdatif bir membran da oluşabilir. Hastaların çoğunda birkaç gün sonra servikal veya retrofaringeal lenfadenopatiler ortaya çıkar. Lenfadenopatiler tek taraflı veya bilateral olabilir, bir veya birden çok lenf bezi büyüyebilir. Uygun antibiyotik tedavisi almayan olgularda lenf bezleri büyümeye devam ederek servikal bölgede büyük bir kitle görüntüsüne neden olabilir. Lenf bezleri haftalar sonra süpürasyon gösterip cilde drene olabilir. Lenf bezinin histopatolojik incelemesi granülomatöz iltihap bulguları gösterir ve bazen hastalara tüberküloz lenfadenit ön tanısıyla tedavi başlanabilir [4,5]. Sunduğumuz olguda da başlangıçta tonsillofarenjit tanısıyla amoksisilin-klavulonat tedavisi başlanmıştı. Buna

rağmen hastanın semptom ve klinik bulgularında gerileme olmaması dikkat çekici idi. Ayrıca hastanın endemik bir bölgeye seyahat etme öyküsü vardı, ancak, endemik bölgede kaynak suyu kullanımı, kene teması, kemirgenle temas veya tavşan eti yeme öyküsü yoktu. Hastalık için saptanan tek risk faktörü iş yerinde fare görmesi idi. Sunduğumuz olguda bulaşın farenin kontamine ettiği yiyecek ve içecekten kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Uyar ve ark. [5] Orta Anadolu bölgesindeki on orofaringeal tularemi olgusunu değerlendirmişlerdir. Olgularda ateş, boğaz ağrısı ve boyunda şişlik şikayetleri olduğu ve tümünün başvuru öncesi tonsillofarenjit tanısıyla ampirik antibiyotik tedavisi aldığı bildirilmiştir. On hastanın ikisinde hayvanla temas, dördünde ise çeşme suyu tüketimi öyküsü belirlenmiştir. Sunduğumuz olguda da daha önceden amoksisilin-klavulanat tedavisine rağmen düzelmeyen tonsillofarenjit ve servikal lenfadenopati mevcuttu. Sunduğumuz olguda iş yerinde fare görmesi dışında anamnezde önemli bir bulgu yoktu.

Engin ve ark. [6] Sivas ilinde 29 tularemi olgusu bildirmişlerdir. Olgularda en sık görülen tularemi formu orofaringeal form olarak bildirilmiştir. Olguların benzer özellik göstermesi nedeniyle su kaynaklı salgın olduğu düşünülmüştür. Olguların %72'sinin tularemi tanısı almadan önce farklı tanımlarla antibiyotik kullandıkları bildirilmiştir. Olguların %93'ünde servikal lenfadenopati (LAP) saptanmıştır. Yazarlar tonsillofarenjit ile birlikte olan ya da tonsillofarenjit olmaksızın, tek ya da çift taraflı LAP'ı olan hastaların ayırıcı tanısında tulareminin dışlanması gerektiğini bildirmişlerdir. Ülkemizde Zonguldak, Samsun, Bartın, Kastamonu, Düzce, Bursa, Kocaeli, Sakarya, Edirne, Sivas, Yozgat, Çorum, Çankırı ve Ankara ili hastalığın endemik olarak görüldüğü başlıca bölgelerdir ve son yıllarda su kaynaklı salgınlar nedeniyle orofaringeal tularemi olguları bildirilmektedir [1-3,7-14].

Erbay ve ark. [7] Ankara iline bağlı Ayaş ilçesinin Yağmurdere köyünde su kaynaklı 16 orofaringeal tularemi olgusu bildirmişlerdir. Olguların 14'ünde tanı *F. tularensis* mikroaglutinasyon testiyle konmuştur. Sunduğumuz olgu Ankara iline bağlı merkez bir ilçede ikamet etmekteydi, hasta tulareminin endemik olduğu iller arasında yer alan Çankırı iline seyahat etmişti, ancak kene teması ve kaynak suyu kullanma öyküsü yoktu.

Tularemi tanısı etkenin kültürden izolasyonu ve/veya serolojik testlerle konmaktadır. *F. tularensis* laboratuvar bulaşı yönünden dikkatli olunması gereken bir bakteridir. A grubu biyoterör ajanları içerisinde yer alır. Etkenin kültürden

izolasyonu ve mikrobiyolojik işlemler için biyogüvenlik seviye-2 (boğaz sürüntüsü veya lenf aspirasyonu örneğinin kültür işlemleri için) veya biyogüvenlik seviye-3 (kültürden üreyen etkenin Gram boyama veya antibiyogram işlemleri için) laboratuvarlar gerektiğinden pratikte en sık kullanılan tanı yöntemi serolojik testlerdir [1-3]. Bakterinin izolasyonu; ülser kazıntıları, lenf nodu biyopsi örnekleri, boğaz sürüntüsü ve balgam gibi örneklerden mümkün olabilir. Kandan üretmek oldukça zordur [1].

Son yıllarda boğaz sürüntüsü ve lenf nodu biyopsi örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu da tanıda kullanılabilir [1-3]. Tanıda serolojik testlerden *F. tularensis* aglutinasyon testi ve mikroaglutinasyon testi en sık kullanılan testlerdir. Sunduğumuz olgunun tanısı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Zoonotik Hastalıklar Referans Laboratuvarı'nda mikroaglutinasyon testinde 1/320 titrede pozitiflik saptanması ile konmuştur.

Tularemi tedavisinde ilk tercih antibiyotik streptomisindir ama gentamisin de iyi bir seçenektir. Aminoglikozit tedavisi en az 10 gün süreyle uygulanmalıdır. Çocuklarda streptomisin ve gentamisin ilk seçenektir. Doksisisiklin ve siprofloksasin oral yoldan erişkinlerde ve 8 yaş üzeri çocuklarda kullanılabilir, uygulama süresi 14-21 gündür [1]. Bazı tularemi olgularında siprofloksasin, levofloksasinin veya moksifloksasinin başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir. Tularemi tedavisinde beta-laktam antibiyotikler, makrolidler, linkozamidler ve trimetoprim-sulfametoksazolün yeri yoktur [2,15-17].

Moksifloksasinin tularemi tedavisinde aminoglikozidler ve siprofloksasin kadar etkili olduğu saptanmıştır. Kinolonlarla tedavi edilen grupta tedavi başarısızlığı ve relaps yönünden aminoglikozidlerle tedavi edilen gruptakine benzer sonuçlar elde edilirken, doksisisiklin grubuna göre başarısızlık ve relaps oranı daha düşük olarak rapor edilmiştir [17].

Sunduğumuz olguda tedavide moksifloksasin verildi. Tedavi esnasında lezyonda spontan drenaj oldu ve tedavi sonrasında lezyonda düzelme gözlemlendi.

Sonuç olarak, ülkemizde orofaringeal tularemi özellikle beta-laktam antibiyotikle gerilemeyen tonsillofarenjiti ve lenfadenopatisi olan ancak risk faktörü bulunmayan hastalarda da akla gelmeli, gecikme olmaksızın tedavi başlanmalıdır.

### **Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi**

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların çıkarı dayalı bir ilişkisi yoktur.

## Kaynaklar

1. Willke A. Tularemi. ANKEM 2006; 20(Ek 2): 222-6.
2. Gurcan S. Francisella tularensis and tularemia in Turkey. Mikrobiyol Bul 2007; 41(4): 621-36
3. Tularemi Saha Rehberi. T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı yayınları, 2011, Ankara
4. www.klimik.org.tr/bilgi-merkezi/tularemi
5. Uyar M, Cengiz B, Ünlü M, Çelebi B, Eryılmaz A. Orta Anadolu Bölgesi İllerinden Hastanemize Başvuran Orofaringeal Tularemi Olgularının Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2011; 45(1): 58-66.
6. Ergin A, Altuntaş EE, Cankorkmaz L, ve ark. Sivas İlinde Saptanan İlk Tularemi Salgını: 29 Olgunun Değerlendirilmesi. Klimik Dergisi 2011; 24(1): 17-23
7. Erbay A, Dokuzoğuz B, Baykam N, Güvener E, Diker S, Yıldırım T. Ankara yöresinde tularemi. Enfeksiyon Dergisi 2000; 14(4):453-458
8. Helvacı S, Gedikoglu S, Akalin H, Oral HB. Tularemia in Bursa, Turkey: 205 cases in ten years. Eur J Epidemiol 2000; 16(3): 271-6.
9. Ozdemir D, Sencan I, Annakkaya AN, et al. Comparison of the 2000 and 2005 outbreaks of tularemia in the Duzce region of Turkey. Jpn J Infect Dis 2007; 60(1): 51-2.
10. Meric M, Sayan M, Willke A, Gedikoglu S. A small water-borne tularemia outbreak. Mikrobiyol Bul 2008; 42(1): 49-59.
11. Akalin H, Helvacı S, Gedikoglu S. Re-emergence of tularemia in Turkey. Int J Infect Dis 2009;13(5):547-51.
12. Leblebicioglu H, Esen S, Turan D, et al. Outbreak of tularemia: a case-control study and environmental investigation in Turkey. Int J Infect Dis 2008; 12(3): 265-9.
13. Bicakci Z, Parlak M. A neglected cause of cervical lymphadenitis. Oropharyngeal tularemia. Saudi Med J 2008; 29(7): 1059-61.
14. Sencan I, Sahin I, Kaya D, Oksuz S, Ozdemir D, Karabay O. An outbreak of oropharyngeal tularemia with cervical adenopathy predominantly in the left side. Yonsei Med J 2009; 50(1): 50-4.
15. Ellis J, Oyston PC, Green M, et al. Tularemia. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 631-46.
16. Meric M, Willke A, Finke EJ, et al. Evaluation of clinical, laboratory, and therapeutic features of 145 tularemia cases: the role of quinolones in oropharyngeal tularemia. APMIS. 2008; 116(1): 66-73.
17. Kılıç M, Yeşilyurt S. Tularemi: Güçel Tedavi Seçeneklerine Genel Bir Bakış. Klimik Derg 2011; 24(1):2-10.

Sorumlu Yazar: Salih Cesur,

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ulucanlar Cad. Cebeci-Ankara

İletişim: E-mail: scesur89@yahoo.com



# ORTADOĞU TIP DERGİSİ / YAZIM KURALLARI

## YAZARLARIN DİKKATİNE

**Kapsam:** Ortadoğu Tıp Dergisi, üç ayda bir sayı olacak şekilde yılda 4 kez (Mart, Haziran, Eylül ve Aralık) yayınlanır. Dergi, tıbbin değişik alanlarında yapılan klinik veya deneysel araştırmaları, özgün olgu sunumlarını, editöre mektup yazılarını, teknik yazıları ve bir konu hakkında yazılmış davetli derlemeleri kabul eder. Bölgesel sıklık ve özellik gösteren tıbbi konularda yazılan araştırma ve olgu sunumu yazılarına öncelik verir. Ayrıca Dergide tıp alanında yapılacak olan ulusal ve uluslararası bi- limsel toplantı veya sempozyumlar da duyurulur. Yazarlar ve okuyucular arasındaki bilimsel iletişim yazılarını yayınlamak veya yayınlamamak editörün yetkisindedir. Editör ve Yayın Yürütme Kurulu burada belirtilen kuralları tam olarak karşılamayan bir yazıyı doğrudan ret etme, uygun değişiklikleri kendisi yapma veya bu değişiklikleri yapmak üzere yazara geri gönderme yetkisine sahiptir. Dergide daha önce başka yerde yayınlanmamış ve Dergi Yayın Kurulu ve Yazı İnceleme Kurulunca uygun görülen yazılar yayınlanır. Gönderilen yazılar konu ile ilgili üç yazı inceleme kurulu üyesinden ikisinin olumlu görüşü aldığı anda yayınlanmaya hak kazanır. Daha önce Kongrede poster veya sözlü sunumu yapılmış olan bildiriler, belirtilmek kaydıyla Dergide makale veya olgu sunumu olarak yayınlanabilir.

**Yayın Dili:** Derginin yayın dili Türkçe ve İngilizcedir. Makalelerin İngilizce yazılmış “özet bölümü” olmalıdır. İngilizce hazırlanmış metinlerin (yabancı uyruklu olanlar hariç) “Türkçe özeti” olmalıdır. Editör, yayınlanmak üzere gönderilmiş ve değerlendirme sürecinin sonunda yayınlanma kararı verilmiş ve Türkçe yazılmış yazıların birebir İngilizce’ye çevrilmesini yazarlardan isteyebilir. İnsanlar üzerinde yapılan tüm çalışmalarda, “Yöntem ve Gereçler” bölümünde çalışmanın ilgili komite tarafından onaylandığı veya **çalışmanın Helsinki İlkeler Deklerasyonuna (www.wma.net/e/policy/b3.htm) uyularak gerçekleştirildiğine dair bir ibare yer almalıdır.** Çalışmaya dahil edilen tüm insanların bilgilendirilmiş onam formunu imzaladığı metin içinde belirtilmelidir. Yazının içeriğinden tüm yazarlar sorumludur, Ortadoğu Tıp Dergisi yazarlar tarafından ileri sürülen fikirler ve yapılan yorumlarla ilgili herhangi bir sorumluluk kabul etmez. Yayımlanan yazıların telif hakkı Ortadoğu Tıp Dergisine aittir. Yayınlanmış yazılar, kısmen veya tamamen, Dergi Editörlüğünün yazılı izni olmadan yeniden yayınlanamaz. Tüm yazarların çalışmaya aktif olarak katılmış olması gereklidir.

**Yazı Metni Düzeni:** Tüm yazı metni “iki aralıklı” olarak ve Times New Roman (TR) yazı tipinde yazılmalıdır. Harf boyutu Başlık için 12 punto, özetler için 9 punto, tablolar için 8 punto ve metnin diğer kısımları için 10 punto olmalıdır. Yazı metni aşağıdaki ana başlıkları sırasıyla içermelidir:

- **Özet:** Yapılandırılmış Özet (araştırman yazıları = makaleler için)
- **Giriş:** Uygun kaynaklarla desteklenen çalışmanın doğası ve amacı
- **Gereç (Hastalar) ve Yöntem [olgu sunumları için: olgu sunumu]:** Klinik ve teknik işlemlerin detaylarını, çalışma planını, örnek büyüklüğünü, dahil etme ve hariç tutma kriterlerini, kullanılan araçları, verinin nasıl elde edilip analiz edildiğini, kullanılan istatistik yöntemi belirtilir.
- **Bulgular (sadece araştırmalar için):** Çalışmadan elde edilen sonuçlar kısa, öz ve açık bir şekilde belirtilir.
- **Tartışma:** Elde edilen sonuçlar açıklanır, diğer yazarlar tarafından bulunanlarla ilişkileri ve pratik klinikteki anlamı açıklanır.
- **Sonuç:** Araştırmadan elde edilen sonuç kısaca ve net olarak açıklanır. Araştırmanın literatüre, varsa katkısı varsa belirtilir.
- **Teşekkür (varsa):** Yazının hazırlanmasına veya araştırmaya anlamlı katkıları bulunan kişilere teşekkür edilebilir.
- **Kaynaklar:** Sadece gerekli kaynaklar kullanılmalıdır. Kaynaklar metinde yerleşme sırasına göre numaralanmalı ve metin içinde kaynak numarası parantez içinde verilmelidir. Eğer kaynak gösterilen çalışmada 6’dan fazla yazar var ise ilk üç yazardan sonra ‘et al.’ (Türkçe kaynaklar için ‘ve ark’) yazılmalıdır. Dergi isimleri MEDLINE’ a göre kısaltılmalı (www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=journals), eğer Index Medicus tarafından taranmayan bir dergi kaynak gösterilecekse, bu derginin adı tam olarak yazılmalıdır. Kaynak sayısı mümkünse 15 ila 40 arasında olmalıdır.

**Yazar Sıralaması:** Yazıya katkı ölçüsünde yazar isimleri sıralanır. Yazarlar tanımlanırken üst rakam kullanılır (1,2,3..) ve altta açıklanır. Yazarların ünvanları kullanılmaz, yalnızca isimleri yazılır.

### ÖRNEK:

#### KÜÇÜK HÜCRELİ AKCİĞER KANSERİNDE VENA KAVA SÜPERİORUN NEDEN OLDUĞU SORUNLAR

Aslı GÜLER<sup>1</sup>, Saniye YURT<sup>2</sup>, Mehmet COŞKUN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dışkapı Yıldırım Beyazıt EA Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, Ankara

<sup>2</sup> Dışkapı Yıldırım Beyazıt EA Hastanesi Radyoloji Kliniği, Ankara

<sup>3</sup> Dışkapı Yıldırım Beyazıt EA Hastanesi Tıbbi Onkoloji Kliniği, Ankara

**Yapılandırılmış özet ve anahtar kelimeler:** Her yazılı eserde en az 100 en çok 200 kelimedenden oluşan Türkçe ve İngilizce özet bulunmalıdır. Ancak İngilizce yazılan ve Türkiye dışından gönderilen yazılarda Türkçe özet (ve Türkçe anahtar kelime) şartı aranmaz. Araştırma türü yazılarda özet, yapılandırılmış olmalı, Amaç, Gereç ve Yöntem, Bulgular ve Sonuç bölümlerini içermelidir. Olgu sunumu ve derlemelerin özetlerinin yapılandırılması gerekli değildir.

Özet bölümünde kısaltmalar kullanılmamalı, kaynak gösterilmemeli ve tablo olmamalıdır. Özet bölümünden sonra en fazla 5 olmak üzere anahtar kelime verilmelidir. Anahtar kelimeler, Medical Subject Headings (MeSH) of Index Medicus’ e göre hazırlanmalıdır.

**Kısaltmalar:** Kısaltma, ilgili sözcüğün metin içinde ilk geçtiği yerde yapılmalı ve parantez içinde kısaltması gösterilmelidir. Başlık veya özetle kısaltma yapılmamalıdır.

Ölçme birimleri – Metrik sistem birimleri kullanılmalıdır.

İlaçlar – İlaçların jenerik isimleri (ticari isimleri kullanılmamalı), dozu, uygulama yolu ve uygulama sıklığı ile birlikte yazılmalıdır.

Sayılar- 1-10 arasındaki sayılar yazı olarak (örn. beş, altı, yedi..), 10'dan daha büyükleri ise arabik (11, 13, 15...) yazılmalıdır. Cümle başına gelen sayılar yazıyla yazılmalıdır (örn. Onaltı hasta ....).

Bakteri isimleri örnekte olduğu gibi kısaltılmalı: "Eschericia coli" şöyle kısaltılabilir : E. coli.

**Tablolar:** Her tablo, bir başlığa sahip olmalı, ayrı bir sayfada hazırlanmalı ve Romen rakamları ile numaralandırılmalıdır. Tablo başlığı, tablonun en üst kısmına yazılmalıdır.

**Şekil ve resimler :** Tüm şekiller yazıda geçiş sırasına göre Arabi harflerle numaralandırılmalı ve bir başlığa sahip olmalıdır. Şekillerin elektronik uyarlamaları, yazı ile birlikte, ama ayrı bir dosya olarak jpg formatında olmalıdır. Sunulan çalışma yayına kabul edildiği zaman tüm şekillerin asılları yazarlardan istenir.

Eğer renkli resim veya şekil içeren bir çalışma yayınlanmak üzere kabul edilirse, yazarlardan renkli basım ücreti istenir. Mikroskop görüntüsü içeren resimlerde boyama tekniği ve kullanılan büyütme resim başlığında belirtilmelidir.

Şekil ve resimler için hazırlanan dosyalar online gönderme sistemine birer birer yüklenmeli ve bu dosyalara tercihen "manuscriptcode\_fig1.jpg" gibi bir isim verilmeli, yazar veya kurum adını içeren dosya adları kullanılmamalıdır.

**Eserlerin gönderilmesi:** Metinlerin tamamı 3,5 inch'lik diskete ya da CD veya flash diske kopyalanmış olarak ve basılmış üç nüsha ile bir zarf içinde gönderilmelidir. Yazılar elektronik olarak da web sitemize gönderilebilir.

İlişikteki üst yazıda metnin tüm yazarlarca okunduğu ve onaylandığı, yazının yayına kabul edilmesi halinde telif hakkının Dergiye devredileceği belirtilmelidir.

Yazışma adresi makalenin sonunda belirtilmelidir.

Yazılar aşağıdaki adrese gönderilmeli ya da elden teslim edilmelidir.

**ADRES:** DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş.  
Bayındır 2 Sok. No: 63/12 Kızılay / ANKARA  
www.dntortadoguyayincilik.com.tr  
e-posta: dnt.ortadoguyayin@gmail.com  
GSM: 0554 571 56 52

**İLETİŞİM:** Grafik Tasarım: Başak AY KARABAK  
GSM: 0554 571 56 52  
e-posta: dnt.ortadoguyayin@gmail.com

**KAYNAKLAR:** Kaynak gösterimi, metinde geçtiği sıraya göre parantez içinde Arabi rakamla gösterilir ve metin sonunda geçme sırasına göre dizilir. Kaynak gösterme şekil ve usulü aşağıda örneklerle gösterilmiştir.

## ÖRNEK

Örnek	Jennett B, Teasdale G, Fry J, et al. Treatment for severe head injury. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1980; 43:289-295.
Yazar, bir kurum ise	Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. Hypertension. 2002; 40:679-686.
Suplementli örnek	Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. Headache. 2002;42 Suppl 2:S93-99.
Kitap	AU. TB. edition. PP: PU; Y.
Örnek	Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
Editor(ler) yazar ise	Gilstrap LC, Cunningham FG, VanDorsten JP, editors. Operative obstetrics. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2002
Yazar(lar) ve editor(ler)	Breedlove GK, Schorfheide AM. Adolescent pregnancy. 2nd ed. Wiecezorek RR, editor. White Plains (NY): March of Dimes Education Services; 2001.
Yazar bir kurum ise	Royal Adelaide Hospital; University of Adelaide, Department of Clinical Nursing. Compendium of nursing research and practice development, 1999-2000. Adelaide (Australia): Adelaide University; 2001.
Kitaptan bölüm	AU. TA. in: AU, editor(s), TB. PP: PU; Y. p FP-LP.
Örnek	Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
Konferans kitabı	Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editors. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-191.
Baskıda	AU. TA. TP. In press Y.
Örnek	Tian D, Araki H, Stahl E, Bergelson J, Kreitman M. Signature of balancing selection in Arabidopsis. Proc Natl Acad Sci U S A. In press 2002

# ORTADOĞU MEDICAL JOURNAL / WRITING RULES

## INSTRUCTIONS TO AUTHORS

**Scope:** Ortadoğu Medical Journal is quarterly issued (March, June, September and December). The Journal accepts clinical and experimental research conducted in various fields of medicine, unique case reports, letters to the editor, and invited review articles on specific topics. Priority is given to researches and case reports on medical topics presenting regional differences in incidence and characteristics. Furthermore, national and international scientific meetings or symposiums to be held in the field of medicine are also announced via the Journal. The editor has the authority over publishing or not publishing the scientific letters written by the authors and the readers. Editor and Editorial Executive Board have the authority to directly reject a manuscript that do not meet the requirements herein, revise the manuscript themselves or return the manuscript to the author for revision.

Only unpublished manuscripts and those approved by the Editorial Board and Board of Reviewers are published in the Journal. The manuscripts submitted become eligible if two of the relevant three members of the Board of Reviewers deliver positive opinion.

**Language of the Publication:** The language of the journal is Turkish. The manuscript should involve an “abstract” written in English even if its language is Turkish. If, following the review process, the manuscript written in Turkish is accepted for publication, its exact translation to English may be required by the editor from the authors. For all articles involving research on human subjects, an expression indicating that the research is approved by the relevant Committee or that it is done in conformity with Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects ([www.wma.net/e/policy/b3.htm](http://www.wma.net/e/policy/b3.htm)) should be inserted into “Method and Materials” section. It should be indicated within the manuscript that informed consent is signed by all people being involved in the research.

All of the authors are responsible for the content of the manuscripts. Ortadoğu Medical Journal does not accept any responsibility for the ideas put forward and comments made by the authors. Copyrights of the published articles remain with Ortadoğu Medical Journal. Published articles will not be re-published partly or wholly elsewhere without the **written approval of the Office of the Editor**. All authors should have actively contributed to the study.

**Manuscript Formatting:** The manuscript should be typed in “double-spaced” format in Times New Roman (TR) font. It should be typed in 12-point type for the Titles; 9 for the abstracts and 10 for the rest. The main text should involve the main titles below:

- **Abstract:** Structured Abstract (for researches)
- **Introduction:** It describes the background and purpose of the study supported by pertinent references
- **Materials (Patients) and Methods [for case reports: reporting the case ]:**The followings are indicated: details of the clinical and technical process, study design, sample size, inclusion and exclusion criteria, materials used, data collection and analysis methods, statistical method used.
- **Findings (for researches only):** Results of the study are indicated precisely and clearly.
- **Discussion:** The results obtained are explained; relations found by other authors and their significance in terms of clinical practice are expressed.
- **Acknowledgements (if any):** Those, who contributed substantially towards the article by drafting the manuscript or making the research, may be acknowledged.
- **References:** Only essential references should be cited. All references must be numbered consecutively, in parenthesis, in the order in which they are cited in the text. When there are more than 6 authors in the study, the first 3 authors should be listed followed by “et al” (for references in Turkish, “ve ark”). Journal titles should be abbreviated in accordance with MEDLINE ([www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=journals](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=journals)), and if a journal which is not indexed in Index Medicus will be cited as reference, full title of the Journal must be written. References between 15 and forty are permitted.

**Structured Abstract and key words:** Each manuscript should include abstracts written both in English and Turkish; the total number of words should be between 100 and 200 (for case reports and reviews: 50-100). However, the abstract (and key words in Turkish) written in Turkish is not required in case manuscripts are written in English and submitted from abroad. Abstract for researches should be structured and include the following sections: Aims, materials and methods, findings and results. There is no need to structure the abstracts for case reports and reviews.

Abstracts of the reviews should be in a format that precisely explains the main titles of the manuscript. Abstract should not include abbreviations, references and tables. There should be maximum 5 key words following this section. Key words should be written in alphabetical order and compiled from the list provided in Medical Subject Headings (MeSH) of Index Medicus.

### Abbreviations

All abbreviations must be defined the first time they are used and should be displayed in parentheses. Abbreviations should be avoided in the title and abstract.

**Units of measurement:** Units of the metric system should be used.

**Drugs:** Generic names (trade names) of drugs should be written together with their dosing information, application methods and timing.

**Numbers:** Numbers between 1 and 10 should be written out in word form (ex. Five, six, seven..) and those above 10 should be written as Arabic numerals (11.13.15...). When a sentence starts with a number, it should be written out as a word (ex. Sixteen patients...).

Bacteria names: They should be abbreviated as given by the example: "Eschericia coli" can be abbreviated as such: E. coli.

**Tables:** A title should be provided for each table; tables should be typed on a separate sheet and numbered with Roman numerals. Titles should be placed above the tables.

**Figures and photographs:** All figures should be numbered consecutively with Arabic numerals and have a title. Electronic versions of the figures should be submitted together with the manuscripts but as separate files in JPEG format. Authors are required to submit the originals of all figures when the manuscripts are approved to be published.

If a study involving coloured photograph or figure is approved to be published, authors are required to submit the colour printing fee. For the photographs including an image taken from a microscope, staining technique and augmentation used should be inserted in the title of the photograph.

Files of figures and photographs should be uploaded to online submission system one at a time and they should be titled preferably as "manuscriptcode\_fig1.jpg"; Files names involving the names of the authors or institutions shouldn't be used.

**Submission:** It should be indicated in the enclosed cover letter that the text is read and approved by all authors, and the copyright will be transferred to the journal in case the manuscripts are approved to be published.

Correspondence address should be indicated at the end of the article.

Manuscripts should be sent to the address below or delivered by hand.

**ADDRESS:** DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş.

Bayındır 2 Sok. No: 63/12 Kızılay / ANKARA

www.dntortadoguyayincilik.com.tr

e-posta: dnt.ortadoguyayin@gmail.com

GSM: 0554 571 56 52

## REFERENCES

References are consecutively numbered with Arabic numerals in parenthesis at the end of the manuscript in the order in which they are mentioned in the text.

## EXAMPLE

Example	Jennett B, Teasdale G, Fry J, et al. Treatment for severe head injury. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1980; 43:289-295.
If the author is an institution,	Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. Hypertension. 2002; 40:679-86.
Supplemented example	Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. Headache. 2002;42 Suppl 2:S93-9.
Book	AU. TB. edition. PP: PU; Y.
Example	Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
If the author(s) are Editor(ler) authors	Gilstrap LC, Cunningham FG, VanDorsten JP, editors. Operative obstetrics. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2002
Author(s) and editor(s)	Breedlove GK, Schorfheide AM. Adolescent pregnancy. 2nd ed. Wiczorek RR, editor. White Plains (NY): March of Dimes Education Services; 2001.
If the author is an institution	Royal Adelaide Hospital; University of Adelaide, Department of Clinical Nursing. Compendium of nursing research and practice development, 1999-2000. Adelaide (Australia): Adelaide University; 2001.
A part from a book	AU. TA. in: AU, editor(s), TB. PP: PU; Y. p FP-LP.
Example	Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
Conference book	Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editors. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.
In press	AU. TA. TP. In press Y.
Example	Tian D, Araki H, Stahl E, Bergelson J, Kreitman M. Signature of balancing selection in Arabidopsis. Proc Natl Acad Sci U S A. In press 2002



 Ortadoğu  
Yayıncılık

Özel  
Ortaođu Hastanesi



*Sevgiyle, Bilgiyle, Güvenle...*